

2. SINOSSI

Promotore: Karyopharm Therapeutics Inc.	Farmaco in sperimentazione: Selinexor (XPOVIO®, KPT-330)	Fase dello studio: Fase 2
Titolo dello studio: Studio clinico di fase 2, randomizzato, in singolo cieco per valutare l'attività e sicurezza di selinexor (KPT-330) orale a basse dosi nei pazienti affetti da infezione da COVID-19 grave		
Numero di protocollo: XPORT-CoV-1001		
Nome dello studio: XPORT-CoV-1001		
Centri dello studio: Sono previsti circa 40 centri a livello internazionale.		
Razionale dello studio: <p>La malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) è causata dal virus a RNA a singola elica denominato «Sindrome respiratoria acuta grave da coronavirus 2» (SARS-CoV2) e può essere accompagnata da una notevole risposta infiammatoria, ritenuta gravemente dannosa per il paziente e legata a disfunzione multiorgano, insufficienza respiratoria e decesso. Sia il ciclo di vita del virus SARS-CoV2 che i fattori di trascrizione dei geni proinfiammatori richiedono il corretto funzionamento dell'esportazione nucleare dell'ospite mediata dalla esportina 1 (XPO1, denominata anche CRM1, OMIM 602559). L'esportina 1 è stata recentemente identificata come proteina "hub" dell'ospite per la propagazione virale del virus SARS-CoV. L'inibizione dell'esportina 1 ad opera di selinexor, un inibitore selettivo dell'esportazione nucleare (SINE), potrebbe indurre attività sia antivirale che antinfiammatoria.</p> <p>Selinexor (XPOVIO®, KPT-330) è una potente sostanza SINE orale, covalente a lenta reversibilità che blocca specificamente l'esportina 1. L'esportina 1 media l'esportazione nucleare di complessi di proteine e ribonucleoproteina che contengono una sequenza di esportazione nucleare ricca di leucina. Sono state identificate oltre 200 proteine di trasporto dell'esportina 1, tra cui ci sono proteine con funzioni di regolazione della risposta infiammatoria e numerose proteine virali, tra cui le proteine del virus SARS-CoV.</p> <p>Nel mese di luglio del 2019 selinexor ha ricevuto l'autorizzazione con procedura accelerata da parte della FDA, in combinazione con il desametasone, per il trattamento dei pazienti affetti da mieloma multiplo in stadio avanzato. La dose settimanale autorizzata di selinexor per il mieloma multiplo in stadio avanzato è di 160 mg (80 mg orale due volte alla settimana). Selinexor da solo o in combinazione con altri farmaci antitumorali è stato somministrato ad oltre 3000 pazienti affetti da numerosi tumori in stadio avanzato nel corso di sperimentazioni cliniche; a circa 1000 pazienti è stato somministrato il farmaco disponibile sul mercato. Gli effetti collaterali più frequenti a queste alte dosi, cioè nausea, vomito, anoressia, basso livello di sodio e di piastrine, sono legati alla dose somministrata e reversibili. Si prevede che la dose di 20 mg per tre volte alla settimana (60 mg alla settimana) utilizzata in questo studio sarà ben tollerata, sulla base di due sperimentazioni cliniche di fase 1, e svolgerà attività sia antivirale che antinfiammatoria secondo quanto riportato di seguito.</p> <p>Numerosi virus producono proteine che richiedono l'esportazione nucleare per eseguire le proprie funzioni. Le proteine del virus SARS-CoV2, compresa la nucleoproteina, la proteina 9b e Orf6 nonché probabilmente le proteine "spike" e "dell'envelope", utilizzano l'esportina 1 per funzionare correttamente.</p>		

Tra le oltre 100 proteine dell'ospite ad interagire, l'esportina 1 e altre tre proteine "hub" possiedono il maggior numero di collegamenti funzionali con le proteine del virus SARS-CoV. L'inibizione dell'esportina 1 da parte della leptomicina B, un inibitore naturale dell'esportina 1, ha come conseguenza l'apoptosi delle cellule ospite infette dal virus SARS-CoV e potrebbe impedire l'inibizione dell'immunità naturale causata da SARS-CoV nonché i notevoli effetti proinfiammatori indotti dal virus che provocano la malattia da COVID-19. Le sostanze SINE (tra cui si annoverano selinexor e il farmaco equivalente strettamente correlato verdinexor) bloccano l'esportina 1 nello stesso modo in cui viene fatto dalla leptomicina B, vengono somministrate per via orale ed è stato dimostrato che sono ben tollerate dagli esseri umani. Recentemente in un elenco di più di 400 farmaci classificati per la capacità di regolazione dell'espressione genica del virus SARS-CoV, selinexor si è aggiudicato il 18° posto.

Il profilo citochinico osservato nel COVID-19 è correlato alla gravità della malattia ed è caratterizzato dall'aumento dei valori di interleuchina (IL)-2, IL-7, fattore stimolante le colonie granulocitarie (G-CSF), proteina 10 inducibile dall'interferone gamma (INF γ), proteina 1 di chemioattrazione dei monociti (MCP-1), proteina macrofagica infiammatoria 1 α (MIF-1 α) e fattore di necrosi tumorale α (TNF α) (Lancet. 2020; 395: 497-506). In 150 casi a Wuhan (Cina), il livello di IL-6 elevato ($p < 0.0001$) è stato uno dei predittori indipendenti di mortalità (Ruan et al, 2020).

La replicazione di tutti i virus richiede la presenza di fattori della cellula ospite. Tuttavia, la manipolazione farmacologica dei fattori della cellula ospite come mezzo per riuscire a inibire la replicazione del virus non è stata ancora realizzata. I dati preclinici dimostrano che verdinexor e altre sostanze SINE hanno attività contro più di 20 virus, compresi i virus a RNA a singola elica dell'influenza e quello denominato "virus respiratorio sinciziale" (VRS), insieme ad altre cause frequenti di infezione delle vie respiratorie. In particolare, verdinexor altera il ciclo di replicazione virale mediante l'inibizione dell'interazione tra le ribonucleoproteine virali (vRNP) e la proteina di esportazione nucleare esportina 1 (XP01).

Inoltre, le sostanze SINE riducono l'infiammazione attraverso l'inibizione dell'attività del complesso NF- κ B e la ritenzione nucleare e l'attivazione di inibitori specifici dei fattori di trascrizione dei geni proinfiammatori quali I κ B, RXR α e PPAR γ . Questo provoca la riduzione delle citochine, tra cui IL-1, IL-6 e TNF α . Tale riduzione è cruciale per il trattamento dei pazienti affetti da COVID-19 (e altre infezioni virali), poiché la gravità della malattia nel COVID-19 è associata ai livelli di secrezione di citochine nei pazienti infetti dal virus SARS-CoV.

L'infezione da virus dell'influenza e da virus SARS-CoV induce nell'ospite notevoli risposte infiammatorie ed esistono modelli animali predittivi sull'infezione da virus dell'influenza. Abbiamo quindi studiato l'effetto di blocco dell'esportina 1 causato da verdinexor e dalle sostanze SINE collegate per quanto riguarda infezione, replicazione, patologia e mortalità in modelli animali e *in vitro* del virus dell'influenza. Il trattamento con verdinexor provoca un notevole accumulo nucleare di ribonucleoproteine virali e l'inibizione della replicazione del virus dell'influenza. Con verdinexor è stata osservata *in vitro* un'attività antinfluenzale ad ampio spettro con potenza nanomolare contro numerosi ceppi dei virus influenzali A e B. *In vivo* il trattamento con somministrazione orale di verdinexor ha dimostrato di svolgere un'attività antinfluenzale nei modelli animali di topi e furetti dell'infezione da virus dell'influenza. Negli animali infetti verdinexor ha ridotto la carica virale nei polmoni, ha inibito l'induzione proinfiammatoria delle citochine e ha ridotto la patologia dei polmoni e l'infiammazione polmonare legate al virus. Verdinexor si è anche dimostrato efficace per ritardare la mortalità e migliorare la sopravvivenza nei topi provocati con un'infezione letale di virus influenzale, anche quando è stato somministrato quattro giorni *dopo* l'insorgenza dell'infezione. Tenuto conto delle similitudini dei processi

infiammatori legati al virus SARS-CoV e a quello dell'influenza, questi risultati indicano che tali effetti benefici potrebbero anche essere osservati nei pazienti affetti da COVID-19 trattati con sostanze SINE.

Selinexor (MW 443.3) e verdinexor (MW 442.3) sono molecole strettamente correlate che differiscono per un atomo. Possiedono proprietà chimiche, farmacologiche e farmacocinetiche simili, compresa la biodisponibilità orale. Sono entrambi inibitori potenti ($K_i < 10$ nM) e altamente selettivi dell'esportina 1. Queste due sostanze formano legami covalenti lentamente reversibili con la cisteina-528 dell'esportina 1 che provocano la sua inattivazione ed entrambe sono biodisponibili per via orale ed esenti da interazioni farmacologiche note. Selinexor è stato studiato in maniera più intensiva nelle linee cellulari e in modelli preclinici delle malattie neoplastiche mentre verdinexor è stato studiato maggiormente nelle malattie virali e autoimmuni. Selinexor è autorizzato per il trattamento di pazienti affetti da mieloma multiplo refrattario in stadio avanzato e viene somministrato a un'alta dose, pari a 160 mg alla settimana. Dosi più basse di selinexor sono attive in numerosi altri tumori e in combinazione con altri farmaci antitumorali. I dati farmacocinetici e farmacodinamici disponibili giustificano l'uso di selinexor per il trattamento di infezioni virali alla bassa dose di 20 mg tre volte alla settimana. Questa dose di selinexor è ben tollerata e non è legata a citopenie significative né a variazioni della funzionalità epatica o della natriemia.

Data l'emergenza rappresentata dalla pandemia di COVID-19 e la disponibilità del farmaco, incluse le forniture di compresse di selinexor disponibili a livello commerciale, questo studio verrà iniziato con selinexor. Come riportato sopra, non ci sono differenze chimiche, farmacologiche né tossicologiche note tra i due farmaci che possano favorire l'utilizzo di verdinexor in questo momento, tenuto conto della pandemia di SARS-CoV2 emergente. Sulla base delle proprietà farmacocinetiche di selinexor e verdinexor, si prevede che basse dosi di queste sostanze (ad es., 20 mg per dose) forniscano un quantitativo sufficiente di farmaco in grado di svolgere attività sia antivirale che antinfiammatoria nei pazienti affetti da infezioni virali, compresa quella causata dal virus SARS-CoV2.

Ipotesi: Selinexor somministrato per via orale accelererà la guarigione, sopprimerà la carica virale, accorcerà il ricovero ospedaliero e ridurrà la morbilità e la mortalità nei pazienti affetti da COVID-19 grave rispetto al trattamento standard.

Obiettivi ed endpoint: Una bassa dose di selinexor orale (20 mg a giorni alterni ogni settimana) accelererà la guarigione clinica, sopprimerà la carica virale, accorcerà il ricovero ospedaliero e ridurrà la morbilità e la mortalità nei pazienti affetti da COVID-19 grave rispetto al trattamento standard.

Obiettivi ed endpoint:

Obiettivi	Endpoint
Obiettivi primari	
Tempo fino al miglioramento clinico (TTCI)	Assenza di febbre: temperatura orale $< 38^{\circ}\text{C}$ per 24 ore senza antipiretico (paracetamolo) NONCHÉ uno dei criteri indicati di seguito: <ul style="list-style-type: none"> – Frequenza respiratoria ≤ 24/minuto OPPURE – Saturazione di ossigeno $\geq 94\%$ in aria ambiente OPPURE – Dimissione dall'ospedale
Obiettivi secondari	

Mortalità	Mortalità per tutte le cause entro il 28° giorno dalla randomizzazione
Ulteriori endpoint clinici	<ul style="list-style-type: none"> • Velocità e durata della ventilazione meccanica • Durata dell'utilizzo di ossigeno supplementare • Durata del ricovero ospedaliero • Durata della permanenza in terapia intensiva • Tempo fino al fallimento clinico, definito come il tempo fino al decesso, all'inizio della ventilazione meccanica o al trasferimento in terapia intensiva • Punteggio "Vienna Vaccine Safety Initiative (ViVI)" di gravità della malattia • TICI in pazienti di età ≤ 70 anni • TICI in pazienti di età > 70 anni • TICI in pazienti immunodepressi, ipertesi o affetti da malattia polmonare (fumatori o con broncopneumopatia cronica ostruttiva [BPCO] da moderata a grave)
Determinare gli effetti antinfiammatori e sul sistema immunitario di selinexor	<ul style="list-style-type: none"> • Effetti sul livello di proteina C reattiva (PCR) • Effetti sul livello di ferritina • Effetti sulla lattato deidrogenasi (LDH)
Valutare la sicurezza e tollerabilità di selinexor [orizzonte temporale: fino a 28 giorni]	<ul style="list-style-type: none"> • Elencazione e documentazione della frequenza e gravità degli effetti avversi
Dati esplorativi (opzionali)	

- Misurazione dei valori serici di TNF α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-7, IL-10, G-CSF, IP10, MCP-1, MIF-1 α e di altri livelli di espressione delle citochine prima e dopo il trattamento (se disponibile a livello locale)
- Variazioni della conta dei linfociti T CD4+ e CD8+ e delle cellule *natural killer* dal basale fino alla fine del trattamento (se disponibile a livello locale)
- Effetti antivirali di selinexor determinati dalle variazioni della carica virale nei tamponi rinofaringei (se disponibile a livello locale)
- Perdita di positività all'antigene se disponibile (vale a dire, mancanza di alti livelli di eliminazione [*shedding*])
- Riduzione del livello di fibrinogeno (se disponibile a livello locale)
- Troponina, peptide natriuretico di tipo B (BNP)
- D-Dimero (se disponibile a livello locale)
- Creatinfosfochinasi (CPK) (se disponibile a livello locale)

Disegno generale dello studio:

Si tratta di uno studio di fase 2 randomizzato e in singolo cieco di selinexor a basse dosi rispetto al placebo, per valutare l'attività e la sicurezza, nonché la riduzione della mortalità, nei pazienti affetti da COVID-19 grave. Verrà somministrata una dose di 20 mg di selinexor o una dose equivalente di placebo nei giorni 1, 3 e 5 di ogni settimana per un massimo di due settimane. Se il paziente tollera bene il trattamento e ne riceve benefici clinici, la somministrazione potrà continuare per altre due settimane nei giorni 15, 17, 19, 22, 24 e 26.

La popolazione in studio sarà costituita da pazienti ricoverati di età ≥ 18 anni affetti da COVID-19.

L'iscrizione nello studio verrà stratificata per:

- a. regione
- b. uso di trattamenti concomitanti: un antivirale (ad es., remdesivir) oppure un antinfiammatorio (ad es., idrossiclorochina, biofarmaci aventi come bersaglio molecolare, ad esempio, IL-6 o IL-1, oppure trattamenti con farmaci sia antivirali che antinfiammatori o senza nessuno di questi due tipi di farmaci. Nota: ai fini della stratificazione né il paracetamolo né i FANS saranno considerati farmaci antinfiammatori.

Numero di pazienti (programmato):

Circa 230 pazienti saranno randomizzati al trattamento con selinexor o placebo, con un rapporto 1:1

Popolazione in studio: I pazienti devono soddisfare i criteri per poter essere idonei all'iscrizione nello studio

I pazienti idonei sono adulti di età ≥ 18 anni, ricoverati in ospedale con infezione da SARS-CoV2 confermata, o sospetta in seguito a esami di laboratorio e successivamente confermata. Tutti i pazienti, i loro rappresentanti con giusta delega o tutori legali devono fornire un consenso informato verbale oppure per iscritto e firmato.

Linee guida per la documentazione del consenso verbale:

- a. Nelle sperimentazioni cliniche sul trattamento del COVID-19, il consenso informato potrà essere verbale in presenza di un altro dipendente ospedaliero e/o rappresentante del paziente. In questo caso il consenso informato sarà documentato nella cartella clinica del paziente e

verrà ottenuto secondo la procedura normale quando il paziente o il suo rappresentante sarà in grado di fornirlo, una volta scongiurato il pericolo di contaminazione.

- b. Nelle sperimentazioni cliniche sul COVID-19, se un paziente si trova in situazione di emergenza e non è possibile ottenere il consenso direttamente, tale consenso potrà essere fornito da un rappresentante che agisca per conto del paziente oppure, in mancanza, l'ottenimento del consenso potrà essere rimandato fino a quando il paziente o un suo rappresentante non sarà in grado di prestare il consenso, purché tale rinvio sia conforme alla legislazione locale.

Criteri di inclusione:

1. Età ≥ 18 anni
2. Sospetto clinico confermato successivamente oppure diagnosi di laboratorio che conferma che il paziente è positivo al virus SARS-CoV2 mediante rilevamento negli acidi nucleici della reazione a catena della polimerasi (PCR) con trascrittasi inversa (RT) (eseguito da laboratori a livello locale)
3. Paziente attualmente ricoverato e che abbia fornito il consenso informato entro le prime 48 ore di ospedalizzazione
4. Consenso informato fornito secondo quanto riportato sopra
5. Paziente con sintomi da COVID-19 grave secondo quanto dimostrato dai seguenti valori:
 - a. Frequenza respiratoria ≥ 24 respiri/minuto OPPURE
 - b. Saturazione di ossigeno nel sangue (SpO_2) $\leq 94\%$ senza uso di ossigeno supplementare, OPPURE
 - c. PaO_2/FiO_2 (frazione inspiratoria di ossigeno) ≤ 300 mm Hg
6. La somministrazione concomitante di farmaci antivirali e/o antinfiammatori (ad es., biofarmaci, idrossiclorochina) è permessa al basale per i pazienti che vengono inseriti nello studio.
7. Le pazienti con capacità riproduttiva devono avere un test di gravidanza in siero negativo al momento dello *screening*. Le pazienti con capacità riproduttiva e i pazienti fertili attivi sessualmente con donne con capacità riproduttiva dovranno utilizzare metodi contraccettivi altamente efficaci durante tutta la durata dello studio e per una settimana dopo l'ultima dose del trattamento dello studio. I metodi contraccettivi altamente efficaci vengono riportati al punto 8.3.1.

Criteri di esclusione:

1. Evidenza di COVID-19 critica sulla base di:
 - a. Necessità di ventilazione meccanica (invasiva o non invasiva), ossigenazione extracorporea a membrana (ECMO) o emofiltrazione
 - b. Shock
2. Paziente che, secondo il parere dell'investigatore, abbia poche probabilità di sopravvivere per almeno 48 ore dopo lo screening o possa avere necessità di ventilazione meccanica entro 48 ore
3. Funzionalità renale ed epatica inadeguata secondo quanto indicato dai seguenti esami di laboratorio:
 - a. Clearance della creatinina < 20 ml/min.

- b. Valore di aspartato transaminasi (AST) o di alanina transaminasi (ALT) superiore a 5 volte il limite superiore di normalità (LSN)

4. Non in grado di assumere farmaci per via orale

Trattamento dello studio/Gruppi, dose e modalità di somministrazione del trattamento:

Selinexor 20 mg orale o placebo somministrato nei giorni 1, 3, 5, 8, 10 e 12. Se il paziente tollera bene il trattamento e ne riceve benefici clinici secondo il parere del medico curante, la somministrazione potrà continuare per altre due settimane nei giorni 15, 17, 19, 22, 24 e 26.

Durata del trattamento e follow-up:

I pazienti rimarranno sotto trattamento per un massimo di 14 giorni (oppure 28 giorni, a discrezione del medico curante)

Metodi statistici:

Calcolo della dimensione del campione e potenza statistica

La quantità totale necessaria di eventi di miglioramento clinico (compresi i pazienti dimessi dall'ospedale) è pari a 198 per raggiungere una potenza dell'80% con un test dei ranghi logaritmici a un livello di significatività unilaterale dello 0,025 per rilevare un tempo mediano fino al miglioramento clinico di 15 giorni per il braccio trattato con placebo rispetto ai 10 giorni del braccio trattato con selinexor, che dà come risultato un indice di rischio di 0,667, utilizzando una randomizzazione 1:1. Con un tasso di mortalità del 4% e un tasso di abbandono nei due bracci del 10% stimati, verranno randomizzati 230 pazienti.

Per l'endpoint primario verranno eseguite due analisi ad interim e una finale. La prima analisi ad interim verrà effettuata quando si verificherà il 60° evento. Lo scopo di tale analisi sarà unicamente la valutazione della futilità. La soglia per la sospensione dello studio per futilità è $Z > 0,487$ e viene calcolata utilizzando la funzione d'uso alfa di Lan-DeMets con il tipo di soglia di O'Brien-Fleming. La seconda analisi ad interim verrà eseguita quando si verificherà il 99° evento, la soglia di efficacia è $Z < -2,963$ e la soglia di futilità è $Z > -0,493$.

Se la sperimentazione non viene sospesa con l'analisi ad interim, l'iscrizione continuerà fino a raggiungere un totale di circa 230 pazienti; l'analisi finale verrà eseguita quando si verificherà il 198° evento, la soglia di efficacia è $Z < -1,937$.

Popolazioni oggetto dell'analisi:

La *intent-to-treat* (ITT) sarà formata da tutti i pazienti randomizzati nello studio con infezione da SARS-CoV2 confermata, indipendentemente dal fatto che abbiano ricevuto o meno il trattamento dello studio.

L'intera popolazione trattata sarà costituita da tutti i pazienti che abbiano assunto almeno una dose del trattamento durante lo studio e siano affetti da infezione da virus SARS-CoV2 confermata.

Analisi di efficacia:

L'analisi del tempo TICI verrà eseguita per braccio di trattamento sulla base del test dei ranghi logaritmici. Il valore di TICI mediano sarà stimato con un IC del 95% per ogni braccio di trattamento utilizzando il metodo di Kaplan-Meier. Gli indici di rischio con il relativo intervallo di confidenza del 95% verranno stimati con il modello stratificato dei rischi proporzionali di Cox, utilizzando il metodo di Efron per gli eventi simultanei, con il trattamento come fattore. Gli strati saranno gli stessi fattori di stratificazione utilizzati per la randomizzazione.

La differenza tra i bracci di trattamento del tasso di mortalità a 28 giorni sarà calcolata con un intervallo di confidenza (IC) del 95%. Il confronto tra il tasso di mortalità dei due bracci di trattamento verrà eseguito utilizzando il test di Cochran-Mantel-Haenszel stratificato con i fattori di stratificazione della randomizzazione. Verrà comunicata sia la stima secondo il metodo Cochran-Mantel-Haenszel del rapporto

di probabilità con l'intervallo di confidenza del 95% nonché il valore p per il test della differenza di trattamento.

Le analisi di efficacia verranno effettuate utilizzando la popolazione intent-to-treat.

Analisi di sicurezza:

Le analisi di sicurezza saranno eseguite sulla base degli eventi avversi notificati e di altre informazioni di sicurezza, quali l'elettrocardiogramma a 12 derivazioni (ECG) e gli esami clinici e di laboratorio, compresa l'ematologia, i test chimici sierologici, i parametri vitali e l'esame obiettivo.

Le analisi di sicurezza verranno effettuate utilizzando l'intera popolazione trattata.