



Integrazione dei nuovi farmaci nel programma trapiantologico della leucemia acuta mieloide: un caso clinico



**NUOVI FARMACI
E TRAPIANTO**

Afro Basaldella, Udine 1912-Zurigo 1976

D.Pastore
Ematologia con Trapianto- Bari

Recurrent molecular abnormalities in AML

Gene	Overall prevalence	Common in	Overall impact on prognosis
NMP1	30-35%	NK(50%)	↑
FLT3-ITD	25%	NK(40%);t(6;9)(80%)	↓
FLT3-TDK	7%		↓ ?
CEBPA	6%	NK(10-15%)	↑ Biallelic
KIT	3%	CBF-leukemias(5%)	↓
DNMT3A	15-25%	NK(25-25%)	↓
IDH1-2	7-15%	NK(25-25%)	??
TET2	8-12%	sAML	↓

Agents in Clinical Development for the treatment of AML

Drug class and action		Agents
Epigenetic Modifiers	Hypomethylating agents	Azacitidine/Decitabine
	IDH1 inhibitor IDH2 inhibitor	<ul style="list-style-type: none"> ➤ AG120 ➤ AG121
	Histone deacetylase inhibitors	Vorinostat/Panobinostat/Valproic acid
Tyrosine kinase inhibitors	FLT3 inhibitors	First-generation(Midostaurin/Sunitinb/Sorafenib) Second-generation(Quizartinib/Crenolanib)
	Kit inhibitors	Dasatinib/Midostaurin
Cell-cycle and signaling inhibitors	mTor inhibitors	Everolimus/Temsirolimus
Antibody-based therapy	Bispecific antibodies Stem-cell targeting Chymeric antigen receptor	<ul style="list-style-type: none"> ➤ AMG330(Anti-CD33 and CD3;bispecific T-cell engager) ➤ Anti-CD123 antibody ➤ CART-123(anti CD123 chimeric antigen receptor T cells)
Other agents	Immunomodulatory drug CXCR4 antagonist	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Lenalidomide ➤ Plerixafor

Agents in Clinical Development for the treatment of AML

Drug class and action		Agents
Epigenetic Modifiers	Hypomethylating agents	Azacitidine/Decitabine
	IDH1 inhibitor(AG120) IDH2 inhibitor(AG121)	➤ AG120 ➤ AG121
	Histone deacetylase inhibitors	Vorinostat/Panobinostat/Valproic acid
<p>Yates JW et al. Cytosine arabinoside (NSC-63878) and daunorubicin (NSC-83142) therapy in acute nonlymphocytic leukemia. <i>Cancer Chemother Rep. 1973;57(4):485-488</i></p>		
	Chymeric antigen receptor	➤ CART-123(anti CD123 chimeric antigen receptor T cells)
Other agents	Immunomodulatory drug CXCR4 antagonist	➤ Lenalidomide ➤ Plerixafor

Febbraio 2015

- Donna, 38 aa
- Astenia, febbricola ed ecchimosi

Es. emocromocitometrico

GB $38 \times 10^9/L$ Hb 8,2 g/dL Plt $23 \times 10^9/L$

Febbraio 2015

- Donna, 38 aa
- Astenia, febbriicola ed ecchimosi
- Non familiarità per patologie rilevanti
- Non fumo
- Riferita diatesi allergica (cipresso)
- Non assume pillola estroprogestinica
- Non interventi chirurgici
- Due gravidanze

Febbraio 2015

- Es. microscopico sangue periferico: Blasti 55%
- Aspirato Midollare : Ricchezza+++ Blasti 68%
- Immunofenotipo: CD34+/CD13+/CD33+/CD11b+
CD14 neg/CD64 neg
- Cariotipo: 46, XX[20]
- Valutazione molecolare: *FLT3*-ITD+ (allelic ratio 0.8)
NPM^{wt}
CEBPA^{wt}
- LEUCEMIA ACUTA MIELOIDE CON MATURAZIONE

Febbraio 2015

Comparsa di **astenia,febbricola ed ecchimosi**
(in corso di intenso stress psico-fisico)

Es. emocromocitometrico

GB $38 \times 10^9/L$ Hb 8,2 g/dL Plt $23 \times 10^9/L$

Creatinina 0,68mg/dl Azotemia 50 mg/dl LDH 630 U/L

Bilirubina totale 0.8 mg/dl GOT 22 UI/L GPT 33 UI/L

RX Torace : Nella norma

Eco Addome: Nella norma

Ecocardiogramma: nella norma. FEV 65%

Febbraio 2015

➤ Protocollo GIMEMA LAM1310

- Low-risk: CBF+/c-Kit-, NPM+/FLT3-ITD-
- Intermediate risk: all others
- **High risk: adverse K, FLT3-ITD+**

Stratificazione rischio NCCN 2015

Rischio	Citogenetica	Anomalie molecolari
Favorevole	CBF: inv16 o t(16;16) o t(8;21) o t(15;17)	NPM1 in assenza di FLT3 CEPBA biallelica
Intermedio	Citogenetica normale +8	t(8;21) o inv16 o t(16;16) con c-Kit
Sfavorevole	C. complesso C. monosomico -5,5q-, -7,7q- 11q23	FLT3-ITD

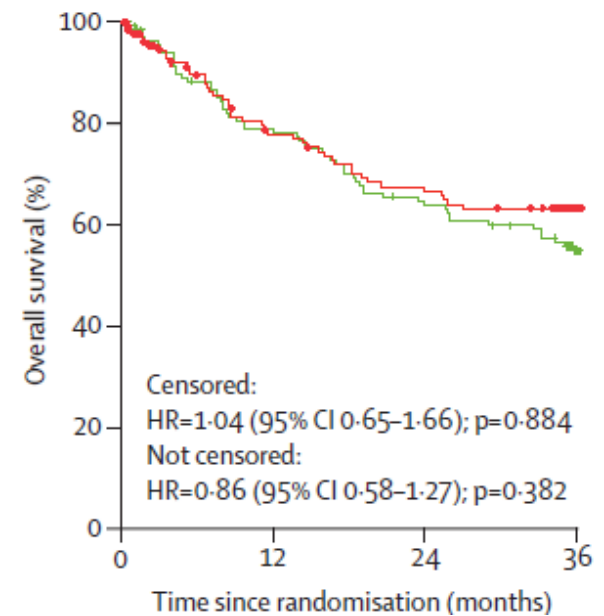
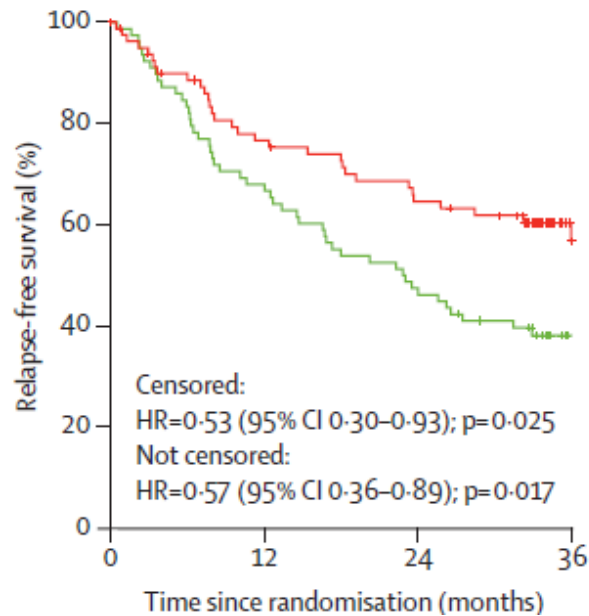
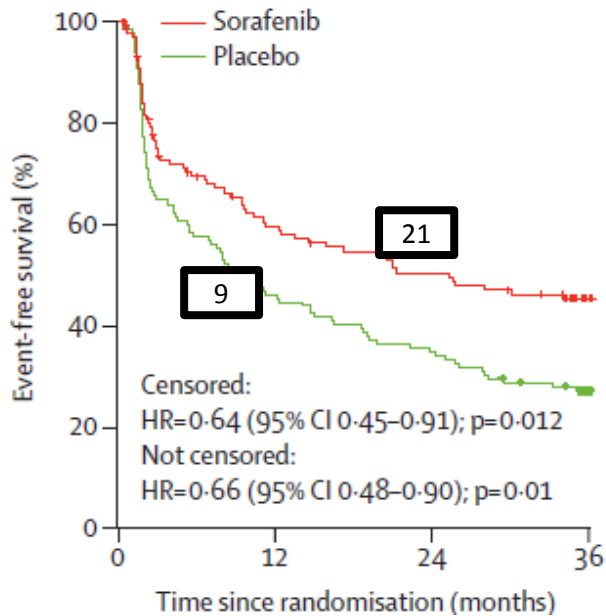
Chemioterapia di induzione LAM *FLT3*-ITD+

Fernandez HF, 2009	DNR 45 vs DNR 90	Migliore RC e OS No nelle <i>FLT3</i> +
Gardin C, 2013	IDA vs HD DNR	IDA > DNR in RC pazienti giovani No differenze OS e nelle <i>FLT3</i> +
Willemze R, (EORTC-AML12), 2014	ARA-C HD vs ARA-C SD	Migliore OS
Burnett A, 2015	DNR 60 vs DNR 90	DNR 90 → Vantaggio no statisticamente significativo 12 mesi nelle <i>FLT3</i> +
Stone R, (RATIFY) 2015	DNR+ARA-C+Mido vs DNR+ARA-C+P	No vantaggio RC Vantaggio EFS e OS

SORAML trial

Studio randomizzato, doppio-cieco, fase II

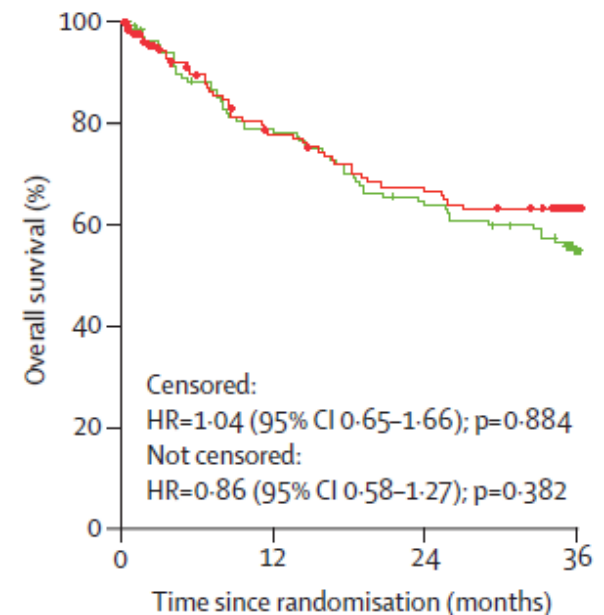
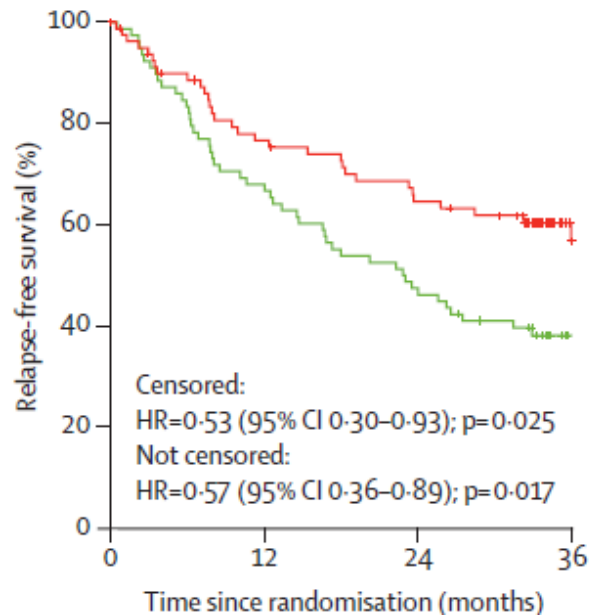
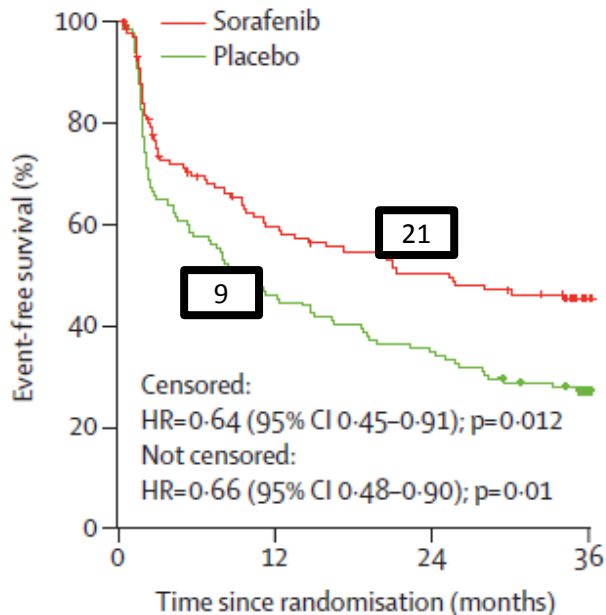
DNR+ARA-C+Sorafenib vs DNR+ARA-C+Placebo



SORAML trial

Studio randomizzato, doppio-cieco, fase II

DNR+ARA-C+Sorafenib vs DNR+ARA-C+Placebo



Maggiore tossicità grado III nel braccio sorafenib

SORAML trial

Studio randomizzato, doppio-cieco, fase II

DNR+ARA-C+Sorafenib vs DNR+ARA-C+Placebo

LAM *FLT3*-ITD +

	Sorafenib	Placebo
EFS (mediana)	5 mesi	6 mesi
RFS(mediana)	18 mesi	6 mesi
OS(mediana)	NR	19 mesi

Febbraio 2015

➤ Protocollo **GIMEMA LAM1310**

➤ DNR 50 mg /m² 1°-3°-5°

ARA-C 100 mg/m² 1°-----→10°

VP16 50 mg/m² 1°---→5°

➤ Batteriemia da *S. haemolyticus* (+14 gg)

➤ Tossicità WHO (Mucosite III, epatica I,
gastrointestinale II)

➤ Tipizzazione HLA: 1 fratello (35 aa) HLA compatibile

Febbraio 2015

- Protocollo GIMEMA LAM1310
- DNR 50 mg /m² 1°-3°-5°
ARA-C 100 mg/m² 1°-----→10°
VP16 50 mg/m² 1°---→5°
- Batteriemia da *S. haemolyticus* (+14 gg)
- Tossicità WHO (Mucosite II, epatica I, gastrointestinale II)
- +27 gg GB 1.8 x10⁹/L Hb 8.3 gr/dl Plt 34 x10⁹/L
Asp. Mi: **Blasti 45%**
S. periferico: Blasti 6%

Scoring systems LAM recidiva/refrattaria

European prognostic index

Fattori	
Durata RC1	
> 18 mesi	0
7-18 mesi	1
< 6 mesi	2
Citogenetica	
inv 16	0
t(8;21)	1
Altre	2
Età alla recidiva	
< 35	0
36-45	1
> 45	2
Trapianto	
No	0
SI	2

GOELAMS score

Fattori	
Durata RC	
< 12 mesi	0
> 12 mesi	1
FLT3-ITD	
Negativo	0
Positivo	1
Citogenetica	
Favor/Inter	0
Sfavorevole	1

Scoring systems LAM recidiva/refrattaria

European prognostic index

Fattori	
Durata RC1	
> 18 mesi	0
7-18 mesi	1

Gruppi prognostici:

- Favorevole (punti 1-6) OS 70 % a 1 aa
- Intermedio (punti 7-9) OS 40% a 1 aa
- Sfavorevole (punti 10-14) OS 16 % 1 aa

GOELAMS score

Fattori	
Durata RC	
< 12 mesi	0
> 12 mesi	1

Gruppi prognostici:

- Favorevole (punti 0) OS 58% a 2 aa
- Intermedio (punti 1) OS 37% a 2 aa
- Sfavorevole (punti 2-3) OS 12 % a 2 aa

Marzo 2015

➤ Protocollo GIMEMA LAM1310

➤ Terapia II linea:

FLA-IDA Fluda	30 mg/m ²	1°-----→5°
Citarabina	2 gr/m ²	1°-----→5°
Ida	8 mg/m ²	1°→3°

➤ Batteriemia da *K. pneumoniae* sensibile a carbapenemici
(+16 gg)

➤ Tossicità WHO (Mucosite III)

➤ +31 gg GB 3.8 x10⁹/L Hb 10.5 gr/dl Plt 88 x10⁹/L Neut. 2.9 x 10⁹/L
Asp. Mi: Blasti 5 %--→RCi
S. periferico: Blasti 0%
FLT3-ITD + (allelic ratio 0.3)

Clofarabine salvage therapy before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with relapsed or refractory AML: results of the BRIDGE trial

84 pazienti

Età mediana	61 (40-75)
Refrattarie/Recidive	49% / 51%
ELN rischio citogenetico/molecolare	Intermedio II 18% Sfavorevole 24%
<i>FLT 3</i> positive	15%

Clofarabina 30 mg/m² + Citarabina 1 gr m² days 1-5

**80% Riduzione blastosi
midollare**

**HSCT rate 67%
59% Refrattarie
74% Recidive**

**HSCT (Clofa+ Mel)
Mediana Trapianto 34
giorni**

Clofarabine salvage therapy before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with relapsed or refractory AML: results of the BRIDGE trial

84 pazienti

Età mediana	61 (40-75)
Refrattarie/Recidive	49% / 51%
ELN rischio citogenetico/molecolare	Intermedio II 18% Sfavorevole 24%
<i>FLT 3</i> positive	15%

Clofarabina 30 mg/m² + Citarabina 1 gr m² days 1-5

**80% Riduzione blastosi
midollare**

**59% Refrattarie
74% Recidive**

**HSCT (Clofa+ Mel)
Mediana Trapianto 34
giorni**

Clofarabine salvage therapy before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with relapsed or refractory AML: results of the BRIDGE trial

84 pazienti

Età mediana	61 (40-75)
Refrattarie/Recidive	49% / 51%
ELN rischio citogenetico/molecolare	Intermedio II 18% Sfavorevole 24%
<i>FLT 3</i> positive	15%

Clofarabina 30 mg/m² + Citarabina 1 gr m² days 1-5

**80% Riduzione blastosi
midollare**

**HSCT rate 67%
59% Refrattarie
74% Recidive**

HSCT (Clofa+ Mel)



Marzo 2015

➤ Raccolta CPS fratello HLA compatibile

0 pos/CMV pos/EBV pos

➤ Ricevente 0 pos/CMV pos/ EBV pos

➤ TNC 68×10^9 CD34 $5,1 \times 10^6/\text{kg}$ CD3 $228 \times 10^6/\text{kg}$

➤ CD3/T regs_(CD4+/CD25high/FoxP3+) ratio = 22 (low)

Marzo 2015

➤ Raccolta CPS fratello HLA compatibile

0 pos/CMV pos/EBV pos

➤ Ricevente 0 pos/CMV pos/EBV pos

➤ TNC 68×10^9 CD34 $5,1 \times 10^6/\text{kg}$ CD3 $228 \times 10^6/\text{kg}$

➤ CD3/T regs_(CD4+/CD25high/FoxP3+) ratio = 22 (low)

Protocollo T regs

CD3/effector T regs (CD4+/CD25high/CD39+/DR+/CD127 low/CD45RAneg)

Aprile 2015

- Allotrapianto CSP (EBMT risk score=1
HCT-CI=0
Karnofsky score >90%
- Regime di condizionamento:
Busulfano (12.8 mg/kg)+ Ciclofosfamide (120 mg/kg)
- Profilassi GvHD: CSA+ MTX
- Attecchimento GN + 11 gg, Plt +14 gg

Maggio 2015

➤ + 30 gg Asp. Mi: Blasti 2%

Chimerismo STR: Midollo donor 98%

S. periferico donor 100%

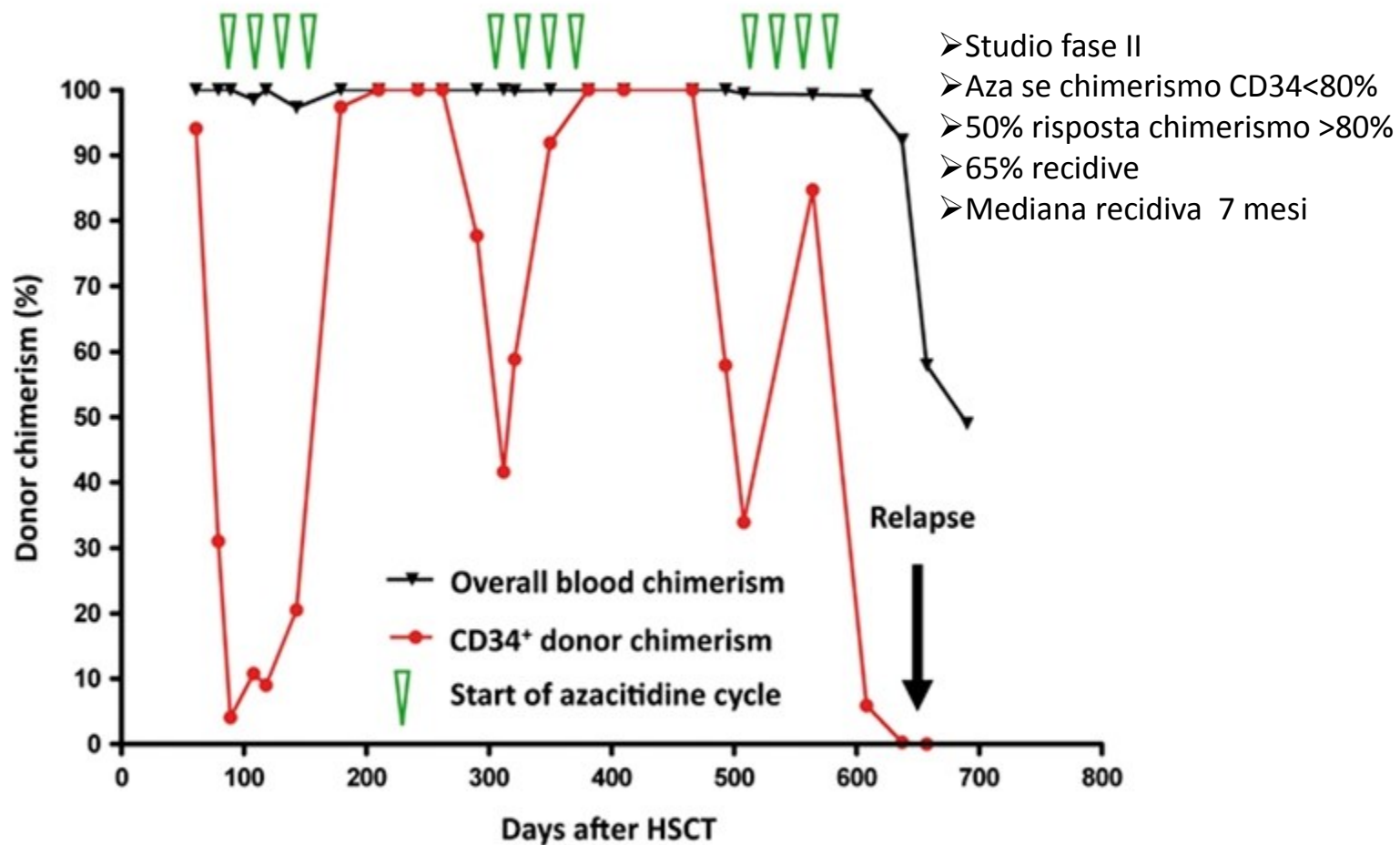
FLT3-ITD + allelic ratio 0.2

➤ Immunoricostruzione: CD4+ 88 mcl CD8+ 360 mcl

NK+ 180 mcl CD19+ 28 mcl

➤ aGvHD grado I (cute 1, fegato 0, intestino 0)

CD34+ chimerism to guide post-transplant azacitidine



Azacitidina dopo allogenico (RICAZA TRIAL)

- LAM (40% citogenetica sfavorevole) → RIT
- AZA s.c. in “**profilassi**” 36 mg/m² dal g. + 42

- Azacitidina-→ aumento espressione Ag sui blasti leucemici
- AZA-→aumenta citotossicità T-cell CD8+
- AZA→aumento cellule T regolatorie

GvL senza GvHD???

Azacitidina dopo allogenico (RICAZA TRIAL)

- LAM (40% citogenetica sfavorevole) → RIT
- AZA s.c. in “**profilassi**” 36 mg/m² dal g. + 42

Azacitidine after allo-SCT: the good without the bad?

Mothy M et al Blood 2012;19:3199

Luglio 2015

➤ + 100 gg Asp. Mi: Blasti 10 %

Chimerismo STR: Midollo donor 88 %

S. periferico donor 90%

FLT3-ITD + allelic ratio 0.4

➤ Immunoricostruzione: CD4 190 mcl CD8 598 mcl
 NK 230 mcl CD19 88 mcl

➤ aGvHD I grado (cute)

Luglio 2015

➤ + 100 gg Asp. Mi: Blasti 10 %

Chimerismo STR: Midollo donor 90 %

S. periferico donor 95%

FLT3-ITD + allelic ratio 0.4

➤ SORAFENIB:

Anti Flt3
Anti VEGF
Anti BRAFF
Anti PDFGR
Anti c-Kit

400 mg x 2 die

Luglio 2015

➤ + 100 gg Asp. Mi: Blasti 10 %

Chimerismo STR: Midollo donor 90 %

S. periferico donor 95%

FLT3-ITD + allelic ratio 0.4

➤ SORAFENIB:

Anti Flt3
Anti VEGF
Anti BRAFF
Anti PDFGR
Anti c-Kit

400 mg x 2 die

➤ 10 giorni dopo → rash cutaneo 50-60 %

Luglio 2015

➤ + 100 gg Asp. Mi: Blasti 10 %

Chimerismo STR: Midollo donor 90 %

S. periferico donor 95%

FLT3-ITD + allelic ratio 0.4

➤ SORAFENIB:

Anti Flt3
Anti VEGF
Anti BRAFF
Anti PDFGR
Anti c-Kit

➤ 10 giorni dopo → rash cutaneo 50-60 % BSA

Biopsia cutanea: apoptosi a livello delle papille dermo-epidermiche, discheratosi, linfociti satelliti adiacenti a cheratinociti discheratosici. Quadro compatibile con GvHD cutanea
→ PRD 1 mg/kg die

Ottobre 2015

➤ + 180 gg Asp. Mi: Blasti 0 %

Chimerismo STR: Midollo donor 100 %

S. periferico donor 100 %

FLT3-ITD negativo

➤ cGvHD moderata

(PS 0; cute 1; bocca 1; fegato 0; intestino 0;

polmone 0; occhi 1; articolazioni 0; genitali 0)

➤ SORAFENIB 400 mg die

Sorafenib post-allogenico

Sharma M, 2011	16 pts recidiva	Mediana Blasti Periferico 65% No risposte
Metzelder SK, 2012	65 pts in recidiva (45 % trapiantati)	No incremento GvHD Migliore controllo malattia nei trapiantati
Chen B, 2014	22 pts “Mantenimento” ➤ RC ➤ No GvHD ➤ Chimerismo donor >70%	No incremento GvHD No tossicità 400 mg più tollerati
De Freitas T, 2015	13 pts recidiva	ORR 92% GvHD ++ con DLI
Antar A, 2015	6 pts “Mantenimento”	++GvHD cute 6 remissioni molecolari (12 mesi)
Tschan Plessl A, 2015	8 pts recidiva 2 pts “Mantenimento”	Dose 600 mg Effetto sinergico con cGvHD nel controllo malattia

Sorafenib e GvHD/GvL

- Flt3 ligand therapy for recipient of allogeneic bone marrow transplants expands host CD8+ alpha(+) dendritic cells and **reduced experimental acute graft versus host disease**. Teshima T et al. Blood 2002
- Inhibition of FLT3 signaling targets DCs to ameliorate autoimmune disease. Whartenby K et al. Proc Natl Acad Sci 2005
- Expansion of peripherally naturally occurring **T regulatory cells** by Fms-like tyrosine kinase 3 ligand treatment. Swee L et al. Blood 2009
- Flt3 ligand expands CD4+ FoxP3+ **regulatory T cells** in human subjects. Klein O et al European Journal of immunology 2013

Sorafenib e GvHD/GvL

- Flt3 ligand therapy for recipient of allogeneic bone marrow transplants expands host CD8+ alpha(+) dendritic cells and **reduced experimental acute graft versus host disease**. Teshima T et al. Blood 2002
- Inhibition of FLT3 signaling targets DCs to ameliorate autoimmune disease. Whartenby K et al. Proc Natl Acad Sci 2005
- Expansion of peripherally naturally occurring **T regulatory cells** by Fms-like tyrosine kinase 3 ligand treatment. Swee L et al. Blood 2009
- Flt3 ligand expands CD4+ FoxP3+ **regulatory T cells** in human subjects. Klein O et al European Journal of immunology 2013

Treatment with FLT3 inhibitor in patients with FLT3-mutated AML is associated with development of secondary FLT3-TKD mutations

Alvarado Y et al Cancer 2014;120:2142

Azacitidina + Sorafenib

- 43 pts LAM *FLT3*+ recidiva/refrattaria
- GB mediana $8.9 \times 10^9/L$ Blasti Midollo mediana 66%
- AZA 75 mg/m^2 7 gg mese + Sorafenib 800 mg die
- Risposte: Response rate **46%** (16% RC + 27% RCi + 3% RP)

Tossicità:

- Fatigue
- Diarrea
- Rash
- Iperbilirubinemia
- Incremento GOT/GPT

Conclusioni

- Nuovi farmaci in monoterapia??
- Nuovi farmaci in associazione
Induzione → consolidamento → trapianto → post/trapianto
- «Profilassi/Mantenimento» post-allogenico negli alti rischi di recidiva

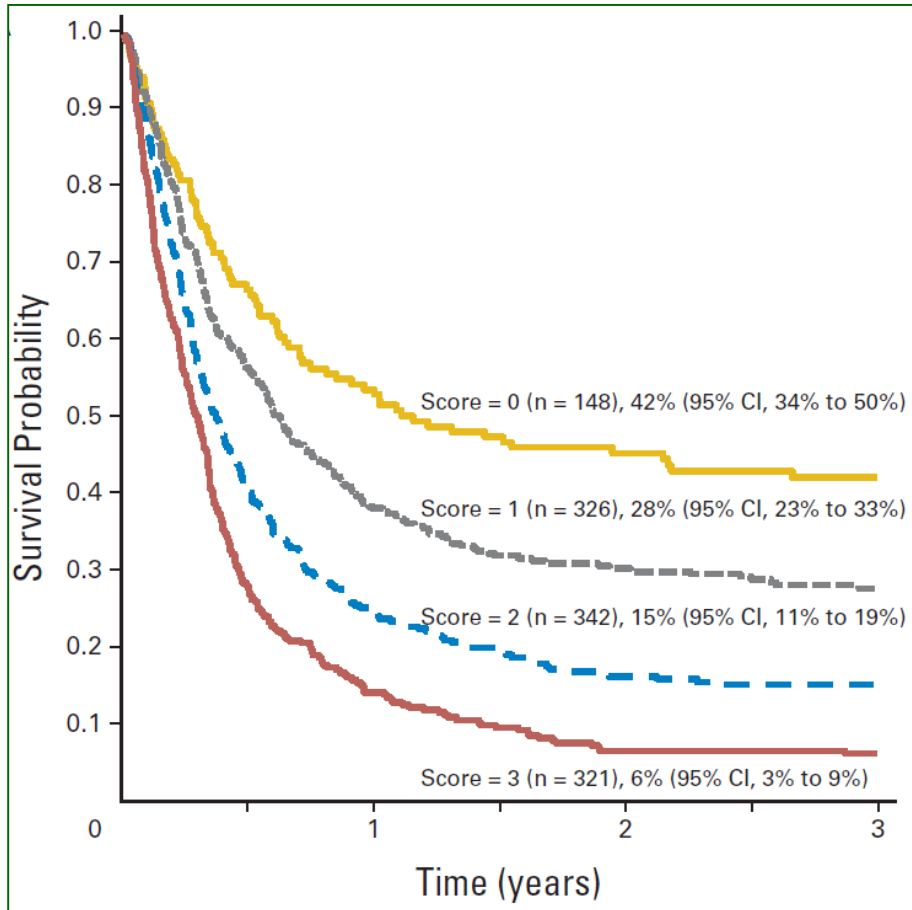
- Attività antileucemica
 - Bassa tossicità
 - No inibizione GvL
- No peggioramento GvHD

- «Pre-emptive» terapia



**Grazie
per l'attenzione**

Rischio allogenico in AML PIF



Fattori prognostici negativi per OS:

- ➔ I RC < 6 mesi
- ➔ Blasti in Pe
- ➔ Donatore no familiare HLA compatibile
- ➔ Karnofsky score < 90 %
- ➔ Citogenetica sfavorevole



Rischio basso (score 0)	42% 3y OS
Rischio alto (score ≥ 3)	6% 3y OS