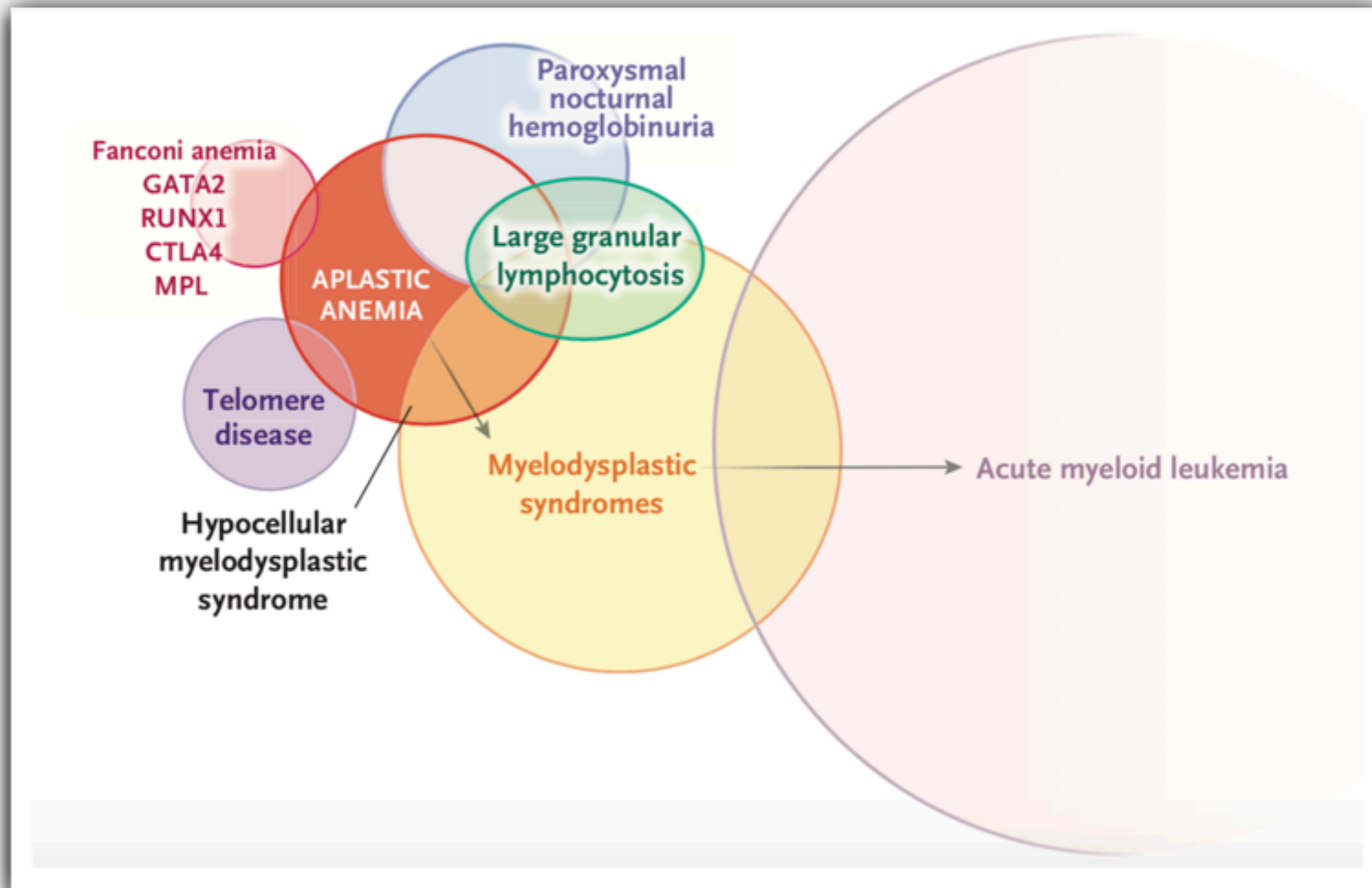


Απλαστική Αναιμία

*Έλενα Σολωμού
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας-Αιματολογίας
Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Πατρών*

Σύνδρομο Απλασίας Μυελού



**Αιτιολογικοί
Παράγοντες**

Απλαστική Αναιμία

A. Βλάβη στο μυελό
Κυτταροτοξικά
φάρμακα
Ακτινοβολία...

B. Ανοσολογικά αίτια
Ιδιοπαθής
Θύμωμα
Ηπατίτιδα...
Eosinophilic fasciitis

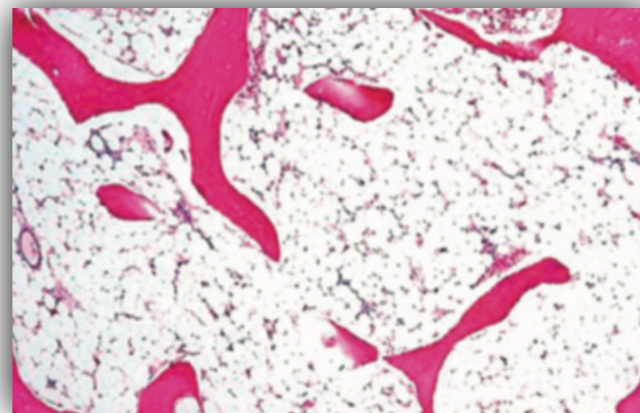
Γ. Κληρονομικά αίτια
Telomere disease
Μεταλλάξεις
Fanconi anemia...

**Παθοφυσιολογικός
Μηχανισμός**

Χημική καταστροφή
του μυελού

Ανοσολογική
καταστροφή

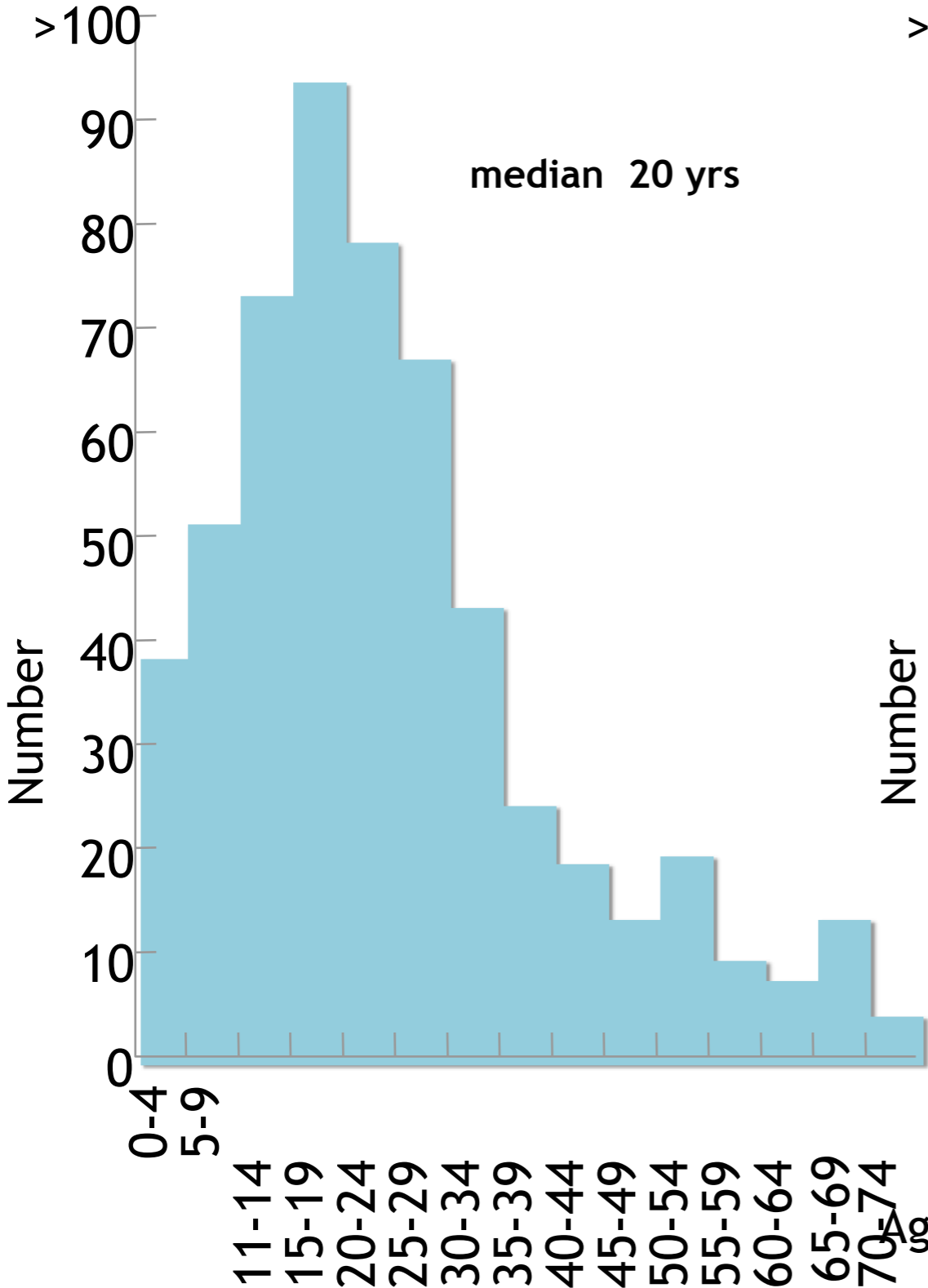
Γενετικές
μεταλλάξεις



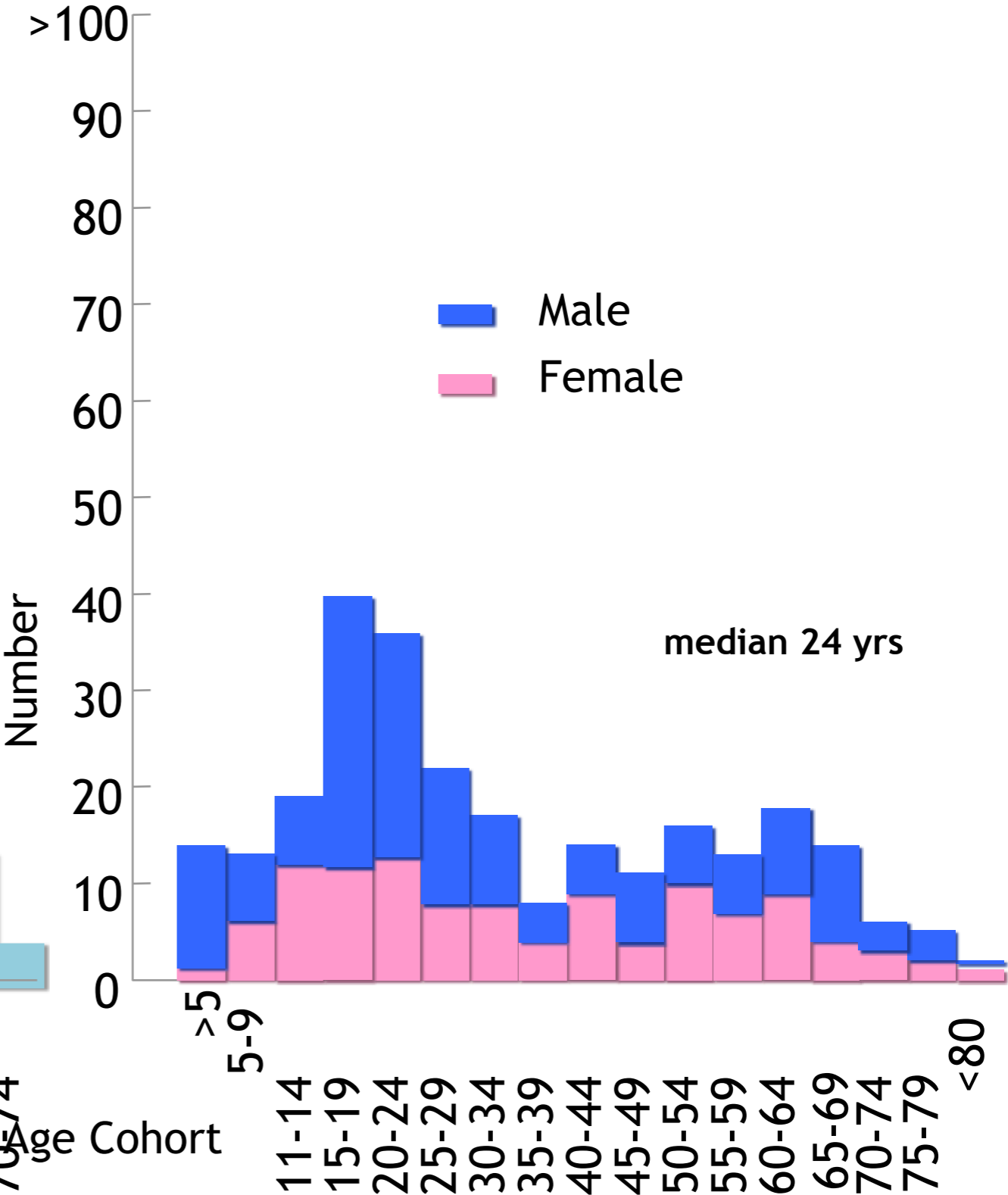
Αντικατάσταση φυσιολογικού μυελού με λίπος → υποπλαστικός μυελός και πανκυτταροπενία στο περιφερικό αίμα.

DEMOGRAPHICS OF APLASTIC ANEMIA

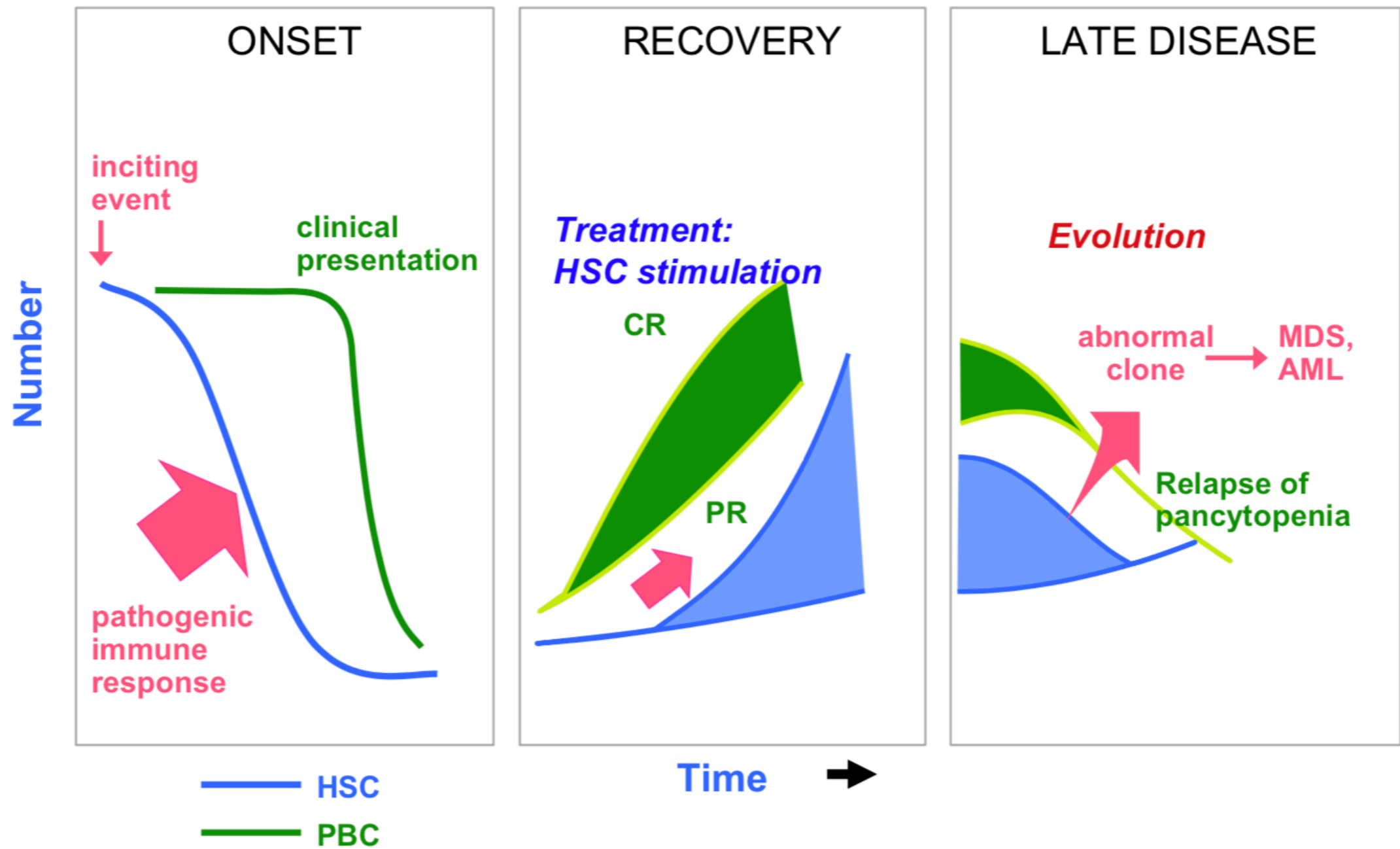
Seattle



NIH



SIMPLIFIED PATHOPHYSIOLOGY OF ACQUIRED APLASTIC ANEMIA



Παθοφυσιολογικός Μηχανισμός στην Απλαστική Αναιμία

- *T* κύτταρα-επαγόμενη καταστροφή HSC (IFN- γ)
- Τελομερή
- Μεταλλάξεις

The NEW ENGLAND
JOURNAL of MEDICINE

ESTABLISHED IN 1812

APRIL 7, 2005

VOL. 352 NO. 14

Mutations in *TERT*, the Gene for Telomerase Reverse Transcriptase,
in Aplastic Anemia



Hiroki Yamaguchi, M.D., Rodrigo T. Calado, M.D., Ph.D., Hinh Ly, Ph.D., Sachiko Kajigaya, Ph.D.,
Gabriela M. Baerlocher, M.D., Stephen J. Chanock, M.D., Peter M. Lansdorp, M.D., Ph.D., and Neal S. Young, M.D.

- Το **1/3** των ασθενών με απλαστική αναιμία έχουν πιο **κοντά τελομερή**
- Πιθανά τα εναπομείναντα HSC λόγω έντονου στρες και πολλαπλασιασμού να χάνουν έτσι τα τελομερή τους
- Μόλις το **3-5%** των ασθενών αυτών έχουν **μεταλλάξεις** στα γονίδια **TERT** και **TERC**

Telomere length and somatic mutations in correlation with response to immunosuppressive treatment in aplastic anaemia

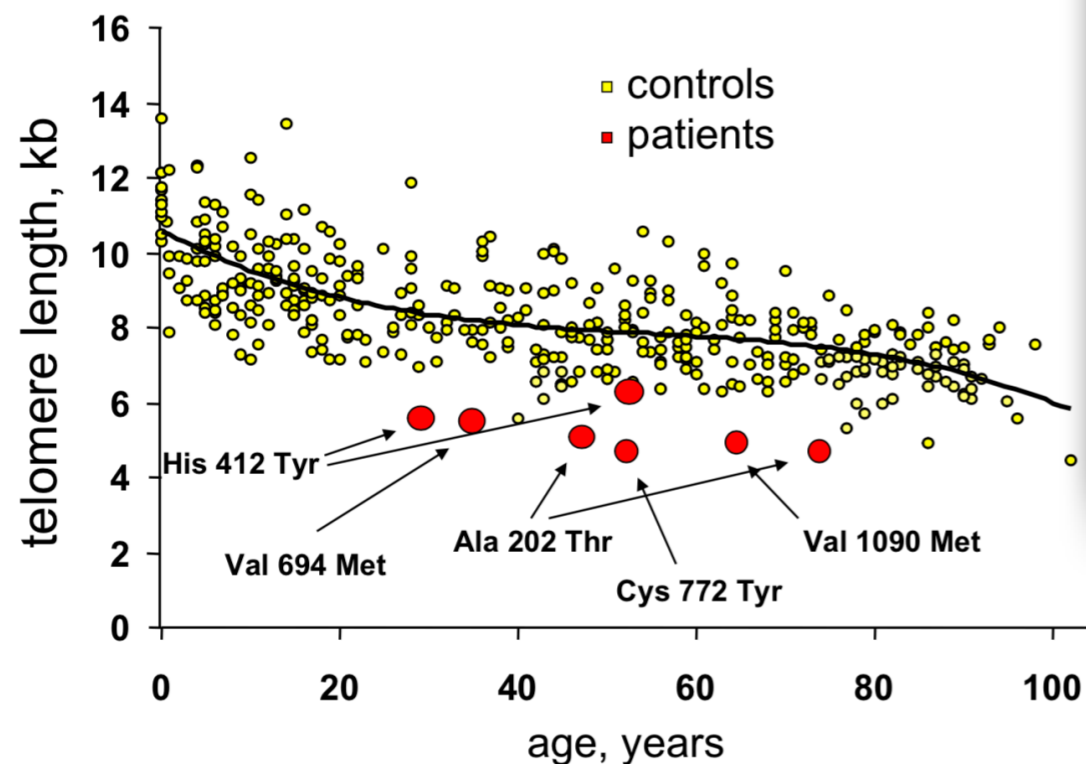
First published online 12 July 2017

doi: 10.1111/bjh.14691

Hee S. Park,¹  Si N. Park,² Kyongok Im,² Sung-Min Kim,² Jung-Ah Kim,¹ 
Sang M. Hwang^{1,3} and Dong S. Lee^{1,2}

Summary

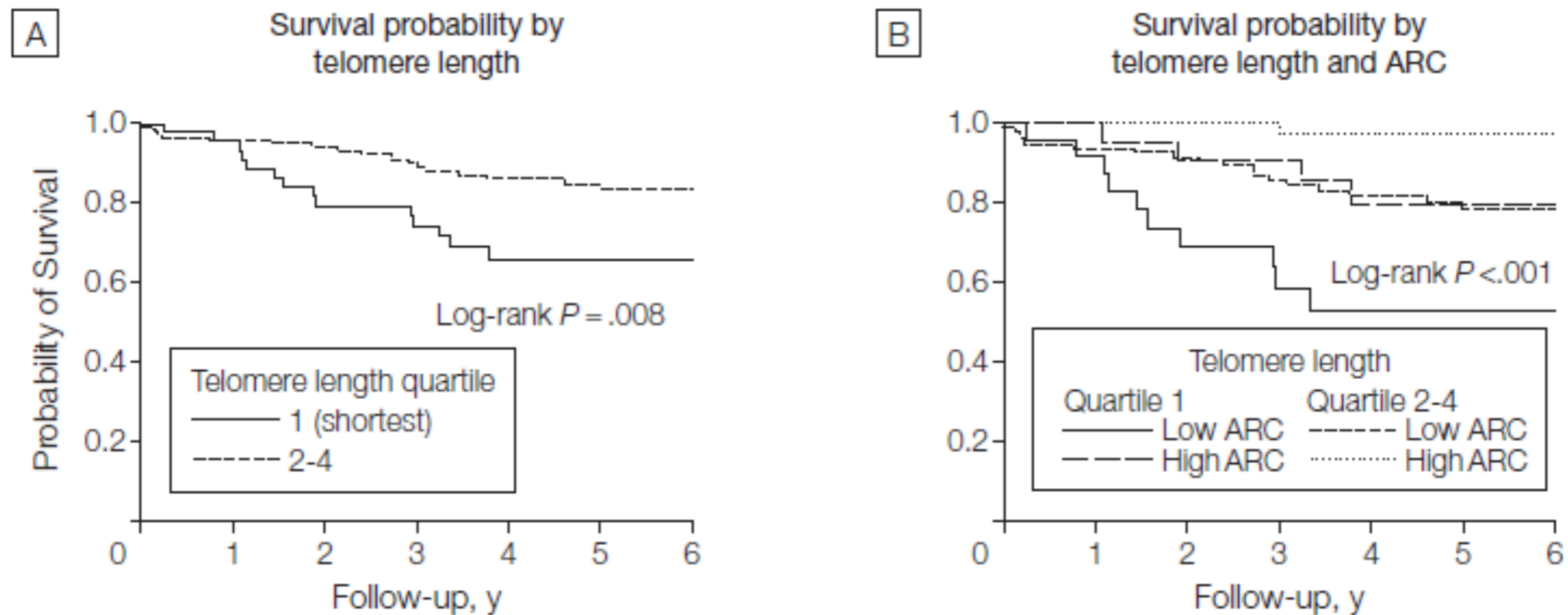
We investigated the frequencies of cytogenetic aberrations and somatic mutations of prognostic relevance in 393 patients with aplastic anaemia



- Το μήκος των τελομερών κατά τη διάγνωση σχετίζεται με τη κλωνική εξέλιξη και τη συνολική επιβίωση
- Πιθανά τα κύτταρα στην ΑΑ με πιο κοντά τελομερή είναι πιο ευάλωτα σε επιπλέον βλάβες του DNA και προδιαθέτουν για την εμφάνιση στη συνέχεια myeloid-specific μεταλλάξεων
- Πιο κοντά τελομερή → μικρότερη OS, μεγαλύτερος κίνδυνος εκροπής σε ΜΔΣ/ΟΜΛ.

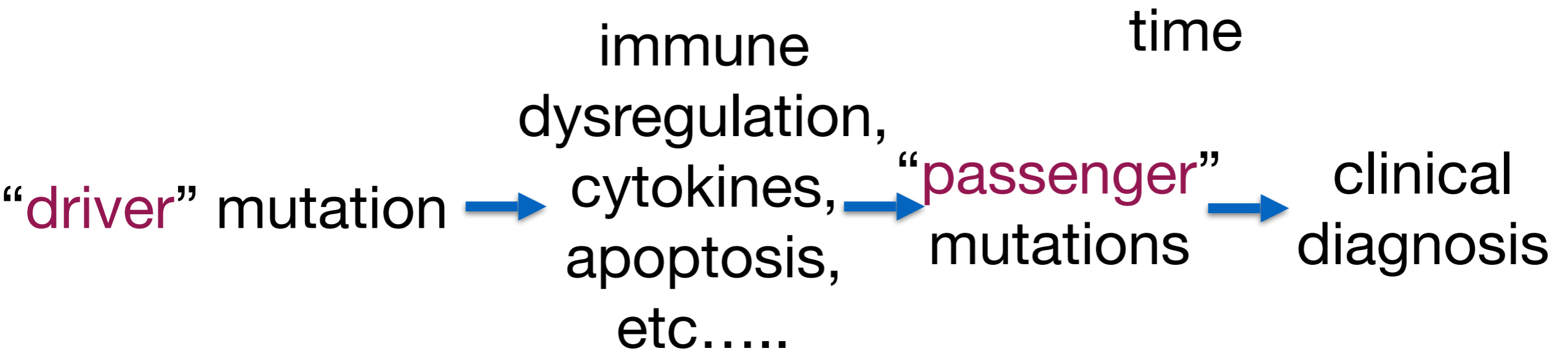
Overall survival according to absolute reticulocyte count and telomere length

Figure 3. Overall Survival According to Pretreatment Telomere Length and Absolute Reticulocyte Count (ARC)



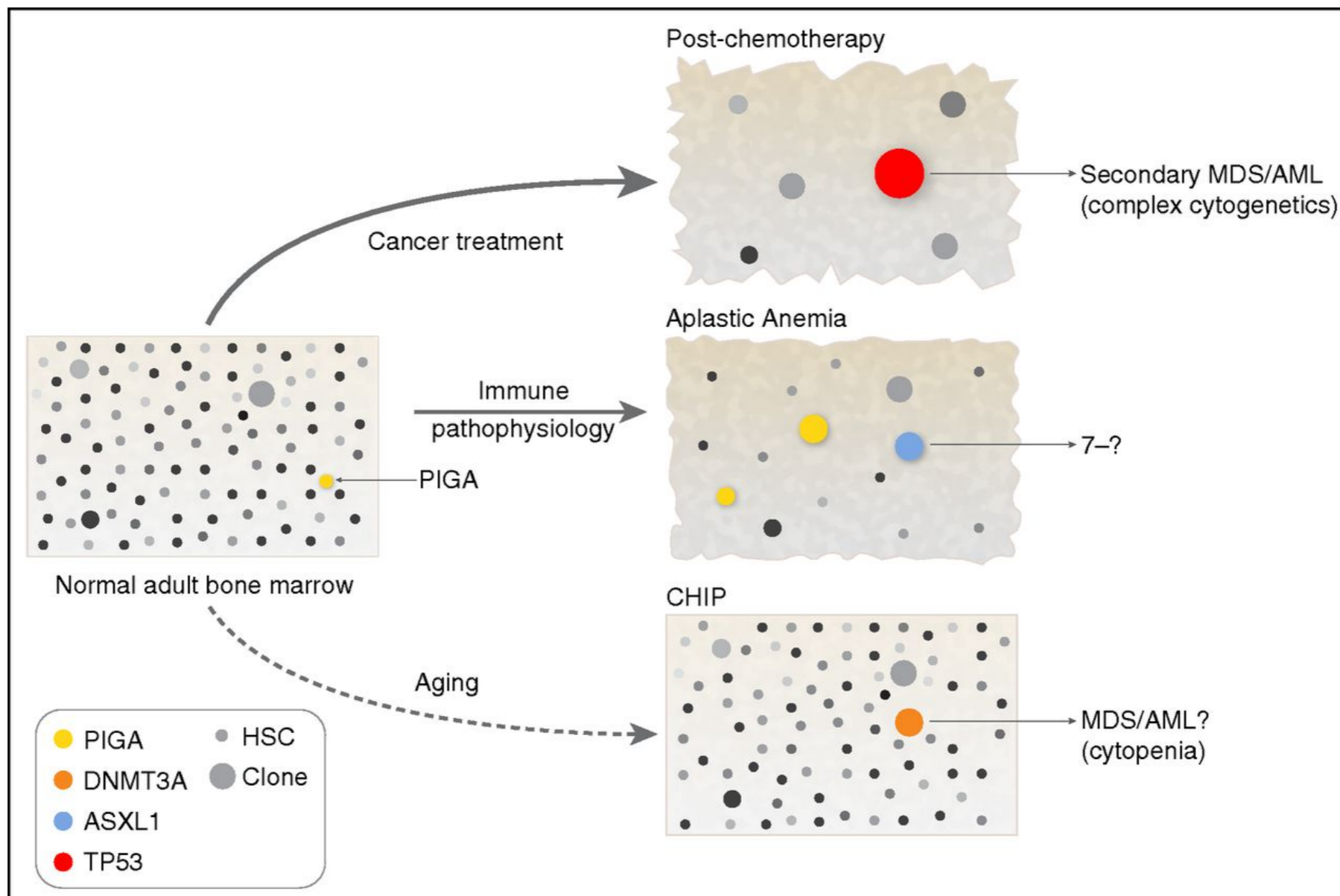
- **Favorable group:** High reticulocyte count and long telomeres
- **Intermediate group:** low reticulocyte count and long telomeres or high reticulocyte count and short telomeres
- **Poor risk group:** low reticulocyte count and short telomeres

Μεταλλάξεις και νοσήματα- Προτεινόμενος παθογενετικός μηχανισμός



Κλωνική αιμοποίηση και περιβάλλον

- Υπάρχουν κύτταρα στο μυελό που έχουν αποκτήσει μεταλλάξεις με το χρόνο, πιθανά χωρίς κάποια κλινική σημασία.
- Το περιβάλλον, ηλικία, και άλλοι εξωγενείς παράγοντες συμβάλλουν ώστε οι μεταλλάξεις αυτές να οδηγήσουν σε κάποια εμφανή κλινική εικόνα





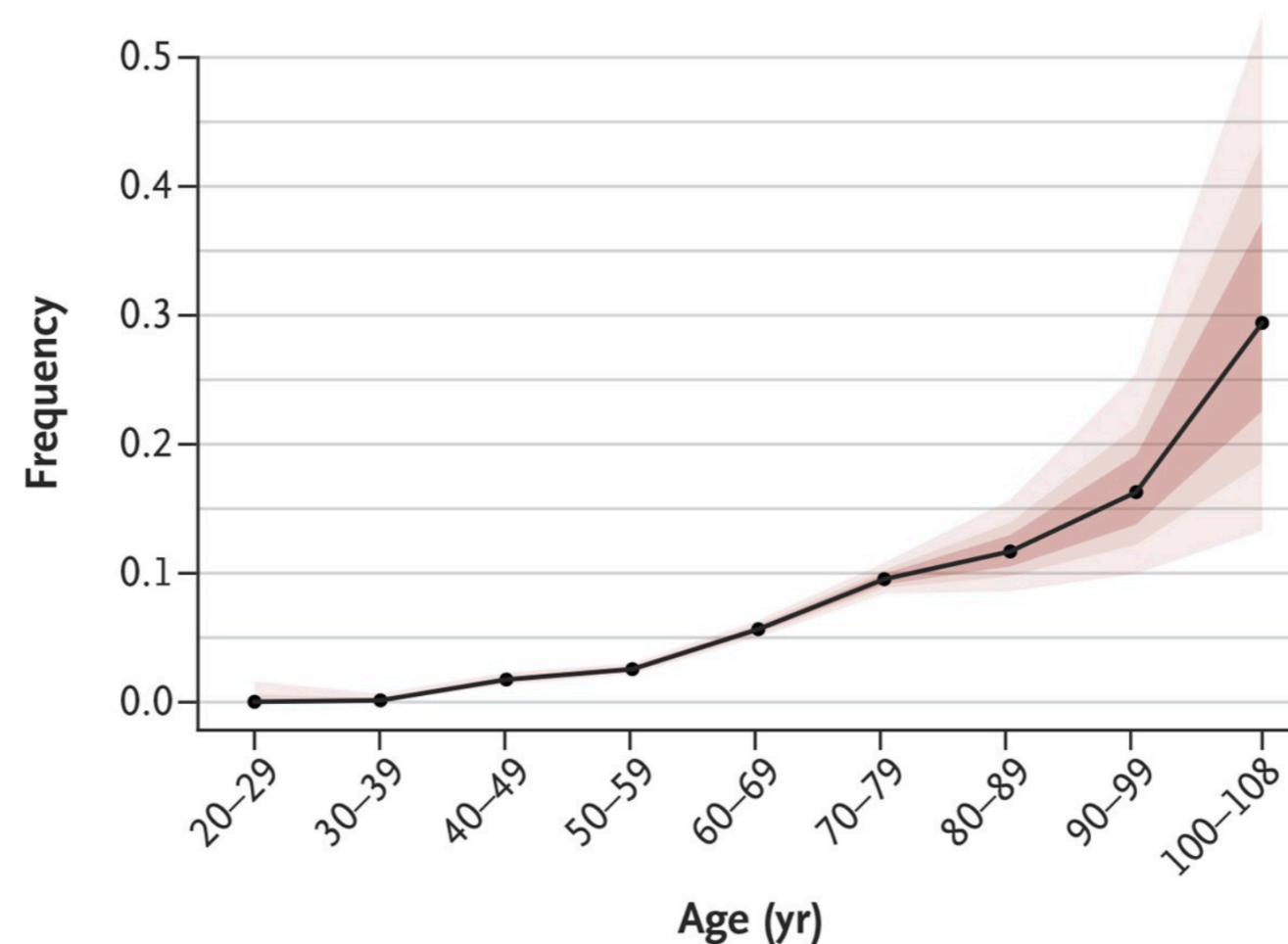
Clone Wars — The Emergence of Neoplastic Blood-Cell Clones with Aging

December 25, 2014

Janis L. Abkowitz, M.D.

N Engl J Med 2014; 371:2523-2525

- Με τη πρόοδο της ηλικίας αυξάνεται η συχνότητα των μεταλλάξεων —> ~15% σε 70-79 έτη, ~25% στα 80-89 έτη, και ~30% σε >90 έτη!

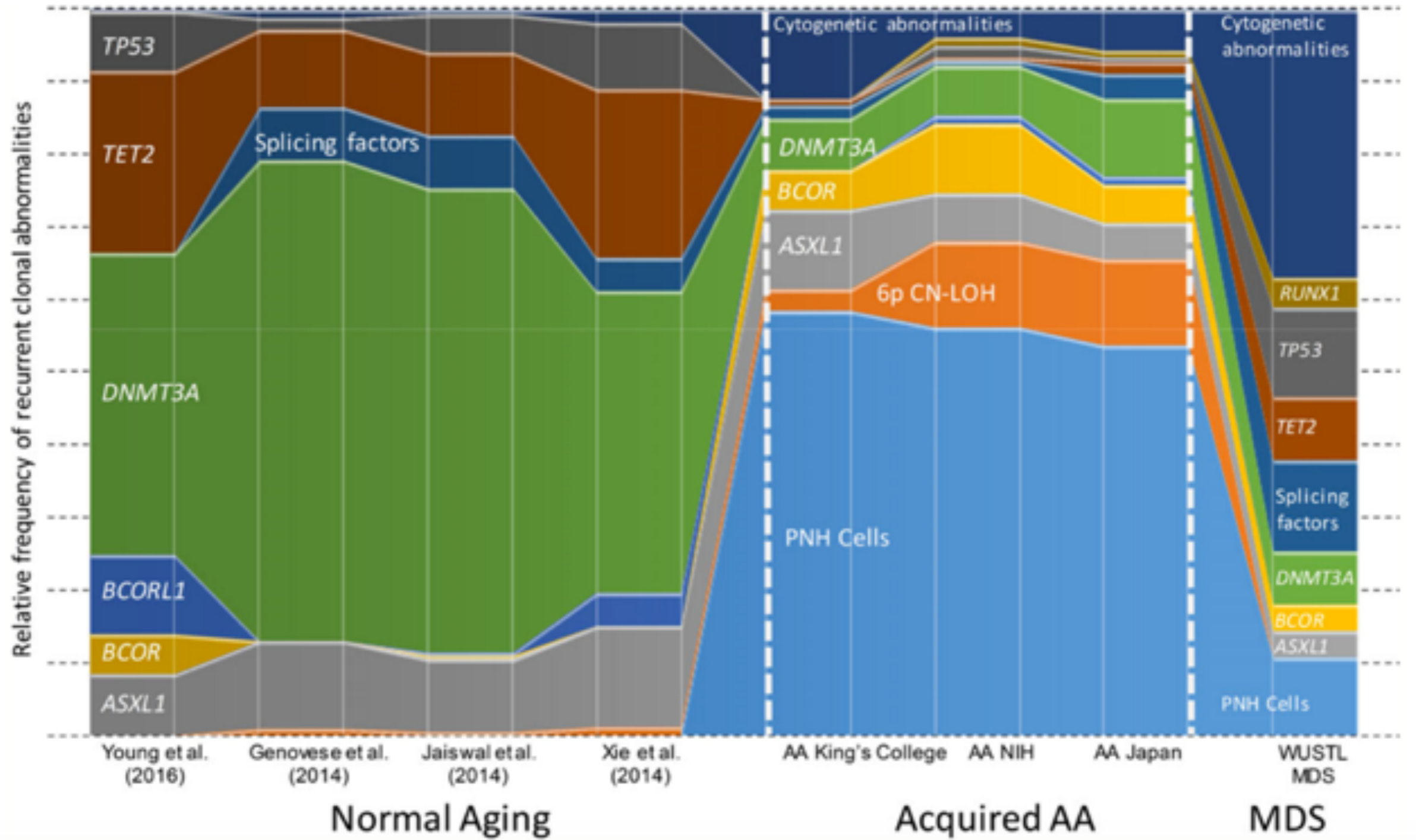


Κλωνική αιμοποίηση με την πρόοδο της ηλικίας (Age-related clonal hematopoiesis)

- Με τη πρόοδο της ηλικίας αυξάνεται η συχνότητα των μεταλλάξεων —> **15%** σε 70-79 έτη, **25%** 80-89, και περίπου στο **43%** σε **>90 έτη!**
- Μεταλλάξεις πιο συχνά στα γονίδια **TET2, DNMT3A, ASXL1**
- Μεταλλάξεις σε αυτά και σε ασθενείς με **AA**, αλλά δεν είναι γνωστό κατά πόσο είναι το **αποτέλεσμα της ηλικίας ή προυπήρχαν...?**
- Πιθανά στην **AA** προυπάρχουν κάποιες **μεταλλάξεις** με την πρόοδο της ηλικίας που λειτουργούν ως **υπόβαθρο**, μαζί με το **στρες** της αιμοποίησης και μαζί με την ενεργοποίηση του **ανοσοποιητικού** συστήματος

Κλώνοι και Απλαστική Αναιμία

- 2005: Cynthia Dunbar (NIH) “...*the existence of a clone does not always indicate malignancy and the best example is aplastic anemia....*”
- Με τις νέες τεχνικές είναι γνωστό ότι υπάρχουν κλώνοι στην απλαστική αναιμία είτε ως **παθολογικός καρυότυπος** ή ως **σωματικές μεταλλάξεις**.
- Οι μεταλλάξεις στην απλαστική αναιμία αφορούν συνήθως όλα τα αιμοποιητικά κύτταρα —> η μετάλλαξη γίνεται σε κάποιο **αρχέγονο κύτταρο**



Μεταλλάξεις στην απλαστική αναιμία

- Α. Μεταλλάξεις που πιθανά δηλώνουν “διαφυγή” από το ανοσοποιητικό σύστημα (PIG-A, 6pLOH- functional loss of HLA and somatic HLA mutations, BCOR/BCORL1 mutations)
- Β. Μεταλλάξεις που σχετίζονται με ΜΔΣ/ΟΜΛ (ASXL1, BCOR/BCORL1, TP53, RUNX1, TET2,
- Γ. Μεταλλάξεις σε γονίδια age-related clonal hematopoiesis (TET2, DNMT3A, ASXL1,...)
- Δ. STAT3 somatic mutations: σύνδεση με LGL clones
- Ε. GATA-2 mutations
- Ζ. Germline mutations?????

Κυτταρογενετικές ανωμαλίες στην απλαστική αναιμία

- Με τις νέες τεχνικές ~ 20% των ασθενών με ΑΑ έχουν επίκτητες κυτταρογενετικές ανωμαλίες
- Πιο συχνές είναι $-7/\text{del}(7q)$, τρισωμία 8, $\text{del}(13q)$, τρισωμία 6, τρισωμία 15, τρισωμία 21.
- Οι ασθενείς με $-7/\text{del}(7q)$ έχουν χειρότερη πρόγνωση
- Οι ασθενείς με τρισωμία 8, και $\text{del}(13q)$ έχουν καλύτερη ανταπόκριση στην ΙST και καλύτερη πρόγνωση

Μεταλλάξεις που σχετίζονται με κακοήθειες μυελικής σειράς-ΜΔΣ/ΟΜΛ

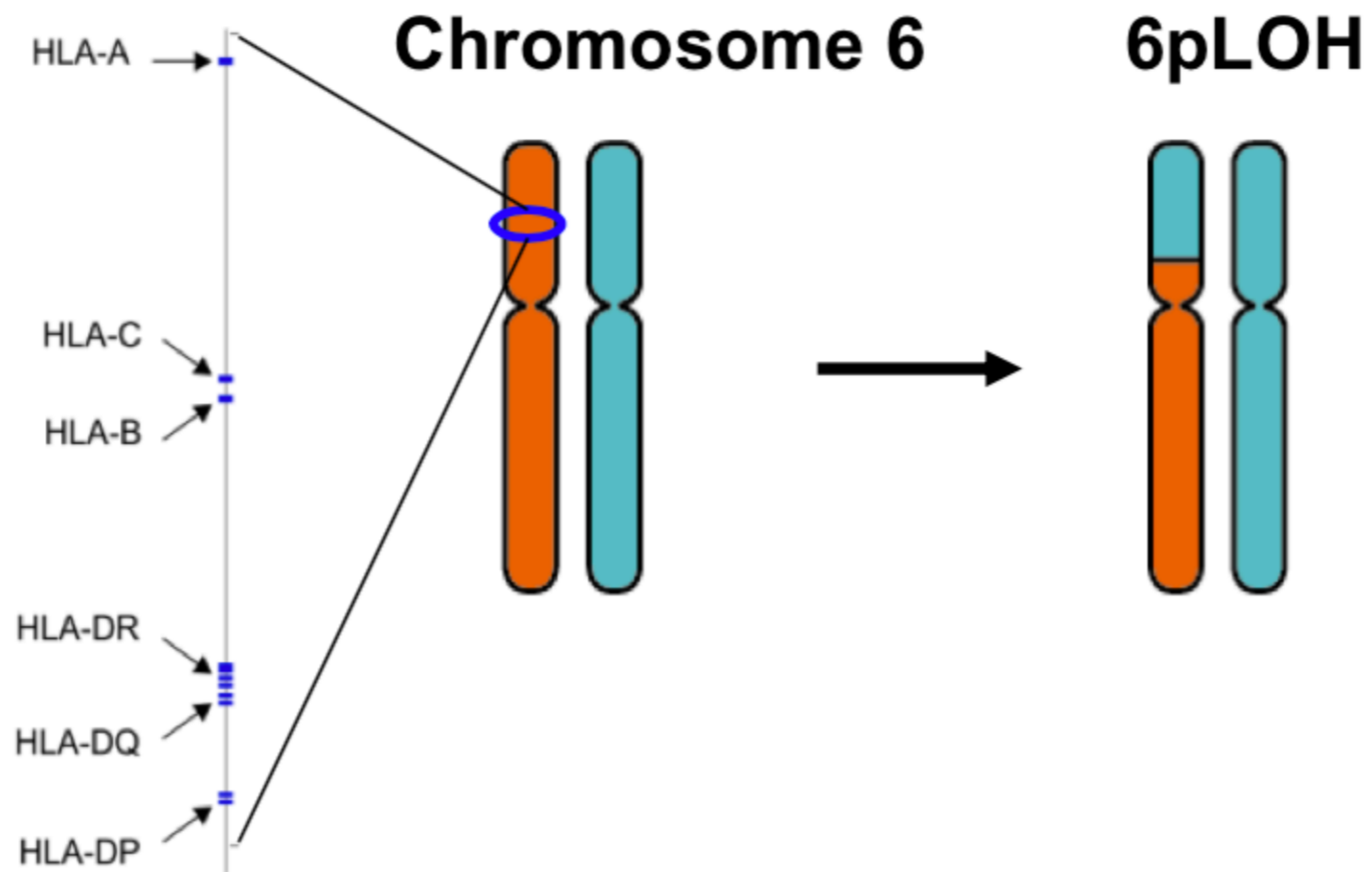
- Διαφορές ως προς τη **συχνότητα** και το **μέγεθος** του **κλώνου** σε ΜΔΣ vs ΑΑ
- Σε νεότερες μελέτες οι μεταλλάξεις στα γονίδια αυτά φτάνουν στο **33%** των ασθενών
- Ο **κλώνος** που φέρει τη μετάλλαξη στην ΑΑ είναι **μικρότερος** σε σχέση με τα ΜΔΣ
- **Συχνότητα** των μεταλλάξεων στα διάφορα γονίδια είναι διαφορετική (λιγότερο συχνά μεταλλάξεις στο TET2, RUNX1, JAK2, TP53)
- Ο **αριθμός** των μεταλλάξεων είναι **μικρότερος** στην απλαστική αναιμία (μέσος όρος **1** σε σχέση με **3** στα ΜΔΣ)

- Η παρουσία των μεταλλάξεων αυτών —> κακή πρόγνωση (DNMT3A, TET2, RUNX1, TP53) —> συνήθως σε άντρες, μεγαλύτερη ηλικία, μικρότερο % ΔΕΚ κατά την εμφάνιση του νοσήματος, χειρότερη ανταπόκριση στην IST και χειρότερη επιβίωση σε σχέση με τις “καλές” μεταλλάξεις (PIG-A, BCOR/BCORL1).
- Οι κλώνοι αυτοί τείνουν να μεγαλώνουν με τη πάροδο του χρόνου
- Τα παιδιά με AA έχουν λιγότερο συχνά μεταλλάξεις στα γονίδια που συνδέονται με ΜΔΣ/ΟΜΛ

Μεταλλάξεις στο PIG-A και Απλαστική αναιμία

- Παρουσία PNH κλώνου → 50% των ασθενών με AA, συνήθως σημαίνει καλή ανταπόκριση στην ανοσοκατασταλτική θεραπεία
- Συνήθως οι ασθενείς αυτοί δεν εξελίσσονται σε ΜΔΣ/ΟΜΛ
- Σε διάφορες μελέτες η παρουσία μεταλλάξεων PIG-A μόνο σε ασθενείς με κλώνο >10% με κυτταρομετρία ροής
- 35% των ασθενών με μεταλλάξεις PIG-A έχουν δύο ή περισσότερες μετάλλαξεις στο ίδιο γονίδιο
- Πιθανά, τα κύτταρα με την PIG-A μετάλλαξη έχουν πλεονέκτημα και επιβιώνουν από τα κυτταροτοξικά T κύτταρα που καταστρέφουν τα HSC

6pLOH



- 6pLOH: περιοχή του γενετικού τόπου του **MHC**

6pLOH

- Στο **19%** των ασθενών με ΑΑ υπάρχει επίκτητη 6pLOH
- 6pLOH: **χαρακτηριστική ανωμαλία** για την ΑΑ (μόνο στο 1% των ασθενών με ΜΔΣ, και στο 0,09% στο γενικό πληθυσμό)
- 6pLOH: συνοδεύεται από απώλεια συγκεκριμένων HLA αλληλίων (HLA-A*02:01, HLA-B*40:02,)
- Πολύ συχνά σε ασθενείς με HLA-B*40:02 —> καλύτερη ανταπόκριση σε IST και δεν εξελίσσονται σε ΜΔΣ
- Αυτά τα αλλήλια πιθανά παρουσιάζουν κάποιο **αντιγόνο** που αποτελεί **στόχο για τα CTLs**
- Έτσι, τα κύτταρα με 6pLOH **επιβιώνουν** από τα CTLs, αφού τους **λείπει το αντιγόνο-στόχος** από τα HLA αλλήλια που λείπει λόγω της 6pLOH

Sustained clonal hematopoiesis by HLA-lacking hematopoietic stem cells without driver mutations in aplastic anemia

Tatsuya Imi,^{1,*} Takamasa Katagiri,^{2,*} Kazuyoshi Hosomichi,³ Yoshitaka Zaimoku,¹ Viet Hoang Nguyen,¹ Noriharu Nakagawa,¹ Atsushi Tajima,³ Tetsuichi Yoshizato,⁴ Seishi Ogawa,⁴ and Shinji Nakao¹

¹Department of Hematology and ²Department of Clinical Laboratory Sciences, Graduate School of Medical Sciences, and ³Department of Bioinformatics and Genomics, Graduate School of Advanced Preventive Medical Sciences, Kanazawa University, Kanazawa, Japan; and ⁴Pathology and Tumor Biology, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto, Japan

- Τα HSCs με **δpLOH** έχουν την ικανότητα να “**ξεφεύγουν**” από τα **CTLs** και **δεν εμφανίζουν** στη πορεία άλλες μεταλλάξεις. Τα HSCs μπορούν να **διατηρούν την αιμοποίηση**
- Πιθανά τα CTLs **καταστρέφουν πιο εύκολα** τα HSCs που φέρουν **μεταλλάξεις** και έτσι επιβιώνουν αυτά με **δpLOH**

“Γενετικές” μεταλλάξεις και ΑΑ

- ~5% (5-10%??) των ασθενών με ΑΑ, **χωρίς** να υπάρχει οικογενειακό **ιστορικό** ή **χαρακτηριστικά στίγματα** μπορεί με NGS να βρεθούν γενετικές μεταλλάξεις
- Συνήθως αφορά **νέα** άτομα ή παιδιά
- Έχει **σημασία** για την **επιλογή της θεραπείας** και για το σχήμα πριν τη μεταμόσχευση
- Συχνότερα γονίδια GATA2, RUNX1, SBDS, DNA repair deficiency genes-LIG4

Γενετικές μεταλλάξεις και ΑΑ

Table 1. Constitutional Marrow Failure Syndromes in Adults.*

Syndrome	Hematologic Presentation	Clinical Features	Genetic Features	Pathophysiological Features
Telomere diseases	SAA in childhood; MAA, macrocytic anemia, thrombocytopenia in adulthood	Early hair graying, pulmonary fibrosis, hepatic cirrhosis	<i>DKC1, TERT, TERC, RTEL1</i> , other rare mutations	Deficient telomere repair (telomerase enzyme complex), inadequate telomere protection (shelterin proteins)
Fanconi anemia	SAA in childhood; rare presentation as bone marrow failure, MDS, AML in adulthood	Short stature, café-au-lait spots, skeletal and urogenital anomalies	17 FANC genes	Deficient repair of interstrand DNA cross-links
<i>GATA2</i> deficiency	SAA, MDS, AML	Persistent and unusual infection (e.g., warts)	<i>GATA2</i>	Unknown
<i>CTLA4</i> deficiency	AA with low IgG	Intestinal disease, adenopathy, infection, autoimmunity	<i>CTLA4</i>	Immune de-repression

Neal S Young, NEJM October 25th 2018

CLINICAL TRIALS AND OBSERVATIONS

GATA2 deficiency-associated bone marrow disorder differs from idiopathic aplastic anemia

Karthik A. Ganapathi,¹ Danielle M. Townsley,² Amy P. Hsu,³ Diane C. Arthur,¹ Christa S. Zerbe,³ Jennifer Cuellar-Rodriguez,³ Dennis D. Hickstein,⁴ Sergio D. Rosenzweig,⁵ Raul C. Braylan,⁶ Neal S. Young,² Steven M. Holland,³ and Katherine R. Calvo⁶

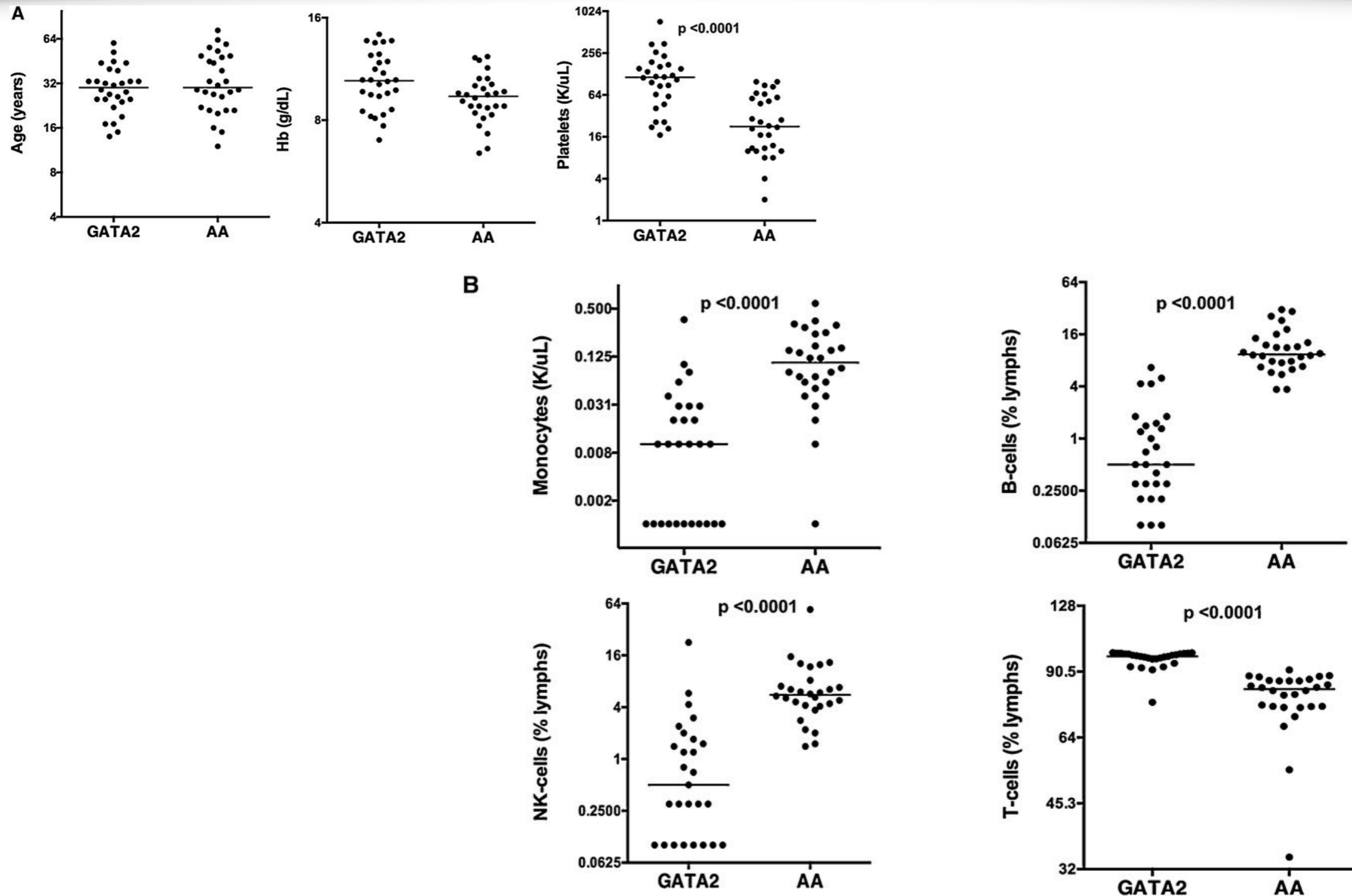
BLOOD, 1 JANUARY 2015 • VOLUME 125, NUMBER 1

- Η έλλειψη στο GATA2 μπορεί να μιμείται ιδιοπαθή ΑΑ
- Οι ασθενείς με GATA2 έχουν μεγαλύτερη κυτταροβρίθεια, περισσότερα και άτυπα ΜΚΚ, και διαφορές στο περιφερικό αίμα
- Η απουσία μονοκυττάρων, ΝΚ και Β λεμφοκυττάρων, τα αυξημένα CD57+ Τ κύτταρα, και η αναστροφή λόγου CD4:CD8 μπορούν να το δδ από την ΑΑ.
- Προδιαθέτει για ΟΜΛ

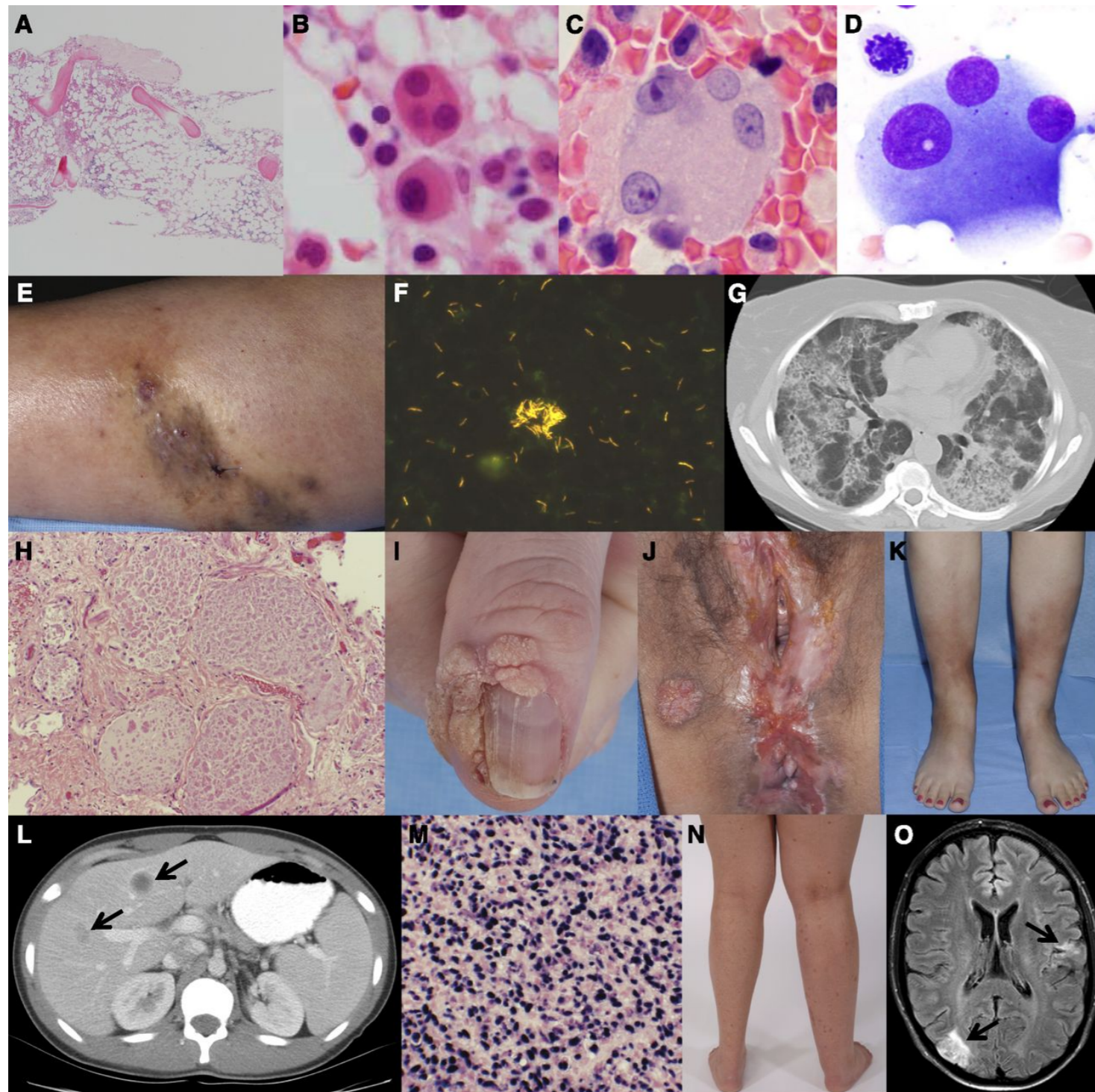
GATA2 deficiency-associated bone marrow disorder differs from idiopathic aplastic anemia

Karthik A. Ganapathi, Danielle M. Townsley, Amy P. Hsu, Diane C. Arthur, Christa S. Zerbe, Jennifer Cuellar-Rodriguez, Dennis D. Hickstein, Sergio D. Rosenzweig, Raul C. Braylan, Neal S. Young, Steven M. Holland, and Katherine R. Calvo

Blood 2015 125:56-70; doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2014-06-580340>

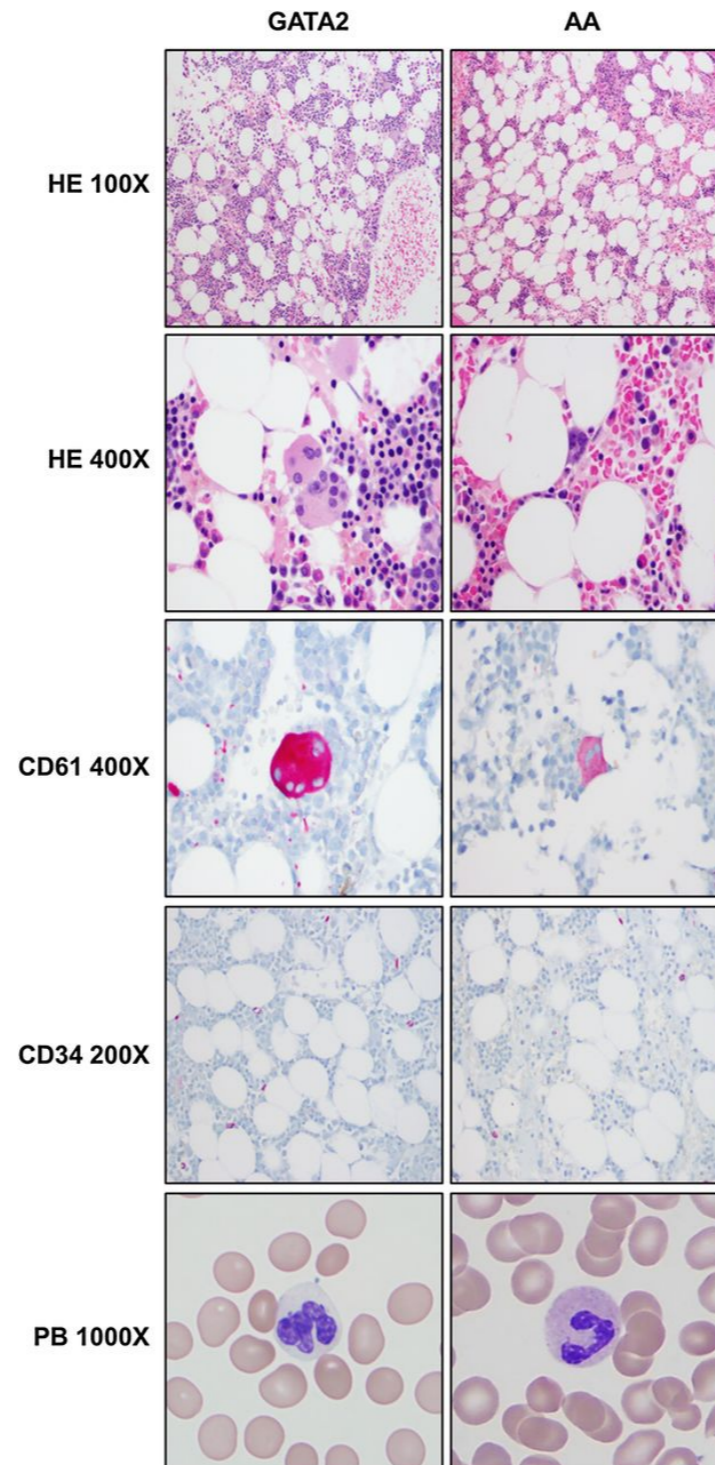


Clinical, pathologic, and radiographic features of GATA2 deficiency.



- Υποπλαστικός μυελός, Δυσπλαστικά ΜΚΚ, έλλειψη μονοκυττάρων, λοίμωξη από μυκοβακτηρίδια (όχι φυματίωσης), οζώδες ερύθημα, έμφρακτα χωρίς ενδοκαρδίτιδα, κονδυλώματα,

Comparison of peripheral blood and bone marrow morphologic and immunohistochemical features between GATA2 and AA patients.



Karthik A. Ganapathi et al. Blood 2015;125:56-70

Μεταλλάξεις στην απλαστική αναιμία

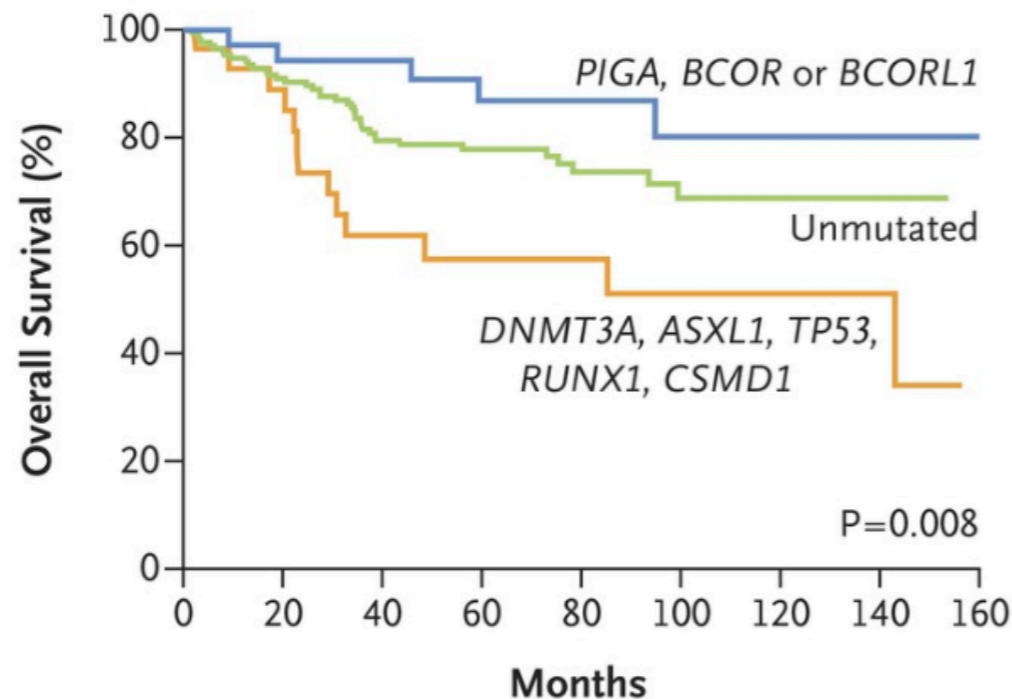
- Συμπερασματικά, **50%** των ασθενών με απλαστική αναιμία έχουν **σωματικές μεταλλάξεις** και στο 30% αφορούν στα γονίδια όπως στην ΜΔΣ/ΟΜΛ
- Δεν υπάρχει συμφωνία, αλλά οι περισσότερες μελέτες δείχνουν ότι οι μεταλλάξεις **δεν σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο για ΜΔΣ/ΟΜΛ**
- Οι **“καλές”** μεταλλάξεις (BCOR/BCORL1, PIGA) πιθανά αντιπροσωπεύουν **κλώνους** οι οποίοι έχουν **“διαφύγει”** από τη καταστροφική δράση του ανοσοποιητικού συστήματος
- Οι μεταλλάξεις μέχρι τώρα μπορούν να δείξουν ποιοί ασθενείς θα ανταποκριθούν σε **IST και την OS**

ORIGINAL ARTICLE

Somatic Mutations and Clonal Hematopoiesis in Aplastic Anemia

Tetsuichi Yoshizato, M.D., Bogdan Dumitriu, M.D., Kohei Hosokawa, M.D., Ph.D., Hideki Makishima, M.D., Ph.D., Kenichi Yoshida, M.D., Ph.D., Danielle Townsley, M.D., Aiko Sato-Otsubo, Ph.D., Yusuke Sato, M.D., Delong Liu, Ph.D., Hiromichi Suzuki, M.D., Colin O. Wu, Ph.D., Yuichi Shiraishi, Ph.D., Michael J. Clemente, M.S., Keisuke Kataoka, M.D., Ph.D., Yusuke Shiozawa, M.D., Yusuke Okuno, M.D., Ph.D., Kenichi Chiba, Ph.D., Hiroko Tanaka, B.A., Yasunobu Nagata, M.D., Ph.D., Takamasa Katagiri, Ph.D., Ayana Kon, M.D., Masashi Sanada, M.D., Ph.D., Phillip Scheinberg, M.D., Satoru Miyano, Ph.D., Jaroslaw P. Maciejewski, M.D., Ph.D., Shinji Nakao, M.D., Ph.D., Neal S. Young, M.D., and Seishi Ogawa, M.D., Ph.D.

B Overall Survival



Οι μεταλλάξεις αυτές δεν δείχνουν κλωνική εξέλιξη αλλά μόνο OS και πιθανά ανταπόκριση στην IST

Μεταλλάξεις στην απλαστική αναιμία-ξέρουμε τι σημαίνουν.....?Αναπάντητα ερωτήματα...

- Τι κάνει τους κλώνους στην απλαστική αναιμία σταθερούς και γιατί ενώ υπάρχουν οι ασθενείς αυτοί δεν εξελίσσονται σε ΜΔΣ/ΟΜΛ
- Πως αυτές οι σωματικές μεταλλάξεις σχετίζονται με την παθοφυσιολογία της ΑΑ?
- Πως το ανοσοποιητικό σύστημα συμβάλλει στη δημιουργία τόσων διαφορετικών κλώνων?
- Μήπως οι κλώνοι-μεταλλάξεις αυτές προϋπήρχαν και το ενεργοποιημένο ανοσοποιητικό σύστημα δεν μπορεί να τις καταστρέψει —> πλεονέκτημα επιβίωσης σε σχέση με άλλες μεταλλάξεις???
- Πιθανά κάποιες μεταλλάξεις να κάνουν τα HSCs πιο ευάλωτα στη δράση του ανοσοποιητικού συστήματος???

Grading of severity of Aplastic Anemia:

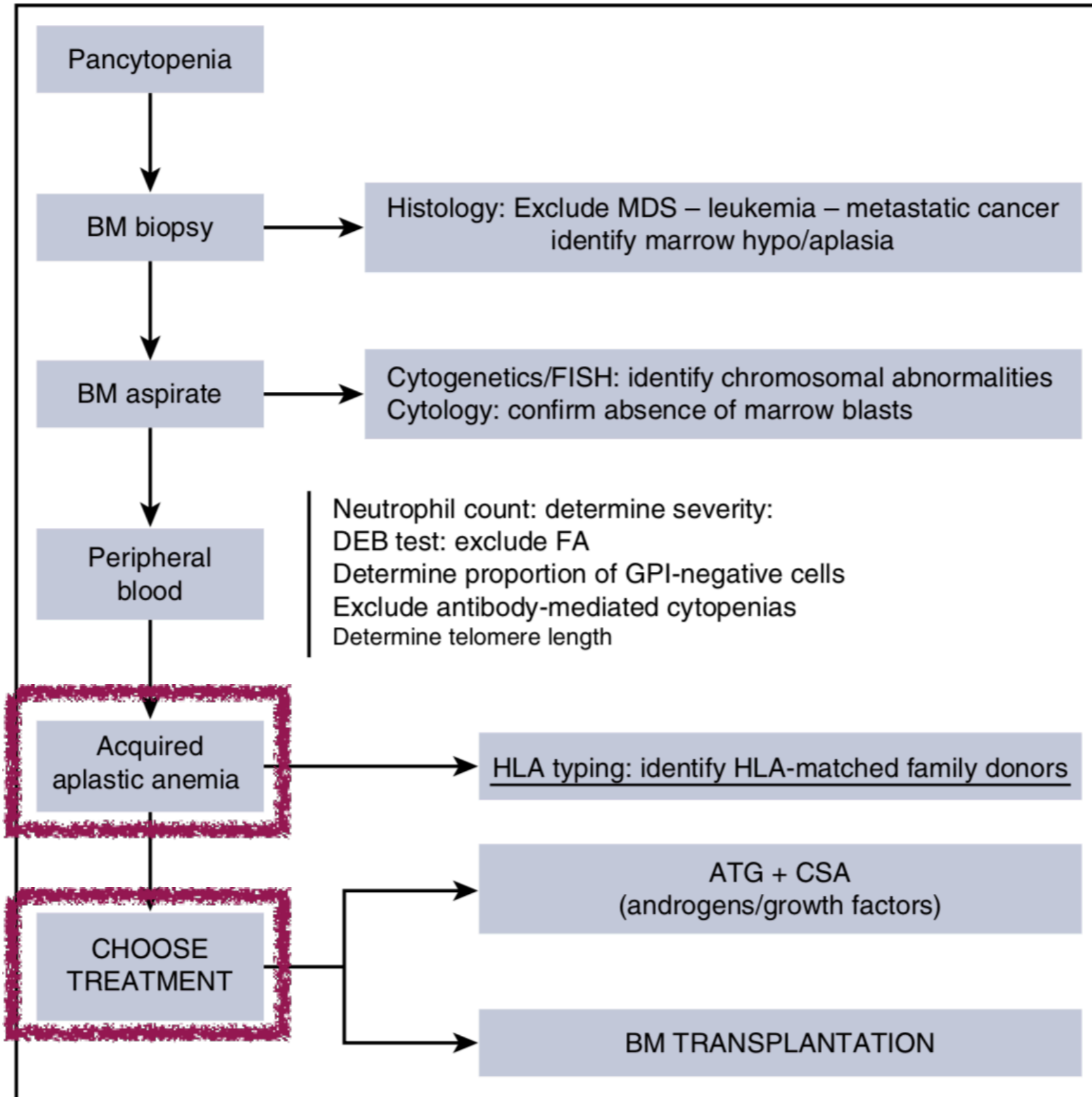
Marrow cellularity < 30%

Severe Aplastic Anemia: Peripheral Blood: two of three values:
ANC < 500
PLT < 20.000
Reticulocytes < 1% or <20.000 (absolute)

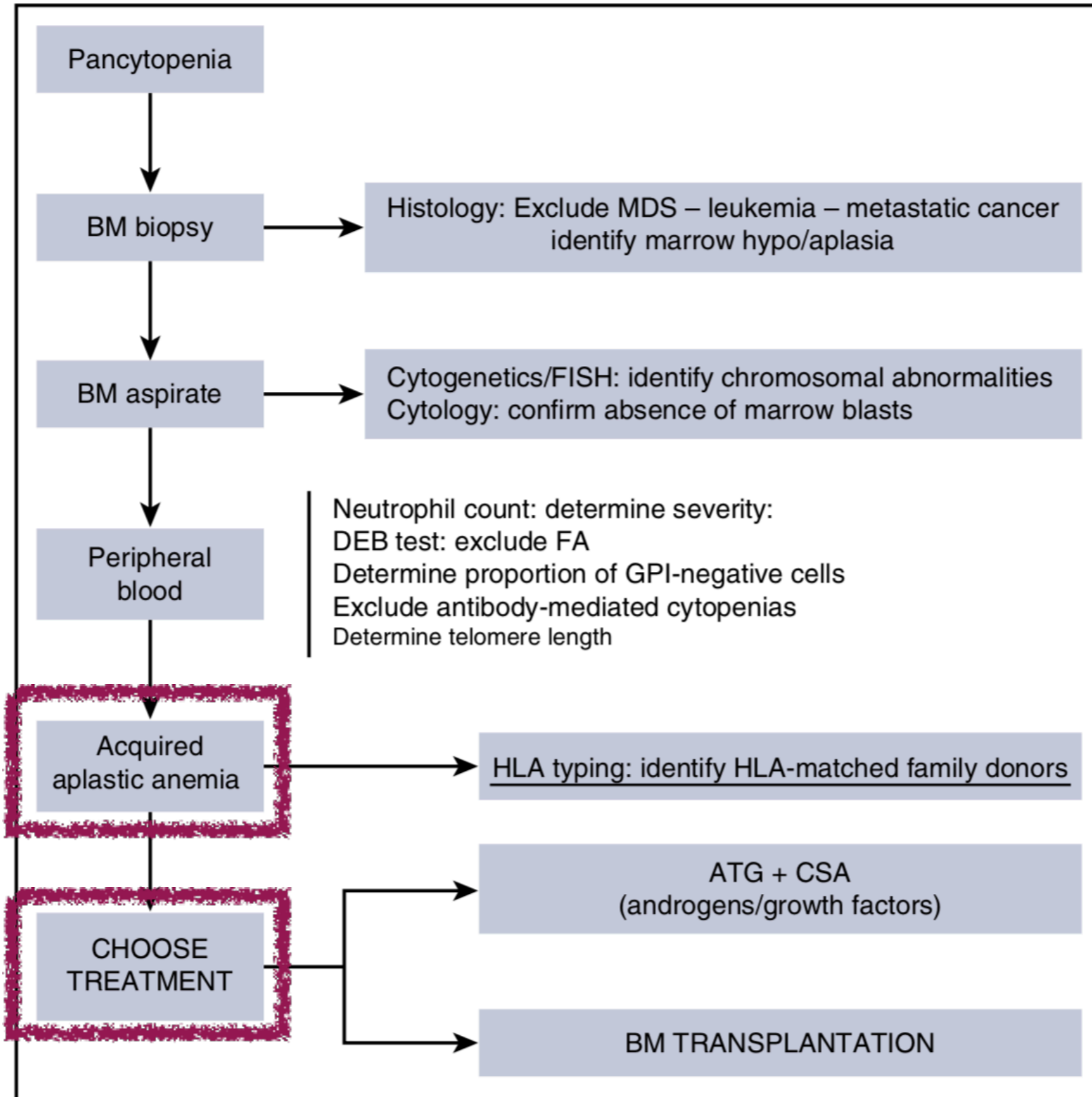
Very Severe Aplastic Anemia: As above but ANC < 200

Nonsevere (moderate) Aplastic Anemia: Marrow cellularity < 30%
ANC > 500
RBC or PLT transfusion dependent

Diagnostic procedure in pancytopenia



Diagnostic procedure in pancytopenia



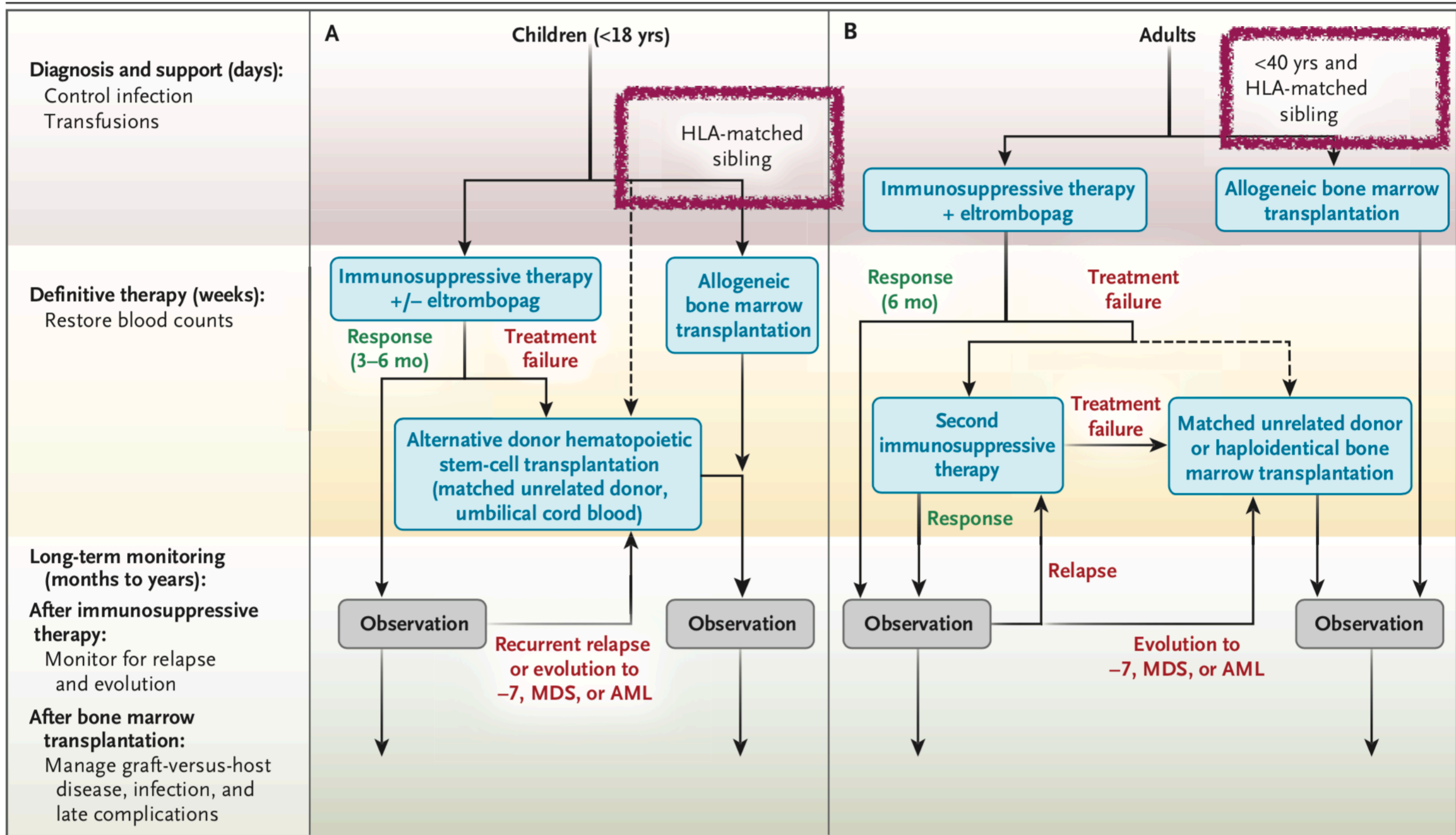
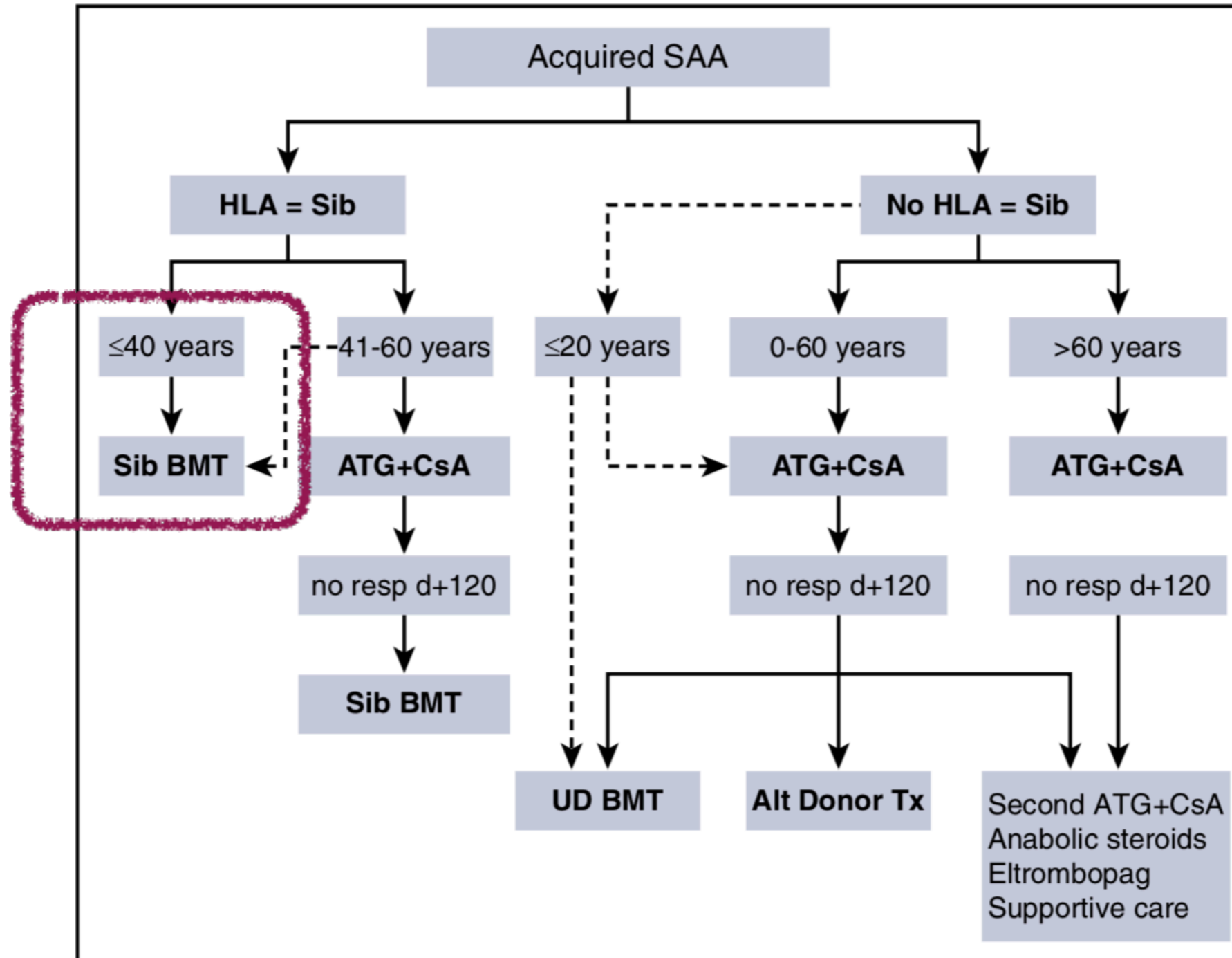


Figure 3. Treatment Algorithms for Patients with Immune Aplastic Anemia.

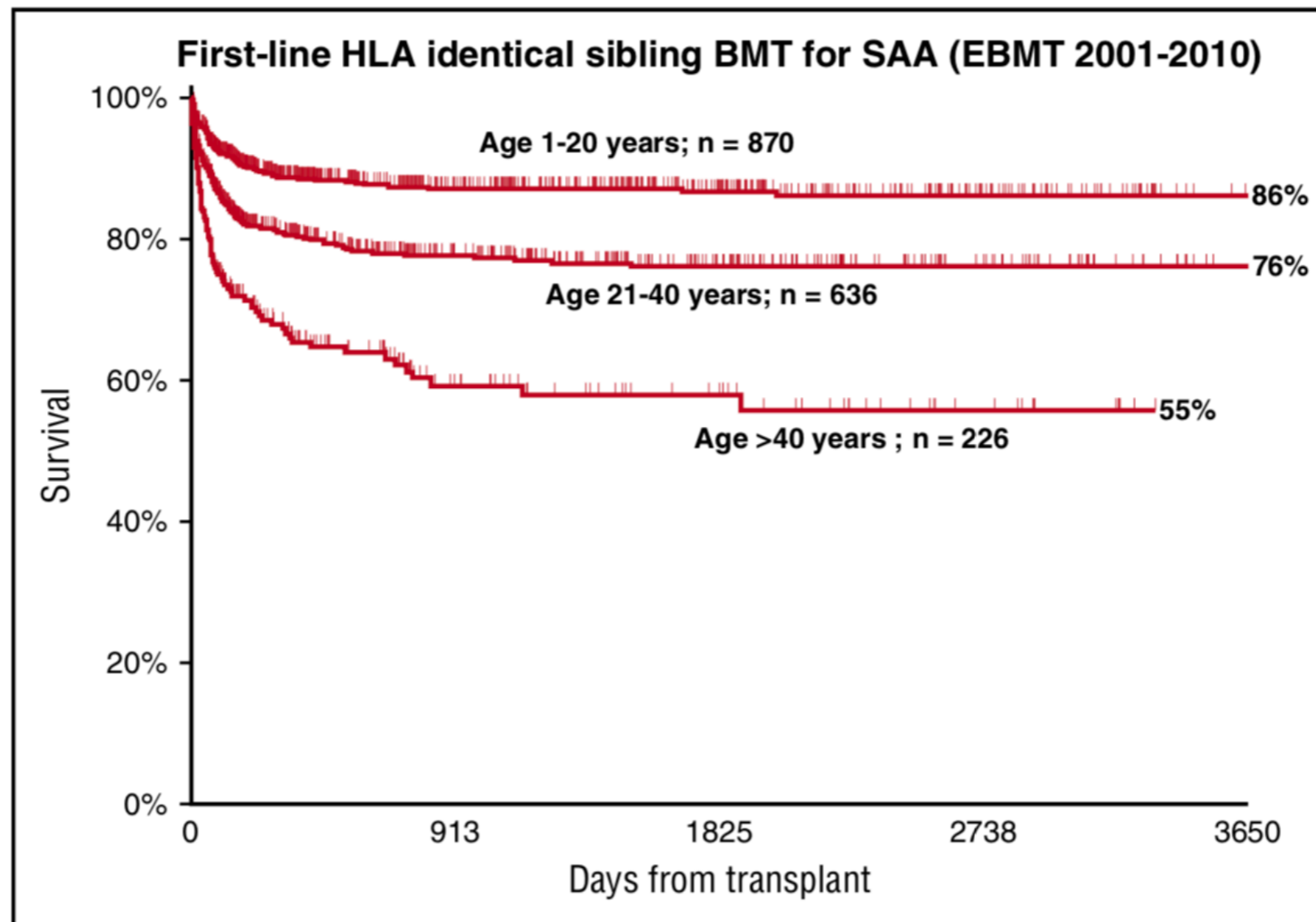
BMT for Acquired Aplastic Anemia



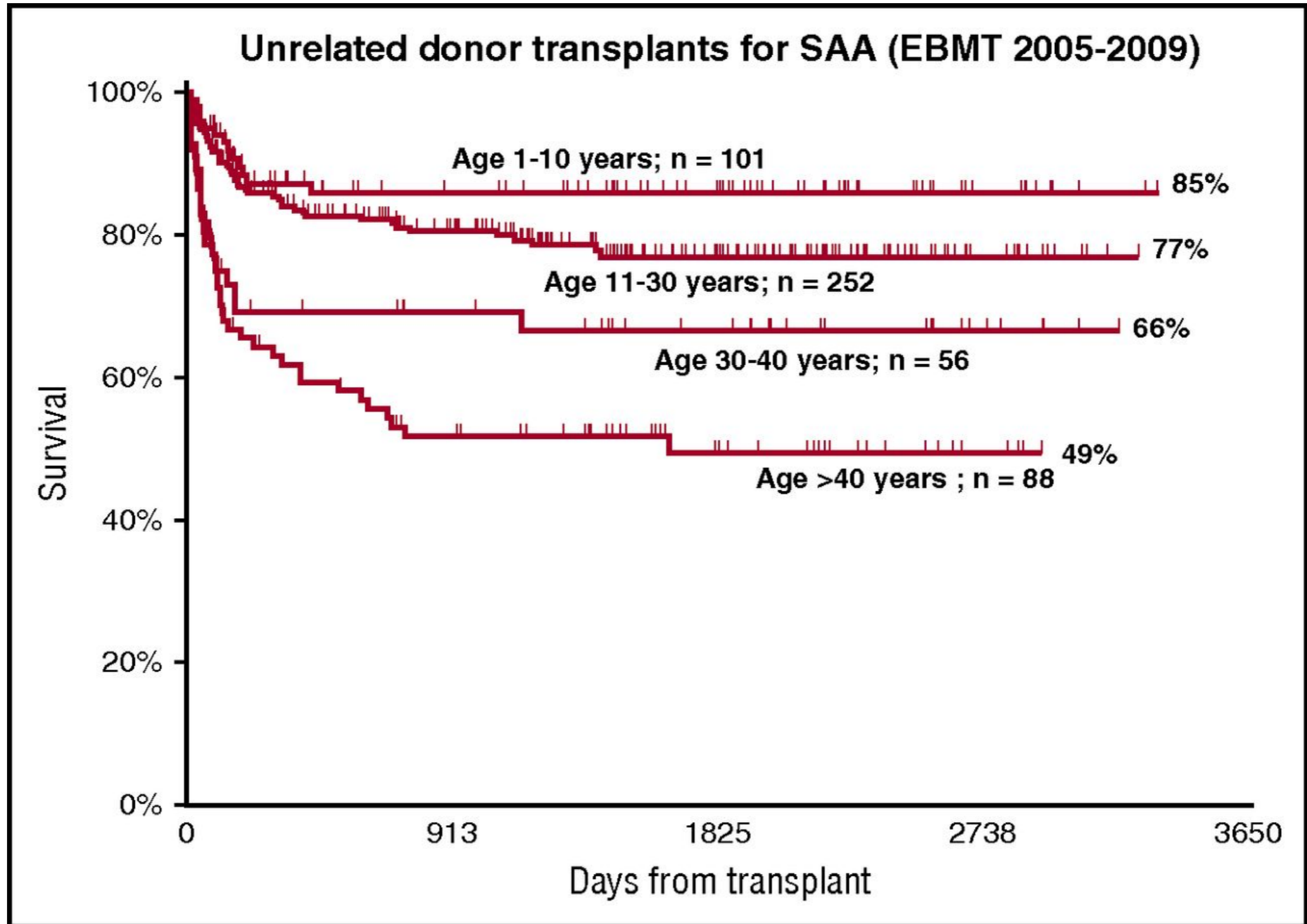
What to consider for BMT for Acquired Aplastic Anemia

- Age
- BM Vs Peripheral blood (source of graft)
- Conditioning regimen (+ATG)
- Acute and chronic GvHD
- Time- when to transplant?
- Related Vs Unrelated /Cord blood

The Age-effect on survival after HLA-identical BMT as first line treatment in AA



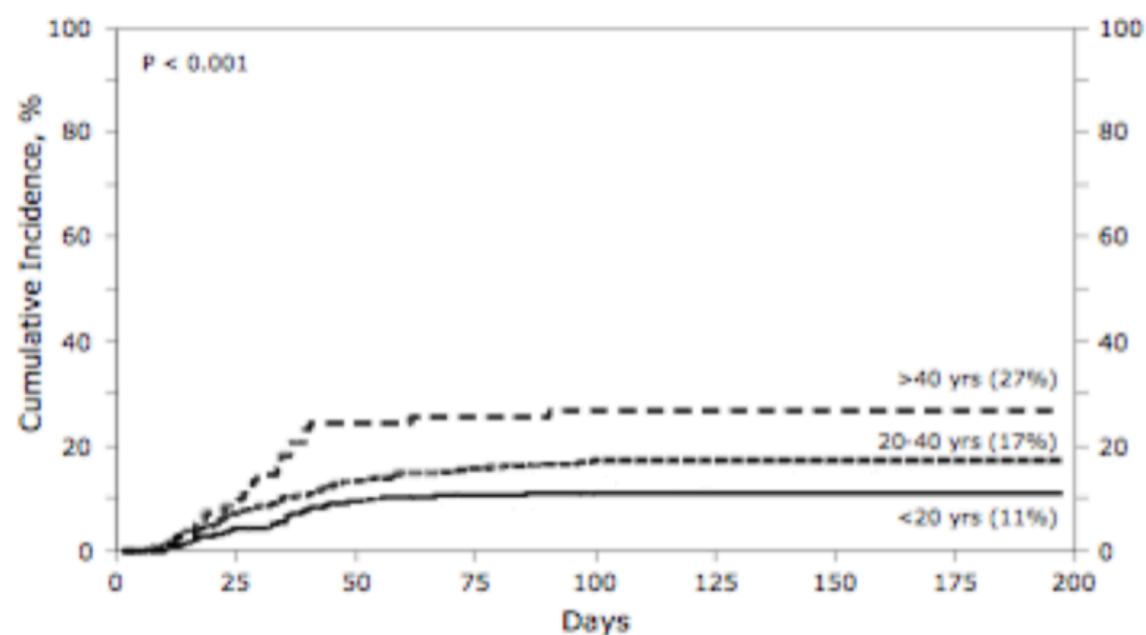
The age effect in UD transplants: best outcome is seen for very young patients, for whom first-line UD BMT may be considered.



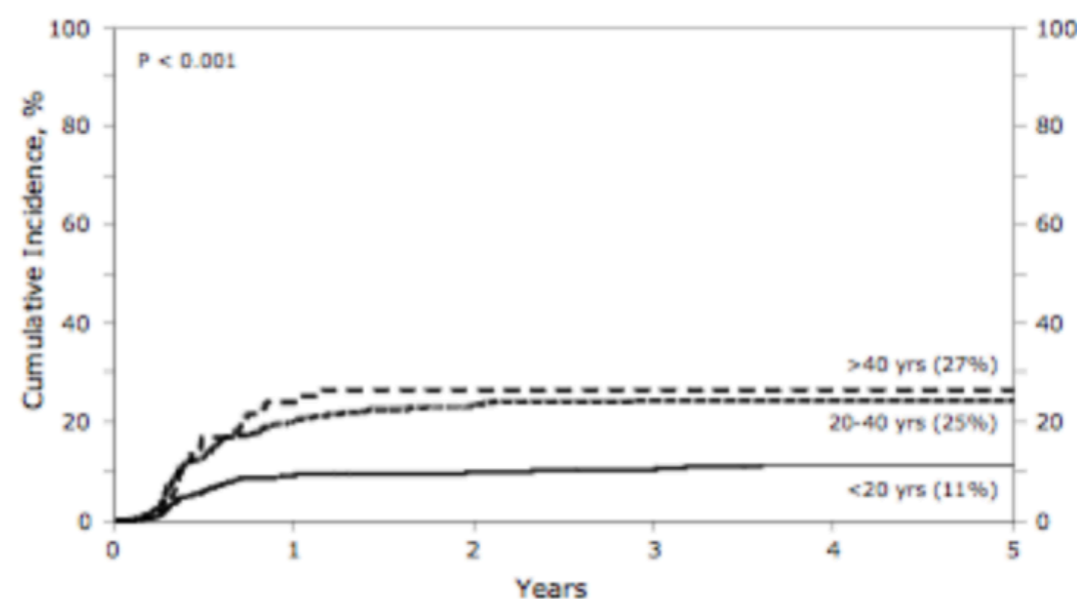
Andrea Bacigalupo Blood 2017;129:1428-1436



AGE AND OUTCOME OF BMT IN SAA CENTER FOR INTERNATIONAL BLOOD AND MARROW TRANSPLANTATION RESEARCH



acute GVHD, II-IV
day 100 cumulative incidence



chronic GVHD
5 year cumulative incidence

cGVHD risk equal for all >20 yrs old
half patients had extensive cGVHD
cGVHD risk higher with poor PS

Risk factors for BMT in AA

- ATG should be used for conditioning in AA BMT (it seems rATG to be superior than hATG)
- Age (<20 yrs)
- Stem cell source: BM is better than PB
- BMT should be performed ASAP (< 180 d from diagnosis)
- HLA-matched sibling donor
- CMV status

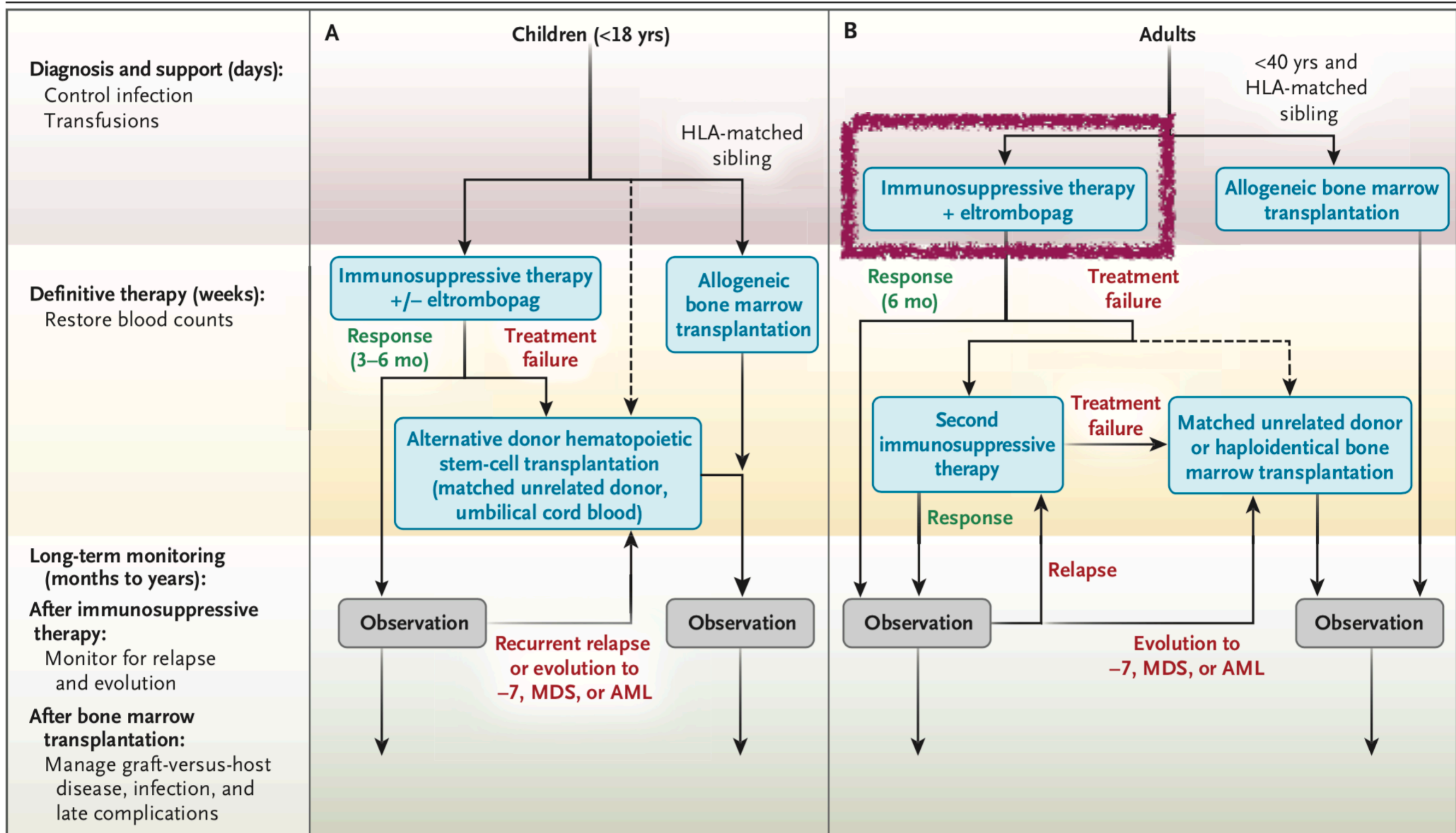
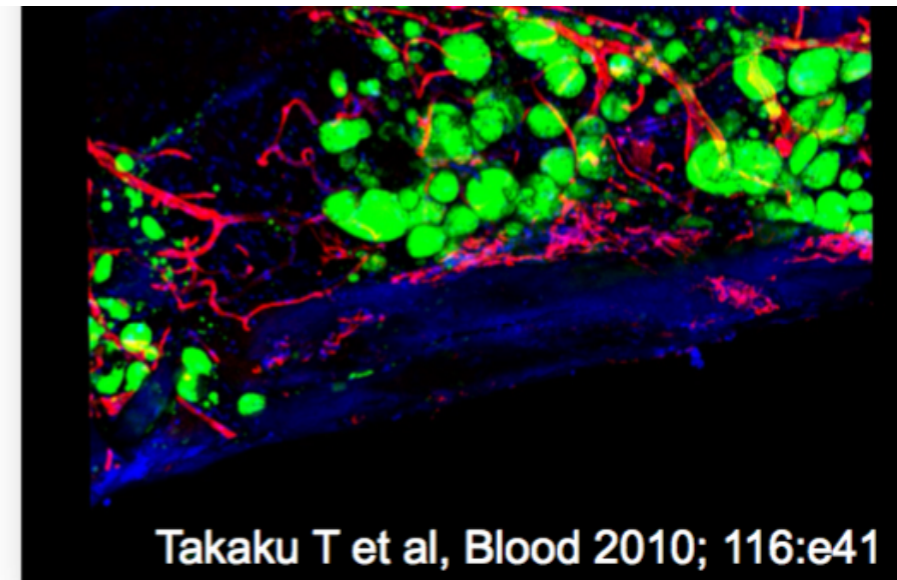
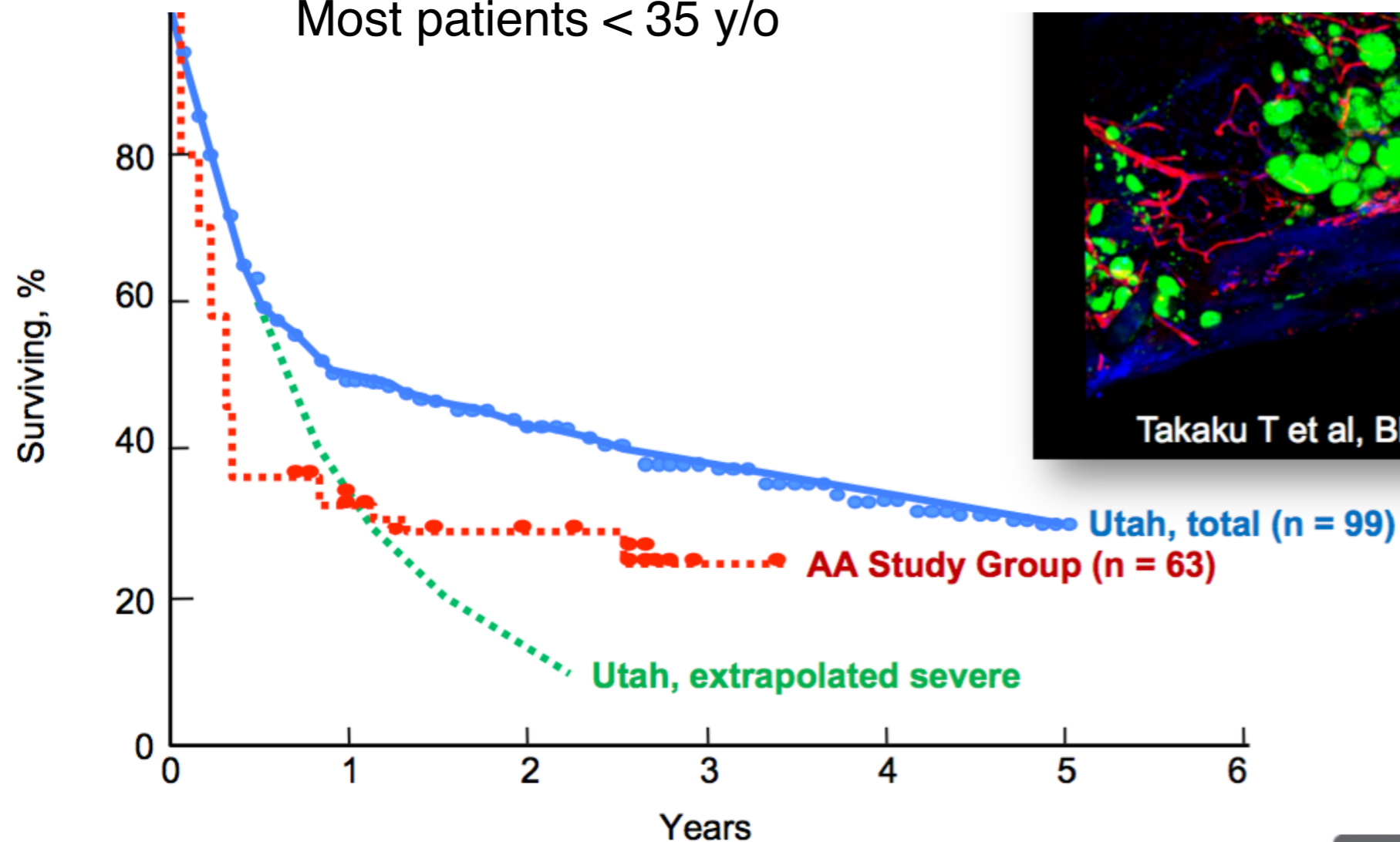


Figure 3. Treatment Algorithms for Patients with Immune Aplastic Anemia.

Immunosuppressive Treatment (IST) in Aplastic Anemia

High mortality with supportive care only
apx. 80-90% mortality in 1-2 years
Most patients < 35 y/o



Camitta et al, Blood 1979; 53:504
Williams et al, Sem Hematol 1973; 10:195



ORIGINAL ARTICLE

Horse versus Rabbit Antithymocyte Globulin in Acquired Aplastic Anemia

Phillip Scheinberg, M.D., Olga Nunez, R.N., B.S.N., Barbara Weinstein, R.N., Priscila Scheinberg, M.S., Angélique Biancotto, Ph.D., Colin O. Wu, Ph.D., and Neal S. Young, M.D.

hATG VERSUS rATG IN SAA HEMATOLOGIC RESPONSES

	Horse ATG	Rabbit ATG	P value
3 months	37/60 (62%)	20/60 (33%)	0.003
6 months	41/60 (68%)	22/60 (37%)	< 0.001

Courtesy of N.S. Young

Predicting response to immunosuppressive therapy and survival in severe aplastic anaemia

Phillip Scheinberg,¹ Colin O. Wu,²
Olga Nunez¹ and Neal S. Young¹

¹Hematology Branch, National Heart, Lung and
Blood Institute, National Institutes of Health, and

²Office of Biostatistics Research, National Heart,
Lung and Blood Institute, National Institutes of
Health, Bethesda, MD, USA

Summary

Horse anti-thymocyte globulin (h-ATG) and ciclosporin are the initial therapy for most patients with severe aplastic anaemia (SAA), but there is no practical and reliable method to predict response to this treatment. To determine whether pretreatment blood counts discriminate patients with SAA who have a higher likelihood of haematological response at 6 months to

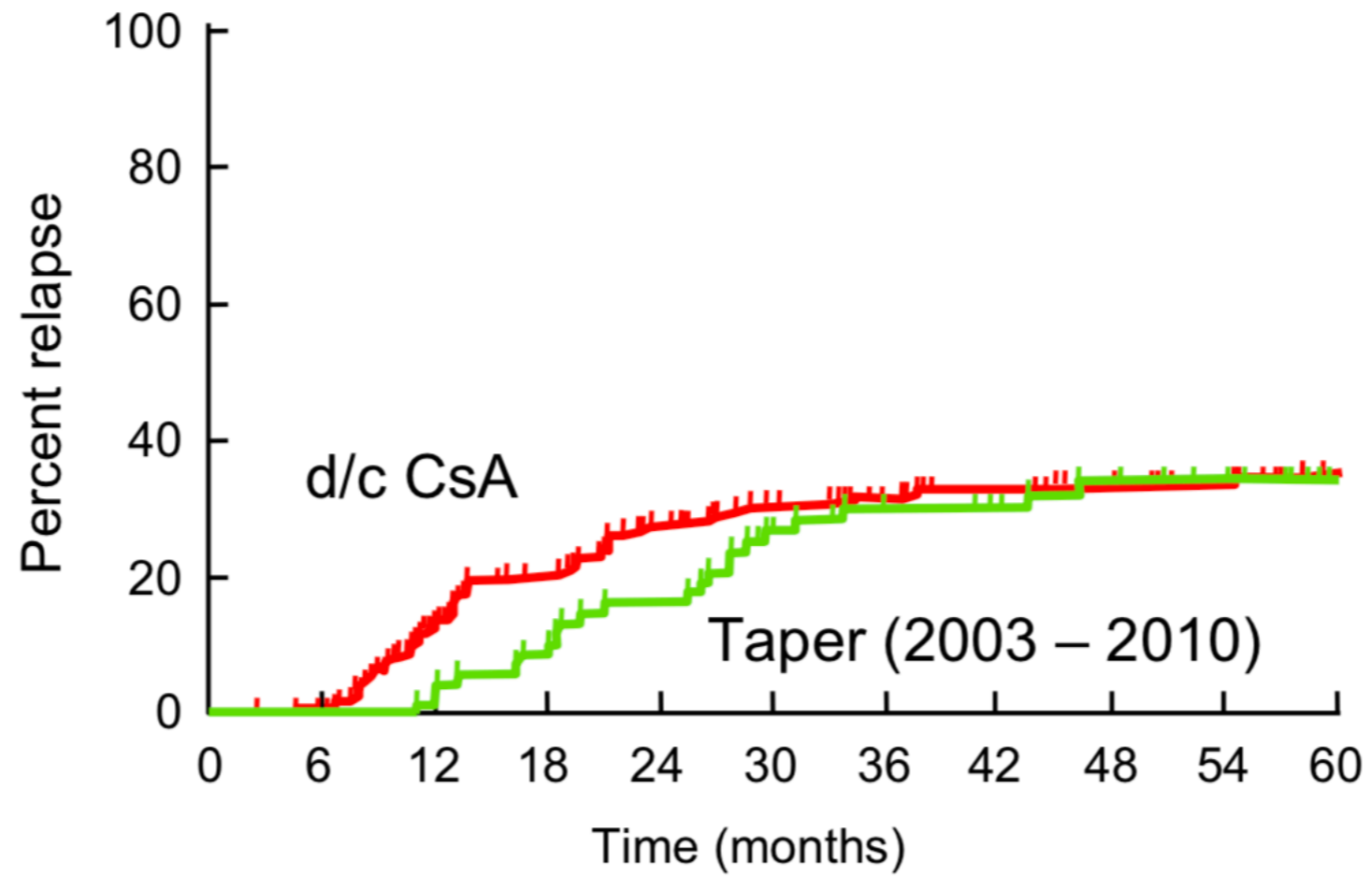
Younger patients, patients with ALC > 1000 and ARC >25.000 are more likely to show response in IST

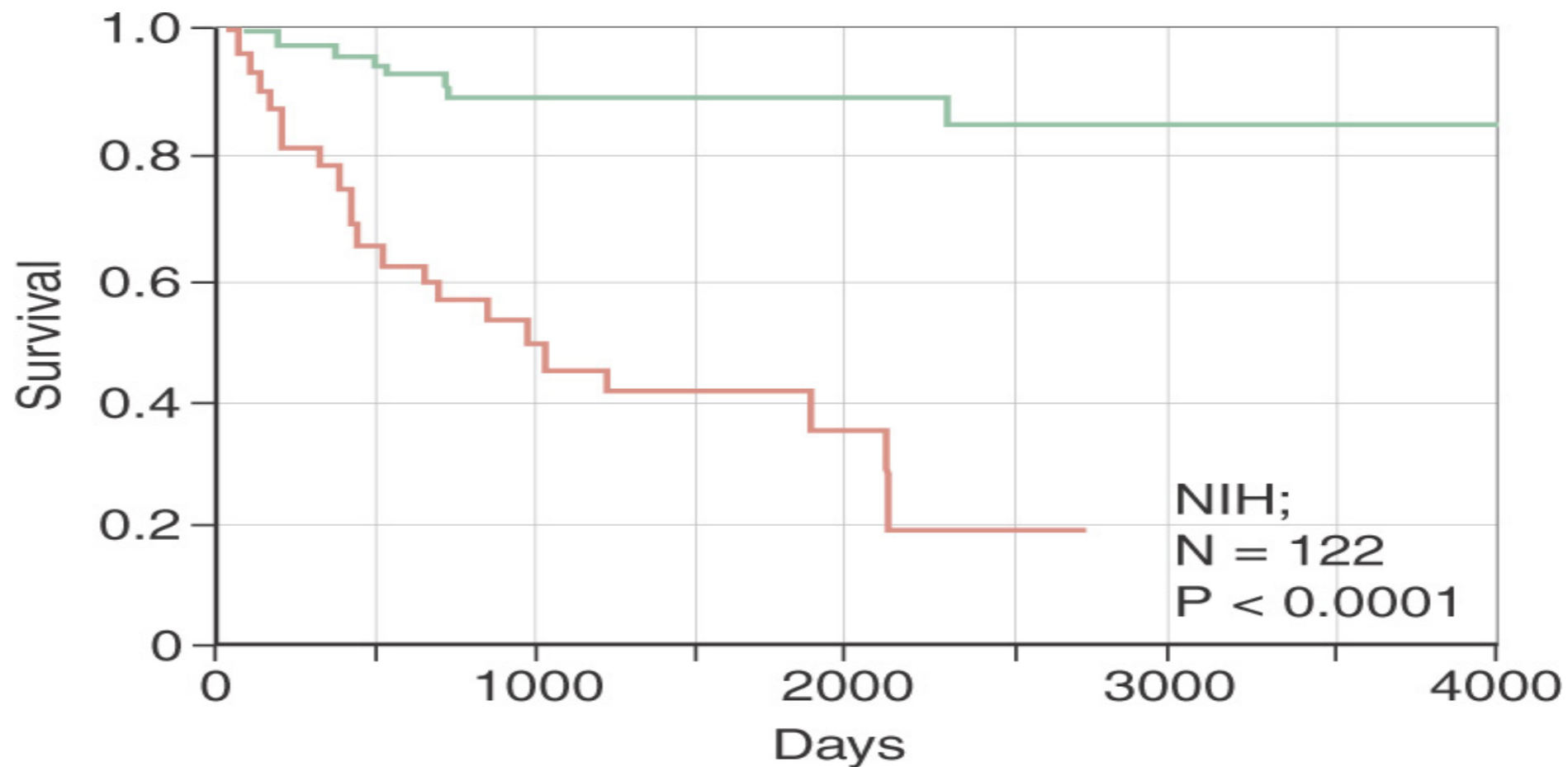
... were highly predictive of response at 6 months. Patients with baseline ARC $\geq 25 \times 10^9/l$ and ALC $\geq 1 \times 10^9/l$ had a much greater probability of response at 6 months following IST compared to those with lower ARC and ALC (83% vs. 41%, respectively; $P < 0.001$). This higher likelihood of response translated to greater rate of 5-year survival in patients in the high ARC/ALC group (92%) compared to those with a low ARC/ALC (53%). In the era of IST, the baseline ARC and ALC together serve as a simple predictor of response following IST, which should guide in risk stratification among patients with SAA.

Received 25 June 2008; accepted for publication
26 August 2008

Correspondence: Dr Phillip Scheinberg,
Hematology Branch, NHLBI, 10 Center Drive,
Building 10 CRC, Rm 3-5140, MSC 1202,
Bethesda, MD 20892-1202, USA.

PROLONGED CYCLOSPORINE THERAPY (ONLY) DELAYS RELAPSE





KEY

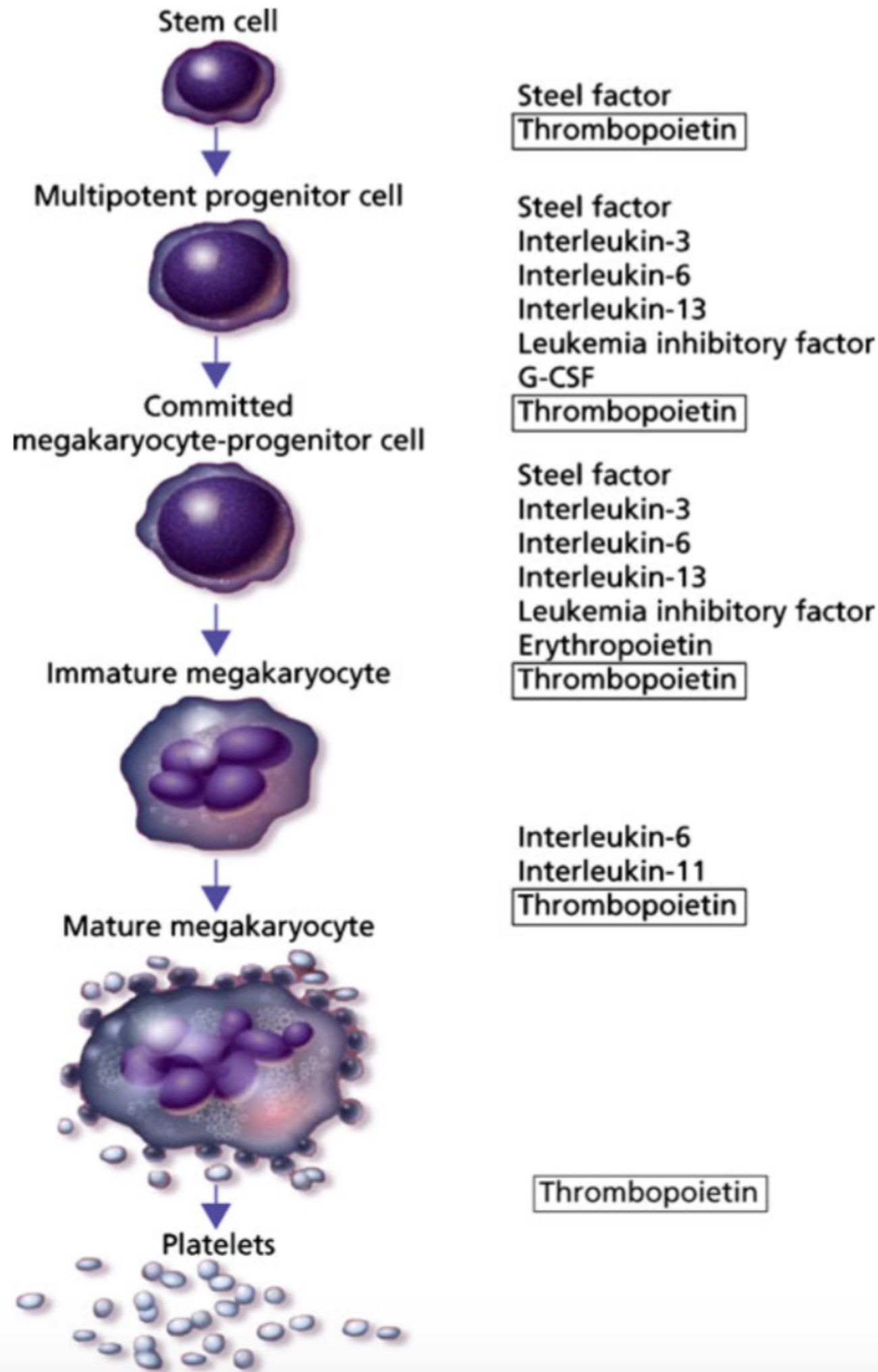
- Platelets or reticulocytes $\geq 50 \times 10^3/\mu\text{L}$
- Platelets or reticulocytes $< 50 \times 10^3/\mu\text{L}$

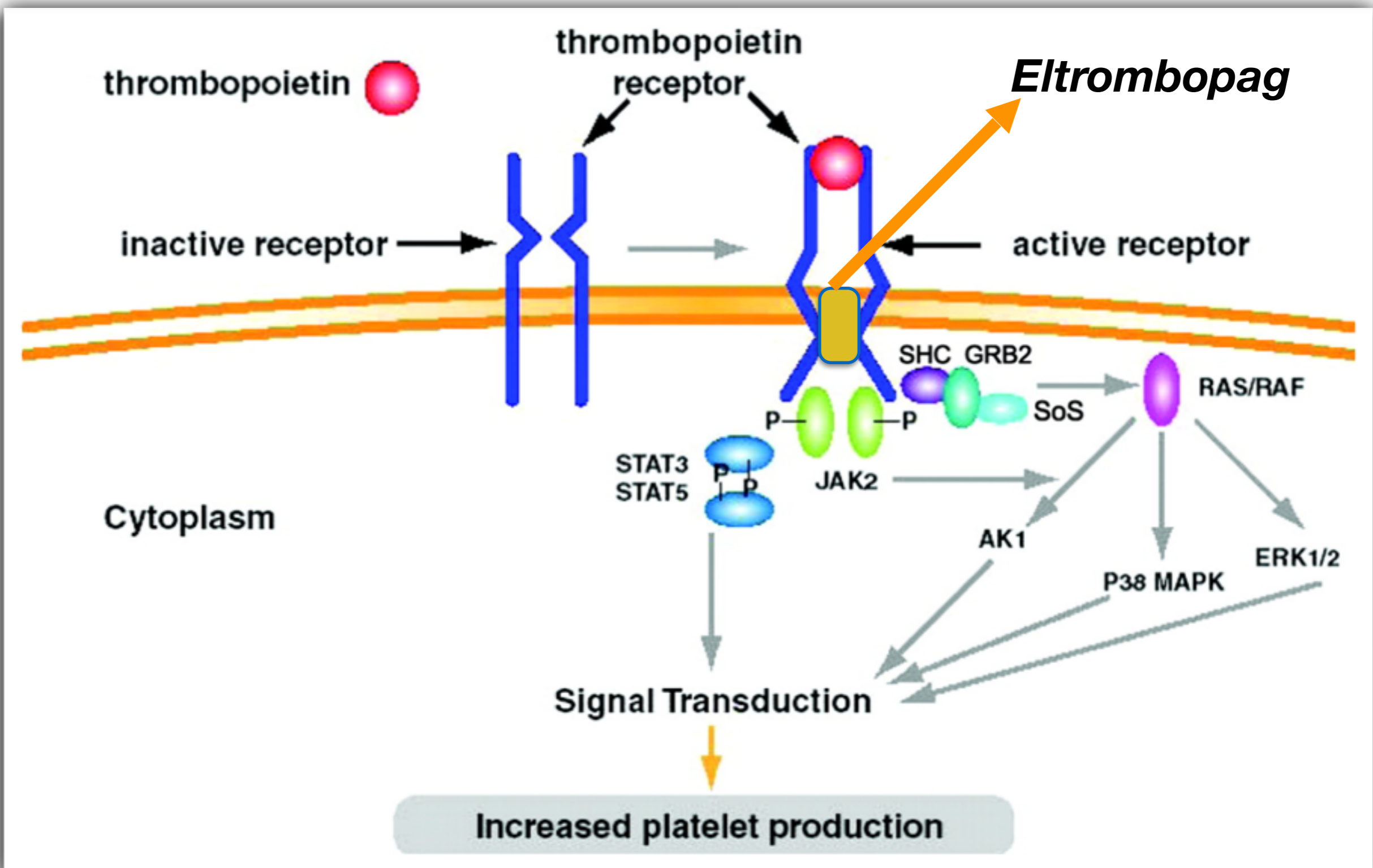
C

Mosby items and derived items © 2006 by Mosby, Inc.

Blood counts at **3 or 6 months** post-ATG are highly predictive of long-term survival.

The goal is to get response **asap** and not to have **“exhaustion”** of the remaining HSC







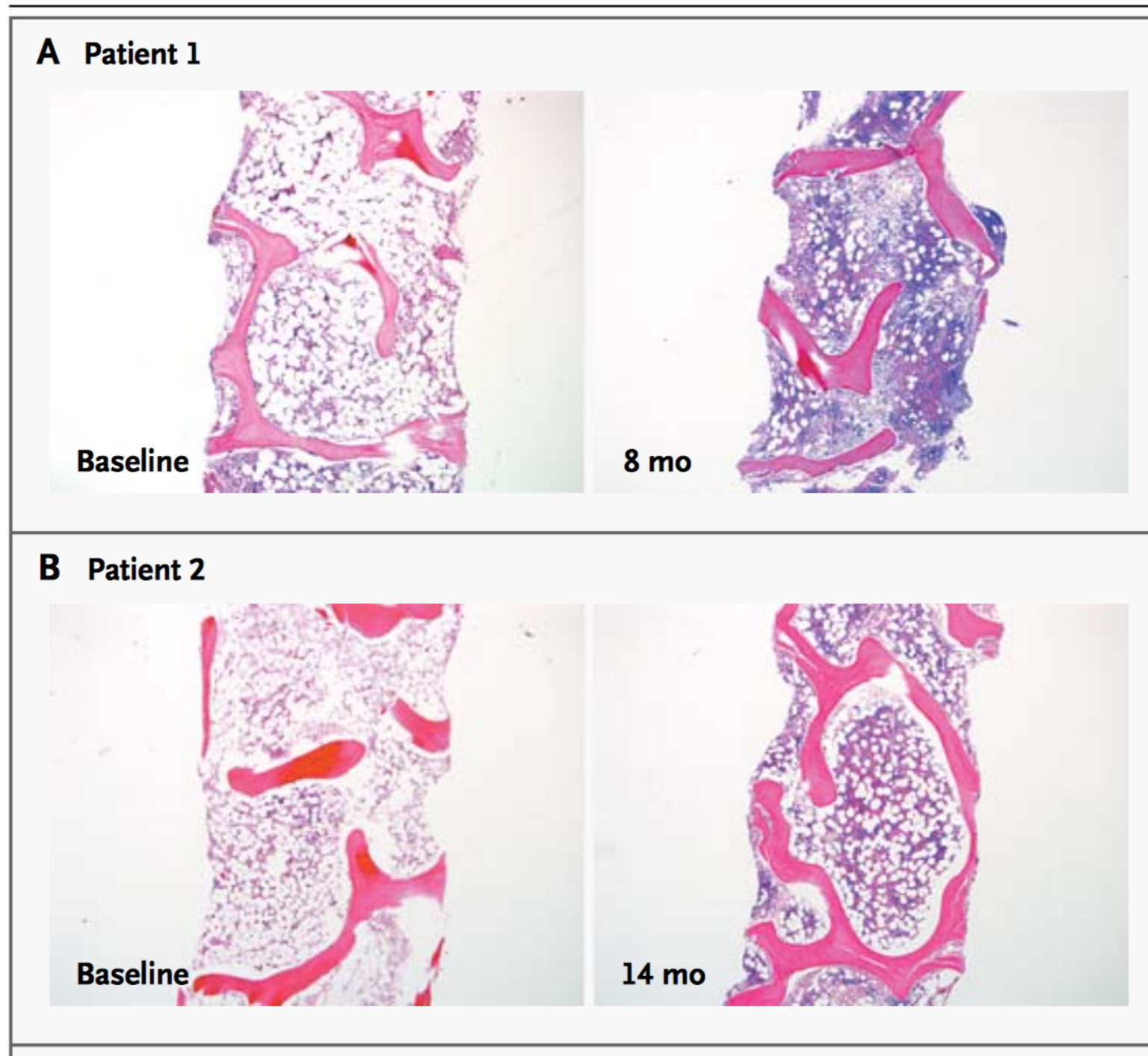
ORIGINAL ARTICLE

Eltrombopag and Improved Hematopoiesis in Refractory Aplastic Anemia

Matthew J. Olnes, M.D., Ph.D., Phillip Scheinberg, M.D., Katherine R. Calvo, M.D., Ronan Desmond, M.D., Yong Tang, M.D., Ph.D., Bogdan Dumitriu, M.D., Ankur R. Parikh, M.D., Susan Soto, B.S.N., Angelique Biancotto, Ph.D., Xingmin Feng, M.D., Ph.D., Jay Lozier, M.D., Ph.D., Colin O. Wu, Ph.D., Neal S. Young, M.D., and Cynthia E. Dunbar, M.D.

Response rate 44% in patients **previously treated** with IST

Bone Marrow Cellularity at Baseline and at 8 and 14 Months in Patients with Trilineage Responses to Eltrombopag.



- Based on these results in 2014 Eltrombopag got *fast track FDA-approval-* for refractory in IST AA patients.



blood

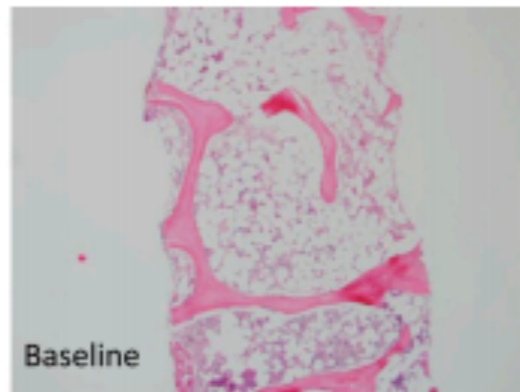
2014 123: 1818-1825

doi:10.1182/blood-2013-10-534743 originally published
online December 17, 2013

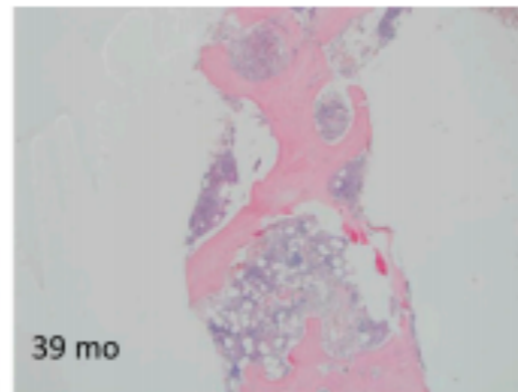
Eltrombopag restores trilineage hematopoiesis in refractory severe aplastic anemia that can be sustained on discontinuation of drug

Ronan Desmond, Danielle M. Townsley, Bogdan Dumitriu, Matthew J. Olnes, Phillip Scheinberg, Margaret Bevans, Ankur R. Parikh, Kinneret Broder, Katherine R. Calvo, Colin O. Wu, Neal S. Young and Cynthia E. Dunbar

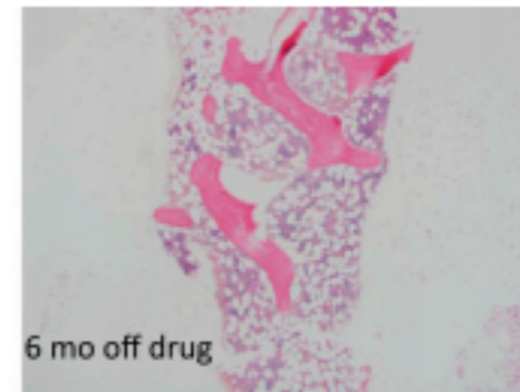
Patient 1



Baseline

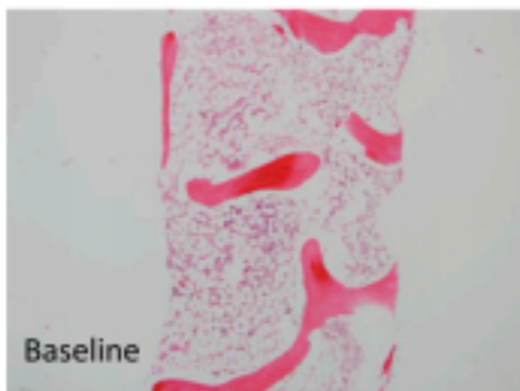


39 mo

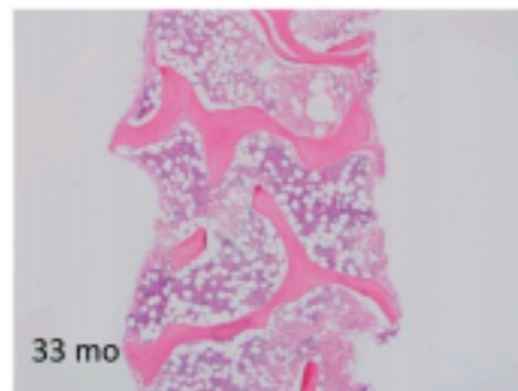


6 mo off drug

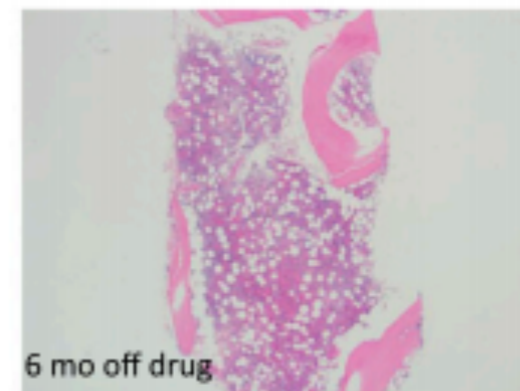
Patient 2



Baseline

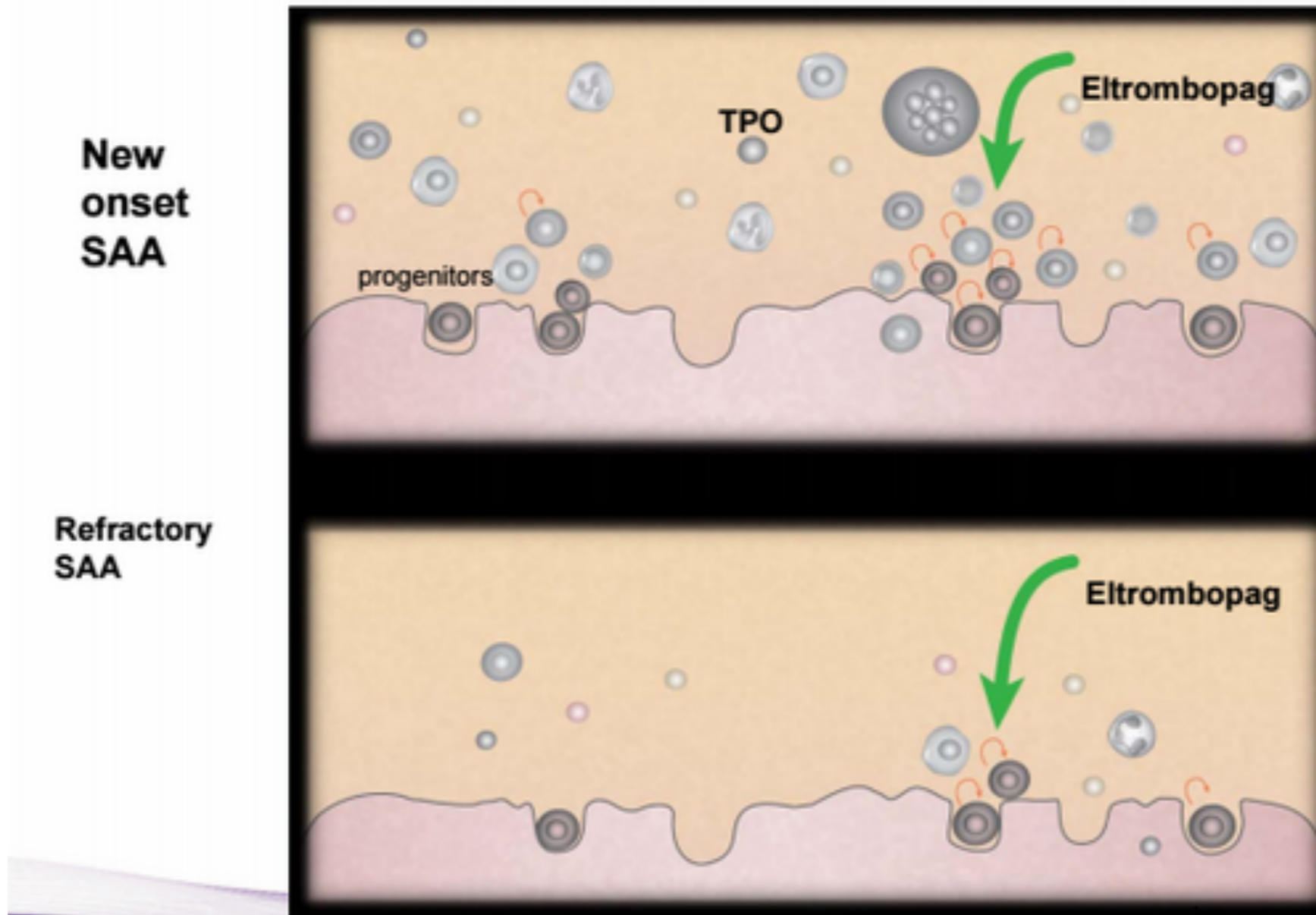


33 mo



6 mo off drug

HYPOTHETICAL MECHANISMS OF ACTION OF ELTROMBOPAG IN NEW ONSET VS REFRACTORY SAA



More stem cells upfront to start with eltrombopag → better response (personal communication NS Young)

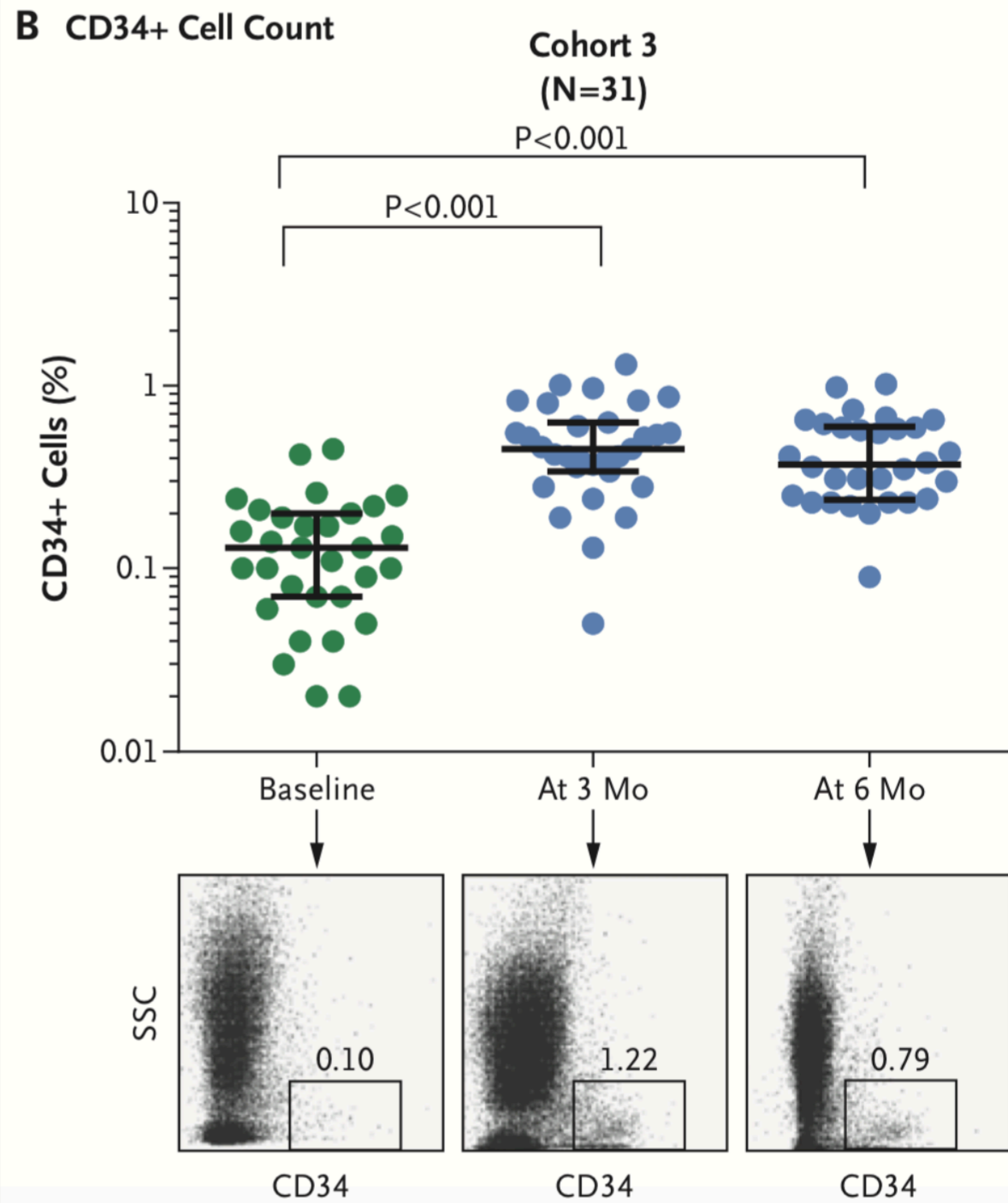
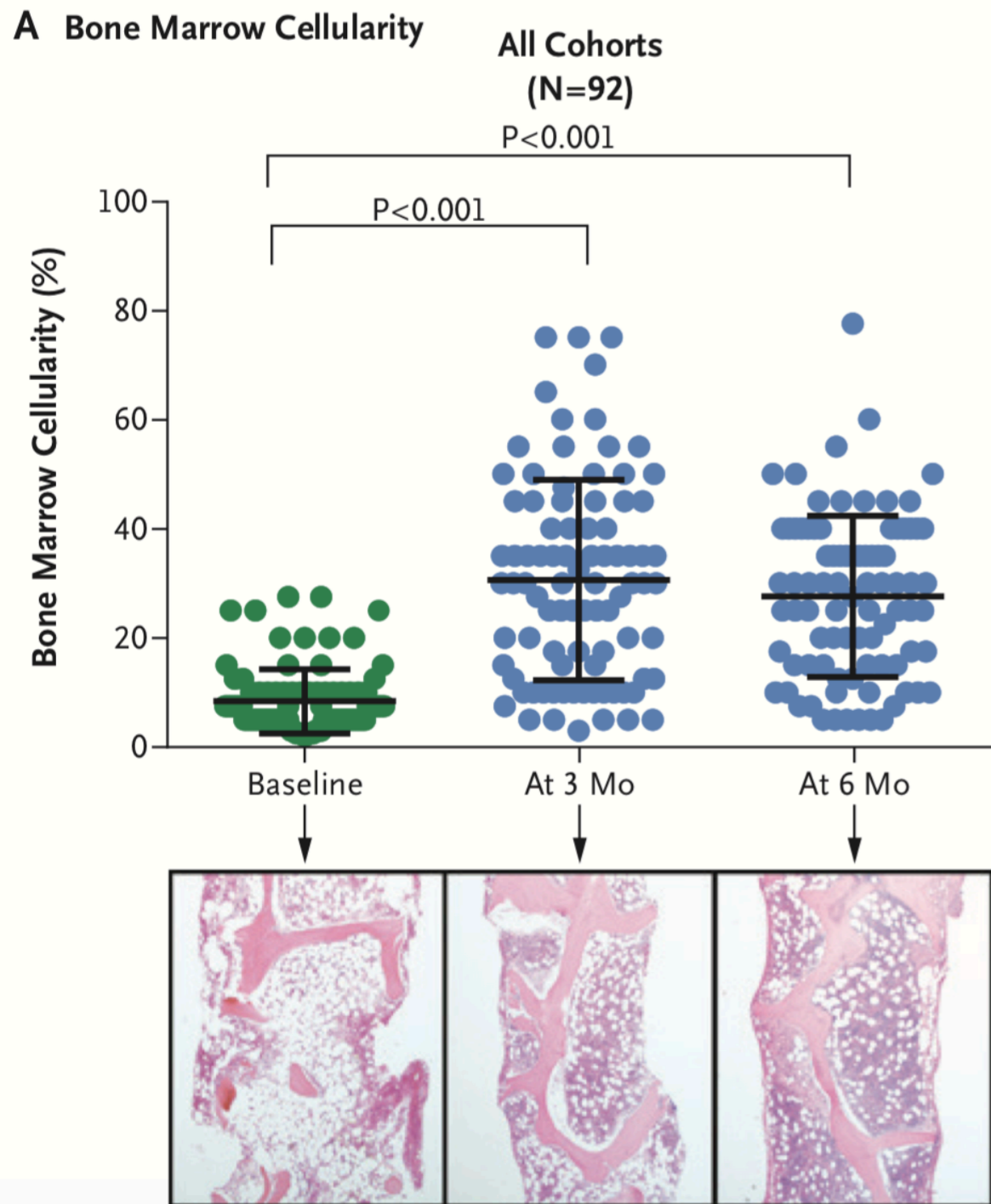
ORIGINAL ARTICLE

Eltrombopag Added to Standard Immunosuppression for Aplastic Anemia

Danielle M. Townsley, M.D., Phillip Scheinberg, M.D., Thomas Winkler, M.D., Ronan Desmond, M.D., Bogdan Dumitriu, M.D., Olga Rios, R.N., Barbara Weinstein, B.S.N., Janet Valdez, P.A., Jennifer Lotter, P.A., Xingmin Feng, Ph.D., Marie Desierto, B.S., Harshraj Leuva, M.B., B.S., Margaret Bevans, Ph.D., Colin Wu, Ph.D., Andre Larochelle, M.D., Ph.D., Katherine R. Calvo, M.D., Cynthia E. Dunbar, M.D., and Neal S. Young, M.D.

Median time to blood recovery

- Neutrophils in very SAA
 - ANC>200/uL: 29 days (8 days cohort 3)
 - ANC>500/uL: 47 days (38 days cohort 3)
- Red cells
 - Transfusion independence: 42 days
- Platelets
 - Transfusion independence: 32 days



Eltrombopag and Aplastic anemia

- Eltrombopag results in apx. 40% response rate in patients previously treated unsuccessfully with IST.
- Eltrombopag **upfront** in combination with IST leads to response rates ranging from **71- 95%!!!**
- The clonal evolution in the patients received eltrombopag upfront is apx. **18%** —> % similar to that observed in patients treated with IST alone.
- Despite that the % of clonal evolution is comparable, the question is still open whether Eltrombopag can affect clonal evolution **earlier** in aplastic anemia patients ??? *Open question: **Can patients with mutations receive Eltrombopag? Most probably yes***

Clonal Evolution with Eltrombopag

Age	Response	Time to evolution	Cytogenetics	MDS/AML somatic gene mutations (VAF)
68yr	CR	3 months	46, XX, del(13)(q12q22) [cp3]/46,XX[17]	none detected
39yr	CR	30 months	48, XX +6 +15 [2]/ 46,XX[18]	<i>DNMT3A</i> (3%)
64yr	PR	3 months	45,XX,t(3;3)(q21;q26),-7[3]/ 46, XX[17]	none detected
72yr	PR/Relapse	30 months	45, XY, -7[20]	<i>ASXL1</i> (24%) <i>RUNX1</i> (12%)
48yr	CR/Relapse	6m	46,XX,del (7)(p13p15) [3]/46,XX[19]	<i>DNMT3A</i> (15%)
61yr	PR	6m	45, XX,-7[7]/46,XX[16]	none detected
16yr	NR	3m	45, XY,-7[6]/46,XY[14]	none detected



ASH

59th Annual Meeting & Exposition
Atlanta, GA • December 9-12, 2017

777 Eltrombopag for Refractory Severe Aplastic Anemia: Dosing Regimens, Long-Term Follow-up, Clonal Evolution and Somatic Mutation Profiling

Program: Oral and Poster Abstracts

Type: Oral

Session: 508. Bone Marrow Failure: Biology and Therapy

Monday, December 11, 2017: 5:00 PM

Bldg B, Lvl 3, B302-B303 (Georgia World Congress Center)

Thomas Winkler, MD¹, James N. Cooper, MD^{2}, Danielle M. Townsley, MD, MSc², Phillip Scheinberg, MD³, Sophia Grasmeder, RN^{2*}, Colin Wu, Ph.D.^{4*}, Jennifer Lotter^{2*}, Marie J Desierto, MS^{5*}, Ronan Desmond, MD⁶, Matthew J. Olnes, MD, PhD⁷, Katherine R Calvo, MD, PhD⁸, Neal S. Young, MD² and Cynthia E. Dunbar, MD²*

In a subgroup of patients, EPAG may promote expansion of dormant pre-existing clones, should *not be given in chrom. 7 abnormalities*

No clinical or laboratory findings prior to therapy, including whole exome sequencing, predicted response or risk of clonal evolution.

Careful monitoring of refSAA patients treated with EPAG is indicated, *particularly in the first 6 months* of treatment.



American Society of Hematology

Helping hematologists conquer blood diseases worldwide

60th Annual Meeting and Exposition (December 1-4, 2018)

Impact of Eltrombopag on Clonal Evolution in Refractory Aplastic Anemia

Bhumika J. Patel, Shimoli Vipul Barot, Bartłomiej P. Przychodzen, Teodora Kuzmanovic, Michael Clemente, Cassandra M. Hirsch, Valeria Visconte, Roy Souaid, Marissa Versalle, Sarah S Lee, Tomas Radivoyevitch, Metis Haspiek, Swapna Thota, Aziz Nazha, Matt Kalaycio, Anjali S. Advani, Hetty E. Carraway, Mikkael A. Sekeres, and Jaroslaw P. Maciejewski

Blood 2018 132:3869; doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-120330>

To date, there are ***no data to support an increased clonal evolution risk*** with use of Eltrombopag in AA pts either on clinical grounds or by molecular testing.

However, presence of certain somatic mutations (CBL, SETBP1, DTA and RUNX1) strongly associated w/MDS/AML progression may warrant caution in the application of E or at least close molecular monitoring.

Aplastic Anemia In The Elderly: A Nationwide Survey On Behalf Of The French Reference Center For Aplastic Anemia

Adrien Contejean, Matthieu Resche-Rigon, Jérôme Tamburini, Marion Alcantara, Fabrice Jardin, Etienne Lengliné, Lionel Adès, Didier Bouscary, Ambroise Marçais, Delphine Lebon, Cécile Chabrot, Louis Terriou, Fiorenza Barraco, Anne Banos, Lucile Bussot, Jean-Yves Cahn, Pierre Hirsch, Natacha Maillard, Laurence Simon, Luc-Matthieu Fornecker, Gerard Socié, Regis Peffault de Latour, Flore Sicre de Fontbrune

Haematologica February 2019 104: 256-262; **Doi:**10.3324/haematol.2018.198440

- Υπάρχει όριο ηλικίας στη χορήγηση IST???
- Age, per se, is not a limiting factor to aplastic anemia treatment with anti-thymocyte globulin and cyclosporine-A
- IST should be used as a first-line treatment in elderly patients if they have a good performance status and low comorbidity index score.

Eltrombopag

- 2008: FDA-approved for **refractory ITP** in adults.
- **2014** *Eltrombopag got **fast track FDA-approval**- for refractory in IST AA patients.*
- 2015: FDA-approved for **children** >1 year old with refractory ITP.
- In **HCV+** patients who are treated with IFN, in order to increase the PLTs counts.
- **19th November 2018: FDA-approval as first line treatment with IST in AA patients (April (???) 2019 EU approval)**

Eltrombopag how it acts

Increased IFN γ specifically heterodimerizes with TPO, resulting in

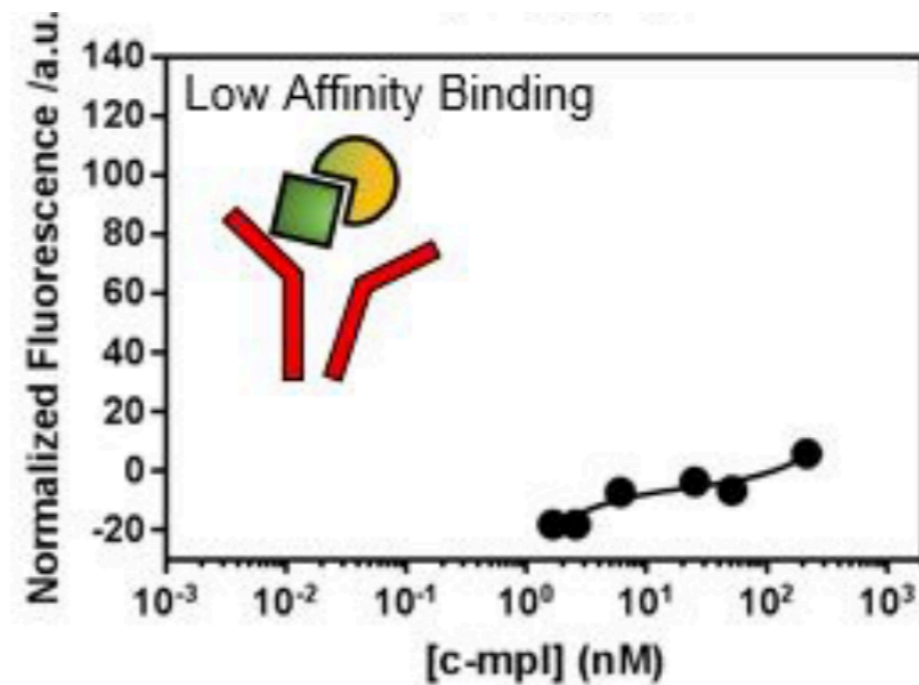
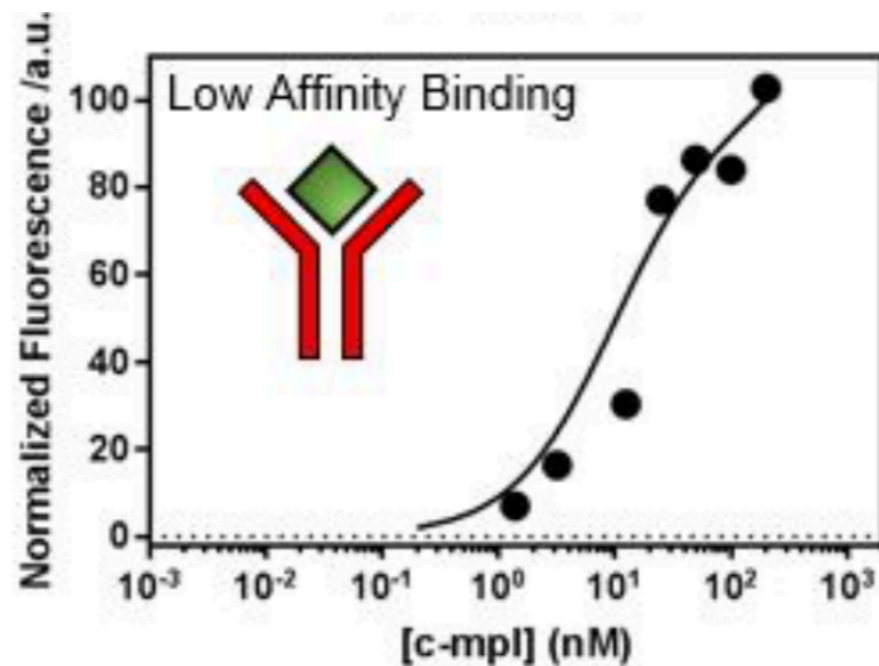
(i) occlusion of the low-affinity binding site of TPO to c-MPL,

(ii) impaired receptor dimerization,

(iii) perturbation of TPO-induced signaling pathways, and

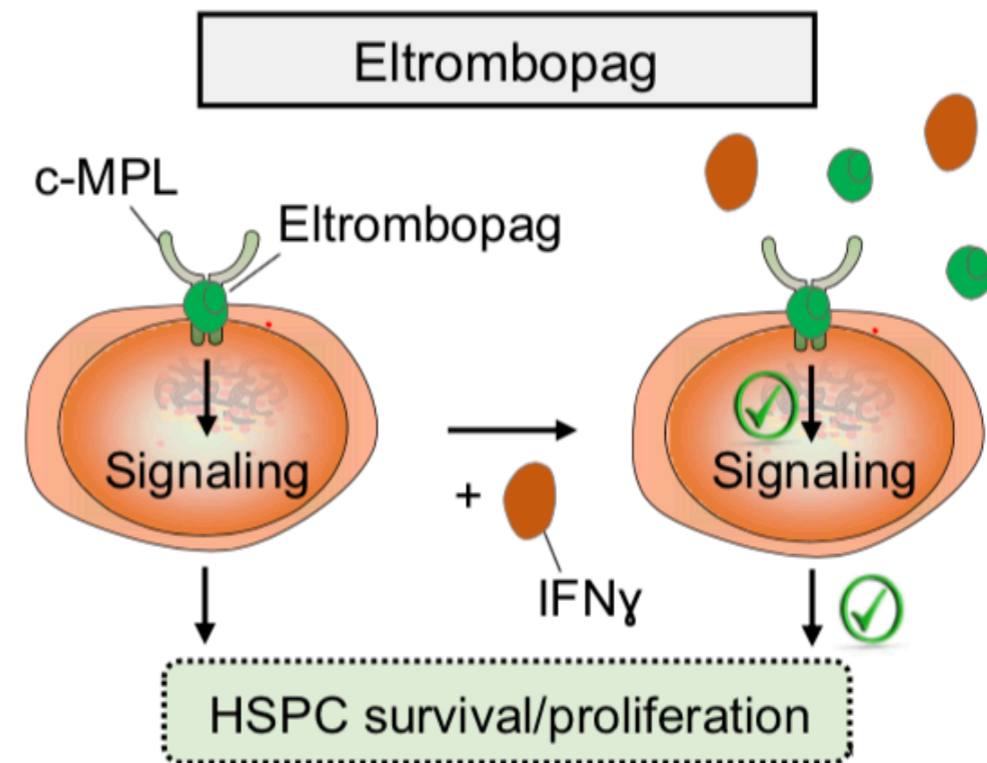
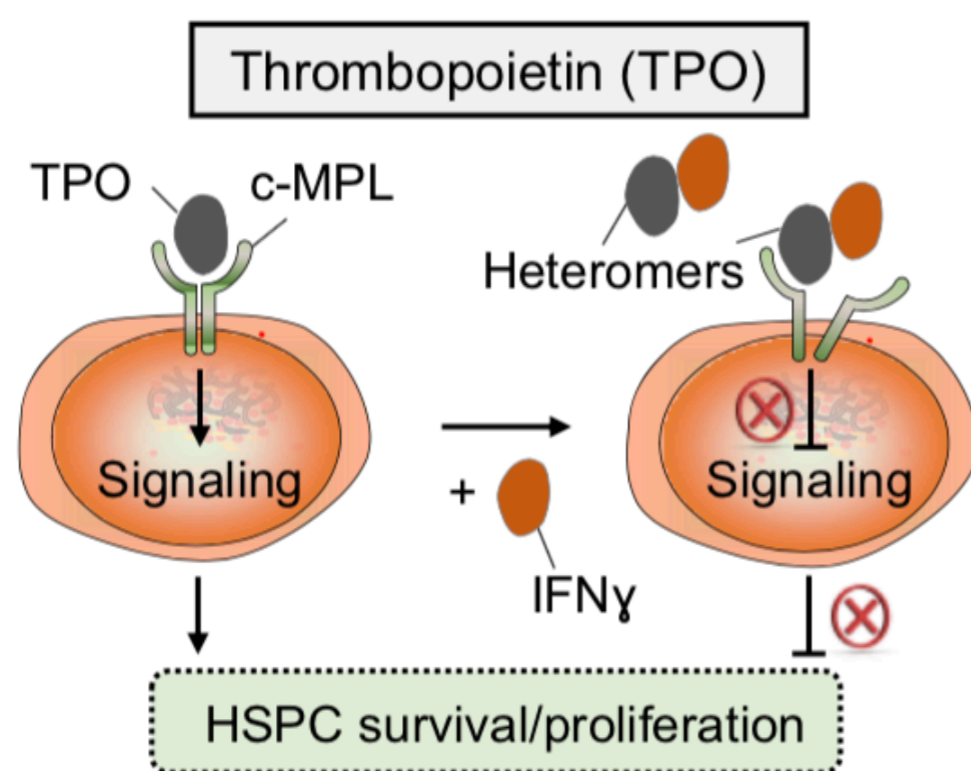
(iv) decreased survival of human HSPCs

The presence of **increased *IFN- γ*** does not allow binding of endogenous TPO to cMPL (although increased TPO in AA)

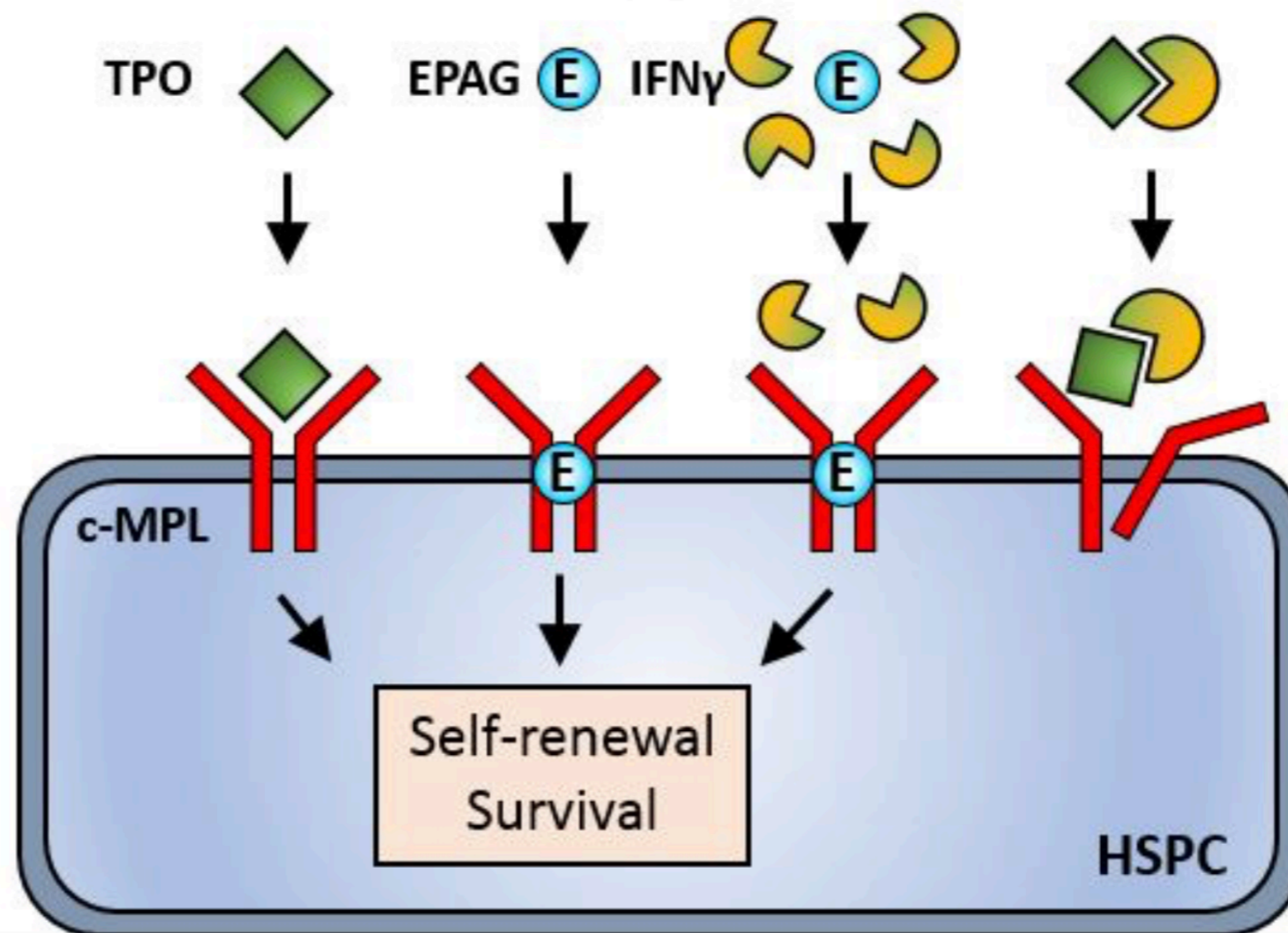


Increased IFN- γ forms heterodimers with endogenous TPO.

These heterodimers block TPO-cMPL signaling leading to destruction of HSC

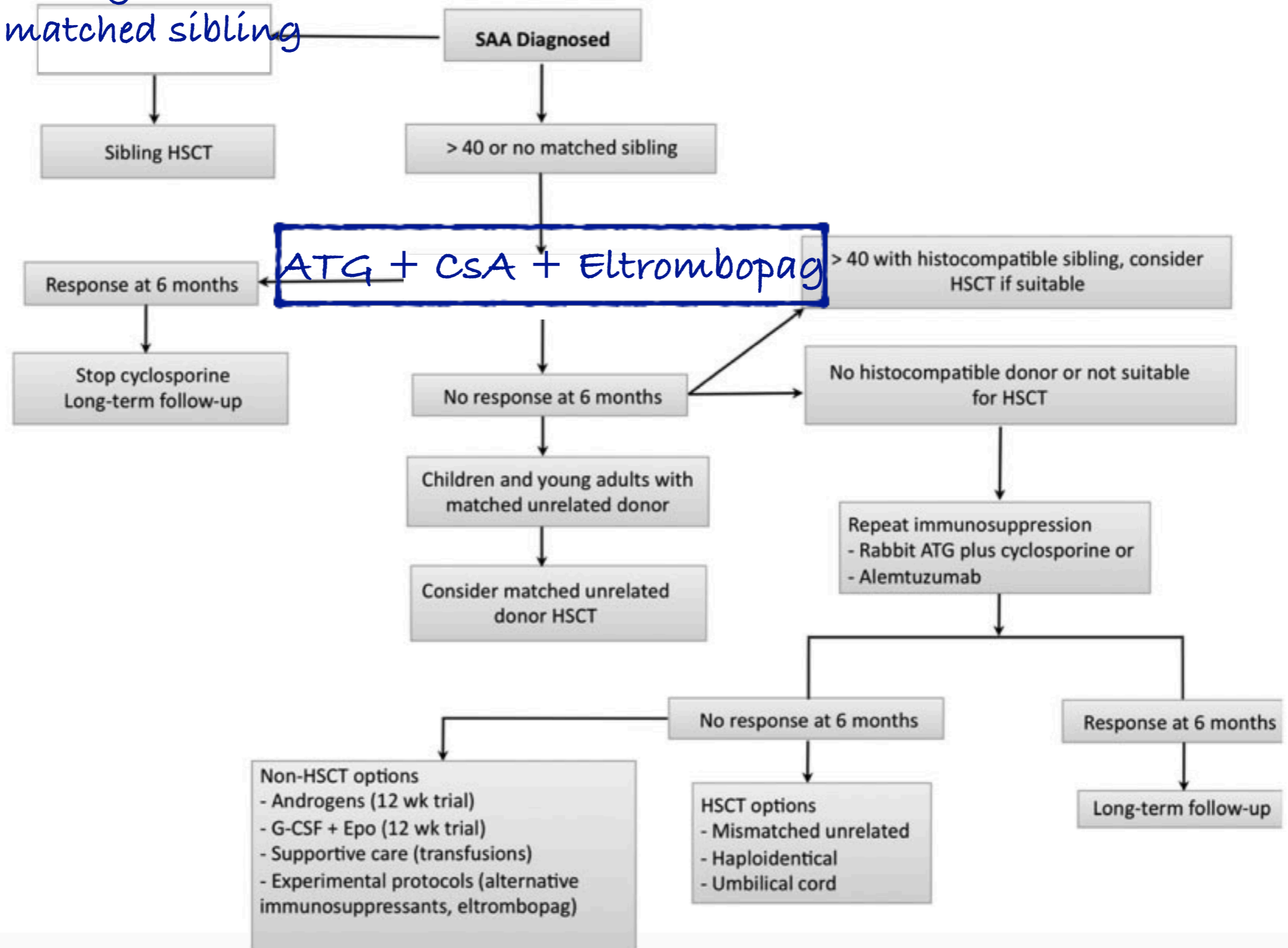


The presence of Eltrombopag overcomes the inhibitory effect of **increased *IFN- γ*** on the endogenous TPO-binding on to cMPL \rightarrow proliferation and survival of HSC



New Algorithm for initial management of SAA (?)

< 20 years with matched sibling



Summary:

- SAA is a fatal disease that demands rapid recognition
- Most cases of AA is the result of T cell-mediated destruction of hematopoietic stem cells of the BM
- AA should be distinguished from other causes of pancytopenia
- BM examination is required for diagnosis: low cellularity and normal residual precursors, and signs of hemophagocytosis are common
- Tx options: HLA identical sibling BMT in children and young adults, and IST with ATG-based and **eltrombopag upfront** in pts >40yrs,
- Relapse after successful IST is common. A minor proportion of the pts develop late clonal disease: abnormal cytogenetics, MDS, leukemia.

Leading towards optimizing new treatment strategies in Severe Aplastic Anemia

- The questions are:
- Are we in the era where the first line treatment in aplastic anemia has changed??? *Yes....*
- Have we found the **treatment** for “curing” aplastic anemia???
- How many patients from the ATG + CsA+ Eltrombopag arm relapse?
- How can we prevent clonal evolution?



Aplastic Anemia

