

MUTACIONS AL GEN FLT3 I EL SEU ESTUDI EN LEUCÈMIA MIELOIDE AGUDA (LMA)

La diferenciació i el creixement de les cèl·lules hematopoètiques és el resultat de la interacció entre diversos factors de creixement i els seus respectius receptors. Entre aquest últims es troba el receptor *fms like 3* (FLT3), que codifica per una proteïna que pertany a la família de receptors de la Tirosina Cinasa de classe III. Aquest receptor té un paper fonamental en la proliferació i supervivència cel·lular.

El receptor FLT 3 es troba present en els precursors hematopoètics normals del moll de l'os, on participa en el desenvolupament dels progenitors de limfòcits B, de cèl·lules dendrítiques i de NK (Natural Killer) , entre d'altres.

Al igual que altres receptors tirosina cinasa de classe III, FLT 3 està compost per cinc dominis extracel·lulars immunoglobulina like:

Un domini trans membrana, un domini juxtamembrana, dos dominis tirosina cinasa intracel·lulars i un domini C- terminal intracel·lular (veure figura 1) [1].

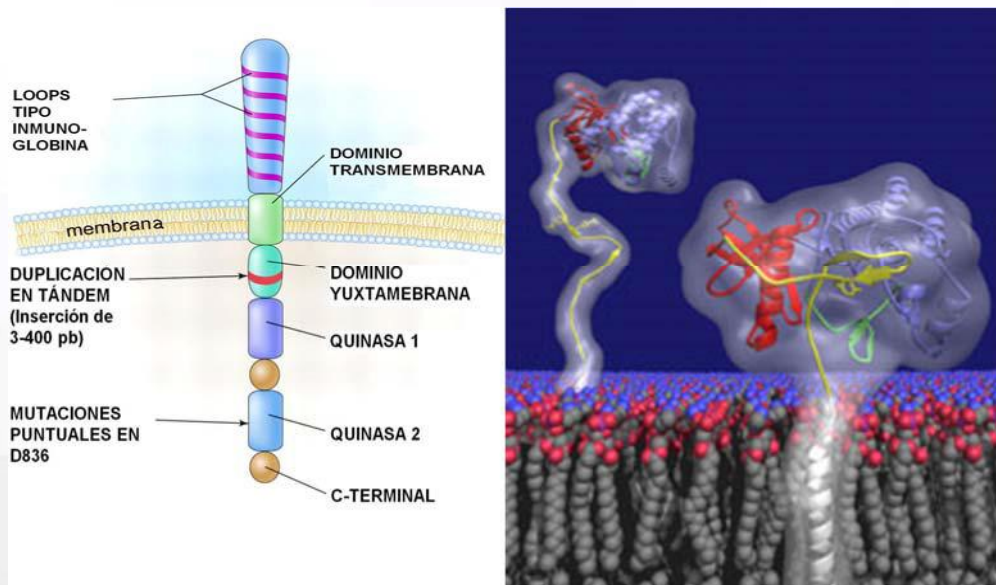


Figura 1. (A) Estructura de la proteïna FLT3 (adaptada de Kenneth Probst. From Litzow, MR. Blood 106:3331, 2005). (B) Models proposats per les estructures tridimensionals de les formes "wild-type" o inactiva (dreta) i mutada o activa (esquerra) (adaptada de Molecular Cell).

Catlab Informa

El receptor FLT 3 es presenta en forma monomèrica i no fosforilada i s'activa quan s'uneix amb el seu lligand, que és una proteïna transmembrana. Aquest lligand indueix la dimerització d'aquest receptor i l'activació dels seus dominis cinasa, la seva auto-fosforilació i la posterior fosforilació d'una sèrie de proteïnes intracel·lulars (SHC, GRB2, SOS ...). Aquest fet promou la cascada de fosforilació de diversos mediadors, que són transportats dins del nucli cel·lular, on regulen la transcripció de diversos gens que intervenen en la proliferació, diferenciació i apoptosi dels precursors hematopoètics (veure figura 2)

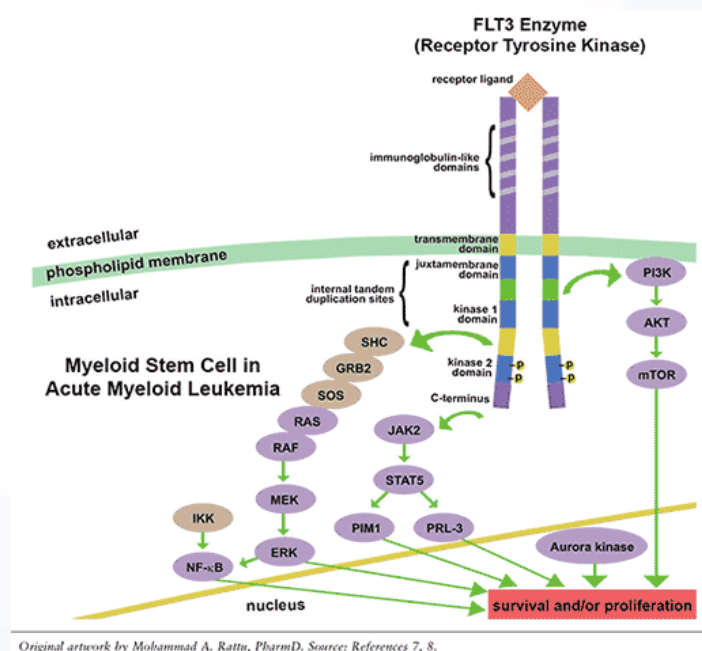


Figure 1. Schematic representation of the FMS-like tyrosine kinase 3 (FLT3) enzyme and downstream signaling pathways.

Figura 2: Representació esquemàtica de l'enzim FMS-like tirosina cinasa 3 (FLT3) i les vies de senyalització en cascada. Mohammad A. Rattu, PharmD. The Utility of FLT3 Inhibitors in Acute Myeloid Leukemia .US Pharm.2014;39(11)(Specialty&Oncology suppl):8-11.

El gen que codifica per la proteïna FLT3 es troba localitzat en el cromosoma 13 q12. Conté 24 exons amb una mida aproximada de 100 kb i codifica per una proteïna de 993 aminoàcids [2]. Existeixen evidències clíniques i experimentals que indiquen que FLT3 és un protooncogen amb capacitat de perllongar la vida i augmentar la capacitat proliferativa de blastos leucèmics. Les mutacions en aquest gen es presenten amb una elevada freqüència, en 1/3 dels pacients amb LMA. [3].

Catlab Informa

S'han identificat dos tipus principals de mutacions que condueixen a l'activació constitutiva, es a dir, en absència de lligand, del receptor de FLT3. En ambdues mutacions es perd la funció autoinhibitòria de fosforilació.

Aquestes mutacions son:

Duplicacions internes en tàndem (FLT3/ITD) en el domini jxtamembrana del receptor, i mutacions puntuals en el bucle d'activació (lloc d'activació del domini tirosina cinasa citoplasmàtic) (FLT/TKD) (4).

La mutació més freqüent és la duplicació interna en tàndem (FLT3-ITD) que es produeix en el domini jxtamembrana del receptor, codificat pels exons 14 i 15 del gen FLT3. Aquestes mutacions resulten de la duplicació en tàndem d'un nombre variable de parell de bases (3 a > 400 pb) de la seqüència de FLT3, mantenint el marc de lectura, donant com a resultat una proteïna més llarga que la normal. El domini jxtamembrana de FLT3 té una funció inhibidòria, reguladora de la auto-fosforilació de residus tirosina cinasa, per tant la mutació ITD provoca una activació constitutiva del receptor FLT3 .Aquestes mutacions es presenten en un 20 % de les LMA, 5% SMD i 3% LLA [4,5].

Les mutacions FLT3/TKD són mutacions puntuals en el residu D835 del domini TKD, ubicat a l'exó 20, que generen substitució de l'àcid aspàrtic 835 (D835) per residus Tirosina i Histidina principalment, i menys freqüentment per Valina. Aquests tipus de mutació puntual també provoquen que el bucle d'activació adquireixi la conformació activada en absència del lligand. La incidència d'aquestes mutacions és aproximadament 7 % de LMA del adult, 3% SMD i 2.8 % LLA [6].

Ambdós tipus de mutacions (FLT3-ITD i D835) semblen produir-se independentment però no exclusivament una de l'altra, i s'han donat casos en que els dos tipus de mutacions coexisteixen. Diversos estudis també relacionen les mutacions FLT3-TKD com un fenomen d'aparició de resistència posterior al tractament dels pacients amb FLT3-ITD mutat , amb inhibidors de la Tirosina Cinasa (TKIs) [6]

La presència de mutacions en FLT3 /ITD és un factor de mal pronòstic en LMA, i està associada a progressió clínica i recaiguda, mentre que les mutacions puntuals en el domini Tirosina Cinasa no semblen tenir, en el moment actual ,cap impacte en el pronòstic, tot i que existeix algun estudi que demostra que l'alteració D835 es correlaciona amb una pitjor supervivència lliure de malaltia. [7,8].

Catlab Informa

Tractament de les mutacions FLT3

La primera generació d'inhibidors de tirosina Cinasa (ITK) utilitzats en la teràpia de pacients FLT3 mutats, bé en monoteràpia, o en combinació amb quimioteràpia convencional, ha resultat ser poc prometedora degut tant a la toxicitat, com a una farmacocinètica subòptima, un efecte inespecífic i una inhibició insuficient de la diana [9], que freqüentment no permet un trasplantament.

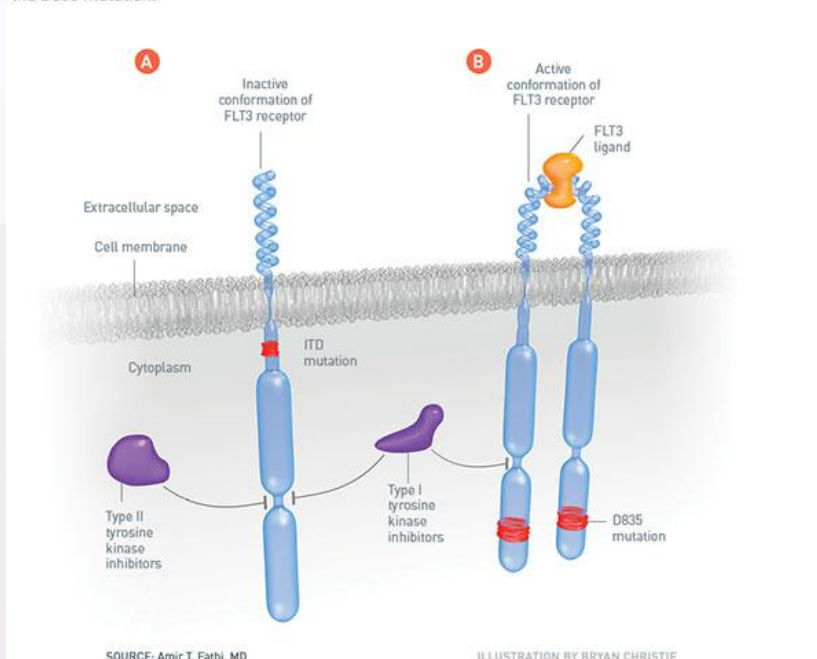
Recentment s'han presentat assajos clínics de nous inhibidors de FLT3 més potents i selectius, que aconseguixen una inhibició més sostinguda de la seva diana. Entre aquests, n'hi ha no només que semblen ser potents inhibidors de FLT3/ITD, si no que també mostren activitat contra FLT3/TKD, aconseguint remissió completa d'un subgrup de pacients FLT3/TKD mutats.

Hi ha en curs diferents assajos clínics sobre la utilització d'aquests fàrmacs com a monoteràpia o combinats amb quimioteràpia d'inducció, amb agents hipometilants i amb teràpia de manteniment (9)

En aquest context, tot i que aquest tractaments no estan disponibles en els protocols de rutina, probablement ho estaran en un futur immediat, pel que té interès l'estudi de l'estat mutacional dels pacients respecte FLT3, tan per detectar les ITD, com per a detectar les mutacions puntuals en TKD.

Binding of mutated FLT3 receptors by type I and type II TKIs

(A) Type II inhibitors are thought to bind the inactive conformation of the FLT3 tyrosine kinase receptor and in this manner potentially inhibit the ITD-altered FLT3 tyrosine kinase. But they have limited activity against secondary point mutations such as D835, because (B) D835 point mutations are thought to destabilize the inactive conformation of the FLT3 kinase in favor of the active conformation. Therefore, type I inhibitors, which can also bind the active conformation of the enzyme, can effectively inhibit the FLT3 kinase altered by the D835 mutation.



Catlab Informa

Figura 3: Mecanisme d'actuació dels inhibidors tirosina cinasa. (Amir T. Fathi, MD and Seth A. Wander, MD, PhD. Using FLT3 Inhibitors to Treat Acute Myeloid Leukemia .massgeneral.org/cancer)

Bibliografia

- [1] Mark R. Litzow .More flitting about FLT3 , Blood 2005 106:3331-3332
- [2] Rosnet O, Matteï M, Marchetto S, Birnbaum D. *Isolation and chromosomal localization of a novel FMS-like tyrosine kinase gene.* Genomics. 1991; 2: 380-385
- [3] Small D, MD, PhD. *Targeting FLT3 for treatment of leukemia.* Seminars in hematology. 2008; 45:17-21
- [4] Guilliland D. & Griffin J. *The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia.* Blood. 2002; 100: 1532-1542
- [5] Abu-Duhier F, Goodeve A, Wilson G, Care R, Peake I & Reilly J. *Identification of novel FLT-3 Asp835 mutations in adult acute myeloid leukaemia.* British Journal of Haematology. 2001; 113: 983–988
- [6] Yamamoto Y1, Kiyoi H, Nakano Y, Suzuki R, Kodera Y, Miyawaki S, Asou N, Kuriyama K, Yagasaki F, Shimazaki C, Akiyama H, Saito K, Nishimura M, Motoji T, Shinagawa K, Takeshita A, Saito H, Ueda R, Ohno R, Naoe T. *Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies.* Blood. 2001;97(8):2434-9.

M^a Antònia Garrido

Citogenètica

CATLAB

Tel. 93.748.56.00 ext 35018

agarrido@catlab.cat

www.catlab.cat