



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

« ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ - ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ »

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ ΣΤΗΝ ΘΞΕΙΑ ΜΥΕΛΟΓΕΝΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ»

ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ - ΣΚΟΡΔΟΥ ΕΛΙΣΑΒΕΤ

ΕΙΔΙΚΕΥΟΜΕΝΗ ΙΑΤΡΟΣ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΠΑΠΑΘΑΝΑΣΙΟΥ ΙΩΑΝΝΑ, ΕΠΙΚ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ,
Επιβλέπουσα

ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ, Συνεπιβλέπουσα

ΔΗΜΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ, Μέλος

ΛΑΡΙΣΑ, 2023



**UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF MEDICINE**



**POSTGRADUATE MASTER PROGRAM
“HUMAN GENETICS – GENETIC COUNSELING”**

**MASTER’S THESIS
«EPIGENETIC THERAPIES IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA»**

PAPADOPOULOU - SKORDOU ELISAVET

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την περάτωση της μεταπτυχιακής διπλωματικής μου εργασίας, η οποία πραγματοποιήθηκε στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, στο τμήμα Ιατρικής, ολοκληρώνονται οι σπουδές μου στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών «Γενετική Του Ανθρώπου - Γενετική Συμβουλευτική».

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλους όσους, χωρίς την πολύτιμη συμβολή τους, η εκπόνηση αυτό του έργου θα είχε σταθεί αδύνατη. Αρχικά, οφείλω να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου, κυρία Ιωάννα Παπαθανασίου, επίκουρη καθηγήτρια Ιατρικής Βιολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για τη συνεχή καθοδήγηση και υποστήριξή της, καθώς και τις εύστοχες παρατηρήσεις της, καθ' όλη τη διάρκεια διεξαγωγής αυτής της εργασίας. Επιπλέον, ευχαριστώ πολύ την κυρία Τσέζου Ασπασία, καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και τον κύριο Δήμα Κωνσταντίνο, καθηγητή Φαρμακολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για τις πολύτιμες υποδείξεις τους, ως μέλη της τριμελούς επιτροπής.

Ένα εγκάρδιο ευχαριστώ θα ήθελα να απονείμω στις αγαπημένες μου φίλες Άννα Σακαλόγλου, Χρυσάνθη Μιχελιουδάκη και Ελένη Ζενζεφύλη, για την αμέριστη συμπαράσταση και συνεχή υποστήριξή τους. Η συχνή αλληλεπίδραση και επικοινωνία μας με γέμιζε με αισιοδοξία και δύναμη, ώστε να ολοκληρώσω αυτό το έργο.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην οικογένειά μου για όλη τη στήριξη, βοήθεια και κατανόηση που επέδειξαν, καθ' όλη τη διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία είναι μία σύνθετη αιματολογική κακοήθεια που πλήττει ιδίως την τρίτη ηλικία. Η εισαγωγή της έννοιας της Επιγενετικής ως αναπόσπαστος μηχανισμός που διαταράσσεται σε αυτήν τη νόσο, αλλά και η εμμένουσα δυσμενής πρόγνωση των ασθενών με την ήδη υπάρχουσα θεραπευτική προσέγγιση, οδήγησε τους επιστήμονες προς νέες κατευθύνσεις για την παραγωγή καινούριων φαρμάκων. Σκοπός της διπλωματικής εργασίας είναι να παρουσιάσει περιεκτικά τις οντότητες της Οξείας Μυελογενούς Λευχαιμίας και της Επιγενετικής, δημιουργώντας μία εννοιολογική γέφυρα για τη μετέπειτα λεπτομερέστερη παρουσίαση των επιγενετικών φαρμάκων και τον τρόπο που έχουν ενσωματωθεί στην καθημερινή θεραπευτική πρακτική της Οξείας Μυελογενούς Λευχαιμίας. Η συλλογή των δεδομένων έγινε μέσω της πλατφόρμας PubMed, όπου στη σύνθετη αναζήτηση τέθηκαν οι όροι Acute Myeloid Leukemia, Epigenetics, Epigenetic Mechanisms και Epigenetic Therapies in Acute Myeloid Leukemia. Στη συνέχεια, για να περιορισθεί ο αριθμός των άρθρων προστέθηκαν τα εξής πέντε φίλτρα: Full text, Review, Systematic Review, In the last 10 years, Humans, English. Έπειτα από ανάγνωση των τίτλων και των περιλήψεων, επιλέχθηκαν τα πιο σχετικά άρθρα. Συμπερασματικά, οι επιγενετικές θεραπείες, όπως είναι οι DNMT αναστολείς και IDH αναστολείς, έχουν επιδείξει τόσο αποτελεσματικότητα όσο και ασφάλεια κι έχουν κατακτήσει τη θέση τους στη θεραπευτική προσέγγιση της Οξείας Μυελογενούς Λευχαιμίας, είτε ως μονοθεραπεία, ή και σε συνδυασμούς, προσφέροντας ελπιδοφόρα δεδομένα για τη συνολική επιβίωση αυτών των ασθενών.

Λέξεις-Κλειδιά: Acute Myeloid Leukemia, Epigenetics, Epigenetic Therapies in Acute Myeloid Leukemia

ABSTRACT

Epigenetic dysregulation plays a key role in disease pathogenesis and progression of some malignancies, including Acute Myeloid Leukemia (AML). Several mutations in genes related to epigenetic mechanisms, such as DNA methylation and histone modifications, have been discovered and shown to be critical drivers in leukemogenesis and disease development. The heterogeneity of the disease results in a dismal prognosis, leading the scientists to develop new drugs aiming at epigenetic mechanisms. The purpose of this master's thesis is to summarise the Epigenetic Therapies in Acute Myeloid Leukemia. Relative articles were collected by PubMed using the search terms "Acute Myeloid Leukemia", "Epigenetics", "Epigenetic Mechanisms" and "Epigenetic Therapies in Acute Myeloid Leukemia", as well as six filters (Full text, Review, Systematic Review, In the last 10 years, Humans, English). After quick scanning of the titles and abstracts, the most relative articles were used. In conclusion, DNMT and IDH inhibitors are considered a new therapeutic approach in AML treatment. However, further research is necessary to identify the therapeutic effect of the combination of above inhibitors on AML patients.

Key-Words: Acute Myeloid Leukemia, Epigenetics, Epigenetic Therapies in Acute Myeloid Leukemia

Περιεχόμενα

| | |
|--|----|
| Εισαγωγή | 7 |
| Κεφάλαιο 1: Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία | 8 |
| 1.1 Ορισμός..... | 8 |
| 1.2 Επιδημιολογία | 8 |
| 1.3 Παθοφυσιολογία..... | 9 |
| 1.4 Μοριακές Διαταραχές | 9 |
| 1.5 Διάγνωση, Ταξινόμηση και Διαστρωμάτωση Κινδύνου | 11 |
| 1.6. Προγνωστικοί Δείκτες..... | 14 |
| 1.7 Θεραπευτική Προσέγγιση | 15 |
| Κεφάλαιο 2: Επιγενετική | 18 |
| 2.1 Ορισμός..... | 18 |
| 2.2 Μηχανισμοί Επιγενετικής | 19 |
| 2.2.1 Μεθυλίωση του DNA..... | 19 |
| 2.2.2 Τροποποίηση Ιστονών | 21 |
| 2.2.3 Μη Κωδικά Μόρια RNA..... | 24 |
| Κεφάλαιο 3: Επιγενετικές Αλλαγές στην Οξεία Μυελογενή Λευχαιμία | 26 |
| 3.1 Επιγενετικές Αλλαγές στις Αιματολογικές Κακοήθειες | 26 |
| 3.2 Επιγενετικές Αλλαγές στην Οξεία Μυελογενή Λευχαιμία | 28 |
| Κεφάλαιο 4: Επιγενετικές Θεραπείες στην Οξεία Μυελογενή Λευχαιμία..... | 35 |
| 4.1 Επιγενετικά Φάρμακα | 35 |
| 4.2 Αναστολείς DNA μεθυλοτρανσφερασών (DNMTi)..... | 38 |
| 4.2.1 Μοριακά Χαρακτηριστικά των DNMTi..... | 38 |
| 4.2.2 DNMTi στην OMA | 40 |
| 4.2.3 DNMTi και HDACi στην OMA..... | 43 |
| 4.2.4 DNMTi και Venetoclax στην OMA | 47 |
| 4.3 Αναστολείς Ισοκιτρικής Αφυδρογονάσης (IDH Inhibitors) | 52 |

| | |
|---|----|
| 4.3.1 IDH2 στην ΟΜΛ | 53 |
| 4.3.2 IDH1 στην ΟΜΛ | 55 |
| 4.3.3 IDH Αναστολείς Δεύτερης Γενεάς..... | 57 |
| 4.3.4 Ανεπιθύμητες Ενέργειες IDH Αναστολέων | 58 |
| 4.3.5 Μηχανισμοί Ανθεκτικότητας | 58 |
| 4.3.6 Venetoclax και Μεταλλάξεις IDH..... | 59 |
| Συμπεράσματα | 59 |
| Βιβλιογραφία | 61 |

Εισαγωγή

Η Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία είναι μία κακοήθης αιματολογική νόσος που χαρακτηρίζεται από την αυτο-ανανέωση κακοήθων βλαστικών λευχαιμικών κυττάρων και την αναστολή της μυελικής διαφοροποίησης. Προσβάλλει ασθενείς κυρίως τρίτης ηλικίας, με μέσο όρο >70 έτη. Τις τελευταίες τέσσερις δεκαετίες, η πρόγνωση των ασθενών παραμένει εξαιρετικά δυσμενής, με τη μέση επιβίωση να μην ξεπερνά τους δέκα μήνες (Döhner, Weisdorf and Bloomfield, 2015).

Λόγω της προόδου που έχει σημειωθεί στα πεδία της κυτταρογενετικής ανάλυσης και ανάλυσης του γονιδιώματος, η Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία έχει χαρακτηριστεί μια πάθηση με μεγάλη μοριακή ετερογένεια. Με την ανάπτυξη νέων μεθόδων, έχει ταυτοποιηθεί μία πληθώρα χρωμοσωμικών ανωμαλιών και γονιδιακών μεταλλάξεων που οδηγούν στον φαινότυπό της. Από τα πιο αξιόλογα ευρήματα αποτελεί το γεγονός ότι σε ποσοστό έως και 70%, οι μεταλλάξεις ανευρίσκονται σε ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης, όπως είναι οι επιγενετικές πρωτεΐνες και οι μεταγραφικοί παράγοντες (Patel *et al.*, 2012; TJ *et al.*, 2013; Paraemmanuil *et al.*, 2016). Αυτή η παρατήρηση έχει οδηγήσει στην πεποίθηση πως η απορρύθμιση του επιγενετικού προφίλ του κυττάρου κατέχει κομβικό ρόλο στην εκδήλωση της νόσου (Fennell, Bell and Dawson, 2019).

Η έννοια της «Επιγενετικής» εμπερικλείει την έννοια της αναστρεψιμότητας, καθιστώντας τις επιγενετικές αλλαγές έναν εξαιρετικά ελκυστικό θεραπευτικό στόχο. Έτσι, τις δύο τελευταίες δεκαετίες οι προσπάθειες στράφηκαν στην ανάπτυξη επιγενετικών φαρμάκων, δηλαδή χημικών ουσιών που τροποποιούν τη δομή της χρωματίνης, αναιρώντας μεταφραστικές και μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις (Miranda Furtado *et al.*, 2019). Πράγματι, έως σήμερα ένας σημαντικός αριθμός επιγενετικών φαρμάκων έχει πάρει έγκριση από τον Αμερικάνικο Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) και τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA) και βρίσκονται ήδη σε χρήση για τη θεραπεία κακοηθειών, ενώ παράλληλα πλήθος άλλων βρίσκεται υπό αξιολόγηση.

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι να παρουσιάσει περιεκτικά τις οντότητες της Οξείας Μυελογενούς Λευχαιμίας και της Επιγενετικής, δημιουργώντας μία ομαλή εννοιολογική μετάβαση στη λεπτομερέστερη παρουσίαση

των επιγενετικών φαρμάκων και στον τρόπο που αυτά έχουν ενσωματωθεί στην καθημερινή θεραπευτική πρακτική της Οξείας Μυελογενούς Λευχαιμίας.

Κεφάλαιο 1: Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία

1.1 Ορισμός

Η Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία (ΟΜΛ) είναι μία κακοήθης νόσος του μυελού των οστών, όπου παρατηρείται κλωνικός πολλαπλασιασμός μη φυσιολογικών μυελοβλαστικών κυττάρων, τα οποία συσσωρεύονται τόσο στον μυελό των οστών, όσο και στην κυκλοφορία. Ως αποτέλεσμα, παρατηρείται διαταραχή στη διαδικασία της φυσιολογικής αιμοποίησης, που οδηγεί περαιτέρω σε σοβαρές λοιμώξεις, αιμορραγίες και αναιμία, ενώ αν αφεθεί χωρίς θεραπεία, τα κακοήθη κύτταρα μπορούν να προσβάλλουν και άλλα όργανα, όπως είναι το ήπαρ, ο σπλήνας, οι λεμφαδένες, το δέρμα, οι όρχεις και το κεντρικό νευρικό σύστημα (Ganzel *et al.*, 2016).

1.2 Επιδημιολογία

Σύμφωνα με το Αμερικάνικο Πρόγραμμα «Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER)», υπεύθυνο για τη συλλογή στατιστικών δεδομένων για τον καρκίνο στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής από το 1973, η αρχική επίπτωση σχετιζόμενη με την ηλικία, της ΟΜΛ ήταν 3.43/100,000 το έτος. Ωστόσο, από το 2010 και έπειτα έχει παρατηρηθεί σημαντική αύξηση, με την ετήσια επίπτωση να ξεπερνάει το 4.2/100,000 (Noone *et al.*, 2018). Ανάλογη εμφανίζεται να είναι και η ετήσια επίπτωση στο Ηνωμένο Βασίλειο, τον Καναδά και την Αυστραλία (Gangatharan *et al.*, 2013; Shysh *et al.*, 2017), ενώ παρόμοιες επιπτώσεις αναφέρουν και Ευρωπαϊκές χώρες, όπως η Σουηδία και η Δανία (Juliussen *et al.*, 2009, 2012; Granfeldt Østgård *et al.*, 2013; Ocias *et al.*, 2016).

Λαμβάνοντας υπ' όψιν πως η ΟΜΛ προσβάλλει κυρίως ενήλικες μέσης και τρίτης ηλικίας, η επίπτωσή της για άτομα >65 ετών αγγίζει το 20.1/100,000 ανθρωπο-έτη, ενώ για άτομα <65 ετών υπολογίζεται στο 2.0/100,000 ανθρωπο-έτη (Noone *et al.*, 2018). Όσον αφορά την επίπτωση με βάση το φύλο, σύμφωνα με το SEER, δεδομένα από το 2016 και έπειτα υποδεικνύουν ότι η επίπτωση για το ανδρικό φύλο είναι 5.42/100,000 ανθρωπο-έτη και για το γυναικείο φύλο 3.47/100,000 ανθρωπο-έτη (Shallis *et al.*, 2019). Τέλος, η επίπτωση με βάση την εθνικότητα φαίνεται να είναι υψηλότερη στους Καυκάσιους και χαμηλότερη στους κατοίκους των νήσων του Ειρηνικού (Πολυνησία, Μικρονησία, Μελανησία) και της Αλάσκας (Noone *et al.*,

2018), γεγονός που δεν έχει εξηγηθεί, αλλά θα μπορούσε να οφείλεται στη γενετική συνιστώσα της ΟΜΛ.

1.3 Παθοφυσιολογία

Πλήθος μελετών έχει πραγματοποιηθεί, ώστε να καθοριστεί το αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο που αν μεταλλαχθεί θα δώσει τον κλώνο από τον οποίο θα ξεκινήσει ο ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός και θα οδηγήσει στην κλινική οντότητα της ΟΜΛ. Το κύτταρο που θα μεταλλαχθεί ονομάζεται «Κύτταρο Προέλευσης (Cell of Origin, COL)», ενώ ο κλώνος που παράγεται αποκαλείται «Λευχαιμικό Βλαστικό Κύτταρο (Leukemic Stem Cell, LSC)». Το λευχαιμικό βλαστικό κύτταρο χαρακτηρίζεται από ανεξάντλητη ικανότητα αυτο-ανανέωσης, ενώ φέρει μεταλλάξεις που δρουν ανασταλτικά στην περαιτέρω διαφοροποίησή του. Ως αποτέλεσμα των παραπάνω, τα λευχαιμικά βλαστικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα και παράγουν τις λεγόμενες «βλάστες», δηλαδή ανώριμα μυελικά κύτταρα που αδυνατούν να διαφοροποιηθούν περαιτέρω στο μονοπάτι της φυσιολογικής αιμοποίησης (Chopra and Bohlander, 2019).

Εκτός από την ικανότητα αυτο-ανανέωσης που χαρακτηρίζει τόσο το αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο όσο και το λευχαιμικό βλαστικό κύτταρο, θεωρείται ότι υπάρχουν επιπλέον χαρακτηριστικά που οι δύο αυτοί κυτταρικοί πληθυσμοί μοιράζονται. Τέτοια είναι ο $CD34^+/CD38^-$ ανοσοφαινότυπος, το γεγονός ότι η πλειοψηφία βρίσκεται στην κατάσταση ηρεμίας του κυτταρικού κύκλου (φάση G0), καθώς και το ότι φέρουν πρωτεΐνες - αντλίες στην επιφάνειά τους, μέσω των οποίων εξαγάγουν φαρμακευτικές ουσίες που στοχεύουν στην καταστροφή τους (Pollyea and Jordan, 2017). Ωστόσο, η ραγδαία συσσώρευση γνώσης γύρω από την ΟΜΛ τις τελευταίες δεκαετίες έχει αναδείξει την εξαιρετική ετερογένεια που τη χαρακτηρίζει σε μοριακό επίπεδο και έχει δείξει πως υπάρχουν πληθυσμοί λευχαιμικών βλαστικών κυττάρων που δεν εμφανίζουν απαραίτητα όλα τα παραπάνω στοιχεία (Ho *et al.*, 2016).

1.4 Μοριακές Διαταραχές

Η ΟΜΛ θεωρείται μία ετερογενής γενετική πάθηση. Η πρόοδος των τελευταίων δεκαετιών στο πεδίο της κυτταρογενετικής ανάλυσης και της αλληλούχισης του γονιδιώματος έχει αναδείξει τόσο χρωμοσωμικές ανωμαλίες όσο και μεταλλάξεις πολλών γονιδίων που οδηγούν στον φαινότυπό της. Στους παρακάτω δύο πίνακες

(Πίνακας 1 και Πίνακας 2), συνοψίζονται οι χρωμοσωμικές και οι γονιδιακές ανωμαλίες, καθώς και οι συχνότητες εμφάνισής τους στην ΟΜΛ.

Πίνακας 1. Χρωμοσωμικές ανωμαλίες στην *de novo* ΟΜΛ των ενηλίκων

| Χρωμοσωμικές ανωμαλίες στην ΟΜΛ | Συχνότητα |
|--|-----------|
| ΟΜΛ με t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> | 5-10% |
| ΟΜΛ με inv(16)(p13.1;q22) ή t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> | 5-10% |
| ΟΜΛ με t(15;17)(q24.1;q21.1); <i>PML-RARA</i> | 10-20% |
| ΟΜΛ με t(9;11)(p22;q23); <i>MLLT3-MLL</i> | 2% |
| ΟΜΛ με t(6;9)(p23;q24); <i>DEK-NUP214</i> | <2% |
| ΟΜΛ με inv(3)(q21;q26.2) ή t(3;3)(q21;q26.2); <i>RPN1-EVII</i> | <2% |
| ΟΜΛ με t(1;22)(p13;q13); <i>RBM15-MKL1</i> | |
| De Novo ΟΜΛ με t(9;22)(q34;q11); <i>BCR-ABL1</i> που δεν προκύπτει από ΧΜΛ | |
| ΟΜΛ με μονοσωμικό καρυότυπο | |
| ΟΜΛ με σύμπλοκο καρυότυπο (τουλάχιστον 3 κυτταρογενετικές ανωμαλίες) | |

(Παπαϊωάννου, 2017)

Πίνακας 2. Μεταλλάξεις γονιδίων στην ΟΜΛ και η συχνότητά τους

| Γονίδιο | Συνολική συχνότητα | Συχνότητα σε υποκατηγορίες |
|----------------------------------|----------------------------------|---|
| <i>NPM1</i> | 30-35% | 50% σε ΟΜΛ με φυσιολογικό καρυότυπο |
| <i>FLT3</i> ITD/ <i>FLT3</i> TKD | 25-30% / 5-10% | 40% σε ΟΜΛ με φυσιολογικό καρυότυπο 40% σε ΟΜΛ με t(15;17) 80% σε ΟΜΛ με t(6;9) |
| <i>CEBPA</i> | 5-10% | 15% σε ΟΜΛ με φυσιολογικό καρυότυπο |
| <i>DNMT3A</i> | 20% | 25-35% σε ΟΜΛ με φυσιολογικό καρυότυπο |
| <i>IDH1/IDH2</i> | 30% (και οι δύο) | 14-19% σε ΟΜΛ με φυσιολογικό καρυότυπο |
| <i>TET2</i> | 7-10% (50% με νεότερες τεχνικές) | Συνήθως σε δευτεροπαθή ΟΜΛ |
| <i>RAS</i> (<i>NRAS/KRAS</i>) | 20% | Συνύπαρξη με <i>NPM1</i> , inv16, del7 |
| <i>KIT</i> | 2-3% | 20-30% σε ΟΜΛ με inv16 20% σε ΟΜΛ με t(8;21) |
| <i>ASXL1</i> | 3-17% | 50% σε ΟΜΛ με παθολογικό καρυότυπο |
| <i>MLL</i> | 4-14% | 10-15% σε ΟΜΛ με φυσιολογικό καρυότυπο |
| <i>PHF6</i> | 2-3% | |
| <i>RUNX1</i> | 5% | 5% σε ΟΜΛ με φυσιολογικό καρυότυπο |

| | | |
|-------------|-------|----------------------------------|
| <i>TP53</i> | 2-9% | Συνήθως με παθολογικό καρυότυπο |
| <i>WT1</i> | 4-11% | Συνήθως με φυσιολογικό καρυότυπο |

(Παπαϊωάννου, 2017)

1.5 Διάγνωση, Ταξινόμηση και Διαστρωμάτωση Κινδύνου

Η πρώτη κλινική πράξη για να τεθεί η διάγνωση της ΟΜΛ, είναι η λήψη δείγματος περιφερικού αίματος ή η βιοψία μυελού των οστών (Newell and Cook, 2021). Ιστοπαθολογικά, απαιτείται η ανίχνευση $\geq 20\%$ βλαστών στο περιφερικό αίμα ή στο μυελό των οστών (Pelcovits and Niroula, 2020). Έπειτα, σκόπιμη κρίνεται η διενέργεια κυτταρομετρίας ροής, ούτως ώστε να εντοπιστούν κάποιοι δείκτες επιφανείας και κυτταροπλάσματος στα καρκινικά κύτταρα. Με αυτόν τον τρόπο θα επιβεβαιωθεί η διάγνωση και θα χαρακτηριστεί ο ανοσοφαινότυπος των κυττάρων, ο οποίος αποτελεί απαραίτητο εργαλείο για την παρακολούθηση της νόσου μετά από την έναρξη της θεραπείας (Newell and Cook, 2021). Επιπλέον, ακολουθεί κυτταρογενετική ανάλυση σε μεταφασικά χρωμοσώματα, για να προσδιοριστούν τυχόν αλλαγές στον καρυότυπο, καθώς και αλληλούχιση γονιδιώματος με τη μέθοδο αλληλούχισης επόμενης γενεάς (Next Generation Sequencing, NGS), ώστε να προσδιοριστούν γονιδιακές μεταλλάξεις. Οι γονιδιακές μεταλλάξεις αξιολογούνται σε συνδυασμό με τον καρυότυπο στη διαστρωμάτωση κινδύνου και στην επιλογή κατάλληλης και εξατομικευμένης θεραπείας (Newell and Cook, 2021).

Η ταξινόμηση και η διαστρωμάτωση κινδύνου της ΟΜΛ είναι απαραίτητα βήματα για να σχεδιαστεί μία ολιστική προσέγγιση για τον ασθενή και να επιλεγεί το καταλληλότερο θεραπευτικό σχήμα, σύμφωνα με τα μοναδικά χαρακτηριστικά της νόσου. Υπάρχουν διαφορετικές ταξινομήσεις από αρκετούς οργανισμούς, όπως ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) και το Ευρωπαϊκό Δίκτυο Λευχαιμίας (European Leukemia Net, ELN). Στον Πίνακα 3, παρουσιάζεται η ταξινόμηση και η διαστρωμάτωση κινδύνου με βάση το μοριακό προφίλ της ΟΜΛ σύμφωνα με το Ευρωπαϊκό Δίκτυο Λευχαιμίας και στον Πίνακα 4, σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας.

Πίνακας 3. Κατηγορίες κινδύνου κατά European Leukemia Net

| Κατηγορία κινδύνου | Γενετική ανωμαλία |
|--------------------|---|
| Ευνοϊκός | t(8;21)(q22;q22.1); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> inv(16)(p13.1q22) ή t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> Μεταλλαγμένο <i>NPM1</i> χωρίς <i>FLT3-ITD</i> ή με <i>FLT3-ITD</i> low ¹ Διαλληλικές μεταλλάξεις του <i>CEBPA</i> |
| Ενδιάμεσος | Μεταλλαγμένο <i>NPM1</i> και <i>FLT3-ITD</i> high ¹ Wild-type <i>NPM1</i> χωρίς <i>FLT3-ITD</i> ή με <i>FLT3-ITD</i> low ¹ (χωρίς την παρουσία υψηλού κινδύνου γενετικών βλαβών) t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLL3-KMT2A</i> ² Κυτταρογενετικές ανωμαλίες που δεν ανήκουν ούτε στις ευνοϊκού ούτε στις αυξημένου κινδύνου |
| Αυξημένος | t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i> t(v;11q23.3); <i>KMT2A</i> αναδιαταγμένο t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i> inv(3)(q21.3;q26.2) ή t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2, MECOM (EVII), -5</i> ή del(5q), -7; -17/abn(17p) Σύμπλοκος καρυότυπος ³ , μονοσωμικός καρυότυπος ⁴ Wild-type <i>NPM1</i> και <i>FLT3-ITD</i> high ¹ Μεταλλαγμένο <i>RUNX1</i> ⁵ Μεταλλαγμένο <i>ASXL1</i> ⁵ Μεταλλαγμένο <i>TP53</i> ⁶ |

Συχνότητες, ποσοστά απόκρισης, και εκτιμήσεις έκβασης θα πρέπει να αναφέρονται ανάλογα με την κατηγορία κινδύνου και, εάν ικανοί αριθμοί είναι διαθέσιμοι, ανάλογα με συγκεκριμένες γενετικές βλάβες. *Η προγνωστική αξία ενός δείκτη εξαρτάται από τις διαθέσιμες θεραπείες και πιθανόν να αλλάξει με τις νέες θεραπείες.

¹Low: χαμηλή αναλογία αλληλίου (<0.5); high, υψηλή αναλογία αλληλίου (≥0.5); ημιοσοτική ανάλυση της αναλογίας του *FLT3-ITD* αλληλίου (χρησιμοποιώντας ανάλυση θραυσμάτων DNA) καθορίζεται ως η αναλογία της περιοχής κάτω από την καμπύλη “*FLT3-ITD*” προς την περιοχή κάτω από την καμπύλη “*FLT3* wild-type”). Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η ΟΜΛ με *NPM1* μετάλλαξη και χαμηλή αναλογία του *FLT3-ITD* μπορεί επίσης να έχει μια πιο ευνοϊκή πρόγνωση και οι ασθενείς δε θα πρέπει σαν ρουτίνα να οδηγούνται στην αλλογενή μεταμόσχευση.

²Η παρουσία της αναδιάταξης t(9;11)(p21.3;q23.3) υπερισχύει έναντι σπάνιων αυξημένου κινδύνου γενετικών μεταλλάξεων.

³Τρεις ή περισσότερες χρωμοσωμικές ανωμαλίες και ενώ απουσιάζει 1 από τις κατά WHO καθορισμένες επαναλαμβανόμενες αντιμεταθέσεις ή αναστροφές, που είναι, t(8;21), inv(16) ή t(16;16), t(9;11), t(v;11)(v;q23.3), t(6;9), inv(3) ή t(3;3); ΟΜΛ με *BCR-ABL1*.

⁴Ορίζεται από την παρουσία μίας μονοσωμίας (εκτός από την απώλεια του X ή του Y) σε συνδυασμό με τουλάχιστον μία επιπλέον μονοσωμία ή δομική χρωμοσωμική ανωμαλία (εξαιρούνται οι core-binding factor ΟΜΛ).

⁵Αυτοί οι δείκτες δε θα πρέπει να χρησιμοποιούνται σαν αυξημένου κινδύνου προγνωστικοί δείκτες όταν συμβαίνουν ταυτόχρονα με ευνοϊκού κινδύνου ΟΜΛ υποτύπους.

⁶Οι μεταλλάξεις του *TP53* συνδυάζονται συχνά με μονοσωμικό ή σύμπλοκο καρυότυπο.

(Ελευθερία Χατζημιχαήλ, Κωνσταντίνα Παπαθανασίου, 2017)

Πίνακας 4. Ταξινόμηση Οξείας Μυελογενούς Λευχαιμίας κατά ΠΟΥ (2016)

| | |
|---|--|
| <p>ΟΜΛ με επαναλαμβανόμενες γενετικές ανωμαλίες</p> <ul style="list-style-type: none"> • ΟΜΛ με t(8;21)(q22;q22.1); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> • ΟΜΛ με inv(16)(p13.1q22) ή t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> • Οξεία Προμυελοκυτταρική Λευχαιμία με <i>PML-RARA</i>¹ • ΟΜΛ με t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A</i>² • ΟΜΛ με t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i> • ΟΜΛ με inv(3)(q21.3q26.2) ή t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2, MECOM(EV11)</i> • ΟΜΛ (μεγακαρυοβλαστική) με t(1;22)(p13.3;q13.3); <i>RBM15-MKLI</i>³ • Προσωρινή οντότητα: ΟΜΛ με <i>BCR-ABL1</i>⁴ • ΟΜΛ με μεταλλαγμένο <i>NPM1</i>⁵ • ΟΜΛ με διαλληλικές μεταλλάξεις του <i>CEBPA</i>⁵ • Προσωρινή οντότητα: ΟΜΛ με μεταλλαγμένο <i>RUNX1</i> | <p>ΟΜΛ με μη ειδικούς χαρακτήρες (NOS)</p> <ul style="list-style-type: none"> • ΟΜΛ με ελάχιστη διαφοροποίηση • ΟΜΛ χωρίς ωρίμανση • ΟΜΛ με ωρίμανση <ul style="list-style-type: none"> ○ Οξεία Μυελομονοκυτταρική Λευχαιμία ○ Οξεία Μονοβλαστική/Μονοκυτταρική Λευχαιμία ○ Αμιγής Ερυθρολευχαιμία⁸ ○ Οξεία Μεγακαρυοβλαστική Λευχαιμία ○ Οξεία Βασεοφιλική Λευχαιμία ○ Οξεία Πανμύελωση με Μυελοϊνώση |
| <p>ΟΜΛ με αλλαγές που σχετίζονται με μυελοδυσπλασία⁶</p> | <p>Μυελοειδές Σάρκωμα</p> <p>Μυελική υπερπλασία που σχετίζεται με σύνδρομο Down</p> <ul style="list-style-type: none"> • Παροδική ανώμαλη μυελοποίηση • Μυελογενής Λευχαιμία που συνδυάζεται με το σύνδρομο Down |
| <p>Μυελικά νεοπλάσματα που σχετίζονται με θεραπεία⁷</p> | <p>Νεόπλασμα από πλασμακυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα</p> |
| <ul style="list-style-type: none"> • Για τη διάγνωση της οξείας λευχαιμίας απαιτείται ποσοστό βλαστών στο μυελό $\geq 20\%$, εκτός από την ΟΜΛ με επαναλαμβανόμενες γενετικές ανωμαλίες t(15;17), t(8;21), inv(16) ή t(16;16). • MPAL, mixed phenotype acute leukemia (μικτού φαινοτύπου οξεία λευχαιμία); NK, natural killer (φυσικοί φονείς). | |
| <p>¹Άλλες επαναλαμβανόμενες αναδιατάξεις που περιλαμβάνουν το γονίδιο <i>RARA</i> θα πρέπει να αναφέρονται ανάλογα: για παράδειγμα, ΟΜΛ με t(11;17)(q23;q12); <i>ZBTB16-RARA</i>; ΟΜΛ με t(11;17)(q13;q12); <i>NUMA1-RARA</i>; ΟΜΛ με t(5;17)(q35;q12); <i>NPM1-RARA</i>; ή ΟΜΛ με <i>STAT5B-RARA</i> (με φυσιολογικό χρωμόσωμα 17 στη συμβατική καρυοτυπική ανάλυση).</p> | |
| <p>²Άλλες αναδιατάξεις που περιλαμβάνουν το <i>KMT2A (MLL)</i> θα πρέπει να αναφέρονται ανάλογα: για παράδειγμα, ΟΜΛ με t(6;11)(q27;q23.3); <i>MLLT4-KMT2A</i>; ΟΜΛ με t(11;19)(q23.3;p13.3); <i>KMT2A-MLLT1</i>; ΟΜΛ με t(11;19)(q23.3;p13.1); <i>KMT2A-ELL</i>; ΟΜΛ με t(10;11)(p12;q23.3); <i>MLLT10 KMT2A</i>.</p> | |
| <p>³Σπάνια λευχαιμία περισσότερο συχνή στα παιδιά.</p> | |
| <p>⁴Η <i>BCR-ABL1</i> ΟΜΛ ίσως παρουσιάζεται σαν MPAL (μικτού φαινοτύπου οξεία λευχαιμία). Η θεραπεία θα πρέπει να περιλαμβάνει έναν αναστολέα τυροσινικής κινάσης.</p> | |
| <p>⁵Η διάγνωση τίθεται ανεξάρτητα από την παρουσία ή την απουσία πολυγραμμικής δυσπλασίας.</p> | |
| <p>⁶Τουλάχιστον 20% βλαστικά κύτταρα στο αίμα ή στο μυελό των οστών ΚΑΙ οποιοδήποτε από τα ακόλουθα: προηγούμενο ιστορικό MDS ή MDS/MPN, κυτταρογενετική ανωμαλία που σχετίζεται με μυελοδυσπλασία; πολυγραμμική δυσπλασία, ΚΑΙ απουσία τόσο προηγούμενης κυτταροτοξικής θεραπείας για μη σχετική νόσο, όσο και κάποιας από τις προαναφερθείσες επαναλαμβανόμενες γενετικές ανωμαλίες. Οι κυτταρογενετικές ανωμαλίες που αρκούν ώστε να τεθεί η διάγνωση της ΟΜΛ με αλλαγές που σχετίζονται με μυελοδυσπλασία είναι: α. σύμπλοκος καρυότυπος [ορίζεται ως 3 ή περισσότερες χρωμοσωμικές ανωμαλίες όταν απουσιάζει 1 από τις κατά WHO επαναλαμβανόμενες αναδιατάξεις ή αναστροφές, όπως, t(8;21), inv(16) ή t(16;16), t(9;11), t(v;11)(v;q23.3), t(6;9), inv(3) ή t(3;3)], β. Ασύμμετρες ανωμαλίες: -7 ή del(7q), -5 ή del(5q), i(17q) ή t(17p), -13 ή del(13q), del(11q), del(12p) ή</p> | |

t(12p), idic(X)(q13), γ. Συμμετρικές ανωμαλίες: t(11;16)(q23.3;p13.3), t(3;21)(q26.2;q22.1), t(1;3)(p36.3;q21.2), t(2;11)(p21;q23.3), t(5;12)(q32;p13.2), t(5;7)(q32;q11.2), t(5;17)(q32;p13.2), t(5;10)(q32;q21.2), t(3;5)(q25.3;q35.1).

⁷Τα περιστατικά θα πρέπει να κατηγοριοποιούνται ανάλογα με τη σχετική γενετική ανωμαλία που διαπιστώνεται στη διάγνωση.

⁸Η προηγούμενη υποκατηγορία της οξείας ερυθρολευχαιμίας, ερυθρά/μυελική σειρά ($\geq 50\%$ πρόδρομες μορφές της ερυθράς σειράς στον μυελό των οστών και $\geq 20\%$ μυελοβλάστες ανάμεσα στα υπόλοιπα κύτταρα που δεν ανήκουν στην ερυθρά σειρά), καταργήθηκε. Οι μυελοβλάστες υπολογίζονται πλέον ως ποσοστό επί του συνόλου των κυττάρων στον μυελό των οστών. Η παραμένουσα υποκατηγορία της ΟΜΛ που δεν ταξινομείται αλλού, η αμιγής ερυθρολευχαιμία απαιτεί την παρουσία 80% άωρων μορφών της ερυθράς σειράς με $\geq 30\%$ προερυθροβλάστες.

(Ελευθερία Χατζημιχαήλ, Κωνσταντίνα Παπαθανασίου, 2017)

1.6. Προγνωστικοί Δείκτες

Οι προγνωστικοί δείκτες, τόσο αυτοί που αφορούν το άτομο όσο και αυτοί που αφορούν τη νόσο του, πρέπει να εκτιμηθούν πριν και μετά την έναρξη της θεραπείας, διότι καθοδηγούν τον κλινικό ιατρό στην επιλογή σωστού φαρμακευτικού συνδυασμού, έχοντας πάντα κατά νου το στόχο και τις προτεραιότητες του ασθενούς.

Πριν την έναρξη της θεραπείας, οι σημαντικότεροι προγνωστικοί δείκτες είναι εκείνοι που επηρεάζουν την «ανοχή» του ασθενούς στο θεραπευτικό σχήμα, καθώς και τα χαρακτηριστικά της νόσου που την καθιστούν ευάλωτη σε αυτό. Σχετικά με το προφίλ του ασθενούς, λαμβάνεται υπ' όψιν η προχωρημένη ηλικία, η πτωχή κατάσταση ικανότητας (Poor Performance Status) και οι συν-νοσηρότητες, καθώς οι ασθενείς με συν-νοσηρότητες εμφανίζουν μεγαλύτερη θνητότητα, σχετιζόμενη με τη θεραπεία (treatment-related mortality), όταν αντιμετωπίζονται με το κλασσικό σχήμα χημειοθεραπείας εφόδου. Πρόσθετοι παράγοντες που συνηγορούν υπέρ της αυξημένης θνητότητας, άρα και του μικρότερου προσδόκιμου επιβίωσης του ασθενούς, αποτελούν η ύπαρξη κάποιας προϋπάρχουσας αιματολογικής διαταραχής και η προηγούμενη κυτταροτοξική χημειοθεραπεία/ακτινοβολία για κάποια άλλη καρκινωματώδη νόσο. Τέλος, το γενετικό προφίλ της ΟΜΛ είναι πολύ σημαντικός προγνωστικός δείκτης, για αυτό και οι γενετικές αλλαγές έχουν ταξινομηθεί σε τρεις κατηγορίες κινδύνου – ευνοϊκός, ενδιάμεσος και αυξημένος –, όπως ήδη περιεγράφηκε στον Πίνακα 3 (Döhner *et al.*, 2017; Short, Rytting and Cortes, 2018).

Μετά την έναρξη της θεραπείας, οι σημαντικότεροι προγνωστικοί δείκτες είναι η επίτευξη πλήρους ύφεσης (Complete Remission, CR) και η ελάχιστη υπολειπόμενη νόσος (Minimal or Measurable Residual Disease, MRD). Ως πλήρης ύφεση ορίζεται η ανίχνευση $<5\%$ βλαστών στο μυελό των οστών, συνοδευόμενη από πλήρη επαναφορά

των στοιχείων του περιφερικού αίματος, δηλαδή αριθμού ουδετερόφιλων $>1000/\mu\text{L}$ και αιμοπεταλίων $>100,000/\mu\text{L}$. Σε περιπτώσεις όπου επιτυγχάνεται πλήρης ύφεση με $<5\%$ αριθμό βλαστών μυελού, αλλά όχι πλήρης επαναφορά των στοιχείων του περιφερικού αίματος, το αποτέλεσμα της θεραπείας είναι λιγότερο ευνοϊκό για τον ασθενή (Short, Rytting and Cortes, 2018).

Η ελάχιστη υπολειπόμενη νόσος στην καθημερινή πράξη ανιχνεύεται συνήθως με δύο μεθόδους, την κυτταρομετρία ροής και την ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (real-time quantitative PCR, real-time qPCR). Η πρώτη μέθοδος προτιμάται όταν έχει κρατηθεί αρχικό δείγμα από τη διάγνωση της νόσου, έτσι ώστε να συγκριθεί με δείγμα που θα ληφθεί μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας, με απώτερο στόχο τη σύγκριση των ανοσοφαινοτύπων των βλαστών πριν και μετά την παρέμβαση. Ωστόσο, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και χωρίς να έχει αποθηκευτεί δείγμα διάγνωσης, ανιχνεύοντας παθολογικούς δείκτες επιφανείας στο δείγμα που λαμβάνεται μετά τη χημειοθεραπεία. Αντίθετα, η μέθοδος της real-time qPCR απαιτεί να έχει προσδιοριστεί μία συγκεκριμένη γενετική ανωμαλία, όπως η συγχώνευση δύο γονιδίων ή κάποια σημειακή μετάλλαξη, έτσι ώστε να παρακολουθείται η ανίχνευσή της, με λήψη δείγματος περιφερικού αίματος ή μυελού των οστών σε διάφορα χρονικά στάδια μετά την έναρξη της θεραπείας (Short, Rytting and Cortes, 2018).

1.7 Θεραπευτική Προσέγγιση

Η θεραπεία της OMA αποτελείται από δύο σκέλη: τη θεραπεία εφόδου με στόχο την επίτευξη ύφεσης της νόσου και τη θεραπεία σταθεροποίησης με στόχο τη διατήρηση της ύφεσης και την αποτροπή επανεμφάνισής της.

Ο βασικός φαρμακευτικός συνδυασμός χημειοθεραπείας εφόδου δεν έχει αλλάξει τις τελευταίες δεκαετίες και αποτελείται από το «σχήμα 7+3», ένα εντατικό σχήμα που περιλαμβάνει επτά (7) ημέρες συνεχιζόμενης έγχυσης κυταραβίνης και παράλληλα τρεις (3) ημέρες μία ανθρακυκλίνη (δαουνουροβικίνη ή ιδαρουβικίνη), ενδοφλεβίως (Newell and Cook, 2021). Το ποσοστό επίτευξης πλήρους ύφεσης και θεραπείας διαφέρει ανάλογα την ηλικιακή ομάδα, με τους ≤ 60 ετών να επιτυγχάνουν πλήρη ύφεση σε ποσοστό 60-80% και θεραπεία σε ποσοστό 35-40%, και τους >60 ετών να επιτυγχάνουν 40-60% ύφεση και 5-15% θεραπεία (Döhner, Weisdorf and Bloomfield, 2015).

Έχει διεξαχθεί πλήθος τυχαιοποιημένων τυφλών μελετών, ώστε να αποφασιστεί η αποτελεσματικότερη δόση κάθε φαρμάκου με το μικρότερο ποσοστό ανεπιθύμητων ενεργειών. Τα τελευταία δεδομένα συνιστούν η δόση κυταραβίνης να είναι 100-200 mg/m² και η δόση της ανθρακυκλίνης να είναι για τη δαουνορουβικίνη τουλάχιστον 60 mg/m², την ιδαρουβικίνη 12 mg/m² και τη μιτοξανδρόνη 12 mg/m² (Döhner *et al.*, 2017). Σε αυτό το σημείο αξίζει να σημειωθεί ότι το παρόν σχήμα εφόδου εμφανίζει σημαντική θνητότητα σχετιζόμενη με τη θεραπεία (treatment-related mortality). Σύμφωνα με τις οδηγίες του Ευρωπαϊκού Δικτύου Λευχαιμίας που δημοσιεύθηκαν το 2017, πριν την έναρξη της θεραπείας πρέπει να αξιολογούνται το προφίλ του ασθενούς με βάση τους προγνωστικούς δείκτες που αναφέρθηκαν και οι περιπτώσεις ΟΜΛ αυξημένου κινδύνου κατά ELN, διότι αυτοί οι ασθενείς συχνά δεν έχουν τα αναμενόμενα αποτελέσματα από το παραπάνω σχήμα εφόδου (Döhner *et al.*, 2017).

Στο εντατικό σχήμα χημειοθεραπείας μπορούν να προστεθούν επιπλέον φαρμακευτικές ουσίες σύμφωνα με το γενετικό προφίλ της νόσου κάθε ασθενούς. Παραδείγματος χάριν, σε γονιδιακή μετάλλαξη του γονιδίου *FLT3* μπορεί να προστεθεί μιντοσταυρίνη, ένας αναστολέας FLT3 (Stone *et al.*, 2015). Επιπλέον, υπάρχουν και θεραπευτικές επιλογές που βρίσκονται διαθέσιμες μόνο στα πλαίσια κλινικών δοκιμών, όπως είναι η οζογαμυκίνη γεμτουζουμάμπη, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα-τοξίνη που στοχεύει τον δείκτη επιφανείας CD33⁺, ο οποίος σε κάποιες περιπτώσεις εκφράζεται στα καρκινογόνα βλαστικά κύτταρα της ΟΜΛ (Hills *et al.*, 2014).

Μετά την επίτευξη της ύφεσης της νόσου, στόχος είναι η αποτροπή της επανεμφάνισής της. Σε αυτό το σημείο, έρχεται το δεύτερο σκέλος της θεραπείας που αποκαλείται θεραπεία σταθεροποίησης και περιλαμβάνει τις εξής επιλογές: εντατικοποιημένη χημειοθεραπεία ή μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων. Το πιο κοινό σχήμα εντατικοποιημένης θεραπείας περιλαμβάνει έως και τέσσερις κύκλους υψηλών δόσεων κυταραβίνης (2000-3000 mg/m²), σε έξι δόσεις ανά κύκλο (Döhner *et al.*, 2017). Παρ' ότι είναι το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο σχήμα, δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα που να αποδεικνύουν την υπεροχή των τόσο υψηλών δόσεων όταν συγκρίνονται με μεσαίες δόσεις κυταραβίνης 1000-1500 mg/m², με ή χωρίς την προσθήκη κάποιας ανθρακυκλίνης (Schaich *et al.*, 2011; Burnett *et al.*, 2013; Löwenberg, 2013). Πρόσθετα, όπως στη χημειοθεραπεία εφόδου, έτσι και στη χημειοθεραπεία σταθεροποίησης, σε ειδικές κατηγορίες ασθενών μπορούν να

προστεθούν επιπλέον σκευάσματα σύμφωνα με το κυτταρογενετικό προφίλ της νόσου. Τέλος, ασθενείς με ευνοϊκό και κατά περιπτώσεις ενδιάμεσο κατά ELN, κυτταρογενετικό προφίλ, μπορούν να λάβουν 1-2 κύκλους χημειοθεραπείας σταθεροποίησης και έπειτα να γίνει αυτόλογη μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων. Αυτό φαίνεται ότι οδηγεί σε μεγαλύτερο διάστημα χωρίς υποτροπή της νόσου, δίχως αυτό να μεταφράζεται ωστόσο σε αυξημένη συνολική επιβίωση (Wang *et al.*, 2010; Vellenga *et al.*, 2011; Döhner *et al.*, 2017).

Η δεύτερη επιλογή θεραπείας σταθεροποίησης της νόσου είναι η αλλογενής μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων. Για να αποφασίσει ο κλινικός ιατρός εάν αυτή η επιλογή είναι αποδεκτή, πρέπει το όφελος της μεταμόσχευσης να ξεπερνάει τον κίνδυνο που προκύπτει από αυτήν. Πιο συγκεκριμένα, συγκρίνεται η θνητότητα – μη σχετιζόμενη με υποτροπή (non-relapse mortality, NRM) με την αναμενόμενη μείωση του κινδύνου υποτροπής από τη μεταμόσχευση. Η εκτίμηση αυτή βασίζεται στο μοριακό προφίλ της νόσου, στα χαρακτηριστικά του ασθενούς και του δότη, καθώς και σε παράγοντες που αφορούν τη μεταμόσχευση, τα οποία παρουσιάζονται συνοπτικά στον Πίνακα 5 (Döhner *et al.*, 2017).

Πίνακας 5. Παράγοντες λήψης απόφασης για Αλλογενή Μεταμόσχευση Μυελού των Οστών στην πρώτη πλήρη ύφεση της Οξείας Μυελογενούς Λευχαιμίας

| Κίνδυνος Υποτροπής | | | | | | |
|-----------------------------------|--------------------------------------|------------|----------|---|--|--|
| Γενετική ταξινόμηση κατά ELN 2017 | MRD μετά το 2 ^ο κύκλο ΧΜΘ | ΧΜΘ ή AMAK | Αλλο-ΜΑΚ | Κίνδυνος θνητότητας μη σχετιζόμενης με υποτροπή (NRM), που δικαιολογεί τη διενέργεια αλλο-ΜΑΚ | Δείκτης συννοσηρότητας (HCT-CI), που αντιστοιχεί στην πιθανότητα NRM | EBMT risk score, που αντιστοιχεί στην πιθανότητα NRM |
| Ευνοϊκή | Απούσα | 35-40% | 15-20% | <10-15% | <1 | ≤1 |
| Ευνοϊκή | Παρούσα | 50-60% | 20-25% | <20-25% | <2 | ≤2 |
| Ενδιάμεση | Απούσα | 70-80% | 30-40% | <30% | <3-4 | ≤3-4 |
| Ενδιάμεση | Παρούσα | | | | | |
| Δυσμενής | Απούσα/ Παρούσα | >90% | 40-50% | <40% | <5 | ≤5 |

Αλλο-ΜΑΚ: Αλλογενής Μεταμόσχευση Αιμοποιητικών Κυττάρων, MRD (Minimal Residual Disease): Ελάχιστη Υπολειμματική Νόσος, ΧΜΘ: Συμβατική Χημειοθεραπεία, AMAK: Αυτόλογη Μεταμόσχευση Αιμοποιητικών Κυττάρων, HCT-CI (Hematopoietic Cell Transplantation-Comorbidity Index): Δείκτης συννοσηρότητας σχετιζόμενος με τη μεταμόσχευση, EBMT risk score: Βαθμολόγηση κινδύνου από τη μεταμόσχευση σύμφωνα με το προγνωστικό σύστημα του EBMT (European Society for Blood and Marrow Transplantation)

(Ιωάννης Μπαλταδάκης, 2017)

Η αλλογενής μεταμόσχευση προτείνεται όταν η πιθανότητα υποτροπής της νόσου είναι >35-40%, επομένως ασθενείς με ευνοϊκό προφίλ κατά ELN αυτομάτως αποκλείονται. Αντιθέτως, ασθενείς με δυσμενές προφίλ κατά ELN, συστήνεται να προβούν σε αλλογενή μεταμόσχευση το συντομότερο δυνατό μετά την επίτευξη της πλήρους ύφεσης (Döhner *et al.*, 2017). Για τους ασθενείς με ενδιάμεσο κατά ELN προφίλ, αξιολογείται κατά περίπτωση η ποιότητα της ύφεσης και ο κίνδυνος της μεταμόσχευσης και έπειτα γίνεται η επιλογή ανάμεσα σε εντατική χημειοθεραπεία, αυτόλογη ή αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών. Από μία αναδρομική μελέτη από την Ολλανδική, Βελγική και Ελβετική Ομάδα Λευχαιμίας (HOVON-SAKK) σε ασθενείς 40 – 60 ετών, φάνηκε ότι η αλλογενής μεταμόσχευση πλεονεκτεί έναντι της χημειοθεραπείας σταθεροποίησης και της αυτόλογης μεταμόσχευσης, διότι εμφανίζει χαμηλότερη πιθανότητα υποτροπής και μεγαλύτερο διάστημα ελεύθερο νόσου (Cornelissen *et al.*, 2015). Τέλος, η αλλογενής μεταμόσχευση αποτελεί τη βασική θεραπευτική προσέγγιση για τους ασθενείς που δεν επιτυγχάνουν πλήρη ύφεση με τη χημειοθεραπεία εφόδου, εμφανίζουν δηλαδή πρωτοπαθώς ανθεκτική ΟΜΛ, καθώς και για τους ασθενείς με γρήγορη υποτροπή (Döhner *et al.*, 2017).

Κεφάλαιο 2: Επιγενετική

2.1 Ορισμός

Ο όρος «Επιγενετική» χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Conrad Waddington, για να περιγραφούν οι μηχανισμοί μέσω των οποίων ο γονότυπος αλληλεπιδρά με το περιβάλλον του, ώστε να παραχθεί ένας φαινότυπος, στα πλαίσια της ανάπτυξης ενός οργανισμού (Waddington, 2012). Με τη συσσώρευση νέας πληροφορίας οι ερευνητές κατέληξαν σε έναν πιο ολοκληρωμένο ορισμό, όπου η Επιγενετική περιλαμβάνει το σύνολο των κληρονομήσιμων αλλαγών στη δομή της χρωματίνης, χωρίς αλλαγές στη νουκλεοτιδική αλληλουχία του DNA (Cavalli and Heard, 2019). Στον Πίνακα 6, παρουσιάζονται διαφορετικοί ορισμοί του όρου «Επιγενετική», όπως διαμορφώθηκαν στο πέρασμα των χρόνων.

Πίνακας 6. Ορισμοί του όρου «Επιγενετική»

| Authors | Epigenetics is the study of: |
|----------------------|---|
| Waddington Nanney | The processes by which the genotype brings the phenotype into being The systems that regulate the expression of the 'library of specificities' (that is, the genetic material, which is meant to be the DNA or RNA sequence) |

| | |
|-------------------------------------|---|
| Riggs, Holliday, Martienssen, Russo | Mitotically and/or meiotically heritable changes in gene function that cannot be explained by changes in DNA sequence |
| Bird | Structural adaptations of chromosomal regions so as to register, signal or perpetuate altered activity states |
| Greally, Lappalainen | Properties of a cell, mediated by genomic regulators, that confer on the cell the ability to remember a past event |
| Nicoglou | Various intracellular factors that have an effect on the stability of developmental processes through their action on genome potentialities |

(Cavalli and Heard, 2019)

2.2 Μηχανισμοί Επιγενετικής

Οι βασικοί μηχανισμοί μέσω των οποίων επιτελούνται οι επιγενετικές αλλαγές του γενετικού υλικού περιλαμβάνουν τη μεθυλίωση του DNA, την τροποποίηση των ιστονών, καθώς και τα μη κωδικά μόρια RNA. Οι μηχανισμοί αυτοί θα αναλυθούν συνοπτικά στις ενότητες που ακολουθούν.

2.2.1 Μεθυλίωση του DNA

Η μεθυλίωση του DNA είναι ίσως ο καλύτερα μελετημένος και κατανοητός επιγενετικός μηχανισμός. Περιλαμβάνει την προσθήκη μίας μεθυλομάδας στη θέση του πέμπτου άνθρακα της βάσης κυτοσίνης, ιδιαίτερα στις περιοχές που είναι πλούσιες σε δινουκλεοτίδια κυτοσίνης-γουανίνης (CpG), μετατρέποντας έτσι την κυτοσίνη σε 5-μεθυλ-κυτοσίνη (5mC) (Skvortsova, Stirzaker and Taberlay, 2019). Τα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για αυτήν την μετατροπή ονομάζονται DNA μεθυλοτρανσφεράσες (DNA methyltransferases, DNMTs) και υπάρχουν τρία βασικά είδη, οι DNMT1, DNMT3A και DNMT3B. Η DNMT1 είναι υπεύθυνη για την πιστή μεταβίβαση του προτύπου μεθυλίωσης του γενετικού υλικού ενός κυττάρου, στα θυγατρικά του κύτταρα, όπως αυτά προκύπτουν από τη διαδικασία της μίτωσης (Peixoto *et al.*, 2020). Αντίθετα, οι DNMT3A και DNMT3B πραγματοποιούν εκ νέου (de novo) μεθυλίωση του γενετικού υλικού στα κύτταρα, με απώτερο στόχο τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης κατά τη διάρκεια της εμβρυονικής ανάπτυξης ενός οργανισμού (Peixoto *et al.*, 2020). Τέλος, υπάρχει επιπλέον η DNA μεθυλοτρανσφεράση 3L (DNMT3L), η οποία φαίνεται ότι συμμετέχει στην ενεργοποίηση των DNMT3A, DNMT3B και των συμπλόκων τους, χωρίς η ίδια να έχει καταλυτική ενεργότητα μεθυλίωσης του DNA (Aarola *et al.*, 2000; Deplus *et al.*, 2002).

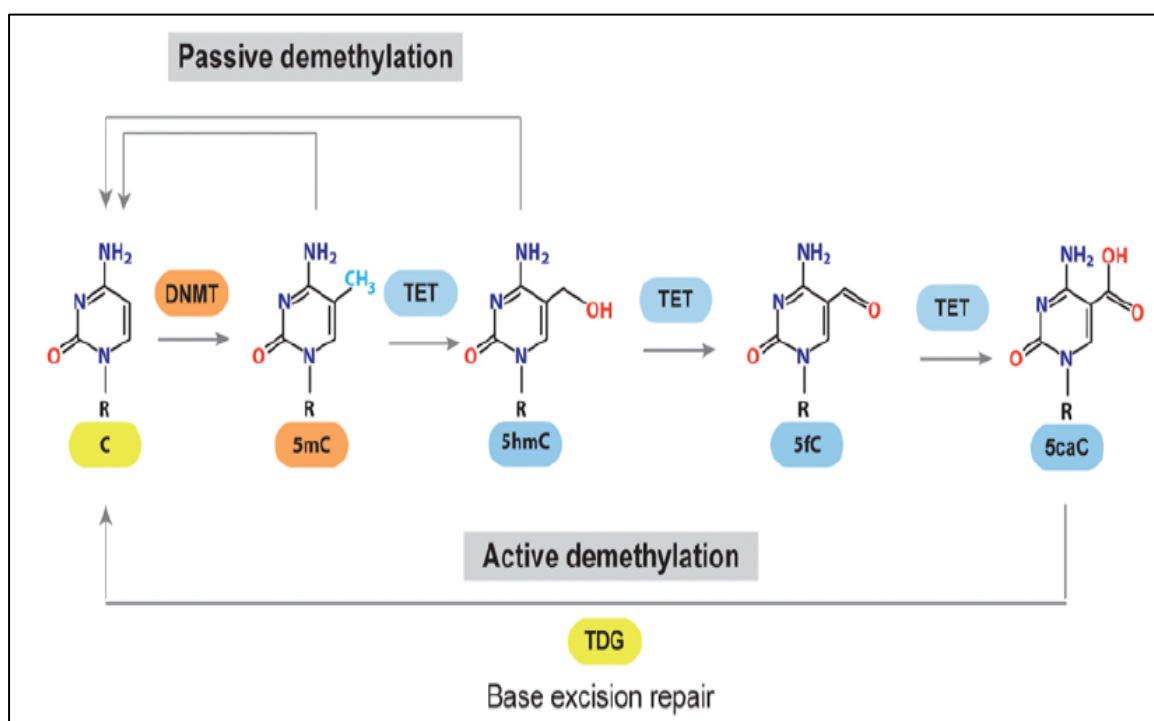
Υπάρχουν περίπου 28 εκατομμύρια CpG περιοχές διάσπαρτες στο γονιδίωμα, ανομοιόμορφα κατανεμημένες σε όλο το μήκος του. Εξ' αυτών, περίπου το 70% είναι

μεθυλιωμένο σε ένα υγιές σωματικό κύτταρο. Όταν συνευρίσκονται αρκετές CpG περιοχές, τότε αυτές σχηματίζουν τα CpG νησίδια. Τα CpG νησίδια αποτελούνται από 500-1000 ζεύγη βάσεων και βρίσκονται τόσο στην περιοχή του υποκινητή όσο και εντός της κύριας αλληλουχίας των γονιδίων. Οι CpG περιοχές των νησιδίων που εντοπίζονται στον υποκινητή είναι συνήθως μη μεθυλιωμένες σε ένα φυσιολογικό σωματικό κύτταρο. Κατά αυτόν τον τρόπο παρέχουν το κατάλληλο έδαφος, ώστε να μπορούν να προσδεθούν οι μεταγραφικοί παράγοντες στον υποκινητή, ρυθμίζοντας έτσι τη γονιδιακή έκφραση (Skvortsova, Stirzaker and Taberlay, 2019). Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι ο πανταχού παρών μεταγραφικός παράγοντας Sp1 (Specificity protein 1), ο οποίος ενεργοποιεί τη μεταγραφή των γονιδίων όταν προσδέεται σε μη μεθυλιωμένες CpG περιοχές, ενώ αδυνατεί να προσδεθεί στις αντίστοιχες περιοχές όταν αυτές είναι μεθυλιωμένες. Ωστόσο, η μεθυλίωση των CpG νησιδίων στην περιοχή του υποκινητή συναντάται στις περιοχές εκείνες που κάποια γονίδια πρέπει να αποσιωπηθούν, με στόχο τη φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού. Τέτοιες περιπτώσεις είναι η αποσιώπηση γονιδίων στο απενεργοποιημένο X χρωμόσωμα των θηλυκών οργανισμών, καθώς και η αποσιώπηση κάποιων αλληλομόρφων σε περιοχές που υπόκεινται σε γονεϊκή αποτύπωση (Skvortsova, Stirzaker and Taberlay, 2019).

Σε αντίθεση με τη μεθυλίωση των CpG νησιδίων των υποκινητών που οδηγούν κατά βάση σε γονιδιακή σίγαση, οι CpG περιοχές εντός της κύριας αλληλουχίας των γονιδίων είναι συνήθως μεθυλιωμένες και το γεγονός αυτό έχει συσχετισθεί με γονιδιακή ενεργοποίηση (Skvortsova, Stirzaker and Taberlay, 2019). Έχει βρεθεί ότι σε εμβρυονικά στελεχιαία κύτταρα ποντικών, οι μεθυλιωμένες CpG περιοχές εντός της κύριας αλληλουχίας εμποδίζουν την άτοπη πρόσδεση της RNA πολυμεράσης II (Neri *et al.*, 2017), ενώ ίσως και να καταστέλλουν την ενεργοποίηση εναλλακτικών υποκινητών (Maunakea *et al.*, 2010). Τέλος, σε πολύ μικρότερη συγκέντρωση, CpG νησίδια εντοπίζονται και σε απομακρυσμένες ρυθμιστικές περιοχές γονιδίων, όπως οι ενισχυτές, με το ποσοστό μεθυλίωσής τους να ποικίλλει από 10% έως 50%. Όπως και στους υποκινητές, έτσι και σε αυτήν την περίπτωση, χαμηλότερο ποσοστό μεθυλίωσης στους ενισχυτές έχει συσχετισθεί με αυξημένη ενεργότητα των γονιδίων που ελέγχουν (Aran, Sabato and Hellman, 2013).

Η αντίστροφη διαδικασία της απομεθυλίωσης της κυτοσίνης στις CpG περιοχές διακρίνεται σε ενεργητική και παθητική. Η ενεργητική απομεθυλίωση επιτελείται από

την οικογένεια πρωτεϊνών TET (Tet-Eleven Translocation 1, 2, 3) (Ficz *et al.*, 2011). Οι πρωτεΐνες TET οξειδώνουν την 5mC σε 5-υδροξυ-μεθυλ-κυτοσίνη (5hmC), και περαιτέρω την 5hmC σε 5-φορμυλ-κυτοσίνη (5fC) και 5-καρβοξυκυτοσίνη (5caC). Η 5caC μπορεί έπειτα να αντικατασταθεί από μια μη μεθυλιωμένη κυτοσίνη, από το ένζυμο TDG (Thymine DNA Glycosylase), στα πλαίσια του μονοπατιού επιδιόρθωσης βλαβών του DNA, BER (Base Excision Repair) (Ito *et al.*, 2011; Skvortsova, Stirzaker and Taberlay, 2019). Η παθητική απομεθυλίωση αφορά τη διαδικασία κατά την οποία η οξείδωση της 5mC σε 5hmC εμποδίζει τη φυσιολογική δράση της DNMT1, με αποτέλεσμα την παθητική απομεθυλίωση της 5mC, μετά από διαδοχικούς κύκλους αντιγραφής ενός κυττάρου (Εικόνα 1).



Εικόνα 1. Η παθητική και ενεργητική διαδικασία απομεθυλίωσης της κυτοσίνης (Skvortsova, Stirzaker and Taberlay, 2019)

2.2.2 Τροποποίηση Ιστονών

Οι ιστόνες είναι πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην οργάνωση και συμπύκνωση του DNA, στον πυρήνα των ευκαρυωτικών οργανισμών. Πιο αναλυτικά, ένα οκταμερές αποτελείται από τέσσερις βασικές ιστόνες (H2A, H2B, H3, H4) και φέρει γύρω του τμήμα DNA μεγέθους 147 ζευγών βάσεων. Το οκταμερές των ιστονών μαζί με το περιελιγμένο τμήμα DNA σχηματίζουν τη βασική μονάδα οργάνωσης της χρωματίνης που ονομάζεται νουκλεόσωμα (Kouzarides, 2007).

Το σύνολο των μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων των ιστονών αποκαλείται «Κώδικας των Ιστονών» και μπορεί να επιφέρει αλλαγές στη δομή της χρωματίνης, μέσω μεταβολής του φορτίου του νουκλεοσώματος ή ακόμα και προσελκύνοντας πρωτεΐνες ή συμπλέγματα πρωτεϊνών, τα οποία είναι υπεύθυνα για την ερμηνεία των εκάστοτε τροποποιήσεων (Jenuwein and Allis, 2001; Kouzarides, 2007). Ο Κώδικας των Ιστονών έχει συσχετισθεί άμεσα με βασικές διεργασίες του κυττάρου, όπως είναι η επιδιόρθωση του DNA, η αντιγραφή και η μεταγραφή του και περιλαμβάνει την ακετυλίωση, μεθυλίωση, φωσφορυλίωση, ουβικουιτίνωση και άλλες λιγότερο κατανοητές μεταβολές (Kouzarides, 2007) (Πίνακας 7). Στις επόμενες παραγράφους, θα αναλυθούν η ακετυλίωση και η μεθυλίωση των ιστονών, καθώς είναι οι περισσότερο μελετημένες τροποποιήσεις και με καλύτερα κατανοητή κλινική σημασία.

Πίνακας 7. Τροποποιήσεις Ιστονών

| Chromatic Modifications | Residues Modified | Functions Regulated |
|-------------------------|----------------------------|--|
| Acetylation | K-ac | Transcription, Repair, Replication, Condensation |
| Methylation (lysines) | K-me1 K-me2 K-me3 | Transcription, Repair |
| Methylation (arginines) | R-me1 R-me2a R-me2s | Transcription |
| Phosphorylation | S-ph T-ph | Transcription, Repair, Condensation |
| Ubiquitylation | K-ub | Transcription, Repair |
| SUMOylation | K-su | Transcription |
| ADP ribosylation | E-ar | Transcription |
| Deimination | R > Cit | Transcription |
| Proline Isomerization | P-cis > P-trans | Transcription |

(Kouzarides, 2007)

Ακετυλίωση Ιστονών

Η ακετυλίωση των ιστονών έχει συσχετισθεί με ενεργοποίηση της μεταγραφής των γονιδίων και αποτελεί τη μεταφορά μιας ακετυλομάδας από το ακετυλο-συνένζυμο A (ακετυλ-CoA) σε ένα κατάλοιπο λυσίνης (K). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την εξουδετέρωση του θετικού φορτίου της λυσίνης και τη μείωση της αλληλεπίδρασης μεταξύ ιστόνης και DNA, μιας και το DNA είναι αρνητικά φορτισμένο (Peixoto *et al.*, 2020). Τα κατάλοιπα λυσίνης που ακετυλιώνονται εντοπίζονται κυρίως στα N-αμινοτελικά άκρα των ιστονών και τα ένζυμα που καταλύουν τη συγκεκριμένη τροποποίηση ονομάζονται Ακετυλοτρανσφεράσες των Ιστονών (Histone Acetyltransferases, HATs) (Kouzarides, 2007).

Η αντίστροφη αντίδραση ονομάζεται αποακετυλίωση των ιστονών και έχει συσχετισθεί με καταστολή της μεταγραφής των γονιδίων. Τα ένζυμα που την καταλύουν ονομάζονται Αποακετυλάσες των Ιστονών (Histone Deacetylases, HDACs) και διακρίνονται σε τέσσερις τάξεις με βάση την ομολογία της αλληλουχίας τους με τα αντίστοιχα ένζυμα στο μύκητα, την οργάνωση της καταλυτικής περιοχής τους και τη θέση τους εντός του κυττάρου. Πιο συγκεκριμένα, η τάξη I (HDACs 1, 2, 3 και 8), η τάξη IIa (HDACs 4, 5, 7 και 9), η τάξη IIb (HDACs 6 και 10) και η τάξη IV (HDAC 11) συνιστούν τις κλασσικές Αποακετυλάσες των Ιστονών και φέρουν ένα μόριο ψευδαργύρου στο ενεργό τους κέντρο, ενώ η τάξη III (SIRTUINS: SIRT 1-7) φέρει στο ενεργό της κέντρο ένα δινουκλεοτίδιο Αδενίνης-Νικοτιναμίδης (NAD⁺) (Peixoto *et al.*, 2020). Έχει παρατηρηθεί ότι HDACs υπάρχουν τόσο στον πυρήνα, όσο και στο κυτταρόπλασμα, ενώ κάποια είδη μπορούν να μετακινούνται μεταξύ των δύο κυτταρικών διαμερισμάτων. Επιπλέον, έχουν ταυτοποιηθεί και άλλοι στόχοι των παραπάνω ενζύμων πέραν των ιστονών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η αποακετυλίωση της πρωτεΐνης P53 που ανακαλύφθηκε το 2000 (Luo *et al.*, 2000), οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η αντίδραση της ακετυλίωσης και της αποακετυλίωσης δεν αφορά αποκλειστικά τις ιστόνες (Peixoto *et al.*, 2020).

Μεθυλίωση Ιστονών

Η μεθυλίωση των ιστονών περιλαμβάνει την προσθήκη μίας έως τριών μεθυλομάδων σε κατάλοιπα λυσίνης ή αργινίνης, με την προσθήκη δύο μεθυλομάδων σε κατάλοιπο αργινίνης να είναι είτε συμμετρική (me2s) ή ασύμμετρη (me2a) (Peixoto *et al.*, 2020). Μπορεί να οδηγήσει τόσο σε ενεργοποίηση όσο και σε καταστολή της μεταγραφής των γονιδίων και το αποτέλεσμα που επικρατεί εξαρτάται από το κατάλοιπο που τροποποιείται, αλλά και από τον αριθμό των μεθυλομάδων που προστίθενται σε αυτό. Τα ένζυμα που καταλύουν αυτήν την αντίδραση ονομάζονται Μεθυλοτρανσφεράσες των Ιστονών (Histone Methyltransferases, HMTs) και η δράση τους είναι εξαιρετικά ειδική. Αυτό σημαίνει ότι μία HMT καταλύει τη μεθυλίωση ενός μόνο συγκεκριμένου καταλοίπου λυσίνης ή αργινίνης, σε αντιδιαστολή με τις HATs και HDACs, που δεν εμφανίζουν ειδικότητα για συγκεκριμένα κατάλοιπα λυσίνης (Kouzarides, 2007).

Εστιάζοντας στη μεθυλίωση καταλοίπων λυσίνης, έχει βρεθεί ότι οι HMTs περιλαμβάνουν μία περιοχή 130 αμινοξέων που ονομάζεται SET περιοχή (SET domain), η οποία έχει καταλυτική ενεργότητα και δρα προσθέτοντας από μία έως τρεις

μεθυλομάδες στον ϵ άνθρακα της λυσίνης. Ως δότης μεθυλομάδων χρησιμοποιείται η S-αδενοσυλ-μεθειονίνη (S-adenosyl-methionine, SAM) (Peixoto *et al.*, 2020). Η μεθυλίωση των καταλοίπων H3K4, H3K36 και H3K79 έχει συσχετισθεί με ενεργοποίηση της μεταγραφής, ενώ η μεθυλίωση των καταλοίπων H3K9, H3K27 και H4K20 έχει συνδεθεί με καταστολή αυτής (Kouzarides, 2007). Όπως και με τις HATs, έτσι και οι HMTs έχει βρεθεί ότι μεθυλιώνουν και άλλες πρωτεΐνες πέραν των ιστονών, όπως για παράδειγμα τον μεταγραφικό παράγοντα P53 (Herz, Garruss and Shilatifard, 2013).

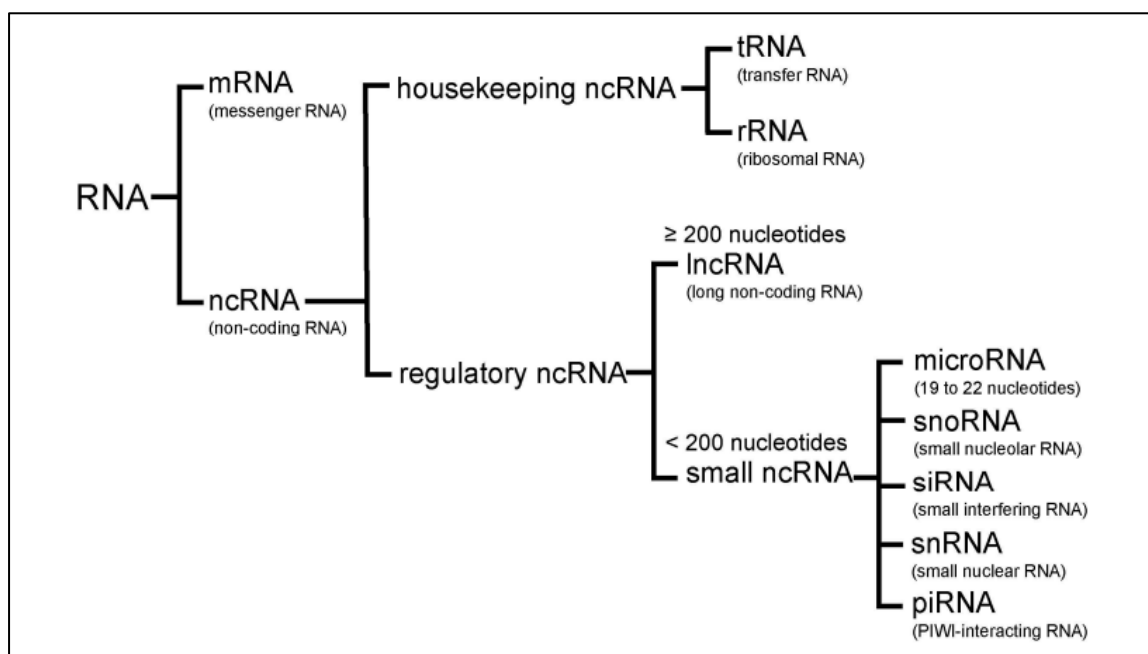
Η απομεθυλίωση των ιστονών πραγματοποιείται από τις Απομεθυλάσες των Ιστονών (Histone Demethylases, HDMs), οι οποίες διακρίνονται σε δύο υπεροικογένειες. Στην πρώτη υπεροικογένεια ανήκουν οι HDMs ειδικές για λυσίνη (Lysine-Specific Histone Demethylases, LSDs) που περιλαμβάνουν τις LSD1 και LSD2. Οι πρωτεΐνες αυτές είναι αμινοξειδάσες που χρησιμοποιούν ως συμπαράγοντα το δινουκλεοτίδιο φλαβίνη-αδενίνη (Flavine-Adenine Dinucleotide, FAD) (Shi *et al.*, 2004). Στη δεύτερη υπεροικογένεια περιλαμβάνονται οι HDMs που έχουν στην καταλυτική επικράτειά τους μία περιοχή που ονομάζεται Jumonji-like domain C (JmjC). Η απομεθυλίωση μέσω αυτών των πρωτεϊνών εξαρτάται από το ακετογλουταρικό οξύ (αKG) και τα δισθενή ιόντα σιδήρου (Fe^{2+}) (Tsukada *et al.*, 2005).

Τέλος, η μεθυλίωση ενός καταλοίπου αργινίνης, όπως και με τη μεθυλίωση λυσίνης, μπορεί να οδηγήσει σε ενεργοποίηση ή καταστολή της μεταγραφής γονιδίων, ωστόσο δεν έχουν βρεθεί ακόμα τα ένζυμα που εκτελούν την αντίστροφη διαδικασία της απομεθυλίωσή τους (Kouzarides, 2007).

2.2.3 Μη Κωδικά Μόρια RNA

Τα είδη RNA διακρίνονται αρχικά σε κωδικοποιά (messenger RNAs, mRNAs), τα οποία κωδικοποιούν πρωτεϊνικά μόρια και σε μη-κωδικοποιά (non-coding RNAs, ncRNAs). Τα ncRNAs αναλύονται περαιτέρω σε αυτά που έχουν οικουμενικό ρόλο στα κύτταρα (housekeeping ncRNAs), στα οποία κατατάσσονται το μεταφορικό (transfer RNA, tRNA) και το ριβοσωμικό RNA (ribosomal RNA, rRNA), καθώς και σε αυτά που έχουν ρυθμιστικό ρόλο (regulatory ncRNAs). Στη συνέχεια, η τελευταία κατηγορία διαχωρίζεται με βάση τον αριθμό των νουκλεοτιδίων σε μακρά μη-κωδικά μόρια RNA (long non-coding RNAs, lncRNAs), τα οποία είναι μόρια RNA που

αποτελούνται από ≥ 200 νουκλεοτίδια και σε μικρά μη-κωδικά μόρια RNA (small non-coding RNAs, small ncRNAs), τα οποία αποτελούνται από < 200 νουκλεοτίδια (Εικόνα 2). Από τα μικρά μη-κωδικά μόρια RNA, αυτά που έχουν μελετηθεί περισσότερο για τον επιγενετικό τους ρόλο, είναι τα microRNAs (miRNAs).



Εικόνα 2. Κατάταξη μορίων RNA

(Inamura, 2017)

Τα miRNAs ανακαλύφθηκαν για πρώτη φορά στο είδος *Caenorhabditis elegans* το 1993 (Lee, Feinbaum and Ambros, 1993) και επτά χρόνια αργότερα ανακαλύφθηκε το πρώτο miRNA στον άνθρωπο (Roush and Slack, 2008). Έκτοτε, έχουν χαρακτηριστεί και καταχωρηθεί σε ειδική βάση δεδομένων περίπου 2,675 διαφορετικά miRNAs του ανθρώπινου οργανισμού (Saliminejad *et al.*, 2019).

Τα ώριμα miRNAs αποτελούνται από μία μονόκλωνη αλληλουχία 19 έως 22 νουκλεοτιδίων και εκτιμάται ότι ρυθμίζουν την έκφραση περίπου 30-60% των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεϊνικά μόρια (Bartel, 2004; Friedman *et al.*, 2009). Τα miRNA γονίδια βρίσκονται σε όλη την έκταση του γονιδιώματος. Η θέση τους μπορεί να είναι ενδιάμεσα από γονίδια που παράγουν πρωτεΐνες, και έτσι να φέρουν δικούς τους υποκινητές και να μεταγράφονται ανεξάρτητα, ή μπορεί να εντοπίζονται εντός των εσώνων ή των αμετάφραστων περιοχών γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες (O'Brien *et al.*, 2018). Κάποιες αλληλουχίες miRNA μπορεί να προέρχονται από εσώνια αλληλουχιών pre-mRNA (Kalla *et al.*, 2015). Τα miRNAs αποτελούν

αρνητικούς ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης, καθώς αλληλεπιδρούν με το mRNA των γονιδίων-στόχων, κυρίως μέσω της 3' αμετάφραστης περιοχής, προκαλώντας αποδόμηση του mRNA ή καταστολή της μετάφρασής τους (O'Brien *et al.*, 2018).

Κεφάλαιο 3: Επιγενετικές Αλλαγές στην Οξεία Μυελογενή Λευχαιμία

3.1 Επιγενετικές Αλλαγές στις Αιματολογικές Κακοήθειες

Στα δύο προηγούμενα κεφάλαια παρουσιάστηκαν ξεχωριστά οι οντότητες της Οξείας Μυελογενούς Λευχαιμίας και της Επιγενετικής. Στόχος αυτού του κεφαλαίου είναι να συνδυαστούν οι παραπάνω πληροφορίες, έτσι ώστε να εξηγηθεί πώς οι επιγενετικές αλλαγές που συμβαίνουν στο γενετικό υλικό μπορεί να οδηγήσουν στη γένεση μίας κακοήθειας.

Μεθυλίωση DNA

Μία ευρέως αποδεκτή γνώμη σήμερα είναι πως ο καρκίνος θεωρείται μία «επιγενετική» ασθένεια (Gore and Weinstein, 2016), καθ' ότι σε αυτήν τη νόσο το γενετικό υλικό είναι στο σύνολό του υπομεθυλιωμένο, με κάποιες περιοχές να είναι υπερμεθυλιωμένες. Μέσω της υπερμεθυλίωσης CpG νησιδίων, εντός των οποίων συχνά βρίσκονται αλληλουχίες-υποκινητές, ζωτικής σημασίας γονίδια για την εύρυθμη λειτουργία του κυττάρου πλέον δεν μπορούν να εκφραστούν. Τέτοια γονίδια αποτελούν τα ογκοκατασταλτικά γονίδια, γονίδια που συμμετέχουν στον έλεγχο της επιδιόρθωσης του DNA και της απόπτωσης, γονίδια που διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων, καθώς και γονίδια που εκφράζουν μεταγραφικούς παράγοντες. Η μειωμένη έκφραση των παραπάνω διαταράσσει τη διαδικασία της φυσιολογικής αιμοποίησης και οδηγεί σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό ενός ή παραπάνω αιματολογικών κυτταρικών πληθυσμών (Timms *et al.*, 2016; Cruz-Rodriguez, Combata and Zabaleta, 2018).

Δεδομένου ότι η υπερμεθυλίωση των CpG νησιδίων είναι μία εκτενώς μελετημένη επιγενετική διαταραχή σε κακοήθη κύτταρα, οι μελέτες πλέον στρέφονται σε υπερμεθυλιωμένες περιοχές εκτός των CpG νησιδίων. Πρόσφατα αναγνωρίστηκαν περιοχές γενετικού υλικού με ιστοειδικά διαφορετικό πρότυπο μεθυλίωσης (Differently Methylated Regions, DMRs), οι οποίες ελέγχουν τις διεργασίες της βλαστικότητας και της διαφοροποίησης, προσελκύνοντας έτσι την προσοχή των

ερευνών στη μεθυλίωση εντός των εξωνίων και σε περιοχές που ονομάζονται «CpG island shores». Με τον τελευταίο όρο εννοούμε τις περιοχές που εκτείνονται αμφοτερόπλευρα ενός CpG νησιδίου και έχουν μήκος 2,000 βάσεων (Fong, Morison and Dawson, 2014). Οι DMRs θεωρείται ότι ελέγχουν τη γονιδιακή έκφραση με ποικίλους τρόπους, όπως με τη ρύθμιση της μεταγραφικής επιμήκυνσης, τον καθορισμό εναλλακτικών poly-A τόπων, την επιλογή διαφορετικών υποκινητών με βάση τους διαφορετικούς ιστούς, καθώς και τη ρύθμιση του εναλλακτικού ματίσματος του pre-mRNA (Lorincz *et al.*, 2004; Wood *et al.*, 2008; Maunakea *et al.*, 2010, 2013). Ιδιαίτερα στα CpG island shores των κακοήθων κυττάρων, έχει παρατηρηθεί διαφορετικό πρότυπο μεθυλίωσης που πιθανόν να επηρεάζει την έκφραση γονιδίων, προσδίδοντας έτσι ένα πλεονέκτημα επιβίωσης (Timp and Feinberg, 2013; Fong, Morison and Dawson, 2014).

Τροποποιήσεις Ιστονών

Επιπρόσθετα της μεθυλίωσης του DNA, η μετα-μεταφραστική τροποποίηση των ιστονών έχει συσχετισθεί με την εμφάνιση οξειών λευχαιμιών. Σε ένα πρώτο επίπεδο, μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις όπως η μεθυλίωση, η ακετυλίωση, η φωσφορυλίωση και η ουβικουιτίνωση των ιστονών έχουν κομβικό ρόλο στην αναδιοργάνωση της χρωματίνης και τη σταθερότητα της δομής της, κατ' επέκταση και στην πρόσδεση ενζύμων σε αυτή. Στα καρκινικά κύτταρα παρατηρούνται συχνότερα τροποποιήσεις ιστονών που οδηγούν σε κλειστή δομή χρωματίνης, όπως είναι η τριπλή μεθυλίωση της λυσίνης 9 και 27 της ιστόνης 3 (3mK9H3, 3mK27H3) και σπανιότερα τροποποιήσεις που οδηγούν σε ανοικτή και προσβάσιμη δομή χρωματίνης, όπως είναι η ακετυλίωση των ιστονών 3 και 4 (AcH3, AcH4) και η τριπλή μεθυλίωση της λυσίνης 4 της ιστόνης 3 (3mK4H3) (Agirre *et al.*, 2012). Μέσω των παραπάνω τροποποιήσεων, οι ιστόνες έχουν την ικανότητα να ρυθμίζουν κυτταρικές διεργασίες, όπως η έκφραση γονιδίων, η αντιγραφή και η επιδιόρθωση του DNA (Wouters and Delwel, 2016a; Cruz-Rodriguez, Combata and Zabaleta, 2018).

Σε επόμενο επίπεδο, μία συγκεκριμένη τροποποίηση μπορεί να επηρεάσει τη δημιουργία, αναίρεση ή ερμηνεία μίας διαφορετικής τροποποίησης σε κάποιον απομακρυσμένο τόπο. Αυτό μπορεί να συμβεί εμποδίζοντας την πρόσδεση μορίων-στόχων, δημιουργώντας ανταγωνισμό για τη σύνδεση σε μόρια-στόχους ή ακόμα και δρώντας συνεργικά για την προσέλκυση ειδικών παραγόντων (Bannister and Kouzarides, 2011; Fong, Morison and Dawson, 2014).

MiRNAs

Τα miRNAs εμπλέκονται σε πλήθος βιολογικών διεργασιών και πολλές μελέτες έχουν δείξει διαταραχή της έκφρασή τους σε ανθρώπινους όγκους και αιματολογικές κακοήθειες (Agirre *et al.*, 2012). Η πρώτη ένδειξη της εμπλοκής τους στον ανθρώπινο καρκίνο αναφέρθηκε από τον Calin *et al.* (Calin *et al.*, 2002) στη Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία Β-κυττάρων, όπου φάνηκε πως το 65% των ασθενών αυτών είχε έλλειψη στη χρωμοσωμική περιοχή 13q14. Σε αυτήν την περιοχή εδράζουν τα γονίδια των miR-15a και miR-16-1, τα οποία εμφάνισαν μειωμένη έκφραση στην εν λόγω αιματολογική κακοήθεια (Agirre *et al.*, 2012). Σε μία άλλη μελέτη παρατηρήθηκε ότι το προφίλ περίπου 200 γονιδίων που κωδικοποιούν miRNAs μπορεί να κατηγοριοποιήσει με σχετική ακρίβεια ανθρώπινους καρκίνους, σε αντιπαράθεση με το προφίλ περίπου 16,000 γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες (Lu *et al.*, 2005), υποδηλώνοντας έτσι ότι η έκφραση των miRNAs σε έναν όγκο φανερώνει την αναπτυξιακή του προέλευση (Agirre *et al.*, 2012). Επιπλέον, ένα πλήθος μελετών έχει δείξει ότι τα miRNAs μπορούν να αποτελούν αιτιολογικό παράγοντα της καρκινογένεσης, με βάση το εκάστοτε γονίδιο-στόχο τους, αφού μπορούν να δράσουν ως ογκογονίδια (oncomirs) όταν στοχεύουν σε ογκοκατασταλτικά γονίδια ή και ως ογκοκατασταλτικά γονίδια όταν ο στόχος τους είναι ένα ογκογονίδιο (Calin *et al.*, 2002; Lujambio *et al.*, 2007; Osada and Takahashi, 2007; Grady *et al.*, 2008; Schotte, Pieters and Den Boer, 2012).

Παρά τον μεγάλο αριθμό γονιδίων miRNAs που έχουν ανακαλυφθεί και την εκτενή μελέτη του ρόλου τους στην καρκινογένεση, οι μηχανισμοί που ελέγχουν την έκφρασή τους χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης. Είναι ωστόσο κοινώς αποδεκτό, ότι συνάδουν με τους μηχανισμούς ρύθμισης των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεϊνικά μόρια, όπως είναι η μετάλλαξη του γονιδίου (Lv *et al.*, 2012), η έλλειψη ή ο διπλασιασμός του (Lv *et al.*, 2012), η μετάθεση γενετικού υλικού (Manrakis *et al.*, 2010), η απώλεια ετεροζυγωτίας (Agueli *et al.*, 2010), αλλά και οι επιγενετικοί μηχανισμοί (Bandres *et al.*, 2009).

3.2 Επιγενετικές Αλλαγές στην Οξεία Μυελογενή Λευχαιμία

Οι επιγενετικές αλλαγές του γενετικού υλικού στην ΟΜΛ αποτελούν πλέον αντικείμενο έρευνας πλήθους μελετών, καθ' ότι συνιστούν ελκυστικό θεραπευτικό στόχο λόγω της αναστρεψιμότητάς τους. Έχουν εντοπιστεί σωματικές μεταλλάξεις σε αρκετά γονίδια με επιγενετική λειτουργία, τροποποιήσεις σε αλληλουχίες ενισχυτών

που επηρεάζουν τη γονιδιακή έκφραση, καθώς και διαφορετικά πρότυπα μεθυλίωσης σε όλη την έκταση του DNA, σε κάποιες υποκατηγορίες της OML (Wouters and Delwel, 2016b).

Μεθυλίωση DNA

Μελέτες έχουν δείξει πως το 6-36% των ασθενών με OML φέρουν μεταλλάξεις του γονιδίου *DNMT3A*, ένζυμο υπεύθυνο για τη μεθυλίωση του DNA. Στους εν λόγω ασθενείς, οι μεταλλάξεις της *DNMT3A* μπορεί να είναι παρούσες και στα T-λεμφοκύτταρα, κάτι που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι συμβαίνουν αρκετά νωρίς στη διαδικασία της λευχαιμογένεσης, δηλαδή στο αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο, πριν αυτό δώσει τα δύο προγονικά κύτταρα της μυελοειδούς και της λεμφοειδούς σειράς (Shlush *et al.*, 2014). Επιπρόσθετα, μεταλλάξεις στην *DNMT3A* ανιχνεύθηκαν και σε ηλικιωμένους που δεν είχαν εκδηλώσει κάποια αιματολογική κακοήθεια, υποδεικνύοντας ότι διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην κλωνική αιμοποίηση, διαδικασία που συχνά προηγείται της εμφάνισης λευχαιμίας (Jaiswal *et al.*, 2014).

Ο μηχανισμός με τον οποίο οι μεταλλάξεις στην *DNMT3A* οδηγούν στην εμφάνιση OML δεν έχει διαλευκανθεί πλήρως, θεωρείται όμως ότι το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο επικρατεί επί του φυσιολογικού («wild-type»). Το γεγονός αυτό υποστηρίζεται από πειράματα που έχουν διεξαχθεί σε ποντίκια, όπου εισάγεται η R882H μετάλλαξη της *DNMT3A*, η οποία είναι και η πιο συχνή, και έτσι αναπτύσσουν μυελοϋπερπλαστικές διαταραχές (Celik *et al.*, 2015). Επιπλέον, κύτταρα ασθενών με OML που φέρουν τη R882H μετάλλαξη φαίνεται να έχουν μειωμένη *de novo* μεθυλίωση του γενετικού τους υλικού (Russler-Germain *et al.*, 2014). Παρ' όλα αυτά, έχει φανεί ότι η εκδήλωση της πλήρους εικόνας της OML απαιτεί επιπρόσθετες μεταλλάξεις. Για παράδειγμα, ποντίκια που εμφανίζουν OML φέρουν επιπρόσθετες μεταλλάξεις σε σηματοδοτικά μόρια όπως το *c-kit* (Celik *et al.*, 2015), ενώ στους ασθενείς με OML συνυπάρχουν μεταλλάξεις και σε άλλα γονίδια, όπως το *FLT3*. Τέλος, πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η R882H μετάλλαξη οδηγεί σε χημειοανθεκτικότητα, επειδή διαταράσσει τις ιδιότητες της αναδιαμορφωμένης χρωματίνης, αλλά και την ικανότητα του κυττάρου να αντληφθεί βλάβες στο γενετικό του υλικό (Guryanova *et al.*, 2016).

Η ενεργητική απομεθυλίωση του DNA επιτελείται από την οικογένεια πρωτεϊνών TET (Tet-Eleven Translocation 1, 2, 3) (Ficz *et al.*, 2011) και εξαρτάται από

το α-κετογλουταρικό οξύ (αKG). Μεταλλάξεις στο γονίδιο *TET2* παρατηρούνται σε ένα 8-27% (Wouters and Delwel, 2016a) και σχετίζονται με πτωχή πρόγνωση σε ασθενείς με ενδιάμεσου κινδύνου ΟΜΛ (Metzeler *et al.*, 2011). Πρόσθετα, μεταλλάξεις ανευρίσκονται συχνά και στα γονίδια της Ισοκιτρικής Αφυδρογονάσης 1 και 2 (Isocitrate Dehydrogenase 1 & 2, IDH1 & IDH2), και συναντώνται ιδιαίτερα σε ασθενείς με φυσιολογικό καρυότυπο. Οι πρωτεΐνες IDH είναι υπεύθυνες για τη μετατροπή του ισοκιτρικού σε α-κετογλουταρικό οξύ (αKG). Διαταραχές στη λειτουργία τους λόγω γονιδιακών μεταλλάξεων οδηγεί στην παραγωγή 2-υδροξυγλουταρικού οξέος (2HG), ενός μεταβολίτη που ανταγωνίζεται το αKG και ως απώτερη συνέπεια, παρεμποδίζεται η δράση της TET2. Οι μεταλλάξεις στα γονίδια *TET2* και *IDH1 & IDH2* θεωρούνται ότι παράγουν το ίδιο τελικό αποτέλεσμα («mutually exclusive mutations») (Abdel-Wahab and Levine, 2013), και ασθενείς που τις φέρουν εμφανίζουν υπερμεθυλωμένο πρότυπο κυτοσίνης σε όλο το γονιδίωμά τους (Wouters and Delwel, 2016a). Τέλος, όπως αναφέρθηκε και στην περίπτωση της DNMT3A, μεταλλάξεις του γονιδίου *TET2* έχουν ανιχνευθεί και σε υγιείς ηλικιωμένους, υποδεικνύοντας ξανά ότι διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην κλωνική αιμοποίηση, η οποία συχνά προηγείται της εκδήλωσης λευχαιμίας (Jaiswal *et al.*, 2014).

Τροποποίηση Ιστονών

Υπενθυμίζοντας, η ακετυλίωση των ιστονών αποτελεί τη μεταφορά μιας ακετυλομάδας από το ακετυλο-συνένζυμο Α (ακετυλ-CoA) σε ένα κατάλοιπο λυσίνης (K) και τα ένζυμα που την καταλύουν ονομάζονται Ακετυλοτρανσφεράσες των Ιστονών (Histone Acetyltransferases, HATs). Η αντίστροφη αντίδραση ονομάζεται αποακετυλίωση των ιστονών και τα υπεύθυνα ένζυμα ονομάζονται Αποακετυλάσες των Ιστονών (Histone Deacetylases, HDACs) (Kouzarides, 2007). Η ακετυλίωση της λυσίνης οδηγεί σε ανοιχτή διαμόρφωση της χρωματίνης και η αποακετυλίωση σε κλειστή διαμόρφωση αυτής.

Λίγες μεταλλάξεις έχουν βρεθεί που να αφορούν τις HATs ή τις HDACs, ενώ υπάρχουν κάποιες αναφορές για σποραδικές μεταθέσεις στα γονίδια των HATs που έχουν ανιχνευθεί σε μυελικές κακοήθειες (Wouters and Delwel, 2016a). Υπάρχουν ωστόσο στοιχεία, ότι κάποιες μυελικές ογκοπρωτεΐνες, όπως οι EVI1 και PML-RARA, αλληλεπιδρούν με άλλες πρωτεΐνες και συμπλέγματα που προσελκύουν HDACs. Ως απόρροια, παρατηρείται αποακετυλίωση της λυσίνης και αναδιαμόρφωση της

χρωματίνης κοντά σε κομβικά σημεία όπου προσδένονται μεταγραφικοί παράγοντες, επηρεάζοντας έτσι την έκφραση των γονιδίων-στόχων (Villa *et al.*, 2006; Spensberger *et al.*, 2008; Santoro *et al.*, 2013).

Στην ΟΜΛ, οι KMTs που υπόκεινται σε μεταθέσεις περιλαμβάνουν την πρωτεΐνη MLL (Mixed-Lineage Leukemia), ή αλλιώς KMT2A και μέλη των Polycomb Repressor Complexes (PRCs). Η πρωτεΐνη MLL ανήκει στις KMTs που φέρουν μία περιοχή με καταλυτική ενεργότητα που ονομάζεται SET περιοχή (SET domain), μεθυλιώνει την H3K4 και οδηγεί σε ενεργοποίηση της έκφρασης. Έχει βρεθεί ότι εμπλέκεται σε μεταθέσεις σε ένα ποσοστό 5-10% σε ασθενείς με ΟΜΛ (Krivtsov and Armstrong, 2007), ενώ μερικός διπλασιασμός του γονιδίου έχει βρεθεί σε ένα 5-7% ασθενών που αναπτύσσουν την κακοήθεια de novo. Από τις παραπάνω μεταθέσεις προκύπτουν πρωτεΐνες σύμπτυξης, οι οποίες δε φέρουν τη SET περιοχή. Μία από τις πρωτεΐνες με τις οποίες συντήκεται η MLL είναι η DOT1L, μία KMT που στοχεύει τη H3K79, και ως αποτέλεσμα, σε αυτούς τους τύπους της λευχαιμίας παρατηρείται συνεχόμενη ενεργοποίηση έκφρασης γονιδίων και ιδιαίτερα των γονιδίων ομοιοακολουθίας (homeobox genes) (Bernt *et al.*, 2011; Wouters and Delwel, 2016a).

Τα Polycomb Repressor Complexes (PRCs) ορίζονται ως μία ομάδα γονιδίων υπεύθυνα για τη διατήρηση της γονιδιακής έκφρασης σε ποικίλα είδη κυττάρων, κατά την πρόιμη ανάπτυξη, μέσω ρύθμισης της διαμόρφωσης της χρωματίνης (Margueron and Reinberg, 2011). Συγκεκριμένα, στα θηλαστικά υπάρχουν δύο ομάδες PRCs, τα PRC1 και PRC2. Το PRC1 είναι υπεύθυνο για τη συμπύκνωση της χρωματίνης και την μονο-ουβικουιλίνωση της ιστόνης H2A. Το PRC2 εμπλέκεται σε πλήθος βιολογικών διεργασιών, όπως είναι η συμπύκνωση της χρωματίνης, η μεθυλίωση της H3K27, η διαφοροποίηση, ο πολλαπλασιασμός και η πλαστικότητα των βλαστικών κυττάρων (Margueron and Reinberg, 2011). Η πρωτεΐνη EZH2 είναι μία μεθυλοτρανσφεράση, μέλος του PRC2, που καταλύει τη δι- και τρι-μεθυλίωση της H3K27, οδηγώντας σε καταστολή της έκφρασης γονιδίων-στόχων και έχει βρεθεί διαταραγμένη αυξημένη λειτουργία της σε πολλά είδη καρκίνων. Στις μυελικές κακοήθειες, ωστόσο, μεταλλάξεις της EZH2 οδηγούν σε απώλεια της λειτουργίας της, μια διαφορά που είναι ακόμα υπό διερεύνηση (Ernst *et al.*, 2010). Οι πρωτεΐνες ASXL1, JARID2 και SUZ12 αποτελούν επίσης μέλη του PRC2 και μεταλλάξεις τους, που έχουν ως αποτέλεσμα την αδρανοποίηση του συμπλόκου, έχουν συσχετισθεί με την ΟΜΛ. Αναλυτικότερα, η ASXL1 έχει κομβικό ρόλο στη σύνθεση του PRC2, και όπως συμβαίνει και με την

EZH2, μεταλλάξεις που οδηγούν σε απώλεια λειτουργίας τους, εμποδίζουν τη μεθυλίωση της H3K27 (Wouters and Delwel, 2016b). Η JARID2 έχει παρόμοιο ρόλο με την ASXL1 στη σύνθεση του συμπλόκου και τη στόχευση συγκεκριμένων γονιδίων. Μεταλλάξεις αυτής της πρωτεΐνης έχουν αναφερθεί σε ασθενείς με μετατροπή κάποιας χρόνιας μυελικής κακοήθειας σε οξεία λευχαιμία (Puda *et al.*, 2012). Τέλος, μεταλλάξεις της SUZ12 έχουν παρατηρηθεί σε μετατροπή συγγενούς ουδετεροπενίας σε OMA (Beekman *et al.*, 2012). Συμπερασματικά, η πλειοψηφία των μεταλλάξεων που επισυμβαίνουν σε μέλη του PRC2, έχουν ως αποτέλεσμα την απώλεια μεθυλίωσης της H3K27 και κατ' επέκταση την αυξημένη έκφραση των γονιδίων-στόχων (Wouters and Delwel, 2016b).

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, το PRC1 είναι υπεύθυνο για τη συμπύκνωση της χρωματίνης και την μονο-ουβικουιτίνωση της ιστόνης H2A. Από αυτό το σύμπλεγμα, το γονίδιο που έχει συσχετισθεί με την OMA ονομάζεται BMI-1 και συγκεκριμένα η αυξημένη έκφρασή του σχετίζεται με πτωχή πρόγνωση τόσο στην εν λόγω κακοήθεια, όσο και στα Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα (Myelodysplastic Syndromes, MDS) (Mihara *et al.*, 2006; Chowdhury *et al.*, 2007).

Πολλές πρωτεΐνες σύμπυξης που έχουν συσχετισθεί με την OMA μπορούν να επηρεάσουν τη λειτουργία των PRCs. Πιο συγκεκριμένα, η PML-RARA μπορεί να σχηματίσει σύμπλεγμα με μέλη του PRC2, όπως η EZH2 και η SUZ12 και να τις προσελκύσει σε συγκεκριμένους γενετικούς τόπους (Villa *et al.*, 2007), ενώ η PZLF-RARA έχει φανεί να αλληλεπιδρά με μέλη του PRC1 (Boukarabila *et al.*, 2009).

Κλείνοντας με την απομεθυλίωση των ιστονών, την αντίδραση έχουν αναλάβει οι Απομεθυλάσες των Ιστονών (HDMs ή KDMs), οι οποίες διακρίνονται σε δύο υπερικογένειες. Στην πρώτη υπερικογένεια ανήκουν οι Απομεθυλάσες των Ιστονών ειδικές για λυσίνη (Lysine-Specific Histone Demethylases, LSD) που περιλαμβάνουν τις LSD1 και LSD2 και είναι αμινοξειδάσες που χρησιμοποιούν ως συμπάραγοντα το δινουκλεοτίδιο φλαβίνη-αδενίνη (FAD) (Shi *et al.*, 2004). Στη δεύτερη υπερικογένεια περιλαμβάνονται οι Απομεθυλάσες των Ιστονών που φέρουν στην καταλυτική επικράτειά τους μία περιοχή που ονομάζεται Jumonji-like domain C (JmjC). Η απομεθυλίωση μέσω αυτών των πρωτεϊνών εξαρτάται από το α-κετογλουταρικό οξύ (αKG) και τα δισθενή ιόντα σιδήρου (Fe²⁺) (Tsukada *et al.*, 2005). Η LSD1 απομεθυλιώνει τις H3K4 και H3K9 και μπορεί να δράσει τόσο ως ενεργοποιητής, όσο

και ως καταστολέας της έκφρασης (Shi *et al.*, 2004). Η KDM5A (JARID1), μία JmjC απομεθυλάση, έχει βρεθεί να συντήκεται με την πρωτεΐνη NUP98 σε περίπου 10% των ασθενών με Οξεία Μεγακαρυοβλαστική Αναιμία (De Rooij *et al.*, 2013). Τέλος, η KDM6A (UTX) είναι επίσης JmjC απομεθυλάση, της οποίας μεταλλάξεις έχουν εντοπιστεί στην OMA (Van Haafden *et al.*, 2009; Wouters and Delwel, 2016b).

Στον Πίνακα 8 συνοψίζονται οι μεταλλάξεις και οι μεταθέσεις γονιδίων με επιγενετική λειτουργία στην OMA.

Πίνακας 8. Μεταλλάξεις και μεταθέσεις γονιδίων με επιγενετική λειτουργία στην OMA

| Gene | Epigenetic function | Type of abnormalities described (% of AML) | Remarks |
|----------------------------|---|--|--|
| DNMT3A | De novo DNA methylation | Mostly frameshifts; rare missense and nonsense mutations (6-36%) | Associated with normal karyotype; may be associated with poor prognosis |
| TET2 | Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine | Frameshift, nonsense and missense mutations (8-27%) | Mutually exclusive with IDH1/2 mutations |
| IDH1 and IDH2 | Enzymes that convert isocitrate to α-ketoglutarate (αKG), a cofactor for TET2 | Missense mutations (5-16% for IDH1; 6-19% for IDH2) | Mutually exclusive with TET2 mutations. Mutations result in production of 2-hydroxyglutarate, which inhibits TET2 function |
| CREBBP (CBP) | Histone lysine acetyltransferase | Rearrangements: fusion genes | Rare |
| KAT6A (MYST3 / MOZ) | Histone lysine acetyltransferase | Rearrangements: fusion genes | Rare |
| EP300 (p300) | Histone lysine acetyltransferase | Rearrangements: fusion genes | Rare |
| HDAC2 and HDAC3 | Histone deacetylase | Missense mutations | Rare |
| KMT2A (MLL / MLL1) | H3K4 methyltransferase | Rearrangements: fusion genes (1-10%); partial tandem duplications (4-7%) | More than 50 fusion partners reported in acute leukemias |
| EZH2 | H3K27 methyltransferase, enzymatic component of PRC2 | Mutations (2%) | |

| | | | |
|-----------------------|------------------------------------|--|--|
| NSD1 | H3K36 methyltransferase | Rearrangement involving NUP98 (2-5%) | |
| ASXL1 | Recruitment of PRC2 to target loci | Mostly frameshifts or nonsense mutations (3-25%) | More common in elderly patients; poor prognosis particularly in association with RUNX1 mutations |
| ASXL2 | Homolog of ASXL1; function unknown | Mutations (23% of AML with RUNX1-RUNX1T1) | Mutually exclusive with ASXL1 mutations |
| JARID2 | Recruitment of PRC2 to target loci | Deletion in transformation of MDS or MPN to AML | |
| SUZ12 | Member of PRC2 | Missense mutations, insertions and deletions | Sporadically mutated in progression severe congenital neutropenia to AML; deleted in transformation MDS/MPN to AML |
| KDM5A (JARID1) | Histone lysine demethylase | Rearrangement involving NUP98 | 10% of pediatric acute megakaryoblastic leukemia |
| KDM6A (UTX) | Histone lysine demethylase | Missense mutations | Rare |

(Wouters and Delwel, 2016b)

MiRNAs

Η σημαντικότητα της απορρύθμισης των miRNAs στην παθογένεση των δυσπλασιών του μυελού των οστών υπογραμμίζεται από το γεγονός ότι παραπάνω από 70% των γονιδίων τους εντοπίζεται σε γενετικούς τόπους που εμφανίζουν μεταβολές τόσο στα MDS, όσο και στην OMA (Starczynowski *et al.*, 2011).

Η συμβολή τους στην παθογένεση πιστοποιείται επιπλέον, από πλήθος πειραμάτων σε μοντέλα ζώντων ποντικών. Παραδείγματος χάριν, η διαγραφή του γονιδίου της Dicer1 στα βλαστοκύτταρα των οστών τους οδηγεί σε διαταραχή της φυσιολογικής αιμοποίησης και τελικά σε MDS και OMA (Raaijmakers *et al.*, 2010). Ακόμα ένα παράδειγμα αποτελεί η διαγραφή των miR-145 και miR146a, που εκφράζονται στα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα και βρίσκονται στον 5q γενετικό τόπο, ο οποίος συχνά έχει διαγραφεί σε μυελικές κακοήθειες. Τα εν λόγω ποντίκια εμφανίζουν ήπια ουδετεροπενία, μεγακαρυοκυτταρική δυσπλασία και τελικά μυελική κακοήθεια που οδηγεί στο θάνατό τους (Starczynowski *et al.*, 2010). Επιπρόσθετα, η

υπερέκφραση του miR-125b, το γονίδιο του οποίου εδράζεται στο χρωμόσωμα 11, φαίνεται να οδηγεί στην εκδήλωση λευχαιμίας (Bousquet *et al.*, 2010), αντικατοπτρίζοντας έναν μηχανισμό των MDS και OML που φέρουν τη μετάθεση t(2;11) (Bousquet *et al.*, 2008). Τέλος, η υπερέκφραση των miR-155 (O'Connell *et al.*, 2008) και miR-29a (Han *et al.*, 2010) στα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα των ποντικών, οδηγεί σε μυελοϋπερπλαστικές διαταραχές, οι οποίες μπορούν να εξελιχθούν σε OML (Lawrie, 2013).

Μελέτες που διεξάγονται με σκοπό να σκιαγραφήσουν το προφίλ έκφρασης των miRNAs στην OML, έχουν αποκαλύψει σημαντική διαφοροποίηση έκφρασης μεταξύ των διαφορετικών κυτταρογενετικών υποτύπων της. Αν και δεν υπάρχει πλήρης συμφωνία μεταξύ τους, τουλάχιστον δύο μελέτες έχουν υποδείξει την αύξηση της έκφρασης των miRNAs που εδράζονται στο χρωμόσωμα 14q32 στην Οξεία Προμυελοκυτταρική Λευχαιμία με t(15;17), και τη μείωση της έκφρασης του miR-133a σε ασθενείς με OML που φέρουν τη μετάθεση t(8;21) (Dixon-McIver *et al.*, 2008; Garzon, Volinia, *et al.*, 2008; Jongen-Lavrencic *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2008). Διακριτά μοτίβα έκφρασης έχουν επίσης συσχετισθεί με την τρισωμία 8, τις αμοιβαίες χρωμοσωμικές ανακατατάξεις του 11q23 που περιλαμβάνουν το MLL γονίδιο, και την OML με φυσιολογικό καρυότυπο (Garzon, Volinia, *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2008). Χαρακτηριστικά, οι μεταλλάξεις του γονιδίου *NPM1* σχετίζονται με υπερέκφραση των miR-10a, miR-10b και miR-196a, τα οποία βρίσκονται στον γενετικό τόπο των HOX γονιδίων που υπερεκφράζονται σε αυτόν τον υπότυπο της OML (Garzon, Garofalo, *et al.*, 2008; Becker *et al.*, 2010), μεταλλάξεις του γονιδίου *FLT3* σχετίζονται με υπερέκφραση του miR-155 και τέλος, μεταλλάξεις του γονιδίου *CEBPA* σχετίζονται με υπερέκφραση της οικογένειας miR-181 στην κυτταρογενετικά φυσιολογική OML (Marcucci *et al.*, 2008).

Κεφάλαιο 4: Επιγενετικές Θεραπείες στην Οξεία Μυελογενή Λευχαιμία

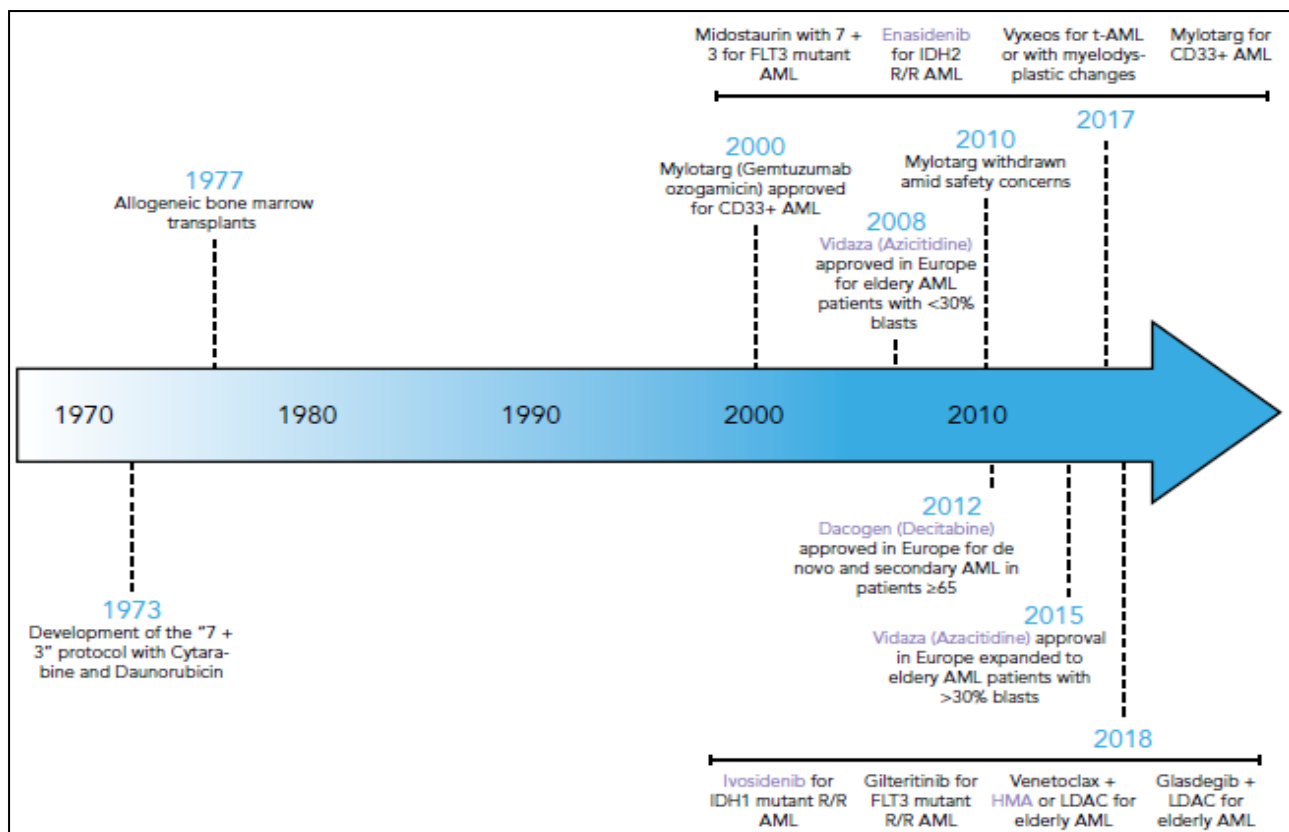
4.1 Επιγενετικά Φάρμακα

Στο τελευταίο κεφάλαιο της παρούσας διπλωματικής εργασίας κρίνεται σκόπιμο να συζητηθεί η έννοια των επιγενετικών φαρμάκων και πιο αναλυτικά, να παρουσιαστούν οι φαρμακευτικές επιλογές που έχουν εγκριθεί ή βρίσκονται σε φάση

κλινικής δοκιμής, και χρησιμοποιούνται ως μέρος της φαρμακευτικής θεραπείας της ΟΜΛ.

Όπως ήδη επισημάνθηκε, οι επιγενετικές αλλαγές έχουν το προνόμιο της αναστρεψιμότητας. Επάνω σε αυτήν την ιδέα στηρίχθηκε η παραγωγή των επιγενετικών φαρμάκων, με στόχο την αναίρεση των επιγενετικών αλλαγών και κατ' επέκταση της καρκινογόνου δράσης τους στον οργανισμό. Πιο συγκεκριμένα, τα επιγενετικά φάρμακα αποτελούν χημικές ουσίες, οι οποίες τροποποιούν τη δομή της χρωματίνης αναιρώντας μεταφραστικές και μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις. Οι μηχανισμοί με τους οποίους δρουν είναι μέσω ρύθμισης των ενζύμων που επιτελούν εξ αρχής τις ανωτέρω αλλαγές, καθώς και μέσω επανενεργοποίησης ογκοκατασταλτικών γονιδίων και γονιδίων επιδιόρθωσης DNA, τα οποία έχουν επιγενετικά ανασταλεί (Miranda Furtado *et al.*, 2019).

Τα τελευταία χρόνια ένας σημαντικός αριθμός επιγενετικών φαρμάκων έχει πάρει έγκριση από τον Αμερικάνικο Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) και τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA) και βρίσκονται ήδη σε χρήση για τη θεραπεία κακοηθειών. Επιπλέον, μεγάλος αριθμός χημικών ουσιών βρίσκεται συνεχώς υπό αξιολόγηση σε προ-κλινική και κλινική φάση, με στόχο την ανάπτυξη νεότερων και αποτελεσματικότερων επιγενετικών φαρμάκων (Rodríguez-Paredes and Esteller, 2011).



Εικόνα 3. Χρονολογική απεικόνιση των εγκεκριμένων θεραπειών της ΟΜΛ. Οι απεικονιζόμενες με μωβ απόχρωση αποτελούν τις επιγενετικές θεραπείες.

(Fennell, Bell and Dawson, 2019)

Τα επιγενετικά φάρμακα που έχουμε στη διάθεσή μας αφορούν ένα πλήθος ασθενών, όπως για παράδειγμα ηλικιωμένους με πρωτοδιαγνωσθείσα ΟΜΛ που δεν μπορούν να λάβουν εντατική χημειοθεραπεία, ασθενείς με εμμένουσα ή υποτροπιάζουσα ΟΜΛ, καθώς και ασθενείς με δευτεροπαθή ΟΜΛ, δηλαδή προερχόμενη από κάποια άλλη αιματολογική διαταραχή όπως το μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο (Myelodysplastic Syndrome, MDS) ή οφειλόμενη σε προηγούμενη χημειοθεραπεία ή ακτινοβολία (Fennell, Bell and Dawson, 2019).

Έχει παρατηρηθεί ότι η πρόγνωση των ηλικιωμένων ασθενών με ΟΜΛ είναι δυσμενέστερη αυτής των νεότερων ασθενών, με την πενταετή συνολική επιβίωση να είναι <25% για την ηλικιακή ομάδα 60-65 ετών και <10% για την ηλικιακή ομάδα >70 ετών, σε αντιδιαστολή με τους ασθενείς <50 ετών, των οποίων η πενταετής συνολική επιβίωση κυμαίνεται περίπου στο 50% (Juliusson *et al.*, 2009). Μερικοί από τους παράγοντες που επηρεάζουν την πρόγνωση των ηλικιωμένων ασθενών είναι η πτωχή κατάσταση ικανότητας (Poor Performance Status) και η αυξημένη συχνότητα

δυσμενούς κυτταρογενετικού προφίλ κατά τη διάγνωση, τα χαμηλότερα ποσοστά ύφεσης και τα αυξημένα ποσοστά θανάτου μετά από εντατική χημειοθεραπεία και τέλος η αυξημένη επίπτωση δευτεροπαθούς ΟΜΛ (Juliusson *et al.*, 2009; Webster and Pratz, 2018). Ως αποτέλεσμα, οι κλινικοί ιατροί καλούνται να επιλέξουν καλύτερα ανεκτά, αλλά λιγότερο αποτελεσματικά θεραπευτικά σχήματα (Webster and Pratz, 2018).

4.2 Αναστολείς DNA μεθυλοτρανσφερασών (DNMTi)

Όπως απεικονίζεται και στην Εικόνα 3, η πρώτη κατηγορία επιγενετικών φαρμάκων που αναπτύχθηκε αφορά τη μεθυλίωση του DNA και την αναστροφή της. Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν δύο νουκλεοσιδικά ανάλογα, χημικά τροποποιημένα ώστε να αντικαθιστούν το πυριμιδινικό ανάλογο της κυτοσίνης στο DNA και RNA. Οι ουσίες αυτές ονομάζονται 5-αζακυτιδίνη (5-azaC ή azacytidine, AZA) και 5-αζα-2'-δεοξυκυτιδίνη (5-aza-dC ή decitabine, DAC). Η διαφορά μεταξύ των δύο είναι ότι η πρώτη ενσωματώνεται στο DNA και στο RNA, ενώ η δεύτερη μόνο στο DNA (Fennell, Bell and Dawson, 2019; Ganesan *et al.*, 2019). Μετά την ενσωμάτωσή τους στο γενετικό υλικό θεωρείται πως εμποδίζουν τη φυσιολογική δράση των DNMTs (Fennell, Bell and Dawson, 2019).

Παρ' ότι τα παραπάνω φάρμακα βρίσκονται σε χρήση εδώ και δεκαετίες και η δράση τους συνεχώς μελετάται με νέες κλινικές δοκιμές, ο ακριβής μηχανισμός τους δεν έχει διαλευκανθεί και τα αποτελέσματα δεν είναι πάντα αναμενόμενα σε όλες τις κατηγορίες ασθενών. Ο βασικός μηχανισμός δράσης τους θεωρούνταν ότι είναι η επανενεργοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων που είχαν ανασταλεί εξαιτίας της υπερμεθυλίωσής τους (Issa, Kantarjian and Kirkpatrick, 2005). Έτσι, ασθενείς με μεταλλάξεις που οδηγούν σε ολική υπερμεθυλίωση του γενετικού υλικού, θα ήταν αναμενόμενο να φέρουν και τα καλύτερα αποτελέσματα, γεγονός που δεν έχει πιστοποιηθεί, εκτός από κάποιες εξαιρέσεις ασθενών που φέρουν μεταλλάξεις στο γονίδιο *TET2* (Bejar *et al.*, 2014).

4.2.1 Μοριακά Χαρακτηριστικά των DNMTi

Τα AZA και DAC όταν χορηγούνται ως προ-φάρμακα ενδοφλέβια, έχουν χρόνο ημίσειας ζωής στην κυκλοφορία περίπου 30 λεπτά. Και για τα δύο, ο χρόνος κάθαρσης και αποβολής ξεπερνάει το ρυθμό της νεφρικής λειτουργίας, κι έτσι θεωρείται ότι χρησιμοποιούνται και άλλες οδοί για την απομάκρυνσή τους. Χαρακτηριστικά,

πιστεύεται ότι η αδρανοποίησή τους πραγματοποιείται από το ένζυμο Απαμινάση της Κυτιδίνης, η οποία εντοπίζεται στο ήπαρ και στο σπλήνα, στα κοκκιοκύτταρα, καθώς και στα κύτταρα του εντερικού επιθηλίου (Bohl, Bullinger and Rücker, 2018).

Έπειτα από τη διεξαγωγή πλήθους μελετών σχετικά με τη βέλτιστη δοσολογία και οδό χορήγησης των φαρμάκων, το επικρατές συμπέρασμα για το AZA είναι η υποδόρια χορήγηση με 75 mg/m² για διάστημα επτά (7) ημερών, που οδηγεί σε διπλάσιο χρόνο ημίσειας ζωής σε σύγκριση με την ενδοφλέβια χορήγηση. Παράλληλα, σε κλινικές δοκιμές βρίσκεται και η χορήγηση από του στόματος (per os) (Garcia-Manero *et al.*, 2011). Όσον αφορά το DAC, η per os χορήγηση προσφέρει χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα κι έτσι η επικρατούσα οδός παραμένει η ενδοφλέβια (Zhang *et al.*, 2013). Αξίζει να σημειωθεί ότι μία πρόσφατη έρευνα που μελετά τη χορήγηση DAC per os σε συνδυασμό με έναν αναστολέα της Απαμινάσης της Κυτιδίνης, έδειξε ότι ο συνδυασμός αυξάνει τη βιοδιαθεσιμότητα σε συγκρίσιμο βαθμό με την ενδοφλέβια χορήγησή του (Garcia-Manero *et al.*, 2016). Η βέλτιστη ενδοφλέβια δόση DAC μελετάται σε πολλές κλινικές μελέτες και αναμένεται ακόμα να προσδιοριστεί (Bohl, Bullinger and Rücker, 2018).

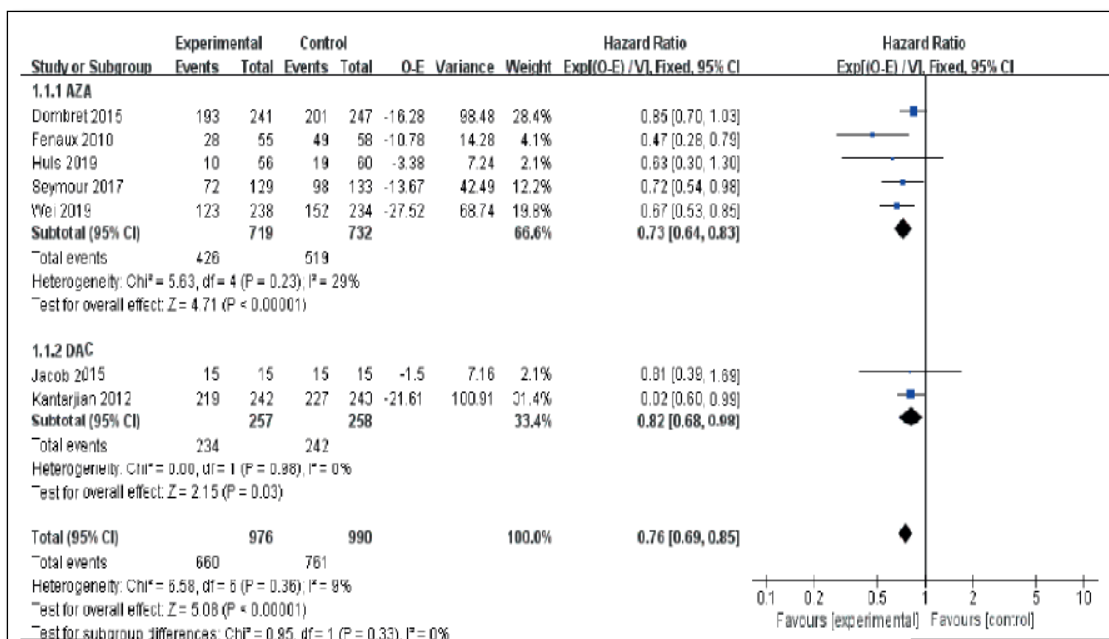
Όπως αναφέρθηκε αρχικά, τα AZA και DAC χορηγούνται ως προ-φάρμακα, επομένως η δραστηρότητά τους εξαρτάται άμεσα από την κυτταρική πρόσληψη και την ενδοκυττάρια ενεργοποίησή τους. Η πρώτη βασίζεται στους νουκλεοσιδικούς μεταφορείς hENT1 και hENT2 (οικογένεια SLC29A), τους μεταφορείς υποστρώματος (οικογένεια SLC15) και τους συγκεντρωτικούς μεταφορείς (οικογένεια SLC28) (Pastor-Anglada *et al.*, 2004; Qin *et al.*, 2009) και η δεύτερη εξαρτάται από την ενεργοποίηση μέσω της Κινάσης Ουριδίνης-Κυτιδίνης και της Δεοξυκυτιδινικής Κινάσης (Bohl, Bullinger and Rücker, 2018). Όταν ενσωματώνονται στο DNA, δημιουργούν σύμπλεγμα με την DNMT1, εμποδίζοντας την περαιτέρω δράση της και οδηγώντας τελικά σε υπομεθυλιωμένες αλυσίδες (Diesch *et al.*, 2016). Πρόσθετα, πειράματα σε καρκινικές κυτταρικές σειρές έχουν δείξει ότι το DAC δημιουργεί θραύσεις και των δύο αλυσίδων της έλικας του DNA, την επιδιόρθωση των οποίων διαμεσολαβεί η DNMT1 (Palii *et al.*, 2008). Όπως ήδη υπογραμμίστηκε, ο ενεργός μεταβολίτης του DAC ενσωματώνεται στο 100% από την DNA πολυμεράση στη θέση της κυτοσίνης, ενώ ο μεταβολίτης του AZA ενσωματώνεται στο DNA σε ποσοστό 10-20% και στο RNA σε ποσοστό 80-90%. Κατά συνέπεια, το AZA εμποδίζει τη σύνθεση

του RNA και των πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα να προωθείται η απόπτωση των κυττάρων (Hollenbach *et al.*, 2010; Aimiwu *et al.*, 2012).

4.2.2 DNMTi στην ΟΜΛ

Οι Zhang *et al.* πραγματοποίησαν μία συστηματική ανασκόπηση και μετανάλυση της βιβλιογραφίας, με στόχο τη σύγκριση των DNMTi με τα συμβατικά θεραπευτικά σχήματα ή τη χορήγηση placebo σε ηλικιωμένους ασθενείς με ΟΜΛ (Zhang *et al.*, 2021). Η συστηματική ανασκόπηση περιλάμβανε έξι (6) άρθρα και μία περίληψη, τα οποία είχαν χρόνο δημοσίευσης από το 2010 έως το 2019 και αποτελούνταν από δύο μελέτες φάσης 2 (n=292) και πέντε μελέτες φάσης 3 (n=1674) (Fenaux *et al.*, 2010; Kantarjian *et al.*, 2012; Dombret *et al.*, 2015; Jacob *et al.*, 2015; Seymour *et al.*, 2017; Huls *et al.*, 2019; Wei *et al.*, 2019). Όλες οι μελέτες συμπεριέλαβαν ασθενείς με μορφολογικά επιβεβαιωμένη ΟΜΛ, ηλικίας 55 ετών και άνω. Από το σύνολο των ασθενών, οι 719 έλαβαν AZA, οι 257 έλαβαν DAC και οι εναπομείναντες 990 έλαβαν κάποιο από τα συμβατικά σχήματα (CCR=conventional care regimens), στα οποία περιλαμβάνονταν η υποστηρικτική φροντίδα, η χαμηλή δόση κυταραβίνης (LDAC), το εντατικό σχήμα χημειοθεραπείας και το placebo.

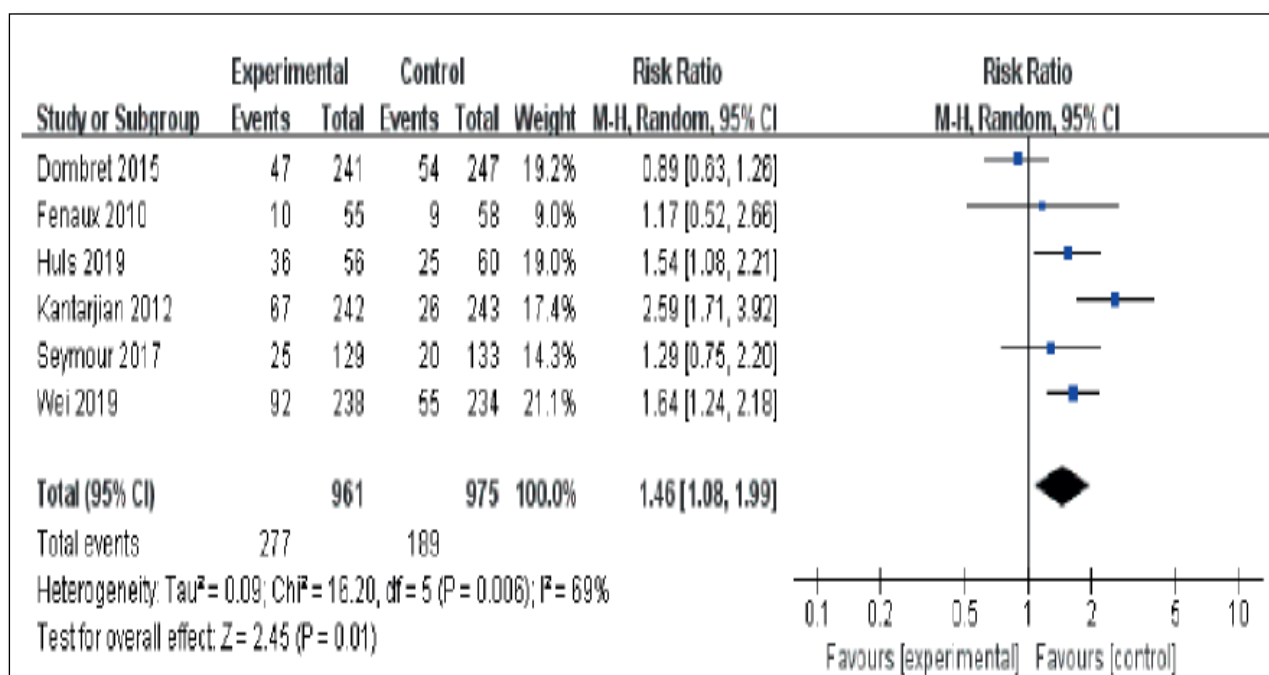
Οι επτά (7) έρευνες μελέτησαν τη συνολική επιβίωση (Overall Survival, OS) μεταξύ των ασθενών που έλαβαν DNMTi και την ομάδα ελέγχου. Το OS των ασθενών που έλαβαν AZA ήταν σημαντικά μεγαλύτερο από το OS όσων έλαβαν κάποιο συμβατικό σχήμα [HR=0.73, 95% CI (0.64-0.83), (p<0.01)], όπως αντίστοιχα ήταν και το OS της ομάδας που έλαβε DAC, συγκρινόμενο με το OS της ομάδας των συμβατικών θεραπειών [HR=0.82, 95% CI (0.68-0.98), (p=0.03)] (Εικόνα 4). Δεν υπήρχε σημαντική ετερογένεια στην ανάλυση του OS μεταξύ των μελετών για AZA (I²=29%, p=0.23) και DAC (I²=0%, p=0.98). Η συνδυαστική εκτίμηση των δεδομένων ανέδειξε μια συσχέτιση της θεραπείας με DNMTi με σημαντικά καλύτερο OS [HR=0.76, 95% CI (0.69-0.85), (p<0.01)], χωρίς αξιόλογη ετερογένεια μεταξύ των υποομάδων (I²=0%, p=0.33) (Zhang *et al.*, 2021).



Εικόνα 4. Forest plot του HR του OS με DNMTi vs. CCR ή Placebo. CCR=Conventional Care Regimens, AZA=Azacitidine, DAC=Decitabine, HR=Hazard Ratio

(Zhang *et al.*, 2021)

Πρόσθετα, συνολικά έξι (6) μελέτες μελέτησαν τον σχετικό κίνδυνο (Relative Risk, RR) της επίτευξης πλήρους ύφεσης (Complete Remission, CR), εκ των οποίων οι πέντε (5) αφορούσαν το AZA και η μία το DAC. Εκ του αποτελέσματος, φάνηκε ότι το CR των ασθενών που έλαβαν θεραπεία με DNMTi ήταν σημαντικά αυξημένο, σε σχέση με το CR των ασθενών που έλαβαν κάποιο συμβατικό σχήμα ή placebo [RR=1.46, 95% CI (1.08-1.99) (p=0.01)] (Εικόνα 5). Ωστόσο, στην ανάλυση του CR, υπήρχε σημαντική ετερογένεια μεταξύ των μελετών (I²=69%, p=0.006) (Zhang *et al.*, 2021).



Εικόνα 5. Forest plot του RR του CR με DNMTi vs. CCR ή Placebo. CCR=Conventional Care Regimens, CR=Complete Remission, RR=Risk Ratio

(Zhang *et al.*, 2021)

Στην ίδια μετανάλυση ελήφθησαν υπ' όψιν και οι παρενέργειες που εμφάνισαν οι ομάδες, με τις αντίστοιχες θεραπείες. Το συμπέρασμα που ανέκυψε ήταν ότι οι ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με DNMTi εμφάνισαν συχνότερα ουδετεροπενία, θρομβοπενία και πνευμονία σε σχέση με τους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με κάποιο συμβατικό σχήμα, ενώ η επίπτωση της αναιμίας, του ουδετεροπενικού εμυρέτου, της λευκοπενίας και της υποκαλιαμίας δεν εμφάνισε σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων (Zhang *et al.*, 2021).

Εξχωριστή αναφορά αξίζει να γίνει για έναν δεύτερης γενεάς DNMTi που ονομάζεται γουαδεσιταβίνη (guadecitabine, SGI-110) και αποτελεί ένα διουκλεοτίδιο DAC και δεοξυγουανωσίνης. Η διαφορά του οφείλεται στην αντίσταση που επιδεικνύει στην Απαμινάση της Κυτιδίνης, αυξάνοντας έτσι το χρόνο ημίσειας ζωής στην κυκλοφορία (Roboz *et al.*, 2018). Μία κλινική δοκιμή φάσης 1 παρατήρησε ότι το SGI-110 έχει παρόμοιο προφίλ ασφαλείας με το DAC με σημαντικά καλύτερο χρόνο ημίσειας ζωής (J. P. J. Issa *et al.*, 2015), ενώ μία κλινική μελέτη φάσης 2 έδειξε ότι παραπάνω από τους μισούς ηλικιωμένους ασθενείς με ΟΜΛ, οι οποίοι δεν είχαν λάβει

άλλου είδους θεραπεία, εμφάνισαν πλήρη ύφεση, παράλληλα με ένα ανεκτό προφίλ τοξικότητας, όταν έλαβαν το SGI-110 (Kantarjian *et al.*, 2017). Ωστόσο, περισσότερες κλινικές δοκιμές και κυρίως διπλές τυφλές τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες οφείλουν να διεξαχθούν, ώστε να μελετηθεί εκτενέστερα η αποτελεσματικότητα και η τοξικότητα του SGI-110 (Zhang *et al.*, 2021).

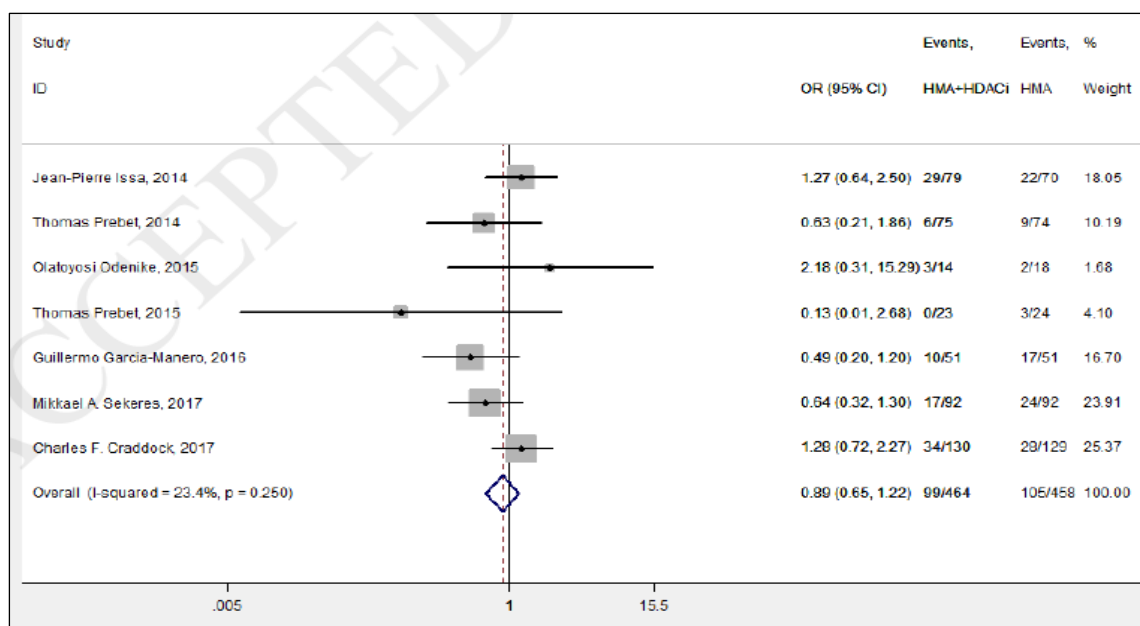
4.2.3 DNMTi και HDACi στην OMA

Μετά την ανακάλυψη των DNMTi και τα πρώτα ενθαρρυντικά θεραπευτικά αποτελέσματα, οι επιστήμονες άρχισαν να εστιάζουν στον συνδυασμό τους με άλλες κατηγορίες φαρμάκων. Ένας από τους συνδυασμούς που διερευνώνται είναι οι DNMTi μαζί με τους αναστολείς των HDACs (HDACi). Οι HDACi ρυθμίζουν την ακετυλίωση των ιστονών και άλλων πρωτεϊνών, κι έτσι μπορούν να οδηγήσουν σε επανενεργοποίηση της έκφρασης γονιδίων που έχουν κατασταλεί στα καρκινικά κύτταρα, με απώτερη συνέπεια την αναστολή του κυτταρικού κύκλου και της ανάπτυξής τους και την ευόδωση της διαφοροποίησης και της απόπτωσής τους (Minucci and Pelicci, 2006). Η αντικαρκινική τους δράση έχει εμπεριστατωθεί σε αιματολογικές κακοήθειες όπως το δερματικό T-λέμφωμα (Cutaneous T-cell Lymphoma, CTCL), το λέμφωμα Hodgkin (Hodgkin Lymphoma, HL), το μυέλωμα και οι μυελικές κακοήθειες (Khot, Dickinson and Prince, 2013).

Σε αυτό το ερευνητικό πλαίσιο, πραγματοποιήθηκε μία συστηματική ανασκόπηση και μετανάλυση από τους Pan *et al.*, με σκοπό τη σύγκριση της μονοθεραπείας με DNMTi με τη συνδυαστική θεραπεία με DNMTi – HDACi, σε ασθενείς με MDS ή OMA που δεν πληρούσαν τα κριτήρια για να λάβουν εντατική χημειοθεραπεία ή αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών. Στη μετανάλυση συμπεριελήφθησαν επτά (7) τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές με ένα σύνολο 922 ασθενών, από τους οποίους οι 458 έλαβαν DNMTi και οι 464 έλαβαν DNMTi – HDACi (Prebet *et al.*, 2014, 2016; J. P. Issa *et al.*, 2015; Odenike *et al.*, 2015; Craddock *et al.*, 2017; Garcia-Manero *et al.*, 2017; Sekeres *et al.*, 2017). Οι δύο (2) από τις μελέτες συμπεριέλαβαν μόνο ασθενείς με MDS, ενώ οι υπόλοιπες πέντε (5) συμπεριέλαβαν ασθενείς είτε με MDS είτε με OMA (Pan *et al.*, 2018).

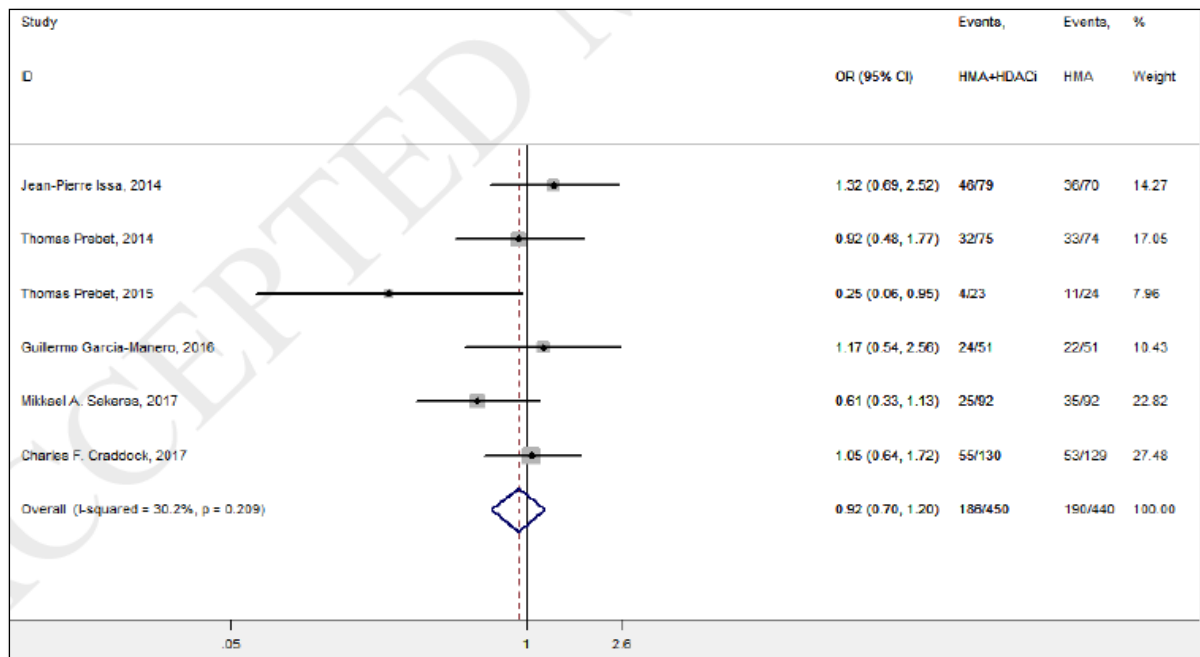
Στη μελέτη της πλήρους ύφεσης (CR) της μετα-ανάλυσης ελήφθησαν υπ' όψιν και οι επτά (7) τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές, χωρίς να υπάρχει σημαντική ετερογένεια μεταξύ των μελετών ($I^2=23.4\%$, $p=0.250$). Από το σύνολο των 922

ασθενών προέκυψε ένα μη στατιστικά σημαντικό αυξημένο CR στους ασθενείς που έλαβαν τη συνδυαστική θεραπεία, σε σχέση με τους ασθενείς που έλαβαν μονοθεραπεία με DNMTi (Εικόνα 6).



Εικόνα 6. Forest plot του OR του CR με DNMTi vs. DNMTi + HDACi, OR=Odds Ratio (Pan *et al.*, 2018)

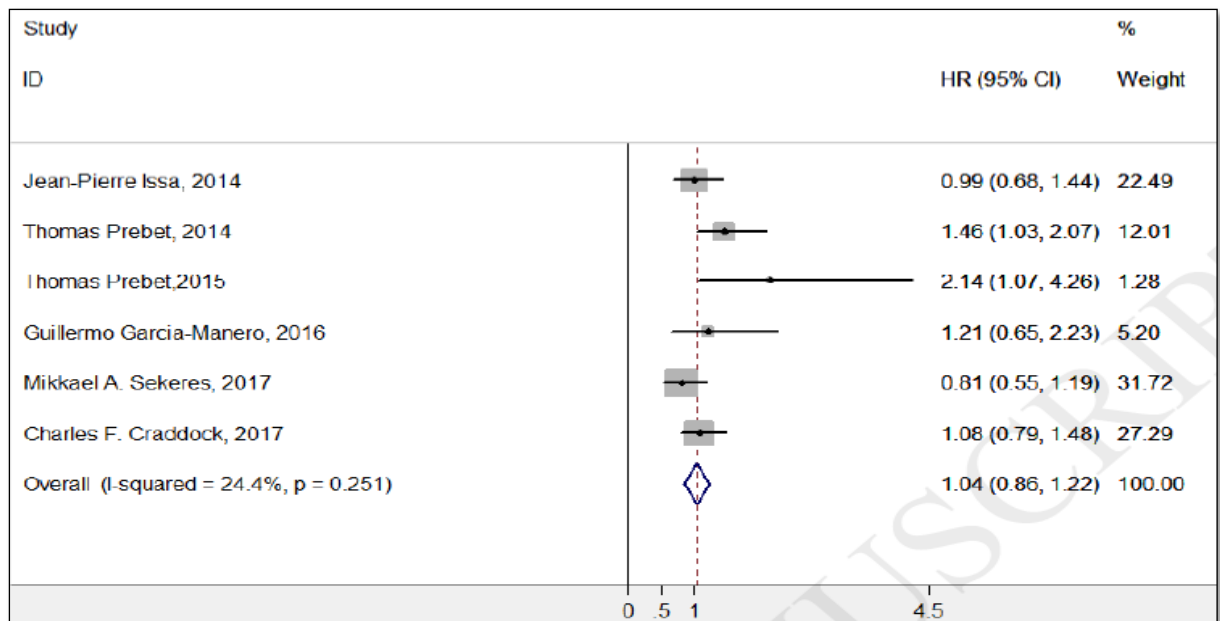
Στη μελέτη του συνολικού ποσοστού ανταπόκρισης (Overall Response Rate, ORR), συμπεριλήφθησαν έξι (6) μελέτες και συνολικά 890 ασθενείς, εκ των οποίων οι 450 έλαβαν DNMTi και οι 440 έλαβαν DNMTi + HDACi, χωρίς σημαντική ετερογένεια μεταξύ των μελετών ($I^2=30.2\%$, $p=0.209$). Το αποτέλεσμα του ORR ήταν μη στατιστικά σημαντικό μεταξύ των δύο ομάδων (Εικόνα 7).



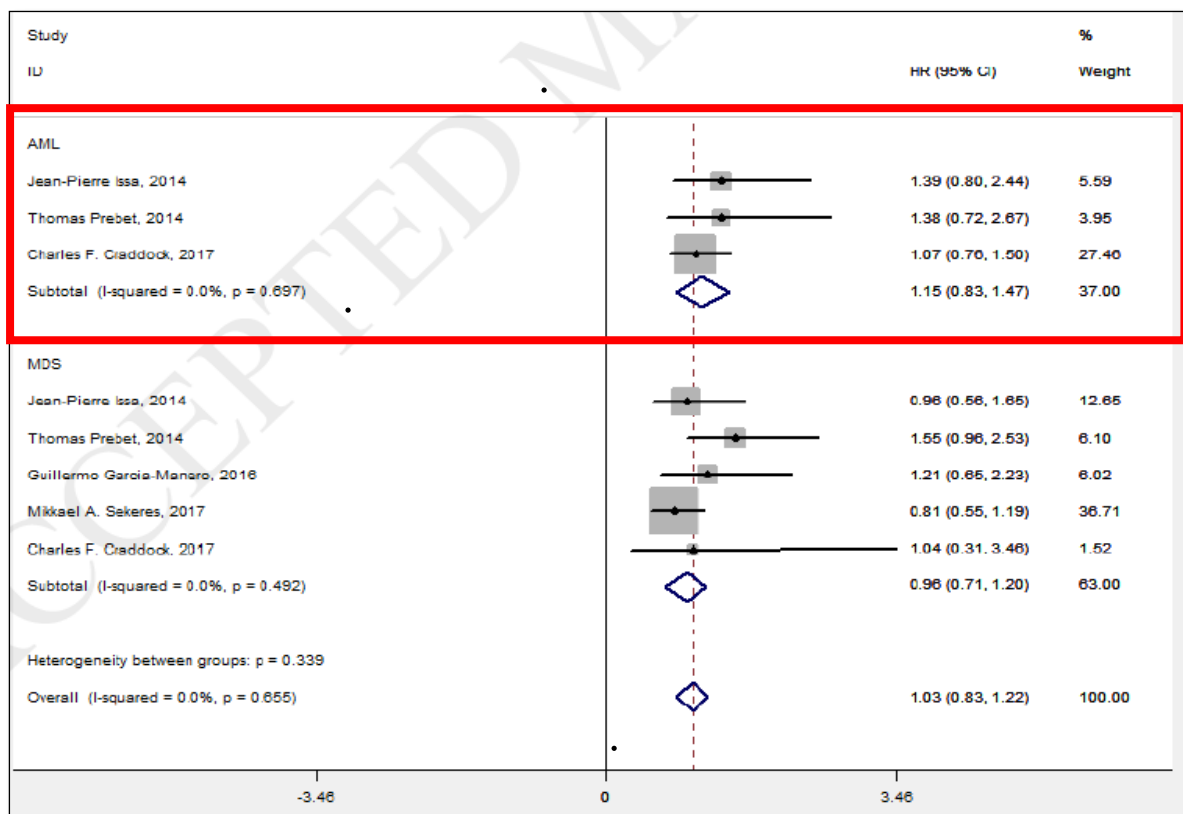
Εικόνα 7. Forest plot του OR του ORR με DNMTi vs. DNMTi – HDACi , OR=Odds Ratio

(Pan *et al.*, 2018)

Αντίστοιχα στη μελέτη της συνολικής επιβίωσης (OS), συμπεριελήφθησαν έξι (6) μελέτες και συνολικά 890 ασθενείς (οι 450 έλαβαν DNMTi και οι 440 έλαβαν DNMTi – HDACi), χωρίς σημαντική ετερογένεια μεταξύ των ερευνών ($I^2=24.4\%$, $p=0.25$). Και σε αυτήν την περίπτωση το HR της ομάδας που έλαβε συνδυαστική θεραπεία, σε σύγκριση με την ομάδα της μονοθεραπείας βρέθηκε να είναι μη στατιστικά σημαντικό (Εικόνα 8). Επιπλέον, η μετανάλυση θέλοντας να λάβει υπ' όψιν την ετερογένεια μεταξύ των δύο ασθενειών, πραγματοποίησε ξεχωριστές αναλύσεις για τους ασθενείς με MDS και τους ασθενείς με OML. Στην ομάδα της OML, οι ασθενείς που έλαβαν μονοθεραπεία εμφάνισαν μεγαλύτερο OS από τους ασθενείς που έλαβαν συνδυαστική θεραπεία, ωστόσο και αυτό το αποτέλεσμα ήταν μη στατιστικά σημαντικό (Εικόνα 9).



Εικόνα 8. Forest plot του HR του OS με DNMTi vs DNMTi + HDACi, HR=Hazard Ratio (Pan *et al.*, 2018)



Εικόνα 9. Forest plot του HR του OS με DNMTi vs DNMTi + HDACi, HR=Hazard Ratio (Pan *et al.*, 2018)

Όσον αφορά την ασφάλεια μεταξύ των δύο θεραπευτικών επιλογών, η πιο κοινή ανεπιθύμητη ενέργεια για όλους τους ασθενείς ήταν η μυελοκαταστολή. Πρόσθετα, και οι επτά μελέτες αξιολόγησαν τις ανεπιθύμητες ενέργειες $\geq 3^{\text{ου}}$ βαθμού αιματολογικής φύσεως, όπως είναι η αναιμία, η ουδετεροπενία και η θρομβοπενία και δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της εν λόγω μετα-ανάλυσης έδειξαν ότι δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ασθενών που έλαβαν μονοθεραπεία με DNMTi και συνδυαστική θεραπεία με DNMTi – HDACi, όσον αφορά το CR, το ORR, τη συνολική επιβίωση και τις ανεπιθύμητες ενέργειες $\geq 3^{\text{ου}}$ βαθμού. Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί ότι δεν ελήφθησαν υπ' όψιν δεδομένα από τον καρύτυπο και το γενετικό προφίλ της ασθένειας των ασθενών (Pan *et al.*, 2018).

4.2.4 DNMTi και Venetoclax στην OMA

Άλλος ένας φαρμακευτικός συνδυασμός που κερδίζει συνεχώς έδαφος είναι ο DNMTi με το Venetoclax (VEN), έναν εκλεκτικό αναστολέα της πρωτεΐνης Bcl-2, που χορηγείται από του στόματος. Πιο αναλυτικά, η πρωτεΐνη Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) ανήκει στην ευρύτερη οικογένεια των Bcl-2 πρωτεϊνών, οι οποίες κατέχουν κομβικό ρόλο στο μονοπάτι της απόπτωσης, μέσω μεταποίησης της διαπερατότητας στη μιτοχονδριακή μεμβράνη του κυττάρου (Bhola and Letai, 2016). Έχει βρεθεί πως στην OMA, η Bcl-2 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην επιβίωση των λευχαιμικών βλαστικών κυττάρων και η αναστολή της έχει ως αποτέλεσμα την εξάλειψη των τελευταίων (Lagadinou *et al.*, 2013).

Ο παράγοντας VEN δοκιμάστηκε τόσο ως μονοθεραπεία, όσο και σε συνδυασμό με LDAC και με DNMTi. Στην περίπτωση της μονοθεραπείας, υπήρξε μία μέτρια θεραπευτική ανταπόκριση (Konopleva *et al.*, 2016). Στις άλλες δύο περιπτώσεις, τα αποτελέσματα της ανταπόκρισης ήταν αρκετά πιο ενθαρρυντικά, με ένα CR/CRi στο 62% όταν συνδυάστηκε με LDAC (Wei *et al.*, 2017) και CR/CRi στο 73%, όταν συνδυάστηκε με DNMTi (DiNardo *et al.*, 2019), με μέση διάρκεια της ανταπόκρισης και για τους δύο συνδυασμούς τον ένα χρόνο. Τα αποτελέσματα αυτά αφορούν ηλικιωμένο πληθυσμό που κρίθηκε ακατάλληλος να λάβει εντατική χημειοθεραπεία, ενώ εξαιρέθηκαν και οι ασθενείς με κυτταρογενετικά ευνοϊκό προφίλ OMA. Συγκεκριμένα, ο πληθυσμός στη μελέτη VEN – LDAC είχε μέση ηλικία τα 74 έτη και ο πληθυσμός στη μελέτη VEN – DNMTi είχε μέση ηλικία τα 75 έτη. Χάριν

στα ενθαρρυντικά δεδομένα, ο συνδυασμός VEN – DNMTi ξεκίνησε να χρησιμοποιείται ανεπίσημα (off-label), τόσο ως μέρος της πρώτης γραμμής θεραπευτικής αντιμετώπισης, όσο και σε περιπτώσεις υποτροπιάζουσας ή ανθεκτικής ΟΜΛ, συμπεριλαμβανομένων των ασθενών με κακούς προγνωστικούς δείκτες, όπως είναι η μετάλλαξη στο γονίδιο TP53 (Aldoss *et al.*, 2018; DiNardo, Rausch, *et al.*, 2018).

Στη συνέχεια θα παρουσιαστούν πιο λεπτομερώς οι έρευνες, από τις οποίες αντλούνται τα σημαντικότερα δεδομένα για την αποτελεσματικότητα του συνδυασμού VEN – DNMTi. Οι πρώτες πληροφορίες λαμβάνονται από μία μη τυφλή μελέτη κλιμακούμενης δόσης φάσης 1b, στην οποία συμμετείχαν ηλικιωμένοι με μέση ηλικία τα 75 έτη, όπου δεν πληρούσαν τα κριτήρια λήψης εντατικής χημειοθεραπείας. Η μελέτη περιλάμβανε τρία διαφορετικά θεραπευτικά σκέλη, τα οποία ήταν καθημερινά VEN με DAC 20 mg/m² ενδοφλεβίως για τις μέρες 1-5 σε κύκλο 28 ημερών, καθημερινά VEN με υποδόρια ή ενδοφλέβια έγχυση AZA 75 mg/m² για τις μέρες 1-7 σε κύκλο 28 ημερών και τέλος ένα σχήμα για τη μελέτη της αποτελεσματικότητας και φαρμακοκινητικής του VEN, το οποίο περιελάμβανε VEN με DAC και ποσακοναζόλη, έναν ισχυρό αναστολέα του ενζύμου CYP3A. Η δόση για το VEN κυμαίνονταν από 400 mg έως 1200 mg. Τα πρώτα αποτελέσματα αφορούσαν 57 ασθενείς, με CR/CRi στο 61% (35/57), με τις ανεπιθύμητες ενέργειες να είναι κυρίως αιματολογικής ή λοιμώδους φύσεως (DiNardo, Pratz, *et al.*, 2018). Σε επέκταση της ίδιας μελέτης, συμμετείχαν 145 ασθενείς και η δόση του VEN προκαθορίστηκε στα 400 mg ως η βέλτιστη επιλογή για την ισορροπία ρίσκου/οφέλους. Σε αυτήν την περίπτωση, το CR/CRi υπολογίστηκε στο 68% με μέση διάρκεια 11.3 μήνες και το μέσο OS για όλους τους ασθενείς ήταν 17.5 μήνες. Στις ανεπιθύμητες ενέργειες $\geq 3^{\text{ου}}$ βαθμού περιλαμβάνονταν ο ουδετεροπενικός πυρετός (43%), η θρομβοπενία (24%), η βακτηριαμμία (8%) και η πνευμονία (13%) (DiNardo *et al.*, 2019).

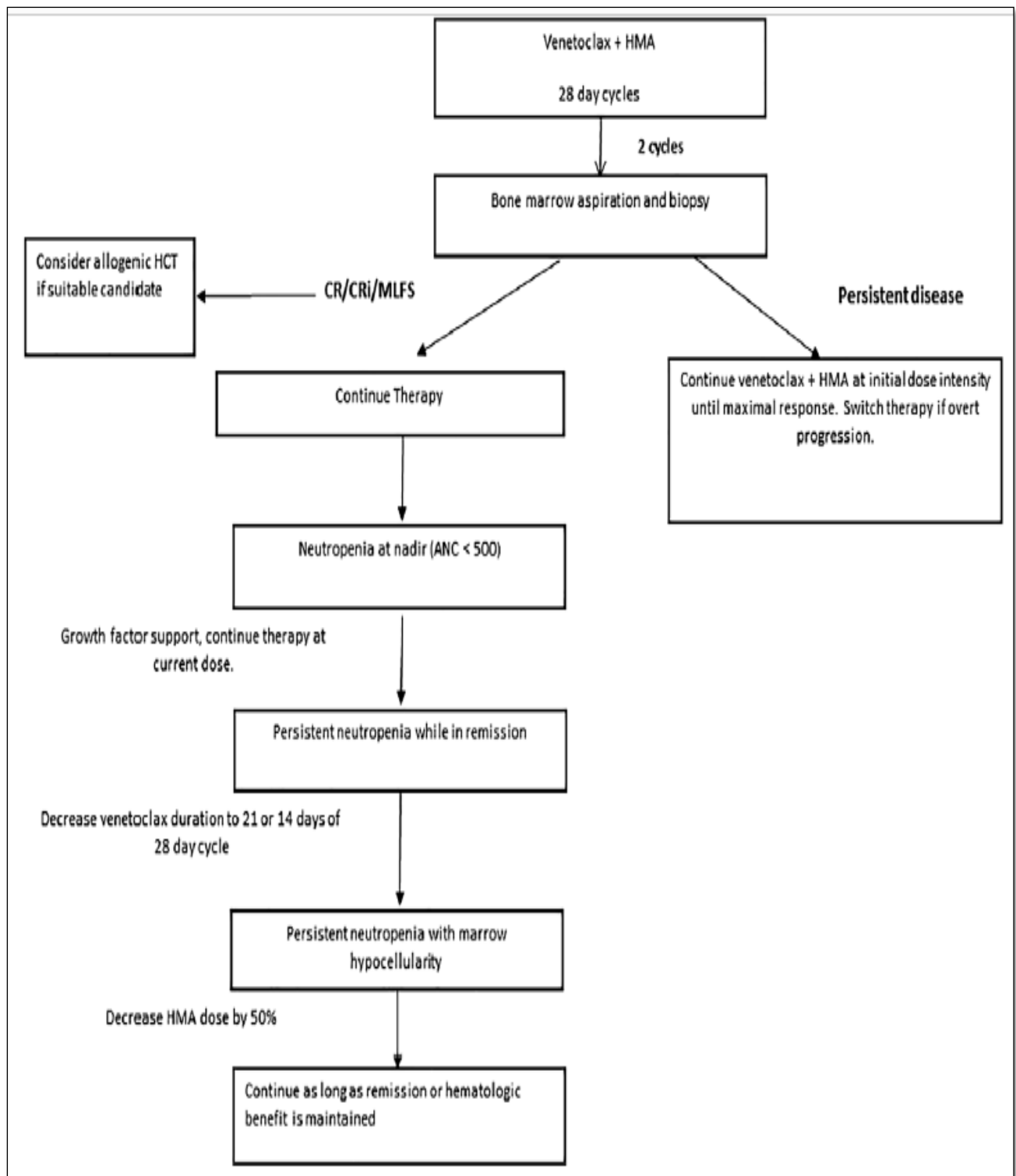
Προχωρώντας στην περίπτωση της υποτροπιάζουσας ή ανθεκτικής ΟΜΛ, τα δεδομένα αντλούνται από δύο αναδρομικές μελέτες. Η πρώτη μελέτη περιελάμβανε 33 ασθενείς που έλαβαν το θεραπευτικό σχήμα VEN – DNMTi, εκ των οποίων οι 31 έλαβαν DAC και οι δύο (2) έλαβαν AZA. Το ORR ήταν 64% (n=21), με 17 ασθενείς να επιτυγχάνουν CR/CRi και τέσσερις (4) να επιτυγχάνουν MLFS (Morphological Leukemia-free Status). Δεν εντοπίστηκε διαφορά στην ανταπόκριση μεταξύ του πενήτημερου και του δεκαήμερου σχήματος με DAC και η επιβίωση ενός έτους έφτασε

το 53%, ενώ και πάλι οι ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν αιματολογικού ή λοιμώδους χαρακτήρα (Dinardo *et al.*, 2018). Η δεύτερη μελέτη περιελάμβανε 43 ασθενείς με μυελικές κακοήθειες, εκ των οποίων οι 39 είχαν ΟΜΛ. Το 26% των ασθενών που έλαβαν τον θεραπευτικό συνδυασμό εμφάνισαν κάποιου είδους ανταπόκριση (CR/CRi/MLFS). Το χαμηλό σχετικά ποσοστό μπορεί εν μέρει να οφείλονταν στην πιο προχωρημένη φάση της νόσου. Όλοι οι ασθενείς παρουσίασαν 3^{ου} βαθμού ουδετεροπενία, ενώ το 22% εμφάνισε ανεπιθύμητες ενέργειες \geq 3^{ου} βαθμού, ιδίως πνευμονία και μυκητιασική λοίμωξη (DiNardo, Rausch, *et al.*, 2018). Τέλος, αξίζει να σημειωθεί πως μία τυχαιοποιημένη, διπλή τυφλή μελέτη φάσης 3, η οποία συγκρίνει το σχήμα AZA – VEN με το σχήμα AZA – placebo, βρίσκεται σε εξέλιξη (NCT 02993523).

Σύμφωνα με τους Mei *et al.*, το θεραπευτικό σχήμα VEN – DNMTi με κύκλο 28 ημερών (είτε με DAC 20 mg/m² για πέντε ημέρες, είτε με AZA 75 mg/m² για επτά ημέρες, και καθημερινά 400 mg VEN), μετά από κάποιους κύκλους έχει ως αποτέλεσμα την πανκυτταροπενία και ιδίως την ουδετεροπενία, ακόμα και στους ασθενείς που επιτυγχάνουν πλήρη ύφεση χωρίς υπολειπόμενη νόσο. Αυτή η ανεπιθύμητη ενέργεια θεωρείται ότι οφείλεται κυρίως στον παράγοντα VEN, καθ' ότι παρατηρείται πιο συχνά στους ασθενείς που λαμβάνουν τον συνδυασμό, σε σχέση με όσους λαμβάνουν μονοθεραπεία με DNMTi. Επιπλέον, παρατηρείται σε ποσοστό 40% στους ασθενείς με Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία, για τους οποίους ο VEN έχει σημαντική θέση στη θεραπευτική προσέγγιση, ως μονοθεραπεία (Davids *et al.*, 2018). Η αρχική αντιμετώπιση της σοβαρής ουδετεροπενίας (ANC <500/μL) είναι η χορήγηση αυξητικού παράγοντα των λευκών αιμοσφαιρίων (Granulocyte Colony-Stimulating Factor, G-CSF). Σε ασθενείς που βρίσκονται σε πλήρη ύφεση, αλλά εμφανίζουν εμμένουσα ουδετεροπενία, προτείνεται η μείωση της χορήγησης VEN σε σχήμα τριών εβδομάδων, με μία εβδομάδα χωρίς χορήγηση (21/28 ημέρες του κύκλου), ή σε σχήμα δύο εβδομάδων, με δύο εβδομάδες χωρίς χορήγηση (14/28 ημέρες του κύκλου) του φαρμάκου. Αν ακόμα επιμένει και μετά την εφαρμογή των δύο παραπάνω μέτρων, τότε προτείνεται η μείωση κατά 50% της δόσης του DNMTi, με την προϋπόθεση ότι ο μυελός των οστών είναι υποκυτταρικός και δεν υπάρχουν σημεία λευχαιμίας (Mei *et al.*, 2019). Οι παραπάνω προτάσεις, ωστόσο, δεν αφορούν ασθενείς με μεγάλη ενεργότητα νόσου, στην οποία και οφείλεται η ουδετεροπενία. Για αυτούς προτείνεται η συνέχιση του κανονικού θεραπευτικού σχήματος έως ότου επιτευχθεί

ύφεση ή μειωμένη ενεργότητα νόσου. Στην Εικόνα 10 παρουσιάζεται ένας προτεινόμενος θεραπευτικός αλγόριθμος και πιθανές τροποποιήσεις στην περίπτωση εμμένουσας ουδετεροπενίας, για τον συνδυασμό VEN – DNMTi (Mei *et al.*, 2019).

Τέλος, σύμφωνα με τα σύγχρονα δεδομένα, η διακοπή της θεραπείας δε συστήνεται, ακόμα και για τους ασθενείς που επιτυγχάνουν πλήρη ύφεση χωρίς υπολειπόμενη νόσο. Αυτό προκύπτει από το γεγονός ότι ασθενείς που λαμβάνουν μονοθεραπεία με DNMTi και επιτυγχάνουν πλήρη ύφεση, θα υποτροπιάσουν μετά τη διακοπή της θεραπείας, ενώ επιπλέον ασθενείς που λαμβάνουν τον συνδυασμό VEN – DNMTi, δεν έχουν επιτύχει ακόμα ένα πλατό επιβίωσης χωρίς υποτροπή. Αξίζει να σημειωθεί πως ένα ποσοστό, ακόμα κι αν δεν εμφανίζει πλήρη ύφεση, ωφελείται από τον συνδυασμό λόγω της αιματολογικής βελτίωσης, που μεταφράζεται σε μειωμένη ανάγκη για μεταγγίσεις και βελτιωμένο αριθμό ουδετερόφιλων και αιμοπεταλίων (Mei *et al.*, 2019).



Εικόνα 10. Προτεινόμενος θεραπευτικός αλγόριθμος για τη δόσολογία και παρακολούθηση του συνδυασμού VEN – DNMTi, σε περίπτωση ουδετεροπενίας

(Mei *et al.*, 2019)

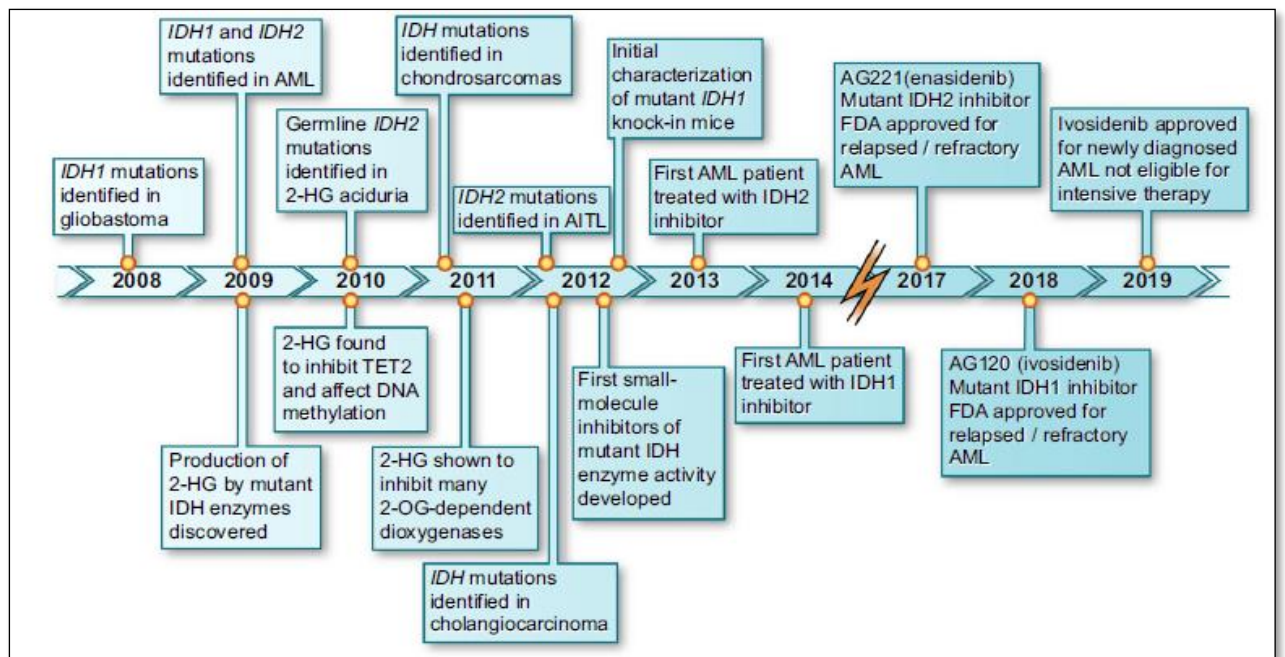
4.3 Αναστολείς Ισοκιτρικής Αφυδρογονάσης (IDH Inhibitors)

Οι μεταλλάξεις στα γονίδια *IDH1* και *IDH2* στην ΟΜΑ ανιχνεύθηκαν για πρώτη φορά το 2008 (Mardis *et al.*, 2009) και πλέον παρατηρούνται σε ποσοστό 8% και 12%, αντίστοιχα. Πρόσθετα, έχουν παρατηρηθεί και σε άλλες μυελικές κακοήθειες όπως το MDS και οι μυελοϋπερπλαστικές νεοπλασίες (Dinardo *et al.*, 2015; Molenaar *et al.*, 2015). Οι μεταλλάξεις στα *IDH* γονίδια συναντώνται σε συντηρημένα κατάλοιπα αργινίνης, επηρεάζοντας κατά αυτόν τον τρόπο το ενεργό κέντρο της παραγόμενης πρωτεΐνης. Κυρίως, επισυμβαίνουν στη θέση R132 για το γονίδιο *IDH1* και στη θέση R140 ή σπανιότερα την R172 για το γονίδιο *IDH2* (Ward *et al.*, 2013).

Όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενο κεφάλαιο, οι πρωτεΐνες IDH είναι υπεύθυνες για τη μετατροπή του ισοκιτρικού σε α-κετογλουταρικό (αKG), μια αντίδραση που λαμβάνει μέρος στον κύκλο του Krebs. Διαταραχές στη λειτουργία τους λόγω γονιδιακών μεταλλάξεων εμποδίζουν αυτή τη μετατροπή και οδηγούν στην παραγωγή 2-υδροξυγλουταρικού οξέος (2HG) από το αKG (Dang *et al.*, 2009; Ward *et al.*, 2010). Το 2HG δρα έπειτα σαν καρκινογόνος ογκομεταβολίτης, καθώς παίρνει τη θέση του αKG και εμποδίζει τη δράση των ενζύμων που φυσιολογικά εξαρτώνται από το τελευταίο, όπως για παράδειγμα η οικογένεια TET, με απώτερη συνέπεια έναν υπερμεθυλιωμένο φαινότυπο (Figueroa *et al.*, 2010).

Σε ένα ευρύτερο πλαίσιο, οι μεταλλάξεις της *IDH1* στην ΟΜΑ έχουν συσχετισθεί με λιγότερο ευνοϊκά αποτελέσματα. Αντίθετα, οι μεταλλάξεις της *IDH2* και ιδίως του καταλοίπου R172, έχουν συσχετισθεί με καλύτερη πρόγνωση, όταν οι ασθενείς λαμβάνουν το εντατικό χημειοθεραπευτικό σχήμα (Boissel *et al.*, 2010; Im *et al.*, 2014). Ωστόσο, η επίδραση των παραπάνω μεταλλάξεων εξαρτάται και από το υπόλοιπο κυτταρογενετικό προφίλ του ασθενούς, καθώς όταν συνυπάρχουν μεταλλάξεις του γονιδίου *NPM1*, χωρίς τη συνύπαρξη *FLT3*-ITD μεταλλάξεων, φαίνεται ότι δίνουν πολύ καλά αποτελέσματα (Patel *et al.*, 2012).

Η ανακάλυψη των IDH μεταλλάξεων την τελευταία δεκαετία οδήγησε, όπως ήταν επόμενο, στην παραγωγή μικρών μορίων – αναστολέων του 2HG, με στόχο την αποκατάσταση της μυελικής διαφοροποίησης (Wang *et al.*, 2013). Στην Εικόνα 11 απεικονίζεται ένα χρονοδιάγραμμα της ανακάλυψης των IDH μεταλλάξεων σε διάφορους τύπους καρκίνου.



Εικόνα 11. Η ανακάλυψη των IDH μεταλλάξεων στους διάφορους τύπους καρκίνου, IDH, Isocitrate Dehydrogenase; 2HG, 2-hydroxyglutarate; AML, Acute Myeloid Leukemia; TET2, Ten-Eleven Translocation-2; 2-OG, 2-oxyglutarate; AITL, Angioimmunoblastic T-cell Lymphoma

(Issa and DiNardo, 2021)

4.3.1 IDH2 στην OMA

Το Enasidenib, με την εμπορική ονομασία IDHIFA, είναι ένας εκλεκτικός αναστολέας IDH2 και χορηγείται από του στόματος. Η αποτελεσματικότητά του έχει πιστοποιηθεί τόσο *in vitro*, όσο και *in vivo*, με την αποκατάσταση των επιπέδων του 2HG και της μυελικής διαφοροποίησης σε πολλά προκλινικά μοντέλα (Yen *et al.*, 2017).

Στην πρώτη μελέτη που έγινε σε ασθενείς (AG221-001), η οποία ήταν μία μελέτη κλιμακούμενης δόσης φάσης 1/2, συμμετείχαν 345 ασθενείς με κάποια μυελική κακοήθεια, όπου είχε ανιχνευθεί μετάλλαξη του IDH2. Από αυτούς τους ασθενείς, οι 39 είχαν πρωτοδιαγνωσθείσα OMA και δεν είχαν λάβει άλλη θεραπεία. Σε αυτήν την υποομάδα, η μέση ηλικία ήταν τα 77 έτη και οι 23 ασθενείς (59%) είχαν κάποια προηγούμενη αιματολογική νόσο, όπως MDS. Από τα αποτελέσματα, ανέκυψαν ένα CR στο 18%, ένα CR/CRi στο 21%, ένα ORR στο 31%, ενώ η μέση συνολική επιβίωση ήταν 11.3 μήνες (Pollyea *et al.*, 2019). Στη συνέχεια, η προτεινόμενη δόση καθορίστηκε στα 100 mg και ξεκίνησε η δεύτερη φάση της μελέτης, στην οποία 214 ασθενείς με ανθεκτική ή υποτροπιάζουσα OMA ελάμβαναν καθημερινώς την

προτεινόμενη δόση. Σε αυτήν την ομάδα, το CR που επιτεύχθηκε ήταν 19,6%, το CRi 9% και το ORR υπολογίστηκε στο 39%. Η μέση διάρκεια του CR/CRi ήταν οκτώ μήνες. Επιπλέον, η μέση συνολική επιβίωση για όλους τους ασθενείς ήταν 8.8 μήνες, ενώ για τους ασθενείς που έπλευξαν πλήρη ύφεση ήταν 22.9 μήνες και για τους ασθενείς χωρίς πλήρη ύφεση ήταν 10.8 μήνες (Stein *et al.*, 2017).

Από την περαιτέρω ανάλυση της κοόρτης με ανθεκτική ή υποτροπιάζουσα ΟΜΛ, προέκυψε το συμπέρασμα πως ασθενείς που έφεραν κάποια επιπλέον μετάλλαξη στο μονοπάτι RAS (π.χ. NRAS, KRAS, FLT3-ITD, PTPN11) ή ασθενείς με ≥ 6 συνυπάρχουσες μεταλλάξεις, δεν είχαν τόσο καλά αποτελέσματα με το Enasidenib. Πιο συγκεκριμένα, ασθενείς με ≤ 3 μεταλλάξεις και καμία στο μονοπάτι RAS είχαν 55% πιθανότητα να έχουν κάποια ανταπόκριση στο Enasidenib με ποσοστό CR 29%, ενώ ασθενείς με ≥ 6 μεταλλάξεις είχαν ORR 31% με CR 16% (Amatangelo *et al.*, 2017).

Άλλη μία μελέτη φάσης 2 (AG221-005), μη τυφλή τυχαιοποιημένη, είχε ως σκοπό να συγκρίνει τον συνδυασμό Enasidenib – AZA, με τη μονοθεραπεία με AZA, μιας και σε προκλινικό πλαίσιο έχει δειχθεί μία συνεργική δράση των δύο ουσιών (Issa and DiNardo, 2021). Η μελέτη συμπεριέλαβε ασθενείς με πρωτοδιαγνωσθείσα ΟΜΛ, που δεν πληρούσαν τα κριτήρια για το εντατικό σχήμα χημειοθεραπείας. Συμμετείχαν συνολικά 101 ασθενείς, εκ των οποίων οι 68 έλαβαν τον συνδυασμό και οι 33 έλαβαν μονοθεραπεία. Το CR ήταν 53% για την πρώτη ομάδα και 12% για τη δεύτερη, το CR/CRi ήταν 63% και 24% αντίστοιχα, και το ORR ήταν 71% και 42% αντίστοιχα. Το μέσο διάστημα παρακολούθησης ήταν 14 μήνες, με μέσο EFS (Event-Free Survival) τους 17.2 μήνες για όσους έλαβαν τον συνδυασμό και 10.8 μήνες για όσους έλαβαν τη μονοθεραπεία, διαφορά που κρίθηκε μη στατιστικά σημαντική. Η συνολική επιβίωση ήταν 22 μήνες και στις δύο ομάδες (Dinardo *et al.*, 2020). Σε αυτό το σημείο, πρέπει να τονισθεί πως η μελέτη ήταν μη τυφλή και οι ασθενείς που έλαβαν τον συνδυασμό πραγματοποίησαν δέκα (10) κύκλους, ενώ οι ασθενείς που έλαβαν μονοθεραπεία, έξι (6) κύκλους. Επιπλέον, το 24% των ασθενών της δεύτερης ομάδας αποσύρθηκε από τη μελέτη για να λάβει Enasidenib, είτε ως επιπλέον αγωγή είτε ως μονοθεραπεία. Όλοι οι παραπάνω λόγοι μπορούν πιθανόν να εξηγούν γιατί δεν υπήρχε διαφορά στη συνολική επιβίωση μεταξύ των ομάδων (Issa and DiNardo, 2021).

Τέλος, αναφορικά με τους νεότερους ασθενείς και πρωτοδιαγνωσθείσα ΟΜΛ που δύνανται να λάβουν το κλασσικό «7+3» σχήμα, μία μελέτη φάσης 1 αξιολόγησε την προσθήκη IDH αναστολέα στην κλασσική χημειοθεραπεία (Stein *et al.*, 2021). Στη μελέτη συμμετείχαν 91 ασθενείς με μέση ηλικία τα 63 έτη και όλοι έφεραν μετάλλαξη στο γονίδιο IDH2. Από τα αποτελέσματα προέκυψε CR/CRi 74% και μέση συνολική επιβίωση 25.6 μήνες.

Μία τυχαιοποιημένη πολυκεντρική μελέτη φάσης 3 (NCT#03839771) είναι υπό αξιολόγηση και έχει ως στόχο να μελετήσει την προσθήκη Enasidenib στο χημειοθεραπευτικό σχήμα εφόδου και σταθεροποίησης, σε ασθενείς με μετάλλαξη στο γονίδιο IDH2. Επιπλέον, θα υπάρχει συνιστώσα που θα μελετήσει το Enasidenib σε θεραπεία διατήρησης (εναντίον placebo), μετά από την ολοκλήρωση της χημειοθεραπείας εφόδου ή σταθεροποίησης (+/- αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών). Τέλος, μία μελέτη που θα μελετήσει το λιποσωμικό 7+3 χημειοθεραπευτικό CPX-351 με Enasidenib, βρίσκεται σε φάση εγγραφής ασθενών (NCT03825796) (Issa and DiNardo, 2021).

4.3.2 IDH1 στην ΟΜΛ

Το Ivosidenib, με την εμπορική ονομασία TIBSOVO, είναι ο πρώτος εκλεκτικός αναστολέας IDH1, που επίσης χορηγείται από του στόματος. Η αποτελεσματικότητά του στην αναστολή του 2HG και την επαναφορά της μυελικής διαφοροποίησης έχει εμπεριστατωθεί σε προκλινικό πλαίσιο (Rohle *et al.*, 2013).

Η πρώτη μελέτη που σχεδιάστηκε για την αξιολόγησή του ήταν μελέτη φάσης 1 κλιμακούμενης δόσης (AG120-001), με σκέλος επέκτασης, στην οποία έλαβαν μέρος 258 ασθενείς με κάποια μυελική κακοήθεια και μετάλλαξη στο γονίδιο IDH1 (DiNardo, Stein, *et al.*, 2018). Οι 33 εξ' αυτών είχαν πρωτοδιαγνωσθείσα ΟΜΛ για την οποία δεν είχαν λάβει θεραπεία. Οι 26 από αυτούς (79%) είχαν δευτεροπαθή ΟΜΛ και οι 16 είχαν λάβει DNMTi ως θεραπεία για την προηγούμενη αιματολογική τους νόσο. Η μέση ηλικία των 33 ασθενών ήταν τα 77 έτη. Τα αποτελέσματα αυτής της ομάδας ήταν CR 30%, CR/CRh 42.5% και μέση συνολική επιβίωση 12.6 μήνες (Roboz *et al.*, 2020). Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, ο FDA παραχώρησε άδεια χορήγησης του Ivosidenib σε ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας, με πρωτοδιαγνωσθείσα ΟΜΛ που δε δύνανται να λάβουν το εντατικό χημειοθεραπευτικό σχήμα.

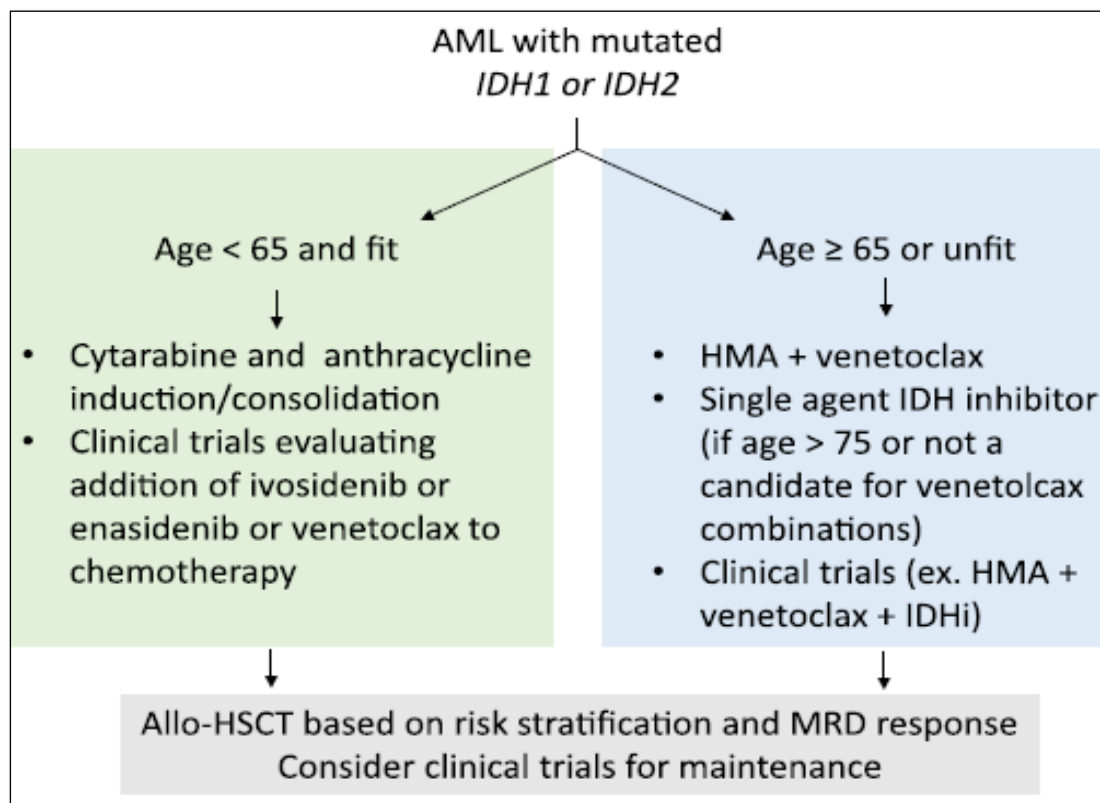
Περνώντας στην ομάδα με υποτροπιάζουσα ή ανθεκτική ΟΜΛ, 125 ασθενείς έλαβαν τη δόση των 500 mg που καθιερώθηκε από τη μελέτη κλιμακούμενης δόσης. Από τα αποτελέσματα, προέκυψε CR/CRh 30% με μέση διάρκεια 8.2 μήνες και ORR 42%. Η μέση συνολική επιβίωση ήταν 8.8 μήνες και συγκεκριμένα 18 μήνες για τους ασθενείς που επίτευξαν CR/CRh (DiNardo, Stein, *et al.*, 2018).

Μετά από περαιτέρω ανάλυση, όπως και με το Enasidenib, φάνηκε πως ασθενείς με κάποια μετάλλαξη στο μονοπάτι RAS ήταν λιγότερο πιθανό να ανταποκριθούν σε μονοθεραπεία με Ivosidenib. Ωστόσο, μία ενδιαφέρουσα συσχέτιση βρέθηκε για τους ασθενείς με JAK2 μετάλλαξη που έλαβαν μονοθεραπεία, όπου το ποσοστό CR/CRh ήταν 64% (7 από τους 11 ασθενείς που έφεραν τη μετάλλαξη JAK2-V617F) (Choe *et al.*, 2020).

Δεδομένα από έρευνες προκλινικού σταδίου ανέδειξαν ότι ο συνδυασμός AZA με Ivosidenib ενισχύει τη διαφοροποίηση και απόπτωση των καρκινογόνων κυττάρων. Αυτό οδήγησε στην έναρξη μίας κλινικής μελέτης φάσης 1b στην οποία συμμετείχαν 23 ασθενείς και έλαβαν τον θεραπευτικό συνδυασμό. Το CR ήταν 61%, το CR/CRh 70%, και η ετήσια συνολική επιβίωση 82%, με μέσο διάστημα παρακολούθησης των ασθενών 16 μήνες (DiNardo *et al.*, 2021). Έτσι, σχεδιάστηκε και τρέχει μία μελέτη φάσης 3 (AGILE), στην οποία συμμετέχουν ασθενείς με μη θεραπευθείσα ΟΜΛ, και σκοπός είναι η σύγκριση του θεραπευτικού συνδυασμού AZA με Ivosidenib με AZA και placebo (NCT 03173248). Τα δεδομένα αυτής της μελέτης θα συγκριθούν έπειτα με τον συνδυασμό AZA – VEN, που είναι και η θεραπεία που λαμβάνουν αυτοί οι ασθενείς σύμφωνα με τα τωρινά δεδομένα (Issa and DiNardo, 2021).

Τέλος, η μελέτη φάσης 1 που αναφέρθηκε στο υποκεφάλαιο του Enasidenib, συμπεριέλαβε ένα σκέλος με 60 ασθενείς με ΟΜΛ και μετάλλαξη IDH1, οι οποίοι έλαβαν το σχήμα «7+3» με Ivosidenib. Η μέση ηλικία ήταν τα 63 έτη, το CR/CRi 77% και η ετήσια συνολική επιβίωση 78% (Stein *et al.*, 2021). Μία τυχαιοποιημένη πολυκεντρική μελέτη φάσης 3 (NCT#03839771) είναι υπό αξιολόγηση και έχει ως στόχο να μελετήσει την προσθήκη Ivosidenib (εναντίον placebo) σε θεραπεία συντήρησης μετά από τη χημειοθεραπεία σταθεροποίησης (+/- αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών). Πρόσθετα, μία μελέτη που θα μελετήσει το λιποσωμικό 7+3 χημειοθεραπευτικό CPX-351 με Ivosidenib, βρίσκεται σε φάση εγγραφής ασθενών (NCT04493164) (Issa and DiNardo, 2021). Στην Εικόνα 12,

παρουσιάζεται ένας συνολικός θεραπευτικός αλγόριθμος για τους ασθενείς με ΟΜΛ και μεταλλάξεις στα γονίδια *IDH*.



Εικόνα 12. Θεραπευτικός Αλγόριθμος για ΟΜΛ με μεταλλάξεις *IDH*, *AML*, *Acute Myeloid Leukemia*; *IDH*, *Isocitrate Dehydrogenase*; *HMA*, *Hypomethylating Agent*; *IDHi*, *IDH inhibitor*; *Allo-HSCT*, *Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplant*; *MRD*, *Minimal or Measurable Residual Disease*

(Issa and DiNardo, 2021)

4.3.3 *IDH* Αναστολείς Δεύτερης Γενεάς

Σε προκλινική και κλινική αξιολόγηση βρίσκονται ήδη αναστολείς *IDH* δεύτερης γενεάς, όπως είναι το *Olutasidenib* (Caravella *et al.*, 2020). Το *Olutasidenib* είναι αναστολέας *IDH1* και χορηγείται δύο φορές ημερησίως σε δόση 150 mg. Δοκιμάζεται σε ασθενείς με ανθεκτική ή υποτροπιάζουσα ΟΜΛ και τα αποτελέσματα που έχουν προκύψει είναι *ORR* 41% (18% *CR*) όταν χορηγήθηκε σε μονοθεραπεία και *ORR* 46% (12% *CR*) όταν χορηγήθηκε σε συνδυασμό με *AZA* (Watts *ASH* 2019) (Issa and DiNardo, 2021). Επιπλέον, μία κλινική μελέτη φάσης 2 που μελετάει τη μονοθεραπεία με *Olutasidenib* σε ασθενείς με ανθεκτική ή υποτροπιάζουσα ΟΜΛ, ανακοίνωσε κάποια προκαταρκτικά αποτελέσματα σε 123 ασθενείς, τα οποία ήταν

CR/CRh 33.3% (30% CR και 3% CRh) με μέση διάρκεια απόκρισης 13.8 μήνες (Issa and DiNardo, 2021).

4.3.4 Ανεπιθύμητες Ενέργειες IDH Αναστολέων

Όπως κάθε φαρμακευτική αγωγή, έτσι και οι αναστολείς IDH έχουν συσχετισθεί με κάποιες ανεπιθύμητες ενέργειες. Χαρακτηριστικά, το Enasidenib έχει φανεί πως προκαλεί έμμεση υπερχολερυθριναιμία σε ένα 15-20% ($\geq 3^{\text{ο}}$ βαθμού στο 8%) των ασθενών, η οποία οφείλεται σε παράπλευρη αναστολή του ενζύμου UGT1A1 (Stein *et al.*, 2017). Αντίστοιχα, το Ivosidenib φαίνεται να προκαλεί $\geq 3^{\text{ο}}$ βαθμού παράταση του QTc σε 7-8% των ασθενών. Κατά συνέπεια, προτείνεται τακτική καρδιολογική παρακολούθηση με διενέργεια ηλεκτροκαρδιογραφήματος και παράλληλα, όταν είναι εφικτό, διακοπή λοιπής φαρμακευτικής αγωγής που μπορεί να προκαλεί επιπλέον παράταση του QTc (DiNardo, Stein, *et al.*, 2018).

Το σύνδρομο διαφοροποίησης (Differentiation Syndrome, DS) είναι μία σημαντική ανεπιθύμητη ενέργεια που προκύπτει και με τους δύο αναστολείς IDH. Εμφανίζεται ως εμπύρετο με αρνητικές αιμοκαλλιέργειες, αίσθημα δύσπνοιας, πνευμονικές διηθήσεις ή/και συνυπάρχουσα υποξυγοναιμία (Fathi *et al.*, 2018). Έχει παρατηρηθεί σε ποσοστό 12-15% των ασθενών που λαμβάνουν τη μονοθεραπεία, με μέσο όρο εμφάνισης τις 30 μέρες από την έναρξη της αγωγής. Μπορεί παρ' όλα αυτά να εμφανιστεί και αρκετούς μήνες αργότερα (Issa and DiNardo, 2021). Σε μια ανασκόπηση των μελετών που χρησιμοποίησαν IDH αναστολείς που πραγματοποιήθηκε από τον FDA, βρέθηκε ότι το σύνδρομο διαφοροποίησης εμφανίστηκε στο 19% των ασθενών που έλαβαν τη θεραπεία (Norsworthy *et al.*, 2020). Με την εμφάνιση της σοβαρής μορφής του συνδρόμου προτείνεται η διακοπή του IDH αναστολέα. Ωστόσο, επειδή ο χρόνος ημιζωής του φαρμάκου είναι μέρες, ως άμεση αντιμετώπισή του συστήνεται η έναρξη χορήγησης κορτιζόνης (δεξαμεθαζόνη 10 mg δύο φορές ημερησίως) και επιπλέον υποστηρικτικά μέτρα ανάλογα τη συμπτωματολογία (Fathi *et al.*, 2018; Becker and Fathi, 2020).

4.3.5 Μηχανισμοί Ανθεκτικότητας

Η ανθεκτικότητα στους IDH αναστολείς έχει εμπεριστατωθεί με παραπάνω από έναν μηχανισμούς, οι οποίοι πολλές φορές συμβαίνουν ταυτόχρονα. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, συνυπάρχουσες μεταλλάξεις στο μονοπάτι RAS έχουν συσχετισθεί τόσο με πρωτοπαθή όσο και δευτεροπαθή αντίσταση στη δράση των δύο IDH

αναστολέων (Amatangelo *et al.*, 2017; Choe *et al.*, 2020). Επιπρόσθετα, μεταλλάξεις σε μεταγραφικούς παράγοντες όπως το RUNX1, CEBPA και GATA2 ή σε ρυθμιστές χρωματίνης όπως οι DNMT3A και ASXL1, έχουν ανιχνευθεί στο ένα τρίτο των ασθενών με υποτροπή, ενώ έχουν βρεθεί και εκ νέου μεταλλάξεις που επηρεάζουν το σημείο πρόσδεσης του IDH2 (Intlekofer *et al.*, 2018; Choe *et al.*, 2020). Τέλος, ένας ακόμα μηχανισμός που προσδίδει χημειοανθεκτικότητα αποκαλείται «isoform switching», και ουσιαστικά σε ασθενείς στους οποίους έχει ανιχνευθεί αρχική μετάλλαξη στο γονίδιο *IDH1* και θεραπεύονται με τον αντίστοιχο εκλεκτικό αναστολέα, στην πορεία παρατηρείται μετάλλαξη γονίδιο *IDH2*, και αντίστροφα (Harding *et al.*, 2018). Προκειμένου να παρακαμφθούν οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας στη μονοθεραπεία, κρίνεται σκόπιμη η συνεχής διερεύνηση και αξιολόγηση φαρμακευτικών συνδυασμών.

4.3.6 Venetoclax και Μεταλλάξεις IDH

Η ωφέλιμη δράση του Venetoclax σε συνδυασμό με DNMTi για ένα συγκεκριμένο προφίλ ασθενών, ήδη αναλύθηκε σε προηγούμενο υποκεφάλαιο. Ο ίδιος συνδυασμός δοκιμάζεται και σε ασθενείς με μεταλλάξεις στα γονίδια *IDH* και τα αποτελέσματα φαίνονται αρκετά ενθαρρυντικά. Πιο συγκεκριμένα, ασθενείς με *IDH1* μετάλλαξη επίτευξαν CR/CRh 59.4%, με μέση διάρκεια απόκρισης 29.6 μήνες και μέση συνολική επιβίωση 17.5 μήνες και ασθενείς με *IDH2* μετάλλαξη επίτευξαν CR/CRh 79.6% με μέση ετήσια συνολική επιβίωση 75% (Pollyea *et al.*, 2020). Τέλος, ενεργή βρίσκεται ήδη κλινική μελέτη που μελετά τον συνδυασμό AZA – Venetoclax – IDH αναστολέας (Lachowicz *et al.*, 2020), ενώ κλινική μελέτη που θα μελετήσει το Enasidenib – Venetoclax βρίσκεται σε φάση εγγραφής ασθενών (NCT04092179) (Issa and DiNardo, 2021).

Συμπεράσματα

Η Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία είναι μία σύνθετη αιματολογική κακοήθεια που πλήττει ιδίως την τρίτη ηλικία. Η εισαγωγή της έννοιας της Επιγενετικής ως αναπόσπαστος μηχανισμός που διαταράσσεται σε αυτήν τη νόσο, αλλά και η εμμένουσα δυσμενής πρόγνωση των ασθενών με την ήδη υπάρχουσα θεραπευτική προσέγγιση, οδήγησε τους επιστήμονες προς νέες κατευθύνσεις για την παραγωγή καινούριων φαρμάκων.

Η μεθυλίωση του DNA είναι από τους πιο βασικούς επιγενετικούς μηχανισμούς και τα γονίδια των DNA μεθυλοτρανσφερασών (DNMTs) που είναι υπεύθυνες για τη ρύθμισή της, συχνά εμφανίζουν μεταλλάξεις στους ασθενείς με ΟΜΛ. Θέλοντας να αναστρέψουν την υπερμεθυλίωση του γενετικού υλικού, οι επιστήμονες ανέπτυξαν χημικές ουσίες που έχουν ως στόχο την αναστολή των DNMTs. Το Azacytidine και το Decitabine, αναστολείς των DNMTs (DNMTi), είναι νουκλεοσιδικά ανάλογα που ενσωματώνονται στο DNA και στο RNA, με αποτέλεσμα την αναχαίτιση της φυσιολογικής δράσης των DNMTs (Fennell, Bell and Dawson, 2019). Σύμφωνα με τη μετα-ανάλυση του Zhang *et al.* φάνηκε ότι η χορήγηση DNMTi σε ηλικιωμένους ασθενείς με ΟΜΛ οδήγησε σε σημαντικά μεγαλύτερη συνολική επιβίωση, σε σχέση με τους ασθενείς που έλαβαν κάποιο συμβατικό θεραπευτικό σχήμα ή placebo (Zhang *et al.*, 2021). Δεδομένου ότι πολλοί ασθενείς με ΟΜΛ, λόγω ηλικίας και συννοσηροτήτων, δεν πληρούν τα κριτήρια για να λάβουν το εντατικό σχήμα χημειοθεραπείας και η πρόγνωσή τους παραμένει επί δεκαετίες δυσμενής, τα παραπάνω δεδομένα φαίνονται αρκετά ελπιδοφόρα. Όσον αφορά τις ανεπιθύμητες ενέργειες, η ουδετεροπενία, η θρομβοπενία και η πνευμονία εμφανίστηκαν σε μεγαλύτερη συχνότητα στους ασθενείς που έλαβαν DNMTi (Zhang *et al.*, 2021).

Εξίσου αισιόδοξα είναι τα δεδομένα που προκύπτουν από το θεραπευτικό συνδυασμό των DNMTi με το Venetoclax (VEN), έναν εκλεκτικό αναστολέα της πρωτεΐνης Bcl-2. Και σε αυτήν την περίπτωση, ο πληθυσμός που έλαβε το συνδυασμό ήταν ηλικιωμένοι που δεν πληρούν τα κριτήρια για εντατική χημειοθεραπεία ή ασθενείς με υποτροπιάζουσα/ανθεκτική νόσο. Στην πλειοψηφία των μελετών, τα ποσοστά ανταπόκρισης στη θεραπεία και η συνολική επιβίωση ήταν αρκετά υψηλά. Ωστόσο, με τη χορήγηση VEN μπορεί να παρατηρηθεί εμμένουσα ουδετεροπενία και σε αυτήν την περίπτωση πρέπει να γίνει αναπροσαρμογή του θεραπευτικού σχήματος (Mei *et al.*, 2019).

Η τροποποίηση των ιστονών είναι άλλη μία επιγενετική αλλαγή που μπήκε στο θεραπευτικό στόχαστρο, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη των αναστολέων των HDACs (HDACi). Άλλη μία μετανάλυση των Pan *et al* συνέκρινε τη μονοθεραπεία με DNMTi με τη συνδυαστική θεραπεία με DNMTi – HDACi, σε ασθενείς με MDS ή ΟΜΛ που δεν πληρούσαν τα κριτήρια για να λάβουν εντατική χημειοθεραπεία ή αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών. Από τα αποτελέσματα, δεν προέκυψε κάποιο

θεραπευτικό όφελος με την προσθήκη HDACi στη θεραπεία με DNMTi (Pan *et al.*, 2018).

Τα νεότερα επιγενετικά φάρμακα που μελετώνται στην ΟΜΛ είναι οι αναστολείς των *IDH* γονιδίων. Μεταλλάξεις στα γονίδια *IDH1* και *IDH2* ανιχνεύονται σε σημαντικό ποσοστό στην ΟΜΛ, αλλά και σε άλλες κακοήθειες (Dinardo *et al.*, 2015). Συνέπεια των μεταλλάξεων είναι η συσσώρευση του ογκομεταβολίτη 2HG, ο οποίος, μέσω αναστολής ενζύμων, οδηγεί σε έναν υπερμεθυλιωμένο φαινότυπο (Figuera *et al.*, 2010). Πληθώρα μελετών έχει διεξαχθεί για τους δύο αναστολείς Epcasidenib και Ivosidenib και τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα αφορούν όλο το ηλικιακό φάσμα των ασθενών με ΟΜΛ, όταν συνυπάρχει μετάλλαξη σε γονίδιο *IDH*. Μία σημαντική ανεπιθύμητη ενέργεια που συναντάται με τη χρήση τους είναι το σύνδρομο διαφοροποίησης και μπορεί ακόμα να χρειαστεί και διακοπή της θεραπείας, ταυτόχρονα με επιπλέον υποστηρικτικά μέτρα (Issa and DiNardo, 2021).

Η μοριακή ετερογένεια της Οξείας Μυελογενούς Λευχαιμίας προσφέρει έναν μεγάλο αριθμό θεραπευτικών στόχων στους επιστήμονες και νέες ουσίες βρίσκονται συνεχώς υπό ανάπτυξη. Οι ασθενείς που εμφανίζουν αυτήν την κακοήθεια είναι εξίσου ετερογενείς στα χαρακτηριστικά τους, με απώτερη συνέπεια να μην υπάρχει μία θεραπευτική προσέγγιση που να ωφελεί όλους. Έτσι, είναι ζωτικής σημασίας να συνεχίσουν να σχεδιάζονται έρευνες που μελετούν αφενός νέες ουσίες, αφετέρου πιθανούς συνδυασμούς με τις ήδη υπάρχουσες, ούτως ώστε να βρεθεί ο βέλτιστος συνδυασμός που θα προσφέρει την καλύτερη πρόγνωση σε κάθε διαφορετική ομάδα ασθενών.

Βιβλιογραφία

Aapola, U. *et al.* (2000) 'Isolation and initial characterization of a novel zinc finger gene, DNMT3L, on 21q22.3, related to the cytosine-5-methyltransferase 3 gene family', *Genomics*, 65(3), pp. 293–298. doi: 10.1006/GENO.2000.6168.

Abdel-Wahab, O. and Levine, R. L. (2013) 'Mutations in epigenetic modifiers in the pathogenesis and therapy of acute myeloid leukemia', *Blood*, 121(18), pp. 3563–3572. doi: 10.1182/BLOOD-2013-01-451781.

Agirre, X. *et al.* (2012) 'Epigenetic regulation of miRNA genes in acute leukemia', *Leukemia*, 26(3), pp. 395–403. doi: 10.1038/LEU.2011.344.

Agueli, C. *et al.* (2010) '14q32/miRNA clusters loss of heterozygosity in acute lymphoblastic leukemia is associated with up-regulation of BCL11a', *American journal of hematology*, 85(8), pp. 575–578. doi: 10.1002/AJH.21758.

Aimiwu, J. *et al.* (2012) 'RNA-dependent inhibition of ribonucleotide reductase is a major pathway for 5-azacytidine activity in acute myeloid leukemia', *Blood*, 119(22), pp. 5229–5238. doi: 10.1182/BLOOD-2011-11-382226.

Aldoss, I. *et al.* (2018) 'Efficacy of the combination of venetoclax and hypomethylating agents in relapsed/refractory acute myeloid leukemia', *Haematologica*, 103(9), pp. e404–e407. doi: 10.3324/HAEMATOL.2018.188094.

Amatangelo, M. D. *et al.* (2017) 'Enasidenib induces acute myeloid leukemia cell differentiation to promote clinical response', *Blood*, 130(6), pp. 732–741. doi: 10.1182/BLOOD-2017-04-779447.

Aran, D., Sabato, S. and Hellman, A. (2013) 'DNA methylation of distal regulatory sites characterizes dysregulation of cancer genes', *Genome Biology*, 14(3), pp. 1–14. doi: 10.1186/GB-2013-14-3-R21/FIGURES/5.

Bandres, E. *et al.* (2009) 'Epigenetic regulation of microRNA expression in colorectal cancer', *International journal of cancer*, 125(11), pp. 2737–2743. doi: 10.1002/IJC.24638.

Bannister, A. J. and Kouzarides, T. (2011) 'Regulation of chromatin by histone modifications', *Cell research*, 21(3), pp. 381–395. doi: 10.1038/CR.2011.22.

Bartel, D. P. (2004) 'MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function', *Cell*, 116(2), pp. 281–297. doi: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5.

Becker, H. *et al.* (2010) 'Favorable prognostic impact of NPM1 mutations in older patients with cytogenetically normal de novo acute myeloid leukemia and associated gene- and microRNA-expression signatures: a Cancer and Leukemia Group B study', *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 28(4), pp. 596–604. doi: 10.1200/JCO.2009.25.1496.

Becker, J. S. and Fathi, A. T. (2020) 'Targeting IDH Mutations in AML: Wielding the Double-edged Sword of Differentiation', *Current cancer drug targets*, 20(7), pp. 490–500. doi: 10.2174/1568009620666200424145622.

Beekman, R. *et al.* (2012) ‘Sequential gain of mutations in severe congenital neutropenia progressing to acute myeloid leukemia’, *Blood*, 119(22), pp. 5071–5077. doi: 10.1182/BLOOD-2012-01-406116.

Bejar, R. *et al.* (2014) ‘TET2 mutations predict response to hypomethylating agents in myelodysplastic syndrome patients’, *Blood*, 124(17), pp. 2705–2712. doi: 10.1182/BLOOD-2014-06-582809.

Bernt, K. M. *et al.* (2011) ‘MLL-rearranged leukemia is dependent on aberrant H3K79 methylation by DOT1L’, *Cancer cell*, 20(1), pp. 66–78. doi: 10.1016/J.CCR.2011.06.010.

Bhola, P. D. and Letai, A. (2016) ‘Mitochondria—Judges and Executioners of Cell Death Sentences’, *Molecular Cell*, 61(5), pp. 695–704. doi: 10.1016/J.MOLCEL.2016.02.019.

Bohl, S. R., Bullinger, L. and Rucker, F. G. (2018) ‘Epigenetic therapy: azacytidine and decitabine in acute myeloid leukemia’, *Expert review of hematology*, 11(5), pp. 361–371. doi: 10.1080/17474086.2018.1453802.

Boissel, N. *et al.* (2010) ‘Prognostic impact of isocitrate dehydrogenase enzyme isoforms 1 and 2 mutations in acute myeloid leukemia: a study by the Acute Leukemia French Association group’, *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 28(23), pp. 3717–3723. doi: 10.1200/JCO.2010.28.2285.

Boukarabila, H. *et al.* (2009) ‘The PRC1 Polycomb group complex interacts with PLZF/RARA to mediate leukemic transformation’, *Genes & development*, 23(10), pp. 1195–1206. doi: 10.1101/GAD.512009.

Bousquet, M. *et al.* (2008) ‘Myeloid cell differentiation arrest by miR-125b-1 in myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia with the t(2;11)(p21;q23) translocation’, *The Journal of experimental medicine*, 205(11), pp. 2499–2506. doi: 10.1084/JEM.20080285.

Bousquet, M. *et al.* (2010) ‘MicroRNA miR-125b causes leukemia’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(50), pp. 21558–21563. doi: 10.1073/PNAS.1016611107.

Burnett, A. K. *et al.* (2013) 'Optimization of chemotherapy for younger patients with acute myeloid leukemia: Results of the medical research council AML15 trial', *Journal of Clinical Oncology*, 31(27), pp. 3360–3368. doi: 10.1200/JCO.2012.47.4874.

Calin, G. A. *et al.* (2002) 'Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(24), pp. 15524–15529. doi: 10.1073/PNAS.242606799.

Caravella, J. A. *et al.* (2020) 'Structure-Based Design and Identification of FT-2102 (Olutasidenib), a Potent Mutant-Selective IDH1 Inhibitor', *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(4), pp. 1612–1623. doi: 10.1021/ACS.JMEDCHEM.9B01423/SUPPL_FILE/JM9B01423_SI_003.CSV.

Cavalli, G. and Heard, E. (2019) 'Advances in epigenetics link genetics to the environment and disease', *Nature*, 571(7766), pp. 489–499. doi: 10.1038/S41586-019-1411-0.

Celik, H. *et al.* (2015) 'Enforced differentiation of Dnmt3a-null bone marrow leads to failure with c-Kit mutations driving leukemic transformation', *Blood*, 125(4), pp. 619–628. doi: 10.1182/BLOOD-2014-08-594564.

Choe, S. *et al.* (2020) 'Molecular mechanisms mediating relapse following ivosidenib monotherapy in IDH1-mutant relapsed or refractory AML', *Blood advances*, 4(9), pp. 1894–1905. doi: 10.1182/BLOODADVANCES.2020001503.

Chopra, M. and Bohlander, S. K. (2019) 'The cell of origin and the leukemia stem cell in acute myeloid leukemia', *Genes, chromosomes & cancer*, 58(12), pp. 850–858. doi: 10.1002/GCC.22805.

Chowdhury, M. *et al.* (2007) 'Expression of Polycomb-group (PcG) protein BMI-1 predicts prognosis in patients with acute myeloid leukemia', *Leukemia* 2007 21:5, 21(5), pp. 1116–1122. doi: 10.1038/sj.leu.2404623.

Cornelissen, J. J. *et al.* (2015) 'Comparative therapeutic value of post-remission approaches in patients with acute myeloid leukemia aged 40-60 years', *Leukemia*, 29(5), pp. 1041–1050. doi: 10.1038/LEU.2014.332.

Craddock, C. F. *et al.* (2017) 'Outcome of Azacitidine Therapy in Acute

Myeloid Leukemia Is not Improved by Concurrent Vorinostat Therapy but Is Predicted by a Diagnostic Molecular Signature’, *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 23(21), pp. 6430–6440. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-1423.

Cruz-Rodriguez, N., Combita, A. L. and Zabaleta, J. (2018) ‘Epigenetics in hematological malignancies’, *Methods in Molecular Biology*, 1856, pp. 87–101. doi: 10.1007/978-1-4939-8751-1_5/COVER.

Dang, L. *et al.* (2009) ‘Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate’, *Nature* 2009 462:7274, 462(7274), pp. 739–744. doi: 10.1038/nature08617.

Dauids, M. S. *et al.* (2018) ‘Comprehensive Safety Analysis of Venetoclax Monotherapy for Patients with Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia’, *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 24(18), pp. 4371–4379. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-3761.

Deplus, R. *et al.* (2002) ‘Dnmt3L is a transcriptional repressor that recruits histone deacetylase’, *Nucleic acids research*, 30(17), pp. 3831–3838. doi: 10.1093/NAR/GKF509.

Diesch, J. *et al.* (2016) ‘A clinical-molecular update on azanucleoside-based therapy for the treatment of hematologic cancers’, *Clinical epigenetics*, 8(1). doi: 10.1186/S13148-016-0237-Y.

Dinardo, C. D. *et al.* (2015) ‘Characteristics, clinical outcome, and prognostic significance of IDH mutations in AML’, *American journal of hematology*, 90(8), pp. 732–736. doi: 10.1002/AJH.24072.

Dinardo, C. D. *et al.* (2018) ‘Durable response with venetoclax in combination with decitabine or azacitadine in elderly patients with acute myeloid leukemia (AML).’, https://doi.org/10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.7010, 36(15_suppl), pp. 7010–7010. doi: 10.1200/JCO.2018.36.15_SUPPL.7010.

Dinardo, C. D. *et al.* (2020) ‘Effect of enasidenib (ENA) plus azacitidine (AZA) on complete remission and overall response versus AZA monotherapy in mutant-IDH2 (mIDH2) newly diagnosed acute myeloid leukemia (ND-AML).’,

https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.7501, 38(15_suppl), pp. 7501–7501.
doi: 10.1200/JCO.2020.38.15_SUPPL.7501.

DiNardo, C. D., Stein, E. M., *et al.* (2018) ‘Durable Remissions with Ivosidenib in IDH1 -Mutated Relapsed or Refractory AML’, *New England Journal of Medicine*, 378(25), pp. 2386–2398. doi: 10.1056/NEJMOA1716984/SUPPL_FILE/NEJMOA1716984_DISCLOSURES.PDF.

DiNardo, C. D., Rausch, C. R., *et al.* (2018) ‘Clinical experience with the BCL2-inhibitor venetoclax in combination therapy for relapsed and refractory acute myeloid leukemia and related myeloid malignancies’, *American journal of hematology*, 93(3), pp. 401–407. doi: 10.1002/AJH.25000.

DiNardo, C. D., Pratz, K. W., *et al.* (2018) ‘Safety and preliminary efficacy of venetoclax with decitabine or azacitidine in elderly patients with previously untreated acute myeloid leukaemia: a non-randomised, open-label, phase 1b study’, *The Lancet. Oncology*, 19(2), pp. 216–228. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30010-X.

DiNardo, C. D. *et al.* (2019) ‘Venetoclax combined with decitabine or azacitidine in treatment-naive, elderly patients with acute myeloid leukemia’, *Blood*, 133(1), pp. 7–17. doi: 10.1182/BLOOD-2018-08-868752.

DiNardo, C. D. *et al.* (2021) ‘Mutant Isocitrate Dehydrogenase 1 Inhibitor Ivosidenib in Combination With Azacitidine for Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia’, *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 39(1), pp. 57–65. doi: 10.1200/JCO.20.01632.

Dixon-McIver, A. *et al.* (2008) ‘Distinctive patterns of microRNA expression associated with karyotype in acute myeloid leukaemia’, *PloS one*, 3(5). doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0002141.

Döhner, H. *et al.* (2017) ‘Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel’, *Blood*, 129(4), pp. 424–447. doi: 10.1182/BLOOD-2016-08-733196.

Döhner, H., Weisdorf, D. J. and Bloomfield, C. D. (2015) ‘Acute Myeloid Leukemia’, *The New England journal of medicine*. Edited by D. L. Longo, 373(12), pp. 1136–1152. doi: 10.1056/NEJMRA1406184.

Dombret, H. *et al.* (2015) ‘International phase 3 study of azacitidine vs conventional care regimens in older patients with newly diagnosed AML with >30% blasts’, *Blood*, 126(3), pp. 291–299. doi: 10.1182/BLOOD-2015-01-621664.

Ernst, T. *et al.* (2010) ‘Inactivating mutations of the histone methyltransferase gene EZH2 in myeloid disorders’, *Nature genetics*, 42(8), pp. 722–726. doi: 10.1038/NG.621.

Fathi, A. T. *et al.* (2018) ‘Differentiation Syndrome Associated With Enasidenib, a Selective Inhibitor of Mutant Isocitrate Dehydrogenase 2: Analysis of a Phase 1/2 Study’, *JAMA oncology*, 4(8), pp. 1106–1110. doi: 10.1001/JAMAONCOL.2017.4695.

Fenaux, P. *et al.* (2010) ‘Azacitidine prolongs overall survival compared with conventional care regimens in elderly patients with low bone marrow blast count acute myeloid leukemia’, *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 28(4), pp. 562–569. doi: 10.1200/JCO.2009.23.8329.

Fennell, K. A., Bell, C. C. and Dawson, M. A. (2019) ‘Epigenetic therapies in acute myeloid leukemia: where to from here?’, *Blood*, 134(22), pp. 1891–1901. doi: 10.1182/BLOOD.2019003262.

Ficz, G. *et al.* (2011) ‘Dynamic regulation of 5-hydroxymethylcytosine in mouse ES cells and during differentiation’, *Nature* 2011 473:7347, 473(7347), pp. 398–402. doi: 10.1038/nature10008.

Figuerola, M. E. *et al.* (2010) ‘Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation’, *Cancer cell*, 18(6), pp. 553–567. doi: 10.1016/J.CCR.2010.11.015.

Fong, C. Y., Morison, J. and Dawson, M. A. (2014) ‘Epigenetics in the hematologic malignancies’, *Haematologica*, 99(12), p. 1772. doi: 10.3324/HAEMATOL.2013.092007.

Friedman, R. C. *et al.* (2009) ‘Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs’, *Genome research*, 19(1), pp. 92–105. doi: 10.1101/GR.082701.108.

Ganesan, A. *et al.* (2019) ‘The timeline of epigenetic drug discovery: from reality to dreams’, *Clinical epigenetics*, 11(1). doi: 10.1186/S13148-019-0776-0.

Gangatharan, S. *et al.* (2013) 'Acute myeloid leukaemia in Western Australia 1991–2005: a retrospective population-based study of 898 patients regarding epidemiology, cytogenetics, treatment and outcome', *Internal Medicine Journal*, 43(8), pp. 903–911. doi: 10.1111/IMJ.12169.

Ganzel, C. *et al.* (2016) 'Extramedullary Disease in Adult Acute Myeloid Leukemia Is Common but Lacks Independent Significance: Analysis of Patients in ECOG-ACRIN Cancer Research Group Trials, 1980-2008', *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 34(29), pp. 3544–3553. doi: 10.1200/JCO.2016.67.5892.

Garcia-Manero, G. *et al.* (2011) 'Phase I study of oral azacitidine in myelodysplastic syndromes, chronic myelomonocytic leukemia, and acute myeloid leukemia', *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 29(18), pp. 2521–2527. doi: 10.1200/JCO.2010.34.4226.

Garcia-Manero, G. *et al.* (2016) 'Successful Emulation of IV Decitabine Pharmacokinetics with an Oral Fixed-Dose Combination of the Oral Cytidine Deaminase Inhibitor (CDAi) E7727 with Oral Decitabine, in Subjects with Myelodysplastic Syndromes (MDS): Final Data of Phase 1 Study', *Blood*, 128(22), pp. 114–114. doi: 10.1182/BLOOD.V128.22.114.114.

Garcia-Manero, G. *et al.* (2017) 'Phase 2, randomized, double-blind study of pracinostat in combination with azacitidine in patients with untreated, higher-risk myelodysplastic syndromes', *Cancer*, 123(6), pp. 994–1002. doi: 10.1002/CNCR.30533.

Garzon, R., Garofalo, M., *et al.* (2008) 'Distinctive microRNA signature of acute myeloid leukemia bearing cytoplasmic mutated nucleophosmin', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(10), pp. 3945–3950. doi: 10.1073/PNAS.0800135105.

Garzon, R., Volinia, S., *et al.* (2008) 'MicroRNA signatures associated with cytogenetics and prognosis in acute myeloid leukemia', *Blood*, 111(6), pp. 3183–3189. doi: 10.1182/BLOOD-2007-07-098749.

Gore, A. V. and Weinstein, B. M. (2016) 'DNA methylation in hematopoietic development and disease', *Experimental Hematology*, 44(9), pp. 783–790. doi:

10.1016/J.EXPHEM.2016.04.013.

Grady, W. M. *et al.* (2008) 'Epigenetic silencing of the intronic microRNA hsa-miR-342 and its host gene EVL in colorectal cancer', *Oncogene*, 27(27), pp. 3880–3888. doi: 10.1038/ONC.2008.10.

Granfeldt Østgård, L. S. *et al.* (2013) 'Data quality in the Danish National Acute Leukemia Registry: a hematological data resource', *Clinical Epidemiology*, 5(1), pp. 335–344. doi: 10.2147/CLEP.S48411.

Guryanova, O. A. *et al.* (2016) 'DNMT3A R882 mutations promote anthracycline resistance in acute myeloid leukemia through impaired nucleosome remodeling', *Nature medicine*, 22(12), p. 1488. doi: 10.1038/NM.4210.

Van Haaften, G. *et al.* (2009) 'Somatic mutations of the histone H3K27 demethylase gene UTX in human cancer', *Nature genetics*, 41(5), pp. 521–523. doi: 10.1038/NG.349.

Han, Y. C. *et al.* (2010) 'microRNA-29a induces aberrant self-renewal capacity in hematopoietic progenitors, biased myeloid development, and acute myeloid leukemia', *The Journal of experimental medicine*, 207(3), pp. 475–489. doi: 10.1084/JEM.20090831.

Harding, J. J. *et al.* (2018) 'Isoform Switching as a Mechanism of Acquired Resistance to Mutant Isocitrate Dehydrogenase Inhibition', *Cancer discovery*, 8(12), pp. 1540–1546. doi: 10.1158/2159-8290.CD-18-0877.

Herz, H. M., Garruss, A. and Shilatifard, A. (2013) 'SET for life: biochemical activities and biological functions of SET domain-containing proteins', *Trends in biochemical sciences*, 38(12), pp. 621–639. doi: 10.1016/J.TIBS.2013.09.004.

Hills, R. K. *et al.* (2014) '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', *The Lancet. Oncology*, 15(9), pp. 986–996. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70281-5.

Ho, T. C. *et al.* (2016) 'Evolution of acute myelogenous leukemia stem cell properties after treatment and progression', *Blood*, 128(13), pp. 1671–1678. doi: 10.1182/BLOOD-2016-02-695312.

Hollenbach, P. W. *et al.* (2010) ‘A comparison of azacitidine and decitabine activities in acute myeloid leukemia cell lines’, *PloS one*, 5(2). doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0009001.

Huls, Gerwin *et al.* (2019) ‘Azacitidine maintenance after intensive chemotherapy improves DFS in older AML patients’, *Blood*, 133(13), pp. 1457–1464. doi: 10.1182/BLOOD-2018-10-879866.

Im, A. P. *et al.* (2014) ‘DNMT3A and IDH mutations in acute myeloid leukemia and other myeloid malignancies: associations with prognosis and potential treatment strategies’, *Leukemia*, 28(9), pp. 1774–1783. doi: 10.1038/LEU.2014.124.

Inamura, K. (2017) ‘Major Tumor Suppressor and Oncogenic Non-Coding RNAs: Clinical Relevance in Lung Cancer’, *Cells*, 6(2). doi: 10.3390/CELLS6020012.

Intlekofer, A. M. *et al.* (2018) ‘Acquired resistance to IDH inhibition through trans or cis dimer-interface mutations’, *Nature* 2018 559:7712, 559(7712), pp. 125–129. doi: 10.1038/s41586-018-0251-7.

Issa, G. C. and DiNardo, C. D. (2021) ‘Acute myeloid leukemia with IDH1 and IDH2 mutations: 2021 treatment algorithm’, *Blood cancer journal*, 11(6). doi: 10.1038/S41408-021-00497-1.

Issa, J. P. *et al.* (2015) ‘Results of phase 2 randomized study of low-dose decitabine with or without valproic acid in patients with myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukemia’, *Cancer*, 121(4), pp. 556–561. doi: 10.1002/CNCR.29085.

Issa, J. P. J. *et al.* (2015) ‘Safety and tolerability of guadecitabine (SGI-110) in patients with myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukaemia: a multicentre, randomised, dose-escalation phase 1 study’, *The Lancet. Oncology*, 16(9), pp. 1099–1110. doi: 10.1016/S1470-2045(15)00038-8.

Issa, J. P. J., Kantarjian, H. M. and Kirkpatrick, P. (2005) ‘Azacitidine’, *Nature reviews. Drug discovery*, 4(4), pp. 275–276. doi: 10.1038/NRD1698.

Ito, S. *et al.* (2011) ‘Tet proteins can convert 5-methylcytosine to 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine’, *Science*, 333(6047), pp. 1300–1303. doi: 10.1126/SCIENCE.1210597/SUPPL_FILE/ITO.SOM.PDF.

Jacob, L. A. *et al.* (2015) ‘Decitabine Compared with Low-Dose Cytarabine for the Treatment of Older Patients with Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia: A Pilot Study of Safety, Efficacy, and Cost-Effectiveness’, *Advances in hematology*, 2015. doi: 10.1155/2015/167029.

Jaiswal, S. *et al.* (2014) ‘Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes’, *The New England journal of medicine*, 371(26), pp. 2488–2498. doi: 10.1056/NEJMOA1408617.

Jenuwein, T. and Allis, C. D. (2001) ‘Translating the histone code’, *Science (New York, N.Y.)*, 293(5532), pp. 1074–1080. doi: 10.1126/SCIENCE.1063127.

Jongen-Lavrencic, M. *et al.* (2008) ‘MicroRNA expression profiling in relation to the genetic heterogeneity of acute myeloid leukemia’, *Blood*, 111(10), pp. 5078–5085. doi: 10.1182/BLOOD-2008-01-133355.

Juliusson, G. *et al.* (2009) ‘Age and acute myeloid leukemia: real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry’, *Blood*, 113(18), pp. 4179–4187. doi: 10.1182/BLOOD-2008-07-172007.

Juliusson, G. *et al.* (2012) ‘Acute myeloid leukemia in the real world: why population-based registries are needed’, *Blood*, 119(17), pp. 3890–3899. doi: 10.1182/BLOOD-2011-12-379008.

Kalla, R. *et al.* (2015) ‘MicroRNAs: new players in IBD’, *Gut*, 64(3), pp. 504–517. doi: 10.1136/GUTJNL-2014-307891.

Kantarjian, H. M. *et al.* (2012) ‘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’, *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 30(21), pp. 2670–2677. doi: 10.1200/JCO.2011.38.9429.

Kantarjian, H. M. *et al.* (2017) ‘Guadecitabine (SGI-110) in treatment-naive patients with acute myeloid leukaemia: phase 2 results from a multicentre, randomised, phase 1/2 trial’, *The Lancet. Oncology*, 18(10), pp. 1317–1326. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30576-4.

Khot, A., Dickinson, M. and Prince, H. M. (2013) ‘Panobinostat in lymphoid

and myeloid malignancies’, *Expert opinion on investigational drugs*, 22(9), pp. 1211–1223. doi: 10.1517/13543784.2013.815165.

Konopleva, M. *et al.* (2016) ‘Efficacy and Biological Correlates of Response in a Phase II Study of Venetoclax Monotherapy in Patients with Acute Myelogenous Leukemia’, *Cancer discovery*, 6(10), pp. 1106–1117. doi: 10.1158/2159-8290.CD-16-0313.

Kouzarides, T. (2007) ‘Chromatin modifications and their function’, *Cell*, 128(4), pp. 693–705. doi: 10.1016/J.CELL.2007.02.005.

Krivtsov, A. V. and Armstrong, S. A. (2007) ‘MLL translocations, histone modifications and leukaemia stem-cell development’, *Nature Reviews Cancer* 2007 7:11, 7(11), pp. 823–833. doi: 10.1038/nrc2253.

Lachowiez, C. A. *et al.* (2020) ‘Phase Ib/II study of the IDH1-mutant inhibitor ivosidenib with the BCL2 inhibitor venetoclax +/- azacitidine in IDH1-mutated hematologic malignancies.’, https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.7500, 38(15_suppl), pp. 7500–7500. doi: 10.1200/JCO.2020.38.15_SUPPL.7500.

Lagadinou, E. D. *et al.* (2013) ‘BCL-2 inhibition targets oxidative phosphorylation and selectively eradicates quiescent human leukemia stem cells’, *Cell stem cell*, 12(3), pp. 329–341. doi: 10.1016/J.STEM.2012.12.013.

Lawrie, C. H. (2013) ‘MicroRNAs in hematological malignancies’, *Blood reviews*, 27(3), pp. 143–154. doi: 10.1016/J.BLRE.2013.04.002.

Lee, R. C., Feinbaum, R. L. and Ambros, V. (1993) ‘The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*’, *Cell*, 75(5), pp. 843–854. doi: 10.1016/0092-8674(93)90529-Y.

Li, Z. *et al.* (2008) ‘Distinct microRNA expression profiles in acute myeloid leukemia with common translocations’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(40), pp. 15535–15540. doi: 10.1073/PNAS.0808266105.

Lorincz, M. C. *et al.* (2004) ‘Intragenic DNA methylation alters chromatin structure and elongation efficiency in mammalian cells’, *Nature structural & molecular biology*, 11(11), pp. 1068–1075. doi: 10.1038/NSMB840.

Löwenberg, B. (2013) 'Sense and nonsense of high-dose cytarabine for acute myeloid leukemia', *Blood*, 121(1), pp. 26–28. doi: 10.1182/BLOOD-2012-07-444851.

Lu, J. *et al.* (2005) 'MicroRNA expression profiles classify human cancers', *Nature*, 435(7043), pp. 834–838. doi: 10.1038/NATURE03702.

Lujambio, A. *et al.* (2007) 'Genetic unmasking of an epigenetically silenced microRNA in human cancer cells', *Cancer research*, 67(4), pp. 1424–1429. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4218.

Luo, J. *et al.* (2000) 'Deacetylation of p53 modulates its effect on cell growth and apoptosis', *Nature*, 408(6810), pp. 377–381. doi: 10.1038/35042612.

Lv, S. Q. *et al.* (2012) 'Genetic alterations in microRNAs in medulloblastomas', *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*, 22(2), pp. 230–239. doi: 10.1111/J.1750-3639.2011.00523.X.

Marcucci, G. *et al.* (2008) 'Prognostic significance of, and gene and microRNA expression signatures associated with, CEBPA mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia with high-risk molecular features: a Cancer and Leukemia Group B Study', *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 26(31), pp. 5078–5087. doi: 10.1200/JCO.2008.17.5554.

Mardis, E. R. *et al.* (2009) 'Recurring mutations found by sequencing an acute myeloid leukemia genome', *The New England journal of medicine*, 361(11), pp. 1058–1066. doi: 10.1056/NEJMOA0903840.

Margueron, R. and Reinberg, D. (2011) 'The Polycomb complex PRC2 and its mark in life', *Nature*, 469(7330), pp. 343–349. doi: 10.1038/NATURE09784.

Maunakea, A. K. *et al.* (2010) 'Conserved role of intragenic DNA methylation in regulating alternative promoters', *Nature 2010 466:7303*, 466(7303), pp. 253–257. doi: 10.1038/nature09165.

Maunakea, A. K. *et al.* (2013) 'Intragenic DNA methylation modulates alternative splicing by recruiting MeCP2 to promote exon recognition', *Cell Research 2013 23:11*, 23(11), pp. 1256–1269. doi: 10.1038/cr.2013.110.

Mavrakis, K. J. *et al.* (2010) 'Genome-wide RNA-mediated interference screen identifies miR-19 targets in Notch-induced T-cell acute lymphoblastic leukaemia',

Nature cell biology, 12(4), pp. 372–379. doi: 10.1038/NCB2037.

Mei, M. *et al.* (2019) ‘Hypomethylating agents in combination with venetoclax for acute myeloid leukemia: Update on clinical trial data and practical considerations for use’, *American Journal of Hematology*, 94(3), pp. 358–362. doi: 10.1002/AJH.25369.

Metzeler, K. H. *et al.* (2011) ‘TET2 Mutations Improve the New European LeukemiaNet Risk Classification of Acute Myeloid Leukemia: A Cancer and Leukemia Group B Study’, *Journal of Clinical Oncology*, 29(10), p. 1373. doi: 10.1200/JCO.2010.32.7742.

Mihara, K. *et al.* (2006) ‘Bmi-1 is useful as a novel molecular marker for predicting progression of myelodysplastic syndrome and patient prognosis’, *Blood*, 107(1), pp. 305–308. doi: 10.1182/BLOOD-2005-06-2393.

Minucci, S. and Pelicci, P. G. (2006) ‘Histone deacetylase inhibitors and the promise of epigenetic (and more) treatments for cancer’, *Nature reviews. Cancer*, 6(1), pp. 38–51. doi: 10.1038/NRC1779.

Miranda Furtado, C. L. *et al.* (2019) ‘Epidrugs: targeting epigenetic marks in cancer treatment’, *Epigenetics*, 14(12), pp. 1164–1176. doi: 10.1080/15592294.2019.1640546.

Molenaar, R. J. *et al.* (2015) ‘Clinical and biological implications of ancestral and non-ancestral IDH1 and IDH2 mutations in myeloid neoplasms’, *Leukemia*, 29(11), pp. 2134–2142. doi: 10.1038/LEU.2015.91.

Neri, F. *et al.* (2017) ‘Intragenic DNA methylation prevents spurious transcription initiation’, *Nature* 2017 543:7643, 543(7643), pp. 72–77. doi: 10.1038/nature21373.

Newell, L. F. and Cook, R. J. (2021) ‘Advances in acute myeloid leukemia’, *BMJ*, 375, p. n2026. doi: 10.1136/BMJ.N2026.

Noone, A. *et al.* (2018) ‘Acute Myeloid Leukemia - Cancer Stat Facts’, <https://seer.cancer.gov/>, pp. 1–3. Available at: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/amyl.html> (Accessed: 10 April 2022).

Norsworthy, K. J. *et al.* (2020) ‘Differentiation Syndrome with Ivosidenib and

Enasidenib Treatment in Patients with Relapsed or Refractory IDH-Mutated AML: A U.S. Food and Drug Administration Systematic Analysis', *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 26(16), pp. 4280–4288. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-0834.

O'Brien, J. *et al.* (2018) 'Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation', *Frontiers in Endocrinology*, 9(AUG), p. 402. doi: 10.3389/FENDO.2018.00402/XML/NLM.

O'Connell, R. M. *et al.* (2008) 'Sustained expression of microRNA-155 in hematopoietic stem cells causes a myeloproliferative disorder', *The Journal of experimental medicine*, 205(3), pp. 585–594. doi: 10.1084/JEM.20072108.

Ocias, L. F. *et al.* (2016) 'Trends in hematological cancer in the elderly in Denmark, 1980–2012', <https://doi.org/10.3109/0284186X.2015.1115124>, 55, pp. 98–107. doi: 10.3109/0284186X.2015.1115124.

Odenike, O. *et al.* (2015) 'A phase I and pharmacodynamic study of the histone deacetylase inhibitor belinostat plus azacitidine in advanced myeloid neoplasia', *Investigational new drugs*, 33(2), pp. 371–379. doi: 10.1007/S10637-014-0194-2.

Osada, H. and Takahashi, T. (2007) 'MicroRNAs in biological processes and carcinogenesis', *Carcinogenesis*, 28(1), pp. 2–12. doi: 10.1093/CARCIN/BGL185.

Palii, S. S. *et al.* (2008) 'DNA methylation inhibitor 5-Aza-2'-deoxycytidine induces reversible genome-wide DNA damage that is distinctly influenced by DNA methyltransferases 1 and 3B', *Molecular and cellular biology*, 28(2), pp. 752–771. doi: 10.1128/MCB.01799-07.

Pan, T. *et al.* (2018) 'Addition of histone deacetylase inhibitors does not improve prognosis in patients with myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia compared with hypomethylating agents alone: A systematic review and meta-analysis of seven prospective cohort studies', *Leukemia research*, 71, pp. 13–24. doi: 10.1016/J.LEUKRES.2018.06.007.

Papaemmanuil, E. *et al.* (2016) 'Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia', *The New England journal of medicine*, 374(23), pp. 2209–2221. doi: 10.1056/NEJMOA1516192.

Pastor-Anglada, M. *et al.* (2004) 'Nucleoside transporters in chronic lymphocytic leukaemia', *Leukemia*, 18(3), pp. 385–393. doi: 10.1038/SJ.LEU.2403271.

Patel, J. P. *et al.* (2012) 'Prognostic Relevance of Integrated Genetic Profiling in Acute Myeloid Leukemia', *New England Journal of Medicine*, 366(12), pp. 1079–1089. doi: 10.1056/NEJMOA1112304/SUPPL_FILE/NEJMOA1112304_DISCLOSURES.PDF.

Peixoto, P. *et al.* (2020) 'From 1957 to Nowadays: A Brief History of Epigenetics', *International journal of molecular sciences*, 21(20), pp. 1–18. doi: 10.3390/IJMS21207571.

Pelcovits, A. and Niroula, R. (2020) 'Acute Myeloid Leukemia: A Review.', *Rhode Island medical journal* (2013), 103(3), pp. 38–40. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32236160>.

Pollyea, D. A. *et al.* (2019) 'Enasidenib, an inhibitor of mutant IDH2 proteins, induces durable remissions in older patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia', *Leukemia*, 33(11), pp. 2575–2584. doi: 10.1038/S41375-019-0472-2.

Pollyea, D. A. *et al.* (2020) 'Results of Venetoclax and Azacitidine Combination in Chemotherapy Ineligible Untreated Patients with Acute Myeloid Leukemia with IDH 1/2 Mutations', *Blood*, 136(Supplement 1), pp. 5–7. doi: 10.1182/BLOOD-2020-134736.

Pollyea, D. A. and Jordan, C. T. (2017) 'Therapeutic targeting of acute myeloid leukemia stem cells', *Blood*, 129(12), pp. 1627–1635. doi: 10.1182/BLOOD-2016-10-696039.

Prebet, T. *et al.* (2014) 'Prolonged administration of azacitidine with or without entinostat for myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes: results of the US Leukemia Intergroup trial E1905', *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 32(12), pp. 1242–1248. doi: 10.1200/JCO.2013.50.3102.

Prebet, T. *et al.* (2016) 'Azacitidine with or without Entinostat for the treatment of therapy-related myeloid neoplasm: further results of the E1905 North American

Leukemia Intergroup study', *British journal of haematology*, 172(3), pp. 384–391. doi: 10.1111/BJH.13832.

Puda, A. *et al.* (2012) 'Frequent deletions of JARID2 in leukemic transformation of chronic myeloid malignancies', *American journal of hematology*, 87(3), pp. 245–250. doi: 10.1002/AJH.22257.

Qin, T. *et al.* (2009) 'Mechanisms of resistance to 5-aza-2'-deoxycytidine in human cancer cell lines', *Blood*, 113(3), pp. 659–667. doi: 10.1182/BLOOD-2008-02-140038.

Raaijmakers, M. H. G. P. *et al.* (2010) 'Bone progenitor dysfunction induces myelodysplasia and secondary leukaemia', *Nature*, 464(7290), pp. 852–857. doi: 10.1038/NATURE08851.

Roboz, G. J. *et al.* (2018) 'Dose, schedule, safety, and efficacy of guadecitabine in relapsed or refractory acute myeloid leukemia', *Cancer*, 124(2), pp. 325–334. doi: 10.1002/CNCR.31138.

Roboz, G. J. *et al.* (2020) 'Ivosidenib induces deep durable remissions in patients with newly diagnosed IDH1-mutant acute myeloid leukemia', *Blood*, 135(7), pp. 463–471. doi: 10.1182/BLOOD.2019002140.

Rodríguez-Paredes, M. and Esteller, M. (2011) 'Cancer epigenetics reaches mainstream oncology', *Nature Medicine* 2011 17:3, 17(3), pp. 330–339. doi: 10.1038/nm.2305.

Rohle, D. *et al.* (2013) 'An inhibitor of mutant IDH1 delays growth and promotes differentiation of glioma cells', *Science (New York, N.Y.)*, 340(6132), pp. 626–630. doi: 10.1126/SCIENCE.1236062.

De Rooij, J. D. E. *et al.* (2013) 'NUP98/JARID1A is a novel recurrent abnormality in pediatric acute megakaryoblastic leukemia with a distinct HOX gene expression pattern', *Leukemia*, 27(12), pp. 2280–2288. doi: 10.1038/LEU.2013.87.

Roush, S. and Slack, F. J. (2008) 'The let-7 family of microRNAs', *Trends in cell biology*, 18(10), pp. 505–516. doi: 10.1016/J.TCB.2008.07.007.

Russler-Germain, D. A. *et al.* (2014) 'The R882H DNMT3A mutation associated with AML dominantly inhibits wild-type DNMT3A by blocking its ability

to form active tetramers’, *Cancer cell*, 25(4), pp. 442–454. doi: 10.1016/J.CCR.2014.02.010.

Saliminejad, K. *et al.* (2019) ‘An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods’, *Journal of cellular physiology*, 234(5), pp. 5451–5465. doi: 10.1002/JCP.27486.

Santoro, F. *et al.* (2013) ‘A dual role for Hdac1: oncosuppressor in tumorigenesis, oncogene in tumor maintenance’, *Blood*, 121(17), pp. 3459–3468. doi: 10.1182/BLOOD-2012-10-461988.

Schaich, M. *et al.* (2011) ‘Cytarabine dose of 36 g/m² compared with 12 g/m² within first consolidation in acute myeloid leukemia: results of patients enrolled onto the prospective randomized AML96 study’, *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 29(19), pp. 2696–2702. doi: 10.1200/JCO.2010.33.7303.

Schotte, D., Pieters, R. and Den Boer, M. L. (2012) ‘MicroRNAs in acute leukemia: from biological players to clinical contributors’, *Leukemia*, 26(1), pp. 1–12. doi: 10.1038/LEU.2011.151.

Sekeres, M. A. *et al.* (2017) ‘Randomized Phase II Study of Azacitidine Alone or in Combination With Lenalidomide or With Vorinostat in Higher-Risk Myelodysplastic Syndromes and Chronic Myelomonocytic Leukemia: North American Intergroup Study SWOG S1117’, *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 35(24), pp. 2745–2753. doi: 10.1200/JCO.2015.66.2510.

Seymour, J. F. *et al.* (2017) ‘Azacitidine improves clinical outcomes in older patients with acute myeloid leukaemia with myelodysplasia-related changes compared with conventional care regimens’, *BMC cancer*, 17(1). doi: 10.1186/S12885-017-3803-6.

Shallis, R. M. *et al.* (2019) ‘Epidemiology of acute myeloid leukemia: Recent progress and enduring challenges.’, *Blood Reviews*, 36, pp. 70–87. doi: 10.1016/J.BLRE.2019.04.005.

Shi, Yujiang *et al.* (2004) ‘Histone demethylation mediated by the nuclear

amine oxidase homolog LSD1', *Cell*, 119(7), pp. 941–953. doi: 10.1016/J.CELL.2004.12.012/ATTACHMENT/672D53CC-24F3-43B6-A9BF-5D6698F46CE9/MMC2.PDF.

Shlush, L. I. *et al.* (2014) 'Identification of pre-leukaemic haematopoietic stem cells in acute leukaemia', *Nature* 2014 506:7488, 506(7488), pp. 328–333. doi: 10.1038/nature13038.

Short, N. J., Rytting, M. E. and Cortes, J. E. (2018) 'Acute myeloid leukaemia', *The Lancet*, 392(10147), pp. 593–606. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31041-9.

Shysh, A. C. *et al.* (2017) 'The incidence of acute myeloid leukemia in Calgary, Alberta, Canada: A retrospective cohort study', *BMC Public Health*, 18(1), pp. 1–5. doi: 10.1186/S12889-017-4644-6/FIGURES/1.

Skvortsova, K., Stirzaker, C. and Taberlay, P. (2019) 'The DNA methylation landscape in cancer', *Essays in Biochemistry*, 63(6), p. 797. doi: 10.1042/EBC20190037.

Spensberger, D. *et al.* (2008) 'Myeloid transforming protein Evi1 interacts with methyl-CpG binding domain protein 3 and inhibits in vitro histone deacetylation by Mbd3/Mi-2/NuRD', *Biochemistry*, 47(24), pp. 6418–6426. doi: 10.1021/BI800267F.

Starczynowski, D. T. *et al.* (2010) 'Identification of miR-145 and miR-146a as mediators of the 5q- syndrome phenotype', *Nature medicine*, 16(1), pp. 49–58. doi: 10.1038/NM.2054.

Starczynowski, D. T. *et al.* (2011) 'Genome-wide identification of human microRNAs located in leukemia-associated genomic alterations', *Blood*, 117(2), pp. 595–607. doi: 10.1182/BLOOD-2010-03-277012.

Stein, E. M. *et al.* (2017) 'Enasidenib in mutant IDH2 relapsed or refractory acute myeloid leukemia', *Blood*, 130(6), pp. 722–731. doi: 10.1182/BLOOD-2017-04-779405.

Stein, E. M. *et al.* (2021) 'Ivosidenib or enasidenib combined with intensive chemotherapy in patients with newly diagnosed AML: a phase 1 study', *Blood*, 137(13), pp. 1792–1803. doi: 10.1182/BLOOD.2020007233.

Stone, R. M. *et al.* (2015) '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 (muts): An International Prospective Randomized (rand) P-Controlled Double-Blind Trial (CALGB 10603/RATIFY [Alliance])', *Blood*, 126(23), pp. 6–6. doi: 10.1182/BLOOD.V126.23.6.6.

Timms, J. A. *et al.* (2016) 'DNA methylation as a potential mediator of environmental risks in the development of childhood acute lymphoblastic leukemia', *Epigenomics*, 8(4), pp. 519–536. doi: 10.2217/EPI-2015-0011.

Timp, W. and Feinberg, A. P. (2013) 'Cancer as a dysregulated epigenome allowing cellular growth advantage at the expense of the host', *Nature reviews. Cancer*, 13(7), pp. 497–510. doi: 10.1038/NRC3486.

TJ, L. *et al.* (2013) 'Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia', *The New England journal of medicine*, 368(22), pp. 2059–2074. doi: 10.1056/NEJMOA1301689.

Tsukada, Y. I. *et al.* (2005) 'Histone demethylation by a family of JmjC domain-containing proteins', *Nature* 2005 439:7078, 439(7078), pp. 811–816. doi: 10.1038/nature04433.

Vellenga, E. *et al.* (2011) 'Autologous peripheral blood stem cell transplantation for acute myeloid leukemia', *Blood*, 118(23), pp. 6037–6042. doi: 10.1182/BLOOD-2011-07-370247.

Villa, R. *et al.* (2006) 'The methyl-CpG binding protein MBD1 is required for PML-RARalpha function', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(5), pp. 1400–1405. doi: 10.1073/PNAS.0509343103.

Villa, R. *et al.* (2007) 'Role of the Polycomb Repressive Complex 2 in Acute Promyelocytic Leukemia', *Cancer Cell*, 11(6), pp. 513–525. doi: 10.1016/J.CCR.2007.04.009.

Waddington, C. H. (2012) 'The epigenotype. 1942', *International journal of epidemiology*, 41(1), pp. 10–13. doi: 10.1093/IJE/DYR184.

Wang, F. *et al.* (2013) 'Targeted inhibition of mutant IDH2 in leukemia cells

induces cellular differentiation’, *Science (New York, N.Y.)*, 340(6132), pp. 622–626. doi: 10.1126/SCIENCE.1234769.

Wang, J. *et al.* (2010) ‘Autologous hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission: a meta-analysis of randomized trials’, *Acta haematologica*, 124(2), pp. 61–71. doi: 10.1159/000314273.

Ward, P. S. *et al.* (2010) ‘The common feature of leukemia-associated IDH1 and IDH2 mutations is a neomorphic enzyme activity converting alpha-ketoglutarate to 2-hydroxyglutarate’, *Cancer cell*, 17(3), pp. 225–234. doi: 10.1016/J.CCR.2010.01.020.

Ward, P. S. *et al.* (2013) ‘The potential for isocitrate dehydrogenase mutations to produce 2-hydroxyglutarate depends on allele specificity and subcellular compartmentalization’, *The Journal of biological chemistry*, 288(6), pp. 3804–3815. doi: 10.1074/JBC.M112.435495.

Webster, J. A. and Pratz, K. W. (2018) ‘Acute myeloid leukemia in the elderly: therapeutic options and choice’, *Leukemia & lymphoma*, 59(2), pp. 274–287. doi: 10.1080/10428194.2017.1330956.

Wei, A. *et al.* (2017) ‘Phase 1/2 Study of Venetoclax with Low-Dose Cytarabine in Treatment-Naive, Elderly Patients with Acute Myeloid Leukemia Unfit for Intensive Chemotherapy: 1-Year Outcomes’, *Blood*, 130(Suppl_1), p. 890. doi: 10.1182/BLOOD.V130.SUPPL_1.890.890.

Wei, A. H. *et al.* (2019) ‘The QUAZAR AML-001 Maintenance Trial: Results of a Phase III International, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study of CC-486 (Oral Formulation of Azacitidine) in Patients with Acute Myeloid Leukemia (AML) in First Remission’, *Blood*, 134(Supplement_2), p. LBA-3. doi: 10.1182/BLOOD-2019-132405.

Wood, A. J. *et al.* (2008) ‘Regulation of alternative polyadenylation by genomic imprinting’, *Genes & development*, 22(9), pp. 1141–1146. doi: 10.1101/GAD.473408.

Wouters, B. J. and Delwel, R. (2016a) ‘Epigenetics and approaches to targeted epigenetic therapy in acute myeloid leukemia’, *Blood*, 127(1), pp. 42–52. doi: 10.1182/BLOOD-2015-07-604512.

Wouters, B. J. and Delwel, R. (2016b) 'Epigenetics and approaches to targeted epigenetic therapy in acute myeloid leukemia', *Blood*, 127(1), pp. 42–52. doi: 10.1182/BLOOD-2015-07-604512.

Yen, K. *et al.* (2017) 'AG-221, a First-in-Class Therapy Targeting Acute Myeloid Leukemia Harboring Oncogenic IDH2 Mutations', *Cancer discovery*, 7(5), pp. 478–493. doi: 10.1158/2159-8290.CD-16-1034.

Zhang, R. J. *et al.* (2021) 'Hypomethylating agents for elderly patients with acute myeloid leukemia: a PRISMA systematic review and meta-analysis', *European review for medical and pharmacological sciences*, 25(6), pp. 2577–2590. doi: 10.26355/EURREV_202103_25421.

Zhang, Y. *et al.* (2013) 'A carrier-mediated prodrug approach to improve the oral absorption of antileukemic drug decitabine', *Molecular pharmaceutics*, 10(8), pp. 3195–3202. doi: 10.1021/MP400233X.

Ελευθερία Χατζημιχαήλ, Κωνσταντίνα Παπαθανασίου, Θ. Μ. (2017) 'Νέα Ταξινόμηση και Προγνωστικοί Δείκτες στην Οξεία Μυελογενή Λευχαιμία', *Haema*, 8(2), pp. 147–167.

Ιωάννης Μπαλταδάκης, Ι. Κ. (2017) 'Ο Ρόλος της Μεταμόσχευσης στη Θεραπευτική Αντιμετώπιση της ΟΜΛ.', *Haema*, 8(2), pp. 200–211. Available at: <https://docplayer.gr/128825317-Anaskopisi-o-rolis-tis-metamosheysis-sti-therapeytiki-antimetopisi-tis-oml-ioannis-mpaltadakis-ioannis-konstantellos-eisagogi.html> (Accessed: 15 April 2022).

Παπαϊωάννου, Μ. (2017) 'Μοριακές Διαταραχές στην ΟΜΛ', *Haema*, 8(2), pp. 136–146.