

ORGANIZA



**IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES  
ASOCIADOS A LA EFECTIVIDAD Y TOXICIDAD  
DE LOS INHIBIDORES DE FLT3 EN PACIENTES  
CON LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA**

*Antonio Solana Altabella*

JORNADA  
**INVESTIGA** *sefh*



# Leucemia Mieloide Aguda (LMA)



**INCIDENCIA DE 3 A 4 CASOS  
NUEVOS/AÑO/100.000 HAB**



**50% DE LOS PACIENTES CON  
REMISIÓN COMPLETA RECAEN**



**SG (5 AÑOS) = 50%**



**ANTRACICLINAS Y  
CITARABINA**

# Patogénesis LMA

## Conjunto de ambas mutaciones

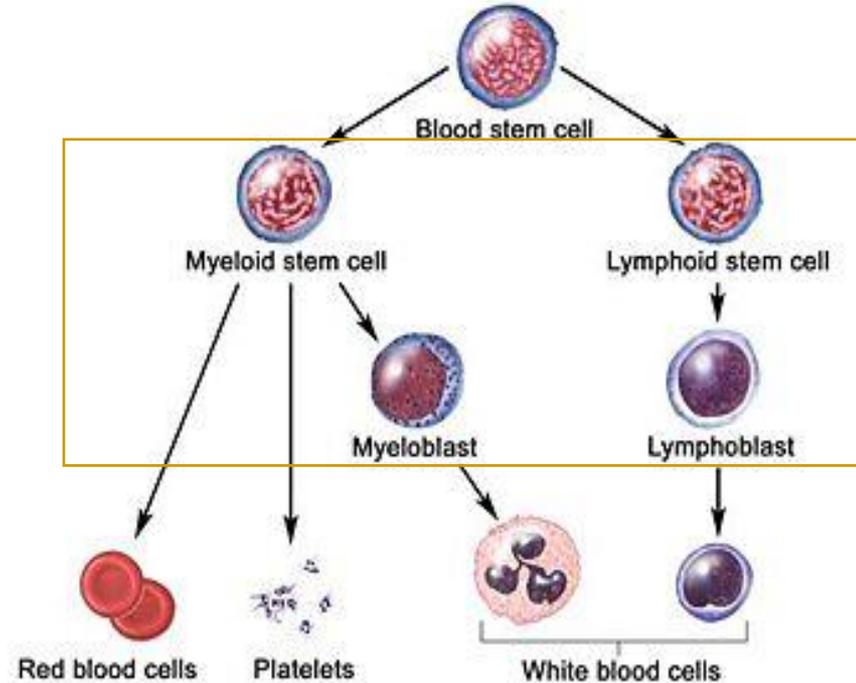
### Mutaciones clase I

Inhibe diferenciación

Reducen apoptosis

### Mutaciones clase II

Proliferación y ventajas para sobrevivir



# LMA: Mutaciones FLT3 (30%)

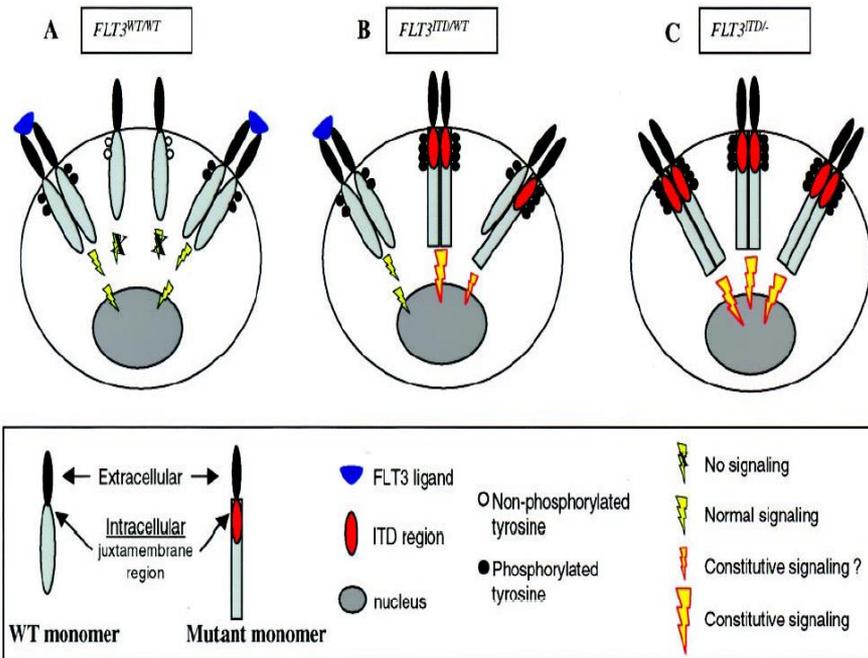
Tirosin quinasa dependiente de ligando

En células progenitoras hematopoyéticas

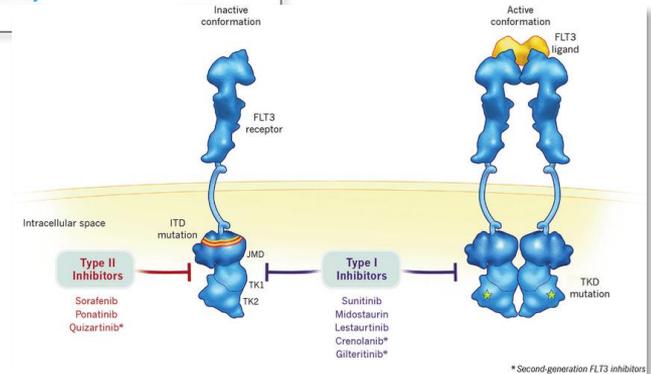
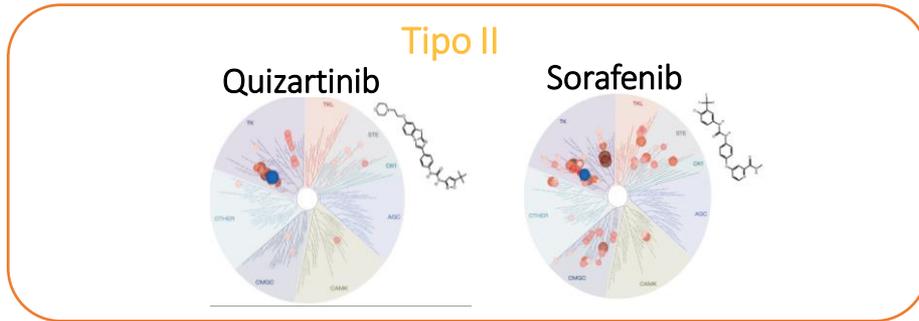
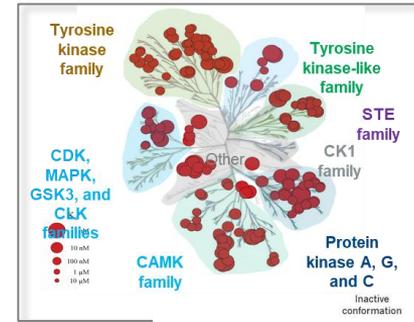
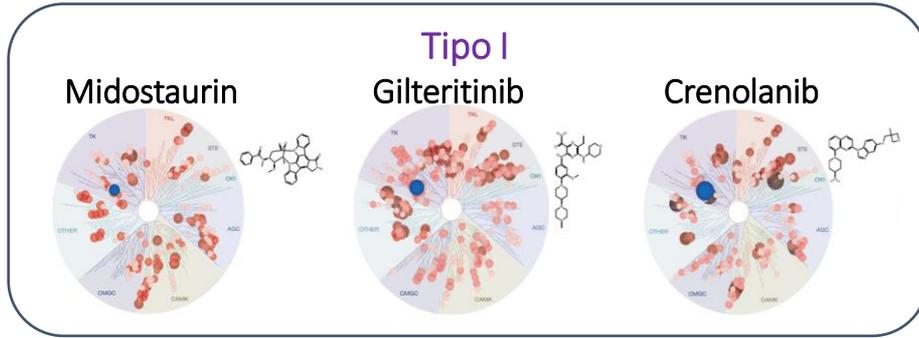
Promueve la supervivencia celular

Aumenta la proliferación y la diferenciación

Dos tipos: ITD y TKD

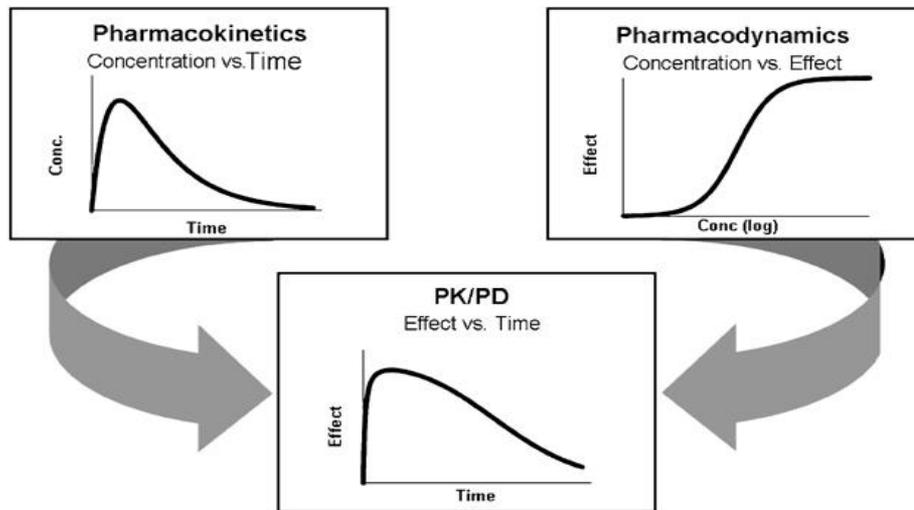


# Fármacos Inhibidores de FLT3 (FLT3i)



# Farmacocinética y Farmacodinámica (PK/PD)

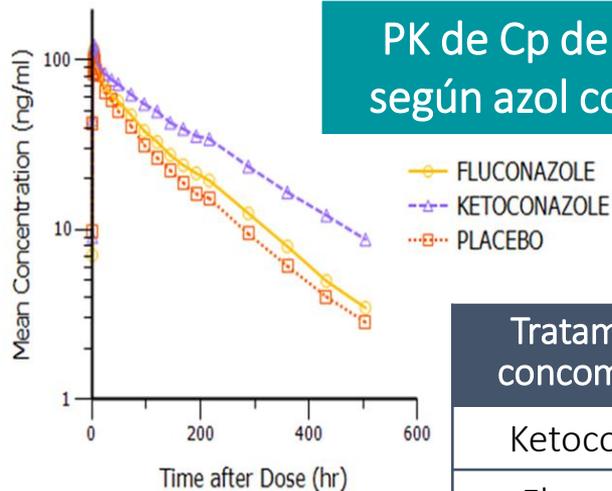
En LMA hay limitada evidencia de la correlación PK/PD con respuesta y toxicidad



Farmacodinamia → Fosforilación de FLT3

# Farmacocinética de FLT3 en LMA

PK de Cp de Quizartinib según azol concomitante

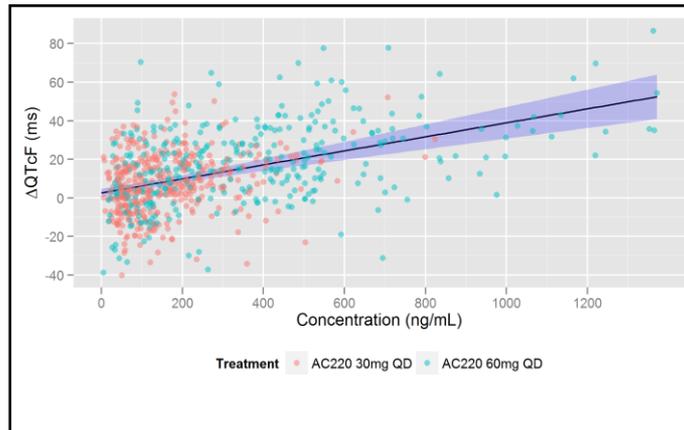


Tratamiento concomitante	AUC <sub>0→∞</sub> (ng/mL·h)
--------------------------	------------------------------

Ketoconazol	194%
-------------	------

Fluconazol	120%
------------	------

Placebo	(100%)
---------	--------



Relación PK/PD entre Cp de Quizartinib y prolongación interval QTc

# Resistencias a FLT3i

Unión a proteínas plasmáticas

Niveles de ligando FLT3

Sobreexpresión de receptor FLT3

Recaída por enfermedad residual

Mutación puntual TKD

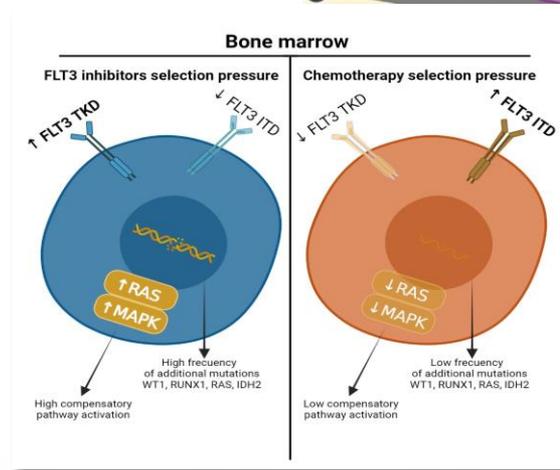
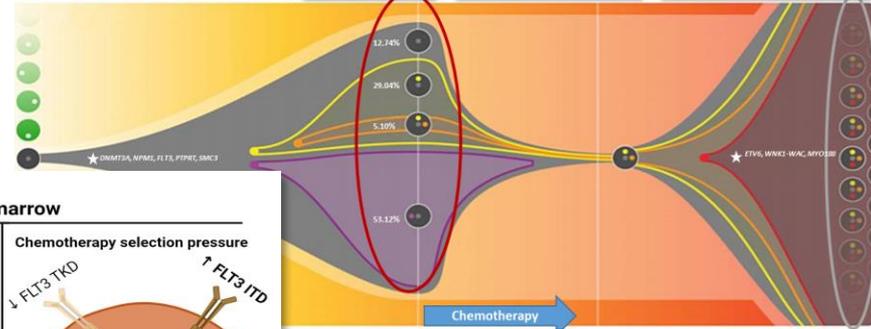
Pérdida mutación ITD

Genetic mapping demonstrates how clonal evolution can result in an AML clone that is genetically distinct at relapse compared with diagnosis

AML is polyclonal at diagnosis

Chemotherapy eliminates almost all disease

A subclone acquires additional mutations that drive relapse



*...Se desconoce*

Interacciones  
medicamentosas

Polimorfismos

Influencia

FLT3 ligando

Inhibición de la  
fosforilación  
de FLT3

# Hipótesis

En el paciente con **LMA**, tratado con **inhibidores FLT3**, existen condiciones intrínsecas del propio paciente, **mutaciones** expresadas por las células leucémicas y **niveles de inhibidor FLT3** en sangre, que podrían **condicionar la respuesta** al tratamiento, su **seguridad** y la **efectividad** a largo plazo



# Objetivos del estudio

## Objetivos Primarios

1. Evaluar la correlación entre los parámetros **PK/PD** y la **eficacia clínica de inhibidores FLT3** en pacientes diagnosticados de LMA según subgrupos TKD, ITD y WT
2. Establecer la correlación entre **mutaciones del receptor FLT3** (negativos vs mutados), **expresión de FLT3, o los niveles de FL** con la **eficacia clínica** y la aparición de **resistencias** a midostaurin, quizartinib, crenolanib y gilteritinib



# Objetivos del estudio

## Objetivos Secundarios



Polimorfismos de nucleótido único (SNPs)



Toxicidad



Interacciones

# Metodología Plan de Trabajo



*Uso de inhibidores  
FLT3 en la práctica  
del HUP La Fe*



QUIWI



VEN-A-QUI



FLAG-QUIDA



# Selección de Pacientes



>18 años



350 pacientes estimados  
(subgrupo 40 pacientes para PK)



Datos demográficos,  
analíticos y anamnesis



Datos del tratamiento con  
FLT3i

# Análisis PK/PD y Respuesta Clínica del Paciente

## Determinación Concentración de Fármaco en suero

### **Análisis de midostaurin, quizartinib, crenolanib y gilteritinib**

Cromatografía Líquida (HPLC) acoplada a un espectrómetro de masas

Estado estacionario: previo a la dosis, a la 2, 4, 6 horas tras su administración

## Parámetros PK/PD

**PK: Unidad de Farmacocinética** --> Programa NONMEM®

AUC, Vd, Cl, Cmin y Cmax

**PD:**

Médula ósea

Distintas concentraciones de la curva que nos permita calcular el IC50

**Ratio PK/PD:**

Parámetro asociado a la respuesta entre IC50

Respuesta clínica

Respuesta y  
Seguridad del  
tratamiento

Perfil Fármaco-  
genético

### Respuesta Clínica

Remisión completa (RC)  
Supervivencia Global (SG)  
Supervivencia libre de recidiva (SLR)  
Mortalidad relacionada con el tratamiento (MRT)  
Otras (ORR, RCc, SLE)

### RAM (grado III y IV)

Sepsis, neumonía, anemia, neutropenia febril,  
trombocitopenia y prolongación del intervalo QT

### SNPs:

Espectroscopia de masas (MALDI-TOF) utilizando la plataforma  
Mass Array de "SEQUENOM"



# Análisis de Marcadores

## *Análisis de expresión de FLT3 por RT-PCR*

- EDTA
- Unidad de Biología Molecular (Análisis Clínicos)
- RT-PCR → Expresión genética TaqMan®

## *Análisis de ligando FLT3*

- Tubo seco
- Unidad de Biología Molecular (Análisis Clínicos)
- Quantikine® ELISA kit proporcionado por R&D Systems®

# Expresión FLT3

Forward primer

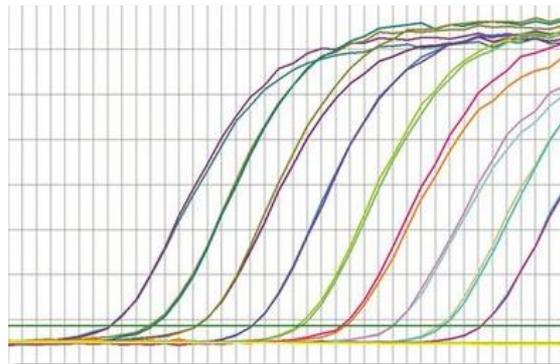
(5'-TTTCACAGGACTTGGACAGAGATTT-3')

Reverse primer

(5'-GAGTCCGGGTGTATCTGAACTTCT-3')

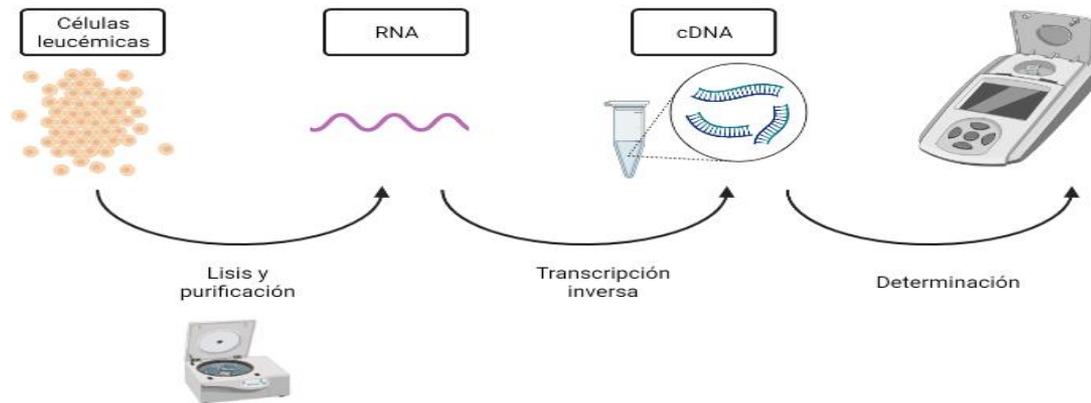
FAM-labeled TaqMan probe

(5'-TCCAAATCCAGCATGCCTGTTCAAG-3')



51 pacientes FLT3-WT tratados con quizartinib analizados al diagnóstico

**97%** presentaron mayor expresión de FLT3 respecto a gen control



Mohamed Amin Mekawy, Deena Samir Eissa, Mohamed Tarif Hamza, Gehan Mostafa Hamed, Mariam Karam Youssef. FLT3 receptor/CD135 expression by flow cytometry in acute myeloid leukemia: Relation to FLT3 gene mutations and mRNA transcripts. Egyptian Journal of Medical Human Genetics. Volume 19, Issue 4, 2018, Pages 345-35

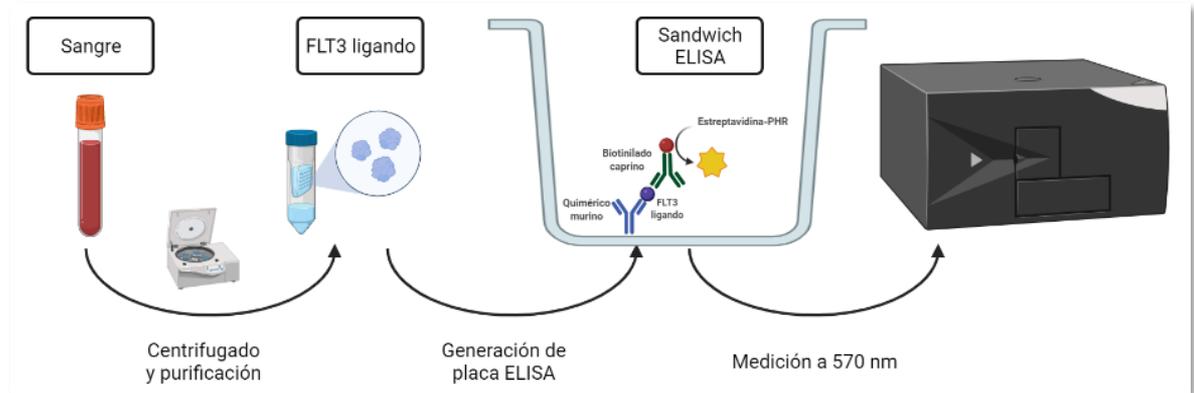
# FLT3 ligando

Técnica ELISA tipo sandwich

Triturus® en colaboración con la Unidad de Hemostasia

## Técnica validada

**Recopilación de muestras congeladas a -20°C de distintos hospitales de España**



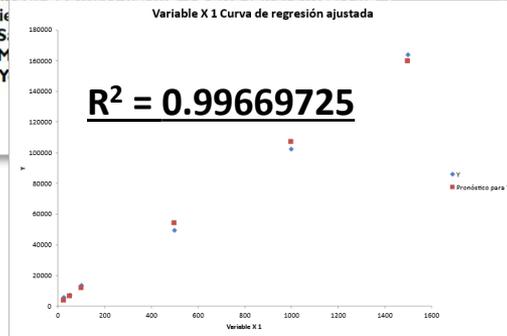
# Determinación de quizartinib

## Validación externa del modelo FCC

### Population Pharmacokinetic Analysis of Quizartinib in Healthy Volunteers and Patients With Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia

The Journal of Clinical Pharmacology  
2020, 0(0) 1-13  
© 2020, The American College of  
Clinical Pharmacology  
DOI: 10.1002/jcp.1680

Dongwoo Kang, PhD<sup>1</sup>, Elizabeth Ludwie, PharmD<sup>2</sup>, David Iaworowicz, PhD<sup>2</sup>,  
Hannah Huang, PhD<sup>2</sup>, Jill Fie, PhD<sup>2</sup>, Siddhartha Ganguly, MD<sup>4</sup>, S.  
PhD<sup>7</sup>, Giovanni Martinelli, M, PhD<sup>1</sup>, Malaz Abutarif, MD, PhD<sup>1</sup>, Y  
and Ophelia Yin, PhD<sup>1</sup>



- Niveles de quizartinib  $C_{min}$  más elevados que en anteriores estudios Fase I y II

- Diferencias en el metabolismo: enfermedad y la medicación concomitante (azoles y otros inhibidores de CYP3A4)

#### Rendimiento predictivo

Comparar la concentración observada ( $C_{min}$ ) vs. predicha individual (IPRED)

#### Exactitud y Precisión

Calcular el error medio (MPE) y el error absoluto medio (MAPE), respectivamente.

#### Fiabilidad del modelo

Calcular coeficiente de correlación intraclase (ICC).

$$k_{el} = 0.874 \times (1 - flag_{PATIENT_i}) \times (1 + flag_{FED_i} \times (-0.512)) + 1.68 \times flag_{PATIENT_i} \quad (1)$$

$$F_{i_i} = [1 \times (1 - flag_{PATIENT_i}) + 0.599 \times flag_{PATIENT_i}] \times (1 + flag_{STCRYP_i} \times 0.136) \quad (2)$$

$$F_{1S19_i} = 0.913 \times (1 + flag_{FED_i} \times 0.0509) \quad (3)$$

$$CL_i = 2.77 \times [1 + (0.082 \times flag_{PATIENT_i}) + ((-0.441) \times flag_{STCRYP_i})] \quad (4)$$

$$V_{ci} = 194 \times \left(\frac{ALB_i}{4.1}\right)^{-0.725} \times \left(\frac{BSA_i}{1.9}\right)^{1.46} \quad (5)$$

$$V_{pi} = 170 \times \left(\frac{BSA_i}{1.9}\right)^{1.50} \times \left(\frac{Age_i}{44}\right)^{0.453} \quad (6)$$

$$Q_{li} = 27.9 \times \left(\frac{BSA_i}{1.9}\right)^{0.970} \quad (7)$$

# Desviaciones del estudio

## 1. Cromatografía Líquida (HPLC) acoplada a un espectrofotómetro UV/Vis (2021-793-1)

### *Ventajas*

- Colaboración con el SF HGU de Castellón
- Reducción de costes. Publicación extra

## 2. Prueba de fosforilación FLT3

- Inicio propuesto con electroforésis/Western Blot
- Posteriormente valorado medir mediante citometría de flujo con Unidad de Citometría del IISLAFE, pero bajo rendimiento
- Retomando opción de electroforésis con la universidad o el IISLAFE

## 3. Retraso debido a la COVID

# Plan de Trabajo

Fechas	May19- Sep19	Oct19- Ene20	Feb20- Dic21	Ene22- Mar22	Abr22- Jun22	Jul22- Sept22	Responsable
FASE 0: REDACCIÓN							
Búsqueda bibliográfica y redacción	✓						1,2
FASE 1: REALIZACIÓN							
Preparación		✓					1,2
Recogida de datos			✓				1
Depuración de datos				✓			1,2
FASE 2: ANÁLISIS DE DATOS Y RESULTADOS							
Análisis de datos					✓		1,3
Resultados preliminares						✓	1
FASE 3: REDACCIÓN Y PUBLICACIÓN							
Redacción y envío						✓	1,2

1: investigador principal. 2: investigador colaborador. 3: investigador estadístico.

# Nuevo Plan de Trabajo

Fechas	May19- Sep19	Oct19- Ene20	Feb20 - Dic22	Dic22 - Mar23	Mar23 - Jun23	Jun23- Dic23	Responsable
FASE 0: REDACCIÓN							
Búsqueda bibliográfica y redacción	✓						1,2
FASE 1: REALIZACIÓN							
Preparación		✓					1,2
Recogida de datos			✓				1,2
Depuración de datos				✓			1
FASE 2: ANÁLISIS DE DATOS Y RESULTADOS							
Análisis de datos					✓		1,3
Resultados preliminares						✓	1,2
FASE 3: REDACCIÓN Y PUBLICACIÓN							
Redacción y envío						✓	1,2
1: investigador principal. 2: investigadores colaboradores. 3: investigador estadístico.							

# Proyectos obtenidos y publicaciones

## Artículos científicos

- Megías-Vericat JE, **Solana-Altabella A**... Drug-drug interactions of newly approved small molecule inhibitors for acute myeloid leukemia. Ann Hematol (Q2)
- Megías-Vericat JE, Martínez-Cuadrón D, **Solana-Altabella A**[...] Precision medicine in acute myeloid leukemia: where are we now and what does the future hold? Expert Rev Hematol (Q3)
- Ballesta-López O, **Solana-Altabella A**[...] Gilteritinib use in the treatment of relapsed or refractory acute myeloid leukemia with a FLT3 mutation. Future Oncol (Q3)
- **Solana-Altabella A**[...] Healthcare Resource Utilization in Adult Patients with Relapsed/Refractory FLT3 mutated Acute Myeloid Leukemia: A Retrospective Chart Review from Spain. Eur J Haematol (Q3)
- Megías-Vericat JE[...]**Solana-Altabella A**[...] Impact of combinations of single-nucleotide polymorphisms of anthracycline transporter genes upon the efficacy and toxicity of induction chemotherapy in acute myeloid leukemia. Leuk Lymphoma (Q3)
- Megías-Vericat JE[...]**Solana-Altabella A**[...] Influence of polymorphisms in anthracyclines metabolism genes in the standard induction chemotherapy of acute myeloid leukemia. Pharmacogenet Genomics (Q4)
- Boluda B[...]**Solana-Altabella A**[...] Evolving patterns of care and outcomes in relapsed/refractory FLT3 mutated acute myeloid leukemia adult patients. Leuk Lymphoma (Q2)
- Boluda B, **Solana-Altabella A**[...] Extracorporeal photopheresis vs standard therapies for steroid-refractory chronic graft-versus-host disease: Pharmacoeconomic assessment of hospital resource use in Spain. J Clin Apher (Q3)
- **Solana-Altabella A**[...] Emerging FLT3 inhibitors for the treatment of acute myeloid leukemia. Expert Opin Emerg Drugs (Q2)
- **Solana-Altabella A**[...] Healthcare Resource Utilization among Patients between 60-75 Years with Secondary Acute Myeloid Leukemia Receiving Intensive Chemotherapy Induction: A Spanish Retrospective Observational Study. Cancers (Q1)
- Megías-Vericat JE, Martínez-Cuadrón D, **Solana-Altabella A**[...] Systematic Review of Pharmacogenetics of ABC and LSC Transporter Genes in Acute Myeloid Leukemia. Pharmaceutics (Q1)

## Ayudas a la Investigación FEFH 2021-2022



## Comunicaciones científicas

- **Solana-Altabella A**[...] Extracorporeal photopheresis vs other therapies for steroid-refractory chronic graft-versus-host-disease in adult patients: pharmacoeconomic assessment of use of hospital resources in Spain. 25th Congress of the European Hematology Association. Frankfurt, Alemania. 11-21 junio 2020.
- **Solana Altabella A**[...] Tiempo y coste de hospitalización para terapia de rescate en adultos con leucemia mieloide aguda en recaída o refractaria". 65 Congreso de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria. Barcelona (España), 20-22 octubre 2020.
- Boluda B, **Solana-Altabella A**[...] Risk factors and incidence of cardiac events in a large cohort of 525 adult patients with newly diagnosed non-M3 acute myeloid leukemia. 27th Congress of the European Hematology Association. Viena, Austria. 15-17 junio 2022.
- **Solana Altabella A**[...] Desarrollo de un método de determinación de expresión del gen FLT3 no mutado en pacientes con Leucemia Mieloide Aguda. 67 Congreso de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria. Barcelona (España), 24-26 noviembre 2022.
- Boluda B, **Solana-Altabella A**[...]. Incidence of and risk factors for cardiac events in adult patients with non-M3 acute myeloid leukemia receiving second or third salvage therapy. 64th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition 2022 (ASH 2022). 10-13 diciembre 2022.

# Objetivos de Publicación

## 2022

1. *Desarrollo de técnica analítica para la determinación de inhibidores de FLT3 en plasma humano mediante HPLC UV/Vis.* JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A (IF: 4.759)
2. *Técnica analítica para determinación de expresión de FLT3 y resultados en comparación a expresión con ABL en pacientes FLT3-WT.* LEUKEMIA & LYMPHOMA (IF: 3.28)

## 2023

1. *Estudio prospectivo de validación de modelo farmacocinético de quizartinib en población de pacientes FLT3-WT.* JOURNAL OF CLINICAL PHARMACOLOGY (IF: 3.129)
2. *Técnica analítica para determinación factor ligando y relación con parámetros clínicos en pacientes FLT3-WT vs FLT3 mutado.* LEUKEMIA & LYMPHOMA (IF: 3.28)
3. *Análisis farmacogenómico de pacientes con LMA tratados con quizartinib.* EUROPEAN JOURNAL OF HAEMATOLOGY (IF: 2.997)
4. *Estudio PK/PD con inhibidores FLT3.* LEUKEMIA (IF:11.528)

## 2021-2024

1. *Tesis doctoral en la Universidad de Valencia*

# Conclusiones

No existen biomarcadores validados para evaluar la respuesta a corto y largo plazo de los FLT3i, así como criterios para determinar la duración del tratamiento

Nuestro objetivo es desarrollar una metodología analítica que nos permita determinar la PK/PD de estos FLT3i

Analizar las posibles causas potenciales de resistencia (ligando FLT3, expresión receptor, polimorfismos, etc.)

Emplear nuestro modelo PK/PD en la toma de decisiones para el tratamiento de la LMA

ORGANIZA



***Muchas gracias***

JORNADA  
INVESTIGA *sefh*