

## Uso de NGS

Use of NGS

Vives Polo, Susana

*Jefe asistencial del Servicio de Hematología Clínica, Institut Català d'Oncologia Badalona – Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Grupos cooperativos PETHEMA y CETLAM.*

svives@iconcologia.net



**BIOLOGÍA  
MOLECULAR  
Y GENÉTICA  
EN LEUCEMIA  
MIELOIDE AGUDA**

HEMATOLOGÍA  
Volumen 26 Numero Extraordinario  
4tas Jornadas Latinoamericanas  
de la SAH: 130-138  
Noviembre 2022

**Palabras claves:** NGS,  
clasificaciones LMA,  
terapia dirigida.

**Keywords:** NGS,  
AML classifications,  
targeted therapies.

### Introducción

La leucemia mieloblástica aguda (LMA) es la leucemia aguda más frecuente en los adultos y su incidencia aumenta con la edad (edad media al diagnóstico de 68 años<sup>1</sup>). Su patogénesis se basa en la expansión de una clona capaz de proliferar evitando los mecanismos de reparación celular. Existen varios modelos que podrían explicar este fenómeno. Los primeros descritos se basaban en la adquisición secuencial de mutaciones<sup>2</sup>, aunque actualmente se está postulando en la combinación e interacción de mutaciones conductoras adquiridas somáticamente, clones competitivos coexistentes y un patrón evolutivo heterogéneo<sup>3</sup>.

El tratamiento de los pacientes afectos de LMA se adapta a las características de los pacientes (edad y comorbilidades, principalmente) y al riesgo pronóstico de la LMA que vendrá determinado por la biología y la genética que nos permiten realizar estas diferencias y clasificar las LMA en riesgo pronóstico favorable, intermedio y adverso<sup>4-5</sup>. El estudio inte-

grado en el diagnóstico de la LMA ha sido el pilar angular para poder realizar las clasificaciones desde la FAB en 1987, que se basaba exclusivamente en datos morfológicos, hasta la clasificación actual de la WHO 2022<sup>6</sup> que contempla estudio morfológico, estudio inmunofenotípico por citometría de flujo (CMF), estudio citogenético con cariotipo convencional y FISH, y estudio genético molecular que incluye estudios por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y los últimos avances en la secuenciación masiva de genes (NGS).

### Uso de la NGS

La incorporación progresiva del estudio de la NGS en las leucemias agudas nos permite realizar una clasificación y estratificación de riesgo pronóstico más específica. Además, también nos es de gran ayuda para la detección de neoplasias mieloides con predisposición de línea germinal (NMPG) y así extender los estudios a los familiares, para un

diagnóstico precoz y seguimiento estrecho de éstos. Tanto en el diagnóstico como en la recaída de la LMA, la detección de algunas mutaciones nos va a guiar en el tratamiento de los pacientes, por ejemplo, ofreciendo terapias dirigidas frente a las mutaciones que pueden ser diana terapéutica o, terapias intensivas (incluyendo el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, AloTPH) a aquellos pacientes diagnosticados de una LMA que tienen mutaciones que confieren muy mal pronóstico. Por otro lado, aunque todavía no está instaurado en la práctica asistencial habitual, los estudios de NGS también son de gran utilidad para la monitorización de la enfermedad medible residual (EMR) durante el tratamiento y en el seguimiento posterior, y así poder anticipar cambios en la estrategia terapéutica y detectar recaídas precoces.

**I. Clasificación y estratificación pronóstica**

Los estudios genéticos convencionales nos permiten clasificar un 50-60% del total de las LMA<sup>7</sup>. Por el contrario, cuando analizamos por NGS las muestras de los pacientes diagnosticados de LMA, se detecta alguna mutación en más del 90% de los casos<sup>8</sup>. Papaemmanuil *et al.* en 2016 analiza 111 genes relacionados con cáncer en un total de 1540 pacientes con LMA tratados de forma intensiva (se trata de una cohorte de pacientes jóvenes). En este estudio identifican 5234 mutaciones conductoras en 76 genes, con 2 o más mutaciones driver identificadas en el 86% de los pacientes. Además, identifican 11

patrones diferentes de co-mutación con significado clínico y tres categorías genómicas heterogéneas (LMA con mutaciones en genes que codifican cromatina, reguladores de empalme de ARN o ambos en el 18 % de los pacientes; LMA con mutaciones en TP53, aneuploidías cromosómicas o ambas en el 13 %; y LMA con mutaciones *IDH2R172* en el 1%). En total, con las categorías genómicas heterogéneas, describe 14 clases funcionales diferentes según las mutaciones que encontramos en los distintos genes (Tabla 1 y Figura 1).

Esta clasificación diferencia las categorías funcionales en: genes activadores de señales, mutaciones en nucleofosmina (*NPM1*), genes supresores de tumores, genes relacionados con la metilación del ADN, fusiones de factores de transcripción, mutaciones de factores de transcripción, genes modificadores de cromatina, genes del complejo cohesina y genes del empalmosoma. En este mismo estudio, se describen patrones de interacciones no aleatorios con presencia de co-mutaciones y patrones excluyentes, que se conocían previamente<sup>9-10</sup>, pero que en este estudio se analizan y comprenden con más profundidad, proporcionando información muy valiosa para categorizar mejor el riesgo pronóstico y la respuesta al tratamiento. Por estos motivos, las nuevas clasificaciones han ido incorporando estos datos de genética molecular para caracterizar mejor las LMA.

Desde hace 60 años, diferentes grupos de expertos de todo el mundo, han elaborado una clasificación de tumores para la World Health Organization (WHO),

**Tabla 1.** Propuesta de clasificación genómica para LMA<sup>8</sup>

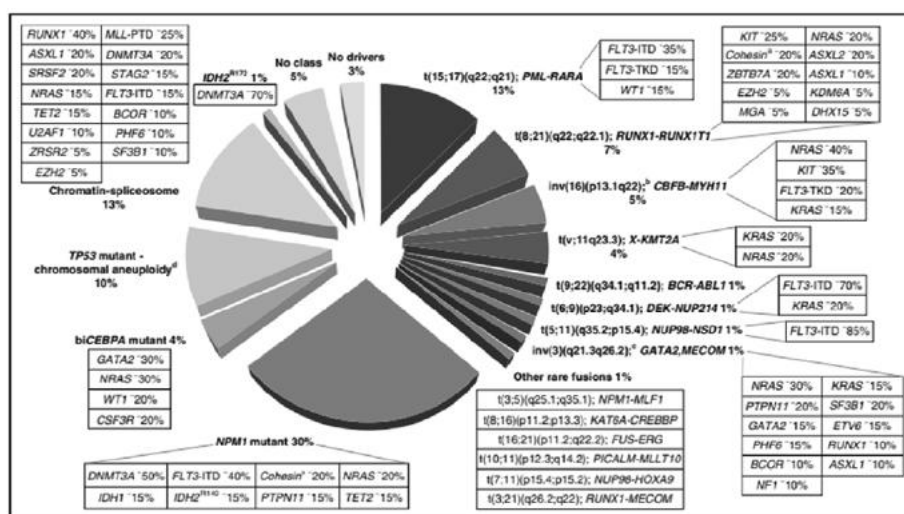
Genomic Subgroup	Frequency in the Study Cohort (N = 1540)	Most Frequently Mutated Genes <sup>a</sup>
	no. of patients (%)	
AML with <i>NPM1</i> mutation	418 (27)	<i>NPM1</i> (100), <i>DNMT3A</i> (54), <i>FLT3<sup>ITD</sup></i> (39), <i>NRAS</i> (19), <i>TET2</i> (16), <i>PTPN11</i> (15)
AML with mutated chromatin, RNA-splicing genes, or both†	275 (18)	<i>RUNX1</i> (39), <i>MLL<sup>PTD</sup></i> (25), <i>SRSF2</i> (22), <i>DNMT3A</i> (20), <i>ASXL1</i> (17), <i>STAG2</i> (16), <i>NRAS</i> (16), <i>TET2</i> (15), <i>FLT3<sup>ITD</sup></i> (15)
AML with <i>TP53</i> mutations, chromosomal aneuploidy, or both‡	199 (13)	Complex karyotype (68), <i>-5/5q</i> (47), <i>-7/7q</i> (44), <i>TP53</i> (44), <i>-17/17p</i> (31), <i>-12/12p</i> (17), <i>+8/8q</i> (16)
AML with <i>inv(16)(p13.1;q22)</i> or <i>t(16;16)(p13.1;q22)</i> ; <i>CBFB-MYH11</i>	81 (5)	<i>inv(16)</i> (100), <i>NRAS</i> (53), <i>+8/8q</i> (16), <i>+22</i> (16), <i>KIT</i> (15), <i>FLT3<sup>ITD</sup></i> (15)
AML with biallelic <i>CEBPA</i> mutations	66 (4)	<i>CEBPA<sup>biallelic</sup></i> (100), <i>NRAS</i> (30), <i>WT1</i> (21), <i>GATA2</i> (20)
AML with <i>t(15;17)(q22;q12)</i> ; <i>PML-RARA</i>	60 (4)	<i>t(15;17)</i> (100), <i>FLT3<sup>ITD</sup></i> (35), <i>WT1</i> (17)
AML with <i>t(8;21)(q22;q22)</i> ; <i>RUNX1-RUNX1T1</i>	60 (4)	<i>t(8;21)</i> (100), <i>KIT</i> (38), <i>-Y</i> (33), <i>-9q</i> (18)
AML with <i>MLL</i> fusion genes: <i>t(x;11)(x;q23)</i> §	44 (3)	<i>t(x;11q23)</i> (100), <i>NRAS</i> (23)
AML with <i>inv(3)(q21q26.2)</i> or <i>t(3;3)(q21;q26.2)</i> ; <i>GATA2-MECOM(EVI1)</i>	20 (1)	<i>inv(3)</i> (100), <i>-7</i> (85), <i>KRAS</i> (30), <i>NRAS</i> (30), <i>PTPN11</i> (30), <i>ETV6</i> (15), <i>PHF6</i> (15), <i>SF3B1</i> (15)
AML with <i>IDH2<sup>R172</sup></i> mutations and no other class-defining lesions	18 (1)	<i>IDH2<sup>R172</sup></i> (100), <i>DNMT3A</i> (67), <i>+8/8q</i> (17)
AML with <i>t(6;9)(p23;q34)</i> ; <i>DEK-NUP214</i>	15 (1)	<i>t(6;9)</i> (100), <i>FLT3<sup>ITD</sup></i> (80), <i>KRAS</i> (20)
AML with driver mutations but no detected class-defining lesions	166 (11)	<i>FLT3<sup>ITD</sup></i> (39), <i>DNMT3A</i> (16)
AML with no detected driver mutations	62 (4)	
AML meeting criteria for ≥2 genomic subgroups	56 (4)	

donde se han integrado los conocimientos y avances en citomorfología, inmunofenotipo, citogenética y biología genética. La clasificación propuesta por la WHO 2016<sup>11</sup> ya incorporaba mutaciones en *NPM1* y *CEBPA* (debido a su valor pronóstico favorable) y de forma provisional *BCR-ABL1* y *RUNX1*. En la 5ª edición de la clasificación WHO<sup>6</sup>, recién publicada, se añaden a la clasificación las siguientes mutaciones somáticas: *ASXL1*, *BCOR*, *EZH2*, *SF3B1*, *SRSF2*, *STAG2*, *U2AF1* y *ZRSR2*, necesarias para diagnosticar LMA relacionada con mielodisplasia. El clasificar en función de la presencia o no de estos genes, tiene gran importancia por su correlación con el riesgo pronóstico. A diferencia de la WHO, las clasificaciones de la European Leukemia Net (ELNet), también proponen categorías pronósticas en función de la presencia o no de mutaciones/co-mutaciones y realizan recomendaciones para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento. En los últimos años, se había integrado en la práctica habitual la clasificación de riesgo pronóstico de la ELNet 2017<sup>4</sup>, así como el tratamiento adaptado a este riesgo. Al igual que en la clasificación de la WHO 2016, las mutaciones de *CEBPA* (mutación de sus dos alelos-bialélico) y de *NPM1* se consideraban necesarias al diagnóstico por su asociación a un riesgo pronóstico favorable (en el caso de *NPM1*, este efecto favorable quedaba abolido si existía co-mutación de *FLT3-DIT* con una ratio alélica superior a 0.5). En esta clasificación, se recomendaba la determinación del estatus mutacional de *ASXL1*, *RUNX1* y *TP53* por su mal pronósti-

co cuando estaban mutados, debido a su alto riesgo de recaída. También, muy recientemente<sup>5</sup>, se ha actualizado esta clasificación incorporándose la determinación de nuevas mutaciones: *BCOR*, *EZH2*, *SF3B1*, *SRSF2*, *STAG2*, *U2AF1* y *ZRSR2*, así como el cambio de riesgo pronóstico en la co-mutación de *NPM1* y *FLT3-ITD* (independientemente de la ratio de *FLT3-ITD*, su presencia con *NPM1* confiere pronóstico intermedio), y la presencia de *FLT3-ITD* deja de tener valor pronóstico adverso en ausencia de *NPM1* (Tabla 2).

En los últimos años, gracias a los estudios con NGS realizados a pacientes con LMA, se han identificado alteraciones de línea germinal con susceptibilidad de desarrollar neoplasias hematológicas. En el año 2017, debido a estos hallazgos, tanto la clasificación de la WHO como la ELNet ya incluían esta categoría las NMPG. Este hecho ha sido de gran interés porque reconoce el impacto clínico y terapéutico en estos pacientes y en sus familiares. El conocimiento de estas mutaciones de línea germinal, nos obliga a realizar un seguimiento evolutivo específico, así como estrategias terapéuticas más adaptadas, como es la correcta elección de un donante para un ALOT-TPH a fin de evitar la posibilidad de recaída de la enfermedad al reintroducir la alteración genética. En la última revisión de ambas clasificaciones (WHO 2022<sup>6</sup> y ELNet 2022<sup>5</sup>), los autores coinciden en las mutaciones que debemos estudiar a nivel somático en los pacientes con LMA sin alteraciones plaquetares o disfunción orgánica previa (*CEBPA*, *DDX41* y

Figura 1. Clases moleculares de LMA y mutaciones de genes concurrentes<sup>4</sup>



TP53) para posteriormente descartar su origen germinal. En los casos en los que existe una alteración plaquetar o bien disfunción orgánica, se debería am-

pliar un panel específico dirigido a descartar NMPG además del panel genérico de mutaciones somáticas para LMA.

**Tabla 2.** Clasificación ELN 2022 de riesgo genético al diagnóstico<sup>5</sup>

Risk category†	Genetic abnormality
Favorable	<ul style="list-style-type: none"> <li>t(8;21)(q22;q22.1)/RUNX1::RUNX1T1†,‡</li> <li>inv(16)(p13.1;q22) or t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB::MYH11†,‡</li> <li>Mutated NPM1†,§ without FLT3-ITD</li> <li>bZIP in-frame mutated CEBPA  </li> </ul>
Intermediate	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mutated NPM1†,§ with FLT3-ITD</li> <li>Wild-type NPM1 with FLT3-ITD (without adverse-risk genetic lesions)</li> <li>t(9;11)(p21.3;q23.3)/MLLT3::KMT2A†,¶</li> <li>Cytogenetic and/or molecular abnormalities not classified as favorable or adverse</li> </ul>
Adverse	<ul style="list-style-type: none"> <li>t(6;9)(p23.3;q34.1)/DEK::NUP214</li> <li>t(v;11q23.3)/KMT2A-rearranged#</li> <li>t(9;22)(q34.1;q11.2)/BCR::ABL1</li> <li>t(8;16)(p11.2;p13.3)/KAT6A::CREBBP</li> <li>inv(3)(q21.3;q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2)/GATA2, MECOM(EVI1)</li> <li>t(3q26.2;v)/MECOM(EVI1)-rearranged</li> <li>-5 or del(5q); -7; -17/abn(17p)</li> <li>Complex karyotype,** monosomal karyotype††</li> <li>Mutated ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, UZAF1, and/or ZRSR2‡‡</li> <li>Mutated TP53<sup>§§</sup></li> </ul>

**Tabla 3.** Subtipos de neoplasias mieloides con predisposición de línea germinal<sup>6</sup>.

<b>Myeloid neoplasms with germline predisposition without a pre-existing platelet disorder or organ dysfunction</b>
• Germline CEBPA P/LP variant (CEBPA-associated familial AML)
• Germline DDX41 P/LP variant <sup>a</sup>
• Germline TP53 P/LP variant <sup>a</sup> (Li-Fraumeni syndrome)
<b>Myeloid neoplasms with germline predisposition and pre-existing platelet disorder</b>
• Germline RUNX1 P/LP variant <sup>a</sup> (familial platelet disorder with associated myeloid malignancy, FPD-MM)
• Germline ANKRD26 P/LP variant <sup>a</sup> (Thrombocytopenia 2)
• Germline ETV6 P/LP variant <sup>a</sup> (Thrombocytopenia 5)
<b>Myeloid neoplasms with germline predisposition and potential organ dysfunction</b>
• Germline GATA2 P/LP variant (GATA2-deficiency)
• Bone marrow failure syndromes
◦ Severe congenital neutropenia (SCN)
◦ Shwachman-Diamond syndrome (SDS)
◦ Fanconi anaemia (FA)
• Telomere biology disorders
• RASopathies (Neurofibromatosis type 1, CBL syndrome, Noonan syndrome or Noonan syndrome-like disorders <sup>a,b</sup> )
• Down syndrome <sup>a,b</sup>
• Germline SAMD9 P/LP variant (MIRAGE Syndrome)
• Germline SAMD9L P/LP variant (SAMD9L-related Ataxia Pancytopenia Syndrome) <sup>c</sup>
• Biallelic germline BLM P/LP variant (Bloom syndrome)
<sup>a</sup> Lymphoid neoplasms can also occur.
<sup>b</sup> See respective sections.
<sup>c</sup> Ataxia is not always present.
P pathogenic, LP likely pathogenic.

## II. Monitorización de la EMR

El objetivo del tratamiento en la LMA no es sólo obtener una remisión completa (RC) morfológica, sino además alcanzar una EMR negativa (EMR<sub>neg</sub>), puesto que esta respuesta más profunda, va a disminuir el riesgo de recaída y aumentar la supervivencia global (SG) del paciente<sup>12-14</sup>. En la práctica asistencial habitual, la EMR se determina por técnicas de CMF y PCR. En el curso de los últimos años, estas herramientas han podido demostrar su valor pronóstico post-inducción y pre-trasplante, en numerosos estudios publicados<sup>14-17</sup>. En el estudio publicado por Araki *et al*<sup>18</sup>, donde estudiaron la EMR por CMF previa a la realización de AloTPH en 359 pacientes con LMA, concluyeron que los pacientes que se trasplantaban en situación de EMR<sub>neg</sub> tenían una SG estimada a 3 años superior al 70% y un riesgo acumulado de recaída inferior al 20-25%. Por otro lado, también existen estudios donde se demuestra que la monitorización de la EMR por PCR también tiene un importante impacto pronóstico cuando existe una mutación cuantificable como pueden ser *NPM1*, *RUNX1-RUNX1T1* o *CBFB-MYH11*. En los estudios de Ivey *et al*<sup>19</sup> se demostró el impacto favorable que tiene el alcanzar una EMR<sub>neg</sub> en los pacientes con LMA con mutación de *NPM1* para evitar la recaída. En este trabajo, donde se incluyeron 346 pacientes, analizaron la determinación del aclaramiento de la EMR por PCR cuantificando los transcritos de *NPM1* en sangre periférica en diferentes momentos de la enfermedad. Detectaron transcritos en sangre periférica en el 15% de los pacientes después del segundo ciclo de quimioterapia. En estos pacientes observaron una peor SG a 3 años (24% frente a 75%,  $P < 0.001$ ) y un mayor riesgo de recaída (82% frente a 30%;  $P < 0.001$ ).

Por todos estos motivos, la ELNet añade en sus recomendaciones la monitorización de la EMR durante el tratamiento, para establecer diferentes estrategias terapéuticas basadas en la profundidad de la respuesta alcanzada. A nivel de genética molecular, no todas las mutaciones son susceptibles de ser cuantificadas con las técnicas disponibles, y no todas las mutaciones detectadas por NGS serán adecuadas para determinar la presencia o no de EMR. No serían mutaciones adecuadas para monitorización de EMR aquellas que podemos detectar en la hematopoyesis clonal de significado incierto y que con mucha frecuencia se asocian a la edad (mutaciones

a nivel de *TET2*, *DNMT3A* o *ASXL1*)<sup>20</sup>. Debido a estas limitaciones, la monitorización de la EMR por una mutación aislada está totalmente desaconsejada. La monitorización por NGS nos permite identificar más de una mutación por paciente y, por lo tanto, valorar el significado patológico del patrón de expresión. Además, es una técnica con un alto nivel de sensibilidad y especificidad para prevenir recaídas, con una estandarización para la interpretación de los resultados más fácil que la PCR a tiempo real y la CMF. Con esta técnica, existen ya resultados que avalan la importancia de la determinación de la EMR pre-AloTPH<sup>16,21-26</sup>, con una incidencia acumulada de recaída a 5 años del 17% si EMR<sub>neg</sub> frente a un 66% si EMR<sub>pos</sub>. Recientemente, también se están presentando resultados muy prometedores del impacto pronóstico de la EMR en sangre periférica determinada por NGS post-AloTPH<sup>27</sup>. Todos estos avances nos permitirán, en un futuro, anticiparnos y evitar recaídas cuando se empiece a detectar EMR a nivel molecular.

Reconociendo que la NGS es posiblemente la técnica más precisa para monitorizar la EMR, todavía no puede ser implementada debido a diversos motivos: el tiempo de respuesta para obtener los resultados y tomar una decisión terapéutica rápida no es el adecuado (en la mayoría de los centros se precisan más de 21 días para disponer de los resultados) y por el momento sigue siendo una técnica laboriosa y costosa que no todos los centros se pueden permitir.

## III. Terapia adaptada

El futuro deseable para el tratamiento de todas las LMA es encontrar una terapia dirigida que actúe frente a una diana molecular, mejorando así las tasas de respuesta al tratamiento y minimizando los acontecimientos adversos como, por ejemplo, estamos realizando en la actualidad con la leucemia aguda promielocítica. El conocimiento que nos ha proporcionado el estudio de las LMA por NGS nos ofrece mejores clasificaciones de riesgo pronóstico para proceder al AloTPH sólo en aquellos pacientes en los que el riesgo de recaída es elevado. A continuación, resumo algunas alteraciones genéticas en las que su conocimiento puede modificar el tratamiento administrado al paciente.

**CEBPA, RUNX1-RUNX1T1, CBFB-MY11H y NPM1:** Consideradas, por excelencia, mutaciones de riesgo pronóstico favorable cuando no se co-expresan

con otras mutaciones y presentan un buen aclaramiento de la EMR durante el tratamiento, ya que son pacientes que tienen unas tasas de SG superiores a las del resto de LMA sin necesidad de AloTPH. En los últimos años, con análisis más precisos de los estudios publicados de Gentuzumab-ozogamicina (anticuerpo monoclonal anti-CD33 conjugado con caliqueamicina), se ha demostrado que la adición de esta droga en dosis bajas y fraccionadas junto con la quimioterapia de inducción y consolidación, aumenta la SG de los pacientes un 20%, por lo que su administración junto con la quimioterapia estándar en esta categoría sería recomendable<sup>28-31</sup>.

**FLT3:** FLT3 es una proteína receptor quinasa que se expresa en los progenitores hematopoyéticos normales y participa de forma fisiológica en el control de los procesos de proliferación, supervivencia y diferenciación celular. Las mutaciones de *FLT3* se observan en el 30% de los pacientes afectos de LMA, siendo más frecuente la mutación *DIT FLT3* (23%) frente a las mutaciones *TKD* (7%). El riesgo pronóstico de *DIT FLT3* siempre había sido considerado desfavorable por su mala respuesta al tratamiento y su alto porcentaje de recaída. En la clasificación actual<sup>5</sup>, esta mutación es considerada de riesgo intermedio, porque debido a la introducción en el tratamiento de los inhibidores de FLT3 y a la estrecha monitorización de la EMR, este valor pronóstico negativo, ha desaparecido. Los inhibidores de FLT3 han sido los primeros fármacos aprobados dirigidos contra una diana molecular. Midostaurina, inhibidor de primera generación tipo I, añadida al tratamiento quimioterápico estándar en inducción y consolidación, demostró mejorar la SG de los pacientes con LMA y mutación de FLT3<sup>32</sup>. Otros inhibidores de FLT3 como quizartinib<sup>33</sup>, gilteritinib<sup>34</sup> y sorafenib<sup>35,36</sup> están siendo estudiados en combinación con quimioterapia (QUANTUM-First; NCT02668653, HOVON156; NCT04027309), en monoterapia en mantenimiento posterior a AloTPH o en situación de recaída.

**IDH1/2:** IDH es una enzima metabólica del ciclo de Krebs que cataliza la conversión de isocitrato en  $\alpha$ -cetoglutarato ( $\alpha$ -KG) con la consiguiente producción de CO<sub>2</sub> y NAD(P)H. Existe una isoenzima citosólica (IDH1) y dos mitocondriales (IDH2 e IDH3). Las mutaciones confieren una nueva actividad a la enzima que reduce  $\alpha$ -KG a 2-hidroxiglutarato. El acúmulo de este onco-metabolito ocasiona cambios

epigenéticos que derivan en un stop madurativo y un desequilibrio en los mecanismos de supervivencia y apoptosis. La incidencia de mutaciones de *IDH* en LMA se estima entre un 6%-10% para IDH1 y en torno al 12% para IDH2. El desarrollo clínico y progreso de los estudios con inhibidores de IDH ha ido más rápido que en el caso de los inhibidores de FLT3. Se ha demostrado su efectividad en pacientes de edad avanzada en monoterapia en situación de recaída/refracteriedad<sup>37-39</sup>, asociado a azacitidina (mutación en *IDH1*) en primera línea de tratamiento<sup>40,41</sup> y están todavía en curso ensayos clínicos fase 3 para evaluar su efectividad y seguridad en combinación con quimioterapia intensiva y mantenimiento posterior en pacientes jóvenes (HOVON150; NCT03839771).

**TP53:** Las mutaciones de TP53 derivan en acúmulo de proteína p53 mutada y no funcional que impiden los procesos mediados por p53, como el arresto del ciclo celular e inducción de apoptosis. TP53 se encuentra mutada en menos del 10% de las LMA y es uno de los factores conocidos de pronóstico adverso y se asocia con mucha frecuencia a la presencia de cariotipo complejo. APR-246 (eprenetapopt) restaura la conformación y funcionalidad de p53 en LMA con mutación de TP53<sup>42</sup>. Los resultados en los ensayos clínicos fase 1/2b en combinación con azacitidina, mostraron respuestas globales en torno al 70% con tasas de RC del 41% en pacientes con LMA y síndrome mielodisplásico (SMD) de alto riesgo<sup>43</sup>. El ensayo clínico Fase 3 en SMD no pudo demostrar tanta superioridad frente azacitidina en monoterapia (tasas de RC del 33.3% frente al 24.3%). Por otro lado, a pesar de no conocer a ciencia cierta el mecanismo por el que se asocia la expresión de CD47 y la mutación de TP53, también se están realizando estudios con magrolimab (anticuerpo monoclonal anti-CD47) en los pacientes con LMA TP53 mutada. Los resultados del ensayo clínico fase 1 en combinación con azacitidina muestra respuestas objetivas en torno al 50%<sup>44</sup>. En la actualidad está en curso el ensayo clínico fase 3 que compara magrolimab en combinación con azacitidina frente al estándar de tratamiento (ENHANCE-2; NCT04778397).

**KIT:** Es un receptor tirosín-quinasa tipo III que contribuye en las señales de transducción de diferentes células. Las mutaciones de KIT se han descrito en más del 90% de mastocitosis, 80-85% de casos de tumor estromal gastrointestinal y 10-20% de

melanoma. En LMA las mutaciones de *KIT* se detectan en aproximadamente un 4-6% de los adultos con LMA de novo y en un 20-40% de los casos con LMA core-binding factor (LMA con mutaciones en *RUNX1-RUNX1T1* y *CBFB-MY11H*)<sup>45</sup>. Diferentes inhibidores tirosinaquinasa como imatinib<sup>46</sup>, dasatinib<sup>47,48</sup> y midostaurina han sido explorados en pacientes con LMA y mutación de *KIT* con resultados prometedores pero, por el momento, ninguno de estos estudios han sido lo suficientemente potentes como para añadirlos de forma generalizada cuando estamos frente a una mutación de *KIT*.

**MLL:** Los reordenamientos en *MLL* (también denominado *KMT2A*) se encuentran en un 5-10% de las LMA, particularmente en la infancia y están asociados a mal pronóstico y resistencia a quimioterapia. Estudios recientes sobre la mediación leucemogénica de *MLL* han aportado información sobre el papel de cofactor transcripcional del gen supresor de tumores *MEN-1*. Basados en estos conocimientos, los inhibidores de menina disregularían el papel oncogénico de *MLL*<sup>49</sup> de forma indirecta. Están en curso múltiples ensayos clínicos con nuevas moléculas que actúan a este nivel y los resultados preliminares parecen esperanzadores.

### Conclusiones finales

La información facilitada por los estudios de NGS del panorama genético molecular en la LMA ha mejorado no solo nuestro conocimiento sobre la fisiopatología de la enfermedad, sino también la clasificación, el pronóstico, el seguimiento y el tratamiento de nuestros pacientes afectados de LMA. No toda la información que nos ofrecen los estudios por NGS es imprescindible, pero gracias a ella, sabemos que el estado mutacional de varios genes tiene impacto pronóstico y deben considerarse en el momento del diagnóstico y a la hora de elegir una terapia adecuada. Por estos motivos, en la medida de lo posible, la realización de un panel de NGS debe ser incorporada en el diagnóstico y en la recaída en la práctica asistencial habitual.

Como se ha comentado, el potencial de la técnica está lejos de agotarse y varios estudios han demostrado el valor clínico de la evaluación de la EMR basada en NGS. Además de esto, el mayor conocimiento de estos genes nos proporcionará la oportunidad de seguir avanzando en la terapia dirigida frente a dianas terapéuticas minimizando los posibles efectos adversos y curando al mayor número de pacientes.

**Conflictos de interés:** La autora declara haber recibido honorarios por parte de la Fundación PETHEMA y Servier por concepto de conferencias y actividades educativas en las que ha participado. También ha participado en actividades formativas de Abbvie, Astellas y Jazz Pharmaceuticals sin recibir honorarios.

### Bibliografía

1. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/amyl.html>
2. Gilliland DG, Griffin JD. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. *Blood*. 2002; 100:1532-42.
3. Bullinger L, Döhner K, Döhner H. Genomics of acute myeloid leukemia diagnosis and pathways. *J Clin Oncol*. 2017;35:934-46.
4. Döhner H, Estey E, Grimwade D et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017;129:424-47.
5. Döhner H, Wei AH, Appelbaum FR et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. *Blood*. 2022;140:1345-77.
6. Khoury JD, Solary E, Abla O et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumors: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. 2022;36:1703-19.
7. Kumar CC. Genetic abnormalities and challenges in the treatment of acute myeloid leukemia. *Genes Cancer*. 2011;2:95-107.
8. Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, et al. Genomic classification and prognosis in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2016;374:2209-21.
9. Döhner H, Estey EH, Amadori S, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2010;115:453-74.

10. Patel JP, Gönen M, Figueroa ME, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2012;366:1079-89.
11. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127:2391-405.
12. Schuurhuis GJ, Heuser M, Freeman S, et al. Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood*. 2018;131:1275-91.
13. Grimwade D, Freeman SD. Defining minimal residual disease in acute myeloid leukemia: which platforms are ready for "prime time"? *Blood*. 2014;124:3345-55.
14. Hourigan CS, Gale RP, Gormley NJ, et al. Measurable residual disease testing in acute myeloid leukaemia. *Leukemia*. 2017;31:1482-90.
15. Jongen-Lavrencic M, Grob T, Hanekamp D, et al. Molecular minimal residual how to manage - acute myeloid leukemia disease in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2018;378:1189-99.
16. Morita K, Kantarjian HM, Wang F, et al. Clearance of somatic mutations at remission and the risk of relapse in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2018;36:1788-97.
17. Klco JM, Miller CA, Griffith M, et al. Association between mutation clearance after induction therapy and outcomes in acute myeloid leukemia. *JAMA*. 2015;314:811-22
18. Araki D, Wood B, Othus M et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for acute myeloid leukemia: time to move toward a minimal residual disease-base definition of complete remission? *J Clin Oncol*. 2016;34:329-36.
19. Ivey RK, Hills MA, Simpson JV et al. Assessment of minimal residual disease in standard-risk AML. *N Engl J Med*. 2016;374:422-33.
20. Haferlach T. Advancing leukemia diagnostics: Role of Next Generation Sequencing (NGS) in acute myeloid leukemia. *Hematol Rep*. 2020. PMID: 33042506.
21. Thol F, Gabdoulline R, Liebich A, et al. Measurable residual disease monitoring by NGS before allogeneic hematopoietic cell transplantation in AML. *Blood*. 2018;132:1703-13.
22. Hourigan CS, Dillon LW, Gui G, et al. Impact of conditioning intensity of allogeneic transplantation for acute myeloid leukemia with genomic evidence of residual disease. *J Clin Oncol*. 2020;38:1273-83.
23. Press RD, Eickelberg G, Froman A, et al. Next-generation sequencing-defined minimal residual disease before stem cell transplantation predicts acute myeloid leukemia relapse. *Am J Hematol*. 2019;94:902-12.
24. Klco JM, Miller CA, Griffith M, et al. Association between mutation clearance after induction therapy and outcomes in acute myeloid leukemia. *JAMA*. 2015;314:811-22.
25. Patkar N, Kodgule R, Kakirde C, et al. Clinical impact of measurable residual disease monitoring by ultradeep next generation sequencing in NPM1 mutated acute myeloid leukemia. *Oncotarget*. 2018;9:36613-24.
26. Hirsch P, Tang R, Abermil N, et al. Precision and prognostic value of clone-specific minimal residual disease in acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2017;102:1227-37.
27. Heuser M, Heida B, Büttner K, et al. Posttransplantation MRD monitoring in patients with AML by next-generation sequencing using DTA and non-DTA mutations. *Blood Adv*. 2021;5:2294-304.
28. Borthakur G, Kantarjian H. Core binding factor acute myelogenous leukemia-2021 treatment algorithm. *Blood Cancer J*. 2021;11:114. doi: 10.1038/s41408-021-00503-6.
29. Hills RK, Castaigne S, Appelbaum FR, 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;15:986-96.
30. Castaigne S, Pautas C, Terré C, 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;379:1508-16.
31. Lambert J, Pautas C, Terré Ch et al. Gentuzumab ozogamicin for de novo acute myeloid leukemia: final efficacy and safety updates from the open labe, phase III ALFA-0701 Trial. *Haematologica*. 2019;104:113-19.
32. Stone RM, Mandrekar SJ, Sanford BL, et al. Midostaurin plus chemotherapy for acute myeloid leukemia with a FLT3 mutation. *N Engl J Med*. 2017;377:454-64.
33. Cortes JE, Khaled S, Martinelli G, et al. Quizartinib versus salvage chemotherapy in relapsed or refractory FLT3-ITD acute myeloid leukaemia (QuAN-



- TUM-R): a multicentre, randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2019;20:984-97.
34. Perl AE, Martinelli G, Cortes JE, et al. Gilteritinib or Chemotherapy for Relapsed or Refractory FLT3-Mutated AML. *N Engl J Med.* 2019;381:1728-40
  35. Burchert A, Bug G, Finke J, et al. Sorafenib as maintenance therapy post allogeneic stem cell transplantation for FLT3-ITD positive AML: results from the randomized, double-blind, placebo controlled multicentre Sormain Trial. *Blood.* 2018;132(Supplement 1):661-661.
  36. Burchert A, Bug G, Fritz LV, et al. Sorafenib maintenance after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia with FLT3-internal Tandem Duplication Mutation (SORMAIN). *J Clin Oncol.* 2020;38:2993-3002.
  37. Stein EM, DiNardo CD, Pollyea DA, et al. Enasidenib in mutant IDH2 relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Blood.* 2017;130:722-31.
  38. Pollyea DA, Tallman MS, de Botton S, et al. Enasidenib, an inhibitor of mutant IDH2 proteins, induces durable remissions in older patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia. *Leukemia.* 2019;33:2575-84.
  39. DiNardo CD, Stein EM, de Botton S, et al. Durable remissions with ivosidenib in IDH1-mutated relapsed or refractory AML. *N Engl J Med.* 2018;378:2386-98
  40. DiNardo CD, Stein AS, Stein EM, et al. Mutant isocitrate dehydrogenase 1 inhibitor ivosidenib in combination with azacitidine for newly diagnosed acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol.* 2021;39:57-65
  41. Montesinos P, Recher C, Vives S, et al. Ivosidenib and Azacitidine in IDH1-Mutated Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med.* 2022;386:1519-31.
  42. Lambert JMR, Gorzov P, Veprintsev DB, et al. PRIMA-1 reactivates mutant p53 by covalent binding to the core domain. *Cancer Cell.* 2009;15: 376-88.
  43. Sallman DA, DeZern A.E, Garcia-Manero G, et al. Eprentapopt (APR-246) and Azacitidine in TP53-Mutant Myelodysplastic Syndromes. *J Clin Oncol.* 2021;39:1584-94.
  44. Daver N, Vyas P, Kambhampati S, et al. AML-464 Tolerability and efficacy of the first-in-class Anti-CD47 antibody magrolimab combined with azacitidine in frontline patients with TP-53 mutated acute myeloid leukemia (AML): Phase 1b results. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2022;22 Suppl 2:S253-S254.
  45. Katagiri S, Chi S, Minami Y et al. Mutated KIT tyrosine kinase as a novel molecular target in acute myeloid leukemia. *Int J Mol Sci.* 2022;23:4694. doi:10.3390/ijms23094694.
  46. Advani AS, Tiu R, Sauntharajah Y, et al. A Phase 1 study of imatinib mesylate in combination with cytarabine and daunorubicin for c-kit positive relapsed acute myeloid leukemia. *Leuk. Res.* 2010;34:1622-26.
  47. Marcucci G, Geyer S, Laumann K, et al. Combination of dasatinib with chemotherapy in previously untreated core binding factor acute myeloid leukemia: CALGB 10801. *Blood Adv.* 2020;4:696-705.
  48. Paschka P, Schlenk RF, Weber D, et al. Adding dasatinib to intensive treatment in core-binding factor acute myeloid leukemia-results of the AMLSG 11-08 trial. *Leukemia.* 2018; 32:1621-30.
  49. Krivtsov AV, Evans K, Gadrey JY, et al. A Menin-MLL inhibitor induces specific chromatin changes and eradicates disease in models of MLL-rearranged leukemia. *Cancer Cell.* 2019;36:660-73.e11.



**Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa):** No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.