

# Terapia con nilotinib in un paziente con le mutazioni A380T, P407S e V468A e in risposta non ottimale a imatinib

Caso clinico

Fabio Stagno<sup>1</sup>, Alessandra Cupri<sup>1</sup>, Stefania Stella<sup>2</sup>, Michele Massimino<sup>2</sup>,  
Silvia Rita Vitale<sup>2</sup>, Paolo Vigneri<sup>2</sup>

## Abstract

*Imatinib mesylate (IM) has shown unprecedented effectiveness in the treatment of Chronic Myeloid Leukemia (CML) patients (pts) in the chronic phase of the disease. However, some pts fail to respond or lose their initial response to IM. The European LeukemiaNet (ELN) published recommendations designed to identify patients responding poorly to imatinib. Here we report a case of a suboptimal cytogenetic responder to IM who had a successful response to the second generation tyrosine kinase inhibitor nilotinib (NIL). According to the ELN criteria, CML pts on IM-therapy might show a suboptimal response either because of failure to achieve a CCyR by 12 months of therapy or because of lack of a MMR after 18 months. The prognostic value of these two types of responders might be very different.*

**Keywords:** nilotinib, chronic myeloid leukemia, therapy, tyrosine kinase inhibitors  
*Successful nilotinib therapy in a CML affected patient with A380T, P407S and V468A mutations, and a previous suboptimal cytogenetic response to imatinib*  
*CMI 2010; 4(Suppl. 6): 7-11*

<sup>1</sup> Sezione di Ematologia,  
Dipartimento di Scienze  
Biomediche, Università di  
Catania

<sup>2</sup> Sezione di Patologia  
Generale, Dipartimento  
di Scienze Biomediche,  
Università di Catania

## CASO CLINICO

Un uomo di 47 anni viene sottoposto a diverse indagini di laboratorio per la presenza di febbre e sudorazione profusa. L'esame emocromocitometrico evidenzia le seguenti alterazioni: leucocitosi, piastrinosi e anemia lieve (Tabelle I e II).

L'esame obiettivo evidenzia una marcata splenomegalia (8 cm dall'arcata costale sinistra) con una lieve epatomegalia (2 cm dall'arcata costale destra). Sono invece nei limiti la funzionalità renale ed epatica, mentre il valore di LDH è = 910 U/l (vn = 125-243).

Nel sospetto di una sindrome mieloproliferativa cronica viene eseguito un agoaspirato midollare con indagine citogenetica e molecolare. L'esame morfologico del preparato mostra una marcata ipercellularità, con iperplasia della serie megacariocitaria e granulocitaria, con shift a sinistra del mielogramma; normale la serie eritroide. La ci-

togenetica convenzionale rivela la presenza del cromosoma Ph nel 100% delle metafasi analizzate, senza alterazioni citogenetiche aggiuntive. Le indagini di biologia molecolare in RT-PCR mostrano il riarrangiamento per il gene di fusione p210 (e13a2) con un rapporto di BCR-ABL/ABL % pari a 171,185<sup>15</sup>.

### Perché descriviamo questo caso?

*Perché l'impiego clinico dei criteri ELN sottolinea come i pazienti in risposta clinica di tipo sub-ottimale a imatinib mesilato (IM) possano a loro volta essere stratificati in pazienti sub-ottimali di tipo citogenetico e pazienti sub-ottimali di tipo molecolare. Questi due sottogruppi di pazienti presentano decorsi clinici differenti*

### Disclosure

Supplemento realizzato con il contributo di Novartis S.p.A.

### Corresponding author

Dott. Fabio Stagno  
fsematol@tiscali.it

Parametro	Valore riscontrato	Valori normali
WBC	91.000/mm <sup>3</sup>	3.000-10.000/mm <sup>3</sup>
Hb	11,2 g/dl	12-16 g/dl
Plts	745.000/mm <sup>3</sup>	150.000-400.000/mm <sup>3</sup>

**Tabella I**  
Risultati dell'esame emocromocitometrico

Viene quindi posta diagnosi di leucemia mieloide cronica Ph+ a rischio intermedio secondo Sokal (1,16).

Neutrofilii	58%
Eosinofili	1%
Basofili	1%
Linfociti	7%
Monociti	0%
Metamielociti	17%
Mielociti	9%
Promielociti	5%
Mieloblasti	2%

**Tabella II**  
Formula leucocitaria del paziente

### APPROCCIO TERAPEUTICO E DECORSO CLINICO

Dopo citoriduzione con idrossiurea il paziente inizia una terapia specifica con IM 400 mg/die. Dopo 1 mese di terapia ottiene una remissione ematologica completa; la rivalutazione citogenetica a 3 mesi mostra una riduzione del cromosoma Ph (presente nell'80% delle metafasi analizzate) configurando il raggiungimento di una risposta citogenetica minima. Sul piano molecolare si osserva una riduzione del

rapporto BCR-ABL/ABL % che risulta pari a 75,988<sup>IS</sup>.

Al 6° mese di terapia l'indagine citogenetica evidenzia un'ulteriore riduzione del clone Ph-positivo (25% di metafasi Ph-positive: risposta citogenetica parziale), mentre il rapporto BCR-ABL/ABL % si riduce a 9,015<sup>IS</sup>.

Tuttavia, le rivalutazioni citogenetica e molecolare del 12° mese, pur in presenza di una risposta ematologica completa, rilevano ancora una positività per il cromosoma Ph (23% delle metafasi; risposta citogenetica parziale) e un rapporto BCR-ABL/ABL % pari a 4,505<sup>IS</sup>.

Viene nel contempo avviato lo studio molecolare per la ricerca di mutazioni di BCR-ABL che individua una inserzione/delezione di 35 nucleotidi nella sequenza del dominio tirosin-chinasico dell'oncoproteina e le seguenti sostituzioni aminoacidiche:

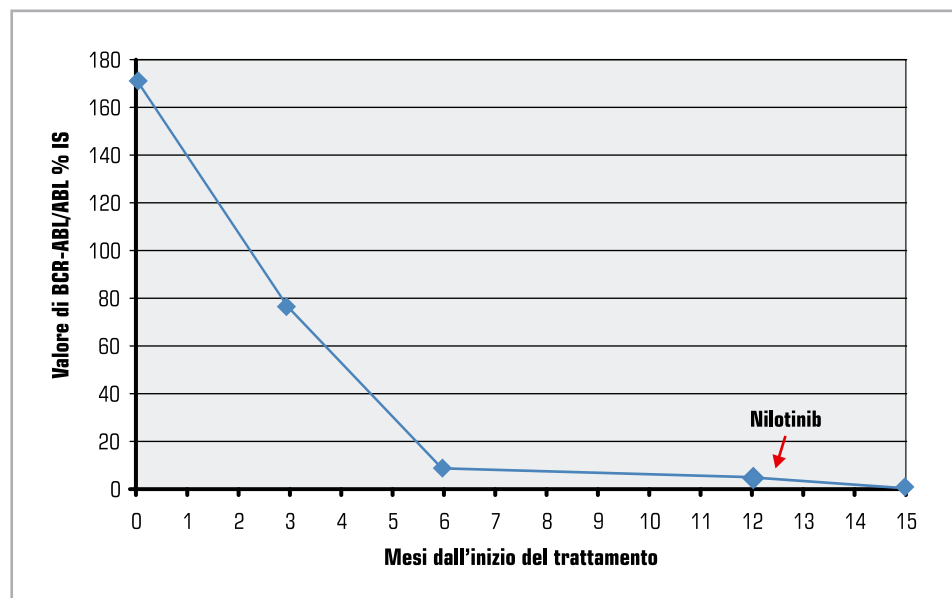
1. A380T
2. P407S
3. V468A

Si tratta di mutazioni mai descritte in precedenza e situate rispettivamente in una regione tra il sito catalitico e l'ansa di attivazione (A380T), e nella regione carbossi-terminale del dominio tirosin-chinasico di BCR-ABL (P407S e V468A).

Il paziente – secondo i criteri ELN – è da considerarsi in risposta clinica sub-ottimale di tipo citogenetico a 12 mesi. Viene pertanto avviato a trattamento di seconda linea con nilotinib 400 mg due volte al giorno.

Al 3° mese di terapia con nilotinib, l'esame citogenetico mostra il raggiungimento di

**Figura 1**  
Andamento dei livelli di trascritto BCR-ABL/ABL dall'inizio della terapia: sebbene una diminuzione del trascritto fosse già stata ottenuta con imatinib, una risposta molecolare maggiore e una risposta citogenetica completa sono state raggiunte solo dopo il passaggio a nilotinib



	Risposta ottimale (non definita precedentemente)	Risposta sub-ottimale	Fallimento	Warnings
Baseline	NA	NA	NA	Alto rischio CCA/Ph <sup>+</sup>
3 mesi	CHR e <b>almeno mCyR</b> (Ph <sup>+</sup> ≤ 65%)	<b>No CyR</b> (Ph <sup>+</sup> > 95%)	<b>&lt; CHR</b>	NA
6 mesi	Almeno PCyR (Ph <sup>+</sup> ≤ 35%)	< PCyR (Ph <sup>+</sup> > 35%)	No CyR (Ph <sup>+</sup> > 95%)	NA
12 mesi	CCyR	PCyR (Ph <sup>+</sup> 1 - 35%)	< PCyR (Ph <sup>+</sup> > 35%)	< MMolR
18 mesi	MMolR	< MMolR	< CCyR	NA
Qualsiasi momento durante la terapia	<b>MMolR stabile o in via di miglioramento</b>	Perdita di MMolR Mutazioni	Perdita di CHR/CCyR Mutazioni <b>CCA in cellule Ph<sup>+</sup></b>	Un aumento nei livelli di trascritto CCA in cellule Ph <sup>-</sup>

una risposta citogenetica completa (assenza di metafasi Ph-positive) e l'ottenimento di una risposta molecolare maggiore (rapporto BCR-ABL/ABL % 0,088<sup>15</sup>).

Attualmente, al follow-up 30 mesi, il paziente prosegue la terapia con nilotinib 400 mg BID e mantiene una risposta molecolare maggiore.

## CONSIDERAZIONI CLINICHE

L'impiego clinico di IM ha prodotto elevate percentuali di risposte ematologiche e citogenetiche complete nonché di risposte molecolari maggiori, se paragonate al precedente uso di alfa-interferone [1,2]. Inoltre, nel trattamento a lungo termine, IM ha mostrato risposte cliniche durature in un'alta percentuale dei pazienti in fase cronica [3-5]. Questa sua straordinaria efficacia, insieme alla potente inibizione dell'attività catalitica di BCR-ABL, ha indotto un *panel* di esperti riuniti sotto l'egida dell'*European LeukemiaNet* (ELN) a formulare delle raccomandazioni cliniche (2006) [6]. Tali raccomandazioni sono state recentemente aggiornate (2009), anche alla luce della recente disponibilità degli inibitori di 2° generazione (nilotinib e dasatinib), codificando la risposta clinica alla terapia convenzionale con IM in risposta ottimale, sub-ottimale e fallimento (Tabella III) [7].

Il caso clinico qui riportato mostra un paziente in risposta clinica sub-ottimale di tipo citogenetico al 12° mese di terapia. La condizione clinica di risposta sub-ottimale riflette uno stato di transizione [8,9]. Il trattamento in atto non ha configurato un ri-

sultato ottimale e il decorso a lungo termine potrebbe rivelarsi non favorevole. In questo caso le strategie terapeutiche suggerite dalle linee ELN sono l'incremento di dose di IM o l'impiego degli inibitori di 2° generazione. Nel caso descritto, lo stato di sub-ottimale citogenetico e la presenza di mutazioni di BCR-ABL ci ha indotto a scegliere un secondo inibitore.

Diverse casistiche riportate in letteratura hanno riscontrato resistenza primaria o secondaria a IM nel 20-30% dei pazienti in fase cronica. Molteplici meccanismi contribuiscono al fallimento della terapia. Tra questi, le mutazioni nel dominio tirosinchinasi di BCR-ABL sono particolarmente frequenti (> 50%) nei pazienti con resistenza secondaria.

A tutt'oggi, sono state identificate sostituzioni in più di 80 residui aminoacidici. Alcune mutazioni riducono l'affinità di legame per IM ma rispondono all'incremento di dose del farmaco, mentre altre conferiscono una resistenza completa alla terapia [10-12].

Il riscontro di mutazioni mai descritte in letteratura che scompaiono dopo l'aumento di dose di IM o successivamente all'assunzione di un inibitore di seconda generazione suggerisce che queste sostituzioni nucleotidiche si selezionino in modo stocastico e siano indicative di una maggiore instabilità genomica [13].

Diviene pertanto di fondamentale importanza la loro tempestiva identificazione per individuare il trattamento più appropriato che, in presenza di livelli crescenti di instabilità genomica, suggerisce l'impiego degli inibitori di seconda generazione.

### Tabella III

*Raccomandazioni dell'European LeukemiaNet (ELN) 2009 confrontate con quelle del 2006 (in grassetto le aggiunte ELN 2009)*

Modificata da [7]

ACA = Additional Chromosome Abnormalities; CCA = Clonal Chromosome Abnormalities; CCyR = risposta citogenetica completa; CHR = risposta ematologica completa; CyR = risposta citogenetica; HR = risposta ematologica; mCyR = risposta citogenetica minore; MMolR = risposta molecolare maggiore; NA = non applicabile; PCyR = risposta citogenetica parziale

**I punti chiave del caso**

- *Status di sub-ottimale citogenetico: secondo le linee guida ELN, un paziente che al 12° mese di trattamento con imatinib non abbia ottenuto una risposta citogenetica completa, ha ottenuto una risposta sub-ottimale, che deve essere affrontata aumentando il dosaggio di imatinib o passando a un inibitore di seconda generazione (nilotinib o dasatinib)*
- *Mutazioni riscontrate e loro rilevanza terapeutica: la rilevazione di mutazioni nella proteina di fusione è una spiegazione plausibile alla risposta sub-ottimale del paziente. Tali mutazioni, infatti, possono essere state selezionate dalla terapia stessa perché conferiscono resistenza al farmaco. Poiché in questo caso le mutazioni riscontrate non erano state descritte in letteratura, non è stato possibile capire se la resistenza conferita fosse parziale (e dunque sarebbe bastato un aumento del dosaggio di imatinib, ma con rischio aumentato di insorgenza di effetti collaterali) o completa (l'unica soluzione possibile sarebbe stata il passaggio a un inibitore di seconda generazione). Nel dubbio si è optato per la seconda possibilità*

**BIBLIOGRAFIA**

1. Deininger M, Buchdunger E, Druker BJ. The development of imatinib as a therapeutic agent for chronic myeloid leukemia. *Blood* 2005; 105: 2640-53
2. O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, Gathmann I, Baccarani M, Cervantes F 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
3. Hughes TP, Kaeda J, Branford S, Rudzki Z, Hochhaus A, Hensley ML et al. Frequency of major molecular responses to imatinib or interferon alfa plus cytarabine in newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2003; 349: 1423-32
4. Druker BJ, Guilhot F, O'Brien S, Gathmann I, Kantarjian H, Gattermann N et al. Five-Year Follow-up of Patients Receiving Imatinib for Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* 2006; 355: 2408-17
5. Hochhaus A, O'Brien SG, Guilhot F, Druker BJ, Branford S, Foroni L et al. Six-year follow-up of patients receiving imatinib for the first-line treatment of chronic myeloid leukemia. *Leukemia* 2009; 23: 1054-61
6. Baccarani M, Saglio G, Goldman J, Hochhaus A, Simonsson B, Appelbaum F et al. Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia. Recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2006; 108: 1809-20
7. Baccarani M, Cortes J, Pane F, Niederwieser D, Saglio G, Apperley J et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet. *J Clin Oncol* 2009; 27: 6041-51
8. Marin D, Milojkovic D, Olavarria E, Khorashad JS, de Lavallade H, Reid AG et al. European LeukemiaNet criteria for failure or suboptimal response reliably identify patients with CML in early chronic phase treated with imatinib whose eventual outcome is poor. *Blood* 2008; 112: 4437-44
9. Alvarado Y, Kantarjian H, O'Brien S, Faderl S, Borthakur G, Burger J et al. Significance of suboptimal response to imatinib, as defined by the European LeukemiaNet, in the long-term outcome of patients with early chronic myeloid leukemia in chronic phase. *Cancer* 2009; 115: 3709-18
10. Shah NP, Nicoll JM, Nagar B, Gorre ME, Paquette RL, Kuriyan J et al. Multiple BCR-ABL kinase domain mutations confer polyclonal resistance to the tyrosine kinase inhibitor imatinib (STI571) in chronic phase and blast crisis chronic myeloid leukemia. *Cancer Cell* 2002; 2: 117-25
11. Hughes TP, Deininger MW, Hochhaus A, Branford S, Radich J, Kaeda J et al. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: review and recommendations for "harmonizing" current methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase domain mutations and for expressing results. *Blood* 2006; 108: 28-37

12. Branford S, Rudzki Z, Parkinson I, Grigg A, Taylor K, Seymour JF et al. Real-time quantitative PCR analysis can be used as a primary screen to identify patients with CML treated with imatinib who have BCR-ABL kinase domain mutations. *Blood* 2004; 104: 2926-32
13. Penserga ETP, Skorski T. Fusion tyrosine kinases: a result and cause of genomic instability. *Oncogene* 2007; 26: 11-20