

## PREMIO BERNARDINO RIVADAVIA

### EL MICROAMBIENTE TUMORAL PROMUEVE LA RESISTENCIA AL VENETOCLAX EN LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÓNICA: BASES BIOLÓGICAS PARA UNA TERAPIA COMBINADA

Finalizado: 26-04-2018

Esteban Enrique Elías<sup>\*1</sup>, Horacio Fernández-Grecco<sup>#,3</sup>, Raimundo Fernando Bezares<sup>&,4</sup>, María del Rosario Custidiano<sup>#,5</sup>, Gonzalo Martín Garate<sup>&,6</sup>, Mercedes Borge<sup>+,1,2</sup>, Mirta Giordano<sup>δ,1,2</sup> y Romina Gamberale<sup>α,1,2</sup>

\*Becario Doctoral de CONICET,

#Médico hematólogo, &Jefe del servicio de Hematología,

+Investigador asistente CONICET,

δInvestigador principal CONICET y Directora del Lab. de Inmunología oncológica del IMEX-CONICET-ANM, αInvestigador independiente CONICET y co-directora del Lab. de Inmunología Oncológica del IMEX-CONICET-ANM.

Contacto: Esteban Enrique Elías; estebrodas@hotmail.com

Instituciones participantes:

<sup>1</sup>Laboratorio de Inmunología Oncológica, Instituto de Medicina Experimental (IMEX)- CONICET-Academia Nacional de Medicina (ANM), Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Sanatorio Municipal Dr. Julio Méndez, Buenos Aires, Argentina.

<sup>4</sup>Hospital General de Agudos Dr. Teodoro Álvarez, Buenos Aires, Argentina.

<sup>5</sup>Instituto Alexander Fleming, Buenos Aires, Argentina.

<sup>6</sup>Hospital Alemán, Buenos Aires, Argentina.

Institución donde se realizó el trabajo: IMEX-CONICET-ANM

## Resumen

La leucemia linfática crónica (LLC) es una enfermedad incurable y se caracteriza por la acumulación clonal de linfocitos B maduros en sangre periférica y órganos linfoides. Las células leucémicas sobreviven, se activan y proliferan en los tejidos linfoides por percibir señales a través de su receptor antigénico (BCR) y por contactar con linfocitos T activados, células estromales y mieloides. Es por eso que la terapia con inhibidores de las tirosinas quinasas del BCR (BCR-KI) resulta tan exitosa ya que moviliza a las células leucémicas de los órganos linfoides hacia

la circulación. Si bien estos inhibidores no curan la LLC, el clon leucémico en circulación, lejos de los nichos de supervivencia, es más susceptible al tratamiento con otros agentes terapéuticos, entre ellos, los anticuerpos monoclonales antiCD20, como el rituximab y/o el inhibidor de BCL-2, llamado venetoclax o ABT-199.

Venetoclax mostró resultados muy alentadores en ensayos clínicos y fue aprobado en 2016 en EE.UU. y en Argentina como monodroga, a pesar de lo cual la LLC hoy continúa siendo una enfermedad incurable. Por todo esto, el objetivo general del trabajo fue la búsqueda racional de una combinación de agentes terapéuticos que logren mejorar el tratamiento actual de los pacientes con leucemia linfática crónica, centrándonos en el venetoclax, los BCR-KIs y los anticuerpos anti-CD20. Para ello, primero estudiamos el impacto del tratamiento in vitro con venetoclax en la supervivencia del clon leucémico, los linfocitos T, las células NK y los monocitos de los pacientes con LLC. Encontramos que las células LLC son altamente sensibles a la droga en comparación al resto de las subpoblaciones. Asimismo, venetoclax no modificó sustancialmente la capacidad de activación de los linfocitos T. Luego determinamos que las señales brindadas por los linfocitos T autólogos activados activaba al clon leucémico, incrementando la expresión de moléculas anti-apoptóticas como MCL-1 y BCL-XL, las cuales no son blanco del venetoclax, por lo que se favorecía la resistencia del clon leucémico a la droga. Nuestros hallazgos alientan a la combinación de la droga con el BCR-KI GS-9973 ya que fue capaz de revertir la resistencia al venetoclax inducida por los linfocitos T activados. Por último, estudiamos el efecto in vitro del venetoclax y los BCR-KIs en la fagocitosis de células leucémicas recubiertas con rituximab. Demostramos que venetoclax actuando sobre el clon leucémico incrementa su fagocitosis posiblemente porque induce la exposición de fosfatidilserina y otras señales que favorecen su reconocimiento e internalización por los macrófagos. Nuestro grupo ya había trabajado con BCR-KI y fagocitosis demostrando que tanto ibrutinib como GS-9973 reducían la fagocitosis a través de los FcγR de los macrófagos, dificultando la fagocitosis de las células LLC recubiertas con rituximab<sup>1,2</sup>, sin embargo venetoclax continuó siendo capaz de incrementar la fagocitosis de las células LLC opsonizadas, aún en presencia de GS-9973.

En conclusión, la generación de resistencia in vitro al venetoclax inducida por los linfocitos T activados sugiere que las células leucémicas presentes en los nichos de supervivencia no serán eficientemente eliminadas por venetoclax como monodroga. Nuestros resultados alientan al empleo de venetoclax en combinación con GS-9973, el cual fue capaz de revertir la resistencia de las LLC inducida por el microambiente tumoral. Además la combinación de estos dos agentes con anticuerpos anti-CD20 sería también beneficiosa para los pacientes ya que venetoclax fue capaz de incrementar la fagocitosis de las LLC opsonizadas con rituximab aún en presencia de GS-9973.