

Contents lists available at [ScienceDirect](http://www.sciencedirect.com)**Acta Haematologica Polonica**journal homepage: www.elsevier.com/locate/achaem**Praca poglądowa/Review****Standardy diagnostyki oraz nowe trendy w leczeniu ostrej białaczki szpikowej****Standards of diagnostic and new trends in treatment in patients with acute myeloid leukemia****Dagmara Szmajda, Ewa Balcerczak*, Adrian Krygier**

Pracownia Diagnostyki Molekularnej i Farmakogenomiki, Zakład Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej, Międzywydziałowa Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej i Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Kierownik Katedry prof. dr hab. Ewa Balcerczak, Polska

INFORMACJE O ARTYKULE

Historia artykułu:

Otrzymano: 20.07.2016

Zaakceptowano: 10.07.2017

Dostępne online: 01.09.2017

Słowa kluczowe:

- ostra białaczka szpikowa
- terapia celowana
- standardy diagnostyki
- badania kliniczne
- nowe leki

Keywords:

- Acute myeloid leukemia
- Targeted therapy
- Diagnostic standards
- Clinical trials
- New drugs

A B S T R A C T

Acute myeloid leukemia (AML) is the most common cancer of white blood cells in adults. Men over 65 years old are more prone to develop this disease. Symptoms that lead patients to visit the doctor are: high fever, bone pain, weakness and signs of infection. The etiology of AML is not yet fully understood. The predisposing factors for acute myeloid leukemia may include environmental and genetic factors. If left untreated, it can lead to death within a few weeks. Therefore, it is important to quickly identify the disease and to implement appropriate treatment, which will allow to increase the percentage of survival among patients. The basis of AML diagnosis is the presence of more than 20% of blasts in blood or bone marrow smears. The choice of AML treatment depends on prognostic factors: patients' age and sex and cytogenetic-molecular risk. The treatment regimen for AML is outdated and remains almost unchanged for over 30 years. Understanding the molecular basis of this disease development and pathomechanism allows to search for new effective treatments, often based on targeted therapies. This article presents contemporary standards of AML diagnosis and the latest trends in its treatment.

© 2017 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Sp. z o.o. All rights reserved.

* Adres do korespondencji: Pracownia Diagnostyki Molekularnej i Farmakogenomiki, Zakład Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej, Międzywydziałowa Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej i Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź, Polska.

Adres email: ewa.balcerczak@umed.lodz.pl (E. Balcerczak).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.achaem.2017.07.009>

0001-5814/© 2017 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Sp. z o.o. All rights reserved.

Wstęp

Ostra białaczka szpikowa (*acute myeloid leukemia*; AML) stanowi około 80% wszystkich białaczek ostrych u osób dorosłych. Warto nadmienić, że w przypadku dzieci pojawia się dość rzadko (stanowi tylko 15% przypadków). Chorują na nią najczęściej osoby w szóstej dekadzie życia. Szczyt zachorowań przypada na 65. rok życia i rośnie wraz z wiekiem [1]. Źródła podają, że zapadalność na ostrą białaczkę szpikową w ciągu roku wynosi od 3–4 na 100 000 mieszkańców. U osób po 65. roku życia wzrasta do około 10/100 000 na rok, natomiast powyżej 80. roku życia wzrasta do 25/100 000 na rok. Mężczyźni chorują nieco częściej niż kobiety. Stosunek zapadalności mężczyzn w stosunku do kobiet wynosi 4,56 do 3,0 [1, 2]. Można stwierdzić, że AML jest najczęstszym typem białaczek występującym u osób dorosłych [1].

Mianem ostrej białaczki szpikowej określa się nowotwór złośliwy układu białokrwinkowego. W chorobie tej dochodzi do klonalnej proliferacji oraz skumulowania się klonów transformowanych nowotworowo komórek blastycznych wywodzących się z prekursorowej komórki mieloidalnej [3, 4]. Komórki te dominują w szpiku kostnym, krwi oraz mogą tworzyć nacieki w innych tkankach. Ich cechą charakterystyczną jest to, że są morfologicznie i czynnościowo niedojrzałe [1]. Naciekając szpik kostny, prowadzą do niewydolności prawidłowej hematopoezy, co w konsekwencji wywołuje neutropenię, niedokrwistość oraz małopłytkowość [2].

Częstą przyczyną zgłoszenia się chorego do lekarza jest zespół współistniejących ze sobą objawów: gorączka, ból kości oraz stawów, osłabienie, a także cechy zakażenia (np. płuc czy jamy ustnej) [1]. Najważniejszymi objawami klinicznymi AML są te związane z nacieczeniem szpiku, krwi czy pozostałych narządów przez komórki białaczkowe [2]. Prowadzi to do zespołu objawów związanych z niedokrwistością (osłabienie, zawroty głowy), małopłytkowością (wybroczyny na skórze i błonach śluzowych w jamie ustnej, krwotoki, krwawienia z nosa i dziąseł), neutropenią (zakażenia grzybicze i bakteryjne w tkankach i narządach), leukostazą (zaburzenia czynności OUN, zaburzenia pracy serca) czy objawów związanych z upośledzeniem odporności (np. bolesne afty i owrzodzenia jamy ustnej czy zwiększona podatność na zakażenia). Objawy ostrej białaczki szpikowej mogą być również mniej specyficzne: zmniejszenie masy ciała, bóle kostne czy poty [1, 5].

Przebieg kliniczny ostrej białaczki szpikowej jest bardzo ciężki. Przy braku odpowiedniego leczenia prowadzi do śmierci w ciągu kilku tygodni na skutek powikłań, głównie krwotocznych i infekcyjnych [1]. Etiologia ostrej białaczki szpikowej nie jest do końca znana. Warto zaznaczyć, że wyodrębniono jednak wiele czynników, które mogą predysponować do jej wystąpienia. Są to czynniki środowiskowe (narażenie na promieniowanie jonizujące, benzen oraz wcześniejsza chemioterapia). Czynniki, które mogą prawdopodobnie przyczynić się do wystąpienia ostrej białaczki szpikowej, są współistniejące choroby wrodzone: Zespół Fanconiego, Zespół Downa, Zespół Shwachmana i Diamonda (choroba genetyczna związana z niewydolnością zewnątrzwydzielniczą trzustki, zaburzeniami hematopoezy oraz niskorosłością) oraz inne choroby układu krwiotwórczego: przewlekła białaczka szpikowa, czerwienica prawdziwa czy szpiczak mnogi [1, 3, 6].

Zasadniczymi czynnikami transformacyjnymi, które mogą prowadzić do powstania samoodtworzającego się klonu komórek białaczkowych, są zmiany w genach odgrywające decydującą rolę w zachowaniu ciągłości hematopoezy i równowagi pomiędzy proliferacją a apoptozą. Należą do nich mutacje, fuzje, aranżacje i amplifikacje w genach odpowiadających za regulację i przebieg hematopoezy [2]. Ich wykrycie u pacjenta może być bardzo ważnym czynnikiem pomocniczym w diagnostyce ostrej białaczki szpikowej, ale może również mieć znaczący wpływ na wybór odpowiednich leków oraz opracowania sposobu ich dawkowania w przypadku pacjentów cierpiących na ostrą białaczkę szpikową. Dotychczasowe wyniki leczenia chorych na AML nie są do końca satysfakcjonujące, dlatego wciąż poszukuje się nowych leków oraz terapii stosowanych w ostrej białaczce szpikowej opartych na zmianach cytogenetycznych występujących u poszczególnych pacjentów. Badacze poszukują również nowych czynników oraz strategii dla tzw. terapii celowanej, w której to lek będzie wybiórczo oddziaływał na komórki białaczkowe, wpływając bezpośrednio na geny lub ich produkty czy działał na różnych etapach szlaków leukemogennych [7, 8].

Współczesne standardy diagnostyki AML

Podstawowe znaczenie dla rozpoznania ostrej białaczki szpikowej ma badanie cytologiczne szpiku kostnego. Jeśli badania morfocytochemiczne nie są wystarczające do rozpoznania ostrej białaczki szpikowej, krew oraz szpik kostny poddawane są szeregowi badań immunofenotypowych, cytogenetycznych czy molekularnych [1, 2].

Wykaz badań niezbędnych do diagnostyki ostrej białaczki szpikowej:

Morfologia oraz rozmaz krwi obwodowej:

W przypadku chorych na ostrą białaczkę szpikową w morfologii krwi obwodowej można dostrzec zmniejszenie się ogólnej liczby krwinek czerwonych, hematokrytu oraz hemoglobiny. Prawie u wszystkich chorych występuje małopłytkowość. W przypadku wystąpienia krwotoków może pojawić się znaczna niedokrwistość [1]. Liczba białych krwinek umiarkowanie wzrasta, jednak w przypadku około 5% pacjentów może występować duża (>100 000/mikrolitr) leukocytoza. W przypadku około 40–50% pacjentów z AML obserwuje się prawidłową lub obniżoną ilość krwinek białych (tzw. leukopenia) [1, 2].

W rozmazie krwi obwodowej obecne są komórki blastyczne z dużym jądrem o luźnej strukturze z wyraźnymi jąderkami oraz z szarobłękitną cytoplazmą [1]. W cytoplazmie stwierdza się niekiedy obecność azurochłonnych ziarnistości, które mogą przybierać formę pałeczek Auera. Wykrywane są one jednak jedynie u 30% chorych. Charakterystyczne dla ostrej białaczki szpikowej jest występowanie w rozmazie krwi obwodowej tzw. przerwy białaczkowej. Polega ona na występowaniu nielicznych form pośrednich (często ich braku) obok bardzo wielu młodych komórek blastycznych oraz nielicznych dojrzałych granulocytów [1]. Warto nadmienić, że w trakcie badania

rozmazu krwi obwodowej zaleca się oglądanie 200 komórek jądrzastych.

Badanie szpiku kostnego:

Blastami nazywa się słabo zróżnicowane komórki prekursorowe, z których, w procesach krwiotworzenia zachodzących w szpiku kostnym, rozwijają się komórki poszczególnych szeregów hematopoetycznych.

Materiał do oceny szpiku jest pobierany drogą biopsji aspiracyjnej. Pozwala ona na pobranie komórek do wielu badań. Analiza rozmazu cytologicznego umożliwia wstępne rozpoznanie białaczki oraz określenie jej podtypu [1].

Trepanobiopsja, która jest oceną wycinku kostnego, jest zalecana, gdy niemożliwe jest uzyskanie odpowiedniego materiału do badania metodą tzw. punkcji suchej [3]. Za pomocą specjalnej igły pobiera się wówczas fragment szpiku kostnego oraz kości.

Preparaty krwi lub szpiku kostnego barwi się najczęściej za pomocą metody Maya Grunwalda-Giemsy lub Wrighta-Giemsy. Wybarwione preparaty ocenia się pod mikroskopem i poddaje ocenie morfologicznej. Ocenia się przynajmniej 500 komórek jądrzastych w preparacie szpiku kostnego [2, 9]. Obecność 20% blastów w rozmazie krwi lub szpiku kostnym świadczy o ostrej białaczce szpikowej. Warto nadmienić, że do komórek blastycznych zalicza się monoblasty, mieloblasty, promonocyty i megakarioblasty [2].

Badania immunofenotypowe:

Mogą one służyć do rozpoznania, ale także do potwierdzenia podtypu nowotworu oraz postawienia ostatecznej diagnozy. Znany jest szeroki panel badań antygenów linii komórkowych, które mają znaczenie w diagnostyce ostrych białaczek szpikowych, pozwalających określić stopień dojrzałości oraz zróżnicowanie komórek danych linii. Należą do nich, między innymi: markery prekursorowe, markery granulocytarne, markery monocytowe, markery megakariocytowe czy markery erytroidalne [1, 2, 10]. Dokładny podział został przedstawiony w tabeli I. Badania immunofenotypowe przeprowadza się, wykorzystując cytometrię przepływową, która pozwala na ocenę jakościową, jak i ilościową właściwości fizycznych oraz biologicznych komórek czy ich komponentów: kwasów nukleinowych, jąder komórkowych czy mitochondriów [11]. Technika ta znalazła głównie zastosowanie

Tabela I – Ekspresja powierzchniowych i cytoplazmatycznych markerów komórkowych przydatna w diagnostyce ostrej białaczki szpikowej według ELN 2017 [10]

Table I – Cell-surface and cytoplasmatic markers expression useful in acute myeloid leukemia diagnosis according to ELN 2017 [10]

Diagnoza ostrej białaczki szpikowej – markery	
Prekursorowe	CD34, CD117, CD33, CD13, HLA-DR
Granulocytarne	CD65, cytoplazmatyczna mieloperozydaza (MPO)
Monocytowe	CD14, CD36, CD64
Megakariocytowe	CD41 (glikoproteina IIb/IIIa), CD61 (glikoproteina IIIa)
Erytroidalne	CD235a (glikoforyna A), CD36

w diagnostyce hematologicznej i jest uzupełnieniem metod patomorfologicznych [12].

Cytogenetyka klasyczna oraz metoda FISH:

Klasyczne metody cytogenetyczne przeprowadzane metodą prążkową GTC (chromosomy trawione są trypsyną oraz wybarwiane przy pomocy barwnika Giemsy, uwidaczniają regiony bogate w adeninę i tyminę, czyli tzw. prążki G), pozwalają na określenie kariotypu komórek nowotworowych. Metoda ta pozwala na analizę chromosomów w stadium metafazy pod względem ich kształtu oraz liczby. Wraz z metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* nadal są złotym standardem w klinikach hematologicznych [13]. Aberracje cytogenetyczne mają również zastosowanie prognostyczne w wielu nowotworach układu krwiotwórczego, w tym AML [14]. Technikę fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization; FISH) coraz częściej wykorzystuje się jako uzupełnienie klasycznej cytogenetyki z zastosowaniem metody prążkowej [2]. Technika FISH polega na hybrydyzacji określonej sekwencji DNA lub RNA ze specyficznymi sondami, którymi są oligonukleotydowe fragmenty znakowane barwnikami fluorescencyjnymi. Połączenie się markera z wyznakowaną sondą zachodzi na zasadzie komplementarności [15]. Jest to metoda cytochemiczna, która pozwala na identyfikację markerów na chromosomach lub długich częściach DNA [16]. W przypadku AML zastosowanie metody FISH umożliwia identyfikację chromosomów markerowych, aberracji liczbowych czy translokacji złożonych lub ukrytych. Fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* ma również szerokie zastosowanie w wykrywaniu powtarzalnych aberracji genetycznych. Dzięki tej metodzie można wykryć na przykład obecność genu fuzyjnego CFBF-MYH11, będącego wynikiem inwersji chromosomu 16 (inv(16)(p13q22)) [17], czy obecność białka fuzyjnego RUNX1/RUNX1T1, będącego wynikiem translokacji chromosomalnej t(8;21)(q22;q22.1), która jest jedną z najczęstszych w ostrej białaczce szpikowej [18]. Te aberracje mają korzystne znaczenie rokownicze w przypadku pacjentów z AML [1, 2]. FISH pozwala również na wykrycie zaburzeń w chromosomie 11, w locus q23, kodującym gen KMT2A [MLL gene] czy EVI1 (inv(3)(q21.3q26.2) lub t(3;3)(q21.3;q26.2)) lub del(5q) i del(7q). FISH jest również niezbędny do identyfikacji partnerskich genów fuzyjnych w translokacjach 11q23. Metoda FISH pozwala także na ocenę odpowiedzi na terapię oraz ocenę zmian genetycznych, które mogą wpływać na przebieg choroby. Wynik badania cytogenetycznego powinien być wydany w ciągu od 5 do 7 dni od momentu rozpoznania choroby [10].

Badania molekularne:

Ocena zmian genetycznych klonu komórek białaczkowych za pomocą metod molekularnych jest jednym z najważniejszych elementów diagnostyki, prognozowania czy wyboru odpowiedniej terapii w przypadku chorych na białaczkę, w tym również chorych na ostrą białaczkę szpikową [2, 19]. Zalecany materiałem do badań molekularnych jest szpik lub krew obwodowa [1]. Według zaleceń European Leukemia Net krew obwodowa, jak i szpik kostny powinny być zabezpieczone do badań molekularnych metodą odwrotnej transkrypcji wraz

z polimerazową reakcją łańcuchową [2, 10]. Warto nadmienić, że dodatkowe badania genetyczne należy wykonać na podstawie wyniku kariotypu oraz kiedy podejrzewa się rozpoznanie na podstawie danych klinicznych, wyników badań immunofenotypowych czy w przypadku wyników z badań morfologicznych. Zalecane i rekomendowane są badania screeningowe w kierunku mutacji w genach NPM1, CEBPA i RUNX1, które mogą informować o rokowaniu oraz FLT3, TP53, ASXL1 – związane ze złą prognozą. Gdy niezbędne jest podjęcie szybkiej decyzji o wyborze odpowiedniej terapii lub gdy ocena morfologii chromosomów jest problematyczna, zaleca się badanie obecności genów fuzyjnych, takich jak: RUNX1-RUNX1T1, CBFβ-MYH11, PML-RARA, BCR-ABL1 za pomocą metod cytogenetyczno-molekularnych. Wynik badania mutacji w genach NPM1 i FLT3 powinien być znany w przeciągu 48 do 72 godzin od momentu rozpoznania choroby, a wyniki pozostałych badań molekularnych powinny być znane w pierwszym cyklu leczenia [2, 10, 20].

Rozpoznanie ostrej białaczki szpikowej

Podstawą rozpoznania ostrej białaczki szpikowej, według najnowszych wytycznych *European Leukemia Net*, jest stwierdzenie obecności powyżej 20% blastów w rozmazie krwi obwodowej lub szpiku kostnym. Wyjątek stanowią tutaj pacjenci, u których wykryto zmiany cytogenetyczne t(15;17), inv(16), t(16;16) i t(8;21). Ich obecność pozwala na wykrycie ostrej białaczki szpikowej bez względu na odsetek blastów w szpiku kostnym [1, 9, 10]. W celu potwierdzenia ostrej białaczki szpikowej oraz prawidłowego zróżnicowania typu nowotworu wykonuje się analizę szerokiego panelu antygenów. Ocena zmian genetycznych klonu białaczkowego z wykorzystaniem metod fluorescencyjnej hybrydyzacji (FISH), klasycznej cytogenetyki lub wielu metod molekularnych jest również bardzo ważnym elementem diagnostyki ostrej białaczki szpikowej [1, 2].

Przed wdrożeniem leczenia chorego należy w pierwszej kolejności rozpoznać chorobę, dokonać oceny czynników rokowniczych oraz określić stan zdrowia pacjenta w celu eliminacji ewentualnych powikłań związanych z zastosowanym leczeniem. W przypadku wystąpienia zakażenia, skazy krwotocznej czy innych powikłań należy je opanować oraz doprowadzić pacjenta do dobrego stanu ogólnego [1, 2].

Leczenie chorych na ostrą białaczkę szpikową

Leczenie chorych na ostrą białaczkę szpikową jest zależne od czynników prognostycznych, takich jak wiek czy płeć pacjenta oraz od ryzyka cytogenetyczno-molekularnego (Tab. II) [1, 2]. W przypadku osób cierpiących na ostrą białaczkę szpikową poniżej 60. roku życia wyróżniamy trzy główne etapy leczenia: indukcja remisji, konsolidacja remisji oraz leczenie poremisyjne [10, 21].

Leczenie indukcyjne:

Celem leczenia indukcyjnego jest zmniejszenie masy komórek białaczkowych do takich ilości, które nie będą

Tabela II – Klasyfikacja cytogenetyczno-molekularna zaproponowana przez *European Leukemia Net* 2017 [10]
Table II – Cytogenetic-molecular classification of AML according to *European Leukemia Net* 2017 recommendations [10]

Rokowanie	Zaburzenia genetyczne
Korzystne	t(8;21)(q22;q22.1) – RUNX1-RUNX1T1 inv(16)(p13.1;q22) lub t(16;16)(p13.1;q22) – CBFβ-MYH11 mutacja NPM1 bez FLT3-ITD albo z FLT3-ITD ^{low} mutacja CEBPA (bialleliczna)
Pośrednie	mutacja NPM1 i FLT3-ITD ^{high} wtNPM1 z FLT3-ITD ^{low} lub wtNPM1 bez FLT3-ITD t(9;11)(p21.3;q23.3) – MLLT3-KMT2A nieprawidłowości cytogenetyczne niesklasyfikowane jako korzystne lub niekorzystne
Niekorzystne	inv(3)(q21.3;q26.2) lub t(3;3)(q21.3;q26.2) –GATA2,MECOM(EVI1) t(6;9)(p23;q34.1) – DEK-NUP214 t(v;11q23.3) – KMT2A rearanżacja –5 lub del(5q) –7; -17/ abnl(17p) złożony kariotyp albo monosomalny kariotyp Zmutowany RUNX1, ASXL1 i TP53 wtNPM1 i FLT3-ITD ^{high}

wykrywane metodami hematologicznymi, oraz osiągnięcie całkowitej remisji choroby, czyli przywrócenie prawidłowego wytwarzania i różnicowania się elementów morfotycznych krwi w szpiku kostnym. Zwykle remisja oraz regeneracja szpiku kostnego zachodzi w ciągu 3 do 6 tygodni od momentu wdrożenia leczenia indukcyjnego [1].

Schemat leczenia indukcyjnego jest niezmienny od prawie 30 lat [22]. Stosuje się tutaj polichemioterapię w tzw. schemacie „3+7”. Polega on na podawaniu antracyklin (daunorubicyny w dawce 60–90 mg/m²/dobę lub idarubicyny w dawce 10–12 mg/m²/dobę) przez 3 dni oraz arabinozydu cytozyny (Ara-C) przez 7 dni w dawce 100–200 mg/m²/dobę. [1, 23]. W większości przypadków zastosowanie takiej terapii prowadzi do całkowitej remisji choroby. Leki te działają na różne fazy cyklu komórkowego oraz na różne punkty metabolizmu komórkowego i tak synchronizują podział komórki, żeby kolejny lek trafiał na fazę największej wrażliwości komórek białaczkowych [1]. Nie wykazano, aby podanie innych antracyklin czy większych dawek Ara-C zwiększały skuteczność terapii [2]. Warto nadmienić, że dodanie do tego schematu kladrybiny w dawce 5 mg/m²/dobę w ciągu trzech dni wykazało zwiększenie wskaźnika remisji [24, 25].

Skuteczność leczenia indukcyjnego ocenia się po okresie od 21 do 28 dni od rozpoczęcia terapii. Ocenia się wówczas odsetek blastów w rozmazie szpiku kostnego. Gdy liczba komórek blastycznych spada do <5%, brak blastów z pałeczkami Auera, liczba płytek krwi wynosi powyżej 100 × 10⁹/L, a neutrofile powyżej 1,0 × 10⁹/L oraz brak objawów choroby pozaszpikowej, to mamy do czynienia z całkowitą remisją [3, 10, 26]. Standardowy schemat leczenia indukcyjnego stosowany u chorych poniżej 60. roku życia jest skutecznym w przypadku około 60–80% pacjentów [27].

Leczenie poremisyjne – konsolidacja remisji:

Jest fazą leczenia ostrej białaczki szpikowej przeprowadzaną po uzyskaniu całkowitej remisji (CR). Ma na celu usunięcie tzw. choroby resztkowej (*minimal residual disease*; MRD), czyli usunięcie resztkowej populacji komórek białaczkowych. Warto nadmienić, że po uzyskaniu CR całkowita liczba komórek nowotworowych w ustroju może wynosić około 10^9 i może nie być wykrywalna standardowymi badaniami, natomiast jest wykrywana metodami cytometrii przepływowej oraz metodami biologii molekularnej (RT-qPCR) [10]. Obecność tych komórek może spowodować nawrót choroby w ciągu kilku miesięcy [1]. Standardowo konsolidacja remisji przebiegała stosując do 4 cykli cytarabiny w dużych dawkach, wynoszących 2–3 g/m² co 12 h w 1., 3., 5. dniu (stosując 6 dawek na jeden cykl) [1, 3, 10]. Wykazano również, że u chorych z korzystnym kariotypem zastosowanie czterech cykli konsolidujących w pierwszej fazie remisji jest równie skuteczne, co autologiczny przeszczep komórek szpiku kostnego [28]. Ostatnie badania wykazały jednak, że stosowanie wysokich dawek cytarabiny nie przekłada się na uzyskanie korzystniejszego efektu u pacjentów. Według najnowszych zaleceń *European Leukemia Net* rekomendowane jest obecnie stosowanie średnich dawek tego leku wynoszących 1–1,5 g/m². Kwestią sporną jest liczba cykli stosowanych w terapii, jednak najczęściej po osiągnięciu CR stosuje się od 2 do 4 cykli [10]. Istotnym elementem jest zabezpieczenie pacjenta przed ewentualnymi powikłaniami oraz dostosowanie siły leczenia do odpowiedzi, którą stwierdza się na podstawie określenia minimalnej choroby resztkowej. Do jej oceny stosuje się techniki molekularne (RT-qPCR) oraz metody cytometrii przepływowej (*multiparameter flow cytometry*; MFC). Pozwala to na ocenę stanu remisji czy określenie kinetyki odpowiedzi na leczenie – jeśli MRD określone jest zaraz po zastosowaniu terapii indukcyjnej, oraz prawdopodobieństwa nawrotu choroby – jeśli MRD określone jest po terapii konsolidacyjnej. Stan minimalnej choroby resztkowej informuje również o wyborze przyszłej terapii – jest wykorzystywany do podjęcia decyzji o przeszczepie szpiku kostnego w pierwszym cyklu terapii, gdyż jest bardzo czułym predyktorem nawrotu choroby [1, 10]. Postępowanie terapeutyczne po osiągnięciu stanu remisji choroby zależy również od wielu innych czynników, takich jak: stan ogólny chorego, podtyp białaczki, ocena stanu rokowania czy występowania aberracji cytogenetycznych lub molekularnych (Tab. II) [1, 10, 23]. W przypadku chorych z grupy korzystnego rokowania, u których stwierdzono obecność genu fuzyjnego RUNX1-RUNX1T1 oraz CBFβ-MYH11, u pacjentów z mutacją NPM1 niewykazujących duplikacji genu kodującego receptorową kinazę tyrozynową FLT3-ITD w komórkach progenitorowych układu krwiotwórczego [29] oraz chorych z biallelicznymi mutacjami w genie CEBPA przeprowadza się od 2 do 4 cykli konsolidacyjnych z zastosowaniem średnio-dawkowanej cytarabiny (1–1,5 g/m²) oraz dokładnie monitoruje się remisję na poziomie choroby resztkowej [10].

Poremisyjne strategie leczenia łączą ze sobą chemioterapię wraz z auto- i allogenicznym przeszczepem szpiku (HCT). Ostatnie badania wykazały przydatność autologicznego HCT w przypadku chorych o korzystnych i pośrednich

zmianach genetycznych, efekt takiego leczenia był porównywalny z przeszczepem allogenicznym, w przypadku gdy punktem końcowym było całkowite przeżycie chorego (OS) [10]. Ostra białaczka szpikowa jest jedną z najczęstszych przyczyn skierowania pacjentów na allogeniczny przeszczep szpiku kostnego. Decyzja o skierowaniu pacjenta na allogeniczny HCT zależy od oceny współczynnika ryzyka/korzyści, opartego na cytogenetycznych i molekularnych czynnikach, a także na stanie samego pacjenta, zgodności potencjalnego dawcy oraz możliwości przeszczepu. Generalnie nie zaleca się kierować pacjentów z korzystnymi zmianami genetycznymi do allo-HCT po osiągnięciu pierwszej remisji. W obrębie grupy z niekorzystnymi zmianami genetycznymi powszechnie zaleca się skierowanie na allo-HCT tuż po osiągnięciu całkowitej remisji. Allogeniczny przeszczep szpiku jest rekomendowany w przypadku, gdy ryzyko nawrotu choroby przekracza 35–40%. U tych pacjentów przeprowadza się przeszczep szpiku kostnego od dawcy spokrewnionego lub niespokrewnionego, zgodnego w układzie antygenów HLA [10, 22, 23, 30]. W przypadku braku rodzeństwa lub dawcy niespokrewnionego zgodnego w zakresie antygenów HLA konieczne jest rozważenie przeszczepu komórek szpiku kostnego od dawcy alternatywnego lub przeszczep komórek macierzystych pochodzących z krwi pępowinowej [31]. Warto dodać, że allo-HCT jest jedyną szansą na wyleczenie chorych z białaczką pierwotnie oporną na leczenie (*primary refractory disease*). Wśród pacjentów z trwale utrzymującą się chorobą resztkową lub z wczesnym nawrotem MRD także zaleca się skierowanie na allo-HCT, jeszcze przed nawrotem hematologicznym choroby. Pomimo tego, że zastosowanie allo-HCT często daje lepsze wyniki od chemioterapii, nie znosi negatywnych efektów niekorzystnych zmian genetycznych oraz nie wpływa na przedtransplantacyjny poziom MRD [10]. Zaletą allo-HCT jest stosunkowo mała częstość nawrotów oraz wydłużenie czasu przeżycia bez wznowy choroby. Wadą jest znaczna śmiertelność związana ze zbyt silną reakcją przeszczepionych komórek szpiku przeciwko gospodarzowi [1, 23].

Leczenie podtrzymujące:

Ze względu na brak dowodów istotnych korzyści dla pacjentów leczenie podtrzymujące nie stanowi obecnie części standardowego leczenia AML [10].

Nowe trendy w leczeniu

Pomimo postępów w badaniach nad zrozumieniem patofizjologii ostrej białaczki szpikowej, biorąc pod uwagę niejednorodność molekularną poszczególnych przypadków, rozwój nowych skuteczniejszych terapii okazał się trudnym wyzwaniem. Postępy w leczeniu wspomagającym przełożyły się na poprawę 5-letniej przeżywalności wśród osób poniżej 60. roku życia. Jednak u starszych pacjentów z AML, stanowiących większą część wszystkich chorych, prognozy długoterminowe są niekorzystne, 5 lat od momentu diagnozy przeżywa jedynie 10–20% pacjentów. Pozostaje wyraźna potrzeba wprowadzenia nowych terapii oraz bardziej zindywidualizowanego podejścia do leczenia AML [26, 32–34].

W odpowiedzi na tę potrzebę poszukiwane są nowe substancje lecznicze, prowadzone są zaawansowane badania przedkliniczne oraz wczesne kliniczne tych preparatów. Poniżej przedstawiono niektóre najbardziej obiecujące nowe leki, podzielone na kategorie w zależności od mechanizmu działania na: środki cytotoksyczne, małowzrostowe inhibitory, przeciwciała monoklonalne.

Środki cytotoksyczne:

CPX-351

CPX-351 jest nośnikiem liposomowym, zawierającym w sobie odpowiedni stosunek molowy (wynoszący 5:1) cytarabiny i daunorubicyny. Badania *in vitro* wykazały, że wskaźnik ten ma najwyższy poziom synergii i najniższy poziom interakcji antagonistycznych. Pierwsze badania kliniczne sugerują, że CPX-351 wydaje się być dobrze tolerowany oraz zdolny do wywołania całkowitej remisji wśród pacjentów z nawracającą bądź oporną postacią AML [33, 35]. Badania kliniczne w fazie drugiej, przeprowadzone na 127 pacjentach w wieku powyżej 60 lat, potwierdziły dobrą tolerancję leku oraz uzyskanie większej częstości całkowitych remisji wśród pacjentów leczonych CPX-351, szczególnie w podgrupie osób starszych z wtórną postacią ostrej białaczki szpikowej [36]. Obecnie trwają badania kliniczne trzeciej fazy [33].

Vosaroxin

Vosaroxin, pochodna chinolonu, jest lekiem przeciwnowotworowym interkalującym z DNA. Jego działanie polega na hamowaniu topoizomerazy DNA II, wykazuje podobne działanie jak antracykliny, jednak w przeciwieństwie do nich nie powoduje powstawania wolnych rodników tlenowych, co ogranicza jego kardiotoksyczność [37-39]. Ponadto vosaroxin nie jest substratem dla glikoproteiny-P, może indukować apoptozę niezależną od P-53 [38, 40]. Vosaroxin miałby zastąpić daunorubicynę, składnik standardowej chemioterapii w AML, która w związku ze swoim działaniem ma szkodliwy wpływ na serce. Badania fazy pierwszej i drugiej wykazały bardzo obiecujące wyniki [41]. Badania kliniczne fazy trzeciej przeprowadzone na 711 pacjentach wykazały wzrost odsetka całkowitych remisji wśród pacjentów leczonych vosaroxinem i cytarabiną. W tej grupie jednak obserwowano więcej poważnych zdarzeń niepożądanych, takich jak neutropenia, zapalenie jamy ustnej, hipokaliemia, bakterie [42]. W związku z tym przyszłość tego leku stoi pod znakiem zapytania, konieczne są dalsze badania wraz ze zmianą dawki oraz schematu leczenia [41].

Sapacitabine

Nowatorski analog nukleozydu, jego aktywny składnik jest analogiem deoksycytydyny podobnym do cytarabiny, ale w przeciwieństwie do niej jest odporny na deaminację oraz inaktywację. Wzbudził duże zainteresowanie w związku z możliwością doustnego podawania oraz dopuszczalną toksycznością [43-45]. Skuteczność kliniczną specyfiku, zarówno pojedynczo jak i w skojarzeniu, oceniano u starszych pacjentów z AML lub pacjentów z AML nienadających się do standardowej intensywnej chemioterapii. Sapacitabine była ogólnie dobrze tolerowana, powikłania związane

z zahamowaniem czynności szpiku oraz dolegliwości przewodu pokarmowego były najczęstszymi działaniami niepożądanymi. Niestety badania w trzeciej fazie klinicznej nie wykazały istotnych różnic w porównaniu do leczenia cytarabiną w niskiej dawce. Inne badania, także w skojarzeniu z innymi lekami, są obecnie w toku [33, 46].

SGI-110 (Guadecitabine)

To dinukleotyd decytabiny i dezoksyguanozyny, który zwiększa ekspozycję *in vivo* na decytabinę, chroniąc ją od deaminacji [41]. Badania kliniczne pierwszej oraz drugiej fazy wykazały, że SGI-110 jest dobrze tolerowany, najczęstsze występujące działania niepożądane to mielosupresja oraz infekcje [47]. Jeżeli badania kliniczne fazy trzeciej wykażą korzyści w całkowitym przeżyciu pacjentów, guadecitabine być może stanie się lekiem z wyboru dla pacjentów nienadających się do tradycyjnej chemioterapii indukcyjnej. Miałyby zastąpić dotychczas używane środki hipometylujące, takie jak 5-azacytydina i decytabina [33, 41, 48].

Małowzrostowe inhibitory:

Volasertib

Volasertib jest małą cząsteczką hamującą kinazę polo-podobną 1 (PLK1), także PLK2 i PLK3 [33]. Rodzina kinaz PLK składa się z 5 konserwatywnych kinaz serynowo-treoninowych, które są ważne dla regulacji punktu kontrolnego i progresji cyklu komórkowego. Inhibicja PLK1, która ulega nadekspresji w ludzkich komórkach ostrej białaczki szpikowej, prowadzi do dezorganizacji powstawania wrzeciona podziałowego i w konsekwencji do apoptozy komórki [41]. Lek ten przeszedł pomyślnie badania kliniczne pierwszej oraz drugiej fazy. U osób leczonych volasertibem w skojarzeniu z niskimi dawkami araC osiągnięto większy odsetek całkowitych remisji, poprawę mediany przeżycia wolnego od zdarzeń (*event free survival*; EFS) oraz zwiększenie przeżycia całkowitego pacjentów. Zaobserwowano zwiększenie się częstotliwości zdarzeń niepożądanych, jednak nie wpłynęły one na zwiększenie śmiertelności w grupie badanej [49, 50]. Aby potwierdzić uzyskane dane, przeprowadzane są właśnie wieloosrodkowe badania kliniczne trzeciej fazy wśród pacjentów z nowo zdiagnozowaną ostrą białaczką szpikową [33].

Inhibitory FLT3

Fms-podobna kinaza tyrozynowa 3 (FLT3) jest receptorem typu 3 dla kinazy tyrozynowej, ulega ekspresji na krwiotwórczych komórkach progenitorowych oraz na większości komórek białaczkowych [41]. Pojawienie się wewnętrznych duplikacji tandemowych (FLT3-ITDs) jest najczęstszą mutacją wśród pacjentów z nowo wykrytą ostrą białaczką szpikową – są one wykrywane u około 30% pacjentów. Są to mutacje aktywujące prowadzące do ciągłej sygnalizacji, które mogą promować wzrost i przeżycie blastów AML [33]. FLT3-ITD wiąże się z wysokim ryzykiem wystąpienia nawrotu i ogólnie z niekorzystnym rokowaniem, dlatego rozwój inhibitorów FLT3 wydaje się być priorytetem [51, 52]. Trwają badania nad trwałym inhibitorem, który spowodowałby znaczną poprawę przeżycia całkowitego pacjentów. Substancje, które są obecnie w zaawansowanych fazach klinicznych to:

- Sorafenib – uzyskał obiecujące wyniki w badaniach klinicznych I i II fazy, szczególnie wśród młodszych pacjentów z AML, gdzie wynik całkowitych remisji plasował się na poziomie 75%, a u pacjentów z *FLT3-ITD* na poziomie 93% [53]. Wydaje się być jednak zbyt toksyczny dla pacjentów starszych. Trwają badania nad zmniejszoną dawką oraz leczeniem w skojarzeniu [33, 53, 54].
- Midostaurin – inhibitor kinaz, który może być podawany doustnie, wykazuje działanie hamujące *FLT3-ITD* [33]. Badania wstępne I fazy wykazały skuteczność oraz bezpieczeństwo, obiecujące wyniki doprowadziły do badań klinicznych III fazy. Nie wykazano zmian w całkowitej remisji wśród pacjentów leczonych midostaurinem w skojarzeniu, jednak wykazały one poprawę długości przeżycia wolnego od zdarzeń oraz przeżycia całkowitego. Trwają badania nad innymi dawkami midostaurinu [33, 55, 56].
- Quizartinib – został opracowany jako wysoce selektywny inhibitor *FLT3* drugiej generacji [57]. Pomimo obiecujących wyników monoterapii z użyciem quizartinibu, 50% pacjentów miało nawrót choroby w ciągu 3 miesięcy. Dalsze badania sugerują, że przyczyną mechanizmów oporności na quizartinib są mutacje w domenie kinazy tyrozynowej genu *FLT3* (*FLT3-TKD*), w tym mutacje D835 i F691 [41, 58, 59].
- Crenolanib – inhibitor kinazy tyrozynowej crenolanib wykazuje aktywność przeciwko mutacji D835, znajdującej się w pętli aktywacyjnej *FLT3* oraz jako selektywny inhibitor przełamuje oporność na quizartinib [41, 60]. Crenolanib jest obecnie badany w połączeniu z chemioterapią indukcyjną u chorych z nowo rozpoznaną AML z mutacjami *FLT3-ITD* i *FLT3-TKD* [41].

Przeciwciała monoklonalne:

Koniugaty przeciwciało-lek skierowane na różne receptory komórkowe charakterystyczne dla komórek białaczkowych są ciągle interesującym tematem dla wielu badaczy. Szczególnie ciekawym jest receptor CD33, występujący na powierzchni komórek z linii szpikowej. Stąd próby syntezowania przeciwciał bądź połączeń przeciwciało-lek przeciwko tym receptorom [33, 41, 61].

Obecnie trwają badania nad:

- SGN-33A – humanizowane przeciwciało anty-CD33, przeciwciało monoklonalne sprzężone jest z silną toksyną, niesie dimer pirolobenzodiazepiny (PBD) [62].
- AMG-330 – reprezentuje inne podejście do celowania w antygen powierzchniowy CD33, obejmuje rekrutację układu odpornościowego gospodarza do rozpoznawania i eliminowania blastów białaczkowych przy użyciu cytotoksyczności komórkowej. Nowa konstrukcja przeciwciała ma 2 motywy specyficzności – taki, który rozpoznaje antygen specyficzny dla nowotworu, oraz drugi, CD3, który jest obecny na komórkach T [33]. Pierwsze badania *ex vivo* prowadziły do rekrutacji i ekspansji komórek T oraz wywołania reakcji cytotoksycznych, co w konsekwencji doprowadziło do lizy blastów u większości pacjentów [63, 64].

Trwają badania nad określeniem optymalnej dawki oraz znalezieniem potencjalnych podgrup chorych na AML, którzy mogą korzystać z nowych przeciwciał monoklonalnych.

Podsumowanie

Ostra białaczka szpikowa to bardzo groźna choroba, która nieleczona doprowadza do śmierci pacjenta w ciągu kilku tygodni, głównie z powodu infekcji oraz powikłań krwotocznych. Obecny standard leczenia osób dorosłych z AML pozostaje niezmienny od ponad 30 lat. Dotychczasowe wyniki leczenia osób cierpiących na ostrą białaczkę szpikową nie są do końca satysfakcjonujące, szczególnie wśród starszych pacjentów. Stąd ciągle poszukiwane są nowe leki oraz terapie. Szczególnie interesujące są poszukiwania charakterystycznych zmian w genach odpowiadających za prawidłową hematopoezę oraz regulujących proliferację i apoptozę. To w nich badacze poszukują potencjalnych nowych celów dla terapii. Wiele nowych substancji jest w trakcie badań klinicznych trzeciej fazy, od jej pomyślnego przebiegu zależy ich wdrożenie oraz zmiana dotychczasowego schematu leczenia. Postęp naukowy pomaga lepiej zrozumieć różnice biologiczne między podtypami białaczek różnych pacjentów oraz jest niezbędny do identyfikacji potencjalnych celów dla nowych terapii, w tym także terapii celowanych. Coraz bliżej jesteśmy przyszłości, gdzie stanie się obowiązkowe, aby rutynowo molekularnie charakteryzować przypadki nowo rozpoznanych AML przed wdrożeniem leczenia.

Wkład autorów/Authors' contributions

Według kolejności.

Konflikt interesu/Conflict of interest

Nie występuje.

Finansowanie/Financial support

Projekt współfinansowany ze środków statutowych Zakładu Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej 503/3-015-02/503-31-001 oraz Nowego zadania badawczego Wydziału Farmaceutycznego 502-03/3-015-02/502-34-088 i 502-03/3-015-02/502-34-089, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska.

Etyka/Ethics

Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

P I Ś M I E N N I C T W O / R E F E R E N C E S

- [1] Hołowiecki J. Białaczki ostre. Interna Szczeklika. Podręcznik Chorób Wewnętrznych. W: Hellmann A, red. Medycyna Praktyczna. Kraków; 2013. p. 1640–1654.
- [2] Wierzbowska A. Ostra białaczka szpikowa. Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w

- nowotworach złośliwych 2013 Tom II. W: Krzakowski M, Warzocha K, reds. Polskie Towarzystwo Onkologii Klinicznej. Gdańsk; 2013. p. 753-767.
- [3] Kata D, Kyrzcz-Krzemiński S. Ostria białaczka szpikowa-współczesne poglądy na patogenezę, postępowanie diagnostyczne, klasyfikację, stratyfikację prognostyczną i leczenie. *Post Nauk Med* 2011;24:601-609.
 - [4] Saultz J, Garzon R. Acute Myeloid Leukemia: A Concise Review. *J Clin Med* 2016;5:33.
 - [5] Signs and symptoms of acute myeloid leukemia. www.cancer.org. dostęp 01.06.2016r.
 - [6] Deschler B, Lübbert M. Acute Myeloid Leukemia: Epidemiology and Etiology. *Cancer* 2006;107:2017-2099.
 - [7] Grosicki S. Perspektywy dla terapii celowanej w ostrej białaczce szpikowej. *Hematologia* 2011;2:23-32.
 - [8] Gil L, Komarnicki M. Nowe metody farmakoterapii ostrej białaczki szpikowej. *Współcz Onkol* 2007;11:181-185.
 - [9] Hasserjian RP. Acute myeloid leukemia: advances in diagnosis and classification. *Int Jnl Lab Hem* 2013;35:358-366.
 - [10] Döhner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood* 2017;129:424-447.
 - [11] Muszyńska M. Cytometria przepływowa. e-biotechnologia.pl.2011. <http://www.e-biotechnologia.pl/>. dostęp 01.06.2016r.
 - [12] Cytometria przepływowa w pigułce. www.dolinabiotechnologiczna.pl. dostęp 01.06.2016r.
 - [13] Macheta A, Chocholska S, Podhorecka M. Metody genetyczne w diagnostyce hematologicznej. *Postępy Hig Med Dosw* 2015;69:475-487.
 - [14] Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009;114:937-951.
 - [15] Bishop R. Applications of fluorescence in situ hybridization (FISH) in detecting genetic aberrations of medical significance. *Bioscience Horizons* 2010;3:85-95.
 - [16] Brown TA. Hybrydizacja fluorescencyjna in situ (FISH). W: Kruczyńska K, Zienkiewicz I, reds. *Genomy*, 3. PWN: Warszawa; 2009. p. 89-91.
 - [17] Stulberg J, Kamel-Reid S, Chun K, Tokunaga J, Wells RA. Molecular analysis of a new variant of the CBF beta-MYH11 gene fusion. *Leuk Lymphoma* 2002;43:2021-2026.
 - [18] Linggi B, Müller-Tidow C, van de Locht L, Hu M, Nip J, Serve H. The t(8;21) fusion protein, AML1 ETO, specifically represses the transcription of the p14(ARF) tumor suppressor in acute myeloid leukemia. *Nat Med* 2002 Jul;8(7):743-750. Epub 2002 Jun 24.
 - [19] Chi J, Costeas P. The Evolution of Genetics Techniques for Leukemia Diagnosis. *Adv Tech Biol Med* 2015;3:2.
 - [20] Prochorec-Sobieszek M. Klasyfikacja i kryteria diagnostyczne nowotworów układu krwiotwórczego. Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych 2013 Tom II. W: Krzakowski M, Warzocha K, reds. Polskie Towarzystwo Onkologii Klinicznej. Gdańsk; 2013. p. 670-684.
 - [21] Fey MF, Buske K. Acute myeloblastic leukaemias in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* 2013;24:1-6.
 - [22] Wierzbowska A, Gołos A. Nowe strategie leczenia poremisyjnego ostrej białaczki szpikowej u dorosłych. *Acta Haematol Pol* 2011;42:227-233.
 - [23] Wierzbowska A, Pluta A, Robak T. Standardy diagnostyki i leczenia ostrej białaczki szpikowej u dorosłych według wytycznych European LeukemiaNet. *Acta Haematol Pol* 2010;41:371-379.
 - [24] Holowiecki J, Grosicki S, Giebel S, et al. Cladribine, But Not Fludarabine, Added to Daunorubicin and Cytarabine During Induction Prolongs Survival of Patients With Acute Myeloid Leukemia: A Multicenter, Randomized Phase III Study. *Journal of Clinical Oncology* 2012;30:2441-2448.
 - [25] Holowiecki J, Grosicki S, Robak T, et al. Polish Adult Leukemia Group (PALG). Addition of cladribine to daunorubicin and cytarabine increases complete remission rate after a single course of induction treatment in acute myeloid leukemia. Multicenter phase III study *Leukemia* 2004;18:989-997.
 - [26] Döhner H, Estey EH, Amadori S, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European Leukemia Net. *Blood* 2010;115:453-474.
 - [27] Rowe JM, Kim HT, Cassileth PA, et al. Adult patients with acute myeloid leukemia who achieve. *Cancer* 2010;116:5012-5021.
 - [28] Estey E, Döhner H. Acute myeloid leukaemia. *Lancet* 2006;368:1894-1907.
 - [29] Matiakowska K, Morgut-Klimkowska M, Bartoszewska-Kubiak A. Mutacja FLT3-ITD i jej związek z parametrami klinicznymi i hematologicznymi u dorosłych chorych z ostrą białaczką szpikową - doniesienie wstępne. *Post Nauk Med* 2013;26:241-247.
 - [30] O'Donnell MR, Tallman MS. Acute myeloid leukemia, version 2.2014. National Comprehensive Cancer Network 2014;54-57.
 - [31] Brunstein CG, Gutman JA, Weisdorf DJ. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematological malignancy: relative risks and benefits of double umbilical cord blood. *Blood* 2010;116(22):4693-4699.
 - [32] Haferlach T. Molecular genetic pathways as therapeutic target in AML. *Hematology* 2008;400-411.
 - [33] Kadia TM, Ravandi F, Cortes J, Kantarjian H. New drugs in acute myeloid leukemia. *Ann Oncol* 2016;27(5):770-778.
 - [34] Döhner H, Weisdorf DJ, Bloomfield CD. Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* 2015;373(12):1136-1152.
 - [35] Feldman EJ, Lancet JE, Kolitz JE, et al. First-in-man study of CPX-351: a liposomal carrier containing cytarabine and daunorubicin in a fixed 5:1 molar ratio for the treatment of relapsed and refractory acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2011;29(8):979-985.
 - [36] Lancet JE, Cortes JE, Hogge DE, et al. Phase II, multicenter, randomized, open label trial of CPX-351 (cytarabine: daunorubicin) liposome injection versus cytarabine and daunorubicin in patients with untreated AML 60-75 years of age. *Blood* 2014;123(21):3239-3246.
 - [37] Evanichik MJ, Allen D, Yoburn JC, Silverman JA, Hoch U. Metabolism of (+)-1,4-dihydro-7-(trans-3-methoxy-4-methylamino-1-pyrrolidinyl)-4-oxo-1-(2-thiazolyl)-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid (voreloxin; formerly SNS-595), a novel replication-dependent DNA-damaging agent. *Drug Metab Dispos* 2009;37(3):594-601.
 - [38] Hawtin RE, Stockett DE, Byl JA, et al. Voreloxin is an anticancer quinolone derivative that intercalates DNA and poisons topoisomerase II. *PLoS One* 2010;5(4):e10186.
 - [39] Mjos KD, Cawthray JF, Jamieson G, Fox JA, Orvig C. Iron(III)-binding of the anticancer agents doxorubicin and vosaroxin. *Dalton Trans* 2015;44(5):2348-2358.
 - [40] Walsby EJ, Coles SJ, Knapper S, Burnett AK. The topoisomerase II inhibitor voreloxin causes cell cycle arrest and apoptosis in myeloid leukemia cells and acts in synergy with cytarabine. *Haematologica* 2011;96(3):393-399.
 - [41] Stein EM, Tallman MS. Emerging therapeutic drugs for AML. *Blood* 2016;127(1):71-78.
 - [42] Ravandi F, Ritchie EK, Sayar H, et al. Vosaroxin plus cytarabine versus placebo plus cytarabine in patients with first relapsed or refractory acute myeloid leukaemia (VALOR): a randomised, controlled, double-blind, multinational, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2015;16(9):1025-1036.

- [43] Hanaoka K, Suzuki M, Kobayashi T, et al. Antitumor activity and novel DNA-self-strand-breaking mechanism of CNDAC (1-(2-C-cyano-2-deoxy-beta-D-arabino-pentofuranosyl) cytosine) and its N4-palmitoyl derivative (CS-682). *Int J Cancer* 1999;82(2):226-236.
- [44] Kantarjian H, Garcia-Manero G, O'Brien S, et al. Phase I clinical and pharmacokinetic study of oral sapacitabine in patients with acute leukemia and myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol* 2010;28(2):285-291.
- [45] Matsuda A, Nakajima Y, Azuma A, Tanaka M, Sasaki T. Nucleosides and nucleotides. 100. 2'-C-cyano-2'-deoxy-1-beta-D-arabinofuranosyl-cytosine (CNDAC): design of a potential mechanism-based DNA-strand-breaking antineoplastic nucleoside. *J Med Chem* 1991;34(9):2917-2919.
- [46] Norkin M, Richards AI. Sapacitabine in the treatment of acute myeloid leukemia. *Expert Rev Anticancer Ther* 2015;15(11):1261-1266.
- [47] Issa JP, Roboz G, Rizzieri D, et al. Safety and tolerability of guadecitabine (SGI - 110) in patients with myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukaemia: a multicentre, randomised, dose - escalation phase 1 study. *Lancet Oncol* 2015;16(9):1099-1110.
- [48] Griffiths EA, Kantarjian HM, Roboz GJ, et al. First results of a phase 2 study using a 10-days subcutaneous (SC) regimen of the novel hypomethylating agent (HMA) SGI-110 for the treatment of 23 relapsed/refractory acute myeloid leukemia (r/r AML). *J Clin Oncol* 2014;32(5s) (suppl; abstr 7030).
- [49] Bug G, Schlenk RF, Muller-Tidow C, et al. Phase I/II Study of BI 6727 (volasertib), An Intravenous Polo-Like Kinase-1 (Plk1) Inhibitor, In Patients with Acute Myeloid Leukemia (AML): Results of the Dose Finding for BI 6727 In Combination with Low-Dose Cytarabine. *ASH Annual Meeting Abstracts* 2010;116(21):3316.
- [50] Dohner H, Lubbert M, Fiedler W, et al. Randomized, phase 2 trial of low-dose cytarabine with or without volasertib in AML patients not suitable for induction therapy. *Blood* 2014;124(9):1426-1433.
- [51] Kottaridis PD, Gale RE, Frew ME, et al. The presence of a FLT3 internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy: analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials. *Blood* 2001;98(6):1752-1759.
- [52] Fröhling S, Schlenk RF, Breitruck J, et al. AML Study Group Ulm. Acute myeloid leukemia. Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the AML Study Group Ulm. *Blood* 2002;100(13):4372-4380.
- [53] Ravandi F, Cortes JE, Jones D, et al. Phase I/II study of combination therapy with sorafenib, idarubicin, and cytarabine in younger patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2010;28(11):1856-1862.
- [54] Röllig C, Müller-Tidow C, Hüttmann A, et al. Sorafenib Versus Placebo in Addition to Standard Therapy in Younger Patients with Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia: Results from 267 Patients Treated in the Randomized Placebo-Controlled SAL-Soraml Trial. *Blood* 2014;124(21):6-6.
- [55] Stone RM, Fischer T, Paquette R, et al. Phase IB study of the FLT3 kinase inhibitor midostaurin with chemotherapy in younger newly diagnosed adult patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2012;26(9):2061-2068.
- [56] Stone RM, Mandrekar S, Sanford BL, et al. The Multi-Kinase Inhibitor Midostaurin (M) Prolongs Survival Compared with Placebo (P) in Combination with Daunorubicin (D)/Cytarabine (C) Induction (ind), High-Dose C Consolidation (consol), and As Maintenance (maint) Therapy in Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia (AML) Patients (pts) Age 18-60 with FLT3 Mutations (mut): An International Prospective Randomized (rand) P-Controlled Double-Blind Trial CALGB 10603/RATIFY [Alliance]. *Blood* 2015;126(23):6-6.
- [57] Zarrinkar PP, Gunawardane RN, Cramer MD, et al. AC220 is a uniquely potent and selective inhibitor of FLT3 for the treatment of acute myeloid leukemia (AML). *Blood* 2009;114(14):2984-2992.
- [58] Alvarado Y, Kantarjian HM, Luthra R, et al. Treatment with FLT3 inhibitor in patients with FLT3-mutated acute myeloid leukemia is associated with development of secondary FLT3-tyrosine kinase domain mutations. *Cancer* 2014;120(14):2142-2149.
- [59] Albers C, Leischner H, Verbeek M, et al. The secondary FLT3-ITD F691L mutation induces resistance to AC220 in FLT3-ITD+ AML but retains in vitro sensitivity to PKC412 and Sunitinib. *Leukemia* 2013;27(6):1416-1418.
- [60] Randhawa JK, Kantarjian HM, Borthakur G, et al. Results of a Phase II Study of Crenolanib in Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia Patients (Pts) with Activating FLT3 Mutations [abstract]. *Blood* 2014;124(21). Abstract 389.
- [61] Hills RK, Castaigne S, Appelbaum FR, et al. Addition of gemtuzumab ozogamicin to induction chemotherapy in adult patients with acute myeloid leukaemia: a meta-analysis of individual patient data from randomised controlled trials. *Lancet Oncol* 2014;15(9):986-996.
- [62] Kung Sutherland MS, Walter RB, Jeffrey SC, et al. SGN-CD33A: a novel CD33-targeting antibody-drug conjugate using a pyrrolobenzodiazepine dimer is active in models of drug-resistant AML. *Blood* 2013;122(8):1455-1463.
- [63] Topp MS, Gokbuget N, Stein AS, et al. Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2015;16(1):57-66.
- [64] Krupka C, Kufer P, Kischel R, et al. CD33 target validation and sustained depletion of AML blasts in long-term cultures by the bispecific T-cell-engaging antibody AMG 330. *Blood* 2014;123(3):356-365.