

Perspektywy dla terapii celowanej w ostrej białaczce szpikowej

The perspectives of the targeted therapy in acute myeloid leukemia

Sebastian Grosicki

Oddział Hematologiczny, SPZOZ ZSM, Chorzów

Streszczenie

Wyniki leczenia chorych z ostrą białaczką szpikową (AML) są wciąż dalece niesatysfakcjonujące. Wobec braku postępu w zakresie badań nad klasycznymi chemioterapeutykami nadzieje na poprawę wyników leczenia wiąże się z ideą terapii celowanej. Aby jednak tego typu leki mogły być skuteczne, miejscem ich uchwytu powinny być zasadnicze oraz najczęściej występujące elementy leukemogenezy. W AML jest to szczególnie trudne z powodu dużej różnorodności poszczególnych przypadków zarówno w zakresie objawów klinicznych i patogenezy, jak i zmienności cytogenetycznej i molekularnej. Jednak w ostatnich latach widoczny jest gwałtowny rozwój metod diagnostyki cytogenetycznej i molekularnej, co umożliwia coraz precyzyjniejsze określenie mutacji i szlaków sygnałowych, w tym również epigenetycznych, napędzających leukemogenezę w AML. Dzięki tym badaniom w większości przypadków AML udaje się coraz precyzyjniej określić rokowanie, co ułatwia kreowanie indywidualnego planu terapeutycznego dla każdego chorego, ale również pozwala na identyfikację aberracji stających się punktami uchwytu substancji na nie nacelowanych. Modelowym przykładem skutecznego leczenia celowanego w AML jest zastosowanie kwasu all-trans retinowego w ostrej białaczce promielocytowej z t(15;17)/PML-RARA. Wstępne wyniki badań nad innymi lekami celowanymi w poszczególnych podtypach ostrej białaczki szpikowej dają nadzieję na sprecyzowanie ich miejsca w praktyce klinicznej.

Słowa kluczowe: ostra białaczka szpikowa, terapia celowana, czynniki prognostyczne, chemioterapia

Hematologia 2011; 2, 1: 23–32

Abstract

Results of therapy of acute myeloid leukemia (AML) patients are still unsatisfactory. Since the progress in conventional chemotherapeutics is likely approaching its limits, novel targeted therapies are attractive candidates to improve treatment results. In principle, these drugs must target the critical pathogenetic pathway in the disease. Owing to the large heterogeneity of the disease, it is particularly difficult to identify such universal pathogenetic mechanism in AML. However, in recent years we have witnessed rapid progress in molecular diagnostics, characterization of molecular pathways, signaling cascades and epigenetic changes that shape

the leukemic phenotypes and facilitate individualized risk assessment and individualized therapeutic strategy. These studies also characterized certain genetic lesions, whose protein products are targetable. The model example of the effective, targeted treatment in AML is the use of the all-trans retinoid acid in acute promyelocytic leukemia with t(15;17)/PML-RARA. The promising results of studies addressing the role of targeted drugs in the individual subtypes of AML raise hope that these approach will find its place in the clinical practice and improve the results of treatment in AML patients.

Key words: acute myeloid leukemia, targeted therapy, prognostic factors, chemotherapy

Hematologia 2011; 2, 1: 23–32

Wprowadzenie

Wyniki leczenia wielu chorób nowotworowych, w tym większości podtypów ostrej białaczki szpikowej (AML, *acute myeloid leukemia*), wciąż pozostają dalece niesatisfakcjonujące. Aby uzyskać całkowitą remisję (CR, *complete remission*) choroby oraz jej utrzymanie, a tym samym przedłużenie życia i ostatecznie wyleczenie chorego, konieczne jest przeprowadzenie intensywnej, wysokodawkowanej chemioterapii indukująco-konsolidującej, a najczęściej również zabiegu autologicznego przeszczepienia krwiotwórczych komórek macierzystych (auto-HSCT, *autologous hematopoietic stem cell transplantation*) poprzedzonego megachemioterapią mieloablacyjną lub allogenicznego przeszczepienia krwiotwórczych komórek macierzystych (allo-HSCT, *allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*). Podstawą tak zaplanowanego, konwencjonalnego postępowania terapeutycznego są klasyczne cytostatyki, toksyczne dla szybko dzielących się komórek. Jak powszechnie wiadomo, działanie to nie jest wybiórcze dla komórek białaczkowych. Leki te uszkadzają również pozostałe tkanki, często prowadząc do ciężkich, zagrażających życiu powikłań. Obecnie wydaje się, że możliwości poznanych już grup cytostatyków stosowanych w leczeniu AML zostały dość ściśle określone, a wypracowane programy polichemioterapii uznane za standard nie mogą się zmienić w zakresie znacząco zmieniającym rokowanie chorych.

Obecnie wysiłek badawczy koncentruje się na idei poszukiwania leczenia celowanego, które by wybiórczo oddziaływało na komórki białaczkowe, będąc możliwie najmniej toksyczne dla prawidłowych, zdrowych tkanek. Idea tak prowadzonego leczenia jest bardzo atrakcyjna koncepcyjnie, ale czy takie leczenie może być skuteczne w tak agresywnej, heterogenicznej i zmiennej chorobie, jaką jest AML?

Znalezienie uniwersalnego leczenia celowanego w AML jest szczególnie trudne, ponieważ — jak powszechnie wiadomo — jej definicja obejmuje gru-

pę chorób, które różnią się między sobą pod względem patogenezy, zmian cytogenetycznych, objawów klinicznych, odpowiedzi na leczenie i rokowania. Należą one do chorób nowotworowych układu granulocytowo-monocytoowego, megakariocytowego lub erytroblastycznego i charakteryzują się zajęciem szpiku kostnego, krwi obwodowej i, często, narządów wewnętrznych przez klon zmienionych komórek, wywodzących się z wczesnych etapów krwiotworzenia. Już ta definicja wskazuje jednoznacznie, że mamy tu do czynienia z bardzo wieloma, często mocno się różniącymi chorobami, a więc znalezienie ich cech wspólnych, które mogłyby stać się punktem uchwytu dla terapii celowanej, jest szczególnie trudne.

Diagnostyczne różnice w AML

Obraz mikroskopowy rozmazu szpiku kostnego w AML, zdominowany przez młode, zmutowane komórki mieloblastyczne, obserwowany w mikroskopie pod mniejszym powiększeniem, tylko z pozoru robi wrażenie monotonnego i podobnego w każdym przypadku. Zwiększając powiększenie w mikroskopie, można dostrzec różnice już w budowie morfologicznej blastów u różnych chorych, a nawet u tego samego pacjenta po nieskutecznym leczeniu indukującym czy w czasie wznowy choroby. Sięgając po kolejne narzędzia diagnostyczne — od cytochemii, poprzez fenotyp antygenów powierzchniowych, do coraz bardziej wyrafinowanych metod cytogenetycznych i molekularnych — łatwo się przekonać, że w każdym przypadku AML jest inną chorobą, a nawet w każdej fazie leczenia komórki blastyczne mutują, zmieniając swoją budowę oraz wykształcając coraz skuteczniejsze mechanizmy oporności na leczenie.

Markery genetyczne w AML są podstawą do podziału na podgrupy oraz decydują o prognozowaniu i decyzji terapeutycznej. Obecnie metodami cytogenetycznymi można określić cechy decydujące o prognozowaniu w 55% przypadków. Te chromosomalne zmiany są heterogenne i zawierają licz-

bowe odchylenia od normy, takie jak zwielokrotnienia i utraty całych chromosomów, ale również zmiany strukturalne i przemieszczenia w obrębie poszczególnych chromosomów. Najczęstsze zmiany chromosomalne w AML można zaliczyć do kilku profili klinicznych [1]: t(8;21)/*AML1-ETO (RUNX1/RUNX1T1)*, inv(16)/*CBFB-MYH11*, t(15;17)/*PML-RARA*, które są związane z korzystnym rokowaniem, oraz przypadki ze złożonym kariotypem z 3 lub więcej zmianami chromosomowymi, które rokują niekorzystnie [2]. W ostatnich latach zidentyfikowano zmiany molekularne, które w ogromnej większości przypadków pozwalają na określenie rokowania u pozostałych 45% chorych z AML z prawidłowym kariotypem [3].

Leukemogeneza jako efekt współdziałania mutacji

Identyfikacja nowych markerów molekularnych u chorych z prawidłowym kariotypem prowadzi do nowej koncepcji leukemogenezy jako współdziałania mutacji. Mutacje zidentyfikowane w komórkach AML można, w uproszczeniu, podzielić na kilka klas [4].

Klasa I interferuje z transkrypcją i prowadzi do zatrzymania różnicowania poprzez bezpośredni wpływ genów fuzyjnych na czynniki transkrypcyjne, jak w przypadku białaczek *CBF (core-binding factor)* lub *PML-RARA*-dodatnich AML, lub przez niebezpośrednie oddziaływanie na procesy transkrypcji, jak na przykład w przypadku rearanżacji genu *MLL*. W tej grupie mieszczą się bardzo różne aberracje, takie jak odwrócona translokacja *CBF*, częściowe podwójne duplikacje, na przykład w *MLL-PTD (MLL z częściową podwójną duplikacją)*, mutacje punktowe (*RUNX1*), delecje lub insercje. Najczęściej występują one w białaczkach z inv(16)/t(16;16)/*CBFB-MYH11* i t(8;21)/*RUNX1/RUNX1T1* (6–10% przypadków AML) oraz w ostrej białaczce promielocytowej (APL, *acute promyelocytic leukemia*). Rokują one korzystnie pod warunkiem, że nie współistnieją z niekorzystnie rokującymi zmianami, takimi jak *FLT3-ITD* w APL lub mutacja *KIT-D816* w *RUNX1/RUNX1T1*-dodatnich AML. Do tej grupy należą również interchromosomalne rearanżacje *MLL*, które rokują niekorzystnie. Interferencja z transkrypcją może być również pośredniczona przez mutacje somatyczne genów, które kodują czynniki transkrypcyjne. Należy tu wymienić mutacje genowe, takie jak *CEBPA* czy *RUNX1*, które stwierdza się w 6–9% przypadków AML o prawidłowym kariotypie. Jeżeli występują one osobno, to rokują korzystnie. Również dysregulacja genu *HOX*,

który modyfikuje transkrypcję, wpływa na hematopoezę. W ostatnich badaniach wykazano również znaczenie genu *CDX2*, który reguluje funkcję genu *HOX*.

Klasa II mutacji jest reprezentowana przez mutacje aktywne, które przyspieszają proliferację komórek białaczkowych. Należy wymienić w tym przypadku mutacje genu *FLT3*, które przejmują kontrolę nad proliferacją komórkową, hamowaniem apoptozy i aktywacją dróg sygnałowych, takich jak na przykład przetwornik sygnałów i aktywator transkrypcji *STAT (signal transducer and activation of transcription)*. Mutacje *FLT3* należy podzielić na *FLT3-ITD (FLT3 z wewnętrzną podwójną duplikacją)*, którą identyfikuje się w 25–30% AML — o niekorzystnym rokowaniu — i *FLT3-TKD (FLT3 z mutacją domeny kinazy tyrozynowej)*, która występuje w 2% AML i ma nieokreślone rokowanie. Występują one częściej w białaczkach *CBF* i pogarszają rokowanie. Mutacje *RAS* regulują cykl komórkowy i procesy różnicowania. Ich znaczenie prognostyczne nie zostało ściśle określone. Inne aktywne mutacje dotyczą somatycznej mutacji V617F genu *JAK2*, który pierwotnie wiązano z przewlekłymi nowotworami mieloproliferacyjnymi (CMPN, *chronic myeloproliferative neoplasms*). Obecnie stwierdza się ją w 2–8% przypadków AML, częściej we wtórnych do CMPN i częściej związanych z t(8;21) [5, 6].

Niedawno odkryto III klasę mutacji, które zaburzą komunikację międzykomórkową lub apoptozę; zalicza się do nich na przykład *NPM1* [7]. Mutacja w zakresie *NPM1* jest najczęstszą z poznanych zmianą w AML (35% przypadków) i jeżeli jest to pojedyncza zmiana przy prawidłowym kariotypie, to rokowanie jest korzystne. Do tej kategorii zalicza się również nowotworowy gen supresorowy *TP53*. Częstość jego występowania w nieleczonej AML to około 10% i zwiększa się z wiekiem oraz po kolejnych etapach chemioterapii.

Inne zmiany genetyczne, które mogą się stać celem terapii selektywnej, to *WT1*, *BAALC*, *ERG*, *MN1*, *EVI* [8]. Ich znaczenie dla leukemogenezy nie jest jednak wciąż do końca wyjaśnione. Gen *WT1* stwierdza się w wielu białaczkach i wykazuje on silną korelację z prawidłowym kariotypem. Wydaje się, że jest to gen supresorowy, ale może grać również rolę jako onkogen zaangażowany w aktywację transkrypcji lub hamowanie różnicowania. Gen *BAALC* jest stwierdzany w różnych białaczkach, ale również w tkance neuroektodermalnej. Jego występowanie koreluje z prawidłowym kariotypem i pogarsza rokowanie. Również nadekspresja genów *WT1*, *BAALC*, *ERG*, *MN1*, *EVI* źle rokuje [8]. Te dane prawdopo-

Tabela 1. Elementy leukemogenezy w ostrej białaczce szpikowej (AML) oraz drogi i mechanizmy ich neutralizacji (źródło: [9])**Table 1.** Components of the acute myeloid leukemia (AML) leukemogenesis and the ways and mechanisms of its neutralization (source: [9])

Cel	Substancja celowana	Mechanizm
<i>PML-RARA</i> w ostrej białaczce promielocytowej z t(15;17)(q22;q21)	ATRA Trójtlenek arsenu (As ₂ O ₃)	Supresja zahamowania różnicowania powodowanego przez fuzję <i>PML-RARA</i> Indukcja różnicowania Degradacja białek fuzyjnych kodowanych przez onkogen <i>PML-RARA</i> Indukcja różnicowania
AML z mutacją <i>FLT3</i>	Niespecyficzne inhibitory <i>FLT3</i> : • inhibitory indolinowej kinazy tyrozynowej (SU5416; sunitynib — SU11248) • małe substancje molekularne — PKC412 Specyficzny inhibitor <i>FLT3</i> — tandutynib (MLN518), CEP701	Inhibicja szlaków sygnałowych przez MAPK i STAT Ograniczenie proliferacji komórkowej Zwiększenie apoptozy Indukcja zahamowania cyklu komórkowego
CD117-dodatnie lub AML z mutacją <i>c-KIT</i>	Imatynib	Ochrona autofosforylacji kinazy tyrozynowej receptora <i>c-KIT</i>
<i>c-KIT</i> mutacje w białaczkach CBF (<i>RUNX1/RUNX1T1</i> ; <i>CBFB-MYH11</i>)	Dazatynib	Aktywacja drogi sygnałowej poprzez MAPK i Akt
Konstytutywna aktywacja MAPK, np. w AML z mutacjami <i>RAS</i>	Inhibitory transferazy farnesylowej: • tipifarnib (R1157777) • lonafanib	Inhibicja transferaz farnesyli Inhibicja związania RAS z powierchnią komórkową — indukcja apoptozy
Hipermetylacja DNA	Czynniki demetylujące: • 5-azacytydyna • decytabina (5-aza-2'-deoxycytidine)	Redukcja hipermetylacji Reekspresja genów supresorowych guza
Aktywacja deacetylazy	Inhibitory deacetylazy histonowej (HDAC) — kwas walproinowy	Indukcja hiperacetytacji histonowej Indukcja apoptozy i różnicowania Zaburzenie ekspresji <i>c-MYC</i> Pozostaje nieokreślony
AML z mutacją <i>NPM1/FLT3</i> bez niekorzystnych zmian chromosomalnych	ATRA (jako dodatek do leków cytotoksycznych)	

PML-RARA — gen fuzyjny *PML-RARA*; ATRA (*all-trans retinoic acid*) — kwas all-trans retinowy; t(15;17)(q22;q21) — translokacja (15;17)(q22;q21); *FLT3* (*gen mutation of FMS-like tyrosine kinase 3*) — mutacja genu kinazy tyrozynowej 3 FMS-podobnej; MAPK (*mitogen-activated protein kinases*) — kinazy białek aktywowanych mitogenem; STAT (*signal transducers and activators of transcription*) — przekaźniki i aktywatory transkrypcji; CD117 — antygen różnicowania powierzchniowego 117; *c-KIT* — mutacja genu *c-KIT*; CBF (*core binding factor*) — czynnik wiążący rdzeń; *RUNX1/RUNX1T1* — gen *RUNX1/RUNX1T1*; *CBFB-MYH11* — gen *CBFB-MYH11*; Akt — szlak sygnałowy Akt; *c-MYC* — mutacja genu białka *c-MYC*; HDAC (*histone deacetylase*) — deacetylaza histonowa

dobnie spowodują umieszczenie ich w przyszłości wśród kryteriów stratyfikacji.

Mutacje i szlaki sygnałowe leukemogenezy jako punkty uchwytu leczenia celowanego

Poznanie zaburzeń związanych z leukemogenezą pozwoliło nie tylko poznać mechanizmy rozwoju białaczki, ale również odsłoniło punkty uchwytu do opracowywania leków celowanych. Wobec ogromnej różnorodności zmian odkrywanych w klonach komórek białaczkowych konieczne jest wytypowanie tych, które mają bardziej zasadnicze znaczenie w leukemogenezie, by możliwe było zastoso-

wanie blokujących je substancji w większej liczbie przypadków (tab. 1), a do takich należy zaliczyć te mutacje, które interferują pomiędzy zaburzeniem dojrzewania i nadmierną proliferacją.

Mutacje interferujące z transkrypcją jako cel leczenia

Ostra białaczka promielocytowa była pierwszym modelem terapii celowanej w AML [10]. Duże dawki kwasu all-trans retinowego (ATRA, *all-trans retinoic acid*) są zdolne do pobudzenia różnicowania, którego zahamowanie jest powodowane przez fuzję *PML-RARA* [11] (tab. 1) i w połączeniu z chemioterapią opartą na antracyklinie powoduje wyleczenie u 80% chorych. Trójtlenek arsenu indukuje

degradację białek fuzyjnych kodowanych przez onkogen *PML-RARA* i indukuje różnicowanie komórek białaczkowych [12]. Sugeruje się, że kombinacja ATRA i trójtlenku arsenu może być skuteczna u chorych z niskim profilem ryzyka (tab. 2), a terapia oparta na antracyklinie i cytarabinie, biorąc pod uwagę jej toksyczność, może być zarezerwowana dla chorych z grupy wysokiego ryzyka [13]. Wyniki przeprowadzonych ostatnio badań wskazują, że niepodanie antracykliny w przypadkach z leukocytozą poniżej 10 G/l przy rozpoznaniu nie pogarsza rokowania. Te obserwacje świadczą o tym, że strategia leczenia w AML z t(15;17)/*PML-RARA* powinna być nie tylko oparta na lekach celowanych, ale musi być również uzależniona od ryzyka.

Receptory aktywowane przez kinazy tyrozynowe jako cel leczenia

Receptor dla kinazy tyrozyny (RTK, *receptor tyrosine kinase*) aktywuje szlak o głównym znaczeniu w patogenezie AML. Sposoby postępowania są nacelowane na różne RTK, na przykład FLT3 (*FMS-like tyrosine kinase 3*), c-KIT i szlaki aktywowane przez kinazę 3-fosfoinozytolu (POI3K, *phosphoinositide 3-kinase*) i kinazy białek aktywowanych mitogenem (MAPK, *mitogen-activated protein kinases*) [14, 15] (tab. 1).

Duża częstość mutacji FLT3 w AML (35–40%) skierowały uwagę badaczy na odkrycie inhibitorów kinazy tyrozynowej (TKI, *tyrosine kinase inhibitors*) specyficznej dla FLT3 (tab. 1). Badano wiele substancji nacelowanych na FLT3-RTK [16, 17], z których wszystkie są potencjalnie aktywne wobec FLT3-ITD, ale różnią się pod względem selektywności i specyficzności dla hamowania kinaz. Inhibitory indolinowej kinazy tyrozyny SU5416 i sunitynib (SU11248) [18–20], niskomolekularne inhibitory FLT3 PKC412 [21, 22] i sorafenib (Bay 43-9006) [23] są postrzegane jako niespecyficzne inhibitory FLT3. Dla porównania, lestaurynib (CEP-701) oraz tandutynib (MLN518) [24, 25] wydają się bardziej selektywne wobec kinaz FLT3. Inhibitory FLT3 są bardzo heterogenne, biorąc pod uwagę strukturę chemiczną, farmakokinetykę, profil toksyczności i skuteczność, ale wszystkie hamują proliferację i indukują apoptozę poprzez dysregulację białek proapoptotycznych [23, 26]. W badaniach klinicznych z użyciem inhibitorów FLT3 w monoterapii obserwowano ograniczoną i przejściową odpowiedź, najczęściej z powodu rozwinięcia się oporności [18–21, 23] (tab. 2).

Innym obiecującym celem jest c-KIT-RTK, ponieważ czynnik komórek macierzystych c-KIT

(CD117) stwierdza się w więcej niż 70% komórek w AML [27, 28], a mutacje *c-KIT* zdarzają się w więcej niż 40% białaczek *CBF*. Imatynib (IM), który jest głównie znany jako TKI BCR-ABL1, również hamuje c-KIT poprzez ochronę przed autofosforylacją oraz hamowanie szlaku sygnałowego poprzez MAPK i Akt (tab. 1). Jednakże wyniki badań przedklinicznych nad IM stosowanym w c-KIT-dodatnich AML są kontrowersyjne (tab. 2). W kilku badaniach obserwowano niewielki efekt [29], ale w badaniach *in vitro* wykazano zależny od dawki efekt proapoptotyczny [30]. W kilku badaniach stwierdzano efekt IM w leczeniu AML CD117-dodatnich, ale bez mutacji *c-KIT* [27]. W badaniu w grupie 40 starszych chorych z AML lub zespołem mielodysplastycznym (MDS, *myelodysplastic syndrome*) wysokiego ryzyka, wykazujących ekspresję CD117, skojarzenie małych dawek cytarabiny i IM wiązało się z 20-procentowym przeżyciem po 2 latach, co było porównywalne ze standardowym leczeniem mielosupresyjnym w grupie historycznej [31] (tab. 2).

Również MAPK jest konstytutywnie aktywowana w większości przypadków AML. Aktywacja drogi sygnalizacyjnej MAPK może być pośredniczona przez mutacje *RAS-NRAS*, *KRAS* lub *HRAS*, które bywają stwierdzane w około 15% przypadków AML we wszystkich podtypach [32] (tab. 1). Inhibitory transferazy farnezylowej (FTI, *farnesyltransferase inhibitors*) wykazują indukcję apoptozy i zmniejszają proliferację [33]. Kilka FTI jest obecnie włączonych do badań klinicznych, na przykład (R1157777), który — stosowany w monoterapii w opornej lub nawrotowej AML — wykazuje odpowiedź kliniczną na poziomie 29% [34, 35] (tab. 2), jednak tylko w pojedynczych przypadkach obserwowano CR [36]. Również tipifarnib zastosowany w grupie starszych chorych obciążonych wysokim ryzykiem był dobrze tolerowany i uzyskano odpowiedź na poziomie ponad 20%. Wobec zachęcających wyników leczenia AML tipifarnibem próbuje się formułować rekomendacje dotyczące jego zastosowania [37]. Obecnie badane są kombinacje różnych substancji nacelowanych na różne punkty uchwytu. Sugeruje się, że skojarzenie tipifarnibu i bortezomibu ma efekt synergistyczny w AML [38].

Szlaki pozagenowe

Metylacja DNA jest związana z kontrolą ekspresji genów, jednakże aberrantna hipermetylacja DNA w białaczkach skutkuje supresją funkcji genów. Istnieją koncepcje, że demetylacja DNA może

Tabela 2. Wyniki najważniejszych badań nad leczeniem celowanym w ostrej białaczce szpikowej (AML) (źródło: [9])

Table 2. Results of the most important trials regarding targeted therapy in acute myeloid leukemia (AML) (source: [9])

Kierunek leczenia	Referencje	Chorzy	Leczenie	Wyniki	Interpretacja
Inhibitor <i>FLT3</i> — PKC42 (faza 2)	Stone i wsp., 2005 [21]	20 opornych z mutacją <i>FLT3</i> lub nawrotową AML	3 × 75 mg/d. <i>p.o.</i> do czasu stwierdzenia toksyczności lub progresji choroby	Korzyść kliniczna: 70% PR: 33%	Toksyczność akceptowalna (2 ciężkie zdarzenia płucne); obiecujące wyniki leczenia w AML z mutacją <i>FLT3</i>
ATRA z ATO w APL (+ GO)	Estey i wsp., 2006 [12]	25 z APL niskiego ryzyka (WBC = 10 G/l); (WBC > 10 G/l)	APL niskiego ryzyka: • indukcja: ATRA (45 mg/m ² /d. od 1. dnia) • poremisyjnie: ATRA + ATO bez chemioterapii do 28 tyg.; MRD po 3 mies. dodatknie: + GO APL wysokiego ryzyka: jak w przypadku niskiego ryzyka i zawsze + 9 mg/m ² GO 1. dnia	CR: • APL niskiego ryzyka: 96% • nawroty: 8% po indukcji GO tylko u 3 chorych z APL wysokiego ryzyka	ATRA z ATO stanowi alternatywę dla chemioterapii stosowanej u pacjen- tów z APL niskiego ryzyka; może poprawiać wyniki w APL wysokiego ryzyka
Antagonista <i>FLT3</i> — tandutynib (MLN518) (faza 1)	DeAngelo i wsp., 2006 [23]	40 z opornymi i nawroto- wymi AML/MDS wysokiego ryzyka; 8 z mutacją <i>FLT3</i>	2 × 500–700 mg/d. <i>p.o.</i> (dawka eskalowana) do 12 mies.	Efekt przeciwbiałaczkowy u 2/5 ocenianych chorych z <i>FLT3-ITD</i> ; bez efektu w <i>FLT3-wild type</i>	Tandutynib powinien być intensyw- niej badany u chorych z AML z mutacją <i>FLT3</i>
Imatynib z małymi dawkami Ara-C u starszych chorych z AML z mutacją c-KIT/MDS wysokiego ryzyka (faza 2)	Heidel i wsp., 2007 [30]	34 z AML, 6 z MDS; 38 ocenianych chorych; mediana wieku 73 lata	Imatynib 600 mg/d. <i>p.o.</i> Ara-C 10 mg <i>s.c.</i> /d. od 1. do 21. dnia, co 28 dni maksy- malnie przez 12 mies.	Stabilizacja choroby: 21% odpowiedź hematolo- giczna: 8% 2-letnie OS: 20%	Imatynib + małe dawki Ara-C — wyniki porównywalne do leczenia mielosupresyjnego, ale nie lepsze od małych dawek Ara-C w monoterapii; chorzy powinni być lepiej dobrani
Decytabina w mono- terapii lub w skoja- rzeniu z kwasem walproinowym w AML (faza 1)	Blum i wsp., 2007 [46]	25 z AML, w tym 12 niele- czonych i 13 z nawrotami; 21 ocenianych chorych; mediana wieku 70 lat	Decytabina 20 mg/m ² <i>i.v.</i> ; w dniach 1.–10. — w mono- terapii lub w skojarzeniu z eskalowaną dawką 20–25 mg/d. kwasu wal- proinowego w dniach 5.–21.	Odpowiedź hema- tologiczna: 52% CR: 19%	Małe dawki decytabiny były bez- pieczne, a wyniki leczenia są zachę- cające w AML Dodanie kwasu walproinowego pro- wadzi do encefalopatii w przypadku stosowania relatywnie małych dawek
Inhibitor transferazy farnazyłowej: tipifarnib w opornych lub nawro- towych AML (faza 2)	Harousseau i wsp., 2007 [35]	252, w tym 117 opornych i 135 ze wznową; mediana wieku 62 lata	Tipifarnib 2 × 600 mg, w dniach 1.–21. <i>p.o.</i> ; co 4 tyg. Leczenie możliwe do prog- resji lub nieakceptowalnej toksyczności	OR: 12% CR: 4% Mediana CR, długość: 17,3 mies. Mediana CR, długość: 369 dni	Stosowanie tipifarnibu wiązało się z wydłużeniem przeżycia chorych z oporną lub nawrotową AML Uzyskano wysoki poziom odpowie- dzi, jednak lek wymaga podawania w skojarzeniu z innymi czynnikami terapeutycznymi
	Lancet i wsp., 2007 [48]	158 starszych chorych z AML dużego ryzyka; mediana wieku 74 lata	Tipifarnib 2 × 600 mg, dni 1.–21. <i>p.o.</i> ; a następną przerwa do 42. dnia Przed 2. kursem maksy- malnie 4 cykle u chorych odpowiadających na leczenie	OR: 23% CR: 14% Mediana CR, długość: 7,3 mies. Mediana przeżycia w CR: 18 mies.	Tipifarnib jest aktywny i dobrze tolerowany u starszych chorych ze źle rokującą AML Chorzy odpowiadający na leczenie mogą odnieść korzyść

FLT3 (gen mutation of *FMS-like tyrosine kinase 3*) — mutacja genu kinazy tyrozynowej 3 FMS-podobnej; *p.o.* (*per os*) — doustnie; PR (*partial remission*) — remisja częściowa; ATRA (*all-trans retinoic acid*) — kwas all-trans retinowy; ATO (*arsenic trioxide*) — trójtlenek arsenu; APL (*acute promyelocytic leukemia*) — ostra białaczka promielocytowa; WBC (*white blood cell*) — liczba krwinek białych; MRD (*minimal residual disease*) — minimalna choroba resztkowa; GO — gemtuzumab ozogamycyny; CR (*complete remission*) — remisja całkowita; MDS (*myelodysplastic syndrome*) — zespół mielodysplastyczny; *FLT3-ITD* (*FLT3-internal tandem duplication*) — wewnętrzna podwójna duplikacja *FLT3*; *FLT3-wild type* — dziki typ *FLT3*; *s.c.* (*subcutaneous*) — podskórnie; OS (*overall survival*) — przeżycie całkowite; *i.v.* (*intravenous*) — dożylnie; Ara-C — cytarabina; OR (*overall response*) — odpowiedź całkowita

powodować reaktywację aberrantnie wyciszonych genów. Substancje hipometylujące, takie jak analogi pirymidynowe — 5-azacytydina lub decytabina, wykazują ewidentną korzyść w badaniach III fazy u chorych z MDS, zarówno w odniesieniu do czasu przeżycia, jak i ryzyka transformacji do AML (tab. 2). Również ponad 40% chorych z nowo rozpoznaną AML lub ze wznową odpowiada na leczenie decytabiną, co daje nadzieję na szersze zastosowanie czynników demetylujących w schorzeniach mielo-proliferacyjnych. Obecnie bada się połączenie azacytydyny oraz przeciwciała monoklonalnego anti-CD33, obserwując synergię ich działania [39].

Hamowanie aktywności deacetylaz histonowych (HDAC, *histone deacetylases*) jest kolejnym obiecującym kierunkiem badań (tab. 1). Są one częścią procesów zwijania i rozwijania DNA wokół białek histonowych, jako warunek wstępny ekspresji genów. Blokada tych mechanizmów może być uzyskana przez inhibitory HDAC, co prowadzi do hiperacetylacji ze zmianą struktury chromatyny i ekspresji genu. W ostatnim czasie badano różne inhibitory HDAC, w tym kwas walproinowy [40–42], worinostat [43], LBH589 [44] i MGCD0103 [45]. Obiecujące wydaje się łączenie inhibitorów HDAC z czynnikami demetylującymi, takimi jak 5-azacytydina (tab. 2). Takie postępowanie pozwoliło na uzyskanie 38% odpowiedzi wśród 29 chorych z AML i MDS [46]. Jednakże łączenie tych substancji powoduje powikłania w postaci encefalopatii [47, 48]. Połączenie kwasu walproinowego z anti-CD33 (GO, gemtuzumab ozogamycyny) może stanowić nowy kierunek badań, co jest sugerowane na podstawie badań *in vitro* [49].

Alternatywne kierunki postępowania

W 2004 roku Schlenk i wsp. [50] opublikowali wyniki badania obejmującego 242 chorych z AML powyżej 60. roku życia z różnych podgrup cytogenetycznych i molekularnych, innych niż APL, w którym dodanie ATRA do terapii indukującej i konsolidującej znamienne poprawiło odsetek uzyskiwanych remisji. Na podstawie badań retrospektywnych wykazano, że korzyść z dodania ATRA odnoszą tylko chorzy z AML z mutacją *NPM1*, ale bez *FLT3* i bez niekorzystnego kariotypu. W innych podgrupach wyniki były takie same jak po leczeniu standardowym.

Użycie antysensów oligonukleotydowych może hamować ekspresję różnych genów, co jest obecnie badane klinicznie. Oblimersen sodowy, który początkowo badano w przewlekłej białaczce limfocytowej, jest nacelowany na hamowanie nadekspresji białka BCL-2, które odpowiada za przedłużenie

życia komórek [51]. Badania kliniczne w AML obejmują jego kombinacje z chemioterapią [52] lub z GO [53], ale wyniki i wnioski z takiego postępowania nie zostały dotąd sformułowane.

W związku z wysoką ekspresją genu *WT1* w białaczkach wydaje się, że białko to jest atrakcyjnym koncepcyjnie antygenem docelowym immunoterapii. Prowadzono badania w celu generowania cytotoksycznych limfocytów T u zdrowych dawców skierowanych przeciwko epitopom HLA-A2 i HLA-A24, w celu zniszczenia komórek WT1-pozytywnych [54–57]. Potwierdzono, że w organizmie osób zdrowych i chorych są obecne przeciwciała WT1 swoiste. Ponieważ białko WT1 występuje w zdrowych komórkach, istnieje niebezpieczeństwo, że po zastosowaniu szczepionki nastąpi proces autoimmunizacji. Opublikowano pierwsze wyniki badań tak prowadzonej terapii, które wydają się obiecujące [55, 57].

Gemtuzumab ozogamycyny jest humanizowanym, monoklonalnym przeciwciałem anti-CD33 połączonym z antybiotykiem cytotoksycznym — kalicheamicyną. Reprezentuje on dobrze tolerowaną opcję terapeutyczną, ale wciąż nie wiadomo, jaki powinien być optymalny schemat jego podania, mimo że pierwsze wyniki badań nad zastosowaniem tej substancji opublikowano już w roku 1999 [58]. Dość częste powikłanie tego leczenia to choroba weno-okluzyjna wątroby, które nasilała się po kojarzeniu GO z topotekaniem lub cytarabiną [59, 60]. W monoterapii w leczeniu pierwszego nawrotu AML uzyskano około 30% remisji, przy akceptowalnej toksyczności [61]. Dodatkowo supresor cykliny SOCS3 hamuje wywołany przez GO blok indukowanej cykliną proliferacji. W konsekwencji zmienna odpowiedź komórek AML na ten lek może być powodowana modulacją ekspresji *SOCS3*. Wykazano, że podanie GO kilka dni przed chemioterapią jest skuteczniejsze niż bezpośrednio przed nią [62].

Perspektywy i wnioski

Idea zastosowania terapii celowanej w AML pojawiła się stosunkowo późno względem pierwszych prób klinicznego zastosowania retinoidów w AML prawie 40 lat temu [63]. Skuteczne użycie ATRA w APL z *t(15;17)/PML-RARA* było potwierdzeniem, że skuteczne leczenie celowane w AML jest możliwe.

Obecnie uważa się, że proces leukemogenezy to pochodna interakcji różnych zmian genetycznych [5] (tab. 1), złożonych interakcji różnych szlaków sygnałowych, ale również mechanizmów epigenetycznych [42, 64]. Złożony mechanizm leukemoge-

nezy w przebiegu różnych postaci AML wykazuje wiele punktów zbieżności, w tym w zakresie szlaków sygnałowych STAT [65], współwystępowania tych samych aberracji molekularnych i cytogenetycznych lub mechanizmów epigenetycznych, na przykład hipermetylacji [43].

Te szczegóły dotyczące zmian i szlaków leukemogennych stanowią podstawę do poszukiwania czynników i strategii nacelowanych na mutacje genetyczne lub szlaki epigenetyczne. Przykładami są TKI dla przypadków z mutacjami *FLT3* [19, 20], IM w przypadkach z mutacjami *c-KIT* lub związki demetylujące [47]. Wyniki publikowanych obecnie badań dają nadzieję, że terapia AML będzie w przyszłości w większym stopniu nakierowana na cele genetyczne i pozagenetyczne, definiowane indywidualnie dla każdego chorego.

Należy jednak podkreślić różnice między atrakcyjnością potencjalnych leków w zakresie teorii mechanizmu działania i ich skuteczności w badaniach przedklinicznych a ograniczonym lub przejściowym efektem, gdy są podawane chorym. Jednym z powodów może być koegzystencja nieznanych jeszcze obecnie kofaktorów genetycznych i pozagenowych. Należy jednak mieć nadzieję, że nowe technologie, w tym mapowanie ekspresji genów [66], wypełnią te luki w niedalekiej przyszłości poprzez zdefiniowanie nowych celów molekularnych lub ocenę wrażliwości na leki [67, 68].

Przykład modelu, jakim jest APL, wskazuje na możliwość skutecznego zastosowania technik leczenia nacelowanego, szczególnie w przypadkach o korzystnym rokowaniu molekularnym i cytogenetycznym, choć i w tym przypadku przy planowaniu strategii terapeutycznej dla poszczególnych chorych należy brać pod uwagę wszystkie czynniki ryzyka, których znaczenie jest znane. W innych podtypach AML miejsce leków celowanych nie zostało jeszcze zdefiniowane, ale dotychczasowe obserwacje dotyczące niektórych z nich dają nadzieję na ich szersze użycie w nieodległej przyszłości [69].

Coraz szersza wiedza na temat mechanizmów leukemogenezy stanowi jednak już teraz olbrzymi kapitał pozwalający na coraz precyzyjniejsze określanie ryzyka w ogromnej większości przypadków chorych na AML, a tym samym umożliwia planowanie indywidualnej strategii leczenia, także z zastosowaniem leków celowanych.

Piśmiennictwo

1. Bloomfield C.D., Shuma C., Regal L. i wsp. Long-term survival of patients with acute myeloid leukemia: a third follow-up of the

- Fourth International Workshop on Chromosomes in Leukemia. *Cancer* 1997; 80: 2191–2198.
2. Schoch C., Haferlach T., Haase D. i wsp. Patients with *de novo* acute myeloid leukaemia and complex karyotype aberrations show a poor prognosis despite intensive treatment: a study of 90 patients. *Br. J. Haematol.* 2001; 112: 118–126.
3. Marcucci G., Mrozek K., Bloomfield C.D. Molecular heterogeneity and prognostic biomarkers in adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics. *Curr. Opin. Hematol.* 2005; 12: 68–75.
4. Gilliland D.G., Jordan C.T., Felix C.A. The molecular basis of leukemia. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2004: 80–97.
5. Gilliland D.G. Hematologic malignancies. *Curr. Opin. Hematol.* 2001; 8: 189–191.
6. Frankfurt O., Licht J.D., Tallman M.S. Molecular characterization of acute myeloid leukemia and its impact on treatment. *Curr. Opin. Oncol.* 2007; 19: 635–649.
7. Renneville A., Roumier C., Biggio V. i wsp. Cooperating gene mutations in acute myeloid leukemia: a review of the literature. *Leukemia* 2008; 22: 915–931.
8. Rocquain J., Carubbia N., Trouplin V. i wsp. Combined mutations of *ASXL1*, *CBL*, *FLT3*, *IDH1*, *IDH2*, *JAK2*, *KRAS*, *NPM1*, *NRAS*, *RUNX1*, *TET2* and *WT1* genes in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemias. *BMC Cancer* 2010; 10: 401.
9. Haferlach T. Molecular genetic pathways as therapeutic targets in acute myeloid leukemia. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2008: 400–411.
10. Lo C.F., Diverio D., Falini B. i wsp. Genetic diagnosis and molecular monitoring in the management of acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1999; 94: 12–22.
11. Lin R.J., Evans R.M. Acquisition of oncogenic potential by RAR chimeras in acute promyelocytic leukemia through formation of homodimers. *Mol. Cell.* 2000; 5: 821–830.
12. Lallemand-Breitenbach V., Jeanne M., Benhenda S. i wsp. Arsenic degrades PML or PML-RARalpha through a SUMO-triggered RNF4/ubiquitin-mediated pathway. *Nat. Cell. Biol.* 2008; 10: 547–555.
13. Estey E., Garcia-Manero G., Ferrajoli A. i wsp. Use of all-trans retinoic acid plus arsenic trioxide as an alternative to chemotherapy in untreated acute promyelocytic leukemia. *Blood* 2006; 107: 3469–3473.
14. Doepfner K.T., Boller D., Arcaro A. Targeting receptor tyrosine kinase signaling in acute myeloid leukemia. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2007; 63: 215–230.
15. Nishioka C., Ikezoe T., Yang J., Yokoyama A. Long-term exposure of leukemia cells to multi-targeted tyrosine kinase inhibitor induces activations of AKT, ERK and STAT5 signaling via epigenetic silencing of the PTEN gene. *Leukemia* 2010; 24: 1631–1640.
16. Tallman M.S. New agents for the treatment of acute myeloid leukemia. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2006; 19: 311–320.
17. Illmer T., Ehninger G. FLT3 kinase inhibitors in the management of acute myeloid leukemia. *Clin. Lymphoma Myeloma* 2007; 8 (supl. 1): S24–S34.
18. Smolich B.D., Yuen H.A., West K.A. i wsp. The antiangiogenic protein kinase inhibitors SU5416 and SU6668 inhibit the SCF receptor (c-KIT) in a human myeloid leukemia cell line and in acute myeloid leukemia blasts. *Blood* 2001; 97: 1413–1421.

19. Fiedler W., Mesters R., Tinnefeld H. i wsp. A phase 2 clinical study of SU5416 in patients with refractory acute myeloid leukemia. *Blood* 2003; 102: 2763–2767.
20. O'Farrell A.M., Foran J.M., Fiedler W. i wsp. An innovative phase I clinical study demonstrates inhibition of FLT3 phosphorylation by SU11248 in acute myeloid leukemia patients. *Clin. Cancer Res.* 2003; 9: 5465–5476.
21. Weisberg E., Boulton C., Kelly L.M. i wsp. Inhibition of mutant FLT3 receptors in leukemia cells by the small molecule tyrosine kinase inhibitor PKC412. *Cancer Cell.* 2002; 1: 433–443.
22. Stone R.M., DeAngelo D.J., Klimek V. i wsp. Patients with acute myeloid leukemia and an activating mutation in FLT3 respond to a small-molecule FLT3 tyrosine kinase inhibitor, PKC412. *Blood* 2005; 105: 54–60.
23. Zhang W., Konopleva M., Shi Y.X. i wsp. Mutant FLT3: a direct target of sorafenib in acute myelogenous leukemia. *J. Natl. Cancer Inst.* 2008; 100: 184–198.
24. DeAngelo D.J., Stone R.M., Heaney M.L. i wsp. Phase 1 clinical results with tandutinib (MLN518), a novel FLT3 antagonist, in patients with acute myelogenous leukemia or high-risk myelodysplastic syndrome: safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. *Blood* 2006; 108: 3674–3681.
25. Shabbir M., Stuart R. Lestaurtinib, a multitargeted tyrosine kinase inhibitor: from bench to bedside. *Exp. Opin. Invest. Drugs* 2010; 19: 427–436.
26. Sanz M., Burnett A., Lo-Coco F., Löwenberg B. FLT3 inhibition as a targeted therapy for acute myeloid leukemia. *Curr. Opin. Oncol.* 2009; 21: 594–600.
27. Holowiecki J., Grosicki S., Robak T. i wsp.; Polish Adult Leukemia Group (PALG). Addition of cladribine to daunorubicin and cytarabine increases complete remission rate after a single course of induction treatment in acute myeloid leukemia. Multicenter, phase III study. *Leukemia* 2004; 18: 989–997.
28. Kindler T., Breitenbuecher F., Marx A. i wsp. Efficacy and safety of imatinib in adult patients with c-kit-positive acute myeloid leukemia. *Blood* 2004; 103: 3644–3654.
29. Scappini B., Onida F., Kantarjian H.M. i wsp. Effects of signal transduction inhibitor 571 in acute myelogenous leukemia cells. *Clin. Cancer Res.* 2001; 7: 3884–3893.
30. Cammenga J., Horn S., Bergholz U. i wsp. Extracellular C-KIT receptor mutants, commonly found in core binding factor AML, are constitutively active and respond to imatinib mesylate. *Blood* 2005; 106: 3958–3961.
31. Heidel F., Cortes J., Rucker F.G. i wsp. Results of a multicenter phase II trial for older patients with c-Kit-positive acute myeloid leukemia (AML) and high-risk myelodysplastic syndrome (HR-MDS) using low-dose Ara-C and Imatinib. *Cancer* 2007; 109: 907–914.
32. Bowen D.T., Frew M.E., Hills R. i wsp. RAS mutation in acute myeloid leukemia is associated with distinct cytogenetic subgroups but does not influence outcome in patients younger than 60 years. *Blood* 2005; 106: 2113–2119.
33. Sebt S.M., Hamilton A.D. Farnesyltransferase and geranylgeranyltransferase I inhibitors and cancer therapy: lessons from mechanism and bench-to-bedside translational studies. *Oncogene* 2000; 19: 6584–6593.
34. Karp J.E., Lancet J.E., Kaufmann S.H. i wsp. Clinical and biologic activity of the farnesyltransferase inhibitor R115777 in adults with refractory and relapsed acute leukemias: a phase 1 clinical-laboratory correlative trial. *Blood* 2001; 97: 3361–3369.
35. Burnett A.K., Kell J. Tipifarnib in acute myeloid leukemia. *Drugs Today (Barc.)* 2007; 43: 795–800.
36. Harousseau J.L., Lancet J.E., Reiffers J. i wsp. A phase 2 study of the oral farnesyltransferase inhibitor tipifarnib in patients with refractory or relapsed acute myeloid leukemia. *Blood* 2007; 109: 5151–5156.
37. Epling-Burnette P.K., Loughran T.P. Jr. Suppression of farnesyltransferase activity in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome: current understanding and recommended use of tipifarnib. *Exp. Opin. Invest. Drugs* 2010; 19: 689–698.
38. Yanamandra N., Coloco N.M., Parquet N.A. i wsp. Tipifarnib and bortezomib are synergistic and overcome cell adhesion-mediated drug resistance in multiple myeloma and acute myeloid leukemia. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12: 591–599.
39. Sutherland M.K., Yu C., Anderson M. i wsp. 5-azacytidine enhances the anti-leukemic activity of lintuzumab (SGN-33) in pre-clinical models of acute myeloid leukemia. *MAbs.* 2010; 30: 2.
40. Bradbury C.A., Khanim F.L., Hayden R. i wsp. Histone deacetylases in acute myeloid leukaemia show a distinctive pattern of expression that changes selectively in response to deacetylase inhibitors. *Leukemia* 2005; 19: 1751–1759.
41. Kuendgen A., Schmid M., Schlenk R. i wsp. The histone deacetylase (HDAC) inhibitor valproic acid as monotherapy or in combination with all-trans retinoic acid in patients with acute myeloid leukemia. *Cancer* 2006; 106: 112–119.
42. Bug G., Schwarz K., Schoch C. i wsp. Effect of histone deacetylase inhibitor valproic acid on progenitor cells of acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2007; 92: 542–545.
43. Garcia-Manero G., Yang H., Bueso-Ramos C. i wsp. Phase 1 study of the histone deacetylase inhibitor vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid [SAHA]) in patients with advanced leukemias and myelodysplastic syndromes. *Blood* 2008; 111: 1060–1066.
44. George P., Bali P., Annavarapu S. i wsp. Combination of the histone deacetylase inhibitor LBH589 and the hsp90 inhibitor 17-AAG is highly active against human CML-BC cells and AML cells with activating mutation of FLT-3. *Blood* 2005; 105: 1768–1776.
45. Garcia-Manero G., Assouline S., Cortes J. i wsp. Phase 1 study of the oral isotype specific histone deacetylase inhibitor MGCD0103 in leukemia. *Blood* 2008; 112: 981–989.
46. Gore S.D., Baylin S., Sugar E. i wsp. Combined DNA methyltransferase and histone deacetylase inhibition in the treatment of myeloid neoplasms. *Cancer Res.* 2006; 66: 6361–6369.
47. Blum W., Klisovic R.B., Hackanson B. i wsp. Phase I study of decitabine alone or in combination with valproic acid in acute myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25: 3884–3891.
48. ten Cate B., Samplonius D.F., Bijma T. i wsp. The histone deacetylase inhibitor valproic acid potently augments gemtuzumab ozogamicin-induced apoptosis in acute myeloid leukemic cells. *Leukemia* 2007; 21: 248–252.
49. Lancet J.E., Gojo I., Gotlib J. i wsp. A phase 2 study of the farnesyltransferase inhibitor tipifarnib in poor-risk and elderly patients with previously untreated acute myelogenous leukemia. *Blood* 2007; 109: 1387–1394.
50. Schlenk R.F., Frohling S., Hartmann F. i wsp. Phase III study of all-trans retinoic acid in previously untreated patients 61 years or older with acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2004; 18: 1798–1803.
51. Jin Y., Liu S., Yu B. i wsp. Targeted delivery of antisense oligodeoxynucleotide by transferrin conjugated pH-sensitive lipopolyplex nanoparticles: a novel oligonucleotide-based therapeutic strategy in acute myeloid leukemia. *Mol. Pharm.* 2010; 7: 196–206.

52. Marcucci G., Stock W., Dai G. i wsp. Phase I study of oblimersen sodium, an antisense to Bcl-2, in untreated older patients with acute myeloid leukemia: pharmacokinetics, pharmacodynamics, and clinical activity. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 3404–3411.
53. Moore J., Seiter K., Kolitz J. i wsp. A phase II study of Bcl-2 antisense (oblimersen sodium) combined with gemtuzumab ozogamicin in older patients with acute myeloid leukemia in first relapse. *Leuk. Res.* 2006; 30: 777–783.
54. Maslak P.G., Dao T., Krug L.M. i wsp. Vaccination with synthetic analog peptides derived from WT1 oncoprotein induces T-cell responses in patients with complete remission from acute myeloid leukemia. *Blood* 2010; 116: 171–179.
55. Kim Y.J., Cho S.G., Lee S. i wsp. Potential role of adoptively transferred allogeneic WT1-specific CD4+ and CD8+ T lymphocytes for the sustained remission of refractory AML. *Bone Marrow Transplant.* 2010; 45: 597–599.
56. Keilholz U., Letsch A., Busse A. i wsp. A clinical and immunologic phase 2 trial of Wilms tumor gene product 1 (WT1) peptide vaccination in patients with AML and MDS. *Blood* 2009; 113: 6541–6548.
57. Van Tendeloo V.F., Van de Velde A., Van Driessche A. i wsp. Induction of complete and molecular remissions in acute myeloid leukemia by Wilms' tumor 1 antigen-targeted dendritic cell vaccination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010; 107: 13824–13829.
58. Sievers E.L., Appelbaum F.R., Spielberger R.T. i wsp. Selective ablation of acute myeloid leukemia using antibody-targeted chemotherapy: a phase I study of an anti-CD33 calicheamicin immunoconjugate. *Blood* 1999; 93: 3678–3684.
59. Neumeister P., Eibl M., Zinke-Cerwenka W., Scarpatetti M., Sill H., Linkesch W. Hepatic veno-occlusive disease in two patients with relapsed acute myeloid leukemia treated with anti-CD33 calicheamicin (CMA-676) immunoconjugate. *Ann. Hematol.* 2001; 80: 119–120.
60. Cortes J., Tsimberidou A.M., Alvarez R. i wsp. Mylotarg combined with topotecan and cytarabine in patients with refractory acute myelogenous leukemia. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2002; 50: 497–500.
61. Sievers E.L., Larson R.A., Stadtmauer E.A. i wsp. Mylotarg Study Group Efficacy and safety of gemtuzumab ozogamicin in patients with CD33-positive acute myeloid leukemia in first relapse. *J. Clin. Oncol.* 2001; 19: 3244–3254.
62. Middeldorf I., Galm O., Osieka R., Jost E., Herman J.G., Wilop S. Sequence of administration and methylation of SOCS3 may govern response to gemtuzumab ozogamicin in combination with conventional chemotherapy in patients with refractory or relapsed acute myelogenous leukemia (AML). *Am. J. Hematol.* 2010; 85: 477–481.
63. Flynn P.J., Miller W.J., Weisdorf D.J., Arthur D.C., Brunning R., Branda R.F. Retinoic acid treatment of acute promyelocytic leukemia: *in vitro* and *in vivo* observations. *Blood* 1983; 62: 1211–1217.
64. Toyota M., Kopecky K.J., Toyota M.O. i wsp. Methylation profiling in acute myeloid leukemia. *Blood* 2001; 97: 2823–2829.
65. Steensma D.P., McClure R.F., Karp J.E. i wsp. JAK2 V617F is a rare finding in *de novo* acute myeloid leukemia, but STAT3 activation is common and remains unexplained. *Leukemia* 2006; 20: 971–978.
66. Haferlach T., Kohlmann A., Schnittger S. i wsp. Global approach to the diagnosis of leukemia using gene expression profiling. *Blood* 2005; 106: 1189–1198.
67. Stapnes C., Rynningen A., Hatfield K. i wsp. Functional characteristics and gene expression profiles of primary acute myeloid leukaemia cells identify patient subgroups that differ in susceptibility to histone deacetylase inhibitors. *Int. J. Oncol.* 2007; 31: 1529–1538.
68. Raponi M., Lancet J.E., Fan H. i wsp. A 2-gene classifier for predicting response to the farnesyltransferase inhibitor tipifarnib in acute myeloid leukemia. *Blood* 2008; 111: 2589–2596.
69. Fathi A.T., Grant S., Karp J.E. Exploiting cellular pathways to develop new treatment strategies for AML. *Cancer Treat. Rev.* 2010; 36: 142–150.