

НАРУШЕНИЯ В МЕТИЛИРАНЕТО ПРИ МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕН СИНДРОМ

Терапевтични възможности



Въведение

g-р Свилена
Ангелова
Атанасова, доц. g-р
Илиана Димитрова
Мичева, гм

Клиника по хематоло-
логия, УМБАЛ „Св.
Марина“, гр. Варна

Миелодиспластичният синдром (МДС) е хетерогенна група от нарушения на миелоидния ред, която засяга хемопоетичната стволова клетка и се характеризира с клонална хемопоеза, морфологични прояви на дисплазия в костния мозък и честа трансформация във вторична остра миелоидна левкемия (ОМЛ). Ходът на заболяването и рискът от трансформация са тясно свързани с молекулярно генетични и епигенетични нарушения^[1]. Едни от най-често мутиралите гени при МДС са тези, кодиращи ензими, отговорни за епигенетичната регулация^[2], което е показателно за ролята ѝ в патогенезата на МДС. ДНК метилирането е най-добре проученият епигенетичен механизъм при МДС, чиито нарушения могат да доведат до потискане на гени, участващи в регулацията на клетъчния цикъл, апоптозата и поправянето на ДНК^[3].

Епигенетиката представлява цялата информация, която се предава при клетъчното делене, но не е кодирана в ДНК последователността. В по-тесен смисъл се отнася до

МИЕЛОДИСПЛАСТИЧНИЯТ СИНДРОМ Е КЛОНАЛНО ЗАБОЛЯВАНЕ НА ХЕМОПОЕТИЧНАТА СТВОЛОВА КЛЕТКА, което е тясно обвързано с нарушения в епигенетичните механизми. Един от тези механизми е ДНК метилирането и промените при него водят до изменения в експресията на гени, регулиращи пролиферацията и диференциацията на ХСК. Азануклеотидите са първите епигенетични медикаменти, одобрени за лечение на МДС и ОМЛ. Множеството проучвания и изследвания върху механизмите на ДНК метилиране позволяват разработването на нови терапевтични възможности. Медикаменти, въздействащи върху ензими, отговорни за ДНК метилирането (DNMT, TET и IDH), както и комбинации с други лекарства, са обект на множество клинични проучвания. Това дава надежда за по-добро менажиране на миелоидните неоплазии в бъдеще.

модифициране на ДНК и хистонови белтъци с цел промяна на хроматинната конфигурация и експресията на гени. Ключова роля в диференциацията и стареенето на хемопоетичната стволова клетка имат епигенетичните механизми. Те са важни регулатори на генната експресия в различните клетъчни линии и тъкани и повлияват регенерацията, диференциацията и развитието на различните хемопоетични прогениторни клетки. Те включват ДНК метилиране, пост-транслационна мо-

дификация на хистонови протеини и ремоделиране на хроматина и синтез на некодиращи РНК. Нарушенията на епигенетичните модификации имат ключова роля в поддържането на възобновяемите хемопоетични стволови клетки (ХСК) и левкемичните стволови клетки^[4]. От тях най-добре изучено е ДНК метилирането. Появата на аномалии в този процес по време на хемопоезата може да иницира развитието на злокачествено хематологично заболяване или да доведе до неговата прогресия.

Ключови думи:
миелодис-
пластичен
синдром,
епигенетика,
метилиране на
ДНК, хипоме-
тилиращи
медикаменти

ДНК метилиране и гени, отговорни за осъществяването му

ДНК метилирането е трансфер на метилови групи на позиция С5 в пиримидиновия пръстен на цитозин, в участъци, където цитозин е последван от гуанин (СрG). По този начин се образува 5-метилцитозин, като около 3% от цитозина в човешкото ДНК е метилирано^[5]. ДНК метилирането се свързва с потискане на генната експресия. Моделът на ДНК метилиране може да се запази при последваща ДНК репликация и митоза и по този начин да се предаде репресираното състояние на гена. Региони, които са богати на СрG се наричат СрG острови и се смята, че имат важна роля в регулацията на генната експресия.

Около половината от СрG островите в човешкия геном се намират в промоторни региони на гени. Другата половина се намира в самите генни последователности, като са изказани предположения, че е възможно да указват началото на транскрипция на некодиращи РНК^[6]. Около 80% от СрG региони извън СрG островите са метилирани, за разлика от тези в СрG островите, които са предимно неметилирани^[5]. Последните се намират в кодиращите участъци на половината от активно транскрибирани гени и то такива, които са масово експресирани във всички тъкани и в по-малка степен в гени, които са тъкан специфични^[5].

Процесът на ДНК метилиране се катализира от ДНК метилтрансферази (DNMT). Известни са четири DNMT – DNMT1, DNMT2, DNMT3A

и DNMT3B. DNMT1 поддържа ДНК метилирането при репликацията на ДНК, като копира метилираните участъци от родителската ДНК върху гъщерната. DNMT3A и DNMT3B са отговорни за de novo метилацията на ДНК като засягат неметилирани СрG динуклеотиди^[7]. DNMT2 има слаба ДНК метилираща способност и най-вероятно участва в метилирането на РНК^[8].

Деметилирането на СрG динуклеотидите може да бъде активен или пасивен процес. Пасивната деметилация настъпва при липса на активност от страна на DNMT1 в хода на няколко ДНК репликации^[9]. Активната деметилация се осъществява при хидроксилиране на 5-метилцитозина до 5-хидроксиметилцитозин от TET (Ten-Eleven Translocation) ензими – TET1, TET2 и TET3. 5-хидроксиметилцитозин се преобразува до 5-формилцитозин и след това до 5-карбоксицитозин, което води до ДНК деметилиране^[10]. Този процес е зависим от клетъчните нива на алфа-кетоглутарат за нормалното му функциониране. Изоцитрат дехидрогеназа 1 и 2 (IDH1 и IDH2) са НАДФ+ зависими ензими, които катализират преобразуването на изоцитрат и алфа-кетоглутарат.

Нарушения в отговорните за ДНК метилирането гени при МДС

Мутация, водеща до загуба на функцията на TET2 и до намаляване на количеството 5-хидроксиметилцитозин и следователно увеличаване на количеството на метилцитозин,

може да се открие в 26% от пациентите с МДС и допринася за възобновяемия потенциал на левкемичната стволова клетка чрез нарушаване на регулацията на HOXA гена. В различни проучвания наличието на мутации в TET2 гена е свързано с по-лоша прогноза^[11,12], докато в други, такава връзка не е доказана^[13,14]. Предполага се, че мутации в TET2 могат да имат отношение към терапевтичния отговор към азацитидин.

Мутации в други гени, отговорни за ДНК метилирането, като DNMT3A и IDH1/2, също се откриват в значителна част от пациентите с МДС – съответно в 8 и 12%. Едни от първите мутации, които настъпват при нарушения, водещи до клонална хемопоеза, са тези в DNMT3A гена^[15]. Липсата му води до прогресивно нарушение на диференциацията на ХСК в хода на няколко деления в костния мозък. Откриват се както увеличени, така и намалени нива на метилиране в различни локуси в ХСК без DNMT3A ген. Това води до активиране на мултипотентни гени като RUNX1, GATA3, PBX1 и p21 и потискане на гени, отговорни за диференциацията на ХСК^[16]. В резултат те са както с нарушена диференциация, така и с увеличен възобновяем потенциал, което води до натрупването им в костния мозък^[16].

Мутации в IDH 1 и 2 са отговорни за намаляване на нивата на алфа-кетоглутарат и натрупване на 2-хидроксикетоглутарат, което инхибира ензими, които използват алфа-кетоглутарат като субстрат, например TET ензими и някои хистоновы деметилази^[17]. Това води до хистонова и ДНК хиперметилация^[18] и последващо блокиране на диференциацията и пролиферацията на левкемични стволови клетки^[19]. При

пациенти с високорисков МДС, мутациите в тези гени са свързани с прогресия на заболяването^[20]. Те водят до индукция в HOXA9 гени, те епигенетично заглушаване на CDKN2A/CDKN2B и активация на BCL-2 и MAPK пътищата.

Терапевтични възможности за повлияване на нарушенията в ДНК метилирането при МДС

Епигенетичните нарушения са обратими процеси, което ги прави потенциални таргети за терапевтично вмешателство. Едни от основните лекарствени препарати, използвани за лечение на МДС, са ДНК хипометилиращите азануклеотиди – 5-азацитидин (азацитидин) и 5-аза-2'-деоксицитидин (децитабин). Те се използват като основна терапия при високорисковия МДС за пациенти, неподходящи за аlogenна трансплантация на стволови клетки и отговор към тях има в около 50% от случаите^[21].

Азануклеотидите намаляват DNMT активността и така реактивират потиснати тумор супресорни гени, както и гени, свързани с диференциацията на клетките и апоптозата^[22]. По този начин се потиска прогресията на МДС. За да се намали цитотоксичният ефект на тези DNMT инхибитори, те се прилагат в ниски, субцитотоксични дози^[23]. И двата медикамента водят до значими клинични предимства с висок процент на отговор и подобрена обща преживяемост при пациенти с миелоидни неоплазии^[24-26]. Трябва да се има пред-

вид обаче, че те не водят до пълно излекуване и терапията с тях трябва да е продължителна^[27].

Азацитидин е нуклеозиден аналог на цитидин, като е заменен въглеродът на 5 позиция в пиримидиновия пръстен с азот. Той осъществява антинеопластичните си ефекти чрез различни механизми, включително цитотоксичност върху абнормните хемопоеични клетки в костния мозък и хипометилиране на ДНК.

Азацитидин представлява рибонуклеотид, който след като се фосфорилира, може да се инкорпорира в новосъздадена верига РНК^[28,29]. Така се нарушава метаболизмът на РНК и съответно протеиновата синтеза, което води до нарушаване на транслацията на онкогенни протеини и цитотоксичност^[29,30]. Освен това азацитидин може да се конвертира от ензима рибонуклеотид редуктаза в дезоксирибонуклеотид, който след като се фосфорилира, се инкорпорира в ДНК, което води до потискане на ДНК синтезата и отново цитотоксичност. След включването му в ДНК, на мястото на цитозина, се формират необратими връзки с DNMT1, водещо до инактивиране на ензима и съответната хипометилация^[3].

Децитабин (5-аза-2'-деоксицитидин) е аналог на цитидинов дезоксинуклеозид, което му позволява директното инкорпориране в ДНК след фосфорилиране чрез клетъчна фосфокиназа до съответния трифосфат. Там той се свързва ковалентно с DNMT чрез азотния атом на 5 позиция в пиримидиновия пръстен и така ги инхибира, което води до хипометилиране на генни промотори. Това може да предизвика реактивация на тумор супресорни гени, индукция на клетъчна диференциация или клетъчно стареене, последвани от

програмирана клетъчна смърт.

Нови възможности за лечение на МДС

Към този момент азацитидин представлява най-добрата терапия за пациенти с високорисков МДС, неподлежащи на трансплантация на ХСК^[31]. Хематологичен отговор към терапията с азацитидин се наблюдава при около половината от пациентите с МДС^[37]. Медианата за постигане на отговор е три цикъла, като той рядко е продължителен и в голяма част от първоначално отговорилите на лечение се наблюдава релапс на заболяването в рамките на две години^[32]. Това налага търсенето на нови медикаменти за лечението на МДС, като към момента са в ход няколко клинични проучвания, тестващи различни хипометилиращи агенти от следващо поколение и комбинации от медикаменти^[11].

Втора генерация хипометилиращи агенти са обект на клинични проучвания. Един такъв препарат е гуадецитабин^[33], динуклеотид на децитабин и дезоксигуанозин, свързани с фосфодиестеразна връзка, която постепенно се разцепва. Това води до постепенно освобождаване на активния метаболит децитабин и следователно по-продължителна клетъчна експозиция^[34,35]. Друг таргет за медикаментозно повлияване са ТЕТ ензимите, като проучванията върху ТЕТ2 инхибитори са в предклинична фаза, но са предложени няколко механизма на действие. Съединението Vovcat 339 има директен потискащ ефект върху ТЕТ1 и ТЕТ2, като се свързва с каталитично активен остатък^[36] и не влияе на DNMT. Други две проучвания демон-

стрират индиректния инхибиращ ефект върху TET1 на STAT инхибитора UC-514321 при ОМЛ^[34].

Разработени са съединения, които директно инхибират мутантни IDH протеини. Ивозидениб (ivosidenib) представлява малка молекула, която инхибира мутантен IDH1. Доказано е, че намалява серумните нива на 2-хидроксикетоглуларат и индуцират клетъчна диференциация^[37]. В момента се провеждат клинични проучвания за прилагането му при пациенти с ОМЛ или МДС и наличие на мутантен IDH1 ген. Освен ивозидениб са разработени и други IDH1 инхибитори, които подлежат на клинично тестване при пациенти с ОМЛ или МДС като FT-2102^[38], IDH305^[39] и LY3410738^[40]. Еназидениб (enasidenib) е селективен инхибитор на IDH2 R172K и IDH2 R140Q^[41,42]. Той също намалява нивата на 2-хидроксикетоглуларат с повече от 90%, индуцира диференциация на левкемичните клетки и няма цитотоксичен ефект. Провеждат се клинични проучвания за използването на еназидениб като монотерапия или в комбинация с азацитидин при пациенти с МДС или ОМЛ и наличие мутирал IDH2 ген.

Развитието на резистентност към хипометилиращите агенти е често срещана при пациенти с МДС и в по-малка степен пълната липса на отговор към тях^[43-45]. Въпреки научните проучвания върху механизма на резистентност и рефрактерност към тези медикаменти, той все още не е напълно ясен. Едно пионерно проучване на *Yang и др.*^[46] показва как в клетъчни линии от пациенти с МДС и ОМЛ, лекувани с хипометилиращи агенти, се наблюдава повишена експресия на имуносупресивните лиганди PD-L1, PD-L2 и техния имуносупресивен чекпойнт рецептор PD1.

Авторите предлагат това като потенциален механизъм за резистентност към тези медикаменти. Това води до няколко клинични проучвания върху потенцианото използване на имунни чекпойнт инхибитори (ICI) самостоятелно или в комбинация с хипометилиращи агенти за подобряване на отговора при различни хематологични заболявания^[47]. Друга обещаваща комбинирана терапия представлява съвместното използване на хипометилиращи агенти и имуномодулатори.

Последните имат антипролиферативен ефект и засилва медиацията от T- и NK-клетките имунитет, подобрявайки имунната активност срещу определени хемопоеични туморни клетки^[48]. Два имуномодулатора (леналидомид и помалидомид) са обект на активно изучаване за лечението на групи хематологични заболявания. Най-обещаващите комбинираны терапии включват селективен BCL-2 инхибитор, вентоклакс и реактиватор на мутантен p53, APR-246^[49,50]. Венетоклакс в комбинация с азацитидин води до по-висок отговор към терапията и удължена обща преживяемост в сравнение с монотерапия с азацитидин при пациенти с МДС. Провеждат се клинични проучвания с APR-246 в комбинация с азацитидин, които показват висок процент на отговор към терапията при високорисков МДС с мутация на p53^[50]. ■

Книгопис:

- Maher M, Ditsch J, Le Penetier M, Buschbeck M. Epigenetics in a Spectrum of Myeloid Diseases and Its Implications for Therapy. *Cancers* 2021; 13: 1746. <https://doi.org/10.3390/cancers13071746>
- Haflich T, Nagata Y, Grossmann V, Okuno Y, Baehre U, Nagae G, Schnittger S, Sanada M, Kon A, Alpermann T, et al. Landscape of Genetic Lesions in 944 Patients with Myelodysplastic Syndromes. *Leukemia* 2014; 28: 241-247.
- Khan H, Vain C, Bhagat T, Verma A. Role of DNA Methylation in the Pathogenesis and Treatment of Myelodysplastic Syndromes. *Seminars in Hematology*, Vol. 50, Issue 1 (2015): 16-37. <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2015.01.001>.
- Sashida G, and Aizawa I. "Epigenetic regulation of hematopoiesis." *International journal of hematology* vol. 96.4 (2012): 405-12. doi:10.1007/s12185-012-1183-x.

- Natze T, M. Farrell, W. E. Carroll, W. D. Fryer, A. A. & Imai, K. M. (2008). Epigenetic control of fetal gene expression. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 115, 158-168.
- Millington, Robert et al. "A novel CpG island set identifies tissue-specific methylation at developmental gene loci." *PLoS Biology* vol. 6.1 (2008): 422. doi:10.1371/journal.pbio.0060202.
- Eric Hennessy, François M. Naléto & Pierre-François Canton (2009) Dnmt3 transcription factor interactions as crucial players in targeted DNA methylation. *Epigenetics*, 4, 7, 487-499. DOI: 10.4161/epi.4.7.9883.
- Benjamin Dettle, Fai Wang, Long Vu Ngoc, Evelyn Collignon, Elise Bonin, Rachel Dupuis, Emilie Calonne, Bouchra Hassabi, Fiascale Palmans, Stephan Awe, Collin Wetzel, Judith Kreher, Romuald Soin, Catherine Creppe, Patrick A. Limbach, Cyril Gueydan, Véronique Knops, Alexander Brehm, Svetlana Miralshina, Mathieu Defrance, Ruth Stewart, François Fuks. Transcription-wide distribution and function of RNA hydroxymethylcytosine. *Science*, 351, 6270, (282-285), (2013). doi:10.1126/science.1242523.
- Kohli, R.M., Zhang, Y. *TET Enzymes, T.DG and the Dynamics of DNA Methylation*. *Nature* 2013, 502, 472-479.
- Ito S, Shen L, Dai G, Wu SC, Collins LB, Swenberg JA, He C & Zhang Y (2011) Tet proteins can convert 5 methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine and 5-carboxymethylcytosine. *Science* 333, 1300-1303.
- Abdel-Wahab, O., Mullally, A., Heidvat, C., Garcia-Manero, G., Paley, J., Wadleigh, M., Mairings, S., Yao, J., Kijavara, O., Blaz, R., et al. Genetic Characterization of TET1, TET2, and TET3 Alterations in Myeloid Malignancies. *Blood* 2009, 114, 144-147.
- Koenigsdorfer, O., Gelsi-Beyer, V., Chesk, M., Grabar, S., Della-Valle, V., Picard, F., Vignati, F., Quaresel, B., Beyne-Razy, O., Solary, E., et al. TET2 Mutation is an Independent Favorable Prognostic Factor in Myelodysplastic Syndromes (MDS). *Blood* 2009, 114, 3285-3291.
- Jankowska, A.M., Szpurka, H., Tu, R.V., Makishima, H., Abble, M., Huh, J., O'Keefe, C.L., Ganetsky, R., McDowell, M.A., Maciejewski, J.P. Loss of Heterozygosity 4q24 and TET2 Mutations Associated with Myelodysplastic/Myeloproliferative Neoplasms. *Blood* 2009, 113, 6409-6410.
- Tafiri, A., Levine, R.L., Lim, K.-H., Abdel-Wahab, O., Lachy, T.L., Patel, J., Frile, C.M., Mullally, A., Li, C.-Y., Pantazis, A., et al. Frequent TET2 Mutations in Systemic Mastocytosis. *Clinical, KITD816V and FIP1L1-PDGFRα Correlates*. *Leukemia* 2009, 23, 900-904.
- Weich, J.S., Ley, J., Link, D.C., Miller, C.A., Larson, D.E., Koboldt, C.C., Wartman, L.D., Lampprecht, T.L., Liu, F., Xia, J., et al. The Origin and Evolution of Mutations in Acute Myeloid Leukemia. *Cell* 2012, 150, 264-278.
- Challen GA, Sun D, Jeong M, et al. Dnmt3a is essential for hematopoietic stem cell differentiation. *Nat Genet*. 2011;44:23-31.
- Medeiros, B.C., Fathi, A.T., DiNardo, C.D., Pollyea, D.A., Chan, S.M., Swards, R. Isocitrate Dehydrogenase Mutations in Myeloid Malignancies. *Leukemia* 2017, 31, 272-281.
- Xu, W., Yang, H., Liu, Y., Yang, Y., Wang, P., Kim, S.-H., Ho, S., Yang, C., Wang, P., Xiao, M.-T., et al. Oncometabolite 2-Hydroxyglutarate is a Competitive Inhibitor of α -Ketoglutarate-Dependent Dioxygenases. *Cancer Cell* 2011, 19, 17-30.
- Liu, C., Ward, P.S., Kapoor, G.S., Rohle, D., Turcan, S., Abdel-Wahab, O., Edwards, C.R., Kharin, R., Figueroa, M.E., Melnick, A., et al. IDH1 Mutation Impairs Histone Methylation and Results in a Block to Cell Differentiation. *Nature* 2012, 483, 474-478.
- Calvert AE, Chalestianis A, Wu Y, Hurley LA, Kouri FM, Bi Y, Kachman M, May JJ, Barmen E, Hsu Y, et al. Cancer-Associated IDH1 Promotes Growth and Resistance to Targeted Therapies in the Absence of Mutation. *Cell Rep*. 2017; 19: 1858-1873.
- Diesch, J., Zwick, A., Garz, A.-K., Palau, A., Buschbeck, M., Götz, K.S. A Clinical-Molecular Update on Aracunic Acid-Based Therapy for the Treatment of Hematologic Cancers. *Clin. Epigenet*. 2016, 8, 71.
- Quarles-Cadama, A., Santos, F.P.S., Garcia-Manero, G. Therapy with Aracunic Acid for Myelodysplastic Syndromes. *Nat. Rev. Clin. Oncol*. 2010, 7, 433-444.
- Mompalao RL (2005) Pharmacology of 5-Aza 2'-deoxycytidine (decitabine). *Semin Hematol* 42 (3 Suppl 2), S9-S16.
- Fenaux P, Muhi GJ, Hellstrom Lindberg E, Santini V, Finelli C, Giagoudis A, Schoch R, Gattermann N, Sanz G, List A, et al. (2009) Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher risk myelodysplastic syndromes: a randomized, open-label, phase III study. *Lancet Oncology* 10(3), 223-32.
- Fenaux P, Muhi GJ, Hellstrom Lindberg E, Santini V, Gattermann N, Germing U, Sanz G, List AF, Gore S, Seymour JF, et al. (2010) Azacitidine prolongs overall survival compared with conventional care regimens in elderly patients with low bone marrow blast count acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 28, 562-569.
- Kantarjian HM, Thomas JG, Dmoszynska A, Wierzbowska A, Mazur G, Mayer J, Gao JF, Chou W, Bucklein R, Cermak J, 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. *J Clin Oncol* 30, 2670-2677.
- Plyker K & Gwill R (2015) Digging deep into "dirty" drugs - modulation of the methylation machinery. *Drug Metab Rev* 47, 202-279.
- Kantirakos E, Farrell AT, Wang YC, Siddhura R, Pastor R. FDA drug approval summary: azacitidine (5-azacytidine, Vidaza) for injectable suspension. *Oncologist*. 2005;10:176-82.
- Stresemann C, Lyko F. Modes of action of the DNA methyltransferase inhibitors azacitidine and decitabine. *Int J Cancer*. 2008;123:8-13.
- Li H, Olin EJ, Buskirk HR, Reinke LM. Cytotoxicity and mode of action of 5-azacytidine on L1210 leukemia. *Cancer Res*. 1970;30:2760-9.
- Götz, K. The Role of Azacitidine in the Management of Myelodysplastic Syndromes (MDS). *Cancer Manag Res*. 2009, 31: 1-10.
- Pribel, T., Gore, S.D., Estlin, B., Gardin, C., Iyzykson R., Thepat, S., Dreyfus, F., Raay, O.B., Richter, C., Ades, L., et al. Outcome of High-Risk Myelodysplastic Syndrome After Azacitidine Treatment Failure. *J. Clin. Oncol*. 2011, 29, 3322-3327.
- Conlieri B, Duarte BKL & Lazzarini M(2020) Updates on DNA methylation modifiers in acute myeloid leukemia. *Ann Hematol* 99, 693-701.
- Griffiths, E.A., Choy, G., Redkar, S., Taverna, P., Azab, M., Karpf, A.R. SGI-110: DNA Methyltransferase Inhibitor. *Oncolytic. Drugs Future* 2013, 38, 535-543.
- Yoo, C.B.; Jeong, S.; Egger, G.; Liang, G.; Phaisangvongsa, P.; Tang, C.; Redkar, S.; Jones, P.A. Delivery of 5-Aza-2'-Deoxycytidine to Cells Using Oligodeoxynucleotides. *Cancer Res*. 2007, 67, 6400.
- García-Manero G, Roboz, G., Walsh, K., Kantarjian, H., Ritchie, E., Kropf, P., O'Connell, C., Tibes, R., Lunin, S., Rosenblatt, T., et al. Gascitabine (SGI-110) in Patients with Intermediate or High-Risk Myelodysplastic Syndromes: Phase 2 Results from a Multicenter, Open-Label, Randomized, Phase 1/2 Trial. *Lancet Haematol*. 2019, 6, 317-327.
- Popovic-Muller, J.; Lemieux, S.M.; Arin, E.; Saunders, J.O.; Salturo, F.G.; Trivette, J.; Ciurchetta, G.; Cai, Z.; Zhou, D.; Cai, D., et al. Discovery of AS-120 (residenib), a First-in-Class Mutant IDH1 Inhibitor for the Treatment of IDH1-Mutated Cancers. *ACS Med Chem Lett*. 2018, 9, 300-305.
- Caravella, J.A.; Lin, J.; Diebold, R.B.; Campbell, A.M.; Ericsson, A.; Gustafson, G.; Wang, Z.; Castro, J.; Clarke, A.; Gotz, D., et al. Structure-Based Design and Identification of FT-2102 (Olotidenib), a Potent Mutant-Selective IDH1 Inhibitor. *J. Med. Chem*. 2020, 63, 1612-1623.
- Cho, Y.S.; Levell, J.R.; Liu, G.; Caffero, T.; Sutton, J.; Shaker, C.M.; Costales, A.; Manning, J.R.; Zhao, G.; Sendrak, M., et al. Discovery and Evaluation of Clinical Candidate IDH305, a Brain Penetrant Mutant IDH1 Inhibitor. *ACS Med Chem Lett*. 2017, 8, 1116-1121.
- Brockis, N., DeWitt, R., Boulet, S., Lu, Z., Keys, L., Cavill, R., Gomez, S., Strow, J., Milligen, P., Roth, K., et al. Absoat LB-274: Identification and Characterization of LY3410738, a Novel Covalent Inhibitor of Cancer-Associated Mutant Isocitrate Dehydrogenase 1 (IDH1). *Cancer Res*. 2019, 79, 8274.
- Galkin, M.; Jonas, B.A. Enasidenib in the Treatment of Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia: An Evidence-Based Review of Its Place in Therapy. *Core Evid*. 2019, 14, 3-17.
- Abou Dalle, I.; DiNardo, C.D. The Role of Enasidenib in the Treatment of Mutant IDH2 Acute Myeloid Leukemia. *Ther. Adv. Hematol*. 2018, 9, 163-173.
- Jabbour E, Garcia Manero G, Bally N, Shan J, O'Brien S, Contes J, Ravandi F, Issa J P & Kantarjian H (2010) Outcome of patients with myelodysplastic syndrome after failure of decitabine therapy. *Cancer* 116, 3830-3834.
- Kadia TM, Jabbour E & Kantarjian H (2011) Failure of hypomethylating agent based therapy in myelodysplastic syndromes. *Semin Oncol* 38, 682-692.
- Shih M, DeVeaux M, Montesinos P, Iyzykson R, Ritchie EK, Sekeres MA, Barnard JD, Podalsky NA, Bruner AM, Komrokj RS et al (2018) Hypomethylating agents in relapsed and refractory AML: outcomes and their predictors in a large international patient cohort. *Blood Adv* 2, 923-932.
- Yang H, Busca Ramon C, DiNardo C, Estévez MR, Davarion M, Geng D, Fang Z, Nguyen M, Piroo S, Wei Y et al (2014) Expression of PD L1, PD L2, PD 1 and CTLA4 in myelodysplastic syndromes is enhanced by treatment with hypomethylating agents. *Leukemia* 28, 1280-1288.
- Yau HL, Eltayebi I & De Carvalho DD (2019) The cancer epigenome: exploring its vulnerabilities for immunotherapy. *Trends Cell Biol* 29, 31-43.
- Quach H, Ritchie D, Stewart AK, Neeson P, Harrison S, Smyth MJ & Prince HM et al (2014) Mechanism of action of immunomodulatory drugs (IMiDs) in multiple myeloma. *Leukemia* 24, 22-32.
- Ciuzeanu, T.; Seibert, M.; Rahimi, R.; Cuzzubbo, S.; Waller-petrich, A.; Lehmann che, J.; Peterlin, P.; Beve, B.; Altah, H.; Chermat, F., et al. APR-246 Combined with Azacitidine (AZA) in TP53 Mutated Myelodysplastic Syndrome (MDS) and Acute Myeloid Leukemia (AML): a Phase 2 Study by the Groupe Francophone Des Myelodysplasies (GFM). *Blood* 2019, 134, 677.
- Sallman, D.A.; DeZern, A.E.; Garcia-Manero, G.; Sheersma, D.P.; Roboz, Z.J.; Sekeres, M.A.; Ciuzeanu, T.; Sweet, K.L.; McLemore, A.F.; McGraw, K., et al. Phase 2 Results of APR-246 and Azacitidine (AZA) in Patients with TP53 Mutant Myelodysplastic Syndromes (MDS) and Oligoblastic Acute Myeloid Leukemia (AML). *Blood* 2019, 134, 676.