

Treatment of patients with high risk myelodysplastic syndrome



**Yordanov A¹,
Varbanova V²**

¹Department of Hematology, UMHAT Sveti Ivan Rilski, Sofia, Bulgaria

²Clinic of Hematology, Military Medical Academy, MHAT, Sofia, Bulgaria

Keywords:

myelodysplastic syndrome, hypomethylating agent, azacitidine

Myelodysplastic syndrome (MDS) is a heterogeneous group of myeloid clonal hemopathies, which clinical evolution depend mainly on factors associated with disease as blast count in blood smear and bone marrow aspirate, cytogenetic aberration, and cytopenia. While patients with low risk MDS have good prognosis with median leukemia free survival of 9.4 years, the expected overall survival for high risk MDS is only 0.4 years. These facts predetermine the requirement of high effective treatment.

The deeper understanding of the molecular mechanisms of MDS, particularly the role of epigenetic regulation through hypermethylation of DNA and inactivation of tumor-suppressor genes, has allowed the incorporation into clinical practice of the hypomethylating medication. 5-azacitidine is a hypomethylating drug with a proven higher therapeutic efficacy than the alternative therapeutic options available for high-risk MDS. Therefore 5-azacitidine has been established as a standard of care for this group of patients. However, the results achieved are not completely satisfactory. So far, the only curative therapeutic option remains the allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, which however is associated with some limitations and high toxicity. This defines MDS as a high-risk disease with unmet therapeutic needs.

СЪВРЕМЕНЕН ПОДХОД ЗА ЛЕЧЕНИЕ НА ПАЦИЕНТИТЕ С ВИСОК РИСК МИЕЛОДИСПЛАСТИЧНИ СИНДРОМИ



**А. Йорданов¹,
В. Върбанова²**

¹Клиника по хематология, УМБАЛ „Св. Иван Рилски“, гр. София

²Клиника по хематология, ВМА, гр. София

Миелодиспластичният синдром (МДС) включва хетерогенна група от миелоидни малигнени заболявания, чийто клиничен ход се предопределя главно от фактори, свързани със заболяването, от които с най-голямо значение са процент бласти в периферната кръв и костния мозък, цитогенетични нарушения и периферна цитопения. Докато при нисък риск МДС (съгласно International Prognostic Scoring System, IPSS) очакваната свободна от левкемия преживяемост (leukemia free survival, LFS) е приблизително 9.4 г., при пациентите с висок риск МДС средната обща преживяемост (overall survival, OS) е едва 0.4 месеца, което изисква провеждане на високоефективно лечение.

Задълбоченото разбиране на молекулярните механизми в развитието на МДС, конкретно значението на нарушената епигенетична регулация чрез хиперметиране на ДНК и инактивиране на тумор-супресорни гени позволи внедряването в клиничната практика на групата на хипометиращите медикаменти. 5-azacitidine е хипометиращ медикамент, с доказана по-висока терапевтична ефективност от наличните до въвеждането му алтернативни терапевтични опции за лечение на висок риск МДС, и се наложи като стандарт на лечение за тази група пациенти. Постигнатите резултата все пак не са напълно задоволителни и до момента единствена терапевтична опция за пълно излекуване остава алогенната трансплантация на хемопоетични стволови клетки (ало-СКТ), която обаче се асоциира с някои ограничения и токсичност. Това определя МДС като високорисково заболяване с незадоволени терапевтични нужди.

Ключови думи:

миелодиспластичен синдром, хипометиращ медикамент, azacitidine

Определение

Миелодиспластичният синдром (МДС) включва хетерогенна група от клонални заболявания на хемопое-тичната стволова клетка, характеризиращи се с абнормна диференциация, дисплазия в една или повече от основните миелоидни клетъчни линии, периферна моно-, би- или панцитопения и склонност към прогресия в остра миелоидна левкемия (ОМЛ)^[1].

Епидемиология и патогенеза

МДС засяга по-често мъжкия пол, с изключение на 5q-синдрома, който преобладава при жените^[2,3].

При поставяне на диагнозата 80% от пациентите са над 60-годишна възраст, поради което МДС се приема за гериатрично заболяване. Това характерно възрастово разпределение вероятно се дължи на постепенната акумулация на геномни увреди през живота на индивида, които могат да иницират малигнената трансформация, при същевременно характерното намаляване на естествената имунна защита с напредване на възрастта. Въпреки описаната хипотеза точните патогенетични механизми, участващи във възникването на МДС не са известни. Някои повтарящи се соматични мутации, характерни и за други миелоидни дисплазии са идентифицирани при пациенти с МДС, основно мутации в гени, участващи в сигналните пътища (JAK2, KRAS, CBL); ДНК метилирането (DNMT3A, TET2, IDH1/2); регулатори на транскрипцията (EVI1, RUNX1, GATA2); на конформационните промени на хроматина (EZH2, ASXL1); на РНК сплай-

синга (зашиване) (SF3B1, U2AF1, SRSF2 и ZRSR2) и гр.^[4-16]. Допуска се, че описаните и други генетични мутации, водещи до нарушения в „епигенетиката“ са основният патогенетичен път в еволюцията на МДС. Терминът „епигенетика“ се отнася за придобити нарушения в генната експресия^[2,3,17-19], водещи до метилиране на ДНК в промоторите на гените, което резултира в инактивиране на тумор-супресорните гени^[17-19].

Все пак точният провокиращ фактор за възникване на МДС остава неясен. Приблизително 85% от случаите са идиопатични^[17]. Един от предполагаемите рискови фактори с доказан мутагенен и левкемогенен ефект е излагането на йонизиращата радиация^[18]. Бензенът официално е признат за карциноген от Световната здравна организация (СЗО)^[1]. Друг известен етиологичен фактор е предшестваща химиотерапия, в частност експозицията с алкилиращи агенти и топоизомеразата 2 инхибитори^[19]. Вторичният МДС след химиотерапия се различава от de novo МДС: начало в по-млада възраст, по-висока честота на тромбоцитопения при поставяне на диагнозата, преобладаване на RAEB I и RAEB-t, по-бърза прогресия в ОМЛ (52% в сравнение с 24% при de novo МДС), по-кратка обща преживяемост (overall survival, OS, 3 месеца спрямо 20 месеца). Морфологично, при пациенти с МДС в следствие на експозиция на химиотерапевтици, костния мозък е с намален целуларитет, както и с по-голяма честота на костномозъчна фиброза. Интерес представлява и известната склонност за трансформация на апластична анемия (AA) и пароксизмална нощна хемоглобинурия (ПНХ) в МДС. Смята се, че AA и ПНХ споделят общи етиологични фактори с последваща

генетична или имунологична мутация, необходима за еволюцията на AA към ПНХ и в следствие до МДС и ОМЛ^[18].

Клинична картина на МДС

Пациентите с МДС дълго време могат да бъдат асимптоматични. Първите оплаквания към общопрактикуващия лекар са от астено-агинамия, диспнея, кожно-лигавични кръвоизливи и рекурентни инфекции. При изследвана на периферна кръвна картина (ПКК), анемията е най-често установяваната и водеща симптоматия, но част от пациентите дебютират с панцитопения. До 10% от болните с МДС имат симптоми на аутоимунни заболявания, без механизмите за това да са напълно изяснени. Възможна е изява на комплекс от симптоми, които имитират системен лупус – фебрилитет, плеврален излив, артралгия, положителен скрининг за антинуклеарни антитела, панцитопения и хиперпластичен костен мозък.

При поставяне на диагнозата средните нива на хемоглобин (Hb) са 95 gr/l, а около 50% от пациентите имат и съпътстваща тромбоцитопения под $100 \times 10^9/L$. В близо половината от пациентите се установява абсолютен неутрофилен брой под 1.5×10^9 . Характерни за анемията при МДС са макроцитоза с анизопойкилоцитоза, нисък ретикулоцитен брой спрямо очаквания за степенята на анемията, хипохромни фрагменти и базофилен стрипинг, нормално или повишено серумно желязо и феритин, нисък тотален желязо-свързващ капацитет.

Диагностични критерии за МДС

Групата на МДС се характеризира с периферна цитопения, костномозъчна недостатъчност, моно- или мултилинейна дисплазия, генетична нестабилност и повишена честота на трансформация до ОМЛ. При голяма част от пациентите диагнозата се базира на ясно дефинираните критерии за МДС съгласно ревизираната версия на СЗО от 2016 г.^[1].

А. Задължителни условия (необходимо е и двата критерия да са налице)

- Цитопения, задържаща се за поне 4 месеца (изключение правят случаите с МДС-специфичен кариотип и наличието на ексцес на бласти, в които диагнозата може да бъде поставена веднага).
- Изключване на реактивни причини за цитопения и дисплазия от не/хематологично естество.

Б. Основни МДС свързани критерии, от които поне един трябва да е изпълнен:

- Наличие на диспластични промени в >10% от клетките на една или повече линии в костния мозък (аспират, трепанобиопсия или флоуцитометрия).
- Наличие на 5-19% миелобласти в костно-мозъчен аспират, или 2-19% миелобласти в натривка от периферна кръв.
- Ринг сидеробласти ≥15% (или ≥5% при наличие на мутация SF3B1).
- Специфични за МДС хромозомни аберации, установени посредством класическа цитогенетика или FISH (напр. 5q-, -7).

Класификация на МДС

Общата група на МДС включва пациенти с различна клинична изява – от изолирана цитопения без субективни оплаквания до панцитопения и свързаните усложнения (хеморагични прояви, инфекциозни усложнения, астено-агинамия, отслабване на телото, субфебрилитет), характеризиращи се с различна прогноза за общата преживяемост (overall survival, OS) и време до прогресия в ОМЛ. Това определя нуждата от стратифициране на тази хетерогенна група болни в подтипове. След първата Френско-американска-британска (French-American-British, FAB) морфологична класификация през 1982 г.^[20], Greenberg P. et al. инкорпорират в клиничната практика рискова скала, в която освен морфологични критерии, са включени и факторите брой периферни цитопении и наличие на цитогенетични аномалии (Табл. 1)^[21].

Наблюдавана е значима разлика във времето до трансформация в ОМЛ (leukemia free survival, LFS) и OS между подгрупите (нисък риск 0 точки, междинен -1 0.5-1.0 т, междинен -2 1.5-2.0 т, висок ≥2.5 т.: LFS: 9.4 с/у 3.3 с/у 1.1 с/у 0.2 г. и OS: 11.8 с/у 5.2 с/у 1.8 с/у 0.4 г.). Тези данни доказват необходимостта от рискова стратификация и риск адаптирана терапия във всеки индивидуален случай с цел постигане на максимална ефективност при минимална токсичност на приложената терапия.

В последствие с идентифицирането на нови цитогенетични нарушения, класификацията на подгрупите търпи развитие и допълване съобразно установеното значение за прогнозата и очакваната еволюция на заболяването (Табл. 2)^[1,19,22-25].

Лечение на МДС

Актуалните терапевтични препоръки са разработени основно върху FAB критериите и IPSS, докато по отношение на прогнозата централна роля има ревизираната версия на IPSS (IPSS-R)^[21,25,26].

Приблизително 75% от новодиагностицираните пациенти с МДС попадат в категорията на ниския риск. Според FAB класификацията това са RA и RARS, съгласно СЗО – RARS, RAUC, RAMC, МДС с -5q и неклассифицируем МДС, а при IPSS – групите на нисък и интермедиерен – 1 риск, съответно при IPSS-R – много нисък, нисък и интермедиерен – 1 риск.

Лечение на пациенти с нисък риск МДС^[29,30]

За пациентите с нисък риск МДС терапевтичните възможности са заместителна терапия с еритроцитна и/или тромбоцитна маса, агенти, стимулиращи еритропоезата със/без гранулоцитен колонио-стимулиращ фактор, имunosупресивни и имуномодулиращи медикаменти или включване в клинично изпитване. Изборът на поведение зависи от хода на болестта, кариотипа и придружаващите заболявания на пациента.

Лечение на пациенти с висок риск МДС^[29,30]

Хипометилиращи агенти

Метилирането на ДНК е епигенетична модификация с централна роля в контрола на генната експресия. Добре известно е, че хиперметилирането на ДНК е характерна черта за много ракови заболявания и биологичния му ефект и връзка с малигнената трансформация се обяснява с абнормното инактивиране на транскрипцията на редица туморни



НОВИНИ

Наследствена ли е ЛЕВКЕМИЯТА?

Левкемията не е изцяло наследствена. Въпреки това човек може да е генетично предразположен към развитието на този вид онкологично заболяване. Фактори като околната среда и начин на живот, които може да повишат риска от развитие на левкемия, не са за пренебрегване. Пример за такива са поемането на токсини и тютюнопушенето. Левкемията, въпреки че е генетично заболяване, в повечето случаи не е наследствена. Болестта е свързана с човешката ДНК молекула, съдържаща генетичната ни информация. ДНК определя пролиферацията, диференциацията и функцията на клетките в организма. развитието на левкемия се основава на мутация в ДНК на клетките на костния мозък. В резултат се появяват абнормални клетки в кръвта и КМ. Освен това, левкемията довежда до потискане на продукцията на плурипотентни клетки в КМ.

Мутациите от този вид не са наследствени. Възможно е такава да се отключи през годините. ДНК мутации свързани с развитието на левкемия по-вероятно се развиват след зачеване, а не са наследени от гените на родителите. Понякога родителите предават на децата си определени генетични мутации или предразположение към развитие на болести. Най-често, все пак, мутацията свързана с болестта на кръвта се появява de novo.

Фамилната остра миелоидна левкемия е пример за наследствена форма на левкемия. Мутацията е свързана с абнормални SEVPA гени. При съществуващ болен от 1^{-ва} генерация, например родител, рискът за развитие на хронична лимфоцитна левкемия се повишава.

таблица 1

INTERNATIONAL PROGNOSTIC SCORING SYSTEM, IPSS СТАДИРАЩА СИСТЕМА ЗА МДС					
	Брой точки				
Фактор	0	0.5	1.0	1.5	2.0
Бласти в костен мозък (%)	<5	5-10	–	11-20	21-30
Кариотип*	добър	междинен	лош		
Периферна цитопения	0/1	2/3			

*Добър нормален кариотип, -Y, del (5q), del (20q); лош: комплексен кариотип (≥3 цитогенетични аномалии) или аномалии на хромозома 7.

супресорни гени^[31-33]. Метилирането на ДНК се регулира от фамилия от ензими, известни като ДНК метилтрансферази (DNA methyltransferases, DNMTs-DNMT1, DNMT3a, и DNMT3b)^[34]. Съществуват доказателства, че DNMT1 има водеща роля в регулирането и поддържането на абнормното хиперметиране на ДНК^[35], както и че участва в регулацията на транскрипцията на групи гени чрез механизми, различни от хиперметирането като контролира хистоновите геацителазы^[36]. През декември 2008 г. EMA (European Medicines Agency) одобри хипометилиращия агент 5-azacitidine (Azacitidin, Aza) за лечение на пациенти с висок риск миелодиспластичен синдром^[37]. 5-azacitidine е лекарствен препарат, спадат към групата на пиримидиновите аналози, които се свързва необратимо с ензима DNMT1 и намалява метилирането на цитозин.

Терапевтичната ефективност на 5-azacitidine се свързва с намалено аберантно хиперметиране и директен цитотоксичен ефект^[38].

Silverman LR et al.^[39] първи демонстрират удебжаване на LFS с AZA (21 мес.) в сравнение с най-добра поддържаща терапия (13 мес.) при болни

с МДС. Хематологично подобрение е регистрирано в 60% от лекувани с 5-azacitidine (пълнен отговор 7%, частичен отговор 16% и подобрение 37%), докато в контролното рамо само в 5% от случаите е постигнато подобрение без да е регистриран пълнен или частичен терапевтичен отговор. В последствие Fenaux P. et al.^[40] потвърждават терапевтичната ефективност на azacitidine при МДС висок риск и хронична миеломоноцитна левкемия (n=175) в сравнение с най-добра налична терапия (най-добра поддържаща терапия, n=102; ниски дози cytarabine, Ara-C, n=44 или интензивна химиотерапия, n=19). В края на проучването, установената средна OS при третирани с AZA, е била 24.5 мес. в сравнение с 15.0 мес. в групата със стандартна терапия, като разликата е значима и при сравнение на LFS (17.8 мес. с/у 11.5 мес.). Терапевтичната ефективност на AZA е потвърдена и при анализа с отделните подгрупи на най-добра налична терапия: най-добра поддържаща терапия (полза за OS от 9.6 мес., и 4.9 мес. за LFS), ниска доза Ara-C (удължаване на OS с 9.2 мес., и 0.5 мес. за LFS) и конвекционална химиотерапия за ОМЛ (удължаване на OS с 9.4 мес. и

таблица 2

КЛАСИФИКАЦИЯ НА СЗО ЗА МДС (РЕВИЗИРАНА ВЕРСИЯ 2016 Г.)^[11]

Тип	Периферна кръв	к.м.
1. МДС с еднолинейна дисплазия (MDS-SLD)	Моно- или бицитопения	Дисплазия в >10% от клетките на една линия, <5% бласти <15% ринг сидеробласти
2. МДС с ринг сидеробласти (MDS-RS)	Анемия, липса на бласти	≥15% ринг сидеробласти, или >5% ринг сидеробласти при SF5B1 мутация, <5% бласти
3. MDS-RS с еднолинейна дисплазия (MDS-RS-SLD)	Анемия или бицитопения, липса на бласти	+ унилинейна дисплазия
4. MDS-RS смултилинейна дисплазия (MDS-RS-MLD)	Цитопения(и), <1x10 ⁹ /l моноцити, липса на бласти	Дисплазия ≥10% о клетките в ≥2 миелоидни линии <5% бласти ≥15% ring сидеробласти
5. МДС с мултилинейна дисплазия (MDS-MLD)	Цитопении, <1x10 ⁹ /l моноцити	Дисплазия в >10% от клетките на две или повече линии, +/- 15% рингсидеробласти, <5% бласти
6. МДС с ексцес на бласти-1 (MDS-EB-1)	Цитопения(и), 2-4% бласти, <1x10 ⁹ /l моноцити	Уни- или мултилинейна дисплазия, 5-9% бласти, без пръчици на Аuer
7. МДС с ексцес на бласти-2 (MDS-EB-2)	Цитопения(и), 5-19% бласти, <1x10 ⁹ /l моноцити	Уни- или мултилинейна дисплазия, 10-19% бласти, +/- пръчици на Аuer
8. МДС неклассифицируем (MDS-U) • с 1% бласти в периферна кръв • с унилинейна дисплазия и панцитопения • на базата на дефиниращи цитогенетични аберации	Цитопения, +/-1% бласти поне двукратно	Унилинейна дисплазия или лип на дисплазия, но характерен за МД каринотип, <5% бласти
9. МДС с изолирана делеция 5q	Анемия, нормален или повишен брой тромбоцити	Унилинейна дисплазия, изолирана del(5q), <5% бласти
10. Рефрактерна цитопения в детска възраст	Цитопения, <2% бласти	Дисплазия в 1-3 линии, <5% бласти
11. МДС с ексцес на бласти в трансформация (MDS-EB-T)	Цитопения, 5-19% бласти	Мултилинейна дисплазия, 20-29% бласти, +/- пръчици на Аuer

2.4 мес. за LFS). Процентът на регистрирана пълна ремисия в групата с 5-azacytidine е 12%, частична ремисия 15% и стабилно заболяване 44%, а най-нисък при пациентите, лекувани с най-добра поддържаща терапия: 1%, 4% и 39% съответно. Хематологично подобрение общо е достигнато при 49% от пациентите, получили 5-azacytidine (еритро-

иден отговор – 40%, тромбоцитен отговор – 33%, повишаване на неутрофилния брой – 19%) и при 29% от контролната група (еритроиден отговор – 11%, тромбоцитен отговор – 14%, повишаване на неутрофилния брой – 18%). Терапевтичната ефективност на AZA в сравнение със стандартно прилаганата химиотерапия е доказана и при пациенти с

OML^[41].

Общоприетото стандартно приложение на 5-azacytidine е веднъж дневно в доза от 75 mg/m² подкожно в продължение на седем последователни дни, последвано от три седмици без терапия. Този четириседмичен период се определя за един цикъл, като лечението продължава най-малко шест цикъла.

Химиотерапия

Интензифицираните химиотерапевтични курсове със стандартни дози цитарабин, антрациклин, със или без етопозид, постигат ремисия в едва 20% от пациентите с високорисков МДС, при висока терапевтично-индуцирана токсичност^[40-41]. Напредналата възраст често съпътстващата коморбидност и частичното възстановяване на хематопоезата са причина тази терапия да е неподходяща за повечето пациенти.

Трансплантация на хемопоетични стволови клетки

Алогенната трансплантация на стволови клетки (ало-СКТ) от HLA съвместим родствен или неродствен донор или алтернативен донор (халлоидентичен донор или единици пълна връв) остава единствената терапия с потенциал за пълно излекуване^[42]. Поради рисковете, асоциирани с провеждането на процедурата, тази терапевтична стратегия се препоръчва при по-млади пациенти с агресивно заболяване или при млади пациенти с нисък риск МДС, където провежданата терапия с имуномодулиращи медикаменти не показва ефективност. Терапия с AZA предтрансплантационно с 2-4 курса е показана при пациенти с ≥ 5 бласти в к.м, с цел намаляване на случаите на посттрансплантационен рецидив^[43].

Заклучение

МДС включва хетерогенна група от миелоидни малигнени заболявания, чиито клиничен ход се предопределя главно от фактори, свързани със заболяването, от които с най-голя-

мо значение са процент бласти в периферна кръв и костно-мозъчен аспират, цитогенетични нарушения и периферна цитопения. Цитогенетичните аберации, асоциирани с МДС, имат значение освен за очакваната еволюция и прогноза и за терапевтичната ефективност, например 5q синдром е показан за терапия с имуномодулатори, докато комплексен кариотип е предиктор на неблагоприятен клиничен ход и изисква по-интензивна терапия. Известна е патогенетичната роля на нарушената епигенетична регулация при МДС, което е предпоставка за въвеждането на хипометилиращи агенти в терапевтичната стратегия при пациенти с висок риск (междинен-2 и висок IPSS). Въпреки напредъка в молекулярното разбиране на МДС и въвеждането на риск-адаптирано терапевтично поведение, резултатите при пациенти с висок риск МДС, както и при трансфузионно зависими пациенти остават клинично предизвикателство с ненапълно задоволени терапевтични възможности. ■

Книгопис:

- Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016; 127(20):2391-405.
- Rhoads CP, Barker WH. Refractory anemia: Analysis of one hundred cases. *Journal of the American Medical Association*, 1938; 53 (6): 423-436.
- Bernasconi P, et al. Incidence and prognostic significance of karyotype abnormalities in de novo primary myelodysplastic syndromes: a study on 331 patients from a single institution. *Leukemia* 2005; 19: 1424-31.
- Abdel-Wahab O, Pardanani A, Patel J, et al. Concomitant analysis of EZH2 and ASXL1 mutations in myelofibrosis, chronic myelomonocytic leukemia and blast-phase myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 2011; 25(7):1200-1202.
- Ernst T, Chase AJ, Score J, et al. Inactivating mutations of the histone methyltransferase gene EZH2 in myeloid disorders. *Nat Genet* 2010; 42(8):722-726.
- Boulwood J, Perry J, Pellagatti A, et al. Frequent mutation of the polycomb-associated gene ASXL1 in the myelodysplastic syndromes and in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2010; 24(5):1062-1065.
- Gelsi-Boyer V, Trouplin V, Adélaïde J, et al. Mutations of polycomb-associated gene ASXL1 in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2009; 145(6):788-800.
- Graubert TA, Shen D, Ding L, et al. Recurrent mutations in the UZF1 splicing factor in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet* 2012; 44(1):53-57.
- Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, et al. Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia. *Nature* 2011; 478(7367):64-69.
- Papaemmanuil E, Cazzola M, Boulwood J, et al. Chronic Myeloid Disorders Working Group of the International Cancer Genome Consortium. Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N Engl J Med* 2011; 365(15):1384-1395.

- Grand FH, Hidalgo-Curtis CE, Ernst T, et al. Frequent CBL mutations associated with 11q acquired uniparental disomy in myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2009; 113(24):6182-6192.
- Levine RL, Loriaux M, Huntly BJ, et al. The JAK2V617F activating mutation occurs in chronic myelomonocytic leukemia and acute myeloid leukemia, but not in acute lymphoblastic leukemia or chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2005; 106(10):3377-3379.
- Delhommeau F, Dupont S, Della Valle V, et al. Mutation in TET2 in myeloid cancers. *N Engl J Med* 2009; 360(22):2289-2301.
- Langemeijer SM, Kuiper RP, Berends M, et al. Acquired mutations in TET2 are common in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet* 2009; 41(7):838-842.
- Walter MJ, Ding L, Shen D, et al. Recurrent DNMT3A mutations in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2011;25(7):1153-1158.
- Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, et al. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2013; 122(22): 3616-3627.
- Aul C, et al. Pathogenesis, etiology and epidemiology of myelodysplastic syndromes. *Haematologica*, 1998; 83(1):71-86.
- Moloney WC. Radiogenic leukemia revisited. *Blood*, 1987; 70(4):905-8.
- Van Leeuwen FE. Risk of acute myelogenous leukaemia and myelodysplasia following cancer treatment. *Baillière's Clinical Haematology*, 1996; 9(1):57-85.
- Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of the myelo dysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1982; 51:189.
- Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997;89(6): 2079-2088. - 11
- Dreyfus B. Preleukemic states. I. Definition and classification. II. Refractory anemia with an excess of myeloblasts in the bone marrow (smoldering acute leukemia). *Nouvelle revue française d'hématologie; blood cells*, 1976; 17(1-2):33-55.
- Bennett JM et al. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *British Journal of Haematology*, 1982; 51(2):189-99.
- Vardiman J. The classification of MDS: From FAB to WHO and beyond. *Leukemia Research*, 2012.
- Haase D et al. New insights into the prognostic impact of the karyotype in MDS and correlation with subtypes: Evidence from a core dataset of 2124 patients. *Blood*, 2007; 110(13):4385-95.
- Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, et al. Revised International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes. *BL00D* 2012; 120(12): 2454-2465.
- Dayyani F, et al. Cause of death in patients with lower-risk myelodysplastic syndrome. *Cancer* 2010;116(9):2174-2179.
- Giagounidis A, et al. Prognosis of patients with del(5q) MDS and complex karyotype and the possible role of lenalidomide in this patient subgroup. *Annals of Hematology*, 2005; 84(9):569-71.
- Genova M, Grudeva-Popova J, Gercheva-Kiuchukova L, et al. Guide for the diagnosis and treatment of hematological diseases. *Bulgarian Medical Society of hematology, Art Tracer, Varna* 2018: ISBN 978-619-7094-39-8. 215-232 (in Bulgarian)
- https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/mds.pdf
- Jones PA, Baylín SB. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet* 2002;3:415-28.
- Herman JG. Hypermethylation of tumor suppressor genes in cancer. *Semin Cancer Biol* 1999;9:359-67.
- Merlo A, Herman JG, Mao L, et al. 5' CpG island methylation is associated with transcriptional silencing of the tumour suppressor p16/CDKN2/MTS1 in human cancers. *Nat Med* 1995;1:686-92.
- Okano M, Bell DW, Haber DA, Li E. DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. *Cell* 1999;99:247-57.
- Rhee I, Bachman KE, Park BH, et al. DNMT1 and DNMT3b cooperate to silence genes in human cancer cells. *Nature* 2002; 416:552-6.
- Fuks F, Burgers WA, Brehm A, Hughes-Davies L, Kouzarides T. DNA methyltransferase Dnmt1 associates with histone deacetylase activity. *Nat Genet* 2000;24:88-91.
- https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/vidaza-epar-product-information_bg.pdf
- Santini V, Melnick A, Maciejewski JP, et al. Epigenetics in focus: pathogenesis of myelodysplastic syndromes and the role of hypomethylating agents. *CritRevOn-col Hematol*. 2013;88(2):231-45.
- Silverman LR, Demakos EP, Peterson BL, et al. Randomized controlled trial of azacitidine in patients with the myelodysplastic syndrome: a study of the cancer and leukemia group B. *J Clin Oncol*. 2002; 20(10):2429-40.
- Fenaux P, Muftić GJ, Hellström-Lindberg E, et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol*. 2009;10(3):223-32.
- Dombret H, Seymour JF, Butrym A, et al. International phase 3 study of azacitidine vs conventional care regimens in older patients with newly diagnosed AML with $>30\%$ blasts. *Blood*. 2015; 126(3):291-9.
- Scott BL, Sandmaier BM, Storer B, et al. Myeloablative vs nonmyeloablative allogeneic transplantation for patients with myelodysplastic syndrome or acute myelogenous leukemia with multilineage dysplasia: a retrospective analysis. *Leukemia* 2006; Jan;20(1):128-35.
- Festuccia M, Deeg HJ, Gooley TA, et al. Minimal Identifiable Disease and the Role of Conditioning Intensity in Hematopoietic Cell Transplantation for Myelodysplastic Syndrome and Acute Myelogenous Leukemia Evolving from Myelodysplastic Syndrome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016 Jul;22(7):1227-1233.