

REAL ACADEMIA DE MEDICINA Y CIRUGÍA DE SEVILLA

EL CAMBIO DE PARADIGMA EN EL TRATAMIENTO DE LAS NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS EN EL SIGLO XXI

Discurso de recepción de la Académica Electa

Dra. Doña Inmaculada Concepción Herrera Arroyo

Contestación del Académico Numerario

Ilmo. Sr. Prof. D. Carlos Pera Madrazo

Palabras finales

Excmo. Sr. Dr. D. Carlos A. Infantes Alcón

Presidente de la Real Academia de Medicina y Cirugía de Sevilla



Sevilla, 4 de junio de 2023

EL CAMBIO DE PARADIGMA EN EL TRATAMIENTO DE LAS NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS EN EL SIGLO XXI

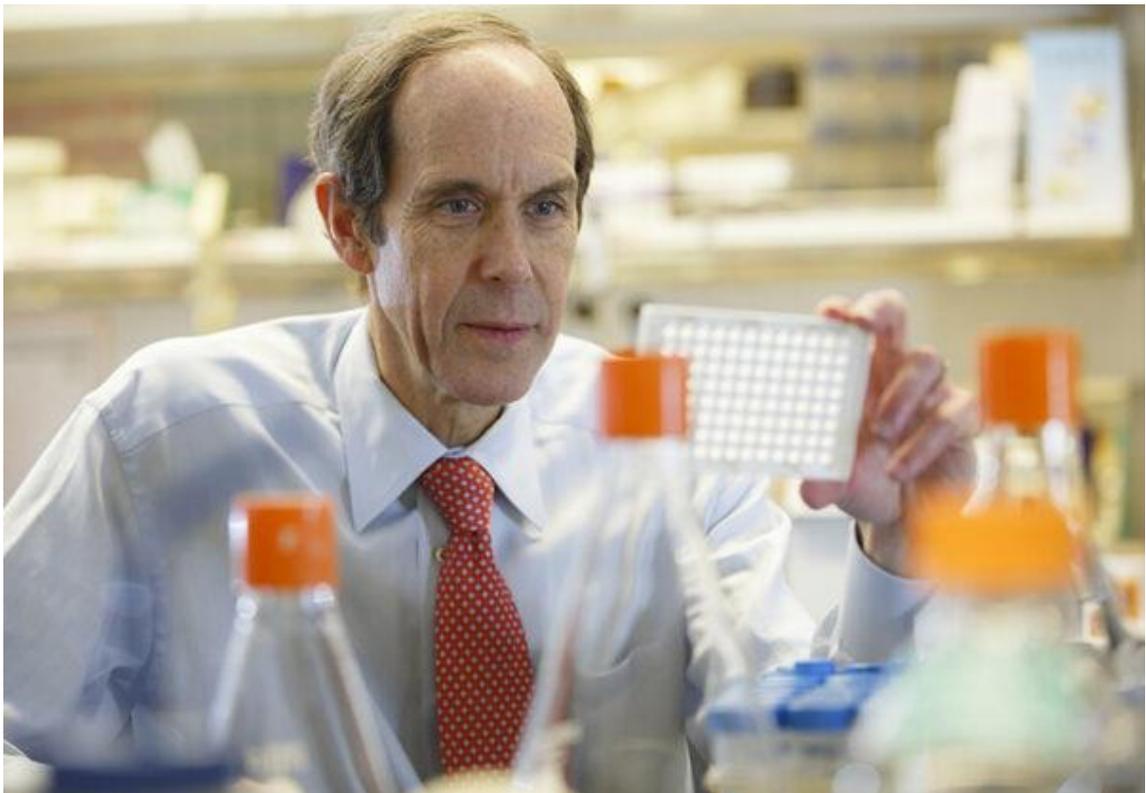
Discurso de recepción de la Académica Electa

Dra. Doña Inmaculada Concepción Herrera Arroyo



*Success comes when passion and talent are combined
with a heavy dose of perseverance and a bit of luck.*

Brian J. Druker



Brian Druker, descubridor del primer tratamiento contra el cáncer dirigido a una diana molecular, Imatinib para el tratamiento de la Leucemia Mieloide Crónica.

Índice

Preámbulo	7
Introducción: el tratamiento de las neoplasias hematológicas en el siglo XX.	11
Los orígenes y el desarrollo de la quimioterapia durante el siglo XX.....	16
Los primeros pasos de la inmunoterapia antitumoral.....	31
Los primeros descubrimientos de la biología celular y molecular de las leucemias.....	35
El cambio de paradigma en el tratamiento de las neoplasias hematológicas en el siglo XXI	41
Terapias dirigidas a dianas moleculares.....	42
Inhibidores de las tirosinquinazas (ITKs).....	43
Agentes inductores de la diferenciación.....	58
Inductores de la apoptosis: Inhibidores de BCL-2.....	64
Inhibidores del proteasoma.....	69
Moduladores de Cereblon E3 ligasa.....	71
Inmunoterapia.....	75
Anticuerpos monoclonales.....	75
Inhibidores de los puntos de control inmunitario (<i>Immune Check-point Inhibitors</i> , ICIs).....	81
Anticuerpos monoclonales conjugados con drogas.....	83
Anticuerpos biespecíficos.....	88
Linfocitos T con receptores de antígeno quiméricos (<i>Chimeric Antigen Receptor T cells</i> , CAR-T).....	91
Epilogo	95
Referencias	96

Preámbulo

Excelentísimo Señor Presidente de la Real Academia de Medicina y Cirugía de Sevilla,
Excelentísimas e Ilustrísimas Autoridades y Representaciones,
Excelentísimos e Ilustrísimos Señores Académicos de Número,
Señores Académicos Correspondientes,
Querida Familia,
Queridos compañeros y amigos,
Señoras y Señores,

En incontables ocasiones a lo largo de mi vida profesional he tenido la oportunidad de hablar de algo que me fascina como es la oncohematología. Lo he hecho en congresos y reuniones científicas, lo he hecho a los alumnos en la Universidad de Córdoba, lo he hecho también en charlas de divulgación y de formación en asociaciones de pacientes. Pero hoy todo es distinto porque lo hago en un foro único, la Real Academia de Medicina más antigua de Europa en la que me dispongo a ingresar como Académica de Número.

En este día importante en mi vida quiero comenzar expresando mi gratitud a esta Academia, a todos y cada uno de sus miembros, por aceptar mi candidatura y acogerme en la nómina de ilustres académicos de número. Gracias especialmente a los tres Académicos que presentaron esa candidatura, Profesores Pera Madrazo, Sánchez Guijo y Peña Martínez, tres catedráticos de la Universidad de Córdoba en la que me formé. El hecho de ser presentada a la Academia por los que fueron en su día mis profesores es una satisfacción y una enorme responsabilidad que espero no defraudar.

No tuve el privilegio de asistir a las clases del Prof. Peña porque él llegó a la Universidad de Córdoba poco después de que yo cursara su asignatura, pero sí he tenido la oportunidad de conocerle durante muchos años como Jefe de servicio de Inmunología del HURS, una especialidad tan cercana a la nuestra y de la que necesitamos los hematólogos en nuestro día a día en el trasplante de médula; el Prof. Peña dio un enorme impulso a la Inmunología en Córdoba y, en general, a la investigación científica en el HURS.

Pero sí fui alumna de Patología General del Prof. Sánchez Guijo y de Patología Quirúrgica del Prof. Pera Madrazo.

Del Prof. Sánchez Guijo aprendí los primeros conceptos de la medicina con la ilusión de tener por primera vez contacto con ella a través de la Patología General. Y aprendí a ser médico, algo que excede en mucho a los meros conocimientos de medicina.

El Prof. Pera es el principal impulsor de mi candidatura a esta Real Academia. Realmente no podía dar crédito a lo que estaba oyendo cuando me lo propuso por primera vez. Conocí de cerca al Prof. Pera durante mis años de alumna interna de su Cátedra en la Universidad de Córdoba y, aunque mi vida profesional ha discurrido por otros derroteros, el aprendizaje de aquellos años ha estado presente hasta hoy. La capacidad de innovación y emprendimiento, de búsqueda de nuevas formas de solucionar los problemas de los pacientes del Prof. Pera, es válida sea cual sea la rama de la medicina a la que alguien se dedique, y eso lo aprendí de él desde aquellos primeros años. Gracias de todo corazón querido Carlos.

No puedo evitar en este momento tener un recuerdo a los médicos de dos generaciones anteriores de mi familia que ya no están, de forma particular a mi padre porque sé perfectamente lo que hubiera sentido hoy si hubiera podido estar aquí.

Como no podría ser de otra manera, quiero compartir el honor que supone para mí el ingreso en la Real Academia de Medicina de Sevilla con los miembros del Servicio de Hematología del Hospital Universitario Reina Sofía. Con los que ya no están activos que me ensañaron todo desde Médico residente, y con los que ahora tengo el privilegio de dirigir y de los que tanto sigo aprendiendo cada día. Gracias, queridos compañeros.

Gracias al Hospital Universitario Reina Sofía y gracias al IMIBIC, a los que apporto cada día mi granito de arena, y de los que recibo a cambio tantas oportunidades de seguir creciendo en la asistencia y en la investigación.

En la lista de agradecimientos, que sería interminable, merecen un lugar destacado mi familia y mis amigos, que me impulsan a seguir creciendo como persona, lo más importante...

Ocuparé esta plaza de Hematología de la RAMSE en la vacante generada por el fallecimiento del único académico que la ha ocupado, Dr. Díaz de Yraola.

Gonzalo Díaz de Yraola nació en Cádiz en 1915 y se licenció y doctoró en Medicina y Cirugía en Sevilla en 1940 y 1941 respectivamente. Formado como especialista en el Instituto Nacional de Hematología y Hemoterapia desde 1940 a 1945,

con el Dr. Carlos Elósegui. En 1952 gana con el nº1 las oposiciones nacionales a jefe de los Servicios de Hematología y Hemoterapia de los Institutos Provinciales de Sanidad de toda España. En 1953 es nombrado director de los Servicios Provinciales de Hematología de la Diputación de Sevilla y en 1954 Profesor Agregado de la cátedra de Farmacología y Terapéutica general de Sevilla. En 1956 gana con el nº3 las oposiciones nacionales a jefe de los Servicios de Hematología y Hemoterapia del Seguro Obligatorio de Enfermedad, pasando a ser el jefe del Servicio de Hematología de la entonces Residencia García Morato, y en los años setenta Jefe de Departamento de Hematología de la Ciudad Sanitaria Virgen del Rocío. En 1959 la Asamblea Suprema de la Cruz Roja Española le nombra, para Sevilla, Director del Centro Regional de Donación desinteresada de Sangre. Académico Correspondiente de la Real Academia de Medicina y Cirugía de Sevilla el 25 de enero de 1947, tras ganar el premio del concurso científico de 1946 con el trabajo “Aportación de los médicos y farmacéuticos españoles a la obra colonizadora de España en América”, cuya importancia mereció su publicación posterior en forma de libro por la Escuela de Estudios Hispanoamericanos, bajo el título “La vuelta al mundo de la expedición de la vacuna”, con prólogo de don Gregorio Marañón.

El 8 de octubre de 1962 es elegido por unanimidad por la junta extraordinaria de la RAMSE Académico Electo de la Sección de Historia de la Medicina y Deontología. Su recepción pública y solemne como Académico Numerario tuvo lugar el 30 de mayo de 1965 con la lectura del discurso titulado “Sobre algunos aspectos de la Hemofilia”

En 1977, con motivo de la ampliación y reorganización estatutaria de las plazas de la RAMSE, se incorporó a la Sección II de Medicina y Especialidades Médicas, en la plaza de Hematología, dándole así a la especialidad toda la importancia que le correspondía.

En Dr Díaz de Yraola fue Socio fundador, vocal y vicepresidente de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia desde 1949. Miembro de la *Association Européenne d' Hematologie* y de la *Internationale Society of Hematology*. Autor de varios libros: el ya citado de “La vuelta al mundo de la expedición de la vacuna” (1948), “Inmunohematología de la gestación y del recién nacido” (1962), “La Hemofilia” (1965) y “La donación de sangre” (1968). Autor del guion y director técnico de la película “El Instituto Español de Hematología y Hemoterapia” (1944).

El Dr. Díaz de Yraola falleció en Sevilla el 19 de junio de 1983, hace ahora cuarenta años, dejando vacante durante todo este tiempo la plaza de Hematología de la Real Academia que ahora me dispongo a ocupar.

Agradezco al Ilmo. Sr. Dr. D. Jorge Domínguez-Rodiño Sánchez-Laulhé, bibliotecario de esta Real Academia, su ayuda con la preparación de esta pequeña reseña biográfica de mi ilustre predecesor.

Desde que conocí el día 28 de septiembre de 2022 mi elección como académica de número electa tuve claro cuál tenía que ser el título de mi discurso de ingreso. No podía ser otro porque he tenido el privilegio, como todos los hematólogos de mi generación, de vivir de forma directa y emocionada ese cambio de paradigma. Emocionada, esa es la palabra. Y mi objetivo en los siguientes minutos no es otro que ser capaz de transmitirles esa emoción de la epopeya de los hematólogos y los biólogos moleculares contra las neoplasias hematológicas.

Introducción: El tratamiento de las neoplasias hematológicas en el siglo XX

El descubrimiento de las neoplasias hematológicas es bastante tardío en la historia de la medicina, ya que el reconocimiento de los primeros casos no comienza hasta el segundo tercio del siglo XIX. Existen descripciones anteriores de casos clínicos que se pueden interpretar como linfomas, mieloma o leucemias a la luz de los conocimientos actuales, pero que no fueron en absoluto identificadas como enfermedades en sí mismas y mucho menos como enfermedades propias de la médula ósea o del sistema linfático. Esto es debido a que ninguno de los tumores hematológicos produce síntomas específicos y todos ellos necesitan para su diagnóstico de técnicas basadas en la microscopía que, como es sabido, no se utilizaron hasta bien entrado el siglo XIX.

Alfred-Armand-Louis-Marie Velpeau (1795-1867) célebre cirujano francés, publicó en 1827 el informe de un caso con síntomas de hinchazón del abdomen, fiebre, debilidad y alteración de la combinación sanguínea similar a la sangre llena de pus¹. El paciente visto por Velpeau, llamado *monsieur Vernis*, de 63 años de edad, falleció pocos días después de su ingreso en el Hospital, y en la autopsia Velpeau encontró que el bazo estaba aumentado de tamaño (pesaba 4.5 kg) y que la sangre era muy espesa, y observada al microscopio presentaba numerosos “glóbulos de pus”. Velpeau informó sobre los hallazgos anatómicos e histológicos de este paciente ante la *Académie Royale de Médecine* en Paris, y el caso fue publicado en marzo de 1827.

Unos años después, en 1839, también en Paris, Jean B.P. Barth atendió a una mujer de 44 años que presentaba un crecimiento del bazo que ocupaba toda la cavidad abdominal. Barth envió sangre de esta paciente a Alfred François Donné (1801-1878), del Hospital *Hôtel-Dieu*, que era un experto microscopista y proponía el uso de este instrumento como una importante herramienta diagnóstica. La interpretación de Donné de la sangre de la paciente de Barth es muy similar a la del paciente previamente estudiado por Velpeau:

“la sangre que me mandaron tiene cambios sobresalientes y notables [...] Más de la mitad de las células son glóbulos mucosos, y esto debe de ser explicado. [...] uno piensa, no sabiendo nada de la historia clínica, si esta sangre no contiene pus, y como usted sabe, las células del pus no pueden ser todavía diferenciadas de las células mucosas [...]”.

Aunque Donné vio a esta paciente en 1839 el caso fue informado en 1844 en su libro *Cours de Microscopie*, junto con otro caso posterior similar que tuvo la ocasión de analizar².

Poco después, el Dr. Craigie, un médico de Edimburgo, estudió tenazmente las características clínicas de un paciente ingresado en el *Royal Infirmary* en 1841. Craigie no tenía conocimientos de microscopía y se sentía incapaz de interpretar los síntomas de su paciente que hoy podemos interpretar como los de una leucemia crónica. La sangre del paciente, examinada tras su muerte por el patólogo del hospital, mostró que la materia purulenta y la linfa se habían mezclado con la sangre y habían circulado³. El interés suscitado por este caso en Craigie le llevó a mantenerse alerta ante cualquier caso similar admitido en el hospital. Y así ocurrió cuando, tres años después, John Menteith, de 28 años de edad, fue ingresado en el *Edinburgh Royal Infirmary* presentando un incremento del tamaño del bazo y otros síntomas similares al paciente examinado en 1841 por Craigie, que no tuvo ninguna duda de que se trataba del mismo estado patológico. A la muerte de John Menteith su autopsia fue practicada por John Hughes Bennett (1812-



Figura 1. John Hughes Bennett (1812-1875).

1875) que a la edad de 33 años era profesor de medicina clínica y patólogo en el *Edinburgh Royal Infirmary*. Bennet había sido alumno de Donné en Paris y era un firme defensor de la microscopía como herramienta diagnóstica irremplazable. En el examen *post mortem* Bennet encontró crecimiento masivo de hígado, bazo y ganglios linfáticos y en el estudio microscópico de la sangre, de nuevo aparecían corpúsculos semejantes a pus. Tras descartar cualquier proceso infeccioso, Bennet concluyó que la alteración en la sangre de John Menteith era independiente de la inflamación y que la transformación

había sido ocasionada por un proceso sistémico. Esto constituye un punto de inflexión,

ya que es el primer reconocimiento de la enfermedad *per se* y no como consecuencia de un proceso infeccioso o inflamatorio. El informe detallado de la autopsia preparado por Bennett, fechado el 19 de marzo de 1845, fue publicado en el *Edinburgh Medical and Surgical Journal* el 1 de octubre de 1845 ⁴, en el mismo número en que se publicaba el caso similar de Craigie de 1841 ³. Seis años después, Bennet publicó los dibujos del estudio microscópico de la sangre de su paciente que constituyen las primeras ilustraciones de la sangre de un paciente con leucemia (muy probablemente una leucemia mieloide crónica), y utilizó el término “leucocitemia” para denominar esta alteración sanguínea⁵.

Justo seis semanas después del artículo publicado por Bennett en 1845 apareció el segundo caso de leucemia, comunicado en un artículo titulado *Weisses Blut* firmado por el patólogo alemán Rudolf Virchow (1821-1902) que entonces tenía 24 años y era demostrador en anatomía patológica en el Hospital *Charité* de Berlín. Su paciente, Marie Straide de 50 años, ingresó en el hospital en marzo de 1845 con una historia de 4 años de mala salud e hinchazón del abdomen. Cuatro meses después, Marie murió y Virchow realizó la autopsia el 1 de agosto de 1845. Él también encontró “por todas partes en los vasos una masa completamente parecida al pus” y también informó de núcleos celulares de diversas formas. Añadió que las proporciones entre corpúsculos sanguíneos coloreados e incoloros eran aproximadamente las inversas de las de la sangre normal, nominalmente en la proporción de unos “300 glóbulos rojos por uno blanco”⁶. Virchow estaba describiendo por primera vez un caso de leucemia linfática crónica.



Figura 2. Rudolf Virchow (1821-1902)

Por esos años, Thomas Hodgkin (1798–1866), acababa de regresar de París y había obtenido el puesto no remunerado de *Clinical Clerk* en el *Guy's Hospital* de Londres. En 1826 solicitó el puesto de conservador del nuevo museo del hospital y fue nombrado Conservador del Museo, Inspector de los Muertos y conferenciante en

anatomía mórbida. Con su nombramiento como inspector de los muertos, Hodgkin realizaba autopsias con regularidad. Esto significó que no sólo aumentó significativamente la colección del museo, sino que también pudo explorar con más detalle la patología con la que se encontraba. En enero de 1832 publicó un artículo titulado “*On some morbid appearances of the absorbent glands and spleen*”⁷ en el que describía

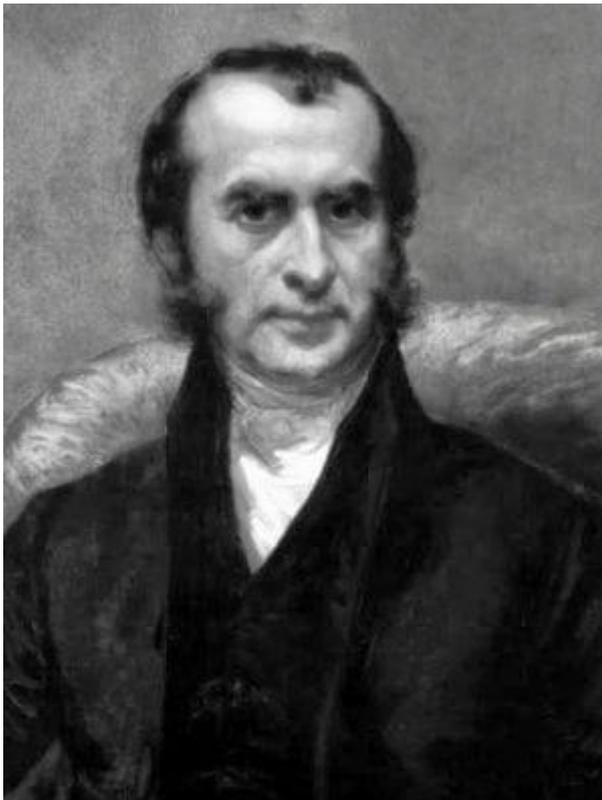


Figura 3. Thomas Hodgkin (1798–1866)

el aspecto de siete pacientes en los que observó una combinación de marcado agrandamiento generalizado de los ganglios linfáticos y, en seis de ellos, agrandamiento del bazo sin evidencia de infección u otra patología inflamatoria, constituyendo estos hallazgos la característica de una enfermedad crónica y de desenlace fatal en todos los casos. En aquel momento, su hipótesis pareció caer en saco roto y pasarían otras tres décadas antes de que se reconociera el descubrimiento de Hodgkin. En 1838, Richard Bright (1789-1858), médico

consultor del Hospital de Guy, informó sobre algunos de los trabajos originales de Hodgkin, aunque no fue hasta 1856 cuando Samuel Wilks (1824-1911) escribió un artículo sobre la "Enfermedad lardácea" que incluía los casos originales de Hodgkin. En 1865, Wilks describió más detalladamente los casos y vinculó el nombre de Hodgkin a la enfermedad⁸. De esta forma, Thomas Hodgkin fue inmortalizado por su colega, Samuel Wilks, mediante su uso epónimo en el término "enfermedad de Hodgkin". En la comunidad médica de la época se denominó “linfoma no Hodgkin” al grupo más heterogéneo de neoplasias ganglionares que no coincidían con la descripción de la enfermedad de Hodgkin, y ese nombre ha persistido hasta la actualidad a pesar de nuestro

actual conocimiento sobre la diversidad de enfermedades que agrupa el término “linfoma no Hodgkin”.

También en estos mismos años, concretamente en 1844 se publicaron los dos primeros casos de mieloma múltiple por el renombrado cirujano británico Samuel Solly, que dio a la enfermedad que describió el nombre de “*mollities osseum*” (reblandecimiento del hueso)⁹. El primero de los casos era el de Thomas Alexander McBean, que había desarrollado fatiga crónica, dolores óseos y notaba que “su ropa interior se ponía rígida al contacto con su orina”. Fue tratado de forma infructuosa con ventosas, sanguijuelas, acero y quinina, mientras que su médico, el Dr. Thomas Watson, enviaba una muestra de su orina al patólogo Henry Bence Jones al *St. George's Hospital*. Bence Jones concluyó que la orina contenía una gran cantidad de proteína que era el "deutóxido hidratado de la albúmina", en la que constituye la primera descripción de la proteinuria de Bence-Jones, e hizo hincapié en su papel en el diagnóstico del mieloma, ya que escribió: "No hace falta que comente la importancia de buscar este óxido de albúmina en otros casos de *mollities osseum*"^{10,11}. McBean falleció en 1946 y en la autopsia se observaron costillas blandas, quebradizas y fácilmente fracturables; en los huesos se encontró una "sustancia gelatiniforme de color rojo sangre y tacto untuoso". El examen histológico de la médula ósea reveló células redondas u ovaladas más grandes que una célula sanguínea media que contenían uno o dos núcleos y un nucleolo de color brillante. El segundo caso de Solly, publicado en el mismo artículo⁹, es el de Sarah Newbury, una mujer de 39 años que desarrolló fatiga, dolor óseo y múltiples fracturas espontáneas (Figura 4). Sólo cuatro años después del inicio de los síntomas, la paciente falleció, y la

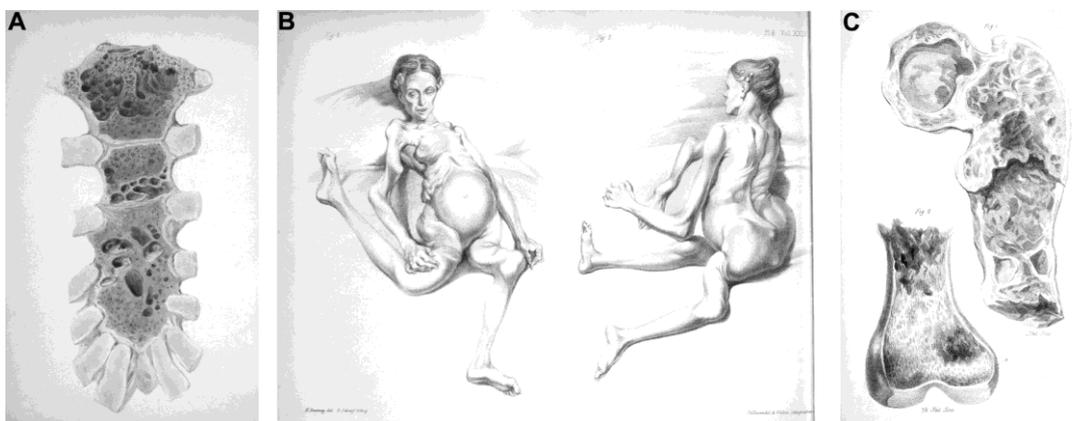


Figura 4. Sarah Newbury, la primera paciente con mieloma múltiple de la que se tiene constancia. (A) Destrucción ósea en el esternón. (B) La paciente con fractura de fémur y húmero derecho. (C) Destrucción ósea que afecta al fémur. Reproducido de Solly S⁹.

autopsia reveló anomalías en la médula ósea que coincidían estrechamente con los hallazgos de la autopsia de Thomas Alexander McBean. Solly pensaba que la enfermedad era un proceso inflamatorio y que comenzaba con una "acción mórbida" de los vasos sanguíneos en la que la "materia terrosa del hueso es absorbida y expulsada por los riñones en la orina" ⁹. El nombre de Mieloma Múltiple se utiliza por primera vez en 1873 en la publicación de otro caso por Rustizky, haciendo referencia a la presencia de múltiples lesiones óseas ¹².

Tras estas décadas centrales del siglo XIX en las que se describen por primera vez las principales neoplasias hematológicas, durante los siguientes años se sucedieron las comunicaciones de casos similares, con el denominador común del desenlace fatal en todos ellos, a pesar del uso de los tratamientos disponibles en aquel momento, que incluían, flebotomías, sanguijuelas, pastillas de ruibarbo e infusión de piel de naranja o quinina.

Los orígenes y el desarrollo de la quimioterapia durante el siglo XX

A principios del siglo XX, el famoso químico alemán Paul Ehrlich acuñó el término "quimioterapia" y lo definió como el uso de químicos para tratar enfermedades. También fue el primero en documentar la validez de los modelos animales para examinar la actividad potencial de una serie de sustancias químicas contra las enfermedades ¹⁴. En 1908, su modelo de conejo para la sífilis condujo al desarrollo de derivados arsenicales (salvarsán) para tratar esta enfermedad. Ehrlich también se interesó por los fármacos para tratar el cáncer, como los colorantes de anilina y los primitivos alquilantes, si bien no era demasiado optimista sobre sus posibilidades de éxito.

Durante la primera Guerra Mundial se inauguró la guerra química con la utilización en 1915 en Ypres del llamado gas mostaza en referencia a su olor y color. En la Segunda Guerra Mundial, no se llegó a utilizar el gas mostaza, pero en un bombardeo de los buques aliados en el puerto de Bari, el 2 de diciembre de 1943, se alcanzó el buque *SS John Harvey* cargado en secreto con 2000 bombas de gas mostaza que se vertió al mar ocasionando una nube tóxica que afectó a 250.000 personas, de las cuales al menos 1000 fallecieron ¹⁵⁻¹⁸. El estudio de las personas afectadas por gas mostaza en las dos contiendas mundiales, reveló que todos ellos presentaban leucopenia y "atrofia" de la médula ósea y de los ganglios linfáticos lo que sugirió que los gases mostaza afectaban a la división

celular de ciertos tipos de células somáticas y que esto se podría utilizar para suprimir la división de células cancerosas en leucemias agudas y linfomas ¹⁹⁻²¹.

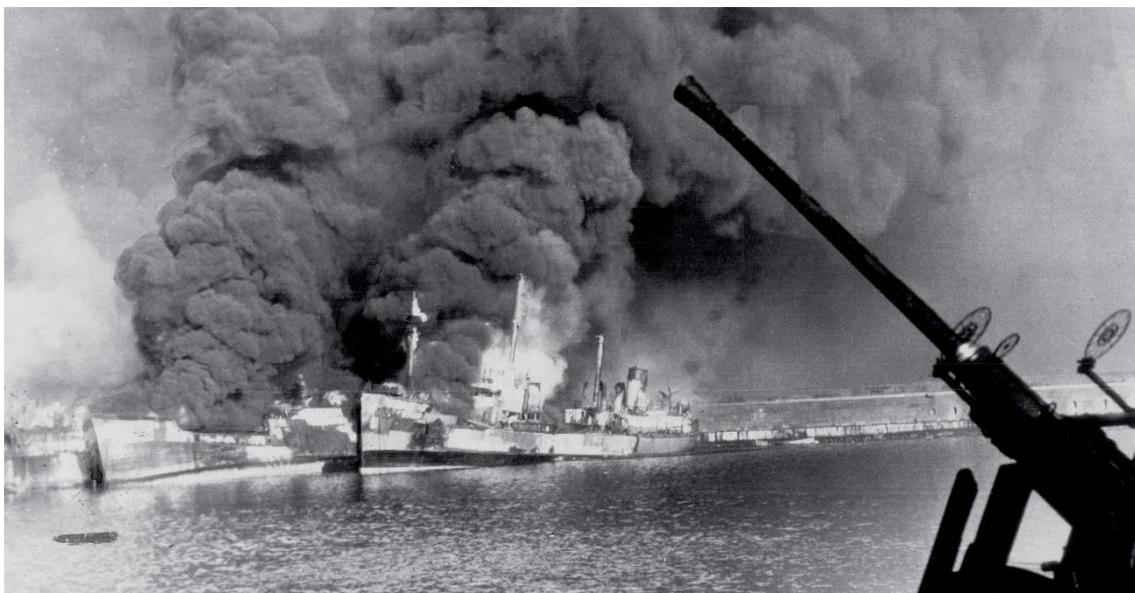


Figura 5. Fotografía del bombardeo de los buques aliados en el puerto de Bari el 2 de diciembre de 1943.

En consecuencia, Milton Winternitz, que había trabajado con mostazas sulfurosas en la Primera Guerra Mundial, obtuvo un contrato para estudiar la química de los compuestos de la mostaza por parte de la Oficina de Investigación Científica y Desarrollo de EE.UU. y pidió a dos destacados farmacólogos de Yale, Alfred Gilman y Louis Goodman, que examinaran los posibles efectos terapéuticos de estas sustancias químicas. Goodman y Gilman llevaron a cabo experimentos en ratones portadores de un tumor linfoide con uno de los compuestos, la mostaza nitrogenada. Cuando observaron notables regresiones convencieron a su colega Gustaf Lindskog, cirujano torácico, de administrar mostaza nitrogenada a un paciente con linfoma no Hodgkin y obstrucción grave de las vías respiratorias. Se observó una marcada regresión en éste y otros pacientes con linfoma ²²⁻²⁴. El estudio inicial se realizó en 1943, pero los resultados no se publicaron hasta 1946 debido al secreto que obligaba a todas las investigaciones con gases de guerra. Los resultados de 1943 desencadenaron un estallido de apoyo a la síntesis y ensayo de varios compuestos alquilantes relacionados, incluidos los derivados orales como el clorambucilo y, en última instancia, la ciclofosfamida. Pero tras el entusiasmo inicial, se pudo comprobar que el uso de mostazas nitrogenadas en linfomas daba lugar a remisiones a

menudo incompletas y limitadas en el tiempo, por lo que se generó una ola de pesimismo respecto a la quimioterapia del cáncer que presidió la década de los 50.

En paralelo a estos acontecimientos, la investigación nutricional antes y durante la Segunda Guerra Mundial había identificado un factor presente en las verduras de hoja verde que era importante para la función de la médula ósea. Este factor resultó ser el ácido fólico, que fue sintetizado por primera vez en 1937. Farber, Heinle y Welch probaron el ácido fólico para tratar la anemia en la leucemia y llegaron a la conclusión de que en realidad aceleraba el crecimiento de las células leucémicas²⁵, por lo que parecía razonable pensar que la deficiencia de ácido fólico podría tener el efecto contrario. Farber colaboró con Harriet Kilde, de los laboratorios Lederle, para desarrollar antagonistas del folato, y entre estos compuestos se encontraban la aminopterina y la ametopterina, ahora más conocida como metotrexato. Posteriormente, Farber probó estos compuestos antifolato en niños con leucemia y, en 1948, mostró remisiones incuestionables²⁶. (figura 6)

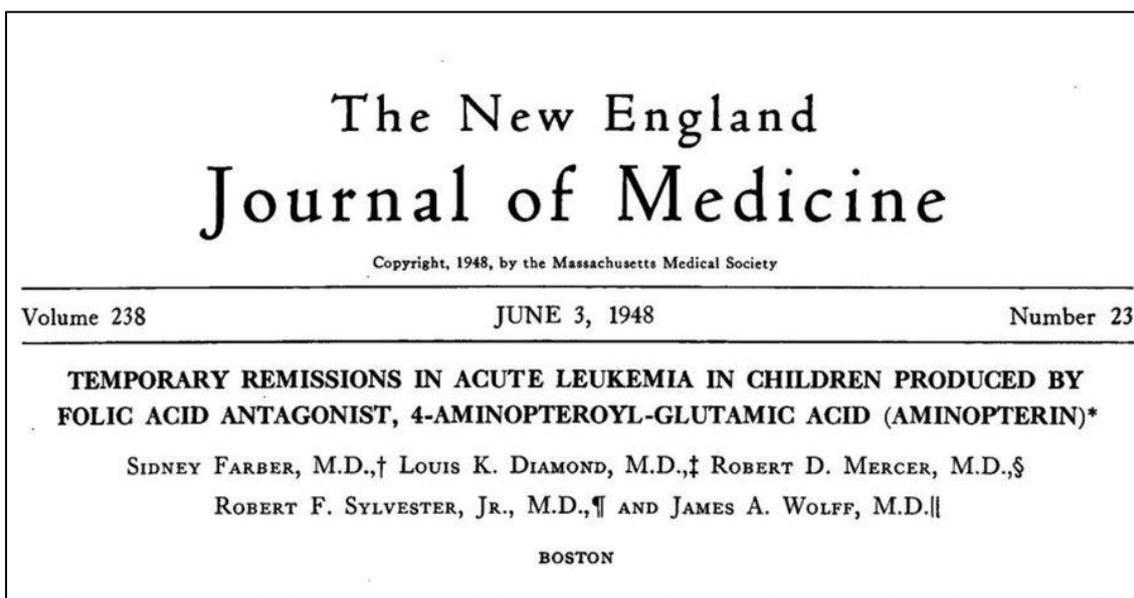


Figura 6. Cabecera del artículo publicado por Farber en 1948²⁶ en el que se reportaban las primeras remisiones de ALL infantil con methotrexate.

La actividad demostrada de la mostaza nitrogenada y el metotrexato constituyó un potente estímulo para la síntesis de otros fármacos con mecanismos de acción diferentes de los alquilantes y antifólicos. En esta situación, a comienzos de los 50 se produjo un descubrimiento biológico crucial, la descripción de la estructura helicoidal del ADN por Watson y Crick²⁷, lo que abrió la puerta a nuevas posibilidades de diseño de fármacos

contra el cáncer con mecanismos de acción conocidos y fundamentados en la inhibición de la replicación del ADN de las células tumorales. En 1948, el mismo año que Farber demostró la actividad del metotrexato en leucemia infantil, Hitchings y Elion aislaron una sustancia que inhibía el metabolismo de la adenina y tres años después habían desarrollado dos fármacos que más tarde desempeñarían un papel importante en el tratamiento de la leucemia aguda: la 6-tioguanina y la 6-mercaptopurina ²⁸⁻³¹. Simultáneamente, se descubrieron las 5-fluoropirimidas ³², continuaron los trabajos sobre nuevos alquilantes como el clorambucilo ³³, y se descubrieron los corticosteroides en el tratamiento de pacientes con cáncer, pero también se descubrió rápidamente que sólo producían breves respuestas cuando se utilizaban en monoterapia ^{34,35}.

A pesar de los importantes logros biológicos y farmacológicos, desde el punto de vista clínico, la década de 1950 fue un período de enorme pesimismo debido a la decepción que ocasionó la promesa fallida de la mostaza nitrogenada de producir remisiones duraderas. Se estaban invirtiendo una gran cantidad de recursos en un controvertido esfuerzo por desarrollar nuevos fármacos y, sin embargo, no había pruebas de que los medicamentos pudieran curar o, ni siquiera, ayudar a los pacientes de cáncer en cualquier estadio, a pesar de algunas impresionantes respuestas antitumorales. Clínicamente, los años cincuenta terminaron con el mismo sabor amargo con que comenzaron.

En la década de 1960, la hematología o la oncología médica no existían como especialidades. Aquellos a los que se encomendaba la tarea de administrar quimioterapia en la mayoría de los centros médicos eran considerados, en el mejor de los casos, unos subalternos. Sin embargo, durante estos años, se seguía investigando activamente en nuevos fármacos antitumorales como los antibióticos (por ejemplo, actinomicina D, bleomicina, antraciclinas, etc.), antimitóticos (alcaloides de la *Vinca*), nucleósidos análogos de nucleótidos y nucleósidos (citarabina, 6-mercaptopurina 6-tioguanina y fluoropirimidinas), cisplatino, etopósido o procarbazona ³⁶⁻⁴³. El principal debate en estos momentos consistía en si los fármacos contra el cáncer causaban más daños que beneficios, y realmente, a pesar de todos los nuevos fármacos con potencial efecto antitumoral, nadie pensaba que el cáncer se podía curar con quimioterapia. Evidentemente, hacía falta una prueba, y esa prueba llegaría en la forma de la curación de pacientes con leucemia aguda linfoblástica infantil y en adultos con enfermedad de Hodgkin avanzada. En este sentido se produjo un gran avance tanto en la leucemia aguda

linfoblástica como en la enfermedad de Hodgkin con el descubrimiento de la actividad de los alcaloides vegetales de la *Vinca rosea* en la empresa Eli Lilly^{41,42} y el descubrimiento de la actividad de la ibenzmetizina, que pronto pasaría a llamarse procarbazona, en la enfermedad de Hodgkin por Brunner y Young⁴⁴ y De Vita y colaboradores⁴⁵. Sin embargo, aunque en la clínica se obtenían regresiones impresionantes con cualquiera de estos agentes únicos, las remisiones eran de corta duración⁴⁶. Para abordar este problema, diferentes grupos clínicos plantearon aplicar la misma estrategia utilizada recientemente para el tratamiento de la tuberculosis, en la que las combinaciones de fármacos antibióticos aumentaban la eficacia del tratamiento⁴⁷. Por ejemplo, Frei y colaboradores⁴⁸ administraron simultáneamente metotrexato, 6-mercaptopurina y prednisona para inducir remisiones a largo plazo en niños con leucemia linfoblástica aguda y De Vita y colaboradores⁴⁹ demostraron que la mostaza nitrogenada, la vincristina, la procarbazona y la prednisona (el régimen MOPP) podían curar a pacientes con linfoma Hodgkin y no Hodgkin. La introducción de la quimioterapia combinada cíclica marcó un punto de inflexión en el tratamiento eficaz de las enfermedades neoplásicas.

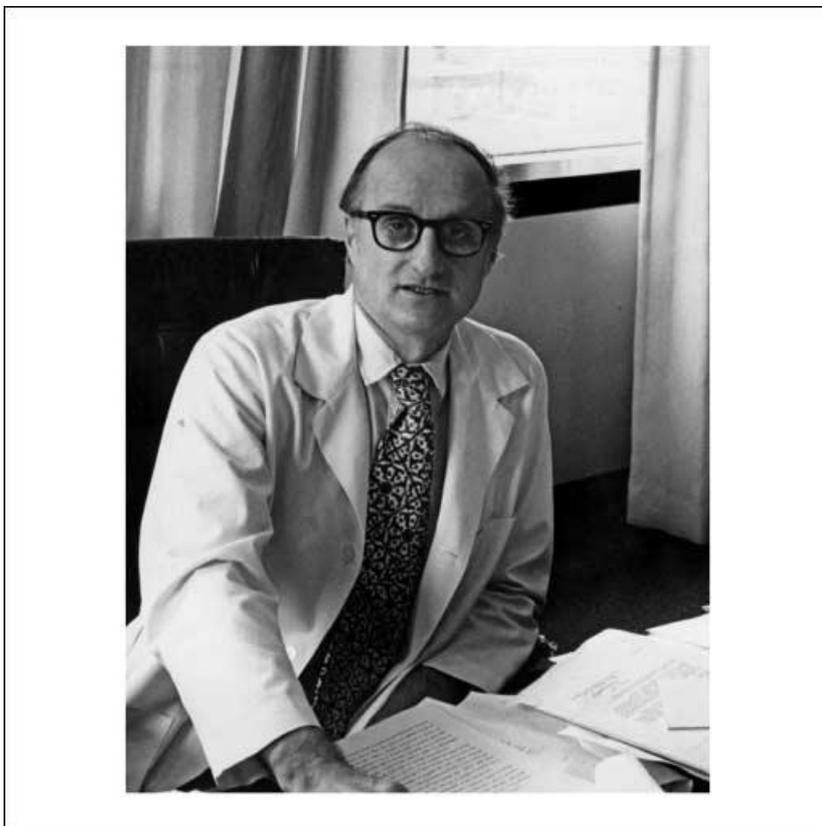


Figura 7. Dr. Emil Frei en 1965, año de la publicación con sus primeros resultados de la terapia combinada de 6-mercaptopurina, metotrexate y prednisona en la LAL infantil.

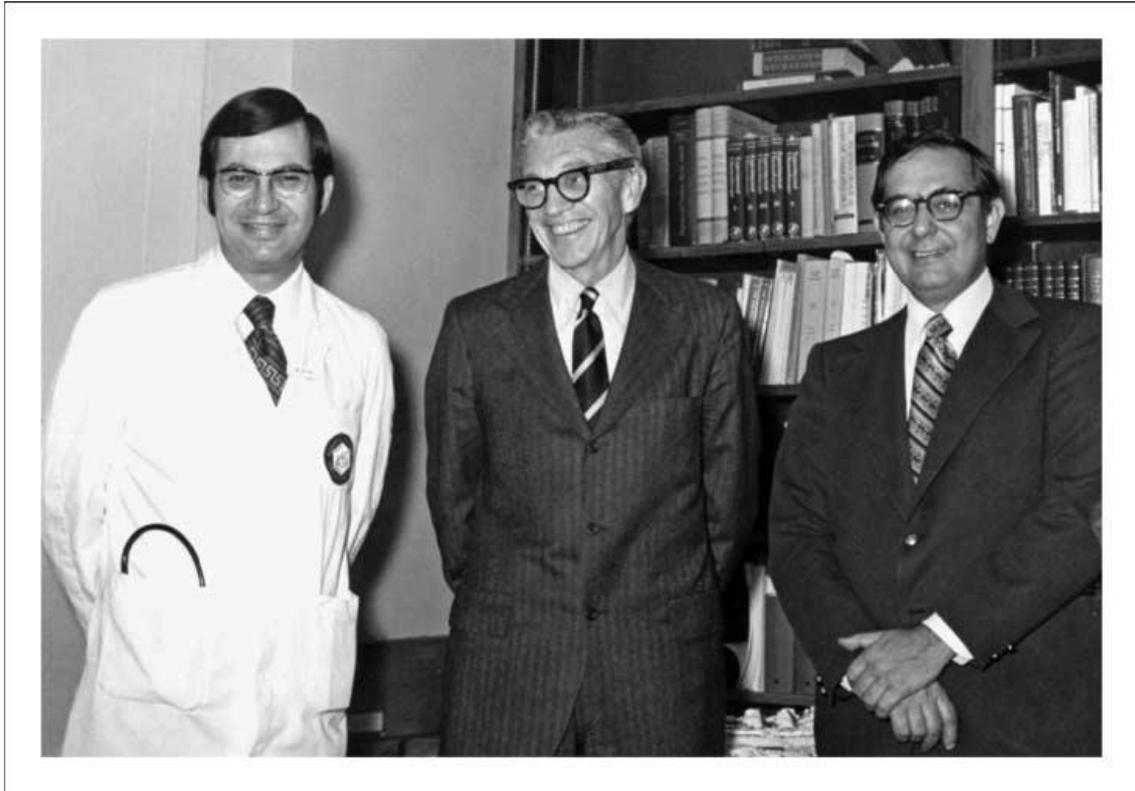


Figura 7. Drs. Vincent T. De Vita, C. Gordon Zubrod, and Paul P. Carbone in 1972, creadores de la combinación de mostaza nitrogenada, vincristina, procarbazona y prednisona para el tratamiento de la enfermedad de Hodgkin.

De manera simultánea al descubrimiento de la actividad antitumoral de nuevos fármacos y a la estrategia de combinación de los mismos que resultó ser crítica, se produjeron notables avances en el conocimiento de la biología de las células tumorales y de los tejidos normales del individuo con cáncer, de la toxicidad diferencial y de la importancia de la farmacocinética en el diseño de los esquemas terapéuticos.

Ya en 1937, Furth y Kahn ⁵⁰ habían demostrado que una sola célula leucémica implantada era suficiente para causar la muerte de un ratón. En el *Southern Research Institute* en Birmingham, Skipper había sugerido que para curar la leucemia experimental inducida en ratones mediante la inoculación de la línea celular L1210 era necesario erradicar la última célula leucémica, porque las extrapolaciones retrospectivas de supervivencia tras el tratamiento sugerían que una única célula superviviente era

suficiente para producir la muerte de un ratón. Estableció la hipótesis de la "destrucción celular fraccionada", que afirmaba que una dosis dada de un fármaco eliminaba una



Figura 8. Dr. Howard Skipper, un matemático biólogo. Fue el principal experto en ratones en el *Southern Research Institute* en Birmingham, Alabama.

fracción constante de células y no un número constante, es decir, la fracción de células eliminadas es siempre la misma, independientemente del tamaño inicial de la población maligna. Dado que el objetivo de la quimioterapia es reducir a cero el número absoluto de células tumorales, esto podría lograrse mediante la administración de ciclos de quimioterapia que favorecieran el efecto multiplicador de las sucesivas eliminaciones fraccionadas de células, según lo permitiera la tolerancia de los tejidos normales limitantes de la dosis. Así, se planificaron ciclos intermitentes de tratamiento para permitir periodos de

recuperación de los tejidos normales altamente proliferativos (médula ósea y tracto gastrointestinal), ya que la recuperación de la población de células tumorales sería más lenta que la de estos tejidos normales lesionados. Esta estrategia permitió el retratamiento con dosis terapéuticas completas con la mayor frecuencia posible, de acuerdo con la hipótesis de la destrucción celular fraccionada ⁵¹⁻⁵³. La teoría de Skipper también postulaba que, si se utilizaban dos o más fármacos, las muertes logarítmicas inducidas por cada fármaco serían multiplicativas. Así, si se utilizaban suficientes fármacos a dosis adecuadas aplicados contra un tumor de tamaño suficientemente pequeño, el número de células que se mantuvieran viables tras el tratamiento debería ser inferior a uno, lo que significaba en la práctica que el tumor había sido destruido.

Durante estas primeras fases del desarrollo del tratamiento del cáncer, la utilidad de los agentes quimioterapéuticos se veía limitada por su toxicidad sobre la médula ósea normal y los epitelios gastrointestinales. Los primeros informes publicados sobre la replicación de células tumorales humanas tras la administración de timidina tritizada a pacientes demostraron tiempos de replicación lentos para las células tumorales humanas

en comparación con los de las células normales de la médula ósea y del intestino ⁵⁴⁻⁵⁶. Estudios posteriores confirmaron que, en pacientes con cáncer, las células normales de la médula ósea, los ganglios linfáticos, el epitelio gastrointestinal y los tejidos peritumorales presentaban una población mayor y de replicación más rápida en comparación con la de las células tumorales coexistentes ⁵⁷. Un mayor conocimiento de la citocinética también sirvió para explicar la tasa diferencial de reparación de los tejidos normales (especialmente la médula ósea y el epitelio gastrointestinal) y los tejidos tumorales tras un daño inducido por la quimioterapia ⁵⁸⁻⁵⁹. Estos resultados en humanos junto con los resultados en ratones de Skipper, sentaron las bases para la administración intermitente de quimioterapia que permitía la regeneración total de los tejidos normales, pero no la de los tejidos tumorales.

También durante esos años, finalmente se consideró que el resultado de la quimioterapia contra el cáncer no sólo dependía de la sensibilidad inherente de un tumor específico, sino también de importantes factores farmacocinéticos como la absorción, el metabolismo y la eliminación de los fármacos, que determinan tanto la dosis como la frecuencia y la vía de administración de los mismos para conseguir su máxima eficacia antitumoral. También se utilizaron parámetros farmacocinéticos y tóxicos para diseñar las diferentes combinaciones de quimioterapia. Si los fármacos presentaban patrones de toxicidad sobre los órganos normales que no se solapaban, cada uno de ellos podría utilizarse en dosis completas y la eficacia de cada agente se mantendría plenamente en la combinación.

Mientras Skipper probaba estos avances en el conocimiento de la citocinética de los tumores y de la farmacocinética de los agentes quimioterápicos en ratones portadores de la leucemia L1210, Frei, Freireich y otros hacían lo mismo en niños con leucemia linfoblástica, aprovechando el recién descubierto alcaloide de la *Vinca*, la vincristina, para diseñar el programa conocido como "VAMP" (vincristina, ametofterina, 6-mercaptopurina y prednisona). Éste fue el primero de una serie de programas de tratamiento administrados cíclicamente que aumentaron la tasa de remisión y su duración de forma escalonada hasta alcanzar el 60% a finales de la década, con la mitad de las remisiones alcanzando una duración antes impensable, medida en años no en meses, y compatible con la curación ^{63,64}. Skipper informó de la curación de la L1210 en el ratón en 1964 ⁵¹, el primer tratamiento curativo de una leucemia experimental con fármacos, y para 1970, la mayoría de los investigadores consideraban que alguna fracción de la leucemia aguda

infantil era curable ⁶⁵. En la actualidad, la mayoría de los niños con leucemia aguda linfoblástica se curan mediante el uso agresivo de programas de quimioterapia combinada. A principios de la década de 1960, la enfermedad de Hodgkin avanzada también era uniformemente mortal y se trataba con agentes alquilantes únicos. Aunque se conseguían remisiones en hasta el 25% de los pacientes, como en la leucemia aguda infantil, eran breves y generalmente incompletas. De Vita, Moxley y Frei aprovecharon ventaja de la disponibilidad de los alcaloides de la *Vinca* y de los datos del *National Cancer Institute* (NCI) sobre la procarbazona en la enfermedad de Hodgkin, para desarrollar primero el programa MOMP ^{66,67}, que combinaba mostaza nitrogenada con vincristina, metotrexato y prednisona, y después el programa MOPP ^{68,69}, que omitía el metotrexato y aprovechaba la disponibilidad de la procarbazona, para probar los preceptos de la combinación de quimioterapia en la enfermedad de Hodgkin avanzada no tratada previamente. Los resultados de MOMP y MOPP se presentaron por primera vez en reuniones de la *American Association of Cancer Research* (AACR) en 1965 y 1967 respectivamente ^{66,68}, y el estudio de la combinación MOPP se publicó en *Annals of Internal Medicine* en 1970 ⁶⁹. En este año, la enfermedad de Hodgkin también se consideraba curable con fármacos y proporcionó el primer ejemplo de un cáncer avanzado en adultos curado con quimioterapia. Hoy en día, la enfermedad de Hodgkin es curable en el 90% de los casos, y la quimioterapia se integra con la radioterapia también para la enfermedad en fase inicial.

Los pacientes con lo que entonces se llamaba linfoma histiocítico difuso (ahora linfoma difuso de células grandes) se trataron también con los mismos esquemas de quimioterapia. En 1975, los investigadores del NCI informaron de la curación del linfoma difuso de células grandes avanzado con el régimen denominado C-MOPP, que sustituía la mostaza nitrogenada por ciclofosfamida ⁷⁰.

Al igual que en la leucemia, los resultados del programa MOPP se confirmaron rápidamente. En Estados Unidos, en 1984, la mortalidad nacional por leucemia infantil y enfermedad de Hodgkin había descendido en un 65%, ya que las nuevas terapias se adoptaron rápidamente. A finales de la década de 1960, se había forjado el eslabón perdido del programa de quimioterapia, y ahora estaba claro que los fármacos anticancerosos podían curar el cáncer, o al menos la LAL infantil y la EH ⁷¹.

Completamente diferente era el caso de la leucemia aguda mieloblástica (LAM) en la que el régimen poliquimioterápico VAMP no se había mostrado útil. En aquellos

años, había varias causas para el fracaso en el tratamiento efectivo de la LAM: a) la falta de fármacos eficaces y la impotencia de la 6-mercaptopurina como pieza central de la terapia; b) la falta de apreciación de que había que “vaciar” la médula de células leucémicas (reducción de tres logaritmos como mínimo) para permitir el resurgimiento de la hematopoyesis normal a partir de células madre hematopoyéticas normales (en aquel momento no existían pruebas de que persistieran células madre normales en la médula del paciente con LAM, un requisito que subyace a la lógica de la quimioterapia); c) la ausencia de instrumentos fáciles para la biopsia percutánea de médula para determinar la celularidad y los blastos leucémicos residuales y, con ello, el efecto próximo de la terapia; d) la falta de disponibilidad de transfusiones de plaquetas para tratar las hemorragias por trombocitopenia; e) la limitada gama de antibióticos bactericidas (principalmente penicilina y estreptomina) disponibles y la ausencia de antifúngicos para uso parenteral; f) las dificultades de acceso a la circulación venosa para extraer sangre repetidamente para pruebas de laboratorio o para administrar fluidos, sangre o terapia intravenosa (los cirujanos hacían "cortes" a la cabecera del paciente para acceder a una pequeña vena del antebrazo para el acceso intravenoso); y g) la falta de voluntad de la mayoría de los médicos, incluso en un entorno académico, para creer que la LAM era susceptible de terapia, y para tratar al paciente de forma lo suficientemente agresiva como para permitir el restablecimiento de la hematopoyesis normal y, de ese modo, inducir una remisión. Aunque esto último estaba en parte relacionado con la falta de disponibilidad de fármacos útiles, y con el miedo a contribuir a una muerte más temprana por trombocitopenia y neutropenia prolongadas sin las herramientas adecuadas para tratar esas afecciones, en gran parte se debía a la aceptación de la LAM como una afección mortal e intratable.

Sin embargo, durante las décadas de los sesenta y setenta cambió totalmente la situación de intratabilidad de la LAM con la introducción de régimen quimioterápico intensivo conocido como 3+7, que se ha mantenido sin variación durante cuarenta años como único tratamiento posible de la LAM.

Schabel y Skipper, estudiando la arabinosilcitosina (citarabina, ara-C) entre otros antimetabolitos, informaron de que las células leucémicas de la L1210 eran sensibles a la Citarabina principalmente durante la síntesis del ADN, en la fase S del ciclo celular⁷². Posteriormente, Freireich y cols. del NCI utilizaron esta idea para tratar a catorce pacientes con LAM con una infusión continua de Citarabina durante cinco días, repetida a los nueve días, según fuera necesario. De los catorce pacientes tratados, seis tuvieron

una remisión corta ⁷³. En una presentación en el Noveno Congreso Internacional sobre el Cáncer celebrado en Tokio en 1966, Ellison y Holland, del *Roswell Park Memorial Institute* de Buffalo (Nueva York), Richard Silver, del *Cornell Medical College-New York Hospital*, y Jean Bernard y Michel Boiron, del *Hôpital Saint Louis* de París, presentaron sus trabajos sobre la utilidad de la Citarabina en la inducción de la remisión en LAM ⁷⁴, con tasas de remisión completa (RC) entre el 20 y 30 %, y hasta el 45% en pacientes menores de 50 años. Este conjunto de estudios demostró que la citarabina administrada en infusiones de 12 o 24 h era superior a la 6-mercaptopurina administrada a pacientes comparables por vía oral o parenteral. Los estudios del NCI condujeron a resultados similares a los del Grupo B de Leucemia Aguda (ALGB) ⁷⁵. Estos resultados terapéuticos supusieron un avance espectacular, al proporcionar el primer agente único que podía inducir remisiones de la LAM con cierta frecuencia y duración. Fue sin duda un cambio de escenario, tanto terapéutica como psicológicamente. La aparente restitución de la hematopoyesis normal era una prueba circunstancial sólida de que la médula de muchos pacientes conservaba unas células multipotenciales hematopoyéticas (células madre hematopoyéticas) que podían reconstituir la hematopoyesis, si las células de la LAM eran eliminadas eficazmente. Pero se trataba de un único fármaco eficaz en LAM, se necesitaban más quimioterápicos que posibilitaran la terapia combinada.



Figura 9. Dr. James Holland, uno de los pioneros en el uso de citarabina en LAM, fotografiado en 1970.

En 1963, científicos franceses aislaron un grupo de antibióticos del *Streptomyces cerulorubidus*, que fueron designados rubidomicina A, B y C basándose en su migración en la cromatografía en capa fina. La rubidomicina A mostró actividad antitumoral y posteriormente se denominó simplemente rubidomicina ⁷⁶. "Rubido" deriva del francés

"rubis", que significa "rubí", debido al color rojizo de los cristales y de la solución a pH ácido. En 1963, científicos italianos, de forma independiente y prácticamente simultánea, informaron del aislamiento de un antibiótico del *Streptomyces peucetius* que demostró tener actividad antitumoral; lo llamaron daunomicina^{77,78}. El prefijo "dauno" derivaba de "Dauni", el nombre de una de las tres tribus que emigraron a Apulia en el sureste de Italia durante la Edad de Bronce y formaron parte de la civilización lapigia. Los dos recién descubiertos antibióticos, la daunomicina y la rubidomicina, demostraron posteriormente, ser idénticos en todas sus propiedades físicas, químicas y biológicas⁷⁹. Los hematólogos del Hospital *Saint Louis*, dirigidos por Jean Bernard, fueron los primeros en explorar ampliamente la utilidad de la rubidomicina en la leucemia aguda^{37, 80}. En 1966, informaron de su uso en niños con LAL que se habían hecho resistentes a la terapia



Figura 10. Prof. Jean Bernard del Hospital *Saint Louis*, en su ingreso en *l'Académie Française*, el 15 de mayo 1975. Prof. Bernard fue el introductor de la daunorubicina en el tratamiento de la LAM.

combinada VAMP y, en algunos casos, resistentes también a la citarabina o a la ciclofosfamida. Entre seis niños en recaída y resistentes a la terapia, pero todavía en buen estado, cuatro tuvieron respuestas completas al fármaco; entre cuatro niños *in extremis*, dos obtuvieron la eliminación de sus blastos de la médula, pero no sobrevivieron debido a su estado terminal antes del tratamiento⁸¹. Al año siguiente, el mismo grupo informó de los resultados de 61 casos de leucemia aguda tratados con rubidomicina, entre los que había veintidós casos de AML. Entre los catorce casos que fueron tratados antes de una segunda recaída, nueve tuvieron una RC⁸². En 1968, en una presentación a la AACR, Bernard y cols. informaron sobre

48 adultos y 16 niños con LAM tratados inicialmente con dosis diarias de rubidomicina, que reconocieron en esta presentación y en el título de su ponencia, era idéntica a la daunomicina. Treinta y ocho pacientes (48%) tuvieron remisiones completas tras un periodo de aplasia medular grave⁸³. En la misma presentación también informaron de un

estudio en el que participó el ALGB del *Roswell Park Memorial Institute* (Protocolo ALGB 6706), en el que 129 pacientes con LAM fueron tratados con tres, cinco o siete inyecciones diarias de daunomicina. De 95 casos evaluables, 26 consiguieron una RC. En 1969, el equipo del *Hôpital Saint Louis*, presentó sus resultados del uso de la rubidomicina, a la que designaron "daunorubicina" para dar cabida al aislamiento y descripción conjuntos del compuesto idéntico por parte de científicos franceses e italianos. En un acto de compromiso y cooperación internacional, franceses e italianos aceptaron una nueva designación para el antibiótico, daunorubicina, para reconocer su descubrimiento independiente y contemporáneo. Dado que el fármaco tiene un color rojo, la inclusión del sufijo "-rubicina", del latín *ruber o rubicund*, rojo, también aportó precisión descriptiva. De sesenta y cuatro pacientes tratados, la mayoría en el momento del diagnóstico, con este agente único, se observó una RC en treinta y cinco ⁸⁴. En este momento, la daunorubicina había demostrado ser un fármaco único muy eficaz para el tratamiento de LAM, capaz de inducir RC en aproximadamente el 25-30% de los pacientes no tratados previamente. Se realizaron una serie de estudios para determinar qué otros fármacos serían un buen aliado de la daunorubicina para mejorar la tasa y la duración de la remisión de la enfermedad. La citarabina era una elección lógica, dado que podía inducir remisiones en el 20-30% de los pacientes no tratados previamente en la distribución de edad aproximada utilizada en los estudios con daunorubicina. Se trataba de los dos mejores agentes únicos para el tratamiento de la LAM y podían ser complementarios. En 1973, Yates, Wallace, Ellison y Holland, informaron sobre 16 pacientes (12 hombres y 4 mujeres, con edades comprendidas entre 17 y 78 años) con LAM estudiados durante un periodo de 6 meses ⁸⁵. Cinco de ocho pacientes (63%) con leucemia no tratada obtuvieron una RC, y dos de ocho pacientes que habían sido tratados previamente tuvieron una remisión parcial. Su programa de 7 días de citarabina, 100 mg/m² en infusión intravenosa continua y 3 días de daunorubicina, 45 mg/m², administrada por vía intravenosa directa simultáneamente con los 3 primeros días de citarabina, proporcionó el mejor equilibrio entre intensidad del tratamiento, número de pacientes que obtenían RC y toxicidad tras un ciclo de terapia. Este estudio ya clásico, estableció la norma de tratamiento de la LAM, conocido familiarmente por los hematólogos como régimen 3+7, que ha resistido sin haber podido ser mejorado durante casi 40 años ⁸⁶.

En las mismas décadas de los sesenta y setenta del pasado siglo XX se estableció también el primer régimen terapéutico con una cierta eficacia frente al Mieloma Múltiple.

En 1947, Alwall ⁸⁷ había reportado de que el uretano produjo reducción de la globulina sérica, aumento de la hemoglobina, desaparición de la proteinuria, y disminución de las células plasmáticas de la médula ósea en un paciente con mieloma múltiple. Sin más cuestionamiento, esta fue la terapia estándar del mieloma durante más de quince años hasta que en 1966, Holland y cols. ⁸⁸ aleatorizaron a 83 pacientes con mieloma múltiple para recibir uretano o un placebo consistente en jarabe con sabor a cereza y cola. No se observó ninguna diferencia en la mejoría objetiva ni en la supervivencia entre los dos grupos de tratamiento.

Blokhin y cols. ⁸⁹ comunicaron en 1958 el beneficio de la sarcolisina (melfalán) en 3 de 6 pacientes con mieloma múltiple. En 1962 Bergsagel y cols. ⁹⁰ informaron de una mejoría significativa en 8 de 24 pacientes con mieloma múltiple que fueron tratados con melfalán. Posteriormente, Hoogstraten y cols. descubrieron que el melfalán, administrado como una dosis de carga durante una semana seguida de terapia de mantenimiento, produjo algunas respuestas en el 78% de 64 pacientes con mieloma múltiple de nuevo diagnóstico o previamente tratados ⁹¹. Los corticosteroides fueron probados por primera vez por Maas, quien determinó en un ensayo doble ciego controlado con placebo, que la prednisona como agente único producía descensos significativos de la globulina sérica y un aumento del hematocrito, pero ninguna diferencia en la supervivencia en comparación con placebo ⁹². En otro estudio, la prednisona, en una dosis única de 200 mg en días alternos, produjo beneficios en 8 de 10 pacientes con mieloma de bajo riesgo con mínimas reacciones tóxicas ⁹³. En un reanálisis de 2 protocolos de tratamiento del mieloma del *Cancer and Leukemia Group B* (CALGB), la prednisona como agente único produjo una tasa de respuesta objetiva del 44% ⁹⁴. El régimen clásico de melfalán más prednisona (MP) se estableció en un ensayo aleatorizado de 183 pacientes con mieloma, dirigido por Alexanian y cols., en el que la supervivencia fue 6 meses mayor con MP en comparación con melfalán solo ⁹⁵. En 1974, Lee y cols. trataron a 36 pacientes con mieloma con carmustina, ciclofosfamida, melfalán, vincristina y prednisona (protocolo M-2) e informaron de que el 60% presentó excelentes respuestas subjetivas y objetivas ⁹⁶. Posteriormente, Case y cols. informaron de una tasa de respuesta del 87% en 73 pacientes con mieloma a los que se administró el protocolo M-2 ⁹⁷. En un amplio metaanálisis de datos individuales de 4.930 personas procedentes de 20 ensayos

aleatorizados, que comparaban el MP con diversas combinaciones de agentes terapéuticos, las tasas de respuesta fueron significativamente superiores con quimioterapia combinada (60% vs 53% con MP). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la duración de la respuesta ni en la supervivencia global⁹⁸. Así pues, el MP siguió siendo el pilar de la terapia del mieloma durante décadas.



Figura 11. Dr. Raymond Alexanian, introductor del régimen melfalán más prednisona para el tratamiento del mieloma múltiple.

Por último, respecto al tratamiento de los linfomas no Hodgkin, siempre estuvo rezagado con respecto al de la enfermedad de Hodgkin, en la que, como hemos mencionado anteriormente, se obtuvieron curaciones con el régimen MOPP desde los años sesenta. Sin embargo, en 1975 investigadores del NCI informaron de la curación de un pequeño número de pacientes con linfoma difuso de células grandes en estadio avanzado con la combinación de fármacos C-MOPP (ciclofosfamida, vincristina, prednisona, procarbazona)⁷⁰. Al año siguiente, apareció el primero de varios artículos que demostraban la eficacia del régimen CHOP (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona) en linfomas de grado intermedio y alto (difuso de células grandes, folicular mixto y de células grandes, e inmunoblástico)⁹⁹. Se han explorado alternativas al programa CHOP con el doble objetivo de la exposición tumoral simultánea al máximo número de fármacos (la hipótesis Goldie-Coldman)¹⁰⁰ y la máxima intensidad farmacológica¹⁰¹. Aunque la mejora de las cifras de supervivencia sugirió inicialmente una ventaja de los programas de tercera generación, los ensayos aleatorizados no revelaron lamentablemente ninguna mejora con respecto a los resultados del CHOP¹⁰². De hecho, el régimen CHOP nunca hasta nuestros días ha sido sustituido como

tratamiento de primera línea, y sólo mejoró sus resultados en LNH con la adición de la inmunoterapia.

Los primeros pasos de la inmunoterapia antitumoral

A lo largo de la historia existen múltiples relatos sobre la regresión o desaparición de crecimientos tumorales tras un episodio infeccioso y/o febril elevado, de los que se tiene constancia desde el antiguo Egipto hasta principios del siglo XVIII en Europa. Pero la base científica de los intentos de modular el sistema inmunológico para tratar el cáncer sólo puede encontrar sus raíces modernas en la segunda mitad del siglo XVIII, cuando se hizo posible la confirmación histológica de una neoplasia maligna. Hace más de 135 años, los médicos alemanes Busch ¹⁰³ y Fehleisen ¹⁰⁴ observaron de forma independiente la regresión de tumores en pacientes con cáncer tras infecciones accidentales por erisipela. En 1868, Busch fue el primero en infectar intencionadamente a un paciente de cáncer con erisipela y observó la retracción del tumor maligno. Fehleisen repitió este tratamiento en 1882 e identificó al *Streptococcus pyogenes* como el agente causante de la erisipela^{103,104}.

En 1891 el cirujano William Coley, del Servicio de Tumores Óseos del *Memorial Hospital* de Nueva York, dio seguimiento a su propia observación independiente de una regresión a largo plazo de un sarcoma tras una infección de erisipela, iniciando un proyecto de 43 años que implicaba la inyección de bacterias inactivadas por calor ("toxina de Coley") en pacientes con cánceres inoperables ¹⁰⁵. Informó de un número significativo de regresiones y curaciones en más de 1.000 pacientes, incluyendo sarcomas, carcinomas testiculares y linfomas, y el método empezó a ganar amplia aceptación y notoriedad ¹⁰⁶ (figura 12). Su toxina perdió gradualmente el uso debido a varios factores, entre ellos su incapacidad para seguir protocolos científicos y obtener sistemáticamente resultados reproducibles. El desarrollo de la radioterapia y la quimioterapia también contribuyó a la pérdida de interés en el uso de este tipo de terapia para tratar el cáncer. No obstante, tras no menos de cinco marcados cambios de actitud hacia la inmunoterapia del cáncer desde la década de 1890 ¹⁰⁷, los principios de Coley han demostrado ser correctos, y el uso de bacterias encontró finalmente una justificación sólida en 1976, cuando Morales y cols. ¹⁰⁸ establecieron la eficacia de la bacteria *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) en el tratamiento del cáncer superficial de vejiga. Los fundamentos de este ensayo clínico incluyen un estudio de 1959 de Old y cols. ¹⁰⁹ que mostraba los efectos antitumorales del BCG en un modelo de ratón. Además de su trabajo sobre el BCG, Old también realizó una amplia

investigación sobre otros temas relacionados con la inmunoterapia del cáncer, y fue descubridor del factor de necrosis tumoral en 1975 ¹¹⁰. Debido a sus descubrimientos fundacionales y dedicación de toda una vida al campo, Coley y Old han sido cada uno sido calificados como padres de la inmunoterapia.

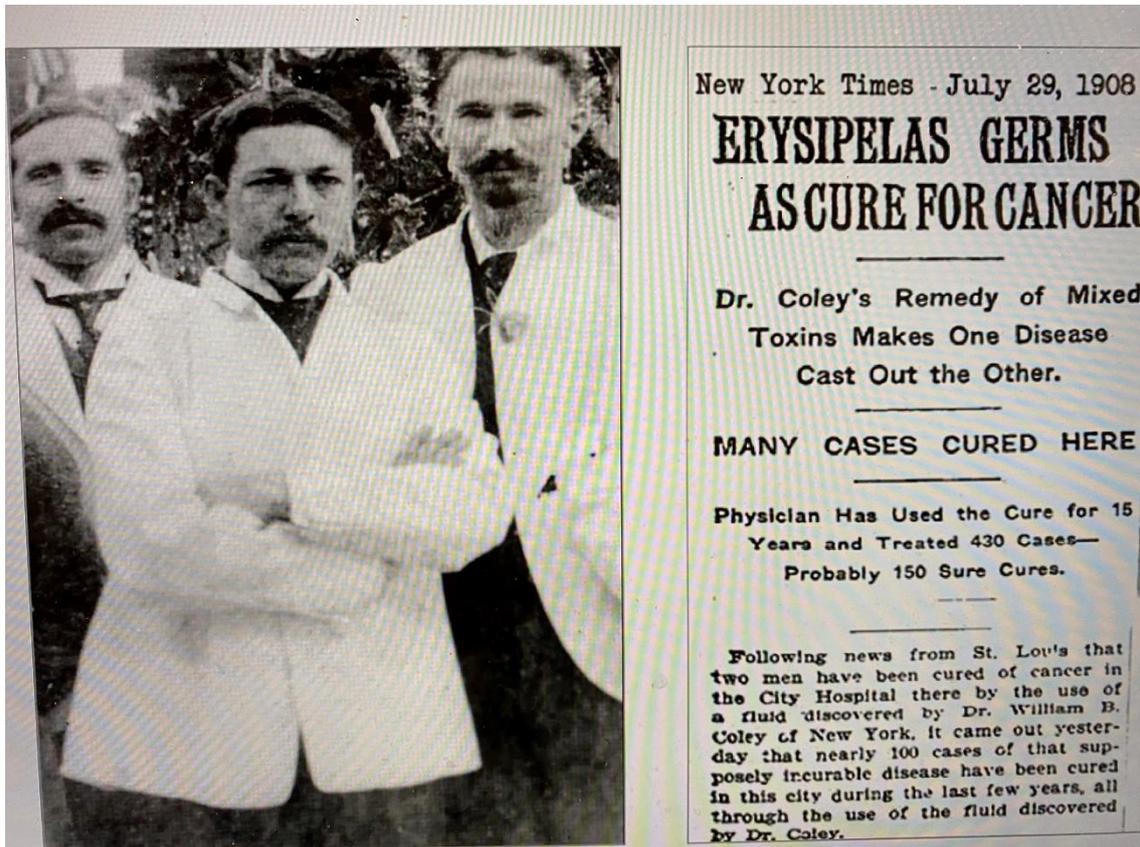


Figura 12. Noticia publicada en el *New York Times* en 1908 sobre el éxito de la Toxina de Coley en el tratamiento del cáncer.

El siguiente hito en la inmunoterapia del cáncer se produjo cuando Thomas y Burnet propusieron por primera vez su excelente teoría de la inmunovigilancia del cáncer¹¹¹. Fue en 1957 cuando sugirieron por primera vez que los linfocitos podrían actuar como centinelas para identificar y posiblemente eliminar las células somáticas transformadas por mutaciones ^{112,113}. Una vez más, la falta de datos y de comprensión de los mecanismos de los antígenos específicos de los tumores, así como la incapacidad técnica para cultivar linfocitos in vitro, pospusieron cualquier otro avance durante muchos años. La teoría de la vigilancia inmunitaria resurgió en 1974, cuando Stutman demostró que los ratones *nude* con las funciones del sistema inmunitario ausentes o insuficientes

desarrollaban cáncer más fácilmente que la cepa de tipo salvaje¹¹⁴⁻¹¹⁶. Burnet y Thomas describieron su elegante hipótesis de la inmunovigilancia del cáncer a mediados del siglo XX, pero no fue hasta finales del siglo XX cuando Schreiber, Dunn y Old demostraron que las células T eran capaces de proporcionar vigilancia antitumoral y respuestas inmunitarias antitumorales¹¹⁷. Siguió otros descubrimientos, como los mecanismos de inmunoeedición, las pruebas de escape de las células cancerosas y el reconocimiento de que los pacientes inmunodeprimidos tienen un riesgo significativamente mayor de desarrollar cáncer.

En paralelo, en el último cuarto del siglo XX se produjo otro descubrimiento fundamental para la inmunoterapia antitumoral, consistente en el desarrollo de la biotecnología necesaria para la producción de anticuerpos monoclonales (AcMo) por Milstein y Köhler en 1975¹¹⁸, por lo que obtuvieron el Premio Nobel en 1984. Los AcMo son anticuerpos monovalentes que se unen al mismo epítipo y se producen a partir de un único clon de linfocitos B. Se generaron por primera vez en ratones en 1975 mediante la técnica de los llamados hibridomas, líneas celulares secretoras de anticuerpos fabricadas



Figura 13. César Milstein y Georges Köhler en 1984, año en que se les concedió el Premio Nobel de Medicina por la invención de la técnica del hibridoma para la producción de anticuerpos monoclonales.

mediante la fusión de linfocitos y líneas celulares de mieloma ¹¹⁸. Desde 1975 se creyó que los AcMo serían ideales tanto para la obtención de imágenes como para la terapia. Los anticuerpos han sido seleccionados durante la evolución por su capacidad para unirse con gran especificidad y afinidad a una amplia variedad de moléculas estables en la superficie celular que parecían ser ideales para ser utilizadas como diana. Sin embargo, el entusiasmo inicial fue rápidamente sustituido por la decepción cuando quedó claro que los anticuerpos monoclonales se enfrentaban a graves problemas cuando se utilizaban como terapéuticos. El primer anticuerpo monoclonal autorizado para uso clínico fue el Orthoclone OKT3 (muromonab-CD3) que se aprobó en 1986 para su uso en la prevención del rechazo del trasplante renal. Se trata de un anticuerpo monoclonal IgG2a de ratón cuyo antígeno afín es CD3. Actúa uniéndose y bloqueando los efectos del CD3 expresado en los linfocitos T. Sin embargo, su uso se limitó a casos agudos debido a los efectos secundarios notificados (por ejemplo, respuesta de anticuerpos humanos anti-ratón) ¹¹⁹. Los primeros eran moléculas murinas y se reconocían como extrañas cuando se inyectaban en los pacientes, lo que provocaba su eliminación por el sistema inmunitario. Además, para ser eficaces, los anticuerpos a menudo necesitan interactuar con determinados elementos del sistema inmunitario, como los receptores de las células efectoras o la cascada del complemento. Debido a su naturaleza murina, estos primeros anticuerpos no interactuaban adecuadamente con los componentes del sistema inmunitario humano y su eficacia biológica se veía muy limitada, lo que condujo a la relativa falta de éxito clínico y comercial temprano de los AcMo. Desde entonces comenzaron a desarrollarse nuevas tecnologías con el fin de reducir la inmunogenicidad del anticuerpo de ratón como la quimerización ¹²⁰ y la humanización ¹²¹ de los anticuerpos, mediante la tecnología del ADN recombinante, creadas en la década de 1980, sustituyendo partes del anticuerpo murino por sus homólogos humanos. Además, las tecnologías para generar anticuerpos totalmente humanos, como las bibliotecas *phage display* ¹²² y los ratones transgénicos ¹²³, se establecieron a principios de la década de 1990. Los primeros anticuerpos quiméricos y los primeros humanizados fueron aprobados por la FDA para uso humano en 1993 y 1997, respectivamente. El gran esfuerzo de desarrollo tecnológico sobre los AcMo condujo finalmente al desarrollo del rituximab, un anticuerpo monoclonal que se une a la proteína CD20 presente en la superficie de los linfocitos B. En 1997 rituximab se convirtió en el primer anticuerpo monoclonal aprobado por la FDA para el tratamiento del cáncer, concretamente del linfoma no Hodgkin ¹²⁴.

Los primeros descubrimientos de la biología celular y molecular de las leucemias

En el último cuarto del siglo XX se habían dado pasos de gigante en el tratamiento de las neoplasias hematológicas con regímenes de quimioterapia combinados, y se ponían los cimientos en el manejo del sistema inmune como herramienta terapéutica. Pero todas las terapias propuestas, aunque realmente llegaron a conseguir una eficacia muy considerable, eran empíricas y se basaban exclusivamente en el conocimiento de la farmacocinética de los agentes quimioterápicos y en conocimientos generales sobre la dinámica de crecimiento de los tumores. Los avances se producían en base a un modelo de investigación clínica fundamentado en el ensayo-error, con el que, no obstante, se obtuvieron logros importantísimos como hemos visto. Pero el paso de una terapia empírica a una terapia diseñada racionalmente exige un profundo conocimiento de la biología celular y molecular de la neoplasia concreta a la que nos enfrentamos, no basta con el conocimiento general de la cinética de crecimiento de los tumores. Solo el conocimiento de la causa, del primer evento oncogénico, puede permitir abordar el tratamiento de cada neoplasia de forma dirigida. Y ese conocimiento también empezó a producirse en el último cuarto del siglo XX, particularmente en dos neoplasias hematológicas que constituyen los dos ejemplos emblemáticos de los primeros desarrollos conducentes a las terapias dirigidas. Nos referimos a la leucemia aguda promielocítica y a la leucemia mieloide crónica.

Leucemia aguda promielocítica

El grupo de la Universidad de Chicago dirigido por Rowley informó por primera vez de una anomalía cromosómica en la leucemia aguda promielocítica (LAP), que se interpretó inicialmente como una delección parcial del brazo largo del cromosoma 17 ¹²⁵. Un año después, ese grupo mismo descubrió que en realidad se trataba de una translocación recíproca entre los brazos largos de los cromosomas 15 y 17 ¹²⁶. Tras un periodo de controversia sobre la especificidad de esta alteración cromosómica y la posibilidad de diferencias geográficas en su incidencia en pacientes con LAP, el grupo de la Universidad de Chicago estableció definitivamente que la t(15;17) con puntos de rotura en 15q22 y 17q21.1 puede encontrarse en todos los pacientes con LAP si se realiza un análisis cromosómico óptimo ¹²⁷.

A principios de los años 90, se produjo otro avance crucial en la caracterización genética de la LAP, el descubrimiento y la clonación del reordenamiento PML-RARA, cuya importancia histórica es incuestionable. El precedente de este descubrimiento fue la identificación del gen RARA en el punto de rotura 17q21 implicado en la t(15;17) ¹²⁸. La clonación y secuenciación del gen RARA y su punto de rotura se atribuye a tres equipos de investigación dirigidos, respectivamente, por de Thé et al. ¹²⁹, Solomon et al. ¹³⁰ y Pelicci ¹³¹, que publicaron sus estudios casi simultáneamente a principios de la década de 1990. Un año más tarde, el gen PML (originalmente denominado MYL), situado en el cromosoma 15q22, fue secuenciado por completo por de Thé et al. ¹³² y Kakizuka et al. ¹³³, que también publicaron simultáneamente su descubrimiento en el mismo número de la revista *Cell*. La clonación de la t(15;17) también permitió el diseño de estrategias basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) no sólo para un diagnóstico rápido, sino también para la detección sensible de la enfermedad mínima residual (ERM) ¹³⁴.

Estos hallazgos son de importancia crítica, pero paradójicamente no favorecieron el tratamiento dirigido de la LAP, que se produjo de forma paralela y no basada en los conocimientos biológicos. Solo más adelante se supo que tenían mucho que ver.

Por el contrario, el mayor avance inspirador de la terapia de diferenciación en las leucemias fue obra de Sachs ¹³⁵, quien descubrió que las células leucémicas podían ser inducidas a diferenciarse bajo la acción de ciertos agentes, contradiciendo el dogma de la irreversibilidad de la transformación leucémica. En los años siguientes, una gran variedad de agentes, entre ellos el ácido retinoico, un derivado de la vitamina A, demostraron su capacidad para inducir la maduración morfológica y funcional de las células mieloides de la línea HL-60 ¹³⁶. Esta línea celular tiene muchas características en común con las células de LAP, pero no es portadora de la t(15;17) y sólo tiene un cromosoma 17. Asimismo, las células leucémicas de pacientes con LAP se diferenciaban también in vitro en presencia de retinoides ¹³⁷. Estas investigaciones de laboratorio no tardaron en dar lugar a observaciones anecdóticas de pacientes con LAP que mostraron una mejoría clínica o incluso una remisión completa, junto con una diferenciación de los promielocitos, cuando fueron tratados con ácido retinoico 13-cis, un isómero del ácido *all trans*-retinoico (ATRA) ¹³⁸.

En 1985, durante una reunión informal de investigadores de Shanghai con Laurent Degos, del Instituto de Hematología del Hospital *Saint Louis* de París, se planteó y discutió la viabilidad de tratar la leucemia induciendo la diferenciación con ATRA y/o

dosis bajas de citarabina. Unos meses más tarde, dada la disponibilidad del ATRA, recién aprobado en China para el tratamiento de enfermedades cutáneas como la psoriasis y el acné, el grupo de Shanghai decidió probarlo en una niña de 5 años con LAP refractaria¹³⁹. Tres semanas después, la niña alcanzó la RC y recibió tratamiento de post-remisión con ATRA alternado con quimioterapia durante un año. Desde entonces, esta paciente ha permanecido en RC. El éxito de este caso animó a seguir probando el fármaco en otros



Figura 14. Huang Meng (primer autor del primer artículo publicado sobre ATRA en LAP) Wang Zhen Yi, Laurent Degos y el Dr. Chang en Shanghai en 1987 cuando se trataron los primeros pacientes de LAP con ATRA.

casos de LAP, lo que marcó el inicio de la era del ATRA y representó el primer modelo de terapia dirigida para el cáncer. Pero nadie sabía que se trataba realmente de una terapia dirigida a la alteración molecular de la LAP, de nuevo se trataba de una terapia puramente empírica que años más tarde se supo que realmente era una terapia dirigida. A finales de 1995, la teoría propuesta era que (1) la LAP se debe al gen de fusión (PML-RARA) y a la proteína PML-RARA; (2) la fracción RARA alterada actúa como una molécula dominante negativa reprimiendo el programa de RARA para la diferenciación mielóide, provocando un bloqueo en el estadio de promielocito; y (3) la fusión de la molécula PML

altera los cuerpos nucleares. Por un proceso desconocido, el ácido retinoico restauraba tanto la diferenciación mieloide como las estructuras nucleares desorganizadas.

Leucemia mieloide crónica

El caso de la leucemia mieloide crónica (LMC) es exactamente el contrario, es decir, se trata verdaderamente del primer caso en la historia en que el conocimiento de la biología molecular de la enfermedad conduce al diseño de una terapia dirigida al evento oncogénico.

El esclarecimiento de la patogénesis molecular de la LMC comenzó en 1960 cuando Peter Nowell y David Hungerford, que trabajaban en Filadelfia, describieron una alteración cromosómica no-random en pacientes con LMC, consistente en un cromosoma acrocéntrico que se pensó que era una deleción cromosómica. En su artículo seminal, los autores afirmaron "los hallazgos sugieren una relación causal entre la anomalía cromosómica observada y la leucemia granulocítica crónica " ¹⁴⁰. Este fue el primer ejemplo de una anomalía cromosómica vinculada a una neoplasia específica y el hallazgo causó escepticismo, ya que se pensaba que la anomalía cromosómica observada era un fenómeno asociado y no causal de la enfermedad. A medida que mejoraron las técnicas de bandas cromosómicas se descubrió que la anomalía cromosómica era un cromosoma 22 acortado. Más tarde, en 1973, la Dra. Janet Rowley determinó que el cromosoma 22 acortado, el llamado cromosoma Filadelfia (Ph), era el producto de una translocación recíproca entre los brazos largos de los cromosomas 9 y 22, t (9:22) (q34; q11) ¹⁴¹.

En los años setenta y ochenta, la investigación de los retrovirus dio lugar a importantes avances en nuestra comprensión de las neoplasias malignas humanas. Estos estudios revelaron que las mutaciones en genes celulares normales podían ser oncogénicas. Por ejemplo, el virus de la leucemia murina de Abelson, descrito inicialmente en 1970 ¹⁴², condujo a la identificación de su gen "transformante", v-ABL, y a la clonación de su homólogo celular normal, c-ABL ¹⁴³. Mediante el mapeo de oncogenes en localizaciones cromosómicas específicas, se reconoció que c-ABL, que normalmente reside en el brazo largo del cromosoma 9, se había translocado al cromosoma 22 en pacientes con LMC ¹⁴⁴. Los puntos de rotura en el cromosoma 22 se

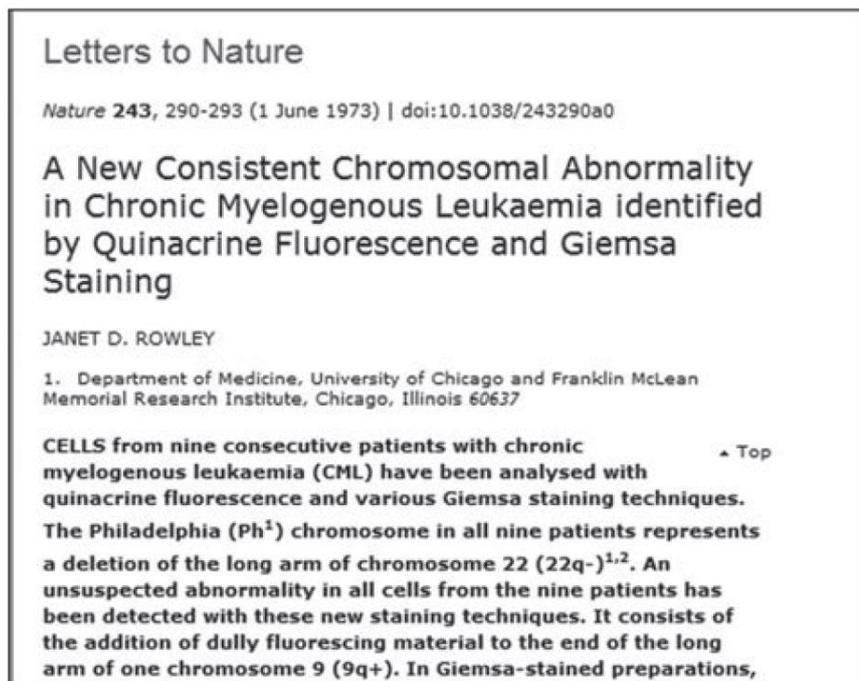


Figura 15. Cabecera del artículo publicado en *Nature* en 1973 por Janet Rowley en el que describe la traslocación recíproca entre los brazos largos de los cromosomas 9 y 22 (cromosoma Filadelfia) en la LMC.

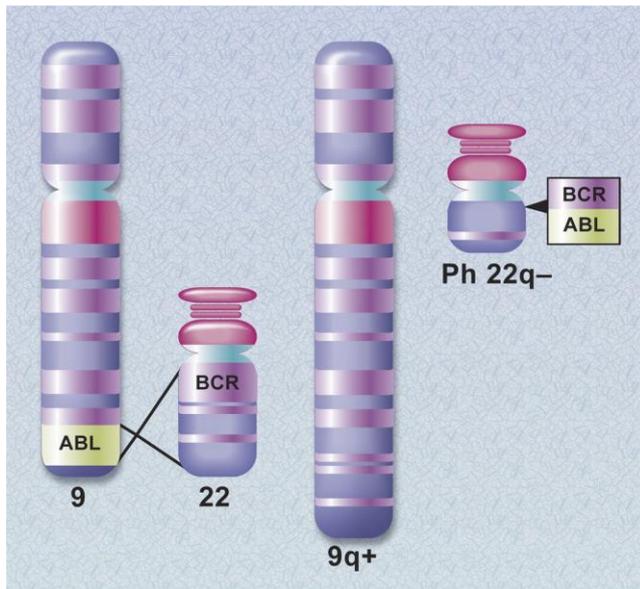


Figura 16. Diagrama esquemático de la translocación que crea el cromosoma Filadelfia. Los genes ABL y BCR residen en los brazos largos de los cromosomas 9 y 22, respectivamente. Como resultado de la translocación (9;22), se forma un gen BCR-ABL formado en el cromosoma derivado 22 (cromosoma Filadelfia). Reproducido de Druker B¹⁴⁶.

agrupaban en una región relativamente pequeña que abarcaba 5,3 kilobases que se denominó región de agrupación de puntos de rotura, o BCR por las siglas de su nombre en inglés *breakpoint cluster region*¹⁴⁵. Esta confluencia del análisis de las anomalías cromosómicas y las alteraciones generadas por retrovirus permitió a los investigadores determinar las consecuencias moleculares exactas de la translocación cromosómica (9;22)¹⁴⁶. Los *Northern blots* con sondas ABL demostraron la presencia de un

ARNm ABL mayor de lo normal en pacientes con LMC ¹⁴⁷, que consistía en un ARNm quimérico debido a la fusión de secuencias BCR y ABL ¹⁴⁸. De forma similar, se detectó una proteína ABL mayor de lo normal con actividad tirosina quinasa en células de LMC y se identificó como el producto del ARNm BCR-ABL ¹⁴⁹. Pocos años después se demostró que BCR-ABL tiene una actividad tirosina cinasa elevada en comparación con c-ABL, y la actividad cinasa de BCR-ABL es esencial para su capacidad de transformación oncogénica ¹⁵⁰. La leucemogenicidad de BCR-ABL fue confirmada en 1990 por dos laboratorios de manera independiente, mediante la expresión de BCR-ABL en modelos animales y la demostración de que esta expresión, como único evento oncogénico, inducía la LMC ¹⁵¹.

Así pues, entre 1960 y 1990 se identificó el BCR-ABL como diana terapéutica ideal en la LMC. Se expresa en todos los pacientes con LMC y se ha demostrado que es la causa de la enfermedad. BCR-ABL funciona como una tirosina quinasa activada constitutivamente y los análisis mutagénicos han demostrado que esta actividad es esencial para la función oncogénica de la proteína. Por estas razones, un inhibidor de la quinasa BCR-ABL sería previsiblemente un agente terapéutico eficaz y selectivo para la LMC, como así se demostró.

El cambio de paradigma en el tratamiento de las neoplasias hematológicas en el siglo XXI

paradigma

Del latín tardío *paradigma*, y este del griego παράδειγμα *parádeigma*.

Teoría o conjunto de teorías cuyo núcleo central se acepta sin cuestionar y que suministra la base o modelo para resolver problemas y avanzar en el conocimiento

R.A.E

El paradigma del tratamiento de las leucemias agudas, crónicas, linfomas, mieloma y en general de todos los tumores de estirpe hematológica durante la segunda mitad del siglo XX era la quimioterapia, generalmente en esquemas que combinaban varios fármacos, y a las dosis máximas toleradas en función de su toxicidad limitante. Y esto no admitía ninguna duda tras los notables éxitos a los que la quimioterapia había conducido durante los cincuenta años anteriores que incluían, como hemos visto, la curación de la LAL en niños y el LH en la mayoría de los pacientes.

Sin embargo, en los últimos años del siglo se habían producido avances extraordinarios en el conocimiento de la biología de las células tumorales y de la patogénesis molecular de algunas de las neoplasias hematológicas, lo que permitió que algunos investigadores, ya en esas décadas finales del siglo XX, comenzaran a buscar con una perseverancia sin límites, fármacos diseñados específicamente para obviar los efectos patogénicos de los eventos moleculares oncogénicos. El ejemplo más evidente es el de Imatinib para el tratamiento de la LMC y, en general, el de todos los inhibidores de las tirosinquinazas.

Actualmente, dado el éxito de Imatinib y el enorme interés por los inhibidores de las tirosinquinazas, es fácil olvidar el grado de escepticismo al que se enfrentaron estas moléculas por parte tanto de la comunidad científica como de la industria farmacéutica en las décadas de 1980 y 1990. Gran parte de este escepticismo se debía al pensamiento predominante de que los inhibidores de la unión al ATP carecerían de la suficiente especificidad de diana para ser clínicamente útiles. Además, algunos de los primeros animales transgénicos *null* para la tirosinquinasa presentaban un fenotipo embrionario

letal que hizo creer que los inhibidores de la tirosinquinasa serían extremadamente tóxicos. Por último, se consideraba que la focalización en un único defecto molecular no bastaría para tratar cánceres muy heterogéneos.

Pero a pesar del escepticismo, lógico y bastante fundamentado, lo cierto es que Imatinib fue aprobado por la FDA en el año 2001 para el tratamiento de la LMC tras haber demostrado resultados de remisiones moleculares de la enfermedad previamente nunca obtenidos.

Y esto constituyó en el año 2001, justo coincidiendo con el cambio de siglo, el primer paso en el cambio del antiguo paradigma de la quimioterapia hasta dosis tóxicas como única opción potencialmente útil en el tratamiento de las neoplasias hematológicas, a la época actual, en la que ya podemos tratar muchas neoplasias hematológicas con regímenes exentos de quimioterapia, con resultados de eficacia superior y toxicidad reducida.

Hoy día, en el año 2023, contamos con dos grandes grupos de agentes terapéuticos para las neoplasias hematológicas que sustituyen completamente a la quimioterapia en algunos casos y en otros la complementan (por el momento). Nos referimos a las terapias dirigidas a dianas moleculares y al grupo de los agentes inmunoterápicos, a los que en la última década se han incorporado las células modificadas genéticamente para presentar receptores quiméricos específicos de antígenos tumorales.

Terapias dirigidas a dianas moleculares

La transformación de las células humanas normales en estados malignos está impulsada por alteraciones genéticas, generalmente establecidas en etapas sucesivas. Estas alteraciones son en su gran mayoría neutras, y sólo algunas de ellas son mutaciones conductoras (*drivers*) que dotan a las células de cualidades realmente tumorigénicas, como el incremento de la señalización proliferativa, la evasión de los mecanismos supresores del crecimiento, la resistencia a la muerte celular, la inducción de angiogénesis, la activación de la capacidad de invasión, y la adquisición de la inmortalidad replicativa ¹⁵². Desde que Hanahan y cols. las formularon, estas seis características esenciales de la biología de las células tumorales han proporcionado el anteproyecto para explorar posibles dianas terapéuticas. De hecho, la mayoría de los fármacos dirigidos a dianas moleculares están diseñados para interferir en las vías de

señalización celular que proporcionan estas propiedades a las células tumorales. Y lo que es más importante, estas estrategias terapéuticas dirigidas a los rasgos distintivos del cáncer han demostrado su eficacia en entornos clínicos y han pasado a formar parte de nuestro arsenal terapéutico para las neoplasias hematológicas en el siglo XXI.

Inhibidores de las tirosinquininas (ITKs)

La gran mayoría de los fármacos dirigidos a dianas moleculares son pequeñas moléculas con actividad inhibitoria de las proteínquininas dada su enorme implicación en la transformación, el crecimiento, la proliferación y la supervivencia de las células tumorales. Las proteínquininas se clasifican en tirosinquininas receptoras, tirosinquininas no receptoras (citoplasmáticas), serina/treonina-quininas y lípido-quininas, en función de su localización subcelular y tipo de sustrato ¹⁵³. En todos los casos su función enzimática consiste en la transferencia de una molécula de ATP a un determinado sustrato que, una vez fosforilado, desencadena una vía de señalización intracelular. Las alteraciones de las proteínquininas, particularmente de las tirosinquininas, en las células tumorales conllevan su activación constitutiva permanente, lo que activa de manera no-regulada las vías intracelulares de proliferación.

BCR-ABL

Como hemos visto anteriormente, el mecanismo de la patogénesis molecular de la LMC estaba totalmente establecido en los años 90 del siglo XX: la traslocación t(9;22)(q34;q11) ocasiona un gen de fusión *bcr-abl* que codifica una proteína BCR-ABL con actividad tirosinquinasa descontrolada, que es la responsable de la hiper-proliferación característica de las células tumorales.

Y también ya estaba claro en los años 90 que un fármaco inhibidor específico de la actividad tirosinquinasa de BCR-ABL podría ser un tratamiento altamente eficaz, al inhibir selectivamente el mecanismo responsable de la actividad proliferativa de las células tumorales. Sin embargo, había varios problemas que resolver, el primero de los cuales consistía en buscar un inhibidor que fuera relativamente específico de la tirosinquinasa BCR-ABL, ya que, de lo contrario, la toxicidad sería inasumible. La preocupación relativa a la especificidad se comenzó a despejar en 1988, cuando Yaish y cols. publicaron una serie de compuestos, conocidos como tirfostinas, que demostraron ser inhibidores específicos de diferentes tirosinquininas ¹⁵⁴. A partir de ese momento, los

científicos de Ciba-Geigy (ahora Novartis), bajo la dirección de Nicholas Lydon y Alex Matter, iniciaron un programa de investigación general sobre inhibidores de las quinasas. El grupo de Lydon realizó cribados de alto rendimiento de bibliotecas químicas en busca de compuestos con actividad inhibitora de la quinasa y a partir de este enfoque de búsqueda masiva, se identificó un compuesto líder de la clase 2-fenilaminopirimidina. La actividad de la serie de la 2-fenilaminopirimidina fue optimizada para varias quinasas por un químico de gran talento, Joerg Zimmerman, que sintetizó compuestos químicamente similares, y analizó la relación entre su estructura y su actividad ¹⁵⁵.

En 1993 el oncólogo Brian Druker, trabajando en aquel momento en la Universidad de Oregon sobre la actividad de BCR-ABL, contactó con el grupo de Lydon en Ciba-Geigy y llegaron a un acuerdo para testar varios de los nuevos compuestos de la serie 2-fenilaminopirimidina en la inhibición de BCR-ABL. En estas pruebas, el llamado inhibidor de la transducción de señales STI571 (imatinib) se identificó como el compuesto más específico para la inhibición selectiva de BCR-ABL ¹⁵⁶. (Figura17). Finalmente, imatinib resultó ser el compuesto ideal para el desarrollo clínico, basándose no sólo en su selectividad contra las células de LMC in vitro, sino también en sus atributos similares a los de un fármaco, incluidas sus propiedades farmacocinéticas y de formulación.

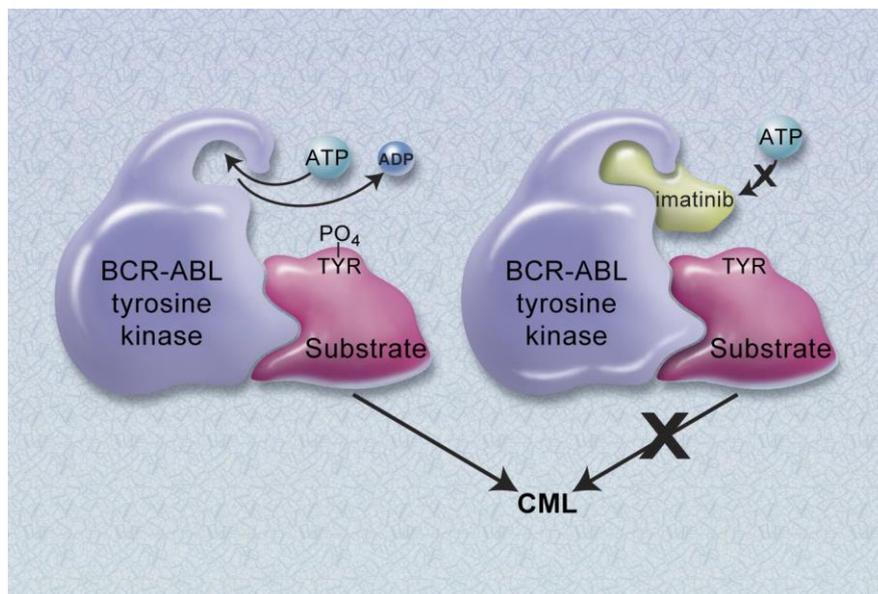


Figura 17. Imatinib ocupa de forma selectiva el bolsillo del ATP en BCR-ABL impidiendo su unión y la actividad tirosinquinasa de BCR-ABL. Reproducido de Druker B ¹⁴⁶

Pero lo que no se había podido anticipar es que una droga como imatinib, no sólo inhibía la actividad tirosinquinasa de BCR-ABL, sino que reducía drásticamente el número de células portadoras del cromosoma Philadelphia, llevándolas a la apoptosis. Se buscaba “frenar” la actividad de las células tumorales pero lo cierto es que imatinib las “mataba”. Esta observación, confirmada en otros experimentos en ratones y cultivos de células, llevó a la noción de “dependencia oncogénica”. La idea es que una célula cancerosa está tan alterada por múltiples mutaciones que no puede sobrevivir sin las señales que emite: en otras palabras, la célula cancerosa va a la apoptosis, o muerte programada, cuando uno de sus oncogenes principales (*driver oncogenes*) es inactivado.

Este hallazgo absolutamente inesperado y afortunado se confirmó en los primeros pacientes que recibieron imatinib en los primeros ensayos fase I, en los que se constató que, no sólo se producía la remisión hematológica de la enfermedad, sino también la remisión molecular debida a la completa desaparición de las células tumorales y su sustitución por las células hematopoyéticas normales, que persistían intactas en el paciente. El hallazgo, como es fácil suponer, amplió completamente la perspectiva de las terapias dirigidas a la inactivación de oncogenes, y fue publicado en 2002 por Weinstein en *Science* en un artículo cuyo título es altamente sugerente: “Adicción a los oncogenes- El talón de Aquiles del cáncer”¹⁵⁷.

Imatinib fue el primer inhibidor de BCR-ABL aprobado en 2001 por la FDA para el tratamiento de pacientes con LMC en los que había fracasado el tratamiento convencional, y al año siguiente, en 2002 para la LMC de nuevo diagnóstico. De esta forma, la LMC se convertía en el primer tumor maligno de la historia cuyo tratamiento no consistía en quimioterapia sino en unos simples comprimidos por vía oral. Esta revolución en el tratamiento de la LMC en particular, y de las neoplasias hematológicas en general, se debió a los resultados espectaculares del ensayo clínico fase III IRIS en 1.106 pacientes con LMC de nuevo diagnóstico¹⁵⁸. En el seguimiento de 18 meses de estos pacientes, imatinib fue superior al tratamiento convencional (IFN α más dosis bajas de citarabina) en términos de respuesta hematológica y citogenética, disminución de la probabilidad de progresión y tolerabilidad. Las tasas de respuesta duradera, la disminución de la progresión a fases más avanzadas y un beneficio neto en la supervivencia global de estos pacientes se mantenían con el tratamiento a largo plazo con imatinib en comparación con la quimioterapia estándar¹⁵⁹.

Pero, a pesar de estos resultados sin precedentes, entre el 20% y el 30% de los pacientes que alcanzan la remisión completa citogenética acaban desarrollando una resistencia secundaria (adquirida) a imatinib¹⁶⁰. Aproximadamente entre el 40% y el 90% de los pacientes resistentes a imatinib desarrollan esa resistencia secundaria como resultado de nuevas mutaciones que surgen en el dominio de la quinasa de BCR-ABL. Estas alteraciones genéticas incluyen la mutación T315I, que cambia la conformación de BCR-ABL, impidiendo que imatinib acceda al bolsillo de unión de la proteína con el ATP, lo que hace imposible el funcionamiento de la inhibición de BCR-ABL por imatinib¹⁶⁰. El desarrollo de las terapias dirigidas a dianas moleculares constituye una auténtica guerra en la que los tumores aprenden a defenderse desarrollando mecanismos de resistencia. Y los científicos aprenden a desarrollar nuevas moléculas capaces de vencer esos mecanismos de resistencia. Los ITKs de segunda y tercera generación, como dasatinib, nilotinib, bosutinib y ponatinib, se diseñaron precisamente para superar la resistencia adquirida a imatinib.

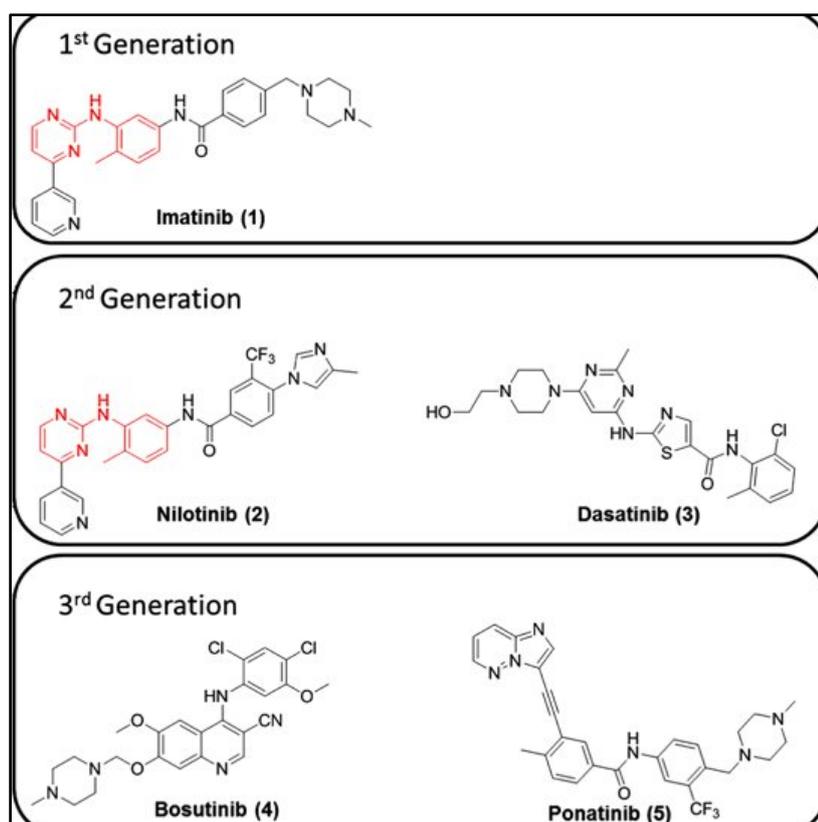


Figura 18. Estructura molecular de los ITKs que inhiben BCR-ABL.

Dasatinib es un inhibidor de BCR-ABL más potente que imatinib y capaz de inactivar varias formas de BCR-ABL resistentes a imatinib, con la excepción de T315I/A, Q252H, E255K/V, F317L/I y V299L ¹⁶¹. Cuando se comparó dasatinib directamente con imatinib en 519 pacientes con LMC de nuevo diagnóstico en el ensayo de fase III DASISION, un número significativamente mayor de pacientes tratados con dasatinib alcanzaron una respuesta citogenética y molecular en comparación con los tratados con imatinib a los 12 meses ¹⁶². Las tasas de progresión de la enfermedad también fueron inferiores para dasatinib, por lo que, basándose en este ensayo, dasatinib fue aprobado en 2010 como tratamiento de primera línea para pacientes con LMC de nuevo diagnóstico. En el seguimiento de 4 años, dasatinib siguió demostrando respuestas citogenéticas y moleculares más altas y rápidas en comparación con imatinib, sin toxicidad inesperada. Sin embargo, no se notificaron diferencias a largo plazo en las tasas de supervivencia global (93% frente a 92%) o supervivencia libre de progresión (90% frente a 90%) ¹⁶³.

Nilotinib es también un inhibidor oral de BCR-ABL indicado para el tratamiento de primera y segunda línea de pacientes con LMC. Nilotinib se une a BCR-ABL con más potencia que imatinib e inhibe la mayoría de las formas mutadas clínicamente relevantes de BCR-ABL, con la excepción de T315I, Y253H, E255K/V y F359V/C. ¹⁶⁴. El ensayo fase III ENESTnd en pacientes con LMC de nuevo diagnóstico demostró que nilotinib se asociaba a tasas más altas de remisión citogenética y molecular a los 12 meses en comparación con imatinib ¹⁶⁵. En el seguimiento a 4 años, el tratamiento con nilotinib siguió asociado a tasas significativamente superiores de remisión molecular y de ausencia de progresión a fase acelerada o fase blástica en comparación con imatinib; sin embargo, las tasas de supervivencia global y supervivencia libre de progresión con nilotinib e imatinib fueron similares ¹⁶⁶.

A pesar de las prometedoras respuestas observadas con dasatinib y nilotinib a largo plazo, ninguno de los dos agentes ha sido eficaz contra la mutación T315I, y ninguno ha demostrado una mejora de la supervivencia global en comparación con el imatinib.

Bosutinib es un TKI dual BCR-ABL aprobado exclusivamente para el tratamiento de segunda línea de pacientes que no respondieron a un tratamiento anterior con un ITK.95 Es eficaz contra la mayoría de las mutaciones de BCR-ABL que son resistentes al imatinib, dasatinib y nilotinib, con excepción de la T315I y la V299L ¹⁶⁷. Bosutinib

se comparó con imatinib en el ensayo de fase III BELA, en el que participaron pacientes con LMC de nuevo diagnóstico ¹⁶⁸. No se encontraron diferencias significativas entre bosutinib e imatinib en cuanto a remisión citogenética a los 12 meses, por lo que bosutinib no se ha aprobado para su uso en pacientes con LMC de nuevo diagnóstico.

Por último, ponatinib es un inhibidor de BCR-ABL indicado exclusivamente para su uso en pacientes con LMC positiva para T315I o en los que no esté indicado ningún otro ITK. La actividad antileucémica de ponatinib se basa en su actividad inhibidora de todas las formas mutadas de BCR-ABL, incluida la mutante T315I, que es resistente a todos los demás ITKs de BCR-ABL disponibles en la actualidad. El ensayo de fase II PACE evaluó ponatinib en pacientes con LMC en fase crónica, fase acelerada o fase blástica, que eran resistentes o intolerantes a dasatinib o a nilotinib o que tenían la mutación T315I ¹⁶⁹. Las respuestas fueron duraderas y se produjeron independientemente de la mutación BCR-ABL, sin que ninguna mutación mostrara resistencia al ponatinib. Además, el 57% de los pacientes con LMC en fase acelerada y el 32% con LMC en fase blástica tuvieron respuestas hematológicas importantes, y el 34% y el 18%, respectivamente, tuvieron respuestas moleculares mayores, lo que condujo a su aprobación para el tratamiento de las tres fases de la LMC ¹⁶⁹ sólo para los pacientes que portan la mutación T315I o que no han respondido a dos o más ITKs.

JAK2

La transducción de señales mediada por JAK2 a través de receptores de citoquinas activados es crucial para la hematopoyesis. La identificación de la mutación de ganancia de función JAK2V617F en pacientes con neoplasias mieloproliferativas (NMP) Philadelphia negativas (Ph-neg) proporcionó la primera pista sobre el mecanismo patogénico de estas enfermedades ¹⁷⁰. Al tratarse de una mutación somática en las células madre hematopoyéticas que permite la actividad constitutiva de JAK2 en ausencia de citocinas que se unan a sus receptores afines, parecía ser un candidato ideal para explicar la patogénesis de las NMP, lo que impulsó numerosos esfuerzos de desarrollo de terapias dirigidas a JAK2. Sin embargo, los pacientes sin esta mutación también desarrollan NMP Ph-neg y presentan evidencias de una mayor actividad JAK-STAT. La mutación JAK2V617F está presente en el 95% de los pacientes con policitemia vera y en el 50% de los pacientes con trombocitemia esencial o mielofibrosis primaria. Además del

JAK2V617F, se han identificado varias mutaciones que conducen a la hiperactivación de la vía JAK-STAT en las NMP clásicas Ph-neg. Aproximadamente el 3% de todos los pacientes con policitemia vera tienen mutaciones en el exón 12 del JAK2¹⁷¹, y los pacientes con mielofibrosis o trombocitemia pueden tener mutaciones en el gen MPL¹⁷² del receptor de la trombopoyetina o en el gen CALR. Aunque el mecanismo de acción preciso de la mutación CALR sigue sin estar claro, las pruebas procedentes de un análisis genómico integrado y de estudios preclínicos sugieren que las mutaciones CALR facilitan la activación de la vía JAK-STAT independiente de citocinas¹⁷². Esto proporciona una sólida justificación para el uso de la terapia con inhibidores de JAK en pacientes con NMP con mutaciones en CALR, y puede ser responsable, al menos en parte, de las respuestas clínicas a la terapia con inhibidores de JAK observadas en pacientes con mielofibrosis JAK2V617F-negativa¹⁷³.

A partir del descubrimiento de la mutación JAK2V617F en pacientes con NMP, se han desarrollado ITKs dirigidos específicamente a la vía JAK-STAT. Estos nuevos fármacos han dado lugar a respuestas clínicas y mejoras de la calidad de vida y la supervivencia en muchos pacientes. Sin embargo, dado que las respuestas no parecen depender de la presencia o ausencia de una única mutación abordable, y debido a la variabilidad intra e inter enfermedad de las aberraciones genéticas entre los pacientes con NMP Ph-neg, es posible que se requieran terapias combinadas de inhibidores de JAK con otros agentes para alcanzar el grado de éxito obtenido en la LMC con imatinib y sus sucesores.

Ruxolitinib es un inhibidor JAK1/JAK2 administrado por vía oral que modula la señalización intracelular de las citocinas al unirse a las cinasas JAK1 y JAK2 citoplasmáticas, inhibiendo así su actividad. Basándose en los resultados de dos estudios de fase III, ruxolitinib se convirtió en el primer fármaco de su clase en ser aprobado para el tratamiento de pacientes con mielofibrosis de riesgo intermedio o alto. Los ensayos COMFORT-I y COMFORT-II demostraron que el tratamiento con ruxolitinib se asociaba a una reducción significativa de la esplenomegalia y mejoraba los síntomas relacionados con la mielofibrosis en comparación con el placebo o el mejor tratamiento disponible^{174,175}. Los análisis de seguimiento posteriores han demostrado que el tratamiento a largo plazo con ruxolitinib proporciona un beneficio clínico sostenido durante hasta 3 años. Los resultados de los análisis de supervivencia de los estudios COMFORT, incluido un análisis conjunto de supervivencia a 3 años de ambos ensayos, demuestran que ruxolitinib

se asocia a una ventaja de supervivencia del 30%-50% en comparación con el placebo o el mejor tratamiento disponible ¹⁷⁶.

Basándose en los resultados del ensayo aleatorizado, abierto y multicéntrico de fase III RESPONSE ¹⁷⁷, la FDA ha aprobado también recientemente el uso de ruxolitinib para el tratamiento de pacientes con policitemia vera que hayan tenido una respuesta inadecuada o sean intolerantes a la hidroxiurea.

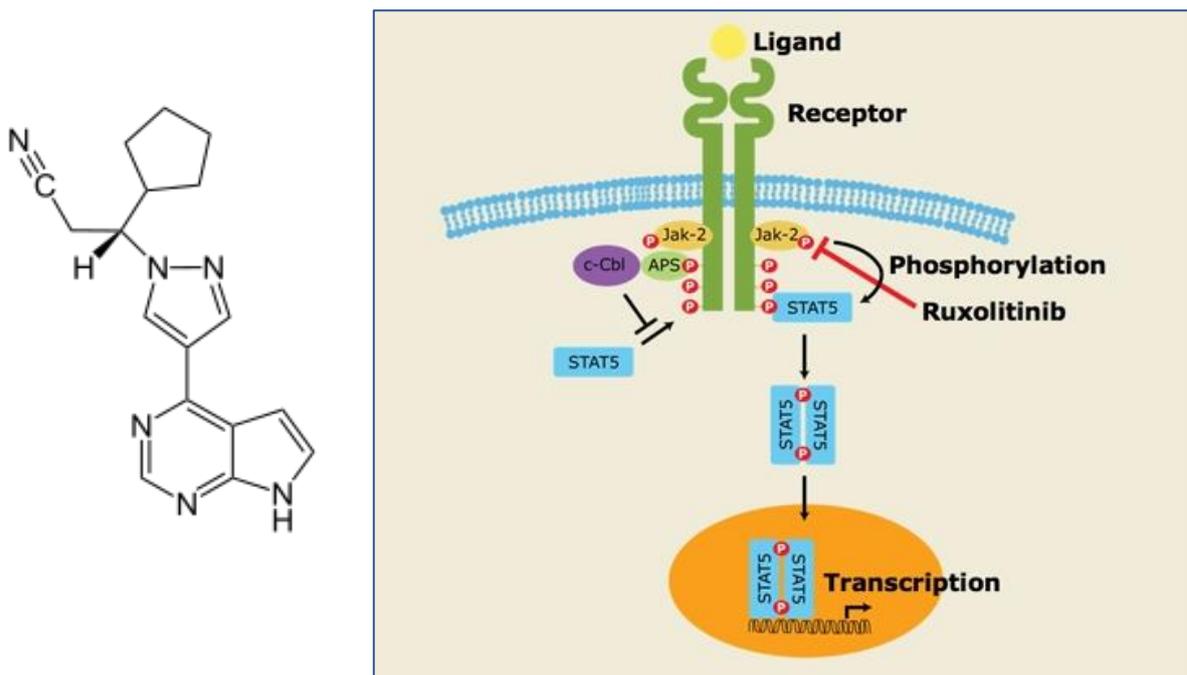


Figura 19. Estructura molecular y mecanismo de acción de ruxolitinib.

Es importante subrayar que existen profundas diferencias entre los mecanismos de la enfermedad en la LMC y la mielofibrosis primaria. Mientras que el éxito de los ITK dirigidos contra BCR-ABL en la LMC depende de la presencia del cromosoma Ph y de la mutación de BCR-ABL, la eficacia clínica de los inhibidores de JAK en la mielofibrosis es independiente del estado mutacional de JAK2, y ha demostrado resultados positivos en pacientes tanto con JAK2 de tipo salvaje como mutante. BCR-ABL es el evento oncogénico impulsor del inicio y la progresión de la LMC, y es la firma molecular para el diagnóstico y la respuesta al tratamiento con los ITK específicos de BCR-ABL. Por el contrario, la patobiología molecular de las NMP Ph-neg es compleja e implica múltiples mutaciones y múltiples vías. A diferencia de la LMC, las NMP Ph-negativas clásicas no presentan una mutación singular distintiva de la enfermedad, sino que tienen una

preponderancia de mutaciones que producen el inicio y la progresión de la enfermedad. La identificación de mutaciones que afectan a JAK2 y conducen a una señalización aberrante JAK-STAT en pacientes con NMP ha impulsado el desarrollo de inhibidores de JAK, como ruxolitinib, Sin embargo, contrariamente a las expectativas iniciales, la eficacia clínica de los inhibidores de JAK en pacientes con NMP Ph-neg no depende de la presencia de ninguna mutación específica como impulsora de la enfermedad ni de la reducción de la carga alélica JAK2V617F en los pacientes portadores de esta mutación. Las pruebas actuales sugieren que la señalización JAK-STAT hiperactiva es un defecto central en los MPN Ph-negativos que se extiende más allá de los clones neoplásicos portadores de la mutación somática, y es independiente del fondo de mutación específico. Al proporcionar un beneficio clínico rápido y duradero con una mejora concomitante de la calidad de vida de los pacientes con mielofibrosis, los inhibidores de JAK constituyen un avance terapéutico significativo con respecto a las opciones de tratamiento históricamente limitadas, con beneficios, en el mejor de los casos, transitorios. En un futuro próximo, es probable que nuevas combinaciones de terapias dirigidas que complementen la inhibición de JAK mejoren aún más el panorama terapéutico de las NMP Ph-neg clásicas al abordar componentes adicionales de la compleja patobiología de estas enfermedades.

Tirosinquinasa de Bruton (BTK)

La señalización del receptor de células B (BCR) es un componente esencial del desarrollo y la supervivencia de las células B normales y malignas ¹⁷⁸. La vía de señalización del BCR incluye varios elementos, el más importante de los cuales es la tirosina quinasa de Bruton (BTK). La actuación sobre la vía del BCR mediante la inhibición selectiva de la BTK ha revolucionado el tratamiento de algunas neoplasias malignas de células B, incluida la leucemia linfática crónica (LLC). La mayoría de los inhibidores de BTK (IBTK) se dirigen al sitio activo de unión del ATP a la BTK, que contiene cisteína en la posición 481 (Cys-481) formando un enlace covalente y, por tanto, dando lugar a una inhibición irreversible de la BTK. La inhibición sostenida de la BTK interrumpe varias vías de señalización descendentes, lo que resulta en el deterioro de la proliferación, la adhesión y la anidación de las células B malignas, lo que termina impidiendo su supervivencia y propagación.

Los IBTK son los fármacos dirigidos más avanzados en las neoplasias linfoides de células B, con tres de ellos, ibrutinib, acalabrutinib y zanubrutinib, aprobados para el tratamiento de neoplasias de células B y de la enfermedad de injerto contra huésped (EICH).

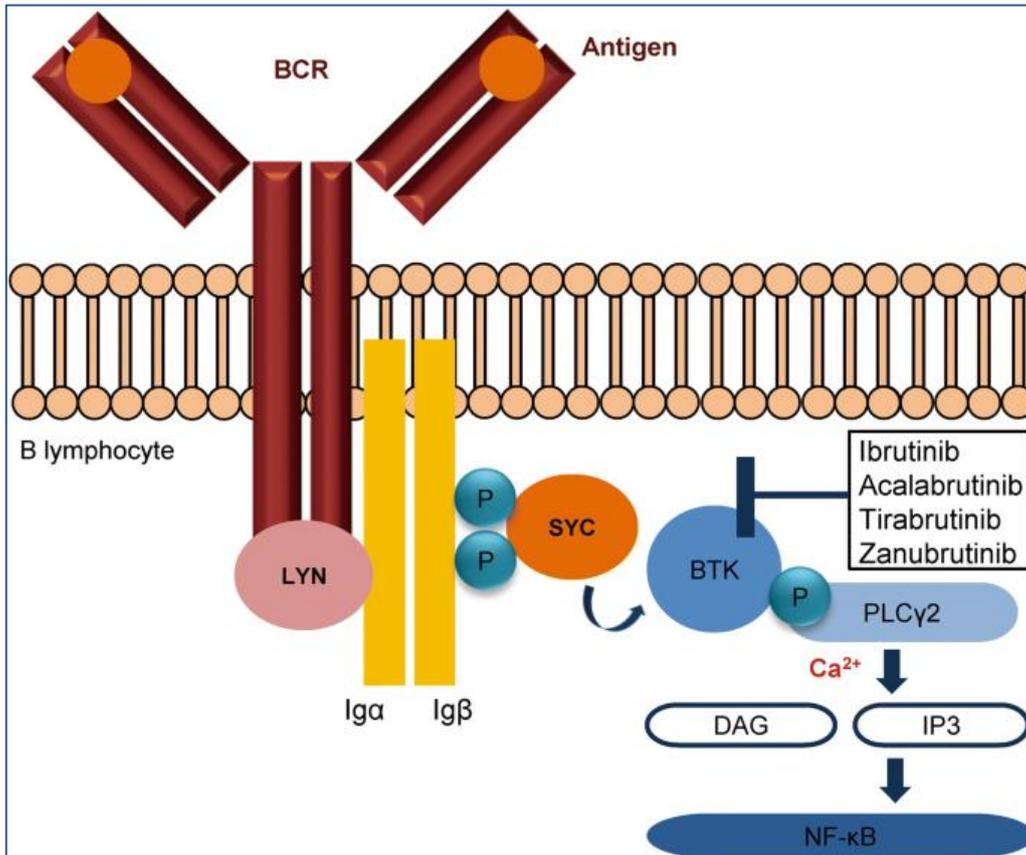


Figura 20. Mecanismo de acción de los IBTKs.

El desarrollo de los IBTK para el tratamiento de las neoplasias de células B tiene sus raíces en la caracterización de la inmunodeficiencia hereditaria Agammaglobulinemia ligada al cromosoma X (ALX) por el pediatra estadounidense coronel Ogden Carr Bruton en 1952¹⁷⁹. La ALX se caracteriza por niveles bajos de inmunoglobulinas en sangre, ausencia de células B *naïve* circulantes y escaso desarrollo de los órganos linfoides secundarios. Cuando se identificó el gen responsable de la XLA en 1993, se denominó tirosina quinasa de Bruton en honor al elegante trabajo del Dr. Bruton¹⁸⁰. Posteriormente se descubrió que la BTK es una molécula de señalización clave en el complejo de

señalización del receptor de células B que desempeña un papel importante en la supervivencia y propagación de las células B malignas. Lo que el Dr. Bruton no podía saber era que su descubrimiento de la XLA abriría la puerta a una nueva diana terapéutica y proporcionaría los fundamentos para el desarrollo del primer inhibidor de la BTK para tratar las neoplasias de células B.

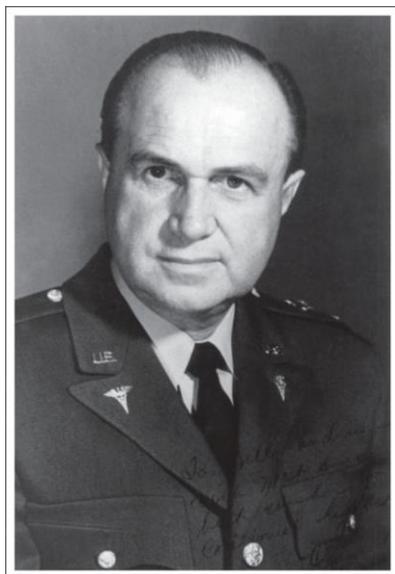


Figura 21. Coronel Ogden Carr Bruton descubridor de la Agammaglobulinemia ligada al cromosoma X

El primer IBTK, ibrutinib, se une a la BTK de forma covalente e irreversible, y por este motivo se utilizó inicialmente como "molécula patrón" para el cribado de pequeñas moléculas candidatas a inhibidores de BTK. Aunque los nuevos IBTK mostraron actividad en modelos animales de enfermedad autoinmune y artritis, la propia molécula

herramienta mostró una actividad más prometedora que los demás candidatos cribados. La posterior observación de que ibrutinib reprime la supervivencia e inhibe la migración y la adhesión de las células B malignas proporcionó la clave inicial para su desarrollo clínico en las neoplasias de células B ¹⁸¹.

Ibrutinib es el primer agente dirigido contra la BTK que ha obtenido la aprobación de la FDA y de la mayoría de las agencias reguladoras de todo el mundo. Como reflejo de la gran necesidad médica no cubierta que existía en el tratamiento de los pacientes con neoplasias malignas de células B, ibrutinib se convirtió en uno de los primeros medicamentos de la historia a los que la FDA concedió la designación de terapia innovadora. En total, ibrutinib recibió tres designaciones de terapia innovadora que alcanzan a tres poblaciones de pacientes diferentes. La designación inicial aceleró su proceso de desarrollo y la primera aprobación de comercialización, y condujo a las posteriores aprobaciones de ibrutinib para un total de cuatro indicaciones distintas.

La primera aprobación de ibrutinib fue en el linfoma de células del manto (MCL), el 13 de noviembre de 2013. Poco después, el 12 de febrero de 2014, la FDA aprobó el uso de Ibrutinib para pacientes con leucemia linfática crónica (LLC) que hubieran

recibido al menos una terapia previa, y el 28 de julio de 2014 para todos los pacientes con LLC con delección del cromosoma 17p (del17p), independientemente de que hubiera recibido una terapia previa o no. Dados los resultados altamente prometedores en estas poblaciones de pacientes, se llevó a cabo un ensayo de fase III en el que 269 pacientes con LLC no tratados previamente y sin delección del cromosoma 17p (del17p) fueron aleatorizados a recibir ibrutinib o clorambucilo. Ibrutinib se asoció con un beneficio neto tanto en la supervivencia libre de progresión como en la supervivencia global, lo que condujo a la aprobación de la FDA para ibrutinib en primera línea de tratamiento de LLC en 2016¹⁸². De esta forma, ibrutinib había obtenido la indicación en todos los pacientes con LLC tanto en primera línea como en recidiva, y la LLC se convirtió en la segunda neoplasia hematológica de la historia en tratarse con un régimen totalmente exento de quimioterapia y por vía oral que, además, superaba ampliamente los resultados anteriormente obtenidos con quimioterapia e inmunquimioterapia.

Los inhibidores de BTK de segunda generación, que incluyen acalabrutinib y zanubrutinib, fueron diseñados para dirigirse a la BTK de forma más selectiva con el objetivo de minimizar las toxicidades fuera de diana que presenta ibrutinib.

Acalabrutinib fue aprobado en el contexto de primera línea en base a los datos de un ensayo clínico de fase III en el que se incluyeron 535 pacientes con LLC no tratados previamente. Acalabrutinib mostró resultados superiores a clorambucilo en términos de supervivencia libre de progresión a los 30 meses de seguimiento, y esta diferencia es aún más pronunciada a los 5 años, (84% frente a 21%)¹⁸³.

Zanubrutinib ha sido recientemente aprobado por la FDA en enero de 2023 para el tratamiento de la LLC. El ensayo fase III que aleatorizó a pacientes de primera línea sin del17p para recibir zanubrutinib o inmunquimioterapia, demostró que la supervivencia libre de progresión era significativamente superior para zanubrutinib (86% frente a 70%). Aunque el seguimiento es aun relativamente corto, sólo se observaron efectos tóxicos en un número mínimo de casos y sólo el 8% de los pacientes que recibieron zanubrutinib interrumpieron el tratamiento por acontecimientos adversos, siendo el acontecimiento adverso en todos ellos la COVID-19¹⁸⁴.

Además, los dos IBTK de segunda generación se han comparado directamente con ibrutinib, lo que permite claridad respecto a las diferencias en el perfil de toxicidad.

Tanto acalabrutinib como zanubrutinib han demostrado menor incidencia de efectos adversos que ibrutinib a la vez que han confirmado los excelentes resultados de eficacia en los dos ensayos comparativos ELEVATE-RR y ALPINE respectivamente ^{185,186}.

El impacto de la introducción de los IBTK en el pronóstico de la LLC es espectacular. Con el desarrollo de estas terapias dirigidas, los resultados han mejorado drásticamente para los pacientes con LLC, con una mejora indiscutible de la supervivencia libre de progresión en comparación con la quimioterapia, y algunas evidencias de beneficio en la supervivencia global. Mientras que ibrutinib forjó el camino para los agentes novedosos en la LLC, los IBTK de segunda generación han demostrado una eficacia excelente con una seguridad mejorada. Las nuevas terapias, además, han mejorado radicalmente la calidad de vida de los pacientes sin los efectos secundarios de la quimioterapia y con la facilidad de tratamientos exclusivamente por vía oral.

FLT3

El gen de la tirosina quinasa 3 similar a FMS (*FMS like tyrosine kinase 3*, FLT3) codifica un receptor tirosina quinasa, que se expresa principalmente en los progenitores hematopoyéticos inmaduros y en las células madre hematopoyéticas, reduciéndose su expresión cuando las células completan el proceso de diferenciación ¹⁸⁷. La señalización de FLT3 se inicia cuando el ligando de FLT3 (FLT3-L) se une a FLT3, induciendo la dimerización y activación de FLT3 mediante autofosforilación en residuos de tirosina. PI3K/AKT, MAPK y JAK2/STAT5 son las vías de señalización descendentes que, una vez activadas, conducen a la proliferación celular y a la supresión de la apoptosis ¹⁸⁸. Las mutaciones en FLT3 son dos, la duplicación interna en tándem (ITD) y mutaciones del dominio tirosina quinasa (TKD), y se presentan en el 30% de los casos de LMA. Como resultado de estas mutaciones, el receptor FLT3 se activa de manera continua e independientemente de la presencia de FLT3-L, lo que provoca un aumento de la proliferación celular y una disminución de la apoptosis ^{187,188}. Las repercusiones clínicas de las mutaciones FLT3-ITD se asocian a una mayor tasa de recaídas, una menor tasa de supervivencia global, una peor respuesta al tratamiento y una menor supervivencia libre de enfermedad, mientras que los resultados clínicos adversos de las mutaciones FLT3-TKD son controvertidos ¹⁸⁸.

FLT3 se ha convertido en una diana molecular muy atractiva en LMA dadas las correlaciones entre sus formas mutadas y el desarrollo de la enfermedad. Los inhibidores

de FLT3 actualmente en desarrollo se clasifican como inhibidores de primera y de nueva generación en función de su capacidad específica para inhibir el FLT3. A su vez, ambas clases de inhibidores pueden ser de tipo I o de tipo II en base a su eficacia contra las dos mutaciones FLT3-ITD y TKD o sólo contra la mutación FLT3-ITD, respectivamente.

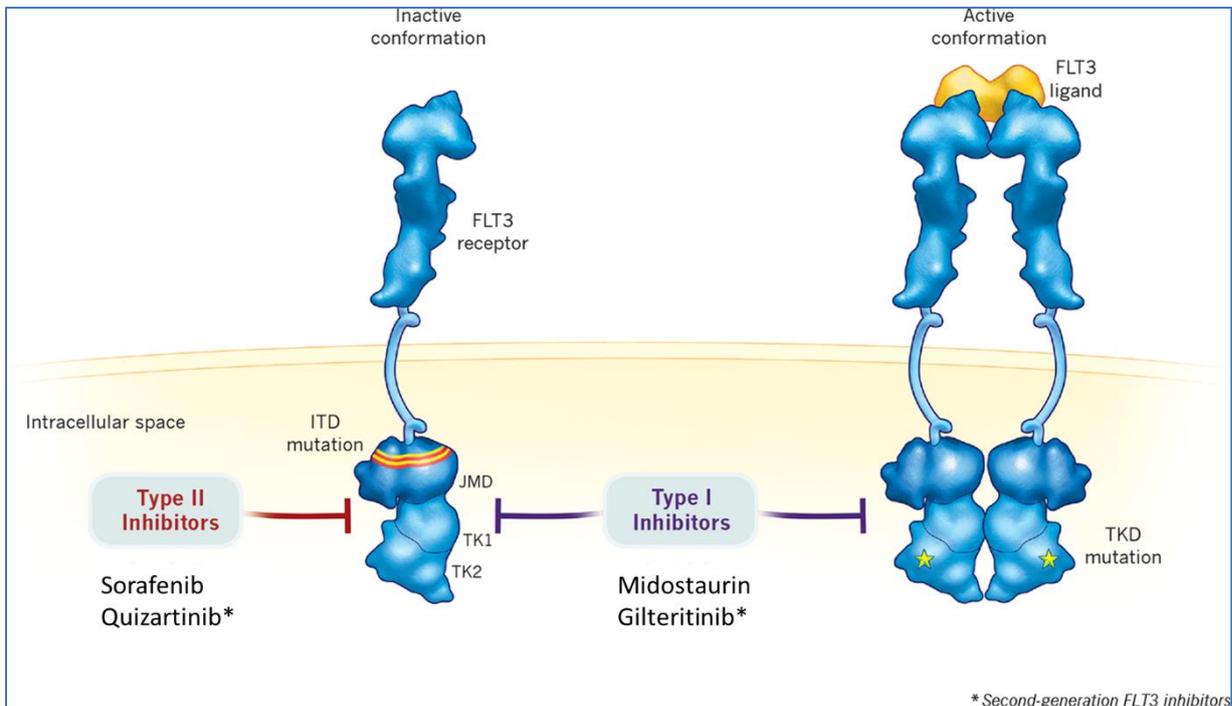


Figura 22. Inhibidores de FLT3.

Los inhibidores de primera generación muestran una actividad no específica para FLT3 e inhiben otras quinasas como KIT, PDGFR, VEGFR, RAS/RAF/MEK y JAK, por lo que tienen más efectos fuera de diana^{189,190}. Estos efectos fuera de diana tienen el inconveniente de una mayor toxicidad, pero también pueden ocasionar beneficio clínico en la LMA sin mutaciones de FLT3. Los inhibidores de primera generación incluyen la midostaurina y el sorafenib, que son inhibidores de tipo I y de tipo II, respectivamente^{189,190}.

Midostaurina es activa contra las mutaciones FLT3-ITD y TKD, pero mostró una actividad bastante limitada y transitoria en los primeros ensayos clínicos en los que se utilizó en monoterapia. Sin embargo, su combinación con varios agentes citotóxicos dio lugar a resultados prometedores en modelos in vitro que condujeron a su investigación en la clínica para la terapia combinada. La adición de midostaurina a la quimioterapia de

tratamiento estándar cambió drásticamente el curso de la enfermedad en base a los resultados del ensayo fase III RATIFY en el que 717 pacientes con mutaciones de FLT3 mostraron mayores tasas de supervivencia con la adición de midostaurina *versus* la quimioterapia estándar. La FDA aprobó en 2017 el uso de midostaurina en combinación con la quimioterapia estándar en pacientes jóvenes (18-59 años) con LMA con mutación FLT3 de nuevo diagnóstico basándose en los resultados del ensayo RATIFY ¹⁹¹.

Sorafenib es un inhibidor de FLT3 de tipo II de primera generación cuya seguridad y eficacia se estableció en la LMA con mutación FLT3 de nuevo diagnóstico en combinación con la terapia de inducción estándar con antraciclina/citarabina. El ensayo aleatorizado SORAML de 2015 mostró que sorafenib mejoraba la supervivencia libre de progresión y la supervivencia global a largo plazo ¹⁹². También en pacientes con LAM en recaída y en pacientes no aptos para quimioterapia intensiva, sorafenib ha demostrado una notable eficacia en combinación con azacitidina ^{193,194}. Además, sorafenib se ha investigado ampliamente en pacientes con LMA mutante FLT3 sometidos a trasplante de progenitores hematopoyéticos, en los que se ha demostrado un aumento de la supervivencia global con el uso de sorafenib como tratamiento de mantenimiento post trasplante ¹⁹⁵.

Gilteritinib es un inhibidor de FLT3 de tipo I de nueva generación, con más potencia contra el FLT3 mutado que otros ITK, aunque muestra cierta actividad para otras quinasas como AXL. Un histórico estudio de fase III denominado ADMIRAL investigó los efectos de gilteritinib en pacientes con LMA mutada FLT3 en recaída en comparación con la quimioterapia estándar. El porcentaje de pacientes tratados con gilteritinib que alcanzaron la remisión completa (34%) fue mayor en comparación con el grupo que recibió quimioterapia (15,3%) y la supervivencia fue de 9,3 meses frente a 5,6 meses, respectivamente ¹⁹⁶. Los resultados de este estudio fueron la prueba para la aprobación por la FDA en 2018 de la monoterapia con gilteritinib para pacientes con LMA en recaída con mutación FLT3. Posteriormente, en 2022, se publicaron los efectos a largo plazo y la seguridad de gilteritinib para los pacientes supervivientes incluidos en el ensayo ADMIRAL, mostrando que 49 pacientes del brazo de gilteritinib seguían vivos durante más de 2 años ¹⁹⁷, lo cual supone una extraordinaria mejora de los resultados habituales de supervivencia con quimioterapia en estos pacientes.

Por último, quizartinib es un inhibidor de FLT3 de nueva generación de tipo II, activo contra las quinasas FLT3 y, en menor medida (unas 10 veces menos), contra KIT, CSF1R, PDGFR y RET ¹⁹⁸. Recientemente, se ha comparado la monoterapia con quizartinib y la quimioterapia estándar en un estudio de fase III (QUANTUM-R) con pacientes con LMA mutada FLT3 en recaída. Quizartinib aumentó la supervivencia en comparación con la quimioterapia y permitió que un mayor número de pacientes pudieran ser sometidos a trasplante de progenitores hematopoyéticos ¹⁹⁹. Sin embargo, quizartinib no está aprobado por la FDA debido a las toxicidades cardíacas observadas en el ensayo QUANTUM-R, pero sí está aprobado en Japón como monoterapia en la LMA FLT3-ITD en recaída.

Agentes inductores de la diferenciación

La inducción de la diferenciación de las células tumorales mediante agentes químicos es el sueño de cualquier biólogo celular o molecular, pero básicamente contraviene el paradigma de la irreversibilidad de la transformación oncogénica. Sin embargo, existe una neoplasia hematológica, la leucemia aguda promielocítica (LAP) en la que el mecanismo molecular subyacente puede abordarse con agentes químicos inductores de la diferenciación, y este abordaje resulta en la curación completa de la gran mayoría de los pacientes. De nuevo constituye un ejemplo de una neoplasia hematológica que se cura en la mayoría de los casos sin quimioterapia en el siglo XXI, mientras que en el XX tenía una mortalidad elevadísima.

La fusión del extremo N-terminal del gen PML en el cromosoma 15 al C-terminal del gen RARA en el cromosoma 17, explica la patogénesis de la LAP en el 95-98% de los casos y da lugar a la producción del sello biológico de la enfermedad: el reordenamiento PML-RARA y la consiguiente proteína quimérica oncogénica ²⁰⁰. El mecanismo oncogénico de PML-RARA es doble al afectar a las dos proteínas de fusión (PML y RARA), ambas con importantes funciones celulares que se ven afectadas por la fusión.

RARA es un receptor nuclear que se une fisiológicamente con el ácido retinoico formando heterodímeros. En ausencia del ácido retinoico, RARA recluta represores para inducir la condensación de la cromatina y la represión de la transcripción de los genes diana. Por el contrario, en presencia de ácido retinoico a niveles fisiológicos, el

heterodímero RARA-acido retinoico libera el complejo represor y recluta co-activadores, lo que provoca la accesibilidad de la cromatina a los factores de transcripción. En este escenario, RARA se convierte en un potente activador de la diferenciación mieloide²⁰¹. En presencia de la proteína quimérica PML-RARA los heterodímeros se unen más fuertemente al complejo represor, lo que induce resistencia a los niveles fisiológicos de ácido retinoico, represión constitutiva de la transcripción y el bloqueo clásico de la diferenciación observado en la LAP²⁰². Dosis farmacológicas más elevadas (1 μ M) del derivado del ácido retinoico *ácido all-trans-retinoico* (ATRA) son capaces de degradar PML-RARA y liberar el complejo represor, reactivando la transcripción y promoviendo la diferenciación mieloide.

Aunque el ATRA induce la diferenciación en todos los pacientes con LAP, no es curativo como agente único, debido a la doble vía oncogénica en la LAP, es decir, el ATRA resuelve la vía oncogénica de RARA, pero queda la vía de PML. La PML es miembro de una familia de proteínas localizada en estructuras macromoleculares nucleares denominadas cuerpos PML-nucleares (PML-NBs). La PML actúa como organizadora de los PML-NB y, en condiciones de estrés celular, es un potente supresor del crecimiento. La fusión PML-RARA interfiere en la formación normal de PML-NBs, y esto da lugar a una respuesta de estrés deteriorada y a un bloqueo de la apoptosis. En este contexto se ha demostrado que el trióxido de arsénico (ATO) actúa en los dos frentes: por una parte, induciendo la diferenciación de un modo similar a ATRA por lo que resulta aditivo, y por otra parte induciendo la apoptosis de las células de la LAP^{203,204}. Por estas razones, la combinación de ATRA con ATO actúa sobre la doble vía oncogénica y resulta mucho más eficaz que el ATRA como monoterapia, en términos de remisión a largo plazo, tanto en los casos *de novo* como en los recidivantes.

Como vimos anteriormente, a finales del siglo XX ya se había establecido la capacidad del ATRA para producir la diferenciación de las células leucémicas de la LAP tanto *in vitro* como en los primeros pacientes tratados en China. También se conocía que la alteración molecular causante de la LAP era el gen de fusión PML-RARA, pero no se había encontrado la relación entre la alteración molecular y la respuesta de la LAP al ATRA.

El descubrimiento de la proteína de fusión PML-RARA, que proporcionaba la base del mecanismo de acción del ATRA en la LAP, se comunicó seis años después de que se tratara al primer paciente, y con posterioridad a los primeros informes de ensayos

clínicos más amplios. No obstante, con el tiempo, la historia retrospectiva de la implantación del ATRA como terapia en pacientes con LAP, el descubrimiento de RARA y el posterior descubrimiento de PML-RARA, han sesgado la comprensión popular hacia la creencia de que el ATRA era una terapia "de diseño" dirigida a PML-RARA, del mismo modo que imatinib fue seleccionado para dirigirse a BCR-ABL. En realidad, la historia del ATRA en la LAP muestra un camino diferente hacia el éxito en el que el potencial clínico y la comprensión del mecanismo de acción se han desarrollado en paralelo en lugar de seguir un enfoque lineal de “mecanismo de acción primero, ensayo clínico después”.

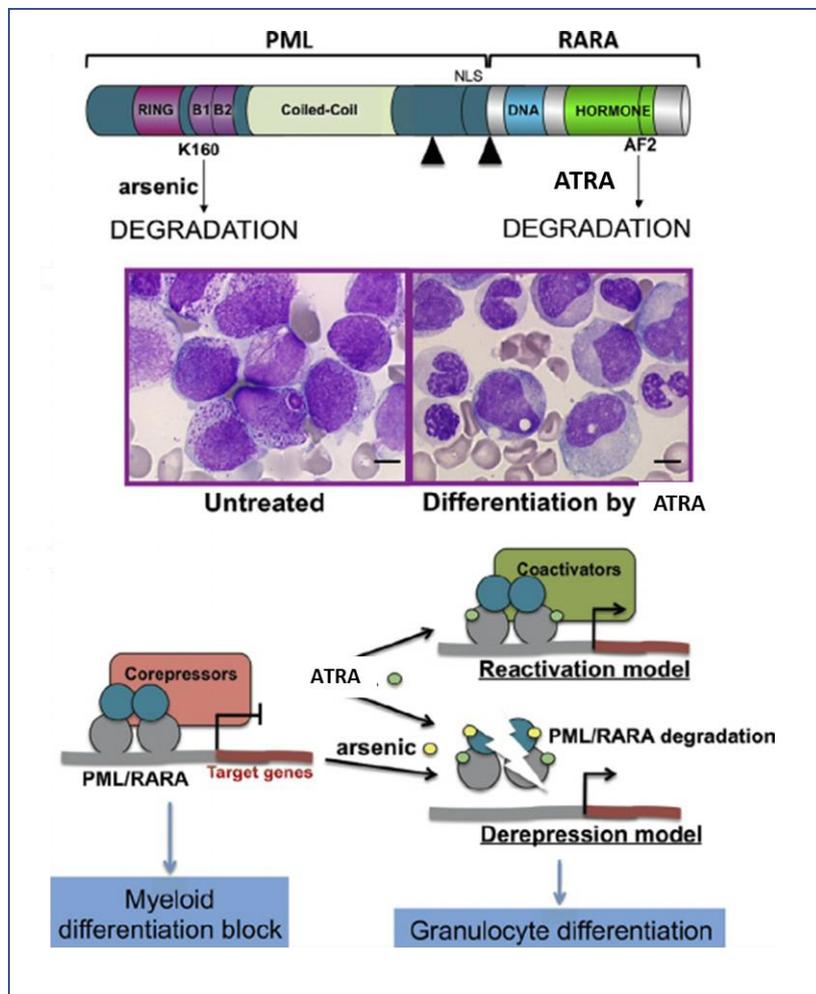


Figura 23. Mecanismo de acción de ATRA y ATO sobre la doble vía oncogénica de PML-RARA en LAP. Adaptado de De Thé et al ²⁰⁴.

La introducción de los derivados del arsénico en el tratamiento de la LAP, como ocurrió con el ATRA, se hizo en China. A principios de la década de 1970, un grupo de

la Universidad Médica de Harbin, en Manchuria, identificó el ATO como un fármaco potencial contra el cáncer y comenzó a utilizar un compuesto de arsénico para tratar diversas neoplasias malignas. Pero no fue hasta 1992, cuando este grupo informó de que 21 de 32 pacientes con LAP obtuvieron una RC, con una impresionante tasa de supervivencia del 30% al cabo de 10 años con Ailing-1 (anticancer-1 o Al-1), una solución anticancerosa que contenía un 1% de ATO ²⁰⁵. Estos resultados fueron confirmados posteriormente por el grupo de Shanghai ²⁰⁶.

Los impresionantes resultados de los estudios pioneros realizados en China alentaron el diseño de un estudio piloto realizado en el *Memorial Sloan Kettering Cancer Center* de Nueva York, que confirmó la eficacia del ATO para inducir la RC en 11 de 12 pacientes con LAP recidivante tras una extensa terapia previa ²⁰⁷. Estos resultados impulsaron un ensayo multicéntrico en EE.UU. en el que se administró ATO como terapia de rescate en pacientes con recaída tras ATRA y quimioterapia basada en antraciclinas ²⁰⁸. Treinta y cuatro de 40 pacientes (85%) alcanzaron la RC sólo con ATO y el 86% lograron RC molecular tras la terapia de consolidación. Estos resultados establecieron ATO como una terapia altamente eficaz para pacientes con LAP recidivante y condujeron a la aprobación de este fármaco por la FDA en septiembre de 2000 para el tratamiento de la LAP recidivante/refractaria.

Alentados por los resultados con ATO en pacientes recidivantes, los grupos de Harbin y Shanghai ampliaron el uso de este agente a pacientes de nuevo diagnóstico de LAP con resultados prometedores ^{206,209}. Sobre la base de esta experiencia, se llevaron a cabo cuatro estudios piloto en pacientes de reciente diagnóstico de LPA tratados con ATO en monoterapia o en combinación con ATRA en China ²¹⁰, Irán ²¹¹, India ²¹² y Estados Unidos ²¹³. La tasa de RC en estos estudios osciló entre el 86% y el 95%, pero debe tenerse en cuenta que el ATO se combinó con ATRA y/o quimioterapia en una proporción variable de pacientes, en particular los que presentaban hiperleucocitosis.

Finalmente se llevaron a cabo dos ensayos clínicos multicéntricos de fase III para comparar la eficacia y la seguridad de ATRA más ATO frente a ATRA más quimioterapia ^{214,215}. Basándose principalmente en los resultados de estos dos ensayos aleatorizados y en los resultados a largo plazo de un estudio no aleatorizado realizado en el *MD Anderson Cancer Center* de Houston ²¹⁶, la combinación de ATRA más ATO se ha adoptado en todo el mundo como el tratamiento habitual para los pacientes con LAP de riesgo estándar

²¹⁷. Con la combinación de ATRA más ATO se obtiene la remisión completa en más del 95% de los pacientes y la curación total en más del 90%.

El cambio de paradigma, con la introducción de ATRA y ATO en el tratamiento de la LAP, ha cambiado drásticamente el pronóstico de esta enfermedad. La figura 24 muestra la probabilidad de supervivencia de los pacientes con LAP de nuevo diagnóstico tratados en una única institución, el *MD Anderson Cancer Center*, antes y después del año 2.000, y la mejora significativa de los resultados en la era del ATRA y el ATO tanto en pacientes jóvenes como mayores de 60 años ²¹⁸.

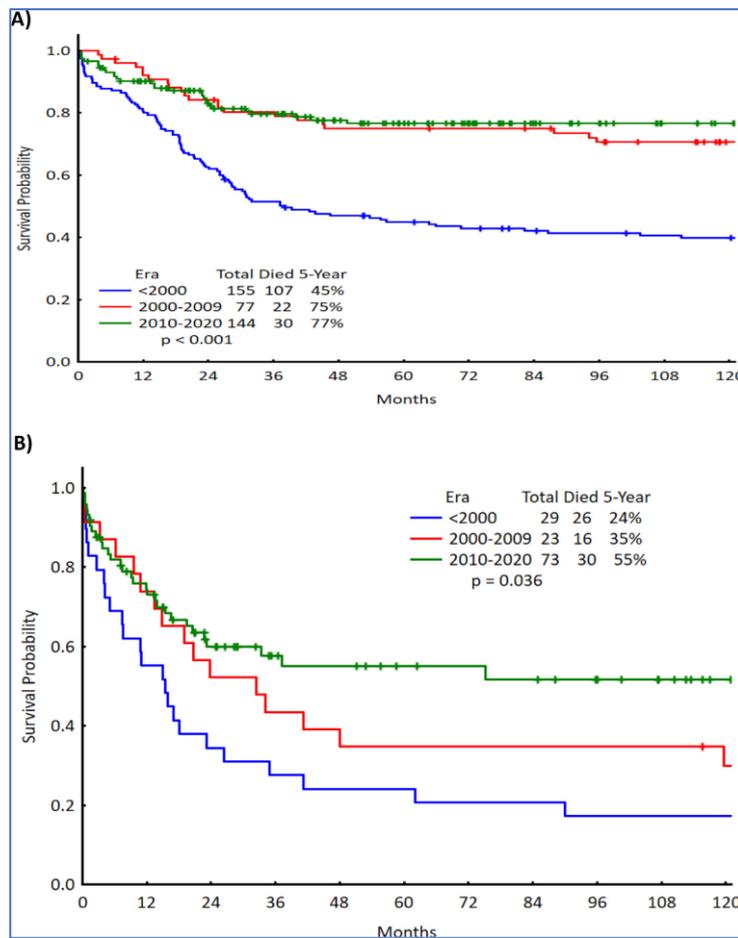


Figura 24. Resultados de supervivencia en los pacientes tratados en el MD Anderson Cancer Center antes del año 2000, en las décadas 2000-2009 y 2010-2020. A) Pacientes menores de 60 años. B) Pacientes mayores de 60 años. Reproducido de Kantarjian *et al.*²¹⁸

Inhibidores de IDH

Desde el descubrimiento de mutaciones de los genes de las enzimas isocitrato deshidrogenasas (IDH1 e IDH2) en un 5 a 15% de los pacientes con LAM, se han adquirido notables conocimientos sobre la incidencia y la fisiopatología única de estas mutaciones. El trío recurrente de mutaciones patogénicas de IDH en pacientes con LAM (IDH1-R132, IDH2-R172 e IDH2-R140), se producen dentro del sitio activo de la enzima y conducen a la alteración de la transformación del isocitrato a alfa-cetoglutarato normal en el ciclo de Krebs, al tiempo que promueven una reacción inversa que reduce el alfa-cetoglutarato al oncometabolito 2-hidroxiglutarato (2HG). La acumulación de 2HG bloquea la diferenciación celular normal y promueve la leucemogénesis mediante la inhibición competitiva de las actividades enzimáticas dependientes de alfa-cetoglutarato. De hecho, las LAM con mutaciones IDH se caracterizan específicamente por una firma de ADN distinta y globalmente hipermetilada, que conduce a un bloqueo de la diferenciación hematopoyética, que puede revertirse mediante la inhibición de las IDH con moléculas pequeñas dirigidas²¹⁹. Los inhibidores de la IDH bloquean las proteínas IDH mutantes para favorecer la diferenciación de las células leucémicas y, por este motivo, constituyen agentes de diferenciación.

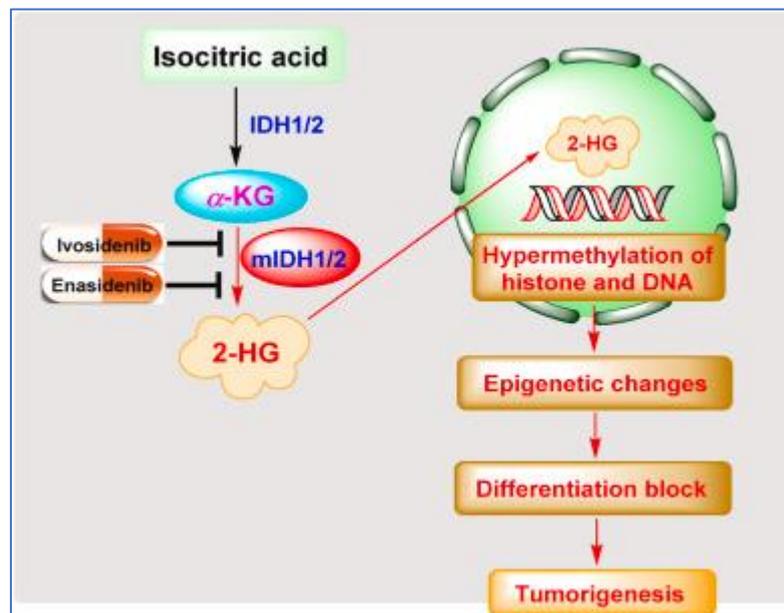


Figura 25. Patogénesis molecular de la LAM con mutaciones de IDH y mecanismo de acción de los inhibidores ivosidenib y enasidenib. Reproducido de Yao *et al.*²²⁰

En este contexto, los inhibidores de IDH han surgido como una prometedora estrategia terapéutica para el tratamiento de la LAM. En 2018, la FDA aprobó el ivosidenib para la LAM con mutación IDH1 en recaída/refractaria ²²¹. Este fármaco se utiliza en monoterapia por vía oral, hasta la progresión de la enfermedad o toxicidad inaceptable. El inhibidor de IDH2 de molécula pequeña enasidenib, activo frente a las variantes IDH2 R140 e IDH2 R172, fue aprobado por la FDA en 2017 para la LMA con mutación IDH2 en recaída/refractaria ²²², con la ventaja de su eficacia en ciertos tipos de LAM incluso después del tratamiento con medicamentos quimioterapéuticos previamente aprobados. En diciembre de 2022, otro fármaco olutasidenib, fue aprobado para pacientes adultos con LAM en recaída o refractaria con una mutación IDH1 ²²³. Este fármaco se aprobó tras los resultados positivos del ensayo clínico 2102-HEM-101 sobre la base de su mayor eficacia y la consideración de una menor toxicidad. Los inhibidores de la IDH se han introducido muy recientemente en el arsenal terapéutico disponible para LAM, por lo que su desarrollo clínico no está completado. Actualmente se están utilizando para pacientes específicos, en función de su fenotipo biológico y de la respuesta previa a los fármacos aprobados, con el firme compromiso de buscar los mejores resultados personalizados para los pacientes de LAM.

Inductores de la apoptosis: Inhibidores de BCL-2

Las células eucariotas pueden morir por mecanismos fisiológicos y, en su mayoría, beneficiosos (apoptosis, necroptosis y piroptosis), así como de modos no fisiológicos y nocivos de destrucción celular necrótica. La forma clásica de muerte celular fisiológica, la apoptosis, es un proceso de suicidio celular dirigido por genes, caracterizado por cambios bioquímicos y morfológicos específicos que incluyen la activación de las enzimas proteolíticas caspasas, el retraimiento celular, la condensación de la cromatina y la fragmentación nuclear. En este proceso, el contenido celular no se libera, por lo que la apoptosis no es inflamatoria y los cuerpos apoptóticos restantes son eliminados por los fagocitos ²²⁴. La apoptosis desempeña papeles vitales en la embriogénesis, la homeostasis tisular, la defensa contra agentes patógenos y la eliminación de células neoplásicas. Sin embargo, los procesos apoptóticos desregulados pueden promover el desarrollo de enfermedades autoinmunes, neurodegenerativas y oncológicas, así como la resistencia de las células cancerosas a la quimioterapia ²²⁴.

La apoptosis se desencadena por dos vías de señalización independientes, intrínseca y extrínseca. Aunque en los últimos pasos ambas vías dependen de las mismas caspasas ejecutoras (caspasa-3, caspasa-6 y caspasa-7), cada vía se activa de forma diferente. La vía extrínseca se pone en marcha por los receptores de muerte de membrana pertenecientes a la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral (TNF), que reconocen sus ligandos extracelulares afines. Por el contrario, la vía intrínseca (mitocondrial) se activa por estrés celular excesivo y por otros acontecimientos pro-apoptóticos (calor, radiación, privación de nutrientes, infección vírica, hipoxia, aumento de la concentración de calcio intracelular y mutaciones del ADN), y está orquestada por las proteínas de la familia BCL2²²⁵.

La familia BCL2 se divide en dos grandes grupos funcionales. El primer grupo incluye ocho proteínas pro-apoptóticas, llamada conjuntamente BH3, que activan a los efectores apoptóticos BAX y BAK. El segundo grupo contiene cinco proteínas anti-apoptóticas, que se unen y secuestran a miembros del primer grupo para evitar la apoptosis. De estas cinco proteínas anti-apoptóticas, la más importante lleva el nombre de la familia, BCL2. Mecánicamente, cuando la célula recibe las señales adecuadas para sufrir apoptosis, las proteínas pro-apoptóticas se oligomerizan con los efectores BAX y BAK y provocan la permeabilización de la membrana externa mitocondrial. Como resultado, el citocromo c es liberado de las mitocondrias y activa la muerte celular dependiente de las caspasas²²⁵.

Evidentemente, cuando por algún motivo se produce una mayor función de las proteínas anti-apoptóticas, secuestran de una forma excesiva a las pro-apoptóticas impidiendo la muerte celular. De hecho, se ha demostrado que la hiperactividad de la principal proteína anti-apoptótica BCL2 es un importante mecanismo oncogénico en neoplasias hematológicas. BCL2 suele sobre expresarse debido a translocaciones cromosómicas que afectan a 18q21, como por ejemplo t(14;18)(q32;q21), que yuxtapone el gen BCL2 bajo la activación constitutiva del promotor del gen de la cadena pesada de la inmunoglobulina²²⁶.

Dado que el deterioro de la apoptosis desempeña un papel clave en el desarrollo de determinados tumores, la inhibición farmacológica de las proteínas anti-apoptóticas, especialmente BCL2, representa una atractiva vía para forzar a las células clonales a morir de forma natural, es decir, por apoptosis. De hecho, se han diseñado y desarrollado en los

últimos años una serie de agentes químicos, que incluyen inhibidores no selectivos, y el relativamente más selectivo, navitoclax. Aunque navitoclax se une eficazmente sólo a BCL2, BCLXL y MCL-1, su alta afinidad por BCL-XL limita su uso clínico debido a una trombocitopenia muy significativa. Por el contrario, venetoclax es una molécula única, pequeña y altamente selectiva, biodisponible por vía oral, que se diseñó para dirigirse específicamente al dominio de unión de BH3 en BCL2 ²²⁷. Como mimético de BH3, venetoclax muestra una gran afinidad por el surco de unión de BCL2 a BH3 y es capaz de desplazar a las proteínas pro-apoptóticas BH3 unidas a BCL2. Por lo tanto, las proteínas BH3, una vez liberadas, pueden activar los efectores apoptóticos BAX y BAK desencadenando y restableciendo la apoptosis en las células tumorales.

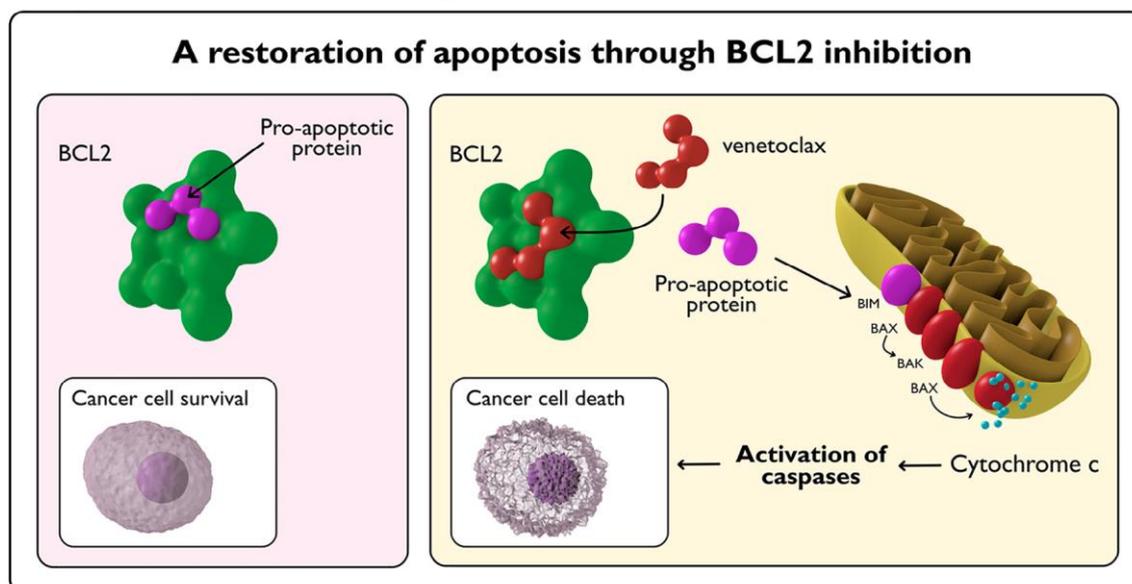


Figura 26. Mecanismo de acción de venetoclax actuando sobre BCL2 para liberar las proteínas naturales pro-apoptóticas. Reproducido de Mihalyova *et al.* ²²⁸

Aunque el restablecimiento de los mecanismos normales de apoptosis puede resultar útil en el tratamiento de cualquier neoplasia, los inhibidores de BCL-2, particularmente venetoclax, se ha introducido como pieza importante en el arsenal terapéutico frente a dos neoplasias hematológicas particularmente dependientes de BCL-2 para su progresión, la LLC y la LAM.

Venetoclax se aprobó inicialmente por la FDA en abril de 2016 para pacientes con LLC en recaída/refractaria que tenían delección 17p, basándose en los resultados de un

estudio de fase II de un único brazo ²²⁹. Posteriormente, la combinación de venetoclax y rituximab fue aprobada para la LLC en recaída/refractaria independientemente del estado mutacional de 17p en base a los datos del ensayo fase III MURANO, que comparaba esta combinación frente a bendamustina y rituximab. Este ensayo demostró un beneficio significativo para la supervivencia libre de progresión y para la supervivencia global de la combinación de venetoclax más rituximab ²³⁰. Y, como era lógico esperar, venetoclax se evaluó también en el contexto de primera línea mediante el gran estudio de fase III CLL14 que aleatorizó a 432 pacientes a recibir venetoclax / obinutuzumab o clorambucilo / obinutuzumab. La combinación de venetoclax se demostró claramente superior ²³¹ lo que condujo a su aprobación regulatoria para la LLC no tratada previamente en mayo de 2019.

Dado que sus mecanismos de acción son complementarios, parecía lógico plantear la hipótesis de que la inhibición de BTK y BCL-2 actuaría de forma sinérgica. La primera prueba de concepto de la combinación de ambos para la LLC no tratada previamente fue un estudio de fase II de un solo brazo realizado por Jain y cols. ²³². Ochenta pacientes con características de alto riesgo fueron tratados con tres ciclos de ibrutinib seguidos de 24 ciclos de ibrutinib/venetoclax combinados (I+V). Este estudio demostró por primera vez la capacidad de la terapia para inducir una enfermedad mínima residual indetectable (EMR negativa) en la LLC. El logro de EMR negativa es muy poco frecuente en todos los estudios de monoterapia con IBTK, alrededor del 1% de los pacientes con ibrutinib y del 7% en pacientes tratados con acalabrutinib ²³³. Sin embargo, el porcentaje de pacientes tratados con I+V con ERM negativa fue del 56% después de 12 ciclos y del 66% después de 24 ciclos.

La combinación I+V se siguió estudiando en el contexto de primera línea a través de tres ensayos clínicos llamados CAPTIVATE, GLOW, y UK Flair. Los resultados de estos ensayos demuestran que, independientemente de la edad del paciente, del estado mutacional de alto riesgo o de las comorbilidades, las combinaciones I+V inducen respuestas profundas y duraderas en la mayoría de los pacientes ²³⁴⁻²³⁶. Estos datos permiten la terapia de duración limitada, es decir, tratamiento durante dos años y retirada total de la medicación a continuación, lo que devuelve a los pacientes una vida totalmente normal, sin ningún tipo de tratamiento. Basándose en los datos de CAPTIVATE y GLOW, la Comisión Europea aprobó la combinación de duración fija de I+V el pasado agosto de 2022. Obviamente, nos falta perspectiva temporal para saber qué ocurrirá al

paso de los años con los pacientes sometidos a esta combinación con la que potencialmente podrían estar definitivamente curados de la LLC.

La segunda neoplasia en la que se ha introducido con éxito el uso de venetoclax es la LAM, dado que este tipo de células leucémicas dependen de BCL2 para sobrevivir, mientras que las células troncales hematopoyéticas normales dependen más de MCL-1, por lo que no son afectadas por venetoclax²³⁷. La primera prueba de la eficacia del venetoclax fue propuesta por Pan y cols., que demostraron la destrucción selectiva de blastos en líneas celulares de LAM, muestras primarias de pacientes y xenoinjertos primarios murinos por este agente²³⁷. Los estudios preclínicos revelaron que los pacientes con mutaciones de IDH tienen más probabilidades de responder a la inhibición de BCL2 por venetoclax²³⁸. En el primer ensayo clínico que investigó la monoterapia con venetoclax en 32 pacientes con LMA de alto riesgo en recaída o refractaria, la tasa de respuestas fue del 19%. Sin embargo, el 38% (12/32) tenían mutaciones IDH, de los cuales el 33% (4/12) alcanzaron la RC, lo que confirma este hallazgo preclínico²³⁹.

La investigación preclínica identificó el potencial papel sinérgico de los inhibidores de BCL2 con 5-azacitidina (5-Aza). En un estudio reciente, se incluyeron 431 pacientes de nuevo diagnóstico de LMA con edad avanzada (>75 años), que no eran elegibles para quimioterapia debido a enfermedades coexistentes. En estos pacientes se empleó una combinación de venetoclax y azacitidina o azacitidina sola, demostrándose una mayor tasa de remisiones completas y una mayor supervivencia global para los pacientes que recibieron la combinación en comparación con los que recibieron azacitidina sola²⁴⁰.

Por lo tanto, partiendo de un conocimiento profundo de la heterogeneidad genómica de la LAM, el uso de diferentes combinaciones de inhibidores de BCL2 con inhibidores específicos de determinados mecanismos oncogénicos podría ser prometedor para abordar la complejidad de esta enfermedad. Otra ventaja de desarrollar una terapia combinatoria es la posibilidad de actuar contra las diferentes mutaciones o las variaciones clonales leucémicas observadas dentro de un mismo paciente. Todo esto abre un amplio abanico de posibilidades a los inhibidores de BCL2 en LAM en el futuro inmediato.

Inhibidores del proteasoma

La vía multicatalítica ubiquitina-proteasoma es responsable de la degradación ordenada de las proteínas celulares en eucariotas²⁴¹. En 2004, Aaron Ciechanover (Israel), Avram Hershko (Israel) e Irwin Rose (Estados Unidos) compartieron el Premio Nobel de Química por su descubrimiento del papel de la ubiquitinación en la degradación de las proteínas. El proteasoma 26S está formado por un complejo catalítico 20S central y un complejo regulador 19S. Las proteínas marcadas con ubiquitina son reconocidas por el complejo regulador 19S, donde se eliminan las etiquetas de ubiquitina. Las proteínas pasan entonces al cilindro 20S del proteasoma para su hidrólisis en pequeños polipéptidos. La inhibición del proteasoma conduce a la apoptosis celular, siendo más susceptibles las células malignas, transformadas y proliferativas²⁴². Se desarrollaron numerosos inhibidores del proteasoma, pero los compuestos iniciales carecían de especificidad, por lo que no eran adecuados para el uso clínico. Posteriormente, Adams et al²⁴² diseñaron y desarrollaron varios compuestos derivados del ácido borónico que inhiben la vía del proteasoma de forma altamente específica. Bortezomib, un dipéptido del ácido borónico, fue seleccionado para pruebas preclínicas y clínicas. Los estudios preclínicos demostraron que bortezomib tenía potentes efectos citotóxicos e inhibidores del crecimiento sobre células tumorales.

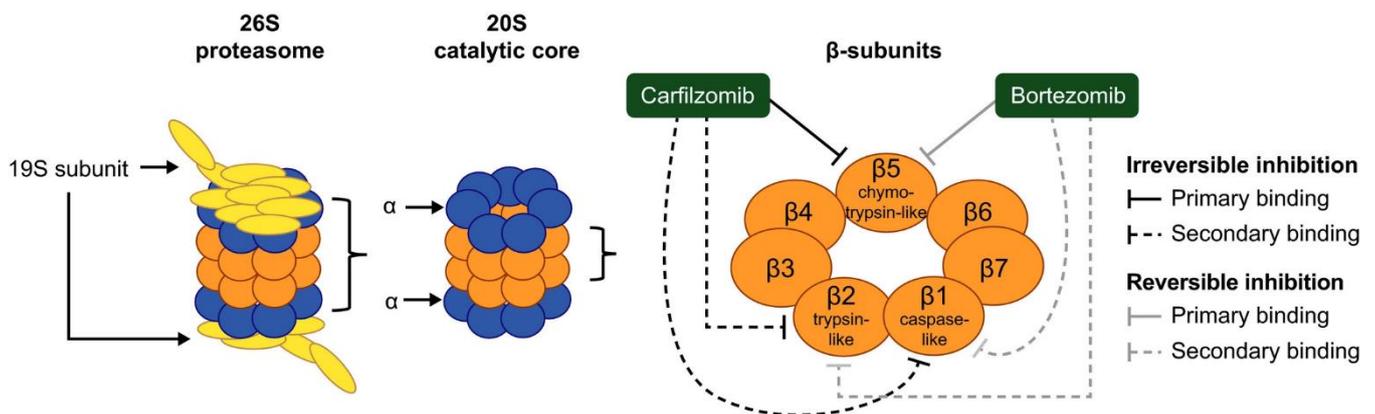


Figura 27. Actividad de bortezomib y carfilzomib en la inhibición del proteasoma. Reproducido de Yong *et al*²⁴³.

Bortezomib demostró una sorprendente actividad antimieloma en varios modelos preclínicos en una serie de experimentos realizados en los laboratorios de Kenneth Anderson en el *Dana- Farber Cancer Institute*, y en el estudio inicial de fase I²⁴⁴. Este ensayo clínico inicial con bortezomib, en varias neoplasias hematológicas avanzadas, fue dirigido por Robert Orłowski en la Universidad de Carolina del Norte²⁴⁴. El laboratorio de Orłowski estaba investigando activamente la vía del proteasoma, un área investigación en la que su padre, Marian Orłowski, había sido pionero años antes. Marian Orłowski, trabajando en colaboración con Sherwin Wilk, fue el primero en descubrir el llamado “complejo proteinasa intracelular multicatalítico” más tarde conocido como proteasoma 20S.

En vista de los prometedores resultados del ensayo fase I en los pacientes incluidos con mieloma múltiple, el primer ensayo de fase II con bortezomib se realizó en 202 pacientes con mieloma refractario o en recaída. Aproximadamente un tercio respondió al tratamiento con bortezomib, con una duración media de la respuesta de un año²⁴⁵. Estos resultados llevaron a la aprobación acelerada de bortezomib por la FDA en mayo de 2003, inicialmente para pacientes con enfermedad refractaria al tratamiento. Es importante destacar que, por primera vez, bortezomib prolongó la supervivencia libre de progresión en esta población de pacientes en comparación con la línea de tratamiento anterior (independientemente del tratamiento previo utilizado), y algunos pacientes pudieron lograr su primera remisión completa. La aprobación reglamentaria completa se produjo en 2005, tras la publicación de los resultados de un gran ensayo de fase III en 669 pacientes con mieloma múltiple en recaída tras 1-3 líneas previas de terapia. En comparación con la dexametasona a dosis altas, que era entonces un estándar de tratamiento en este contexto, las mejoras en el tiempo hasta la progresión, la tasa de respuesta y la supervivencia globales se demostraron en los pacientes que recibieron bortezomib²⁴⁶.

Una vez establecida la eficacia del bortezomib en pacientes con mieloma múltiple en recaída y/o refractario, la atención se centró en aquellos con enfermedad recién diagnosticada. En 2008, un ensayo aleatorizado de fase III comparó melfalán más prednisona, solo o con bortezomib, en pacientes de nuevo diagnóstico, en el que se demostró una ventaja clara de la combinación con bortezomib en la supervivencia libre de progresión y en la supervivencia global²⁴⁷. Los resultados de otros ensayos clínicos clave demostraron la eficacia del bortezomib como parte de la terapia de inducción en

pacientes con mieloma múltiple de nuevo diagnóstico, que se estableció además mediante un metaanálisis de los resultados de los ensayos aleatorizados de fase III disponibles en ese momento ²⁴⁸. Este metaanálisis demostró resultados indiscutibles en supervivencia libre de progresión y en supervivencia global con la adición de bortezomib a cualquiera de las combinaciones frente a las que se había testado.

Carfilzomib, inhibidor de proteasoma de segunda generación, es estructural y mecánicamente distinto del bortezomib. A diferencia de bortezomib, que se une de forma reversible a través de su grupo funcional ácido borónico, carfilzomib tiene una epoxicetona que se une de forma irreversible, proporcionando una inhibición sostenida del proteasoma ²⁴³. Tanto carfilzomib como bortezomib se unen a las subunidades $\beta 5$ y $\beta 2$ del proteasoma, pero carfilzomib, sin embargo, es más selectivo para la subunidad $\beta 5$ por lo que tiene menor toxicidad fuera de diana ²⁴³.

La posibilidad de una inhibición de larga duración proporcionó la justificación para los estudios de fase I de carfilzomib, que revelaron que este agente es tolerable y activo contra el mieloma múltiple recidivante y/o refractario, incluso en algunos pacientes que habían recibido terapia previa con bortezomib ²⁴⁹. Carfilzomib recibió en 2012 la aprobación acelerada de la FDA como agente único para el tratamiento del mieloma múltiple en pacientes que habían recibido al menos dos líneas de tratamiento previas y con enfermedad refractaria a la línea de tratamiento más reciente. Sin embargo, el uso de este agente en líneas iniciales de tratamiento se ve obstaculizado por su tendencia a producir cardiotoxicidad, como demuestran dos recientes metaanálisis en red de ensayos clínicos aleatorizados ^{250,251}.

Por último, ixazomib que, al igual que bortezomib, es un péptido derivado del ácido borónico inhibidor reversible de la subunidad $\beta 5$, es el agente antimieloma de esta clase aprobado más recientemente (2015). En comparación con sus dos predecesores, ixazomib se asocia a un menor riesgo de toxicidad, al tiempo que ofrece las claras ventajas de la biodisponibilidad oral y la dosificación una vez a la semana ²⁵².

Moduladores de Cereblon E3 ligasa

La empresa farmacéutica alemana *Chemie Grünenthal* introdujo la talidomida (alfa-N-[ftalimido]-glutarimida) en el mercado como sedante el 1 de octubre de 1957 ²⁵³.

Para 1960, se vendía en más de 40 países y se hizo popular como sedante y como tratamiento para las náuseas matutinas del embarazo. Se comercializó con varios nombres, como Contergan, Distaral, Softenon, Neurosedyn, Isomin, Kedavon, Telargan y Sedalis.

El 18 de noviembre de 1961, Widukind Lenz, un médico y genetista alemán, determinó que la talidomida provocaba graves malformaciones congénitas de origen teratogénico²⁵⁴, y en diciembre de ese mismo año, llegó la confirmación independiente de William McBride, un obstetra australiano²⁵⁵. Las malformaciones fetales se producían inevitablemente cuando el fármaco se tomaba en el primer trimestre, entre los días 35 y 49 después de la última menstruación. A finales de 1961, la talidomida se retiró del mercado en la mayoría de los países, pero casi 10.000 recién nacidos ya se habían visto gravemente afectados. Estados Unidos se salvó de esta tragedia porque la Dra. Frances Kelsey de la FDA, había denegado la aprobación del fármaco por falta de datos sobre su seguridad. Poco después de que se descubrieran sus propiedades teratogénicas, la talidomida fue considerada como un potencial tratamiento contra el cáncer, lo que llevó a dos ensayos clínicos en pacientes con cáncer avanzado^{256,257}, en los que no se observó ninguna actividad significativa. En estos ensayos se incluyeron algunos pacientes con mieloma, pero la actividad antimieloma de la talidomida no fue evidente en ninguno de los dos, lo que ilustra que se puede pasar por alto una actividad clínicamente importante si los ensayos clínicos no están bien diseñados y dirigidos a tumores malignos específicos.

A pesar de su retirada del mercado, la talidomida persistió como agente terapéutico en investigación debido a la prometedora actividad observada posteriormente en la lepra (1964), la enfermedad de *Behçet* (1979), la enfermedad de injerto contra huésped (1988) y las úlceras orales asociadas al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (1989)²⁵³. Bajo la presión de los activistas contra el VIH y para disuadir a las redes de distribución ilegal de fármacos, la FDA aprobó la talidomida para el tratamiento del eritema nodoso de la lepra en julio de 1998 con un sistema de seguridad incorporado, denominado *System for Thalidomide Education and Prescribing Safety*.

En 1994, D'Amato et al.²⁵⁸ describieron por primera vez las importantes propiedades antiangiogénicas de la talidomida en el ensayo de *multipocket* en córnea de conejo. A finales de 1997, basándose en la creciente concienciación sobre la implicación de la angiogénesis en la patogénesis del cáncer y en las pruebas del aumento de la

angiogénesis en el mieloma, la cónyuge de un paciente afectado de mieloma convenció a Barlogie y a sus colegas de la Universidad de Arkansas para iniciar un ensayo de uso compasivo de la "terapia antiangiogénica". Hay que reconocer a Barlogie todo el mérito de haber seguido esta estrategia, en un ensayo histórico en el que participaron 84 pacientes²⁵⁹. Sorprendentemente, el 32% de los pacientes respondieron a la talidomida, lo que la convirtió en el primer nuevo fármaco con actividad como agente único para el mieloma en más de tres décadas. Los resultados iniciales con talidomida observados en el estudio de Arkansas fueron luego confirmados por muchos otros centros en todas las fases de la enfermedad²⁶⁰. Las tasas de respuesta en la enfermedad recidivante son aproximadamente del 50% con la combinación de talidomida y esteroides, y del 65% con la combinación de talidomida, esteroides y ciclofosfamida.

Poco después de que se determinara que la talidomida era un teratógeno, se sintetizaron varios análogos de la molécula para determinar el mecanismo de su teratogenicidad. Del mismo modo, en la década de 1990, se sintetizaron varios análogos de la talidomida en un intento de aumentar la eficacia y minimizar la toxicidad. La lenalidomida, un análogo 4-amino sustituido de la talidomida anteriormente denominado CC-5013, pertenece a una clase de análogos de la talidomida con un mecanismo de acción único que une la actividad tumoricida directa con una actividad inmunomoduladora en el microambiente tumoral que facilita también la acción tumoricida.

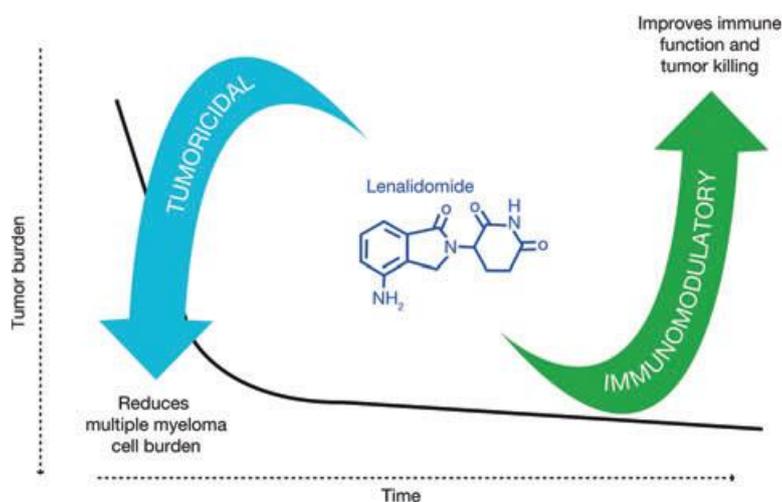


Figura 28. Doble mecanismo de acción, tumoricida e inmunomodulador de talidomida, lenalidomida y pomalidomida. Celgene Corporation.

Talidomida y sus dos derivados de segunda y tercera generación, lenalidomida y pomalidomida, comparten una estructura química muy similar y un mecanismo de acción común. Además de su actividad inmunomoduladora sobre el microambiente

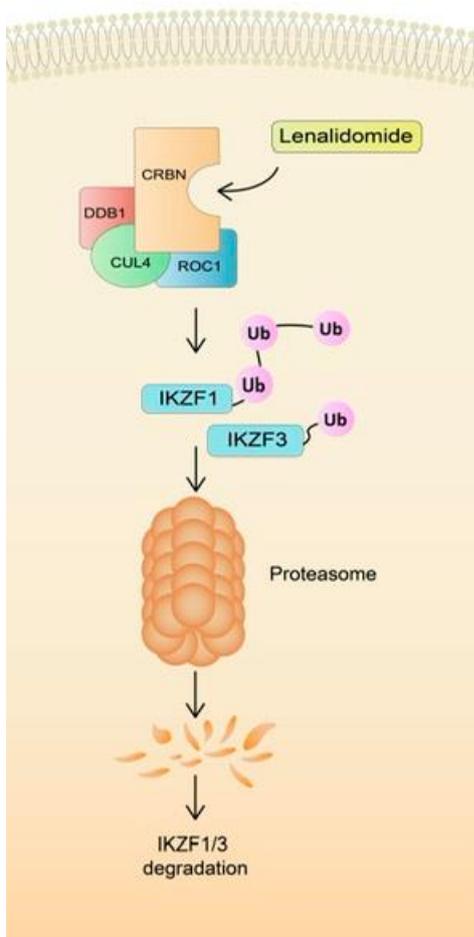


Figura 29. Mecanismo de acción de talidomida y sus derivados. Reproducido de Kulig *et al* ²⁶²

tumoral, los tres se unen a una diana común que es la proteína cereblon. La unión de cualquiera de ellos al complejo que forma cereblon, incrementa la actividad E3 ubiquitina ligasa del complejo. Dos factores de transcripción, Ikaros (IKZF1) y Aiolos (IKZF3), que son imprescindibles para la supervivencia de las células de mieloma, son reclutados al complejo como sustratos, lo que da lugar a su ubiquitinación y posterior degradación por el proteasoma ²⁶¹. Esta capacidad de las moléculas pequeñas (conocidas como degradadores o "pegamentos moleculares"), como la talidomida y sus derivados, de secuestrar la especificidad de las ubiquitina ligasas E3 para provocar la degradación selectiva de proteínas relacionadas con la enfermedad, ha ayudado a introducir la degradación selectiva de proteínas (*targeted protein degradation*, TDP) como un concepto totalmente nuevo y

estimulante en el descubrimiento de fármacos innovadores.

En base a los estudios preclínicos realizados en el Instituto Oncológico *Dana-Farber*, lenalidomida se testó en un ensayo inicial en pacientes con mieloma en recaída o refractario en los que se consiguieron un 17% de respuestas ²⁶³ y, simultáneamente, en un ensayo en pacientes de nuevo diagnóstico en la Clínica Mayo en el que 31 de 34 pacientes (91%) lograron una respuesta objetiva con lenalidomida más dexametasona ²⁶⁴. Dos grandes ensayos de fase III han demostrado desde entonces un tiempo hasta la progresión significativamente superior con lenalidomida más dexametasona en comparación con

placebo más dexametasona en mieloma recidivante ^{265,266}. La combinación de lenalidomida más dexametasona fue aprobada por la FDA en junio de 2006 para el tratamiento del mieloma en pacientes que han fracasado en una línea de terapia previa. En 2013, lenalidomida también fue aprobada para el tratamiento del Linfoma del Manto recidivante, mientras que ese mismo año se aprobó pomalidomida para el tratamiento del mieloma. En 2019 la FDA y la EMA aprobaron este agente para el tratamiento del Linfoma Folicular y Linfoma de Zona Marginal previamente tratados, mientras que, en 2020, la combinación de lenalidomida con tafasitamab recibió la autorización para el tratamiento de pacientes con Linfoma Difuso de Células B Grandes en recaída o refractario.

Inmunoterapia

La segunda nueva estrategia en la terapia antitumoral en el siglo XXI ha sido el uso del sistema inmune contra los tumores. Hasta ahora hemos revisado cómo pequeñas moléculas químicas dirigidas a dianas moleculares específicas de cada tumor pueden revertir los mecanismos oncogénicos. La inmunoterapia usa macromoléculas que son anticuerpos monoclonales sintéticos que tienen, por tanto, la especificidad extraordinaria de un anticuerpo monoclonal para destruir las células tumorales cuya membrana presenta la diana para la cual han sido diseñados y sintetizados. El viejo sueño de Coley, cuando intentó utilizar a finales del siglo XIX, de una forma bastante ingenua, el sistema inmune para atacar a los tumores ¹⁰⁵⁻¹⁰⁶, se ha hecho realidad con sofisticados productos de ingeniería molecular y, en los últimos años, también de ingeniería celular. El mecanismo básico de la unión antígeno-anticuerpo ha dado lugar de forma sucesiva al uso de anticuerpos monoclonales sintéticos sin más, seguido de los anticuerpos monoclonales cargados con drogas, a continuación, los anticuerpos monoclonales biespecíficos que unen las dianas moleculares a los linfocitos T, y, por último, los linfocitos T modificados genéticamente para presentar en su superficie un anticuerpo monoclonal.

Anticuerpos monoclonales

Los anticuerpos o inmunoglobulinas (Ig) son glicoproteínas producidas por linfocitos B diferenciados que constituyen el componente humoral del sistema inmunitario adaptativo en respuesta a la exposición a agentes patógenos. Se componen de dos cadenas pesadas (H) de mayor tamaño (Igh) y dos cadenas ligeras (L) (Igl o Igl)

unidas por enlaces disulfuro covalentes para formar una estructura tetramérica. Los anticuerpos han sido ampliamente estudiados por su alta especificidad y afinidad en numerosas aplicaciones clínicas tanto diagnósticas como terapéuticas.

En 1975, Köhler y Milstein generaron las primeras líneas celulares de hibridomas capaces de producir AcMo ¹¹⁸. El potencial médico e industrial de su logro fue comprendido enseguida, y la producción de AcMo se ha convertido rápidamente en una industria biotecnológica en auge. En 1986, la FDA aprobó el primer AcMo para uso terapéutico en el rechazo agudo del trasplante renal ¹¹⁹, pero el desarrollo de terapias oncológicas basadas en AcMo se enfrenta a retos adicionales, entre los que destaca la elección de la diana. Las dianas óptimas están universalmente presentes en las células tumorales, pero se puede provocar una toxicidad intolerable si también se encuentran en células normales, lo cual es bastante habitual. Una notable excepción es CD20 que es una fosfoproteína transmembrana expresada en la superficie de las células B en desarrollo y en la mayoría de las células B malignas. Dado que las células plasmáticas maduras y los progenitores de células B no expresan la proteína, la depleción de células B en estas fases intermedias del desarrollo no produce efectos secundarios permanentes, lo que unido a la limitada expresión de CD20 entre otros linajes celulares, la identificó como una potencial diana ideal para la terapia del LNH de células B. En 1980, Nadler y cols. llevaron a cabo una prueba de concepto histórica para la inmunoterapia con anticuerpos monoclonales en oncología, con un ensayo preliminar en el que el paciente N.B., que presentaba un linfoma linfocítico difuso resistente a los quimioterápicos habituales, recibió un tratamiento con un anticuerpo monoclonal dirigido contra CD20. Aunque N.B. no alcanzó la RC, una respuesta transitoria, medida por una disminución de las células tumorales circulantes, junto con un aumento de las células tumorales circulantes en apoptosis, proporcionó la primera prueba de que CD20 era una terapia eficaz contra, al menos, algunos linfomas de células B ²⁶⁷.

En 1994, Maloney y cols. informaron de los primeros ensayos clínicos de fase I con el AcMo rituximab, inicialmente denominado IDEC-C2B8, después de que hubiera demostrado su eficacia para eliminar las células que expresan CD20 in vitro y en la sangre y la linfa de macacos ²⁶⁸. Quince pacientes con LNH recidivante recibieron uno de los cinco intervalos de dosis, y seis de ellos experimentaron regresión tumoral ²⁶⁸. En 1997, se publicaron los resultados de un ensayo de fase I/II en 20 pacientes con LNH B que recibieron dosis crecientes de rituximab semanalmente durante 4 semanas, en el que se

comunicaron respuestas en la mitad de los pacientes²⁶⁹. Un año más tarde, McLaughlin y cols. informaron de beneficios igualmente impresionantes del tratamiento con rituximab en pacientes con linfoma indolente recidivante, y la mitad de los 166 pacientes respondieron al mismo régimen de cuatro dosis²⁷⁰. Este ensayo sirvió de base para la aprobación de rituximab por la FDA en 1997.

Respecto al mecanismo de acción, la unión de rituximab a CD20 produce la muerte celular de cuatro formas principales que son aditivas: inducción directa de la apoptosis, citotoxicidad mediada por complemento (*Complement-Dependent Cytotoxicity*, CDC), citotoxicidad celular mediada por anticuerpos (*Antibody-Dependent Cell Cytotoxicity*, ADCC) y fagocitosis dependiente de anticuerpos (*Antibody Dependent Phagocytosis*, ADP) (figura 30). La suma de estos cuatro mecanismos es la base de la extraordinaria eficacia de rituximab en la eliminación de las células tumorales CD20 positivas.

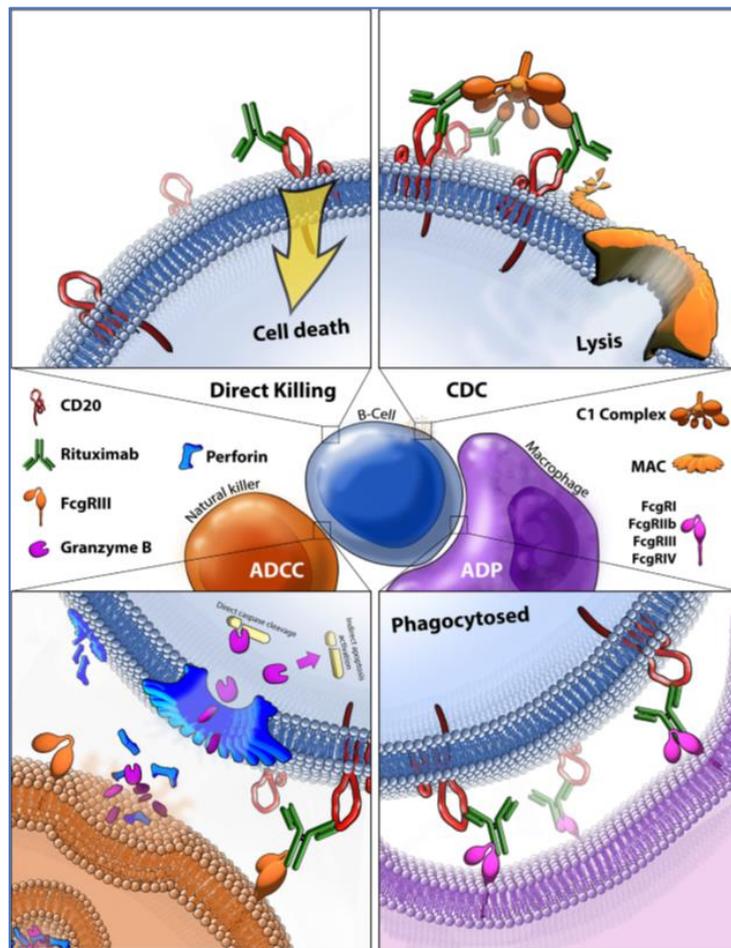


Figura 30. Mecanismo de acción de rituximab. Reproducido de Pierpont *et al*²⁷¹.

A pesar del conocimiento incompleto sobre el papel biológico de CD20, su abordaje terapéutico con rituximab ha demostrado ser eficaz para tratar casi todas las formas de LNH de células B, tanto indolentes como agresivos, dado que el 98% de todos ellos presentan positividad para CD20. En la actualidad, rituximab se administra como tratamiento inicial en combinación con quimioterápicos tradicionales en el LDCGB, y como monoterapia en linfomas indolentes. También tiene indicación en las recaídas y como terapia de mantenimiento en algunos de ellos. En suma, la introducción de rituximab en el arsenal terapéutico disponible para los LNH ha mejorado los resultados del tratamiento de todos ellos sin excepción.

En la última década, se han aprobado dos nuevos anticuerpos anti-CD20: ofatumumab, que se une a un epítipo distinto del CD20, y obinutuzumab, un mAb derivado del rituximab con modificaciones en la porción Fc y en su glicosilación. Ambos están totalmente humanizados y tienen una actividad biológica distinta a la de rituximab. Además de estos nuevos anticuerpos anti-CD20, otro cambio en el tratamiento selectivo del linfoma es la multitud de biosimilares que ya están disponibles desde que expiró la patente del rituximab. Aunque continúa el uso generalizado del propio rituximab, sus biosimilares aumentarán sin duda el acceso global a la terapia.

El éxito del rituximab provocó un interés exponencial por el desarrollo de AcMo terapéuticos en muchas áreas de la oncología. En la actualidad, daratumumab está transformando el paradigma del tratamiento del mieloma múltiple, la segunda neoplasia maligna hematológica más frecuente en todo el mundo. Daratumumab es un anticuerpo monoclonal IgG1 kappa humano que ha demostrado ser eficaz como monoterapia, así como en regímenes combinados, para el tratamiento tanto del MM de diagnóstico reciente como del MM recidivante/refractario.

Daratumumab se dirige a un epítipo único de CD38 presente en las células malignas de MM y funciona a través de múltiples mecanismos como la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), la fagocitosis mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCP) y la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC)²⁷² (figura 31). Además, daratumumab ejerce un efecto inmunomodulador a través de su unión a CD38 presente en células supresoras. A través de las células supresoras mieloides y células T reguladoras, la célula plasmática maligna puede evadir y suprimir el sistema inmunitario, por lo que un AcMo dirigido a las células reguladoras CD38 +

elimina la supresión e induce una respuesta inmunitaria natural antimieloma. Este efecto inmunomodulador de daratumumab se ha observado a través de un aumento de la respuesta inmunitaria adaptativa, cuantificada por un aumento de la proporción de células T CD8:CD4, y de la clonalidad de receptores de células T²⁷².

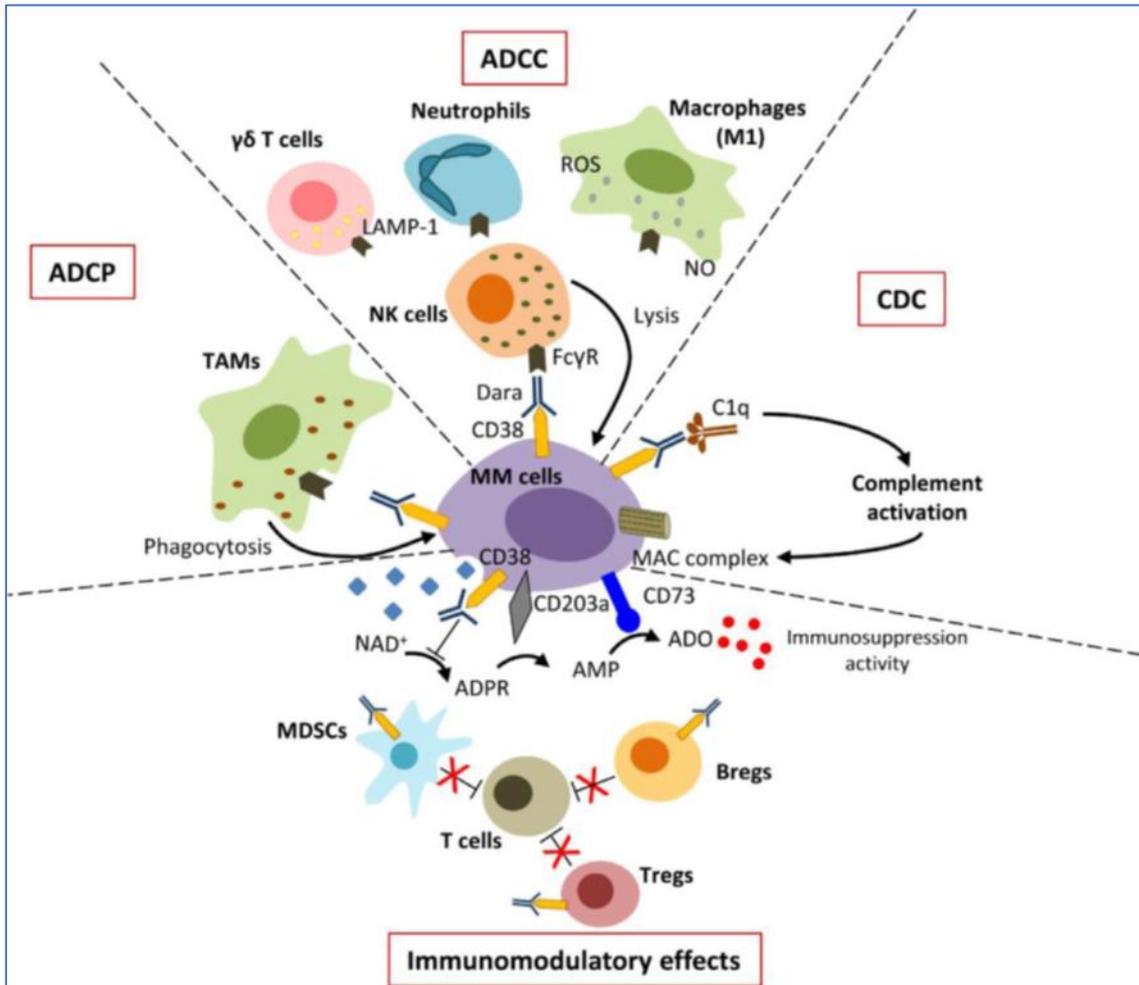


Figura 31. Mecanismo de acción de daratumumab. Reproducido de Saltarella *et al.*²⁷²

El 16 de noviembre de 2015, la FDA aprobó daratumumab, primer anticuerpo monoclonal para el tratamiento de pacientes con MM que hubieran recibido al menos tres líneas previas de terapia, o que hubieran mostrado refractariedad a dos líneas. Daratumumab en monoterapia se aprobó utilizando el programa de aprobación acelerada de la FDA, que proporciona un acceso temprano de los pacientes a una nueva terapia mientras su promotor lleva a cabo los ensayos clínicos necesarios para confirmar los beneficios del fármaco. Esta aprobación inicial se hizo en base a los excelentes resultados

de dos ensayos clínicos fases I/II, GEM501 y SIRIUS, en los que los pacientes incluidos en fases muy avanzadas de la enfermedad mostraron tasas de respuestas de 31.1% y de remisiones completas de 4.7% en un análisis conjunto de ambos ²⁷³.

Estudios posteriores confirmaron el beneficio del daratumumab en combinación con otros agentes terapéuticos para el mieloma en recaída. En el estudio CASTOR, 498 pacientes con MMRR, fueron asignados aleatoriamente a recibir bortezomib y dexametasona con o sin daratumumab ²⁷⁴. De forma similar, en el ensayo POLLUX, 569 pacientes fueron asignados aleatoriamente a recibir la combinación triple con daratumumab, lenalidomida y dexametasona, o al control activo, lenalidomida y dexametasona solas ²⁷⁵. En ambos ensayos, la adición de daratumumab al régimen estándar demostró claros beneficios en términos de respuesta global, remisión completa, EMR y PFS, lo que llevó a la FDA a la aprobación de ambas combinaciones en noviembre de 2016.

Otras dos combinaciones de daratumumab han obtenido aprobación por parte de la FDA para mieloma múltiple en recaída o refractario. La combinación con pomalidomida y dexametasona en 2017 en base a los resultados del ensayo EQUULEUS ²⁷⁶, y la combinación con carfilzomib y dexametasona en base al ensayo CANDOR ²⁷⁷ en 2020.

Daratumumab en combinación ha obtenido también la aprobación de la FDA para pacientes con MM de nuevo diagnóstico, de nuevo en base a los resultados que podemos calificar de espectaculares de tres ensayos clínicos. El ensayo ALCYONE ²⁷⁸, que comparaba bortezomib, melfalán y prednisona con o sin daratumumab condujo a la aprobación de daratumumab en esta combinación en 2018. El ensayo CASSIOPEIA ²⁷⁹, que comparaba bortezomib, talidomida y prednisona con o sin daratumumab llevó a la FDA a dar la aprobación a esta combinación en 2019, y por último el ensayo MAIA ²⁸⁰, que condujo a la aprobación de la combinación lenalidomida, prednisona y daratumumab también en 2019.

La adición de daratumumab a todas y cada una de las combinaciones existentes para tratamiento del MM ha superado ampliamente los resultados de esas combinaciones, y ha superado también las expectativas de respuesta en todas las situaciones y fases de la enfermedad. Al igual que ocurre con rituximab en LNH, daratumumab ha cambiado el pronóstico del MM.

Inhibidores de los puntos de control inmunitario (*Immune Check-point Inhibitors, ICIs*)

Hasta ahora hemos revisado la actividad antitumoral de AcMo que utilizan su capacidad directa de activar el sistema inmune contra el tumor. Pero también disponemos de AcMo que activan el sistema inmune de forma indirecta, mediante la inhibición de los puntos de control naturales de la inmunidad. En lenguaje coloquial, se puede acelerar un vehículo pisando el acelerador o levantando el pie del freno. Los AcMo como rituximab o daratumumab activan el sistema inmune “pisando el acelerador”, pero disponemos también de AcMo que lo hacen obligando al sistema inmune a “levantar el pie” de su freno natural.

Los denominados puntos de control inmunitario (*Immune Check-points, IC*) constituyen una parte normal del sistema inmunitario cuya función consiste en evitar que una respuesta inmunitaria sea tan potente que llegue a destruir las células normales del organismo. Los IC son receptores de membrana de los linfocitos T que se activan cuando reconocen a sus ligandos presentes en la superficie de otra célula, lo que envía una señal de "apagado" a las células T impidiendo que produzca la citotoxicidad. Muchas células tumorales presentan ligandos de ICs en su superficie, lo que blinda a esos tumores frente a la acción de los linfocitos T.

Los fármacos inmunoterápicos denominados inhibidores del punto de control inmunitario (*Immune Check-point Inhibitors, ICI*) actúan bloqueando la unión de los IC con sus ligandos en las células tumorales. Esto impide que se envíe la señal de "apagado", permitiendo que las células T destruyan las células tumorales, es decir, se favorece la citotoxicidad mediante la inhibición del propio mecanismo inhibitorio.

En la última década, las terapias de bloqueo de los IC, como los AcMo dirigidos contra la proteína 4 asociada a los linfocitos T citotóxicos (*cytotoxic T lymphocyte-associated protein 4, CTLA-4*) o la proteína 1 de muerte celular programada (*programmed cell death protein 1, PD-1*), han cambiado radicalmente las estrategias terapéuticas en ciertos tipos de neoplasias malignas avanzadas. El anticuerpo humanizado anti-CTLA-4, ipilimumab, ha demostrado duplicar las tasas de supervivencia a 10 años del melanoma metastásico en comparación con los datos históricos de control, y su aprobación por la FDA marcó un punto de inflexión para la inmunoterapia antitumoral

²⁸¹. El bloqueo de PD-1 o de su ligando (*PD-1 ligand*, PD-L1), ha mostrado respuestas clínicas superiores con menos efectos secundarios en una amplia gama de cánceres sólidos y hematológicos ²⁸².

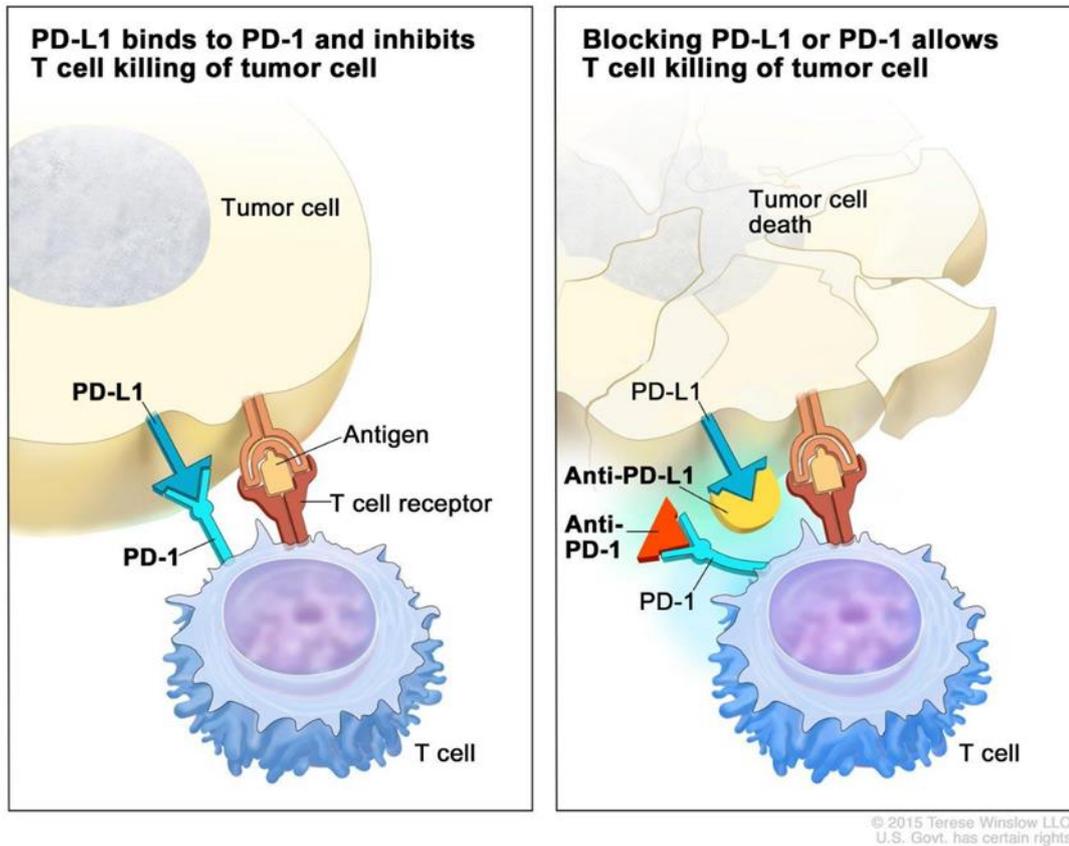


Figura 32. Mecanismo de los ICIs anti-PD1 y anti-PD-L1. Reproducido de [Immune Checkpoint Inhibitors - NCI \(cancer.gov\) https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/immunotherapy/checkpoint-inhibitors](https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/immunotherapy/checkpoint-inhibitors)

Entre las neoplasias hematológicas, los beneficios terapéuticos del bloqueo de PD-1 se han demostrado sobre todo en pacientes con linfoma de Hodgkin (LH). La célula neoplásica del LH, célula de Red-Sternberg, presenta una sobreexpresión aberrante de PD-L1 ²⁸³ que amortigua o impide la inmunidad antitumoral natural. Estas células se encuentran rodeadas por un marcado infiltrado de linfocitos, que se encuentran inhibidos por la alta expresión de PDL-1 en el tumor. La inhibición de PD-L 1 en el tumor o de PD-1 en el infiltrado linfocitario, libera la respuesta inmune ocasionando la eliminación de las células tumorales.

En un ensayo clínico inicial en 23 pacientes con LH en recaída o refractario, el AcMo anti-PD-1 nivolumab mostró una tasa de respuesta objetiva sin precedentes del

87%, con una respuesta completa del 17% ²⁸⁴. La eficacia clínica y el perfil de seguridad de la monoterapia con nivolumab se demostraron además en el ensayo CheckMate 205 en 80 pacientes con LH en los que había fracasado el trasplante autólogo y el brentuximab vedotina ²⁸⁵. Otro anti-PD-1, pembrolizumab, también mostró una eficacia similar contra el LH en ensayos clínicos como KEYNOTE-013 ²⁸⁶ y KEYNOTE-087 ²⁸⁷. Estos resultados condujeron a la aprobación por la FDA de nivolumab (en 2016) y pembrolizumab (en 2017) para pacientes con LH recidivante o refractario en los que habían fracasado múltiples líneas de terapia.

Anticuerpos monoclonales conjugados con drogas

Los AcMo “desnudos” como rituximab o daratumumab dirigen la muerte de las células malignas a través de mecanismos inmunológicos naturales del huésped. Pero ¿qué ocurriría si utilizamos la especificidad de los AcMo para dirigir drogas citotóxicas exclusivamente a las células que presentan el antígeno tumoral específico? Si esto fuera posible, estaríamos dirigiendo fármacos altamente tóxicos exclusivamente a las células tumorales, respetando todas las células normales. Pues bien, esto es posible con los llamados anticuerpos conjugados con drogas (*antibody-drug conjugates*, ADC).

Los ADC constan de tres partes: un AcMo contra un antígeno específico del tumor, un fármaco con potente actividad citotóxica y una porción enlazadora que los conecta. Se trata de una estrategia terapéutica que permite un sistema de administración de fármacos altamente eficaz para la eliminación selectiva de las células tumorales, al tiempo que se preservan las células no malignas. Estos agentes mejoran la eficacia de la quimioterapia estándar al aumentar la acumulación del fármaco citotóxico dentro o en el entorno de las células neoplásicas y, además, con efectos sistémicos reducidos o nulos.

Tras el reconocimiento y la unión al antígeno en la superficie celular, el complejo ADC se internaliza mediante endocitosis (figura 33). Una fracción de los ADC endocitados, en las condiciones ácidas presentes en el endosoma, vuelve a la superficie celular lo que ayuda al reciclaje de los ADC. Los ADC restantes se retienen en los endosomas durante la maduración hacia el endosoma tardío, seguida de la fusión con los lisosomas. El lisosoma contiene proteasas, como la catepsina B y la plasmina, que pueden romper el enlace entre el AcMo y la carga citotóxica, liberándola al citoplasma. La carga

citotóxica liberada provoca la disrupción de los microtúbulos o daños en el ADN, lo que conduce finalmente a la apoptosis de la célula tumoral²⁸⁸.

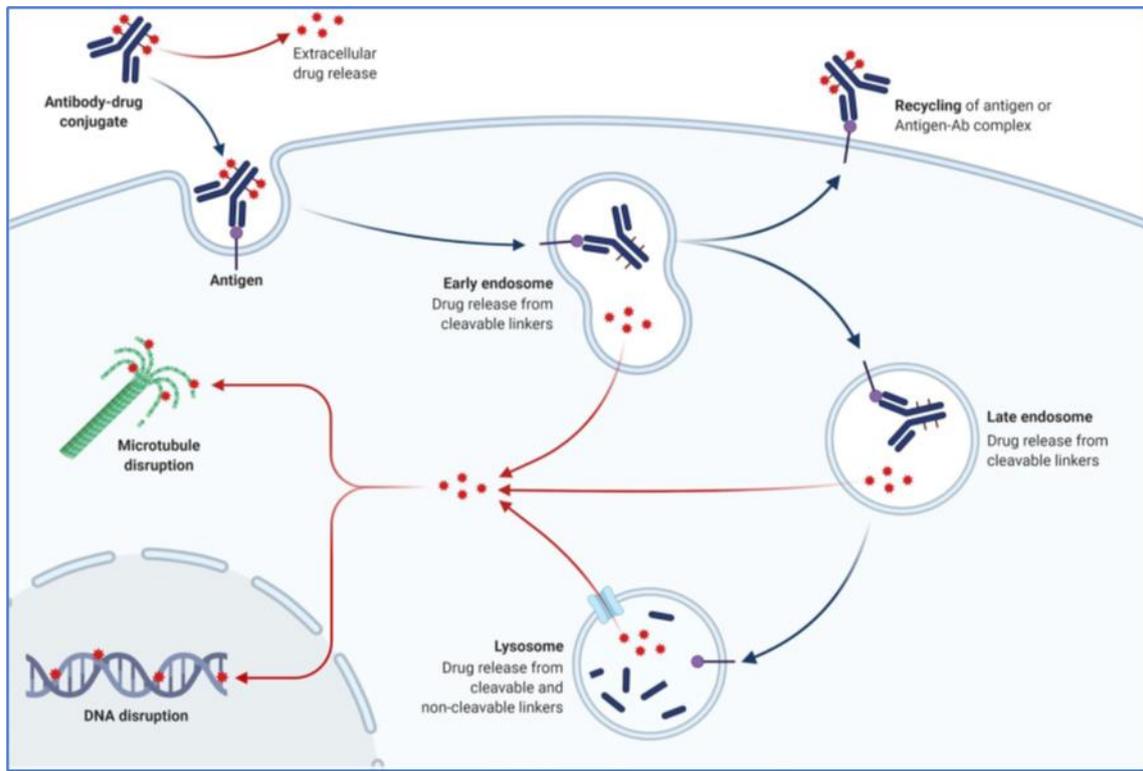


Figura 33. Mecanismo de acción de los ADCs. Reproducido de Marei *et al.*²⁸⁸.

El interés despertado por este tipo de fármacos en los últimos años ha llevado a la aprobación por la FDA de cuatro de ellos para el tratamiento de neoplasias hematológicas.

1. Gemtuzumab ozogamicina

Gemtuzumab ozogamicina es un mAb IgG4 humanizado dirigido a CD33 conjugado con una carga citotóxica de calicheamicina. El 17 de mayo de 2000, la FDA concedió la aprobación acelerada del primer ADC, gemtuzumab ozogamicina (GO), como monoterapia en pacientes mayores de 60 años con LMA recidivante que no eran candidatos a quimioterapia intensiva, basándose en datos de tres estudios de fase II²⁸⁹, aunque esta decisión, como todas las aprobaciones aceleradas, estaba condicionada al cumplimiento de los requisitos de vigilancia post-comercialización y a la realización de un ensayo de fase III para confirmar la eficacia y la seguridad. Pero el ensayo confirmatorio SWOG-S0106²⁹⁰ no demostró beneficio en la supervivencia y, a cambio,

sí se mostraron varios acontecimientos adversos importantes, por lo que GO fue voluntariamente retirado de los mercados estadounidense y europeo en 2010.

Tras la retirada de GO, varios estudios posteriores establecieron un régimen de dosificación eficaz y seguro, lo que sugiere que el diseño inadecuado del ensayo confirmatorio SWOG-S0106 podría haber contribuido a sus resultados negativos. La Asociación Francesa de Leucemia Aguda (ALFA) realizó un ensayo que evaluaba la adición de GO a la quimioterapia estándar en pacientes con LMA de nuevo diagnóstico²⁹¹. GO se administró en dosis fraccionadas menores que las usadas en el ensayo SWOG-S0106, y esto condujo a una toxicidad aceptable y a beneficios netos en la supervivencia libre de progresión (41% vs 17%). Los resultados del estudio francés fueron confirmados en dos ensayos del mismo grupo en Reino Unido²⁹² y un metaanálisis²⁹³, que demostraron de forma incuestionable que GO, administrado en dosis fraccionadas más bajas, en combinación con la quimioterapia estándar, es seguro y eficaz, principalmente en pacientes con LMA de riesgo favorable y de riesgo intermedio. Estos datos llevaron a la FDA a volver a aprobar GO para adultos con LMA CD33 positiva de nuevo diagnóstico y para adultos y niños en recaída y/o refractariedad en 2017.

En resumen, los diversos ensayos con GO demuestran una eficacia que depende de la combinación con otras terapias dirigidas a la LMA. Aunque la monoterapia con GO es una opción para los pacientes con LMA en recaída y/o refractaria en función del nivel de expresión de CD33, el uso de este agente se reserva ahora típicamente para los entornos de segunda o tercera línea de rescate, en su mayoría combinado con otros tratamientos de la LMA.

Los conocimientos adquiridos a partir del desarrollo y la trayectoria clínica de GO, incluidos sus éxitos y fracasos, encabezaron el desarrollo de posteriores ADC para pacientes con leucemia y otros tipos de cáncer.

2. Inotuzumab ozogamizina

Inotuzumab ozogamizina (InO) es un AcMo anti-CD22 acoplado también al antibiótico citotóxico calicheamicina mediante un enlazador. El alto nivel de expresión de CD22 en el 90% de los linfoblastos y la falta de expresión en las células madre mieloides y hematopoyéticas hacen de este antígeno una diana atractiva para el desarrollo de fármacos en el contexto de las neoplasias de células B.

En el ensayo de fase III INOVATE ALL se comparó InO en monoterapia con la quimioterapia estándar en 326 pacientes adultos con LLA en recaída o refractaria ²⁹⁴. La tasa de RC fue significativamente mayor en el grupo de InO que en el grupo de tratamiento estándar (80,7% frente a 29,4%) y también resultó ser superior la supervivencia. Además, el número de pacientes que consiguieron una EMR negativa fue superior en el grupo que recibió InO, por lo que pudieron beneficiarse de un TPH subsecuente.

La capacidad de InO para inducir altas tasas de remisión y negatividad de la EMR sin aumentar la toxicidad en una población con enfermedad recidivante llevó a evaluar la eficacia en combinación con quimioterapia y a intentar integrar este agente en las primeras líneas de tratamiento. La combinación de InO y mini HCVD (un régimen atenuado de quimioterapia) en adultos y pacientes de edad avanzada con LLA-B recidivante y/o refractaria demostró mejores resultados con toxicidades mínimas ²⁹⁵.

En resumen, InO es eficaz y seguro cuando se administra en dosis fraccionadas bajas para el tratamiento de pacientes con LLA-B. Hasta ahora, se ha demostrado que la monoterapia con InO mejora marginalmente los resultados de supervivencia en comparación con el tratamiento de referencia en pacientes con LLA recidivante y/o refractaria, pero es un excelente tratamiento para conseguir RC con EMR negativa y poder llevar así a los pacientes a un trasplante de progenitores hematopoyéticos. Además, su administración en combinación con quimioterapia de baja intensidad (mini-CHVD) proporciona excelentes resultados, con tasas de negatividad de EMR superiores a las observadas en cohortes de control históricas. Este régimen ha permitido mejorar sustancialmente los resultados de supervivencia en pacientes mayores de 60 años de edad, una población vulnerable que ha carecido durante décadas de opciones de tratamiento tolerables y seguras.

3. Brentuximab vedotina

El CD30 es un miembro de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral (TNFR) que se expresa con fuerza por las células tumorales en el linfoma de Hodgkin (LH) y en el linfoma anaplásico de células grandes (LACG). Brentuximab vedotina (Bv) es un anticuerpo anti-CD30 conjugado a monometil auristatina E (MMAE) mediante un enlazador peptídico de valina-citrulina. MMAE es un análogo sintético de la dolastatina 10, un fármaco antimetabólico natural extraído de la oreja de mar *Dolabella*

auricularia y demasiado tóxico para ser administrado en su forma no conjugada. Sin embargo, conjugado con un anti CD30 en Bv destruye exclusivamente a las células CD30 positivas despolimerizando la tubulina y bloqueando así el ciclo celular en G2/M.

Los datos alentadores de los ensayos fase I sirvieron de base para ensayos pivotaes de fase II, que reclutaron a pacientes con LH en recaída o refractario o con LACG sistémico, respectivamente. Se observaron reducciones tumorales en el 94% de los 102 pacientes con LH y RC en el 34% de ellos; la duración media de estas respuestas fue de 20,5 meses en el momento de la publicación ²⁹⁶. De forma similar, entre 58 pacientes con LACG sistémico recidivante o refractario, la tasa de respuestas fue del 86% y el 57% de los pacientes experimentaron respuestas completas con una duración media de 13,2 meses ²⁹⁷. En agosto de 2011, la FDA concedió la aprobación acelerada para el uso de brentuximab vedotina en el LH recidivante y en el LACG sistémico recidivante. Brentuximab vedotina es el único ADC cuyo uso está aprobado en la actualidad para estos dos tipos de linfoma, y es el primer fármaco nuevo aprobado para el tratamiento del LH en 30 años.

El desarrollo clínico de brentuximab ha cambiado el enfoque terapéutico para los pacientes con LH dado que las indicaciones de tratamiento se han ampliado desde las aprobaciones iniciales. En la actualidad, las directrices de práctica clínica en oncología de la *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN) recomiendan brentuximab en combinación con quimioterapia como primera opción de tratamiento para la enfermedad en estadio III-IV y en todos los casos en pacientes mayores de 60 años, así como brentuximab en monoterapia de mantenimiento tras trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos para la enfermedad refractaria con alto riesgo de recaída ²⁹⁸.

4. Polatuzumab vedotina

Polatuzumab vedotina representa un ADC prototípico y novedoso consistente en un AcMo contra CD79b, un receptor específico de células B, unido covalentemente al agente citotóxico antimetabólico monometil auristatina E (MMAE) mediante un enlazador peptídico escindible citrulina-valina que es estable en plasma. Como ya hemos visto en el caso de brentuximab vedotina, una vez liberada la MMAE provoca la disrupción de los microtúbulos, inhibiendo así la división celular e induciendo la apoptosis de las células B

proliferantes. Polatuzumab vedotina transporta una media de 3,5 moléculas de MMAE por cada ACMo anti-CD79b lo que le dota de una elevada eficacia citotóxica²⁹⁹.

Los ensayos iniciales demostraron resultados alentadores de polatuzumab vedotina como monoterapia y en combinación con rituximab, en términos de eficacia, perfil de seguridad y resultados de supervivencia en pacientes no elegibles para trasplante con linfoma difuso de células grandes B (LDCGB) en recaída o refractarios muy pretratados. En un esfuerzo por mejorar la modesta profundidad, así como la duración de las respuestas, polatuzumab vedotina se evaluó posteriormente con bendamustina y rituximab (P-BR) frente a bendamustina y rituximab (BR) para el tratamiento de LDCGB en recaída o refractario en un ensayo multicéntrico abierto de fase Ib/II (GO29365)³⁰⁰ en el que se incluyeron 80 pacientes. La combinación P-BR fue más favorable que la BR en cuanto a la tasa de RC (40% frente a 18%) y, aunque el ensayo no tenía potencia para detectar diferencias de supervivencia, el régimen triple también se asoció a una mediana de supervivencia libre de progresión y de supervivencia global significativamente superiores. A pesar del escaso número de pacientes y de que el ensayo era un fase Ib/II, estos resultados realmente impresionantes condujeron a la aprobación acelerada de polatuzumab por la FDA el 10 de junio de 2019 para su uso en este entorno.

En 2022 se han publicado los resultados del ensayo de fase III POLARIX, un ensayo internacional, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo que incluyó a 879 pacientes con LDCBG de nuevo diagnóstico. Los pacientes fueron aleatorizados 1:1 para recibir el tratamiento estándar R-CHOP o el mismo régimen sustituyendo vincristina por polatuzumab vedotina (pola-R-CHP)³⁰¹. Este ensayo demostró que la supervivencia libre de progresión en los pacientes que recibieron pola-R-CHP fue superior a la de los pacientes que recibieron R-CHOP, y esta es la primera que vez que se ha conseguido, en más de veinte años y múltiples ensayos comparativos, mejorar los resultados del tratamiento estándar R-CHOP en primera línea del LDCGB.

Anticuerpos biespecíficos

Hace ya más de 50 años de que se desarrolló el concepto de anticuerpos con especificidad mixta y, a mediados de la década de 1980, se generó el primer anticuerpo bi-específico (BsAb) dirigido específicamente a los linfocitos T y a un antígeno diana³⁰².

Se pretendía, y se consiguió, utilizar la potente maquinaria citotóxica de los linfocitos T para reconocer específicamente y destruir células tumorales, algo que no ocurre de forma natural porque los linfocitos T no se activan de forma directa por antígenos tumorales. Desde entonces, el campo de los BsAb se ha expandido gradualmente y se han generado numerosos formatos de BsAb para redirigir las células T a antígenos tumorales. Entre ellos, los captadores biespecíficos de células T (*bispecific T cell engagers*, BiTE) han despertado un interés especial. Los BiTE son BsAb diseñados para dirigirse a CD3 y a antígenos tumorales simultáneamente y promover así la citotoxicidad directa de las células T. Con este objetivo, los BiTE constan de dos fragmentos variables de cadena única, uno específico de CD3 expresado en casi la totalidad de los linfocitos T, y el otro específico de un antígeno tumoral³⁰³. Se trata de una idea realmente genial, que consigue la activación directa de las células T por un antígeno tumoral, sin necesidad de células presentadoras de antígeno y sin la restricción HLA propia del receptor natural de las células T (TCR). En la figura 34 se muestra la estructura de los BiTE y su mecanismo de acción.

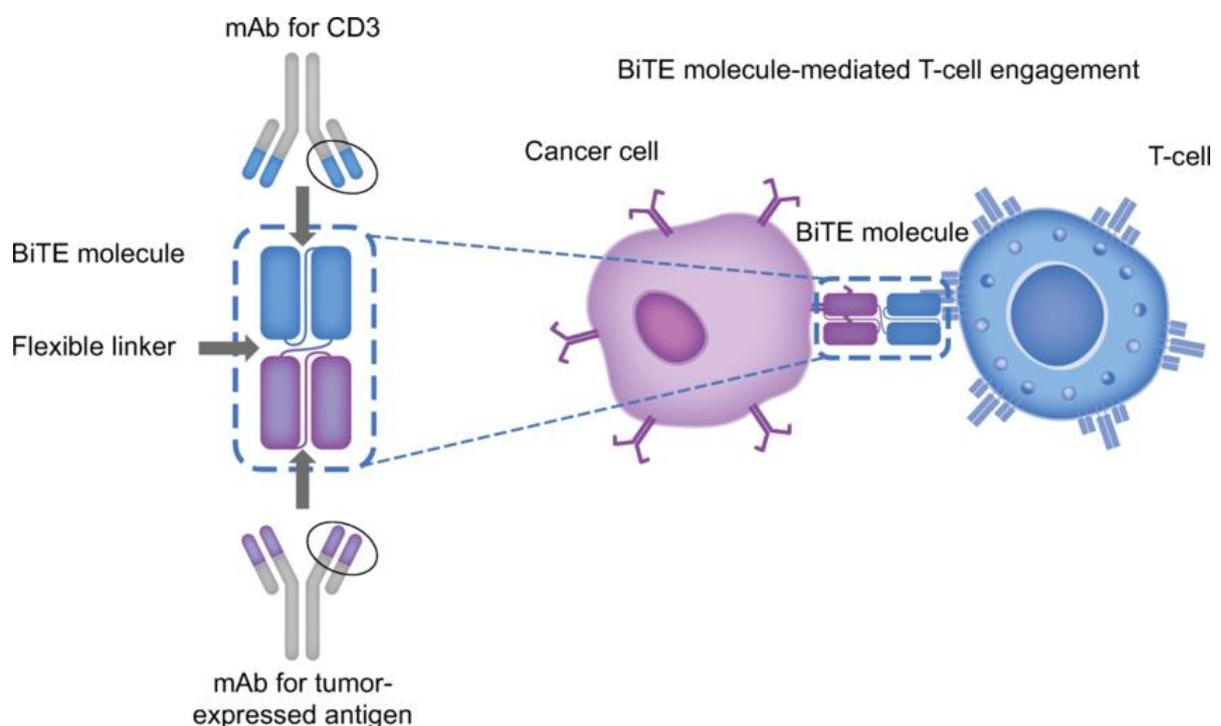


Figura 34. Estructura y mecanismo de acción de los BiTE. Reproducido de Viardot *et al.*³⁰³

CD 19 es una diana ideal para las neoplasias hematológicas de estirpe B por estar presente en la inmensa mayoría de ellas de forma estable. Blinatumomab es un BiTE específico de CD19 y CD3 que ha mostrado unos resultados clínicos impresionantes en neoplasias de células B.

Blinatumomab obtuvo la aprobación acelerada por la FDA en 2014 sobre la base de un estudio multicéntrico en 189 pacientes con LAL recidivante o refractaria en el que el 43% de los pacientes alcanzó la RC ³⁰⁴. Todas las aprobaciones aceleradas conllevan la obligatoriedad de llevar a cabo un ensayo fase III que confirme, o no, los resultados preliminares en los que se basó la aprobación acelerada. El ensayo multinacional, aleatorizado y de fase III TOWER examinó los resultados de adultos con LAL en recaída o refractaria a los que se administró blinatumomab o quimioterapia estándar ³⁰⁵. Los pacientes que recibieron blinatumomab experimentaron una respuesta profunda y duradera al tratamiento y una supervivencia global significativamente mayor en comparación con los pacientes que recibieron quimioterapia. El ensayo se interrumpió prematuramente debido al beneficio para la supervivencia observado en la cohorte de blinatumomab lo que impedía, por razones éticas, mantener el reclutamiento de pacientes en la cohorte de quimioterapia ³⁰⁵. En particular, en los pacientes en situación de primera recaída de la enfermedad, la supervivencia en los tratados con blinatumomab era el doble de la obtenida en los tratados con quimioterapia.

Estudios posteriores han demostrado también la superioridad de blinatumomab sobre quimioterapia en población pediátrica ³⁰⁶, y su capacidad de erradicación de la EMR en todos los grupos de edad ³⁰⁷, lo que ha llevado a dos nuevas aprobaciones por parte de la FDA en estas dos indicaciones en 2017 y 2018 respectivamente.

Tenemos, por tanto, una nueva estrategia terapéutica que dobla los resultados de la quimioterapia estándar en adultos y niños con LAL en recaída o refractaria, y con una enorme potencia de erradicación de la EMR en todos los pacientes, lo que convierte a blinatumomab en una herramienta crítica para el cambio en el pronóstico experimentado en todos estos pacientes.

Linfocitos T con receptores de antígeno quiméricos (*Chimeric Antigen Receptor T cells, CAR-T*)

En 1989, Gross y cols.³⁰⁸ diseñaron y detallaron el proceso de construcción de lo que más tarde se conoció como *Chimeric Antigen Receptor T cells* (CAR-T) de primera generación. El diseño de Gross consistía en células T citotóxicas humanas en las que a través de una modificación genética se generaba la expresión de receptores de superficie quiméricos consistentes en una fracción de un AcMo, lo que confería a las células una especificidad exquisita similar a la de los AcMo. Aunque las células CAR-T de primera generación fueron innovadoras, las técnicas de cultivo existentes no consiguieron producir células en número suficiente para el reimplante terapéutico en ratones. A pesar de superar limitaciones de producción, las células CAR-T de primera generación siguieron siendo incapaces de alcanzar la eficacia terapéutica en modelos animales, debido a su incapacidad para experimentar una proliferación robusta y persistir en el interior del organismo. Estos retos paralizaron los avances hasta 2007, cuando Brentjens y cols.³⁰⁹ demostraron la erradicación completa de la LAL en modelos de ratón utilizando células CAR-T de primera generación diseñadas para dirigirse a CD19. Los resultados mostraron a CD19 como una diana prometedora para las neoplasias de células B; sin embargo, los niveles de células CAR-T que persistían en el interior del organismo de los ratones tratados seguían siendo bajos. En 2009, Milone y cols.³¹⁰ demostraron que la adición de un CD-137 coestimulador a una célula CAR-T de primera generación dirigida a CD19, no sólo le confería la capacidad de persistir en el interior del organismo de los ratones, sino que también aumentaba su eficacia antileucémica. Esta adición de una molécula coestimuladora al constructo del CAR es lo que se conoce como CAR-T de segunda generación.

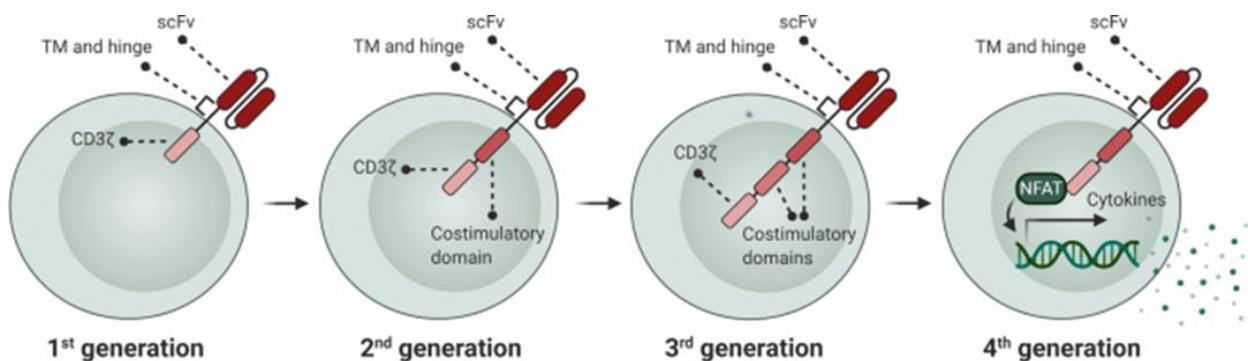


Figura 35. Estructura de los CAR-T de sucesivas generaciones. Reproducido de Poorebrahim *et al.*³¹¹

Los excelentes resultados de los CAR-T de segunda generación en modelos murinos, llevaron inmediatamente al diseño del proceso de producción de CAR-T en humanos. Los CAR-T a gran escala para uso en humanos se producen a partir de linfocitos obtenidos del propio paciente mediante aféresis, que se modifican genéticamente en el laboratorio mediante la transducción con un vector viral que porta la secuencia génica del constructo CAR. Los linfocitos transducidos deben a continuación ser expandidos in vitro hasta obtener dosis de varios millones de células por kilogramo de peso del paciente y, finalmente son reinfundidos.

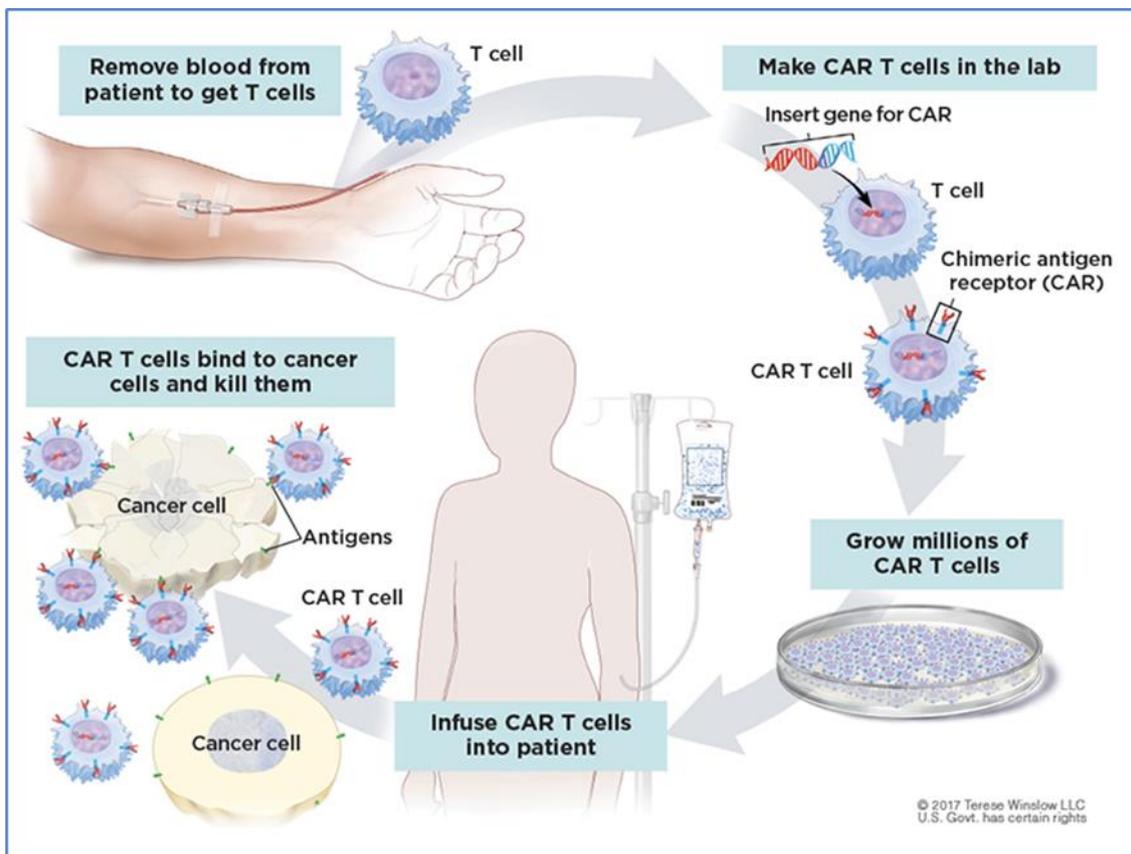


Figura 36. Diagrama del proceso de producción de CAR-T. Obtenido de <https://www.cancertodaymag.org/fall-2022/taking-stock-of-car-t-cell-therapy/>

Dos años después de los primeros resultados preclínicos, investigadores de la Universidad de Pensilvania informaron de remisiones completas en tres pacientes con LLC refractaria tras la terapia con un CAR-T de segunda generación llamado en aquel

momento CTL019³¹². Las células CAR-T persistieron en niveles elevados durante 6 meses y en el seguimiento persistieron hasta 5 años. Basándose en este éxito, los investigadores decidieron ampliar estos hallazgos a pacientes con LAL y, en 2013, informaron de la remisión completa en dos pacientes con LAL de células B recidivante y refractaria tras la infusión de CTL019³¹³.

Dada la excepcionalidad de los resultados de estos primeros casos tratados, Novartis Pharmaceuticals inició colaboraciones con la Universidad de Pensilvania en 2012 que permitieron a los investigadores ampliar la terapia con CTL019 a un mayor número de pacientes. Con este apoyo, los investigadores llevaron a cabo un ensayo seminal (n = 30) que aportó pruebas de remisión completa de la LAL recidivante o refractaria en el 90% de los participantes incluidos en el estudio³¹⁴. Aunque el ensayo demostró pruebas sustanciales de una enorme eficacia clínica hubo reacciones adversas importantes relacionadas con la terapia. Sin embargo, la falta de tratamientos eficaces para la LAL en tercera línea de tratamiento permitió a Novartis recibir la designación de "medicamento huérfano" por parte de la FDA para CTL019, lo que proporcionó asistencia reglamentaria adicional por parte de la propia FDA para acelerar la traslación.

En 2015, Novartis realizó un ensayo multicéntrico de fase II (n = 75) para explorar la eficacia clínica de tisagenlecleucel (antes CTL019) en el tratamiento de pacientes pediátricos y adultos jóvenes con LAL de células B CD19+ en recaída o refractaria³¹⁵. Los datos preliminares llevaron a la FDA a conceder a Kymriah (tisagenlecleucel, Novartis, Basilea, Suiza) una designación de "terapia innovadora". Un análisis provisional de los datos del ensayo en 2016 demostró la eficacia de tisagenlecleucel lo que le valió posteriormente la designación de "revisión prioritaria".

En 2017, la importancia de los efectos sinérgicos de las designaciones de "medicamento huérfano", "terapia innovadora" y "revisión prioritaria" quedaron de manifiesto con la aprobación por la FDA del tisagenlecleucel (KymriahTM) para el tratamiento de la LAL de células B en recaída o refractaria en pacientes hasta 25 años, lo que la convierte en la primera terapia celular aprobada por la FDA.

Sin embargo, el estatus de tisagenlecleucel como única terapia celular aprobada por la FDA duró poco. Seis semanas después de su aprobación, YescartaTM (axicabtagene-ciloleucel) una terapia celular CAR-T de la empresa competidora Kite Pharma (Los Ángeles, California, EE.UU.), fue aprobado por la FDA para el tratamiento

del linfoma difuso de células grandes B refractario o en recaída, tras las pruebas iniciales de una extraordinaria eficacia en un ensayo fase II. Al igual que su competidor, axicabtagene-ciloleucel había recibido las designaciones de "medicamento huérfano", "terapia innovadora" y "revisión prioritaria" que permitieron acelerar su aprobación.

La introducción de estos dos primeros CAR-T en el armamentario del que disponemos frente a dos de las neoplasias hematológicas más agresivas, ha supuesto realmente un antes y un después en las expectativas de supervivencia de los pacientes con LAL y LDCGB que son resistentes o recaen tras la terapia convencional. Con las herramientas de las que disponíamos hasta hace pocos años, la probabilidad de supervivencia a corto plazo en ambos casos no excedía del 10%, mientras que tratados con CAR-T sus expectativas de obtener una remisión mantenida durante varios años son del 50%.

A fecha de hoy, marzo de 2023, la FDA ha aprobado cuatro CAR-T más: TecartusTM (brexucabtagene autoleucel) indicado para el linfoma del Manto y LAL, Breyanci[®] (lisocabtagene maraleucel) indicado en linfoma de células grandes y folicular, y Abecma[®] (idecabtagene vicleucel) y Carvitki[®] (ciltacabtagene autoleucel), ambos para el tratamiento del mieloma múltiple. Ninguno de estos cuatro nuevos CAR-T está aún disponible en España, pero esperamos tenerlos antes de final de este mismo año 2023 para disponer de estas potentes herramientas que mejoran las expectativas de vida de nuestros pacientes.

Epílogo

Hemos revisado en este discurso decenas de herramientas terapéuticas nuevas, con las que contamos tan sólo en los últimos 22 años, para luchar contra las neoplasias hematológicas. Todavía el problema no está, ni mucho menos, resuelto, por lo que surge inevitablemente la pregunta sobre qué más vamos a tener en los próximos años para mejorar nuestros resultados actuales y rescatar a esos pacientes que aún seguimos perdiendo. El futuro a medio plazo es impredecible, pero sí conocemos el desarrollo actual, a día de hoy, de muchos nuevos fármacos que son versiones más avanzadas de los que ya tenemos, y de otros completamente diferentes, con mecanismos de acción novedosos. Valga como ejemplo la noticia que saltaba a los medios de comunicación el 16 de marzo de este año 2023, mientras dábamos los últimos toques a la redacción de este discurso. El titular del periódico El País, decía lo siguiente: “Una pastilla experimental logra la remisión completa del cáncer en 18 pacientes desahuciados con una leucemia muy agresiva”. Y, efectivamente, el día anterior la revista *Nature*, había publicado los resultados positivos de un ensayo fase I con revumenib, un fármaco oral con un mecanismo de acción nuevo y completamente diferente a todos los anteriores, como es la inhibición de la proteína llamada menina en la LAM, una de las neoplasias hematológicas más agresivas, que sigue constituyendo un problema importante.

Hace ahora exactamente 75 años de la publicación de las primeras remisiones completas de LAL infantil con methotrexate. Se había ganado la primera de muchas batallas. Y a día de hoy, dado el ritmo acelerado al que evoluciona el descubrimiento de nuevas terapias, nada impide pensar que mucho antes de que transcurran otros 75 años, las neoplasias hematológicas serán enfermedades curables.

He dicho.

Referencias

1. Velpeau A. Sur la resorption du pus et sur l'alteration du sang dans les maladies clinique de persection nenemant. Premier observation. Rév Méd. 1827; 2:216-18.
2. Donné A. Cours de Microscopie, 1844, pp. 10-12. Paris.
3. Craigie D. A case of disease of the spleen in which death took place in consequence of the presence of purulent matter on the blood. Edin Med Surg J 1845;64;400-412.
4. Bennett JH. Case of hypertrophy of the spleen and liver in which death took place from suppuration of the blood. Edin Med Surg J 1845; 64:413-423.
5. Bennett JH. On leucocythemia, or blood containing unusual number of colorless corpuscles. Monthly J Med Sci 1851; 12:17-35.
6. Virchow, R. Weisses Blut. Froriep's Notizen, 1845; 36: 151-156.
7. Hodgkin T. On some morbid appearances of the absorbent glands and spleen. Med Chir Trans 1832; 17:68–114.
8. Wilks S. Cases with enlargement of the lymphatic glands and spleen (or Hodgkin's disease) with remarks. Guys Hosp Rep 1865; 1:57.
9. Solly S. Remarks on the pathology of mollities ossium with cases. Med Chir Trans Lond. 1844; 27:435-461.
10. Bence Jones H. Chemical pathology. Lancet 1847; 2:88-92.
11. Bence Jones H. On the new substance occurring in the urine of a patient with mollities ossium. Philos Trans R Soc Lond. 1848; 138:55-62.
12. Dalrymple J. On the microscopical character of mollities ossium. Dublin Q J Med Sci 1846; 2:85.
13. Rustizky J. Multiple myeloma. Deutsch Z Chir 1873; 3:162-72.
14. Long PH. Paul Ehrlich and modern chemotherapy. Bull N Y Acad Med. 1952;28(5):344-6.
15. Marshall EKJR. Historical perspectives in chemotherapy. In: Golding A, Hawking IF, editors. Advances in chemotherapy, vol. 1. New York: Academic Press; 1964. p. 1–8.
16. DeVita VT, Jr., Chu E. A history of cancer chemotherapy. Cancer Res. 2008; 68 :8643-53.
17. Wilke C. From Chemical Weapon to Chemotherapy, 1917–1946 The Scientist. 2019 <https://www.the-scientist.com/foundations/from-chemical-weapon-to-chemotherapy>
18. Camacho L. Nacimiento de la quimioterapia. Med. 2020;42: 597-614
19. Stevens CM, Mylorie A, Auerbach C, et al. Biological action of 'mustard gas' compounds. Nature 1950; 166:1019–21.
20. Chabner BA, Roberts Jr TG. Timeline: chemotherapy and the war on cancer. Nat Rev Cancer 2005; 5:65–72.
21. Morrison WB. Cancer chemotherapy: an annotated history. J Vet Intern Med 2010; 24:1249–62.
22. Gilman A. Symposium on advances in pharmacology resulting from war research: therapeutic applications of chemical warfare agents. Fed Proc 1946; 5:285–292.
23. Goodman LS, Wintrobe MM, Dameshek W, Goodman MJ, Gilman A, McLennan MT. Nitrogen mustard therapy: use of methyl-bis (h-chloroethyl) amine hydrochloride and tris (h-chloroethyl) amine hydrochloride for Hodgkin's disease, lymphosarcoma, leukemia, and certain allied and miscellaneous disorders. JAMA 1946; 132:126–32.
24. Gilman A, Philips FS. The biological actions and therapeutic applications of the h-chloroethylamines and sulfides. Science 1946; 103:409–15.
25. Farber S. Some observations on the effect of folic acid antagonists on acute leukemia and other forms of incurable cancer. Blood 1949; 4:160–7.
26. Farber S, Diamond LK. Temporary remissions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4-aminopteroyl-glutamic acid. N Engl J Med 1948; 238:787–93.
27. Watson JD, Crick FH. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 1953; 171:737–8.

28. Elion GB, Hitchings GH, Vanderwerff H. Antagonists of nucleic acid derivatives. VI. Purines. *J Biol Chem* 1951; 192:505–18.
29. Burchenal JH, Murphy ML, Ellison RR, et al. Clinical evaluation of a new antimetabolite, 6-mercaptopurine, in the treatment of leukemia and allied diseases. *Blood* 1953; 8:965–99.
30. Hitchings GH, Elion GB. The chemistry and biochemistry of purine analogs. *Ann NY Acad Sci* 1954; 60:195–9.
31. Elion GB, Singer S, Hitchings GH. Antagonists of nucleic acid derivatives. VIII. Synergism in combinations of biochemically related antimetabolites. *J Biol Chem* 1954;208: 477–88.
32. Heidelberger C, Chaudhuri NK, Danneberg P, et al. Fluorinated pyrimidines, a new class of tumour-inhibitory compounds. *Nature* 1957; 179:663–6.
33. Gellhorn A, Hyman GA, Ultmann JE. Chlorambucil in treatment of chronic lymphocytic leukemia and certain lymphomas. *J Am Med Assoc* 1956; 162:178–83.
34. Pearson OH, Eliel LP, Rawson RW, Dobriner K, Rhoads CP. ACTH- and cortisone-induced regression of lymphoid tumors in man: a preliminary report. *Cancer* 1949; 2:943–5.
35. Farber S, Schwachman H, Toch R, Downing V, Kennedy BH, Hyde J. The effect of ACTH in acute leukemia in childhood. In: Mote JR, editor. *Proceedings of the First Clinical ACTH Conference*. New York: McGraw-Hill-Blakiston; 1950. p. 328–30.
36. Pinkel D. Cyclophosphamide in children with cancer. *Cancer Chemother Rep* 1961; 12:187–90.
37. Bernard J, Boiron M, Jacquillat C, Weil M, Najean Y. A new agent active in the treatment of acute leukemia: cytosine arabinoside. *Presse Med* 1966; 74:799–802.
38. Bonadonna G, Monfardini S, De Lena M, Fossati-Bellani F. Clinical evaluation of adriamycin, a new antitumour antibiotic. *Br Med J* 1969; 3:503–6.
39. Dimarco A, Gaetani M, Orezzi P, et al. ‘Daunomycin’, a new antibiotic of the rhodomycin group. *Nature* 1964; 201:706–7.
40. Falkson G, de Villiers PC, Falkson HC, Fichardt T. Natulan (Procarbazine) combined with radiotherapy in management of inoperable malignant melanoma. *Br Med J* 1965; 2:1473–4.
41. Johnson IS, Armstrong JG, Gorman M, Burnett Jr JP. The vinca alkaloids: a new class of oncolytic agents. *Cancer Res* 1963; 23:1390–427.
42. Mathe G, Schweisguth O, Brule G, et al. Trial therapy of Hodgkin’s disease and other malignant reticulo-histiocytic diseases by vincalukoblastin. *Presse Med* 1962; 70:1349–52.
43. Umezawa H, Ishizuka M, Maeda K, Takeuchi T. Studies on bleomycin. *Cancer* 1967; 20:891–5.
44. Brunner KW, Young CS. A methyl hydrazine derivative in Hodgkin’s disease and other malignant lymphomas. *Ann Int Med* 1967; 66:144.
45. DeVita VT, Serpick A, Carbone PP. Preliminary clinical studies with ibenzmethylin. *Clin Pharmacol Ther* 1966;7: 542–6.
46. Mathe G, Schwarzenberg L, Mery AM, et al. Extensive histological and cytological survey of patients with acute leukaemia in “complete remission”. *Br Med J* 1966; 1:640–2.
47. Report to the British Medical Research Council by their Tuberculosis Chemotherapy Trials Committee: Various combinations of isoniazid with streptomycin or with P.A.S. in the treatment of pulmonary tuberculosis. *Br Med J* 1955; 1:465–6.
48. Frei E, Karon M, Levin RH, et al. The effectiveness of combinations of antileukemic agents in inducing and maintaining remission in children with acute leukemia. *Blood* 1965; 26:642–56.

49. Devita Jr VT, Serpick AA, Carbone PP. Combination chemotherapy in the treatment of advanced Hodgkin's disease. *Ann Intern Med* 1970; 73:881–95.
50. Furth J, Kahn MC. The transmission of leukemia of mice with a single cell. *Am J Cancer* 1937; 31:276–82.
51. Skipper HE, Schabel FR, Jr., Wilcox WS. Experimental evaluation of potential anticancer agents. XII. On the criteria and kinetics associated with “curability” of experimental leukemia. *Cancer Chemother Rep* 1964; 35:1–111.
52. Skipper HE. The effects of chemotherapy on the kinetics of leukemic cell behavior. *Cancer Res* 1965; 25:1544–50.
53. Wilcox WS, Schabel Jr FM, Skipper HE. Experimental evaluation of potential anticancer agents XV. On the relative rates of growth and host kill of “single” leukemia cells that survive in vivo Cytoxan therapy. *Cancer Res* 1966; 26:1009–14.
54. Baserga R, Henegar GC, Kisielewski WE, Lisco H. Uptake of tritiated thymidine by human tumors in vivo. *Lab Invest* 1962; 11:360–4.
55. Johnson HA, Rubini JR, Cronkite EP, Bond VP. Labeling of human tumor cells in vivo by tritiated thymidine. *Lab Invest* 1960; 9:460–5.
56. Killmann SA, Cronkite EP, Flidner TM, Bond VP. Cell proliferation in multiple myeloma studied with tritiated thymidine in vivo. *Lab Invest* 1962; 11:845–53.
57. Lala PK, Maloney MA, Patt HM. Measurement of DNA-synthesis time in myeloid-erythroid precursors. *Exp Cell Res* 1965; 38:626–34.
58. Lipkin M, Bell B, Sherlock P. Cell proliferation kinetics in the gastrointestinal tract of man I. Cell renewal in colon and rectum. *J Clin Invest* 1963; 42:767–76.
59. Clarkson B, Ota K, Ohkita T, O'Connor A. Kinetics of proliferation of cancer cells in neoplastic effusions in man. *Cancer* 1965; 18:1189–213.
60. Hoffman J, Post J. In vivo studies of DNA synthesis in human normal and tumor cells. *Cancer Res* 1967; 27:898–902.
61. Lajtha LG, Schofield R. Proliferative capacity of hematopoietic stem cells. In: Fry RJ, Griem ML, Kirsten WH, editors. *Normal and malignant cell growth*. New York: Springer-Verlag; 1969
62. Leshner SW, Bauman J. In: Fry RJ, Griem ML, Kirsten WH, editors. *Cell proliferation in the intestinal epithelium*. New York: Springer-Verlag; 1969.
63. Freireich EJ, Karon M, Frei E III. Quadruple combination therapy (VAMP) for acute lymphocytic leukemia of childhood. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1964; 5:20.
64. Frei E III. Potential for eliminating leukemic cells in childhood acute leukemia. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1963; 5:20 (abstract).
65. Holland JF. Hopes for tomorrow versus realities of today: therapy and prognosis in acute lymphocytic leukemia of childhood. *Pediatrics* 1970; 45:191–3.
66. DeVita VT, Moxley JH, Brace K, Frei E III. Intensive combination chemotherapy and X-irradiation in the treatment of Hodgkin's disease. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1965; 6:15.
67. Moxley JH III, DeVita VT, Brace K, Frei E III. Intensive combination chemotherapy and X-irradiation in Hodgkin's disease. *Cancer Res* 1967; 27:1258–63.
68. DeVita VT, Serpick A. Combination chemotherapy in the treatment of advanced Hodgkin's disease. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1967; 8:13.
69. DeVita VT, Serpick AA, Carbone PP. Combination chemotherapy in the treatment of advanced Hodgkin's disease. *Ann Intern Med* 1970; 73:881–95.
70. DeVita VT, Canellos GP, Chabner B, Schein P, Young RC, Hubbard SM. Advanced diffuse histiocytic lymphoma, a potentially curable disease. Results with combination chemotherapy. *Lancet* 1975; 1:248–54.
71. DeVita VT, Canellos GP, Moxley HH III. A decade of combination chemotherapy for advanced Hodgkin's disease. *Cancer* 1972; 30:1495–504.
72. Skipper HE, Schabel Jr FM, Wilcox WS. Experimental evaluation of potential anticancer agents. XXI. Scheduling of arabinosylcytosine to take advantage of its S-phase specificity against leukemia cells, *Cancer Chemother. Rep.* 51 1967; 51:125–165.

73. Freireich EJ, Bodey GP, Harris JE, Hart JS. Therapy for acute granulocytic leukemia, *Cancer Res.* 1967; 27: 2573–2577.
74. Ellison RR, Holland JF, Silver RT, Bernard J, Boiron M. Cytosine arabinoside: a new agent for induction of remission in acute leukemia, in: *Proceedings of the Ninth International Cancer Congress, Tokyo, 1966.*
75. Henderson E, Serpick A, Leventhal B, Henry P. Cytosine arabinoside infusions in adult and childhood acute myelocytic leukemia, *Cancer Res.* 1968;9: 29a.
76. Dubost M, Ganter P, Maral R, Ninet L, Pinnert S, Preud'homme J, Werner GH. Un nouvel antibiotique à propriétés cytostatiques; la rubidomycine, *C. R.* 1963; 275:1813–1815.
77. Grein A, Spalla C, DiMarco A, Canevazzi G. Descrizione e classificazione di un attinomicete (*Streptomyces peucetius* sp. nova) produttore di una sostanza ad attività antitumorale: la Daunomicina, *Giorn. Microbiol.* 1963;11: 109–118.
78. Cassinelli G, Orezzi P. La daunomicina - un nuovo antibiotico ad attività citostatica: isolamento e proprietà, *Giorn. Microbiol.* 1963;11: 167–174.
79. Despois R, Dubost M, Mancy D, Maral R, Ninet L, Pinnert S, Preud'Homme J, Charpentie Y, Belloc A, de Chezelles N, Lunel J, Renaut J. Isolement d'un nouvel antibiotique doué d'activité antitumorale; la rubidomycine (13057 R.P.). Identité de la rubidomycine et de la daunomicine. Colloque international sur la rubidomycine et la daunomicine. Paris. Hôpital Saint-Louis, 11 Mars 1967, *Pathol. Biol.* 1967; 15: 887–891.
80. Bernard J, Paul R, Boitron M, Jacquillat C, Maral R, Rubidomycin. Recent results. *Cancer Res.* 1969; 20: 1–181.
81. Jacquillat C, Tanzer J, Boiron M, Najean Y, M. Weil M, Bernard J. Rubidomycin A new agent active in the treatment of acute lymphoblastic leukemia, *Lancet* 1966;2: 27–28.
82. Bernard J, Jacquillat C, Boiron M, Najean Y, Seligmann M, Tanzer J, Weil M, Lortholary P. Essai de traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques et myéloblastiques par un antibiotique nouveau: La rubidomycine (13 057 RP). Étude de 61 observations. *Presse Med.* 1967; 75: 951–955.
83. Bernard J, Boiron M, Holland J, Jacquillat C, Weil M. Rubidomycin (daunomycin) in the treatment of acute granulocytic leukemia (A.G.L.). *Cancer Res.* 1968; 9: 5a.
84. Boiron M, Jacquillat C, Weil M, Tanzer J, Levy D, Sultan C, Bernard J. Daunorubicin in the treatment of acute myelocytic leukaemia, *Lancet* 1969; 1: 330–333.
85. Yates JW, Wallace Jr J, Ellison RR, Holland JF. Cytosine arabinoside (NSC-63878) and daunorubicin (NSC-83142) therapy in acute non-lymphocytic leukemia, *Cancer Chemother. Rep.* 1973; 57: 485–488.
86. Lichtman MA. A historical perspective on the development of the cytarabine (7 days) and daunorubicin (3 days) treatment regimen for acute myelogenous leukemia: 2013 the 40th anniversary of 7+3. *Blood cells, mol & dis* 2013; 50: 119–130
87. Alwall N. Urethane and stilbamidine in multiple myeloma: report on two cases. *Lancet.* 1947;2: 388-389.
88. Holland JR, Hosley H, Scharlau C, et al. A controlled trial of urethane treatment in multiple myeloma. *Blood.* 1966; 27:328-342.
89. Blokhin N, Larionov L, Perevodchikova N, Chebotareva L, Merkulova N. Clinical experiences with sarcolysin in neoplastic diseases. *Ann N Y Acad Sci.* 1958; 68:1128-1132.
90. Bergsagel DE, Sprague CC, Austin C, Griffith KM. Evaluation of new chemotherapeutic agents in the treatment of multiple myeloma: IV. L Phenylalanine mustard (NSC-8806). *Cancer Chemother Rep.* 1962; 21:87-99.
91. Hoogstraten B, Sheehe PR, Cuttner J, et al. Melphalan in multiple myeloma. *Blood.* 1967; 30:74-83.
92. Maas RE. A comparison of the effect of prednisone and a placebo in the treatment of multiple myeloma. *Cancer Chemother Rep.* 1962; 16:257-259.
93. Salmon SE, Shaddock RK, Schilling A. Intermittent high-dose prednisone (NSC-10023) therapy for multiple myeloma. *Cancer Chemother Rep.* 1967; 51:179 187.

94. McIntyre OR, Pajak TF, Kyle RA, Cornwell GG, Leone L. Response rate and survival in myeloma patients receiving prednisone alone. *Med Pediatr Oncol.* 1985; 13:239-243.
95. Alexanian R, Haut A, Khan AU, et al. Treatment for multiple myeloma: combination chemotherapy with different melphalan dose regimens. *JAMA* 1969; 208:1680-1685.
96. Lee BJ, Sahakian G, Clarkson BD, Krakoff IH. Proceedings: combination chemotherapy of multiple myeloma with alkeran, cytoxan, vincristine, prednisone, and BCNU. *Cancer.* 1974; 33:533-538.
97. Case DC Jr, Lee DJ, Clarkson BD. Improved survival times in multiple myeloma treated with melphalan, prednisone, cyclophosphamide, vincristine and BCNU: M-2 protocol. *Am J Med.* 1977; 63:897-903.
98. Myeloma Trialists' Collaborative Group. Combination chemotherapy vs melphalan plus prednisone as treatment for multiple myeloma: an overview of 6633 patients from 27 randomized trials. *J Clin Oncol.* 1998; 16:3832-3842.
99. McKelvey EM, Gottlieb JA, Wilson HE, et al. Hydroxyldaunomycin (Adriamycin) combination chemotherapy in malignant lymphoma. *Cancer* 1976; 38: 1484-1493.
100. Goldie JH, Coldman AJ, Gudauskas GA. Rationale for the use of alternating non-cross-resistant chemotherapy. *Cancer Treatment Reports* 1982; 66: 439-449.
101. DeVita VT, Hubbard SM, Longo DL. The chemotherapy of lymphomas: looking back, moving forward. The Richard and Hinda Rosenthal Foundation Award Lecture. *Cancer Research* 1987; 47: 5810-5824.
102. Fisher RI, Gaynor ER, Dahlberg S, Oken MM et al. Comparison of a standard regimen (CHOP) with three intensive regimens for advanced non-Hodgkin's lymphoma. *New England Journal of Medicine* 1993; 328: 1002-1006.
103. Busch W. Aus der Sitzung der medicinischen Section vom 13 November 1867. *Berlin Klin Wochenschr* 1868; 5:137.
104. Fehleisen F. Ueber die Züchtung der Erysipelkokken auf künstlichem Nährboden und ihre Übertragbarkeit auf den Menschen. *Dtsch Med Wochenschr* 1882; 8:553-4.
105. Coley WB. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas. With a report of ten original cases. *Am J Medical Sciences* 1893; 105:487-511.
106. Coley WB. The treatment of sarcoma with the mixed toxins of erysipelas and *Bacillus prodigiosus*. *Boston Med Surg J* 1908; 158:175- 82.
107. Parish CR. Cancer immunotherapy: the past, the present and the future. *Immunol Cell Biol* 2003; 81:106-13.
108. Morales A, Eidinger D, Bruce AW. Intracavitary *Bacillus Calmette- Guerin* in the treatment of superficial bladder tumors. *J Urol* 1976; 116:180-3.
109. Old LJ, Clarke DA, Benacerraf B. Effect of *Bacillus Calmette-Guerin* infection on transplanted tumours in the mouse. *Nature* 1959; 184:291- 2.
110. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1975; 72:3666-70.
111. Burnet FM. The concept of immunological surveillance. *Prog Exp Tumor Res* 1970; 13:1-27.
112. Burnet M. Cancer: a biological approach. III. Viruses associated with neoplastic conditions. IV. Practical applications. *Br Med J* 1957; 1:841- 7.
113. Thomas L. Cellular and Humoral Aspects of the Hypersensitive States. Lawrence HS, editor. New York, NY: Hoeber-Harper; 1959. p. 529-32.
114. Stutman O. Tumor development after 3-methylcholanthrene in immunologically deficient athymic-nude mice. *Science.* 1974; 183:534-6.
115. Stutman O. Delayed tumour appearance and absence of regression in nude mice infected with murine sarcoma virus. *Nature.* 1979; 253:142-4.
116. Stutman O. Chemical carcinogenesis in nude mice: comparison between nude mice from homozygous matings and heterozygous matings and effect of age and carcinogen dose. *J Natl Cancer Inst.* 1979; 62:353-8.

117. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 2002; 3:991-8.
118. Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256: 495-7.
119. Sgro C. Side-effects of a monoclonal antibody, muromonab CD3/orthoclone OKT3: a bibliographic review. *Toxicology* 1995;105(1):23-29.
120. Morrison SL, Johnson MJ, Herzenberg LA, Oi VT. Chimeric human antibody molecules: mouse antigen-binding domains with human constant region domains. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 6851- 5.
121. Jones PT, Dear PH, Foote J, Neuberger MS, Winter G. Replacing the complementarity-determining regions in a human antibody with those from a mouse. *Nature* 1986; 321: 522-5.
122. Clackson T, Hoogenboom HR, Griffiths AD, Winter G. Making antibody fragments using phage display libraries. *Nature* 1991; 352: 624-8.
123. Taylor LD, Carmack CE, Schramm SR, Mashayekh R, Higgins KM, Kuo CC, *et al.* A transgenic mouse that expresses a diversity of human sequence heavy and light chain immunoglobulins. *Nucleic Acids Res* 1992; 20: 6287-95.
124. Maloney DG, Grillo-López AJ, White CA, *et al.* IDEC-C2B8 (Rituximab) anti-CD20 monoclonal antibody therapy in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997; 90: 2188 - 2195
125. Golomb HM, Rowley J, Vardiman J, Baron J, Locker G, Krasnow S. Partial deletion of long arm of chromosome 17: a specific abnormality in acute promyelocytic leukemia? *Arch Intern Med* 1976;136;825-8.
126. Rowley JD, Golomb HM, Dougherty C. 15/17 translocation, a consistent chromosomal change in acute promyelocytic leukaemia. *Lancet* 1977;309;549-50.
127. Larson RA, Kondo K, Vardiman JW, Butler AE, Golomb HM, Rowley JD. Evidence for a 15;17 translocation in every patient with acute promyelocytic leukemia. *Am J Med* 1984;76;827-41.
128. Mattei MG, Petkovich M, Mattei JF, Brand N, Chambon P. Mapping of the human retinoic acid receptor to the q21 band of chromosome 17. *Hum Genet* 1988;80;186-8.
129. de Thé H, Chomienne C, Lanotte M, Degos L, Dejean A. The t(15;17) translocation of acute promyelocytic leukaemia fuses the retinoic acid receptor a gene to a novel transcribed locus. *Nature* 1990;347;558-61.
130. Borrow J, Goddard AD, Sheer D, Solomon E. Molecular analysis of acute promyelocytic leukemia breakpoint cluster region on chromosome 17. *Science* 1990;249;1577-80.
131. Longo L, Pandolfi PP, Biondi A, Rambaldi A, Mencarelli A, Lo Coco F, *et al.* Rearrangements and aberrant expression of the retinoic acid receptor alpha gene in acute promyelocytic leukemias. *J Exp Med* 1990;172;1571-5.
132. de Thé H, Lavau C, Marchio A, Chomienne C, Degos L, Dejean A. The PML-RARa fusion mRNA generated by the t(15;17) translocation in acute promyelocytic leukemia encodes a functionally altered RAR. *Cell* 1991;66;675-84.
133. Kakizuka A, Miller WH, Umesono K, Warrell RP, Frankel SR, Murty VVVS, *et al.* Chromosomal translocation t(15;17) in human acute promyelocytic leukemia fuses RARa with a novel putative transcription factor, PML. *Cell* 1991;66;663-74.
134. Miller WH, Kakizuka A, Frankel SR, Warrell RP, DeBlasio A, Levine K, *et al.* Reverse transcription polymerase chain reaction for the rearranged retinoic acid receptor alpha clarifies diagnosis and detects minimal residual disease in acute promyelocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89;2694-8.
135. Sachs L. Control of normal cell differentiation and the phenotypic reversion of malignancy in myeloid leukaemia. *Nature* 1978;274;535-9.
136. Breitman TR, Selonick SE, Collins SJ. Induction of differentiation of the human promyelocytic leukemia cell line (HL-60) by retinoic acid. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980;77;2936-40.

137. Breitman TR, Collins SJ, Keene BR. Terminal differentiation of human promyelocytic leukemic cells in primary culture in response to retinoic acid. *Blood* 1981;57:1000–4.
138. Flynn PJ, Miller WJ, Weisdorf DJ, Arthur DC, Brunning R, Branda RF. Retinoic acid treatment of acute promyelocytic leukemia: *in vitro* and *in vivo* observations. *Blood* 1983;62:1211–17.
139. Huang M, Yu-Chen Y, Shu-Rong C, Jin-Ren C, et al. Use of all trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1988; 72: 567–572.
140. Nowell PC, Hungerford DA. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science*. 1960; 132:1497.
141. Rowley JD. A new consistent abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and giemsa staining. *Nature*. 1973; 243:290-293.
142. Abelson HT, Rabstein LS. Lymphosarcoma: virus-induced thymic-independent disease in mice. *Cancer Res*. 1970; 30:2213-2222.
143. Goff SP, Gilboa E, Witte ON, Baltimore D. Structure of the Abelson murine leukemia virus genome and the homologous cellular gene: studies with cloned viral DNA. *Cell*. 1980; 22:777-785.
144. de Klein A, van Kessel AG, Grosveld G, et al. A cellular oncogene is translocated to the Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukemia. *Nature*. 1982; 300:765-767.
145. Groffen J, Stephenson JR, Heisterkamp N, de Klein A, Bartram CR, Grosveld G. Philadelphia chromosome breakpoints are clustered within a limited region, bcr, on chromosome 22. *Cell*. 1984; 36:93-99.
146. Druker B. Translation of the Philadelphia chromosome into therapy for CML *Blood* 2008; 112:4808-4817
147. Gale RP, Canaani E. An 8-kilobase *abl* RNA transcript in chronic myelogenous leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984; 81:5648-5652.
148. Shtivelman E, Lifshitz B, Gale RP, Canaani E. Fused transcript of *abl* and *bcr* genes in chronic myelogenous leukaemia. *Nature*. 1985; 315:550- 554.
149. Ben-Neriah Y, Daley GQ, Mes-Masson A-M, Witte ON, Baltimore D. The chronic myelogenous leukemia- specific P210 protein is the product of the *bcr/abl* hybrid gene. *Science*. 1986; 233:212-214.
150. Lugo TG, Pendergast AM, Muller AJ, Witte ON. Tyrosine kinase activity and transformation potency of *bcr-abl* oncogene products. *Science*. 1990; 247:1079-1082.
151. Daley GQ, Van Etten RA, Baltimore D. Induction of chronic myelogenous leukemia in mice by the P210**bcr/abl** gene of the Philadelphia chromosome. *Science*. 1990; 247:824-830.
152. Hanahan D, Weinberg RJC. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* 2011; 144:646–74.
153. Roskoski, R. Jr. Classification of small molecule protein kinase inhibitors based upon the structures of their drug-enzyme complexes. *Pharmacol Res* 1016; 103: 26–48.
154. Yaish P, Gazit A, Gilon C, Levitzki A. Blocking of EGF-dependent cell proliferation by EGF receptor kinase inhibitors. *Science* 1988; 242:933-935.
155. Zimmermann J, Caravatti G, Mett H, et al. Phenylamino- pyrimidine (PAP) derivatives: a new class of potent and selective inhibitors of protein kinase C (PKC). *Arch Phar*. 1996; 329:371-376.
156. Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, et al. Effects of a selective inhibitor of the ABL tyrosine kinase on the growth of BCR-ABL positive cells. *Nat Med* 1996; 2:561-566.
157. Weinstein, IB. Addiction to oncogenes – the Achilles Heel of cancer. *Science* 2002; 297: 63-4.
158. O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, et al. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2003; 348:994–1004.

159. Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2006; 355:2408–2417.
160. Quintás-Cardama A, Kantarjian HM, Cortes JE. Mechanisms of primary and secondary resistance to imatinib in chronic myeloid leukemia. *Cancer Control* 2009; 16:122–131.
161. Jabbour E, Hochhaus A, Cortes J, La Rosee P, Kantarjian HM. Choosing the best treatment strategy for chronic myeloid leukemia patients resistant to imatinib: weighing the efficacy and safety of individual drugs with BCR-ABL mutations and patient history. *Leukemia* 2010; 24:6–12.
162. Kantarjian H, Shah NP, Hochhaus A, et al. Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2010; 362:2260–2270.
163. Cortes JE, Hochhaus A, Kim DW, et al. Four-year follow-up of patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP) receiving dasatinib or imatinib: efficacy based on early response. *Blood* 2013; 122:653.
164. Weisberg E, Manley P, Mestan J, Cowan-Jacob S, Ray A, Griffin JD. AMN107 (nilotinib): a novel and selective inhibitor of BCR-ABL. *Br J Cancer* 2006; 94:1765–1769.
165. Saglio G, Kim DW, Issaragrisil S, et al. Nilotinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2010; 362:2251–2259.
166. Saglio G, Hochhaus A, Hughes TP, et al. ENESTnd update: nilotinib (NIL) vs imatinib (IM) in patients (pts) with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP) and the impact of early molecular response (EMR) and Sokal risk at diagnosis on long-term outcomes. *Blood* 2013; 122:92.
167. Puttini M, Coluccia AM, Boschelli F, et al. In vitro and in vivo activity of SKI-606, a novel Src-Abl inhibitor, against imatinib-resistant Bcr-Abl+ neoplastic cells. *Cancer Res* 2006; 66:11314–11322.
168. Cortes JE, Kim DW, Kantarjian HM, et al. Bosutinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: results from the BELA trial. *J Clin Oncol* 2012; 30:3486–3492.
169. Cortes JE, Kim DW, Pinilla-Ibarz J, et al. A phase 2 trial of ponatinib in Philadelphia chromosome-positive leukemias. *N Engl J Med* 2013; 369:1783–1796.
170. Viny AD, Levine RL. Genetics of myeloproliferative neoplasms. *Cancer J* 2014; 20:61–65.
171. Tefferi A. Novel mutations and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms: JAK2, MPL, TET2, ASXL1, CBL, IDH and IKZF1. *Leukemia* 2010; 24:1128–1138.
172. Rampal R, Al-Shahrour F, Abdel-Wahab O, et al. Integrated genomic analysis illustrates the central role of JAK-STAT pathway activation in myeloproliferative neoplasm pathogenesis. *Blood* 2014;123: e123–e133.
173. Passamonti F, Caramazza D, Maffioli M. JAK inhibitor in CALR-mutant myelofibrosis. *N Engl J Med* 2014; 370:1168–1169.
174. Verstovsek S, Mesa RA, Gotlib J, et al. A double-blind, placebo-controlled trial of ruxolitinib for myelofibrosis. *N Engl J Med* 2012; 366:799–807.
175. Harrison C, Kiladjian JJ, Al-Ali HK, et al. JAK inhibition with ruxolitinib versus best available therapy for myelofibrosis. *N Engl J Med* 2012; 366:787–798.
176. Vannucchi AM, Kantarjian HM, Kiladjian JJ, et al. A pooled analysis of overall survival in COMFORT-I and COMFORT-II, 2 randomized phase III trials of ruxolitinib for the treatment of myelofibrosis. *Haematologica* 2015; 100:1139–1145.
177. Vannucchi AM, Kiladjian JJ, Griesshammer M, et al. Ruxolitinib versus standard therapy for the treatment of polycythemia vera. *N Engl J Med* 2015; 372:426–435.
178. Ahn IE, Brown JR. Targeting Bruton's tyrosine kinase in CLL. *Front Immunology* 2021; 12: 687458.

179. Bruton OC. Agammaglobulinemia. *Pediatrics* 1952; 9:722-8.
180. Vetrie D, Vorechovsky I, Sideras P, et al. The gene involved in X-linked agammaglobulinaemia is a member of the src family of protein-tyrosine kinases. *Nature* 1993; 361: 226–233.
181. Buggy JJ, Elias L. Bruton tyrosine kinase (BTK) and its role in B-cell malignancy. *Int Rev Immunol* 2012; 31: 119–132.
182. Burger JA, Tedeschi A, Barr PM, Robak T et al. Ibrutinib as initial therapy for patients with chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2015; 373: 2425–2437.
183. Sharman JP, Egyed M, Jurczak W, Skarbnik A, et al. Efficacy and safety in a 4-year follow-up of the ELEVATE-TN study comparing acalabrutinib with or without Obinutuzumab versus obinutuzumab plus chlorambucil in treatment-naïve chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2022; 36: 1171–1175.
184. Tam CS, Brown JR, Kahl BS, Ghia P, et al. Zanubrutinib versus bendamustine and rituximab in untreated chronic lymphocytic leukaemia and small lymphocytic lymphoma (SEQUOIA): A randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2022; 23: 1031–1043.
185. Byrd JC, Hillmen P, Ghia P, Kater AP, et al. Acalabrutinib Versus Ibrutinib in Previously Treated Chronic Lymphocytic Leukemia: Results of the First Randomized Phase III Trial. *J Clin Oncol* 2021; 39: 3441–3452.
186. Hillmen P, Eichhorst B, Brown, JR, Lamanna N, et al. First interim analysis of ALPINE study: Results of a phase 3 randomized study of zanubrutinib vs ibrutinib in patients with relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. In *Proceedings of the 2021 European Hematology Association Virtual Congress, Virtual Meeting, 9–17 June 2021*.
187. Small D, Levenstein M, Kim E, et al. STK-1, the human homolog of Flk-2/Flt-3, is selectively expressed in CD34+ human bone marrow cells and is involved in the proliferation of early progenitor/stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:459–463.
188. Leick MB, Levis MJ. The future of targeting FLT3 activation in AML. *Curr Hematol Malig Rep* 2017; 12:153–167.
189. Antar AI, Otrrock ZK, Jabbour E, Mohty M, Bazarbachi A. FLT3 inhibitors in acute myeloid leukemia: ten frequently asked questions. *Leukemia*. 2020; 34:682–696.
190. Wang Z, Cai J, Cheng J, et al. FLT3 inhibitors in acute myeloid leukemia: challenges and recent developments in overcoming resistance. *J Med Chem*. 2021; 64:2878–2900.
191. Stone RM, Mandrekar SJ, Sanford BL, et al. Midostaurin plus chemotherapy for acute myeloid leukemia with a FLT3 mutation. *N Eng J Med* 2017; 377:454–464.90.
192. Rollig C, Serve H, Hüttmann A, et al. The addition of sorafenib to standard AML treatment results in a substantial reduction in relapse risk and improved survival. *Trial Blood* 2017; 130:721.
193. Ohanian M, Garcia-Manero G, Levis M, et al. Sorafenib combined with 5-azacitidine in older patients with untreated FLT3-ITD mutated acute myeloid leukemia. *Am J Hematol* 2018; 93:1136–1141.
194. Ravandi F, Alattar ML, Grunwald MR, et al. Phase 2 study of azacitidine plus sorafenib in patients with acute myeloid leukemia and FLT-3 internal tandem duplication mutation. *Blood* 2013; 121:4655–4662.
195. Ali B, Myriam L, Giorgia B, et al. Allogeneic stem cell transplantation for FLT3-mutated acute myeloid leukemia: in vivo T-cell depletion and posttransplant sorafenib maintenance improve survival. A Retrospective Acute Leukemia Working Party-European Society for Blood and Marrow Transplant Study. *Clin Hematol Int*. 2019; 1:58–74.
196. Perl AE, Martinelli G, Cortes JE, et al. Gilteritinib or chemotherapy for relapsed or refractory FLT3-mutated AML. *N Eng J Med* 2019; 381:1728–1740.

197. Perl AE, Larson RA, Podoltsev NA, et al. Follow-up of patients with R/R FLT3-mutation-positive AML treated with gilteritinib in the phase 3 ADMIRAL trial. *Blood* 2022; 139:3366–3375.
198. Zarrinkar PP, Gunawardane RN, Cramer MD, et al. AC220 is a uniquely potent and selective inhibitor of FLT3 for the treatment of acute myeloid leukemia (AML). *Blood* 2009; 114:2984–2992.
199. Cortes JE, Khaled S, Martinelli G, et al. Quizartinib versus salvage chemotherapy in relapsed or refractory FLT3-ITD acute myeloid leukaemia (QuANTUM-R): a multicentre, randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2019; 20:984–997.
200. Borrow J, Goddard AD, Gibbons B, Katz F, Swirsky D, Fioretos T, et al. Diagnosis of acute promyelocytic leukaemia by RT-PCR: detection of PML-RARA and RARA-PML fusion transcripts. *Br J Haematol* 1992; 82:529–40.
201. Lo-Coco F, Hasan SK. Understanding the molecular pathogenesis of acute promyelocytic leukemia. *Best Pract Res Clin Haematol*.2014 Mar; 27:3–9.
202. Kwok C, Zeisig BB, Dong S, So CW. Forced homo-oligomerization of RARalpha leads to transformation of primary hematopoietic cells. *Cancer Cell*. 2006; 9:95–108.
203. Nasr R, Guillemain MC, Ferhi O, Soilihi H, Peres L, Berthier C, et al. Eradication of acute promyelocytic leukemia-initiating cells through PML-RARA degradation. *Nat Med*. 2008 Dec; 14:1333–42.
204. De Thé H, Le Bras M, Lallemand-Breitenbach V. Acute promyelocytic leukemia, arsenic, and PML bodies. *J. Cell Biol*. 2012;198: 11–21
205. Sun H, Ma L, Hu X, Zhang T. Treatment of acute promyelocytic leukemia by Ailing-1 therapy with use of syndrome differentiation of traditional Chinese medicine. *Chin J Comb Trad Chin Med Western Med* 1992;12;170–2.
206. Niu C, Yan H, Yu T, Sun HP, Liu JX, Li XS, et al. Studies on treatment of acute promyelocytic leukemia with arsenic trioxide: remission induction, follow-up, and molecular monitoring in 11 newly diagnosed and 47 relapsed acute promyelocytic leukemia patients. *Blood* 1999;94;3315–24.
207. Soignet SL, Maslak P, Wang ZG, Jhanwar S, Calleja E, Dardashti LJ, et al. Complete remission after treatment of acute promyelocytic leukemia with arsenic trioxide. *N Engl J Med* 1998;339;1341–8.
208. Soignet SL, Frankel SR, Douer D, Tallman MS, Kantarjian H, Calleja E, et al. United States multicenter study of arsenic trioxide in relapsed acute promyelocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2001;19;3852–60.
209. Zhang P, Wang S, Hu L. Arsenic trioxide treated 72 cases of acute promyelocytic leukemia. *Chin J Hematol* 1996;17;58–62.
210. Shen ZX, Shi ZZ, Fang J, Gu BW, Li JM, Zhu YM, et al. *All-trans* retinoic acid/As₂O₃ combination yields a high-quality remission and survival in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101;5328–35.
211. Ghavamzadeh A, Alimoghaddam K, Ghaffari SH, Rostami S, Jahani M, Hosseini R, et al. Treatment of acute promyelocytic leukemia with arsenic trioxide without ATRA and/or chemotherapy. *Ann Oncol* 2006;17;131–4.
212. Mathews V, George B, Lakshmi KM, Viswabandya A, Bajel A, Balasubramanian P, et al. Single-agent arsenic trioxide in the treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia: durable remissions with minimal toxicity. *Blood* 2006;107;2627–32.
213. Estey E, Garcia-Manero G, Ferrajoli A, Faderl S, Verstovsek S, Jones D, et al. Use of *all-trans* retinoic acid plus arsenic trioxide as an alternative to chemotherapy in untreated acute promyelocytic leukemia. *Blood* 2006;107;3469–73.

214. Lo-Coco F, Avvisati G, Vignetti M, Thiede C, Orlando SM, Iacobelli S, et al. Retinoic acid and arsenic trioxide for acute promyelocytic leukemia. *N Engl J Med* 2013;369;111–21.
215. Burnett AK, Russell NH, Hills RK, Bowen D, Kell J, Knapper S, et al. Arsenic trioxide and all-*trans* retinoic acid treatment for acute promyelocytic leukaemia in all risk groups (AML17): results of a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2015;16;1295–305.
216. Abaza Y, Kantarjian H, Garcia-Manero G, Estey E, Borthakur G, Jabbour E, et al. Long-term outcome of acute promyelocytic leukemia treated with all-*trans*-retinoic acid, arsenic trioxide, and gemtuzumab. *Blood* 2017;129;1275–83.
217. Sanz MA, Fenaux P, Tallman MS, Estey EH, Löwenberg B, Naoe T, et al. Management of acute promyelocytic leukemia: updated recommendations from an expert panel of the European LeukemiaNet. *Blood* 2019;133;1630–43.
218. Kantarjian HM, Short NJ, Fathi AT, Marcucci G, et al. Acute Myeloid Leukemia: Historical Perspective and Progress in Research and Therapy Over 5 Decades. *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*, 2021; 21: 580–597.
219. DiNardo CD, Ravandi F, Agresta S, Konopleva M et al. Characteristics, clinical outcome, and prognostic significance of IDH mutations in AML. *Am J Hematol* 2015; 90: 732–736.
220. Yao K, Liu H, Yu S, Zhu H, Pan J. Resistance to mutant IDH inhibitors in acute myeloid leukemia: Molecular mechanisms and therapeutic strategies. *Cancer Letters* 2022; 533: 215603.
221. Dhillon, S. Ivosidenib: First Global Approval. *Drugs* 2018, 78, 1509–1516.
222. Kim, E.S. Enasidenib: First Global Approval. *Drugs* 2017, 77, 1705–1711.
223. Available online: <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/> (consultado el 18 de febrero de 2023).
224. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26:239–257.
225. Guicciardi ME, Gores GJ. Life and death by death receptors. *FASEB J.* 2009; 23:1625–1637.
226. Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000; 343:1910–1916.
227. Souers AJ, Levenson JD, Boghaert ER, et al. ABT-199, a potent and selective BCL-2 inhibitor, achieves antitumor activity while sparing platelets. *Nat Med* 2013; 19:202–208.
228. Mihalyova J, Jelineka T, Growkova K, Hrdinkab M et al. Venetoclax: A new wave in hematooncology. *Experimental Hematology* 2018; 61:10–25
229. Stilgenbauer S, Eichhorst B, Schetelig J, Coutre S, et al. Venetoclax in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia with 17p deletion: A multicentre, open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2016;17: 768–778.
230. Seymour JF, Kipps TJ, Eichhorst B, Hillmen P et al. Venetoclax–Rituximab in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2018; 378: 1107–1120.
231. Fischer K, Al-Sawaf O, Bahlo J, Fink AM, et al. Venetoclax and Obinutuzumab in patients with CLL and coexisting conditions. *N Engl J Med* 2019; 380: 2225–2236.
232. Jain N, Keating M, Thompson P, Ferrajoli A, et al. Ibrutinib and Venetoclax for first-line treatment of CLL. *N Engl J Med* 2019; 380: 2095–2103.
233. Jain N, Keating MJ, Thompson PA, Ferrajoli A, et al. Combined Ibrutinib and Venetoclax for first-Line treatment for patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL): focus on MRD results. *Blood* 2020; 136: 42–43.
234. Tam, C.S.; Allan, J.N.; Siddiqi, T.; Kipps, T.J.; Jacobs, R.; Opat, S.; Barr, P.M.; Tedeschi, A.; Trentin, L.; Bannerji, R.; et al. Fixed duration ibrutinib plus venetoclax for first-line

- treatment of CLL: Primary analysis of the CAPTIVATE FD cohort. *Blood* **2022**, 139, 3278–3289.
235. Niemann, C.U.; Munir, T.; Moreno, C.; Owen, C.; Follows, G.A.; Benjamini, O.; Kater, A.P. Residual Disease Kinetics Among Patients with High-Risk Factors Treated with First-Line Fixed-Duration Ibrutinib Plus Venetoclax (Ibr+Ven) Versus Chlorambucil Plus Obinutuzumab (Clb+O): The Glow Study. In Proceedings of the American Society of Hematology (ASH) Congress, New Orleans, LA, USA, 10–13 December 2022.
 236. Munir, T.; Pitchford, A.; Bloor, A.; Pettitt, A.; Patten, P.E.; Forconi, F.; Hillmen, P. Combination of Ibrutinib Plus Venetoclax with MRD-Driven Duration of Treatment Results in a Higher Rate of MRD Negativity in IGHV Unmutated Than Mutated CLL: Updated Interim Analysis of FLAIR Study. In Proceedings of the American Society of Hematology (ASH) Congress, New Orleans, LA, USA, 10–13 December 2022.
 237. Pan R, Hogdal LJ, Benito JM, et al. Selective BCL-2 inhibition by ABT-199 causes on-target cell death in acute myeloid leukemia. *Cancer Discov* 2014; 4:362–375.
 238. Chan SM, Thomas D, Corces-Zimmerman MR, et al. Isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations induce BCL-2 dependence in acute myeloid leukemia. *Nat Med* 2015; 21:178–184.
 239. Konopleva M, Pollyea DA, Potluri J, et al. Efficacy and biological correlates of response in a phase II study of venetoclax monotherapy in patients with acute myelogenous leukemia. *Cancer Discov* 2016; 6:1106–1117.
 240. DiNardo CD, Jonas BA, Pullarkat V, Thirman MJ, et al. Azacitidine and Venetoclax in previously untreated acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2020; 383: 617–629.
 241. Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway. *Cell*. 1994; 79:13-21.
 242. Adams J, Palombella VJ, Sausville EA, et al. Proteasome inhibitors: a novel class of potent and effective antitumor agents. *Cancer Res*. 1999;59: 2615-2622.
 243. Yong K, Gonzalez-McQuire S, Zsolt Szabo Z, Schoen P, Hajek R. The start of a new wave: Developments in proteasome inhibition in multiple myeloma. *Eur J Haematol*. 2018; 101:220–236.
 244. Orłowski RZ, Stinchcombe TE, Mitchell BS, et al. Phase I trial of the proteasome inhibitor PS-341 in patients with refractory hematologic malignancies. *J Clin Oncol*. 2002; 20:4420-4427.
 245. Richardson PG, Barlogie B, Berenson J, et al. A phase 2 study of bortezomib in relapsed, refractory myeloma. *N Engl J Med*. 2003; 348:2609- 2617.
 246. Richardson PG, Sonneveld P, Schuster MW, Irwin D, Stadtmauer EA, Facon T, et al. Bortezomib or high-dose dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N Eng J Med* 2005; 352:2487–98.
 247. San Miguel J, Schlag R, Khuageva N, Dimopoulos M et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. *N Engl J Med* 2008; 359; 906–917.
 248. Sonneveld, P. Goldschmidt H, Rosinol L, Blade J, et al. Bortezomib-based versus nonbortezomib-based induction treatment before autologous stem-cell transplantation in patients with previously untreated multiple myeloma: a meta-analysis of phase III randomized, controlled trials. *J Clin Oncol* 2013; 31, 3279–3287.
 249. Alsina, M, Trudel S, Furman RR, Rosen PJ, et al. A phase I single-agent study of twice-weekly consecutive-day dosing of the proteasome inhibitor carfilzomib in patients with relapsed or refractory multiple myeloma or lymphoma. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 4830–4840.
 250. Latif A, Kapoor V, Lateef N, Ahsan MJ, et al. Incidence and management of carfilzomib-induced cardiovascular toxicity; a systematic review and meta-analysis. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2021; 21: 30–45.

251. Das A, Dasgupta S, Gong Y, Shah UA, et al. Cardiotoxicity as an adverse effect of immunomodulatory drugs and proteasome inhibitors in multiple myeloma: A network meta-analysis of randomized clinical trials. *Hematol Oncol* 2022; 40: 233–242.
252. Xie J, Wan N, Liang Z, Zhang T, Jiang J. Ixazomib—The first oral proteasome inhibitor. *Leuk. Lymphoma* 2019; 60: 610–618.
253. Rajkumar SV. Thalidomide: tragic past and promising future. *Mayo Clin Proc* 2004; 79:899-903.
254. Lenz W. Thalidomide and congenital abnormalities. *Lancet* 1962; 1:45.
255. McBride WG. Thalidomide and congenital abnormalities. *Lancet* 1961; 2:1358
256. Grabstad H, Golbey R. Clinical experience with thalidomide in patients with cancer. *Clin Pharmacol Ther.* 1965; 6:298-302.
257. Olson KB, Hall TC, Horton J, Khung CL, Hosley HF. Thalidomide (N-phthaloylglutamimide) in the treatment of advanced cancer. *Clin Pharmacol Ther.* 1965; 6:292-297.
258. D'Amato RJ, Loughnan MS, Flynn E, Folkman J. Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994; 91:4082-4085.
259. Singhal S, Mehta J, Desikan R, et al. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *N Engl J Med.* 1999; 341:1565-1571.
260. Dimopoulos MA, Anagnostopoulos A, Weber D. Treatment of plasma cell dyscrasias with thalidomide and its derivatives. *J Clin Oncol.* 2003;21: 4444-4454.
261. Ito T, Handa H. Molecular mechanisms of thalidomide and its derivatives. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2020; 96: 189–203.
262. Kulig P, Milczarek S, Bakinowska E, Szalewska L et al. Lenalidomide in Multiple Myeloma: Review of Resistance Mechanisms, Current Treatment Strategies and Future Perspectives. *Cancers* 2023; 15: 963.
263. Richardson PG, Blood E, Mitsiades CS, et al. A randomized phase 2 study of lenalidomide therapy for patients with relapsed or relapsed and refractory multiple myeloma. *Blood.* 2006;108: 3458-3464.
264. Rajkumar SV, Hayman SR, Lacy MQ, et al. Combination therapy with lenalidomide plus dexamethasone (Rev/Dex) for newly diagnosed myeloma. *Blood* 2005; 106:4050-4053.
265. Dimopoulos M, Spencer A, Attal M, et al. Lenalidomide plus dexamethasone for relapsed or refractory multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2007; 357:2123-2132.
266. Weber DM, Chen C, Niesvizky R, et al. Lenalidomide plus dexamethasone for relapsed multiple myeloma in North America. *N Engl J Med.* 2007; 357:2133-2142.
267. Nadler LM, Stashenko P, Hardy R, Kaplan WD, Button LN, Kufe DW, et al. Serotherapy of a patient with a monoclonal antibody directed against a human lymphoma-associated antigen. *Cancer Res* 1980; 40:3147–54.
268. Maloney DG, Liles TM, Czerwinski DK, Waldichuk C, Rosenberg J, Grillo-Lopez A, et al. Phase I clinical trial using escalating single-dose infusion of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody (IDEC-C2B8) in patients with recurrent B-cell lymphoma. *Blood* 1994; 84:2457–66.
269. Maloney DG, Grillo-López AJ, Bodkin DJ, White CA, Liles TM, Royston I, et al. IDEC-C2B8: results of a phase I multiple-dose trial in patients with relapsed non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* (1997) 15:3266–74.
270. McLaughlin P, Grillo-López AJ, Link BK, Levy R, Czuczman MS, Williams ME, et al. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol* (1998) 16:2825–33.
271. Pierpont T, Limper CB, Richards KL. Past, Present, and Future of Rituximab-The world's First Oncology Monoclonal Antibody Therapy. *Front. Oncol.* 2018; 8:163

272. Saltarella I, Desantis V, Melaccio A, et al. Mechanisms of resistance to anti-CD38 daratumumab in multiple myeloma. *Cells*, 2020;9:167.
273. Usmani SZ, Weiss BM, Plesner T, et al. Clinical efficacy of daratumumab monotherapy in patients with heavily pretreated relapsed or refractory multiple myeloma. *Blood* 2016; 128:37–44.
274. Palumbo A, Chanan-Khan A, Weisel K, et al. Daratumumab, bortezomib, and dexamethasone for multiple myeloma. *N Engl J Med* 2016; 375:754–66.
275. Dimopoulos MA, Oriol A, Nahi H, et al. Daratumumab, lenalidomide, and dexamethasone for multiple myeloma. *N Engl J Med* 2016; 375:1319.
276. Chari A, Suvannasankha A, Fay JW, et al. Daratumumab plus pomalidomide and dexamethasone in relapsed and/or refractory multiple myeloma. *Blood* 2017; 130:974–81.
277. Dimopoulos M, Quach H, Mateos MV, et al. Carfilzomib, dexamethasone, and daratumumab versus carfilzomib and dexamethasone for patients with relapsed or refractory multiple myeloma (CANDOR): results from a randomised, multicentre, open-label, phase 3 study. *Lancet* 2020; 396:186–97.
278. Mateos MV, Dimopoulos MA, Cavo M, et al. Daratumumab plus bortezomib, melphalan, and prednisone for untreated myeloma. *N Engl J Med* 2018; 378:518–28.
279. Moreau P, Attal M, Hulin C, et al. Bortezomib, thalidomide, and dexamethasone with or without daratumumab before and after autologous stem-cell transplantation for newly diagnosed multiple myeloma (CASSIOPEIA): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet* 2019; 394:29–38.
280. Facon T, Kumar S, Plesner T, et al. Daratumumab plus lenalidomide and dexamethasone for untreated myeloma. *N Engl J Med* 2019; 380:2104–15.
281. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010; 363:711–23.
282. Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, Hwu WJ, Topalian SL, Hwu P, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med*. 2012; 366:2455–65.
283. Roemer MG, Advani RH, Ligon AH, Natkunam Y, Redd RA, Homer H, et al. PD-L1 and PD-L2 genetic alterations define classical Hodgkin lymphoma and predict outcome. *J Clin Oncol* 2016; 34:2690–7.
284. Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I, Halwani A, Scott EC, Gutierrez M, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2015; 372:311–9.
285. Armand P, Engert A, Younes A, Fanale M, Santoro A, Zinzani PL, et al. Nivolumab for relapsed/refractory classic Hodgkin lymphoma after failure of autologous hematopoietic cell transplantation: extended follow-up of the multicohort single-arm phase II CheckMate 205 trial. *J Clin Oncol* 2018; 36:1428–39.
286. Armand P, Shipp MA, Ribrag V, Michot JM, Zinzani PL, Kuruvilla J, et al. Programmed death-1 blockade with pembrolizumab in patients with classical Hodgkin lymphoma after brentuximab vedotin failure. *J Clin Oncol*. 2016; 34:3733–9.
287. Chen R, Zinzani PL, Fanale MA, Armand P, Johnson NA, Brice P, et al. Phase II study of the efficacy and safety of pembrolizumab for relapsed/refractory classic Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol*. 2017; 35:2125–32.
288. Marei HE, Cenciarelli C, Hasan A. Potential of antibody–drug conjugates (ADCs) for cancer therapy. *Cancer Cell International* 2022; 22:255.
289. Sievers EL, Larson RA, Stadtmauer EA, Estey E, Löwenberg B, et al. Efficacy and safety of gemtuzumab ozogamicin in patients with CD33-positive acute myeloid leukemia in first relapse. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3244–3254.

290. Petersdorf SH, Kopecky KJ, Slovak M, Willman C, et al. A phase 3 study of gemtuzumab ozogamicin during induction and postconsolidation therapy in younger patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2013; 121:4854–4860.
291. Castaigne S, Pautas C, Terré C, Raffoux E, et al. 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* 2012; 379: 1508–1516.
292. Burnett AK, Hills RK, Milligan D, Kjeldsen L, et al. Identification of patients with acute myeloblastic leukemia who benefit from the addition of gemtuzumab ozogamicin: results of the MRC AML15 trial. *J Clin Oncol* 2011; 29, 369–377.
293. Hills RK, Castaigne S, Appelbaum FR, Delaunay J, Petersdorf S, et al. Addition of gemtuzumab ozogamicin to induction chemotherapy in adult patients with acute myeloid leukaemia: a meta- analysis of individual patient data from randomised controlled trials. *Lancet Oncol* 2014; 15: 986–996.
294. Kantarjian HM, DeAngelo DJ, Stelljes M, Martinelli G, Liedtke M, et al. Inotuzumab Ozogamicin versus standard therapy for acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2016; 375: 740–753.
295. Jabbour E, Ravandi F, Kebriaei P, Huang X, Short NJ, et al. Salvage chemoimmunotherapy with inotuzumab ozogamicin combined with mini- hyper-CVD for patients with relapsed or refractory Philadelphia chromosome- negative acute lymphoblastic leukemia: a phase 2 clinical trial. *JAMA Oncol* 2018; 4: 230–234.
296. Younes A, Gopal AK, Smith SE, Ansell SM, Rosenblatt JD, Savage KJ, et al. Results of a pivotal phase II study of brentuximab vedotin for patients with relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2012; 30:2183–89.
297. Pro B, Advani R, Brice P, Bartlett NL, Rosenblatt JD, Illidge T, et al. Brentuximab vedotin (SGN-35) in patients with relapsed or refractory systemic anaplastic large-cell lymphoma: results of a phase II study. *J Clin Oncol* 2012; 30:2190–6.
298. NCCN Guidelines for Hodgkin Lymphoma.V.2.2022. National Comprehensive Cancer Network, Inc. 2022. <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1439>
299. Polson AG, Yu SF, Elkins K, Zheng B, Clark S, Ingle GS, et al. Antibody-drug conjugates targeted to CD79 for the treatment of non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2007;110:616–23.
300. Sehn LH, Herrera AF, Flowers CR, Kamdar MK, McMillan A, Hertzberg M, et al. Randomized phase 2 trial of polatuzumab vedotin (pola) with bendamustine and rituximab (BR) in relapsed/refractory (r/r) FL and DLBCL. *J Clin Oncol* 2018;36:7507.
301. Tilly H, Morschhauser F, Sehn LH, Friedberg JW, Trněný M, et al. Polatuzumab vedotin in previously untreated diffuse large B-cell lymphoma. *N Eng J Med* 2022; 386: 351–363.
302. Perez P, Hoffman RW, Shaw S, Bluestone JA, Segal DM. Specific targeting of cytotoxic T cells by anti-T3 linked to anti-target cell antibody. *Nature* 1985; 31:354–6.
303. Viardot A, Locatelli F, Stieglmaier J, Zaman F, Jabbour E. Concepts in immunoncology: tackling B cell malignancies with CD19-directed bispecific T cell engager therapies. *Annals of Hematology* 2020; 99:2215–2229.
304. Topp MS, Gökbuget N, Stein AS, et al. Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2015; 16:57–66.
305. Kantarjian H, Stein A, Gökbuget N, et al. Blinatumomab versus chemotherapy for advanced acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med.* 2017; 376:836–847.
306. Locatelli F, Zugmaier G, Mergen N, Bader P, Jeha S, et al. Blinatumomab in pediatric patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia: results of the RIALTO trial, an expanded access study. *Blood Cancer Journal* 2020; 10:77.

307. Jen EY, Xu Q, Schetter A, Przepiorka D, Shen YL, et al. FDA approval: blinatumomab for patients with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia in morphologic remission with minimal residual disease. *Clin Cancer Res* 2019; 25:473–477.
308. Gross G, Waks T, Eshhar Z. Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86:10024–10028.
309. Brentjens RJ, Santos E, Nikhamin Y, Yeh R, et al. Genetically targeted T cells eradicate systemic acute lymphoblastic leukemia xenografts. *Clin. Cancer Res* 2007; 13: 5426–5435.
310. Milone MC, Fish JD, Carpenito C, Carroll RG, et al. Chimeric receptors containing CD137 signal transduction domains mediate enhanced survival of T cells and increased antileukemic efficacy in vivo. *Mol Ther* 2009; 17: 1453–1464.
311. Poorebrahim, M., Melief, J., Pico de Coaña, Y. et al. Counteracting CAR T cell dysfunction. *Oncogene* 2021; 40; 421–435.
312. Porter DL, Levine BL, Kalos M, Bagg A, June CH. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2011; 365:725–33.
313. Grupp SA, Kalos M, Barrett D, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2013; 368:1509-1518
314. Maude SL, Frey N, Shaw PA, Aplenc R, et al. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N Eng J Med* 2014; 371, 1507–1517.
315. Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, et al. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2018; 378:439–48.