

Leki wpływające na mechanizmy epigenetyczne w ostrej białaczce szpikowej

Drugs influencing epigenetic mechanisms in acute myeloid leukemia

Kamil Wiśniewski, Joanna Góra-Tybor

Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

Streszczenie

Lekami epigenetycznymi wykorzystywanymi obecnie w leczeniu chorych na ostrą białaczkę szpikową (AML) są inhibitory metylotransferaz DNA — azacytydyna i decytabina. Mechanizm działania obu związków polega na obniżeniu poziomu metylacji (hipometylacji) DNA i w konsekwencji przywróceniu ekspresji genów supresorowych nowotworzenia. Azacytydyna i decytabina pozwoliły na wydłużenie okresu przeżycia u pacjentów w starszym wieku niekwalifikujących się do intensywnej chemioterapii. Prowadzone są badania nad zastosowaniem obu terapeutyków w profilaktyce i w leczeniu wznowy AML po przeszczepieniu allogenicznego krwiotwórczych komórek macierzystych. W artykule przedstawiono mechanizm działania leków hipometylujących oraz dokonano przeglądu badań klinicznych z zastosowaniem azacytydyny i decytabiny u chorych na AML. Omówiono także nowe leki epigenetyczne pozostające obecnie w fazie badań klinicznych.

Słowa kluczowe: ostra białaczka szpikowa, metylacja DNA, leki hipometylujące, azacytydyna, decytabina

Hematologia 2018; 9, 2: 110–122

Abstract

Currently, two DNA methyltransferase inhibitors, azacitadine and decitabine, are the epigenetic agents used for AML treatment. As a result of DNA hypomethylation, these DNA methyltransferase inhibitors contribute to the reactivation of methylation silence tumor suppressor genes. Azacitadine and decitabine can increase life expectancy of older patients precluded from intensive chemotherapy. New studies are being conducted in order to determine the use of azacitadine and decitabine in prevention and treatment of AML relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. The present paper manifests the mechanism of action of hypomethylating drugs, as well as provides a brief overview of some clinical trials concerning the use of azacitadine and decitabine in AML. The article also discusses some potential epigenetic drugs that are undergoing clinical trials.

Key words: acute myeloid leukemia, DNA methylation, hypomethylating agents, azacitadine, decitabine

Hematologia 2018; 9, 2: 110–122

Wprowadzenie

Mimo ogromnego postępu, jaki się dokonał w hematologii w ostatnich latach, wyniki leczenia chorych na ostrą białaczkę szpikową (AML, *acute myeloid leukemia*) pozostają niesatysfakcjonujące. W tym kontekście poszukuje się potencjalnych punktów uchwytu dla leków o nowych mechanizmach działania [1–3]. Jednym z głównych obszarów zainteresowania stały się mechanizmy epigenetyczne, w tym hipermetylacja DNA i modyfikacje białek histonowych, które stanowią kluczowy element leukemogenezy [4, 5]. Poznanie znaczenia zaburzeń procesów epigenetycznych w patogenezie AML doprowadziło do wprowadzenia pierwszych leków epigenetycznych o działaniu hipometylującym, tj. azacytydyny i decytabiny [6, 7]. Trwają liczne badania nad lekami wpływającymi na inne zaburzenia epigenetyczne, między innymi inhibitorami deacetylaz histonowych oraz inhibitorami dehydrogenazy izocytrynianowej (IDH, *isocitrate dehydrogenase*) [8–10].

Pierwsze leki epigenetyczne — azacytydyna i decytabina

Azacytydyna i decytabina to analogi pierścieniowe cytozyny o działaniu hipometylującym. Efekt ten wynika głównie z hamowania metylotransferaz kwasu deoksyrybonukleinowego (DNMT1, *deoxyribonucleic acid methyltransferase inhibitors*). Związki hipometylujące (HMAs, *hypomethylating agents*) to pierwszy przykład zastosowania terapii epigenetycznej.

Metabolizm wewnątrzkomórkowy

Istotnym czynnikiem wpływającym na skuteczność azacytydyny i decytabiny jest ich metabolizm wewnątrzkomórkowy. Pierwszy etap metabolizmu azanukleotydów stanowi transport do wnętrza komórki przy udziale transporterów nukleotydów (hENT1, *human equilibrative nucleoside transporter 1*) [11]. Wykazano zależność między poziomem ekspresji hENT1 a wrażliwością komórek AML na DNMTI oraz inne analogi nukleotydów. Sugeruje się zatem zastosowanie hENT1 jako potencjalnego biomarkera odpowiedzi na leczenie [12, 13].

Po wychwycie, azanukleotydy są poddawane odmiennym procesom wewnątrzkomórkowym. Decytabina ulega przemianom do swojej aktywnej postaci przy udziale kinazy deoksycytydynowej (DCK, *deoxycytidine kinase*), stając się w całości substratem do syntezy DNA. Odmiennie azacytydyna,

która jedynie w 10–20% wiąże się z DNA; pozostałe 80–90% ulega aktywacji przez kinazę urydyno-cytydynową (UCK, *uridine-cytidine kinase*), a następnie zostaje wbudowane do RNA [14–16]. Stwierdzono, że niskie stężenia enzymów DCK oraz UCK1 w cytoplazmie komórek stanowi ważny mechanizm oporności na azanukleotydy [17, 18].

Optymalne działanie azacytydyny i decytabiny zależy od utrzymania ich odpowiedniego stężenia w komórce. W tym kontekście decydującą rolę wydaje się odgrywać deaminaza cytydyny (CDA, *cytidine deaminase*) — enzym katalizujący deaminację cytydyny oraz jej analogów. Enzym ten powoduje szybkie usuwanie azanukleotydów z komórki, obniżając tym samym ich stężenie. Wykazano, że nadekspresja CDA może skutkować opornością na leczenie azanukleotydami [19–21]. Z tego powodu toczą się badania nad zastosowaniem inhibitorów CDA w połączeniu z HMAs u chorych z zespołem mielodysplastycznym (MDS, *myelodysplastic syndrome*) i AML [22]. Kolejnym enzymem biorącym udział w metabolizmie azanukleotydów jest deaminaza cytydyny indukowanej aktywacją (AID, *activation-induced cytidine deaminase*), który — poprzez deaminację — przekształca cytydynę do urydyny, co może powodować powstanie nowych mutacji oraz pęknięć w strukturze DNA, prowadząc do ewolucji białaczki [23].

Mechanizm działania

Jak wspomniano wcześniej, działanie hipometylujące azacytydyny i decytabiny wynika z zahamowania enzymów DNMT. Prawidłowo funkcjonujący DNMT rozpoznaje sekwencje C–G dinukleotydów DNA jako swój naturalny substrat i tworzy z nimi odwracalne połączenie, z którego jest uwalniany po zakończeniu metylacji. Azacytydyna i decytabina przyłączają się do DNA jako substytut cytydyny. Enzym DNMT rozpoznaje dinukleotyd decytabina/azacytydyna–G jako swój substrat i tworzy z nim nieodwracalne połączenie. Wynikiem tej reakcji jest brak możliwości uwolnienia enzymu i ostatecznie zmniejszenie stężenia DNMT. Dodatkowo brak DNMT1 zapobiega metylacji w nowo replikowanych niciach DNA. Aberrantne profile metylacji nie są zatem przekazywane komórkom potomnym, co prowadzi do demetylacji DNA oraz reekspresji genów supresorowych [24–26]. W części badań wykazano, że związanie DNMT1 z HMA nie może być jedynym mechanizmem zahamowania metylacji. Stwierdzono bowiem, że obniżenie aktywności DNMT zachodzi przed przyłączeniem

azanukleotydów do DNA oraz przy braku jego replikacji. Sugeruje się, że przyczyną tego zjawiska jest wzmożona degradacja proteosomalna enzymu [27, 28].

Do uzyskania hipometylacji DNA wymagane jest niższe stężenie azacytydyny niż decytabiny w komórce. W badaniach dowiedziono również 2,5–55 razy wyższego stężenia azacytydyny w komórkach [29–31]. Najprawdopodobniej różnica w sile działania jest skutkiem wiązania się azacytydyny w 80–90% do RNA, co powoduje zahamowanie syntezy białek [28, 32]. Co istotne, poprzez wbudowywanie się w strukturę RNA, azacytydyna wykazuje działanie we wszystkich fazach cyklu komórkowego. Z tego powodu wpływa ona na regulację większej liczby genów niż decytabina, której mechanizm działania zależy wyłącznie od fazy S cyklu komórkowego. Należy zaznaczyć, że działanie hipometylujące azanukleotydów występuje wyłącznie w przypadku zastosowania w małych dawkach. Duże dawki DNMTI prowadzą do apoptozy komórek poprzez bezpośrednie uszkodzenie podwójnej helisy DNA [32, 33]. Dodatkowo azacytydyna hamuje aktywność reduktazy rybonukleotydów (RR, *ribonucleotide reductase*) — enzymu dostarczającego deoksyrybonukleotydy do syntezy lub naprawy DNA. Inhibicja RR może obniżyć stężenie deoksyrybonukleotydów wewnątrz komórki o 60–90% [28]. Należy podkreślić, że inhibitor RR, hydroksymocznik, blokuje zdolność azacytydyny i decytabiny do hipometylacji DNA [34].

Uzyskanie optymalnej odpowiedzi na leczenie za pomocą HMAs wymaga zastosowania co najmniej kilku cykli leczenia z powodu zależności mechanizmu działania azanukleotydów od fazy cyklu komórkowego. By spowodować zmiany w transkrypcji i ekspresji genów, konieczne są co najmniej dwa cykle komórkowe z syntezą DNA. Do reekspresji genów dochodzi po 2–4 tygodniach od ekspozycji na lek [35, 36]. Reaktywacja genów jest procesem przejściowym, dlatego tak ważne jest zachowanie 4-tygodniowego schematu dawkowania leków [37].

Mimo że nieprawidłowy profil metylacji jest najlepiej dotychczas zbadanym zaburzeniem epigenetycznym, to nadal niejasna pozostaje jego rola w określeniu rokowania oraz odpowiedzi na leczenie. Choć część autorów dostrzegła wyraźną zależność między osiągniętą hipometylacją a odpowiedzią na leczenie i wydłużeniem przeżycia, to do tej pory nie udało się jednoznacznie ustalić wpływu hipometylacji na rokowanie [38, 39]. Pomiar całkowitej metylacji DNA nie umożliwił odróżnienia pacjentów odpowiadających na leczenie od chorych opornych

na terapię [40, 41]. Prawdopodobnie wynika to ze zmienności poziomu metylacji — zależnej od płci, wieku, liczby białych krwinek czy metody pomiaru [42, 43].

Skuteczność azacytydyny i decytabiny w terapii AML

Pierwsze badania nad zastosowaniem azanukleotydów w leczeniu chorych na nowotwory mieloidalne przeprowadzono jeszcze w drugiej połowie XX wieku [44, 45]. Opublikowane wówczas wyniki potwierdziły skuteczność azacytydyny w terapii i doprowadziły do przeprowadzenia dwóch dużych, międzynarodowych badań klinicznych — CALBG 9221 i AZA-001. Oba dotyczyły pacjentów z rozpoznaniem MDS zgodnie z ówczesnie obowiązującą klasyfikacją FAB (*French–American–British classification*) [46, 47]. Zmiany w klasyfikacji AML według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) z 2008 roku spowodowały, że część pacjentów zakwalifikowanych do badań CALBG oraz AZA-001 spełniła zaktualizowane kryteria rozpoznania AML, ponieważ — zgodnie z aktualnie obowiązującymi wytycznymi — AML rozpoznaje się w przypadku stwierdzenia ponad 20% blastów w szpiku kostnym [48]. Biorąc pod uwagę nowe kryteria rozpoznania AML, ponownie przeanalizowano dane uzyskane w wyżej wymienionych badaniach.

W badaniach grupy CALBG (*The Cancer and Leukemia Group B*) porównywano najlepsze leczenie objawowe (BSC, *best supportive care*) azacytydyną w dawce 75 mg/m² podawaną podskórnie lub dożylnie przez 7 dni co 4 tygodnie. Pacjenci pozostawali w swojej grupie kontrolnej przez 4 miesiące, po czym leczonych objawowo, u których zaobserwowano progresję, kwalifikowano do leczenia azacytydyną [46]. W 2006 roku opublikowano zsumowane wyniki protokołów CALBG 9221, 8921 i 8421. Według nowych kryteriów WHO kryteria AML spełniały 103 osoby, spośród których 91 otrzymało azacytydynę. Całkowity odsetek odpowiedzi (ORR, *overall response rate*) na leczenie wyniósł 36% (33 chorych). Całkowitą (CR) i częściową remisję (PR, *partial remission*) osiągnęło odpowiednio 8 i 2 pacjentów. Poprawę hematologiczną zaobserwowano u 23 chorych. Mediana czasu trwania odpowiedzi wyniosła 7,3 miesiąca. Bezpośrednie porównanie przeżycia całkowitego (OS, *overall survival*) między chorymi otrzymującymi azacytydynę oraz poddanymi BSC nie było możliwe ze względu na włączanie azacytydyny u pacjentów z progresją choroby, jednak

w badaniu CALBG 9221 zaobserwowano znamieną różnicę w przeżyciu — u 27 chorych, którzy od początku przyjmowali azacytydynę, mediana OS wyniosła 19,3 miesiąca, natomiast 25 u pacjentów otrzymujących BSC — 12,9 miesiąca [49].

Celem badania AZA-001 było wykazanie korzyści z zastosowania azacytydyny w porównaniu z konwencjonalnymi metodami leczenia (CCR, *conventional care regimen*). W początkowej fazie chorych, na podstawie stanu ogólnego, obciążenia internistycznych oraz czynników prognostycznych, przypisywano odpowiednio do grup leczenia małymi dawkami cytarabiny, intensywnej chemioterapii lub BSC. Następnie przydzielano ich do grupy eksperymentalnego leczenia azacytydyną lub do grupy objętej CCR [47]. Spośród wszystkich chorych zakwalifikowanych do badania nowe kryteria rozpoznania AML spełniło 113. Azacytydynę otrzymało 55 pacjentów, a pozostałe 58 osoby — CCR. Mediana wieku wyniosła 70 lat. Po obserwacji wynoszącej średnio 20 miesięcy stwierdzono znaczące wydłużenie OS u chorych leczonych azacytydyną (24,5 miesiąca) w porównaniu z poddanymi CCR (16 miesięcy) ($p = 0,005$). Odsetek 2-letniego przeżycia również był wyższy wśród chorych otrzymujących azacytydynę (50%) niż u pacjentów leczonych CCR (16%) ($p = 0,001$). Należy podkreślić, że azacytydyna była dobrze tolerowana, a odsetek infekcji w grupie chorych leczonych tym lekiem był istotnie mniejszy w porównaniu z pacjentami otrzymującymi CCR ($p = 0,0032$).

Dodatkowa analiza wykazała, że szczególnie pacjenci obciążeni wysokim ryzykiem cytogenetycznym otrzymujący azacytydynę ($n = 13$) mogą odnieść korzyści w zakresie OS w porównaniu z chorymi poddanymi CCR ($n = 14$). W tej grupie chorych mediana OS wyniosła 12,3 miesiąca w grupie leczonej azacytydyną w porównaniu z 5,3 miesiąca w przypadku leczonych CCR, ale wynik ten nie był istotny statystycznie ($p = 0,38$) [50].

W obu badaniach potwierdzono, że do uzyskania odpowiedzi klinicznej konieczne jest zastosowanie kilku cykli azacytydyny. W badaniu CALBG większość odpowiedzi stwierdzono po 4. cyklu terapii (75%), przy czym 90% pacjentów uzyskało odpowiedź w ocenie po 6 kursach. W badaniu AZA-001 natomiast odpowiedź stwierdzono u 81% pacjentów po 6. cyklu leczenia. Z tego powodu zaleca się zastosowanie minimum 6 cykli leczenia azacytydyną przed oceną efektów terapii [49, 51].

Wyniki wymienionych wyżej badań doprowadziły do zarejestrowania azacytydyny w terapii AML z odsetkiem blastów wynoszącym 20–30%.

Stały się także podstawą do przeprowadzenia wieloośrodkowego, randomizowanego badania III fazy, AZA-AML-001, w ramach którego porównano leczenie azacytydyną z CCR u chorych na AML, u których stwierdzono ponad 30% blastów w szpiku kostnym. Do badania włączono pacjentów powyżej 60. roku życia, którzy nie kwalifikowali się do przeszczepienia allogenicznego krwiotwórczych komórek macierzystych (allo-HSCT, *allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*). Początkowym etapem badania było przeprowadzenie preselekcji chorych do CCR (podobnie jak w AZA-MDS-001). Łącznie zakwalifikowano 488 pacjentów, spośród których 241 otrzymało azacytydynę, a 247 poddano CCR. W grupie objętej CCR 64% pacjentów otrzymało małą dawkę arabinozydu cytozyny (LD-Ara-C, *low-dose arabinoside cytosine*) 18% poddano BSC, 18% — intensywnej chemioterapii. Większość chorych stanowiły osoby powyżej 75. roku życia (54%). Pacjenci otrzymali średnio 6 kursów azacytydyny. Całkowity odsetek odpowiedzi (CR oraz niepełna CR [CRi, *CR incomplete*]) wyniósł 28% w grupie chorych otrzymujących azacytydynę oraz 25% w grupie leczonych CCR. Przeżycie całkowite było o 3,8 miesiąca dłuższe u chorych leczonych azacytydyną niż u pacjentów leczonych intensywnie (10,4 v. 6,5; $p = 0,1009$). Odsetek chorych, którzy przeżyli 12 miesięcy, był o 12,3% większy w grupie leczonej azacytydyną. Należy podkreślić, że leczenie azacytydyną przyniosło szczególną korzyść (2-krotne przedłużenie mediany OS) chorym z niekorzystnym rokowaniem cytogenetycznym (OS 6,4 v. 3,2 miesiący; $p = 0,01$) oraz chorym na AML na podłożu MDS (OS 12,7 v. 6,3; $p = 0,035$). Badanie AZA-AML-001 doprowadziło do rejestracji azacytydyny również w leczeniu chorych na AML z odsetkiem blastów w szpiku powyżej 30% [52].

Jak wykazano w powyższych badaniach, osiągnięcie CR nie jest niezbędnym warunkiem wydłużenia OS u chorych leczonych azacytydyną — zarówno poprawa hematologiczna (HI, *hematological improvement*), jak i stabilizacja choroby powoduje istotne wydłużenie przeżycia. W badaniu AZA-AML-001 około 80% pacjentów nie osiągnęło CR, ale pacjenci otrzymujący azacytydynę uzyskali dłuższe OS niż chorzy leczeni CCR. Mimo faktu, że odsetek CR pozostaje na stosunkowo niskim poziomie (15–20%), znacząca część pacjentów leczonych azacytydyną uzyskuje poprawę w zakresie wyników morfologii krwi. Z tego powodu chorzy, którzy uzyskali CR, PR, HI lub stabilizację choroby, powinni kontynuować

leczenie aż do stwierdzenia progresji. Przerwanie terapii w przypadku pacjentów z pozytywną odpowiedzią wiąże się z szybką progresją choroby [50, 52–54].

Podobnie jak w przypadku azacytydyny pierwsze znaczące badania nad decytabiną były przeznaczone dla chorych na MDS. Analogicznie odrębną analizę przeprowadzono u chorych z 20–30% blastów w szpiku kostnym. W jednym z nich spośród 170 pacjentów kryteria AML spełniło 31. W badaniu tym porównano leczenie decytabiną z BSC. Decytabinę podawano dożylnie w dawce 15 mg/m² przez 3 dni co 6 tygodni. W grupie kontrolnej leczonej decytabiną uzyskano 19% odpowiedzi (3 z 17 pacjentów). Dodatkowo 13% chorych osiągnęło poprawę hematologiczną [55].

W wielośrodkowym badaniu Cashen i wsp. [56] stosowali decytabinę w dawce 20 mg/m² przez 5 dni co 4 tygodnie u 55 chorych na AML (mediana wieku 73 lata) cechujących się pośrednim lub niekorzystnym ryzykiem cytogenetycznym. Po podaniu średnio 3 kursów decytabiny ORR wyniósł 25%, a stabilizację choroby obserwowano u 29%. Większość uzyskanych odpowiedzi stanowiły CR (13 z 14). Mediana przeżycia wyniosła 7,7 miesiąca u wszystkich pacjentów oraz 14 miesięcy u chorych z odpowiedzią na leczenie [56].

W kolejnym badaniu obejmującym 53 chorych na AML Blum i wsp. [57] stosowali decytabinę w dawce 20 mg/m² przez 10 dni. Pacjenci z korzystnym rokowaniem cytogenetycznym stanowili 19% grupy, a mediana wieku chorych wynosiła 74 lata. Po średnio 4 kursach terapii ORR stwierdzono u 34 pacjentów (64%), w tym CR u 49% i CRi u 15%. Odpowiedzi odnotowano we wszystkich grupach rokowniczych, w tym u 91% pacjentów z delecją chromosomu 7 lub 7q. Mediana OS wyniosła 12,7 miesiąca [57].

Stosowanie decytabiny u chorych na AML stało się przedmiotem wielośrodkowego badania III fazy — DACO-016 [58]. Włączono do niego 485 pacjentów, z medianą wieku wynoszącą 73 lata. Decytabinę zastosowaną w dawce 20 mg/m² przez 10 dni co 4 tygodnie porównywano z leczeniem małymi dawkami cytarabiny (n = 242) lub BSC (n = 28). Mediana OS w grupie leczonej decytabiną wyniosła 7,7 miesięcy w porównaniu z 5 miesiącami u pozostałych chorych (p = 0,1). Całkowity odsetek odpowiedzi w grupie leczonej decytabiną wyniósł 17,8% w porównaniu z 7,8% u osób leczonych LD-Ara-C (p = 0,001). Terapia decytabiną była dobrze tolerowana; najczęstsze objawy niepożądane stanowiły małopłytkowość (27%) i neutropenia (24%).

Do tej pory nie podjęto próby bezpośredniego porównania azacytydyny z decytabiną. Większość badań wskazuje jednak na większą skuteczność azacytydyny niż decytabiny w terapii chorych na AML [50, 52, 55, 58].

Rola azanukleotydów w allo-HSCT

Mimo zaawansowanych badań nad nowymi lekami metodą dającą największe szanse na wyliczenie chorych na AML jest allo-HSCT [59]. Wznowa po allo-HSCT pozostaje główną przyczyną niepowodzenia leczenia i wiąże się z niekorzystnym rokowaniem oraz krótkim okresem przeżycia mimo zastosowanego leczenia ratunkowego [60]. W przypadku nawrotu choroby dotychczas stosowane metody leczenia nie przynoszą oczekiwanych rezultatów [61, 62].

Wykazano, że HMAs mogą wywierać specyficzne działanie na układ immunologiczny, nasilając reakcję przeszczep przeciwko białaczce (GvL, *graft-versus-leukemia*) i równocześnie łagodząc skutki reakcji „przeszczep przeciwko gospodarzowi” (GvHD, *graft-versus-host disease*) [63, 64]. Wzmocnienie reakcji GvL zachodzi poprzez reekspresję oraz nadekspresję różnych antygenów na powierzchni komórek białaczkowych, co prowadzi do nasilenia cytotoksyczności limfocytów T i NK (*natural killer*) wobec nich [65]. Dodatkowo HMAs indukują różnicowanie się limfocytów T regulatorowych, obniżając ryzyko wystąpienia reakcji GvHD [64]. Ze względu na korzystny wpływ na układ immunologiczny HMAs są badane zarówno w profilaktyce, jak i w leczeniu wznowy po allo-HSCT.

Skuteczność HMAs w leczeniu nawrotu AML po allo-HSCT wykazano w wielu badaniach (tab. 1) [66–73]. Większość opublikowanych wyników dotyczy azacytydyny. W 2016 roku Craddock i wsp. [66] dokonali analizy 181 pacjentów z AML (116 pacjentów) oraz MDS (65 pacjentów) ze wznową choroby po allo-HSCT. Wszyscy chorzy otrzymywali azacytydynę, a mediana czasu terapii wyniosła 53 dni. Dodatkowo, 69 chorych otrzymało infuzję limfocytów dawcy (DLI, *donor lymphocyte infusion*). Pełnej oceny skuteczności leczenia dokonano u 157 chorych stwierdzając odpowiedź na leczenie u 46 pacjentów (29%), w tym CR u 24 pacjentów (15%) i PR u 22 (14%). U chorych z CR 2-letnie OS wyniosło 48%, natomiast w całej badanej grupie zaledwie 12%. Podkreślono relatywnie niską toksyczność azacytydyny oraz fakt, że jest dobrze tolerowana przez pacjentów. W innym badaniu Schroeder i wsp. [67] przeprowadzili analizę retrospektywną 154 chorych z nawrotem choroby po allo-HSCT,

Tabela 1. Azanukleotydy w leczeniu nawrotu ostrej białaczki szpikowej (AML) po przeszczepieniu allogenicznym komórek macierzystych — wybrane badania
Table 1. Azanucleotides as treatment in acute myeloid leukemia (AML) relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; selected trials

Autor	Rok	Lek	Schemat leczenia	Liczba pacjentów	Choroba	Odpowiedź (CR, PR)	OS
Craddock i wsp. [66]	2016	Azacytydyna	75 mg/m ² 5–7 dni	181	AML, MDS	29% (15%, 14%)	2-letnie OS 12%
Schroeder i wsp. [67]	2015	Azacytydyna	50–100 mg/m ² 5–7 dni	154	AML, MDS, MPN	33% (27%, 6%)	2-letnie OS 29%
Steinmann i wsp. [68]	2015	Azacytydyna	100 mg 3 dni	72	AML, MDS, CMML	10% (10%, –)	Mediana OS 108 dni
Tessoulin i wsp. [69]	2014	Azacytydyna	75 mg/m ² 7 dni	31	AML, MDS, MPN	14% (14%, 0%)	Mediana OS 153 dni, roczne OS 14%
Schroeder i wsp. [70]	2013	Azacytydyna	100 mg/m ² 5 dni	20	AML, MDS	30% (23%, 7%)	2-letnie OS 17%
Bolaños-Meade i wsp. [62]	2011	Azacytydyna	75 mg/m ² 5–7 dni	10	AML, MDS	60% (60%, 0%)	Mediana OS 423 dni
Lübbert i wsp. [71]	2010	Azacytydyna	100 mg 3 dni	26	AML, CMML	16% (16%, 0%)	Mediana OS 136 dni, 2-letnie OS 16%
Czibere i wsp. [72]	2010	Azacytydyna	100 mg/m ² 5 dni	22	AML, MDS, MPN	41% (23%, 18%)	Mediana OS 144 dni, 2-letnie OS 23%
Ganguly i wsp. [73]	2013	Decytabina	20 mg/m ² 5 dni	8	AML	38% (38%, 0%)	–

CR — całkowita remisja; PR (partial remission) — częściowa remisja; OS (overall survival) — przeżycie całkowite; MDS (myelodysplastyczny zespół mielodysplastyczny; MPN (myeloproliferative neoplasms) — nowotwory mieloproliferacyjne; CMML (chronic myelomonocytic leukemia) — przewlekła białaczka mielomonocytoza

w tym 128 pacjentów z AML. U większości pacjentów (93%) podanie azacytydyny stanowiło pierwszą interwencję po nawrocie choroby. Chorzy otrzymali od 4 do 14 kursów azacytydyny, DLI zastosowano u 105 pacjentów (68%). Odpowiedź na leczenie stwierdzono u 33% chorych, w tym CR i PR odpowiednio u 27% i 6% pacjentów. W obydwu badaniach wykazano, że większe korzyści z leczenia osiągają chorzy z niższym odsetkiem blastów w szpiku. Ponadto Craddock i wsp. [66] zaobserwowali lepszą odpowiedź na leczenie azacytydyną u pacjentów, u których nastąpił późniejszy nawrót choroby. Nie ustalono liczby cykli niezbędnych do uzyskania odpowiedzi klinicznej, jednak wydaje się, że konieczne jest podanie co najmniej 4 kursów leczenia [67]. Optymalizacja dawkowania oraz lepsza identyfikacja pacjentów mogących odnieść korzyść z terapii azacytydyną może prowadzić do poprawienia wyników leczenia w przyszłości.

Skuteczność decytabiny w leczeniu nawrotu AML po allo-HSCT nie została do tej pory oceniona u znaczącej liczby chorych. U części pacjentów obserwowano CR, zatem sugeruje się, że leczenie decytabiną również może być skuteczną opcją terapeutyczną. Dotychczasowe badania nie pozwalają jednoznacznie potwierdzić skuteczności terapii decytabiną [73, 74].

Z powodu bardzo niekorzystnego rokowania u chorych z nawrotem AML po allo-HSCT podjęto próby zastosowania HMAs jako profilaktyki wznowy po allo-HSCT (tab. 2) [75–79]. Poprzez swój wpływ na układ immunologiczny HMAs teoretycznie mogłyby zapewnić eliminację minimalnej choroby resztkowej (MRD, *minimal residual disease*) lub kontrolę aktywności choroby poprzez nasilenie efektu GvL. Dodatkową zaletą takiego postępowania jest obniżenie ryzyka wystąpienia GvHD [63–65]. Dotychczas opublikowane wyniki badań wskazują, że wczesne podanie zarówno azacytydyny, jak i decytabiny może ograniczać odsetek nawrotów białaczki. Do wznowy choroby dochodzi najczęściej w ciągu roku od allo-HSCT, dlatego niezbędne jest wczesne wdrożenie leczenia. El-Cheikh i wsp. [75] oceniali skuteczność azacytydyny w dawce zmniejszonej do 32 mg/m² przez 5 dni w miesiącu u 13 pacjentów z AML oraz 5 z MDS pozostających w CR po allo-HSCT. Całkowite przeżycie po 12 miesiącach wyniosło 70%, a mediana OS nie została osiągnięta. Craddock i wsp. [77] stwierdzili, że u chorych, u których po podaniu azacytydyny stwierdzono w badaniu *in vitro* odpowiedź limfocytów T CD8(+) na peptydy guza, ryzyko nawrotu choroby było istotnie niższe ($p = 0,02$).

Tabela 2. Azacytydyna i decytabina jako terapia konsolidująca po przeszczepieniu allogenicznym komórek macierzystych — wybrane badania
Table 2. Azacitidine and decytabine as consolidation therapy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; selected trials

Autor	Rok	Lek	Choroba	Liczba pacjentów	Schemat leczenia	Czas rozpoczęcia	Okres leczenia	OS
El-Cheikh i wsp. [75]	2017	Azacytydyna	AML, MDS	18	32 mg/m ² 5 dni co 4 tygodnie	Dni +39. do +111.	Mediana 16 cykli	Roczne OS 70%
Craddock i wsp. [77]	2016	Azacytydyna	AML	37	36 mg/m ² 5 dni co 4 tygodnie	Dzień +42.	12 miesięcy	Roczne OS 81%, 2-letnie OS 49%
Pusic i wsp. [78]	2015	Decytabina	AML	22	5–15 mg/m ² 5 dni co 6 tygodnie	Dni +50. do +100.	8 cykli	2-letnie OS 56%
Oshikawa i wsp. [79]	2014	Azacytydyna	AML	10	30 mg/m ² 7 dni co 4 tygodnie	Dzień +79.	4 cykle	Roczne OS 70%
de Lima i wsp. [76]	2010	Azacytydyna	AML, MDS	45	8–40 mg/m ² 5 dni co 30 dni	Dni +30. do +90.	4 cykle	Mediana przeżycia 30,8 miesiąca

OS (overall survival) — przeżycie całkowite; AML (acute myeloid leukemia) — ostra białaczka szpikowa; MDS (myelodysplastyczne syndromy) — zespół mielodysplastyczny

U chorych w remisji AML po allo-HSCT wdrożenie terapii podtrzymującej jest szczególnie trudne z powodu narażenia już „wyleczonych” chorych na potencjalne działania niepożądane terapii. Większość autorów podkreśla dobrą tolerancję leczenia, niemniej jednak we wszystkich prowadzonych badaniach odnotowano istotny odsetek powikłań, przede wszystkim infekcyjnych, a także małopłytkowości i niedokrwistości. W wielu przypadkach leczenie przerwano z powodu toksyczności, decyzji pacjenta lub nawrotu choroby [76, 77]. Lima i wsp. [76] wykazali wyższy odsetek powikłań u chorych otrzymujących większe dawki azacytydyny. W swoim badaniu El-Cheikh i wsp. [75] odnotowali stosunkowo mało powikłań, co wynika prawdopodobnie ze stosowania zmniejszonej dawki leku. Konieczne jest przeprowadzenie dodatkowych badań, aby w przyszłości móc określić optymalny schemat dawkowania oraz niezbędną liczbę cykli leczenia pozwalających osiągnąć zamierzone korzyści z terapii, bez narażania pacjentów na nadmierną toksyczność leczenia. Równie istotna jest precyzyjna stratyfikacja pacjentów pod względem prawdopodobieństwa nawrotu choroby i włączenia terapii podtrzymującej u chorych z istotnym ryzykiem wznowy białaczki.

Nowe kierunki w terapii AML

Guadecytabina

Guadecytabina (SGI-110) to HMA nowej generacji, który składa się z decytabiny i deoksyguaniny połączonych ze sobą wiązaniem fosfodiesterowym. W przeciwieństwie do azacytydyny i decytabiny SGI-110 nie ulega degradacji przez deaminazę cytydyny. Z tego powodu guadecytabina osiąga wyższe stężenie w komórce, przez co wydłuża się okres półtrwania leku, jego biodostępność oraz czas ekspozycji komórki nowotworowej na lek [80, 81].

Dotychczasowe wyniki badań potwierdzają skuteczność i dobrą tolerancję SGI-110. W randomizowanym badaniu II fazy Kantarjian i wsp. [82] porównywali efektywność i bezpieczeństwo guadecytabiny zastosowanej w różnych schematach dawkowania u chorych na AML. Wykazano wysoki odsetek odpowiedzi zarówno u chorych z nieleczoną, jak i oporną nawrotową AML. Guadecytabinę stosowano w dawce 60 lub 90 mg/m² przez 5 lub 10 dni co 4 tygodnie. Chorzy z nowo rozpoznaną AML stanowili grupę liczącą 107 osób, niekwalifikujących się do intensywnej chemioterapii, o medianie wieku 77 lat. Niezależnie od zastosowanej dawki leku w każdym schemacie dawkowania uzyskano znaczący odsetek ORR: 54% w grupie leczonej dawką 60 mg/m² przez 5 dni, 50%

w grupie otrzymującej 60 mg/m² przez 10 dni oraz 59% u leczonych dawką 90 mg/m² przez 5 dni. Odsetek CR w całej badanej grupie wyniósł 36%. Chorzy leczeni guadecytabiną przez 10 dni osiągnęli 9,5-miesięczne OS, zaś pacjenci leczeni przez 5 dni — 10,5-miesięczne. Odpowiedzi uzyskiwano po zastosowaniu co najmniej 3–4 kursów leczenia, co świadczy o konieczności kontynuacji leczenia guadecytabiną, podobnie jak innymi HMAs [82].

Do badania włączono również 108 chorych, o medianie wieku 60 lat, z oporną nawrotową AML. Ogólny odsetek odpowiedzi na leczenie SGI-110 wyniósł 23,3%. Odnotowano większą liczbę remisji wśród chorych leczonych według schematu 10-dniowego. Chorzy otrzymujący SGI-110 przez 10 dni osiągnęli 7,1-miesięczne OS, zaś pacjenci leczeni przez 5 dni — 5,7 miesiąca [83].

Dodatkowo zbadano wpływ guadecytabiny na globalną metylację DNA. U większości chorych stwierdzono demetylację DNA o co najmniej 10% w stosunku do poziomu wyjściowego; u chorych odpowiadających na leczenie stwierdzono metylację DNA zmniejszoną o minimum 20% [83].

Najczęstsze działania niepożądane stanowiły gorączka neutropeniczna, trombocytopenia oraz niedokrwistość [82, 83]. Prowadzone są dalsze badania nad zastosowaniem guadecytabiny u pacjentów z AML.

Inhibitory deacetylaz histonowych

Odkrycie inhibitorów metylotransferaz DNA jest jednym z najważniejszych sukcesów w terapii MDS oraz AML w ostatnich latach. Kolejny przełom miało stanowić wprowadzenie inhibitorów deacetylaz histonowych (HDACi, *histone deacetylase inhibitors*). W wielu nowotworach dochodzi do zaburzenia równowagi między acetylacją i deacetylacją białek histonowych wskutek nadekspresji enzymów HDACs [84, 85]. Zastosowanie HDACi opiera się na zablokowaniu działania HDACs i przywróceniu prawidłowego poziomu acetylacji białek histonowych, a w konsekwencji — powstaniu bardziej otwartej struktury chromatyny i reekspresji genów supresorowych [86]. Dodatkowe działanie przeciwnowotworowe wspomnianych leków wynika z pobudzenia różnicowania, blokowania cyklu komórkowego, indukcji apoptozy oraz hamowania angiogenezy [8, 9, 87, 88]. Ponadto HDACi powodują zmianę poziomu niekodujących RNA [89] oraz deacetylację wielu niehistonowych białek regulatorowych, kluczowych dla prawidłowego funkcjonowania komórek, na przykład p53 [85, 86, 90].

W ostatnich latach przeprowadzono liczne badania nad zastosowaniem HDACi w AML, zarówno

w monoterapii, jak i w skojarzeniu z innymi lekami. Mimo wielkich oczekiwań i obiecujących danych z badań *in vitro* tylko w nielicznych stwierdzono skuteczność w terapii AML.

Panobinostat jest najsilniejszym z dotychczas wprowadzonych HDACi. Wykazuje bardzo szerokie spektrum działania — hamuje działanie HDAC klas I, II i IV [77, 91]. Jego działanie przeciwnowotworowe potwierdzono w wielu badaniach *in vivo* i *in vitro* [92]. Do jednego z badań I fazy z zastosowaniem panobinostatu zakwalifikowano 15 osób, w tym 13 chorych na AML. Pacjenci otrzymywali lek dożylnie w zwiększanych dawkach przez 7 dni co 3 tygodnie. Odnotowano znaczący wzrost acetylacji białek histonowych w komórkach białaczkowych. Klinicznie zaobserwowano jednak tylko przejściową redukcję odsetka blastów we krwi obwodowej. U części pacjentów wystąpiło powikłanie w postaci bezobjawowego wydłużenia odstępu QT [93].

Do kolejnego badania włączono 119 chorych, spośród których 70% stanowili chorzy na AML. Celem badania było ustalenie maksymalnej tolerowanej dawki leku. Całkowity odsetek odpowiedzi wyniósł tylko 5%. Około 25% pacjentów nie ukończyło badania z powodu działań niepożądanych (neutropenia 18%, trombocytopenia 12%, osłabienie 12%) [94].

Tan i wsp. [95] zastosowali panobinostat w skojarzeniu z azacytydyną. Do badania włączono 29 chorych na AML, w tym 40% z niekorzystnym kariotypem, oraz 10 pacjentów z MDS wysokiego ryzyka. Pacjenci otrzymywali azacytydynę w dawce 75 mg/m² przez 5 dni oraz panobinostat w dawkach zwiększanych w kolejnych dniach. Całkowity odsetek odpowiedzi wyniósł 31% w grupie chorych na AML i 50% w grupie osób z MDS. Mediana OS wyniosła 8 miesięcy w przypadku AML oraz 16 miesięcy w przypadku MDS [95].

W innym badaniu Ocio i wsp. [96] oceniali skuteczność skojarzenia panobinostatu z klasycznym leczeniem indukcyjnym. Do badania włączono 38 chorych z medianą wieku 71 lat. Pacjenci otrzymywali idarubicynę (8 mg/m² w dniach 1.–3.), cytarabinę (100 mg/m² w dniach 1.–7.) oraz panobinostat w coraz większych dawkach. Pacjentów, którzy uzyskali CR, poddawano konsolidacji, a następnie przyjmowali panobinostat w leczeniu podtrzymującym (40 mg doustnie 3 ×/tydz.). U 64% chorych stwierdzono CR, a u 10% PR. Całkowite przeżycie wyniosło 17 miesięcy w całej grupie oraz 21 miesięcy u chorych, którzy uzyskali CR. Ponadto u 4 z 5 chorych z MRD leczenie podtrzymujące panobinostatem pozwoliło na jej wyeliminowanie. W badaniu wykazano, że dołączenie panobinostatu

do indukcji nie zwiększa w istotnym stopniu toksyczności leczenia. Odnotowano jednak powikłania żołądkowo-jelitowe (u 70% biegunkę), a u 25% chorych zaobserwowano małopłytkowość 3.–4. stopnia.

Pozostałe HDACi, w tym nowej generacji (romidopsyna/depsipeptyd [97, 98], entinostat [99], mocetinostat [100]), nie wykazały istotnej skuteczności w leczeniu chorych na AML. Odnotowano jedynie niski odsetek odpowiedzi na poziomie 0–16%; prowadzone są badania nad zastosowaniem pozostałych HDACi w monoterapii i w kombinacji z innymi lekami.

Inhibitory IDH

Iwosidenib i enasidenib są pierwszymi selektywnymi inhibitorami IDH — odpowiednio IDH1 oraz IDH2 [10]. Mutacje *IDH1* wykrywa się u 6–16% chorych na AML, natomiast mutacje *IDH2* — u 8–19% pacjentów [101–103]. Mutacje *IDH* skutkują akumulacją patologicznego 2-hydroksyglutaranu (2-HG) w komórkach, przyczyniając się do rozwoju AML. Zastosowanie inhibitorów IDH powoduje obniżenie stężenia 2-HG poprzez zablokowanie działania zmutowanych enzymów IDH, a w konsekwencji umożliwia prawidłowe różnicowanie komórek krwiotwórczych [10, 104–106].

W latach 2013–2016 przeprowadzono pierwsze badanie kliniczne z zastosowaniem enasidenibu. Zakwalifikowano do niego 239 pacjentów z obecnością mutacji *IDH2*. Największą grupę stanowili chorzy z nawrotową, oporną AML — 176 (74%), spośród których 94 osoby (53%) otrzymały wcześniej dwie lub więcej linii leczenia. Całkowity odsetek odpowiedzi wyniósł 40,3%, z medianą czasu trwania około 5,8 miesiąca. Całkowitą remisję osiągnęło 19,3% pacjentów (n = 34). Mediana OS wyniosła 9,3 miesiąca wśród wszystkich badanych oraz 19,7 miesiąca w grupie chorych w CR. Podobnie jak w przypadku HMAs korzyści z terapii uzyskiwano po zastosowaniu kilku cykli leczenia. Mediana czasu do osiągnięcia pierwszej odpowiedzi wyniosła 1,9 miesiąca; 87,3% badanych uzyskało odpowiedź przed podaniem 5 kursów leczenia. Bezpieczeństwo leczenia oceniono u wszystkich pacjentów. Zdarzenia niepożądane wystąpiły u 82% chorych (n = 195). Najczęściej były to hiperbilirubinemia (38%) i nudności (23%). Działania niepożądane o 3. i 4. stopniu nasilenia wystąpiły u 41% badanych; 12% stanowiła hiperbilirubinemia, a 7% zespół różnicowania (DS, *differentiation syndrome*). Ogółem DS o różnym stopniu nasilenia wystąpił u 10% pacjentów. Jest to najprawdopodobniej związane z mechanizmem działania leku, który powoduje gwałtowne różnicowanie mieloblastów,

co objawia się również wzrostem leukocytozy stwierdzanym u 17% chorych. Podsumowując, terapia okazała się bezpieczna i dobrze tolerowana. Leczenie pozwoliło na uzyskanie istotnego odsetka odpowiedzi u chorych opornych na wcześniej zastosowane schematy leczenia [107]. W 2017 roku Agencja ds. Żywności i Leków (FDA, *Food and Drug Administration*) zaakceptowała enasidenib do stosowania w terapii opornej nawrotowej AML z obecnością mutacji *IDH2* [10].

Dostępne są również pierwsze wyniki badania nad zastosowaniem inhibitora *IDH1* — iwosidenibu [108]. Łącznie zakwalifikowano do niego 258 pacjentów, w tym 125 z oporną nawrotową AML. W tej grupie chorych ORR wyniósł 41,6% (52 z 125 chorych), w tym odsetek CR/CRh (całkowitej remisji hematologicznej) — 30,4% (odpowiednio 27 i 11 chorych). Leczenie było dobrze tolerowane, a większość działań niepożądanych miała małe nasilenie. Najczęściej odnotowywano biegunkę (33%), leukocytozę (30%) oraz nudności (30%). Zespół różnicowania stwierdzono u 29 spośród 258 chorych (11,2%), w tym co najmniej 3. stopnia u 14 chorych (5,4%). Wystąpienie DS w żadnym przypadku nie doprowadziło do zaprzestania leczenia ani zgonu chorego.

Podsumowanie

Dynamiczny rozwój epigenetyki doprowadził w ostatnich latach do opracowania nowych leków w terapii chorych na AML. Leki te poprzez swój wpływ na procesy epigenetyczne prowadzą do reaktywacji genów supresorowych oraz innych genów kluczowych dla prawidłowego funkcjonowania komórek. Azacytydyna stanowi obecnie ważną opcję terapeutyczną w AML, szczególnie u pacjentów w starszym wieku. Guadecytabina, HMA nowej generacji, wydaje się kolejnym obiecującym lekiem dla tej grupy chorych. Wprowadzenie enasidenibu — inhibitora *IDH2* — w leczeniu opornych nawrotowych AML to przykład terapii celowanej opartej na obecności specyficznej mutacji *IDH2*. Pozostałe leki, w tym inhibitory IDH, wymagają przeprowadzenia dodatkowych badań w celu optymalnego wykorzystania w przyszłości.

Istotnym wyzwaniem jest precyzyjna identyfikacja zaburzeń epigenetycznych u chorych oraz wyodrębnienie grupy pacjentów, która może odnieść korzyści z zastosowania określonych terapii epigenetycznych. Dalszy kierunek poszukiwań powinny stanowić kolejne potencjalne punkty uchwytu możliwe do wykorzystania w nowoczesnych terapiach.

Piśmiennictwo

- Oran B, Weisdorf DJ. Survival for older patients with acute myeloid leukemia: a population-based study. *Haematologica*. 2012; 97(12): 1916–1924, doi: [10.3324/haematol.2012.066100](https://doi.org/10.3324/haematol.2012.066100), indexed in Pubmed: [22773600](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22773600/).
- Burnett A, Wetzler M, Löwenberg B. Therapeutic advances in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2011; 29(5): 487–494, doi: [10.1200/JCO.2010.30.1820](https://doi.org/10.1200/JCO.2010.30.1820), indexed in Pubmed: [21220605](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21220605/).
- Klepin HD. Elderly acute myeloid leukemia: assessing risk. *Curr Hematol Malig Rep*. 2015; 10(2): 118–125, doi: [10.1007/s11899-015-0257-2](https://doi.org/10.1007/s11899-015-0257-2), indexed in Pubmed: [25939828](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25939828/).
- Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer. *Cell*. 2007; 128(4): 683–692, doi: [10.1016/j.cell.2007.01.029](https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.01.029), indexed in Pubmed: [17320506](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17320506/).
- Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med*. 2008; 358(11): 1148–1159, doi: [10.1056/NEJMra072067](https://doi.org/10.1056/NEJMra072067), indexed in Pubmed: [18337604](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18337604/).
- Pleyer L, Burgstaller S, Girschikofsky M, et al. Azacitidine in 302 patients with WHO-defined acute myeloid leukemia: results from the Austrian Azacitidine Registry of the AGMT-Study Group. *Ann Hematol*. 2014; 93(11): 1825–1838, doi: [10.1007/s00277-014-2126-9](https://doi.org/10.1007/s00277-014-2126-9), indexed in Pubmed: [24951123](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24951123/).
- Bhatnagar B, Duong VuH, Gourdin TS, et al. Ten-day decitabine as initial therapy for newly diagnosed patients with acute myeloid leukemia unfit for intensive chemotherapy. *Leuk Lymphoma*. 2014; 55(7): 1533–1537, doi: [10.3109/10428194.2013.856425](https://doi.org/10.3109/10428194.2013.856425), indexed in Pubmed: [24144313](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24144313/).
- Falkenberg KJ, Johnstone RW. Histone deacetylases and their inhibitors in cancer, neurological diseases and immune disorders. *Nat Rev Drug Discov*. 2014; 13(9): 673–691, doi: [10.1038/nrd4360](https://doi.org/10.1038/nrd4360), indexed in Pubmed: [25131830](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25131830/).
- Nebbioso A, Clarke N, Voltz E, et al. Tumor-selective action of HDAC inhibitors involves TRAIL induction in acute myeloid leukemia cells. *Nat Med*. 2005; 11(1): 77–84, doi: [10.1038/nm1161](https://doi.org/10.1038/nm1161), indexed in Pubmed: [15619633](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15619633/).
- Nasserreddine S, Lap CJ, Haroun F, et al. The role of mutant IDH1 and IDH2 inhibitors in the treatment of acute myeloid leukemia. *Ann Hematol*. 2017; 96(12): 1983–1991, doi: [10.1007/s00277-017-3161-0](https://doi.org/10.1007/s00277-017-3161-0), indexed in Pubmed: [29090344](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29090344/).
- Rius M, Stresemann C, Keller D, et al. Human concentrative nucleoside transporter 1-mediated uptake of 5-azacytidine enhances DNA demethylation. *Mol Cancer Ther*. 2009; 8(1): 225–231, doi: [10.1158/1535-7163.MCT-08-0743](https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-08-0743), indexed in Pubmed: [19139132](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19139132/).
- Damaraju VL, Mowles D, Yao S, et al. Role of human nucleoside transporters in the uptake and cytotoxicity of azacitidine and decitabine. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2012; 31(3): 236–255, doi: [10.1080/15257770.2011.652330](https://doi.org/10.1080/15257770.2011.652330), indexed in Pubmed: [22356238](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22356238/).
- Qin T, Jelinek J, Si J, et al. Mechanisms of resistance to 5-aza-2'-deoxycytidine in human cancer cell lines. *Blood*. 2009; 113(3): 659–667, doi: [10.1182/blood-2008-02-140038](https://doi.org/10.1182/blood-2008-02-140038), indexed in Pubmed: [18931345](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18931345/).
- Li LH, Olin EJ, Buskirk HH, et al. Cytotoxicity and mode of action of 5-azacytidine on L1210 leukemia. *Cancer Res*. 1970; 30(11): 2760–2769, indexed in Pubmed: [5487063](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5487063/).
- Van Rompay AR, Norda A, Lindén K, et al. Phosphorylation of uridine and cytidine nucleoside analogs by two human uridine-cytidine kinases. *Mol Pharmacol*. 2001; 59(5): 1181–1186, indexed in Pubmed: [11306702](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11306702/).
- Momparler RL, Derse D. Kinetics of phosphorylation of 5-aza-2'-deoxycytidine by deoxycytidine kinase. *Biochem Pharmacol*. 1979; 28(8): 1443–1444, indexed in Pubmed: [87202](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/87202/).
- Qin T, Castoro R, El Ahdab S, et al. Mechanisms of resistance to decitabine in the myelodysplastic syndrome. *PLoS One*. 2011; 6(8): e23372, doi: [10.1371/journal.pone.0023372](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023372), indexed in Pubmed: [21858090](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21858090/).
- Galmarini CM, Thomas X, Graham K, et al. Deoxycytidine kinase and cN-II nucleotidase expression in blast cells predict survival in acute myeloid leukaemia patients treated with cytarabine. *Br J Haematol*. 2003; 122(1): 53–60, indexed in Pubmed: [12823345](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12823345/).
- Eliopoulos N, Cournoyer D, Momparler RL. Drug resistance to 5-aza-2'-deoxycytidine, 2',2'-difluorodeoxycytidine, and cytosine arabinoside conferred by retroviral-mediated transfer of human cytidine deaminase cDNA into murine cells. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1998; 42(5): 373–378, doi: [10.1007/s002800050832](https://doi.org/10.1007/s002800050832), indexed in Pubmed: [9771951](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9771951/).
- Mahfouz RZ, Jankowska A, Ebrahim Q, et al. Increased CDA expression/activity in males contributes to decreased cytidine analog half-life and likely contributes to worse outcomes with 5-azacytidine or decitabine therapy. *Clin Cancer Res*. 2013; 19(4): 938–948, doi: [10.1158/1078-0432.CCR-12-1722](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-1722), indexed in Pubmed: [23287564](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23287564/).
- Karahoca M, Momparler RL. Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of 5-aza-2'-deoxycytidine (decitabine) in the design of its dose-schedule for cancer therapy. *Clin Epigenetics*. 2013; 5(1): 3, doi: [10.1186/1868-7083-5-3](https://doi.org/10.1186/1868-7083-5-3), indexed in Pubmed: [23369223](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23369223/).
- Savona MR, Odenike O, Amrein PC, et al. Results of first in human (FIH) phase 1 pharmacokinetic (PK) guided dose-escalation study of ASTX727, a combination of the oral cytidine deaminase inhibitor (CDAi) E7727 with oral decitabine in subjects with myelodysplastic syndromes (MDS). *Blood*. 2015; 126: abstract.
- Tsai CT, Yang PM, Chern TR, et al. AID downregulation is a novel function of the DNMT inhibitor 5-aza-deoxycytidine. *Oncotarget*. 2014; 5(1): 211–223, doi: [10.18632/oncotarget.1319](https://doi.org/10.18632/oncotarget.1319), indexed in Pubmed: [24457556](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24457556/).
- Santi DV, Norment A, Garrett CE. Covalent bond formation between a DNA-cytosine methyltransferase and DNA containing 5-azacytosine. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1984; 81(22): 6993–6997, indexed in Pubmed: [6209710](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6209710/).
- Christman JK. 5-Azacytidine and 5-aza-2'-deoxycytidine as inhibitors of DNA methylation: mechanistic studies and their implications for cancer therapy. *Oncogene*. 2002; 21(35): 5483–5495, doi: [10.1038/sj.onc.1205699](https://doi.org/10.1038/sj.onc.1205699), indexed in Pubmed: [12154409](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12154409/).
- Stresemann C, Lyko F. Modes of action of the DNA methyltransferase inhibitors azacytidine and decitabine. *Int J Cancer*. 2008; 123(1): 8–13, doi: [10.1002/ijc.23607](https://doi.org/10.1002/ijc.23607), indexed in Pubmed: [18425818](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18425818/).
- Ghoshal K, Datta J, Majumder S, et al. 5-Aza-deoxycytidine induces selective degradation of DNA methyltransferase 1 by a proteasomal pathway that requires the KEN box, bromo-adjacent homology domain, and nuclear localization signal. *Mol Cell Biol*. 2005; 25(11): 4727–4741, doi: [10.1128/MCB.25.11.4727-4741.2005](https://doi.org/10.1128/MCB.25.11.4727-4741.2005), indexed in Pubmed: [15899874](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15899874/).
- Aimiwu J, Wang H, Chen P, et al. RNA-dependent inhibition of ribonucleotide reductase is a major pathway for 5-azacytidine activity in acute myeloid leukemia. *Blood*. 2012; 119(22): 5229–5238, doi: [10.1182/blood-2011-11-382226](https://doi.org/10.1182/blood-2011-11-382226), indexed in Pubmed: [22517893](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22517893/).
- Derissen EJB, Hillebrand MJX, Rosing H, et al. Quantitative determination of azacitidine triphosphate in peripheral blood

- mononuclear cells using liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal.* 2014; 90: 7–14, doi: [10.1016/j.jpba.2013.11.010](https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.11.010), indexed in Pubmed: [24317024](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24317024/).
30. Jansen RS, Rosing H, Wijermans PW, et al. Decitabine triphosphate levels in peripheral blood mononuclear cells from patients receiving prolonged low-dose decitabine administration: a pilot study. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2012; 69(6): 1457–1466, doi: [10.1007/s00280-012-1850-x](https://doi.org/10.1007/s00280-012-1850-x), indexed in Pubmed: [22382880](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22382880/).
 31. Liu Z, Marcucci G, Byrd JC, et al. Characterization of decomposition products and preclinical and low dose clinical pharmacokinetics of decitabine (5-aza-2'-deoxycytidine) by a new liquid chromatography/tandem mass spectrometry quantification method. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2006; 20(7): 1117–1126, doi: [10.1002/rcm.2423](https://doi.org/10.1002/rcm.2423), indexed in Pubmed: [16523529](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16523529/).
 32. Hollenbach PW, Nguyen AN, Brady H, et al. A comparison of azacitidine and decitabine activities in acute myeloid leukemia cell lines. *PLoS One.* 2010; 5(2): e9001, doi: [10.1371/journal.pone.0009001](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009001), indexed in Pubmed: [20126405](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20126405/).
 33. Santini V. Azacitidine: activity and efficacy as an epigenetic treatment of myelodysplastic syndromes. *Expert Rev Hematol.* 2009; 2(2): 121–127, doi: [10.1586/ehm.09.6](https://doi.org/10.1586/ehm.09.6), indexed in Pubmed: [21083445](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21083445/).
 34. Choi SiHo, Byun HM, Kwan JM, et al. Hydroxycarbamide in combination with azacitidine or decitabine is antagonistic on DNA methylation inhibition. *Br J Haematol.* 2007; 138(5): 616–623, doi: [10.1111/j.1365-2141.2007.06707.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2007.06707.x), indexed in Pubmed: [17686055](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17686055/).
 35. Christman JK, Mendelsohn N, Herzog D, et al. Effect of 5-azacytidine on differentiation and DNA methylation in human promyelocytic leukemia cells (HL-60). *Cancer Res.* 1983; 43(2): 763–769, indexed in Pubmed: [6184156](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6184156/).
 36. Mund C, Hackanson B, Stresemann C, et al. Characterization of DNA demethylation effects induced by 5-aza-2'-deoxycytidine in patients with myelodysplastic syndrome. *Cancer Res.* 2005; 65(16): 7086–7090, doi: [10.1158/0008-5472.CAN-05-0695](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-0695), indexed in Pubmed: [16103056](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16103056/).
 37. Wong YF, Jakt LM, Nishikawa SI. Prolonged treatment with DNMT inhibitors induces distinct effects in promoters and gene-bodies. *PLoS One.* 2013; 8(8): e71099, doi: [10.1371/journal.pone.0071099](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071099), indexed in Pubmed: [23940695](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23940695/).
 38. Shen L, Kantarjian H, Guo Yi, et al. DNA methylation predicts survival and response to therapy in patients with myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol.* 2010; 28(4): 605–613, doi: [10.1200/JCO.2009.23.4781](https://doi.org/10.1200/JCO.2009.23.4781), indexed in Pubmed: [20038729](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20038729/).
 39. Yang AS, Doshi KD, Choi SW, et al. DNA methylation changes after 5-aza-2'-deoxycytidine therapy in patients with leukemia. *Cancer Res.* 2006; 66(10): 5495–5503, doi: [10.1158/0008-5472.CAN-05-2385](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-2385), indexed in Pubmed: [16707479](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16707479/).
 40. Fandy TE, Herman JG, Kerns P, et al. Early epigenetic changes and DNA damage do not predict clinical response in an overlapping schedule of 5-azacytidine and entinostat in patients with myeloid malignancies. *Blood.* 2009; 114(13): 2764–2773, doi: [10.1182/blood-2009-02-203547](https://doi.org/10.1182/blood-2009-02-203547), indexed in Pubmed: [19546476](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19546476/).
 41. Daskalakis M, Nguyen TT, Nguyen C, et al. Demethylation of a hypermethylated P15/INK4B gene in patients with myelodysplastic syndrome by 5-aza-2'-deoxycytidine (decitabine) treatment. *Blood.* 2002; 100(8): 2957–2964, doi: [10.1182/blood.V100.8.2957](https://doi.org/10.1182/blood.V100.8.2957), indexed in Pubmed: [12351408](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12351408/).
 42. Maegawa S, Gough SM, Watanabe-Okochi N, et al. Age-related epigenetic drift in the pathogenesis of MDS and AML. *Genome Res.* 2014; 24(4): 580–591, doi: [10.1101/gr.157529.113](https://doi.org/10.1101/gr.157529.113), indexed in Pubmed: [24414704](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24414704/).
 43. Zhu ZZ, Hou L, Bollati V, et al. Predictors of global methylation levels in blood DNA of healthy subjects: a combined analysis. *Int J Epidemiol.* 2012; 41(1): 126–139, doi: [10.1093/ije/dyq154](https://doi.org/10.1093/ije/dyq154), indexed in Pubmed: [20846947](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20846947/).
 44. Saiki JH, McCredie KB, Vietti TJ, et al. 5-azacytidine in acute leukemia. *Cancer.* 1978; 42(5): 2111–2114, indexed in Pubmed: [82472](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/82472/).
 45. Karon M, Sieger L, Leimbrock S, et al. 5-Azacytidine: a new active agent for the treatment of acute leukemia. *Blood.* 1973; 42(3): 359–365, indexed in Pubmed: [4125239](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4125239/).
 46. Silverman LR, Demakos EP, Peterson BL, et al. Randomized controlled trial of azacitidine in patients with the myelodysplastic syndrome: a study of the cancer and leukemia group B. *J Clin Oncol.* 2002; 20(10): 2429–2440, doi: [10.1200/JCO.2002.04.117](https://doi.org/10.1200/JCO.2002.04.117), indexed in Pubmed: [12011120](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12011120/).
 47. Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, et al. International Vidaza High-Risk MDS Survival Study Group. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol.* 2009; 10(3): 223–232, doi: [10.1016/S1470-2045\(09\)70003-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70003-8), indexed in Pubmed: [19230772](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19230772/).
 48. Arber DA, Brunning RD, Brunning A, et al. Acute myeloid leukaemia with myelodysplastic-related changes. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. ed. WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th edn. International Agency for Research on Cancer, Lyon 2008.
 49. Silverman LR, McKenzie DR, Peterson BL, et al. Cancer and Leukemia Group B. Further analysis of trials with azacitidine in patients with myelodysplastic syndrome: studies 8421, 8921, and 9221 by the Cancer and Leukemia Group B. *J Clin Oncol.* 2006; 24(24): 3895–3903, doi: [10.1200/JCO.2005.05.4346](https://doi.org/10.1200/JCO.2005.05.4346), indexed in Pubmed: [16921040](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16921040/).
 50. Fenaux P, Mufti GJ, Hellström-Lindberg E, et al. Azacitidine prolongs overall survival compared with conventional care regimens in elderly patients with low bone marrow blast count acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol.* 2010; 28(4): 562–569, doi: [10.1200/JCO.2009.23.8329](https://doi.org/10.1200/JCO.2009.23.8329), indexed in Pubmed: [20026804](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20026804/).
 51. Silverman LR, Fenaux P, Mufti GJ, et al. The effects of continued azacitidine (AZA) treatment cycles on response in higher-risk patients (Pts) with myelodysplastic syndromes (MDS). *Blood.* 2008; 112: 227.
 52. Dombret H, Seymour JF, Butrym A, et al. International phase 3 study of azacitidine vs conventional care regimens in older patients with newly diagnosed AML with >30% blasts. *Blood.* 2015; 126(3): 291–299, doi: [10.1182/blood-2015-01-621664](https://doi.org/10.1182/blood-2015-01-621664), indexed in Pubmed: [25987659](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25987659/).
 53. Gore SD, Fenaux P, Santini V, et al. A multivariate analysis of the relationship between response and survival among patients with higher-risk myelodysplastic syndromes treated within azacitidine or conventional care regimens in the randomized AZA-001 trial. *Haematologica.* 2013; 98(7): 1067–1072, doi: [10.3324/haematol.2012.074831](https://doi.org/10.3324/haematol.2012.074831), indexed in Pubmed: [23585522](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23585522/).
 54. Cabrero M, Jabbour E, Ravandi F, et al. Discontinuation of hypomethylating agent therapy in patients with myelodysplastic syndromes or acute myelogenous leukemia in complete remission or partial response: retrospective analysis of survival after long-term follow-up. *Leuk Res.* 2015; 39(5): 520–524, doi: [10.1016/j.leukres.2015.03.006](https://doi.org/10.1016/j.leukres.2015.03.006), indexed in Pubmed: [25828745](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25828745/).

55. Kantarjian H, O'Brien S, Cortes J, et al. Results of intensive chemotherapy in 998 patients age 65 years or older with acute myeloid leukemia or high-risk myelodysplastic syndrome. *Cancer*. 2006; 106(5): 1090–1098, doi: [10.1002/cncr.21723](https://doi.org/10.1002/cncr.21723).
56. Cashen AF, Schiller GJ, O'Donnell MR, et al. Multicenter, phase II study of decitabine for the first-line treatment of older patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2010; 28(4): 556–561, doi: [10.1200/JCO.2009.23.9178](https://doi.org/10.1200/JCO.2009.23.9178), indexed in Pubmed: 20026803.
57. Blum W, Garzon R, Klisovic RB, et al. Clinical response and miR-29b predictive significance in older AML patients treated with a 10-day schedule of decitabine. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010; 107(16): 7473–7478, doi: [10.1073/pnas.1002650107](https://doi.org/10.1073/pnas.1002650107), indexed in Pubmed: 20368434.
58. Kantarjian HM, Thomas XG, Dmoszynska A, et al. Multicenter, randomized, open-label, phase III trial of decitabine versus patient choice, with physician advice, of either supportive care or low-dose cytarabine for the treatment of older patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2012; 30(21): 2670–2677, doi: [10.1200/JCO.2011.38.9429](https://doi.org/10.1200/JCO.2011.38.9429), indexed in Pubmed: 22689805.
59. Sureda A, Bader P, Cesaro S, et al. Indications for allo- and auto-SCT for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2015. *Bone Marrow Transplant*. 2015; 50(8): 1037–1056, doi: [10.1038/bmt.2015.6](https://doi.org/10.1038/bmt.2015.6), indexed in Pubmed: 25798672.
60. Bejanyan N, Weisdorf DJ, Logan BR, et al. Survival of patients with acute myeloid leukemia relapsing after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a center for international blood and marrow transplant research study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015; 21(3): 454–459, doi: [10.1016/j.bbmt.2014.11.007](https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2014.11.007), indexed in Pubmed: 25460355.
61. Ruutu T, de Wreede LC, van Biezen A, et al. European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Second allogeneic transplantation for relapse of malignant disease: retrospective analysis of outcome and predictive factors by the EBMT. *Bone Marrow Transplant*. 2015; 50(12): 1542–1550, doi: [10.1038/bmt.2015.186](https://doi.org/10.1038/bmt.2015.186), indexed in Pubmed: 26367221.
62. Bolaños-Meade J, Smith BD, Gore SD, et al. 5-azacytidine as salvage treatment in relapsed myeloid tumors after allogeneic bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011; 17(5): 754–758, doi: [10.1016/j.bbmt.2010.10.008](https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2010.10.008), indexed in Pubmed: 20951817.
63. Goodyear OC, Dennis M, Jilani NY, et al. Azacitidine augments expansion of regulatory T cells after allogeneic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia (AML). *Blood*. 2012; 119(14): 3361–3369, doi: [10.1182/blood-2011-09-377044](https://doi.org/10.1182/blood-2011-09-377044), indexed in Pubmed: 22234690.
64. Choi J, Ritchey J, Prior JL, et al. In vivo administration of hypomethylating agents mitigate graft-versus-host disease without sacrificing graft-versus-leukemia. *Blood*. 2010; 116(1): 129–139, doi: [10.1182/blood-2009-12-257253](https://doi.org/10.1182/blood-2009-12-257253), indexed in Pubmed: 20424188.
65. Santourlidis S, Trompeter HI, Weinhold S, et al. Crucial role of DNA methylation in determination of clonally distributed killer cell Ig-like receptor expression patterns in NK cells. *J Immunol*. 2002; 169(8): 4253–4261, indexed in Pubmed: 12370356.
66. Craddock C, Labopin M, Robin M, et al. Clinical activity of azacitidine in patients who relapse after allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2016; 101(7): 879–883, doi: [10.3324/haematol.2015.140996](https://doi.org/10.3324/haematol.2015.140996), indexed in Pubmed: 27081178.
67. Schroeder T, Rautenberg C, Haas R, et al. Hypomethylating agents after allogeneic blood stem cell transplantation. *Stem Cell Investig*. 2016; 3(2): 84–150, doi: [10.21037/sci.2016.11.04](https://doi.org/10.21037/sci.2016.11.04), indexed in Pubmed: 28066786.
68. Steinmann J, Bertz H, Wäsch R, et al. 5-Azacytidine and DLI can induce long-term remissions in AML patients relapsed after allograft. *Bone Marrow Transplant*. 2015; 50(5): 690–695, doi: [10.1038/bmt.2015.10](https://doi.org/10.1038/bmt.2015.10), indexed in Pubmed: 25774594.
69. Tessoulin B, Delaunay J, Chevallier P, et al. Azacitidine salvage therapy for relapse of myeloid malignancies following allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*. 2014; 49(4): 567–571, doi: [10.1038/bmt.2013.233](https://doi.org/10.1038/bmt.2013.233), indexed in Pubmed: 24488048.
70. Schroeder T, Rachlis E, Bug G, et al. Azacitidine and donor lymphocyte infusions as first salvage therapy for relapse of AML or MDS after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia*. 2013; 27(6): 1229–1235, doi: [10.1038/leu.2013.7](https://doi.org/10.1038/leu.2013.7), indexed in Pubmed: 23314834.
71. Lübbert M, Bertz H, Wäsch R, et al. Efficacy of a 3-day, low-dose treatment with 5-azacytidine followed by donor lymphocyte infusions in older patients with acute myeloid leukemia or chronic myelomonocytic leukemia relapsed after allografting. *Bone Marrow Transplant*. 2010; 45(4): 627–632, doi: [10.1038/bmt.2009.222](https://doi.org/10.1038/bmt.2009.222), indexed in Pubmed: 19718057.
72. Schroeder T, Czibere A, Platzbecker U, et al. 5-Azacytidine for the treatment of patients with acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome who relapse after allo-SCT: a retrospective analysis. *Bone Marrow Transplant*. 2010; 45(5): 872–876, doi: [10.1038/bmt.2009.266](https://doi.org/10.1038/bmt.2009.266), indexed in Pubmed: 19820729.
73. Ganguly S, Amin M, Divine C, et al. Decitabine in patients with relapsed acute myeloid leukemia (AML) after allogeneic stem cell transplantation (allo-SCT). *Ann Hematol*. 2013; 92(4): 549–550, doi: [10.1007/s00277-012-1607-y](https://doi.org/10.1007/s00277-012-1607-y), indexed in Pubmed: 23111661.
74. Singh SN, Cao Q, Gojo I, et al. Durable complete remission after single agent decitabine in AML relapsing in extramedullary sites after allo-SCT. *Bone Marrow Transplant*. 2012; 47(7): 1008–1009, doi: [10.1038/bmt.2011.210](https://doi.org/10.1038/bmt.2011.210), indexed in Pubmed: 22080965.
75. El-Cheikh J, Massoud R, Fares E, et al. Low-dose 5-azacytidine as preventive therapy for relapse of AML and MDS following allogeneic HCT. *Bone Marrow Transplant*. 2017; 52(6): 918–921, doi: [10.1038/bmt.2017.31](https://doi.org/10.1038/bmt.2017.31), indexed in Pubmed: 28368381.
76. de Lima M, Giral S, Thall PF, et al. Maintenance therapy with low-dose azacitidine after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for recurrent acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome: a dose and schedule finding study. *Cancer*. 2010; 116(23): 5420–5431, doi: [10.1002/cncr.25500](https://doi.org/10.1002/cncr.25500), indexed in Pubmed: 20672358.
77. Craddock C, Jilani N, Siddique S, et al. Tolerability and clinical activity of post-transplantation azacitidine in patients allografted for acute myeloid leukemia treated on the RICAZA Trial. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016; 22(2): 385–390, doi: [10.1016/j.bbmt.2015.09.004](https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2015.09.004), indexed in Pubmed: 26363443.
78. Pusic I, Choi J, Fiala MA, et al. Maintenance therapy with decitabine after allogeneic stem cell transplantation for acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015; 21(10): 1761–1769, doi: [10.1016/j.bbmt.2015.05.026](https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2015.05.026), indexed in Pubmed: 26055299.
79. Oshikawa G, Kakihana K, Saito M, et al. Post-transplant maintenance therapy with azacitidine and gemtuzumab ozogamicin for high-risk acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2015; 169(5): 756–759, doi: [10.1111/bjh.13248](https://doi.org/10.1111/bjh.13248), indexed in Pubmed: 25522128.

80. Griffiths EA, Choy G, Redkar S, et al. SGI-110: DNA methyltransferase inhibitor oncolytic. *Drugs Fut.* 2013; 38(8): 535–543, indexed in Pubmed: [26190889](#).
81. Yoo CB, Jeong S, Egger G, et al. Delivery of 5-aza-2'-deoxycytidine to cells using oligodeoxynucleotides. *Cancer Res.* 2007; 67(13): 6400–6408, doi: [10.1158/0008-5472.CAN-07-0251](#), indexed in Pubmed: [17616700](#).
82. Kantarjian HM, Roboz GJ, Kropf PL, et al. Guadecitabine (SGI-110) in treatment-naïve patients with acute myeloid leukaemia: phase 2 results from a multicentre, randomised, phase 1/2 trial. *Lancet Oncol.* 2017; 18(10): 1317–1326, doi: [10.1016/S1470-2045\(17\)30576-4](#), indexed in Pubmed: [28844816](#).
83. Roboz G, Kantarjian H, Yee K, et al. Dose, schedule, safety, and efficacy of guadecitabine in relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Cancer.* 2017; 124(2): 325–334, doi: [10.1002/cncr.31138](#).
84. Schneider-Stock R, Ocker M. Epigenetic therapy in cancer: molecular background and clinical development of histone deacetylase and DNA methyltransferase inhibitors. *IDrugs.* 2007; 10(8): 557–561, indexed in Pubmed: [17665331](#).
85. Dokmanovic M, Clarke C, Marks PA. Histone deacetylase inhibitors: overview and perspectives. *Mol Cancer Res.* 2007; 5(10): 981–989, doi: [10.1158/1541-7786.MCR-07-0324](#), indexed in Pubmed: [17951399](#).
86. Witt O, Deubzer HE, Milde T, et al. HDAC family: what are the cancer relevant targets? *Cancer Lett.* 2009; 277(1): 8–21, doi: [10.1016/j.canlet.2008.08.016](#), indexed in Pubmed: [18824292](#).
87. Christiansen AJ, West A, Banks KM, et al. Eradication of solid tumors using histone deacetylase inhibitors combined with immune-stimulating antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011; 108(10): 4141–4146, doi: [10.1073/pnas.1011037108](#), indexed in Pubmed: [21368108](#).
88. Noureen N, Rashid H, Kalsoom S. Identification of type-specific anticancer histone deacetylase inhibitors: road to success. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2010; 66(4): 625–633, doi: [10.1007/s00280-010-1324-y](#), indexed in Pubmed: [20401613](#).
89. Scott GK, Mattie MD, Berger CE, et al. Rapid alteration of microRNA levels by histone deacetylase inhibition. *Cancer Res.* 2006; 66(3): 1277–1281, doi: [10.1158/0008-5472.CAN-05-3632](#), indexed in Pubmed: [16452179](#).
90. Bose P, Grant S. Rational combinations of targeted agents in AML. *J Clin Med.* 2015; 4(4): 634–664, doi: [10.3390/jcm4040634](#), indexed in Pubmed: [26113989](#).
91. Shao W, Growney JD, Feng Y et al. Potent anticancer activity of the pan-deacetylase inhibitor panobinostat (LBH589) as a single agent in in vitro and in vivo tumor models. In: 99th American Association of Cancer Research.
92. Wahab K, Beggs AE, Campbell H, et al. Panobinostat: a histone deacetylase inhibitor for the treatment of relapsed or refractory multiple myeloma. *Am J Health Syst Pharm.* 2016; 73(7): 441–450, doi: [10.2146/ajhp150487](#), indexed in Pubmed: [27001985](#).
93. Giles F, Fischer T, Cortes J, et al. A phase I study of intravenous LBH589, a novel cinnamic hydroxamic acid analogue histone deacetylase inhibitor, in patients with refractory hematologic malignancies. *Clin Cancer Res.* 2006; 12(15): 4628–4635, doi: [10.1158/1078-0432.CCR-06-0511](#), indexed in Pubmed: [16899611](#).
94. DeAngelo DJ, Spencer A, Bhalla KN, et al. Phase Ia/II, two-arm, open-label, dose-escalation study of oral panobinostat administered via two dosing schedules in patients with advanced hematologic malignancies. *Leukemia.* 2013; 27(8): 1628–1636, doi: [10.1038/leu.2013.38](#), indexed in Pubmed: [23385375](#).
95. Tan P, Wei A, Mithraprabhu S, et al. Dual epigenetic targeting with panobinostat and azacitidine in acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome. *Blood Cancer J.* 2014; 4: e170, doi: [10.1038/bcj.2013.68](#), indexed in Pubmed: [24413064](#).
96. Ocio EM, Herrera P, Olave MT, et al. PETHEMA Group. Panobinostat as part of induction and maintenance for elderly patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia: phase Ib/II panobidara study. *Haematologica.* 2015; 100(10): 1294–1300, doi: [10.3324/haematol.2015.129577](#), indexed in Pubmed: [26160880](#).
97. Byrd JC, Marcucci G, Parthun MR, et al. A phase I and pharmacodynamic study of depsipeptide (FK228) in chronic lymphocytic leukemia and acute myeloid leukemia. *Blood.* 2005; 105(3): 959–967, doi: [10.1182/blood-2004-05-1693](#), indexed in Pubmed: [15466934](#).
98. Klimek VM, Fircanis S, Maslak P, et al. Tolerability, pharmacodynamics, and pharmacokinetics studies of depsipeptide (romidepsin) in patients with acute myelogenous leukemia or advanced myelodysplastic syndromes. *Clin Cancer Res.* 2008; 14(3): 826–832, doi: [10.1158/1078-0432.CCR-07-0318](#), indexed in Pubmed: [18245545](#).
99. Gojo I, Jiemjit A, Trepel JB, et al. Phase I and pharmacologic study of MS-275, a histone deacetylase inhibitor, in adults with refractory and relapsed acute leukemias. *Blood.* 2007; 109(7): 2781–2790, doi: [10.1182/blood-2006-05-021873](#), indexed in Pubmed: [17179232](#).
100. Quintás-Cardama A, Santos FPS, Garcia-Manero G. Histone deacetylase inhibitors for the treatment of myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia. *Leukemia.* 2011; 25(2): 226–235, doi: [10.1038/leu.2010.276](#), indexed in Pubmed: [21116282](#).
101. Ley TJ, Miller C, Ding Li, et al. Cancer Genome Atlas Research Network. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2013; 368(22): 2059–2074, doi: [10.1056/NEJMoa1301689](#), indexed in Pubmed: [23634996](#).
102. Patel JP, Gönen M, Figueroa ME, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2012; 366(12): 1079–1089, doi: [10.1056/NEJMoa112304](#), indexed in Pubmed: [22417203](#).
103. Marcucci G, Maharry K, Wu YZ, et al. IDH1 and IDH2 gene mutations identify novel molecular subsets within de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol.* 2010; 28(14): 2348–2355, doi: [10.1200/JCO.2009.27.3730](#), indexed in Pubmed: [20368543](#).
104. Lu C, Ward PS, Kapoor GS, et al. IDH mutation impairs histone demethylation and results in a block to cell differentiation. *Nature.* 2012; 483(7390): 474–478, doi: [10.1038/nature10860](#), indexed in Pubmed: [22343901](#).
105. Gross S, Cairns RA, Minden MD, et al. Cancer-associated metabolite 2-hydroxyglutarate accumulates in acute myelogenous leukemia with isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations. *J Exp Med.* 2010; 207(2): 339–344, doi: [10.1084/jem.20092506](#), indexed in Pubmed: [20142433](#).
106. Reitman ZJ, Parsons DW, Yan H. IDH1 and IDH2: not your typical oncogenes. *Cancer Cell.* 2010; 17(3): 215–216, doi: [10.1016/j.ccr.2010.02.024](#), indexed in Pubmed: [20227034](#).
107. Fathi AT, DiNardo CD, Kline I, et al. AG221-C-001 Study Investigators. Enasidenib in mutant relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Blood.* 2017; 130(6): 722–731, doi: [10.1182/blood-2017-04-779405](#), indexed in Pubmed: [28588020](#).
108. DiNardo CD, de Bo, Stein EM, et al. Ivosidenib (AG-120) in mutant IDH1 AML and advanced hematologic malignancies: results of a phase 1 dose escalation and expansion study. *Blood.* 2017; 130: 725.