

Naše izkušnje zdravljenja z azacitidinom pri bolnikih z akutno mieločno levkemijo, kronično mielomonocitno levkemijo in mielodisplastičnim sindromom

Our treatment experience with azacytidine in patients with acute myeloid leukaemia, chronic myelomonocytic leukaemia and myelodysplastic syndrome

Peter Černelč, Matjaž Sever

Klinični oddelek
za hematologijo,
Univerzitetni klinični
center Ljubljana,
Zaloška 2,
1000 Ljubljana

Korespondenca/ Correspondence:

prof. dr. Peter Černelč,
dr. med., Klinični
oddelek za hematologijo,
Univerzitetni klinični
center Ljubljana,
Zaloška 2, 1000
Ljubljana,
e-mail: peter.cernelc@
kclj.si

Ključne besede:

azacitidin, zdravljenje,
akutna levkemija,
kronična mielomonocitna
levkemija,
mielodisplastični
sindrom

Key words:

azacytidine, therapy,
acute myeloid leukemia,
chronic myelomonocytic
leukemia,
myelodysplastic
syndrome

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2012;
81 supl 2: II-49–55

Prispelo: 3. maj 2012,
Sprejeto: 6. jun. 2012

Izvleček

Izhodišča: Zdravljenje z azacitidinom je nov način zdravljenja odraslih bolnikov z akutno mieločno levkemijo (AML), ki niso primerni za intenzivno zdravljenje s citostatiki, bolnikov s kronično mielomonocitno levkemijo (KMMoL) in bolnikov z mielodisplastičnim sindromom (MDS). Dosedanji načini zdravljenja teh bolnikov z malimi odmerki citozin arabinosida, transfuzijami krvnih pripravkov in rastnimi dejavniki so bili malo učinkoviti. Prikazujemo naše izkušnje zdravljenja z azacitidinom.

Bolniki in način zdravljenja: Od julija 2009 do decembra 2012 smo zdravili 48 bolnikov: 20 bolnikov z AML, 9 bolnikov z refraktarno anemijo (RA), 8 bolnikov z refraktarno anemijo s presežkom blastov I (RAPB-I), 8 bolnikov z refraktarno anemijo s presežkom blastov II (RAPB-II), 3 bolnike s KMMoL. 17 bolnikov je prejelo iz različnih razlogov azacitidin le enkrat: 8 bolnikov z AML, 3 bolniki z RA, 3 bolniki z RAPB-I, 1 bolnik z RAPB-II, 2 bolniki s KMMoL; 4 bolniki pa le dvakrat: 2 bolnika z AML, 1 bolnik z RAPB-I, 1 bolnik z RAPB-II. Azacitidin smo dajali 75 mg/m²/dan s.c., 7 dni zapored. Zdravljenje smo ponavljali na 28 dni, vse dokler se je stanje bolezni izboljševalo. Učinek zdravljenja smo pričakovali po treh do štirih krogih zdravljenja.

Rezultati: Pri 32 bolnikih, ki so prejeli 3 in več krogov zdravljenja z azacitidinom, smo ugotovili: pri 7 od 13 bolnikih z AML (54 %) delno remisijo bolezni; pri 6 od 7 bolnikih z RA (86 %) delno remisijo bolezni; pri nobenem od 5 bolnikov z RAPB-I zdravljenje ni bilo uspešno; pri enem od 3 bolnikov z RAPB-II (33 %) smo ugotovili delno remisijo bolezni. Le pri enem bolniku z RAPB-II smo ugotovili popolno citogenetično remisijo bolezni. Pri enem od 4 bolnikov s KMMoL

(25 %) je bilo zdravljenje uspešno. Pri bolnikih, pri katerih je bilo zdravljenje uspešno, so povprečno potrebovali transfuzije eritrocitov in/ali trombocitov do 3. ali 4. kroga zdravljenja.

Zaključki: Zdravljenje bolnikov z azacitidinom, ki so prejeli 3 in več krogov zdravljenja, je bilo uspešno pri slabi polovici bolnikov z AML, mielodisplastičnim sindromom in kronično mielomonocitno levkemijo. Skrbno moramo izbrati bolnike, da bo zdravljenje uspešno.

Abstract

Background: Azacytidine was recently approved for treatment of adult patients with acute myeloid leukemia (AML) not eligible for intensive chemotherapy, for patients with chronic myelomonocytic leukemia (CMMoL) and myelodysplastic syndromes (MDS). Prior to azacytidine, patients usually received low-dose ara-C, blood transfusions or growth factors with limited success. Here we present a single institution experience of patient treatment with azacytidine.

Patients and treatment: From July 2009 to December 2012 we treated 48 patients. Twenty patients had AML, nine refractory anemia (RA), eight refractory anemia with excess blasts (RAEB) type 1, eight RAEB type 2 and three had CMMoL. For various reasons, 17 patients received only one cycle of azacytidine: eight with AML, three with RA, three with RAEB-1, one with RAEB-2 and two with CMMoL. Four patients received only two cycles of azacytidine: two with AML, one with RAEB-1 and one with RAEB-2. We used standard protocol of azacytidine 75 mg/m² s.c. for seven days every 28 days. Treatment results were expected after three to four cycles of azacytidine.

Results: Thirty-two patients received three or more cycles of azacytidine. Out of 13 AML patients, seven (54 %) went into remission and six (46 %) failed therapy. Out of seven RA patients, six (86 %) went into remission, one patient had partial remission and one patient failed therapy. Five (100 %) patients with RAEB-1 as well as two (67 %) patients with RAEB-2 failed therapy. One patient with RAEB-2 had partial remission. Cytogenetic remission was seen only in one patient with RAEB-2. Only one (25 %) patient with

CMMoL responded to therapy. Responders decreased their dependence to blood and platelet transfusions after three or four cycles of azacytidine.

Conclusions: Azacytidine was successful in half of the treated patients with AML, MDS and CMMoL, who received at least three cycles of therapy. Appropriate patient selection for azacytidine treatment is mandatory.

Uvod

S starostjo nad 60 let se pogostost akutne mieloične (AML) in kronične mielomonocitne levkemije (KMMoL) ter mielodisplastičnih sindromov (MDS) hitro povečuje, s tem pa je povezana znatno slabša napoved poteka bolezni. Slednja je posledica številnih dejavnikov, kot so slabše splošno stanje bolnika, slaba odzivnost na intenzivno citostatično zdravljenje in velika smrtnost zaradi zapletov zdravljenja, neugodna citogenetika in sočasne bolezni s prizadetostjo organskih sistemov.¹ Glede na največ izkušenj pri zdravljenju starejših bolnikov nad 60 let z AML s kombinacijo daunorubicina in citarabina, s katero dosežemo 45–55 % odzivnosti na zdravljenje, 5 let pa preživi manj kot 10 % bolnikov,² je uspešnost intenzivnega citostatičnega zdravljenja pri KMMoL in MDS še znatno slabša. Zato se pogosto odločimo za simptomatsko zdravljenje z malimi odmerki citozin-arabinozida, transfuzijo krvnih pripravkov, eritropoetinom in filgrastimom.³

Sredi leta 2009 smo dobili na voljo v Sloveniji novo zdravilo azacitidin (Vidaza) za zdravljenje bolnikov z AML, KMMoL in za neugodne oblike MDS, ki niso primerne za

intenzivno citostatično zdravljenje in presaditev KMC. Azacitidin za zdravljenje MDS je ameriška FDA (US Food and Drug Administration) odobrila na osnovi raziskave CALGB (Cancer and Leukemia Group B) 9221 na 191 bolnikih z MDS, v kateri so ga primerjali s podpornim zdravljenjem.⁴ Ugotovili so, da so bolniki z MDS, ki so prejeli azacitidin, preživel 21 mesecev, s simptomatskim zdravljenjem pa le 12 mesecev, le pri 3 % bolnikov z MDS je bolezen napredovala v AML, v primerjavi s simptomatskim zdravljenjem, pri katerem je prešla v 24 %. Celotna odzivnost na zdravljenje z azacitidinom je bila pri 47 % bolnikov, popolno remisijo pa so dosegli pri 10 % bolnikov. Pri večini bolnikov so ugotovili izboljšanje bolezni med tretjim in četrtem mesecem zdravljenja z azacitidinom.

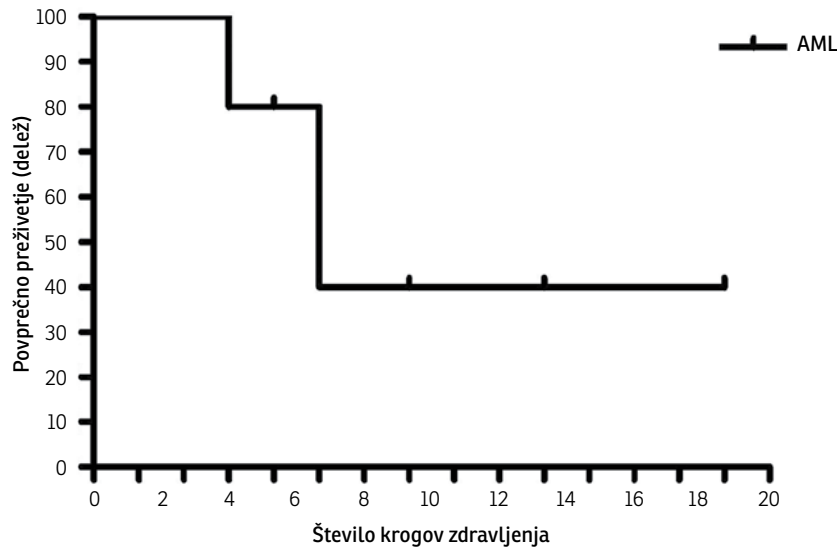
Raziskava AZA-001 je primerjala zdravljenje z azacitidinom z drugimi načini zdravljenja, od podpornega zdravljenja, zdravljenja z malimi odmerki citarabina do intenzivnega citostatičnega zdravljenja. V raziskavo so vključili bolnike z MDS in srednjim tveganjem druge stopnje ter velikim tveganjem in bolnike z AML z do 30 % blastnih celic v kostnem mozgu.⁵ Ugotovili so, da je bilo zdravljenje z azacitidinom učinko-

Tabela 1: Število bolnikov z AML, MDS in KMMoL, ki so prejeli 3 in več krogov zdravljenja z azacitidinom.

Zdravljenje/diagnoza	Število krogov zdravljenja, mediana	Število bolnikov
AML	3–14, mediana 5	10
MDS	3–18, mediana 5	16
KMMoL	5	1
Skupaj		27

Legenda: AML – akutna mieloična levkemija (AML), MDS – mielodisplastični sindrom, KMMoL – kronična mielomonocitna levkemija

Slika 1: Preživetje bolnikov z MDS in KMMoL, ki so prejeli 3 in več krogov zdravljenja z azacitidinom.



vitejše od drugih zdravljenj, saj so bolniki, ki so prejeli azacitidin, preživeli 8,5 mesecev dlje kot tisti z drugimi načini zdravljenja, popolno remisijo bolezni so ugotovili pri 17 % bolnikov, celotno odzivnost na zdravljenje pa pri 49 % bolnikov.

Azacitidin je zaviralec DNK metiltransferaz, ki igrajo pomembno vlogo v epigenetičnem uravnavanju izražanja genov in nastanku novotvorb.⁶ Azacitidin je indiciran za zdravljenje bolnikov: 1. z AML z 20–30 % blastnih celic v kostnem mozgu, 2. s KMMoL z 10–29 % blastnih celic v kostnem mozgu in 3. z MDS in srednjim tveganjem druge stopnje ter velikim tveganjem po International Prognostic Scoring Systemu (IPSS), ki niso primerni za alogensko presaditev krvotvornih matičnih celic.⁵

Bolniki in način zdravljenja

Od julija 2009 do decembra 2012 smo zdravili 48 bolnikov: 20 bolnikov z AML,

9 bolnikov z refraktarno anemijo (RA), 8 bolnikov z refraktarno anemijo s presežkom blastov v kostnem mozgu do 10 % (RAPB-I), 8 bolnikov z refraktarno anemijo s presežkom blastov v kostnem mozgu do 20 % (RAPB-II), 3 bolnike s KMMoL. 17 bolnikov je prejelo iz različnih razlogov azacitidin le enkrat: 8 bolnikov z AML, 3 bolniki z RA, 3 bolniki z RAPB-I, 1 bolnik z RAPB-II, 2 bolniki s KMMoL; 4 bolniki pa le dvakrat: 2 bolnika z AML, 1 bolnik z RAPB-I, 1 bolnik z RAPB-II. Starost 11 bolnikov in 9 bolnic z AML je bila od 51 do 85 let (mediana 71 let), starost 16 bolnikov in 9 bolnic z MDS je bila od 45 do 84 let (mediana 65 let), starost 1 bolnika in 2 bolnic s KMMoL je bila od 67 do 72 let (mediana 69 let). Azacitidin smo dajali 75 mg/m²/dan s.c. 7 dni zapored. Zdravljenje smo ponavljali na 28 dni, vse dokler se je stanje bolezni izboljševalo. Učinek zdravljenja smo pričakovali, glede na izsledke zdravljenja v literaturi,⁴ po treh do štirih krogih zdravljenja.

Tabela 2: Ocena učinkovitosti zdravljenja pri 27 bolnikih z AML, MDS in KMMoL, ki so prejeli 3 in več krogov zdravljenja z azacitidinom.

Diagnoza/Zdravljenje	AML	RA	RAPB-I	RAPB-II	KMMoL	Skupaj
Uspešno	5 (50 %)	5 (83 %)	1 (25 %)	1 (17 %)	1 (100 %)	13 (48 %)
Neuspešno	5	1	3	5	0	14 (52 %)
Skupaj	10	6	4	6	1	27 (100 %)

Legenda: AML – akutna mieloična levkemija (AML), RA – refraktarna anemija, RAPB-I – refraktarna anemija s presežkom do 10 % blastov v kostnem mozgu, RAPB-II – refraktarna anemija s presežkom do 20 % blastov v kostnem mozgu, KMMoL – kronična mielomonocitna levkemija

Tabela 3: Ocena učinkovitosti zdravljenja pri bolnikih z AML, MDS in KMMoL, ki so prejeli enega, dva ter tri in več krogov zdravljenja z azacitidinom.

Diagnoza/Zdravljenje	AML	RA	RAPB-I	RAPB-II	KMMoL	Skupaj
Uspešno	5 (25 %)	5 (56 %)	1 (13 %)	1 (13 %)	1 (33 %)	13 (27 %)
Neuspešno	15	4	7	7	2	35 (73 %)
3 in več krogov	5	1	3	5	0	14
1 + 2 kroga	10	3	4	2	2	21
Skupaj	20	9	8	8	3	48 (100 %)

Legenda: AML – akutna mieloična levkemija (AML), RA – refraktarna anemija, RAPB-I – refraktarna anemija s presežkom do 10 % blastov v kostnem mozgu, RAPB-II – refraktarna anemija s presežkom do 20 % blastov v kostnem mozgu, KMMoL – kronična mielomonocitna levkemija

Od julija 2009 do decembra 2011 je 10/27 bolnikov z AML prejelo 3 do 14 krogov zdravljenja (mediana 5 krogov), 16/27 bolnikov z MDS je prejelo 3 do 18 krogov zdravljenja (mediana 5 krogov), en bolnik s KMMoL je prejel 5 krogov zdravljenja z azacitidinom (Tabela 1).

Učinkovitost zdravljenja smo ocenjevali⁷ s popolno remisijo bolezni (normalna krvna slika in < 5 % blastnih celic v kostnem mozgu), hematološko remisijo bolezni (normalna krvna slika, brez potrebe bo transfuzijah krvnih pripravkov) in neučinkovito zdravljenje, ko ne ugotovimo izboljšanja krvne slike.

Rezultati

Pri 27 bolnikih, ki so prejeli 3 in več krogov zdravljenja z azacitidinom, smo ugotovili: delno remisijo bolezni pri 5/10 bolnikov (50 %) z AML, pri 5/6 bolnikih (83 %) z RA, pri 1/4 bolnikov (25 %) z RAPB-I, pri 1/6 bolnikov (17 %) z RAPB-II. Med 10 bolnikih z AML je bilo 5 primarnih in 5 sekundarnih zaradi prehoda MDS v AML, pri enem bolniku z AML, ki je bil v remisiji, so se pojavili

znaki sekundarne RA. Pri 1 bolniku z sekundarno AML smo po 3 krogih zdravljenja ugotovili popolno remisijo AML. Pri enem bolniku z RAPB-II in številnimi neugodnimi citogenetičnimi spremembami smo po 8 krogih zdravljenja ugotovili popolno citogenetično remisijo bolezni, skupno je prejel že 16 krogov zdravljenja in je 9 mesecev v popolni remisiji bolezni. Pri enem bolniku s KMMoL smo ugotovili delno remisijo bolezni (Tabela 2).

Vsi bolniki z AML so med zdravljenjem potrebovali transfuzije eritrocitov in/ali trombocitov: 1 bolnik s primarno AML je potreboval transfuzije eritrocitov in trombocitov 2 kroga zdravljenja, 2 bolnika z sekundarno AML prve 3 kroge zdravljenja, 2 bolnika z sekundarno AML 5 krogov zdravljenja, 1 bolnik z RA je potreboval transfuzijo eritrocitov in trombocitov dva kroga zdravljenja, 1 bolnik z RA pa transfuzijo trombocitov do 7 kroga zdravljenja, 1 bolnik z RAPB-II je potreboval transfuzije eritrocitov in trombocitov 2 kroga zdravljenja, 1 bolnik s KMMoL je potreboval transfuzijo eritrocitov le prvi krog zdravljenja.

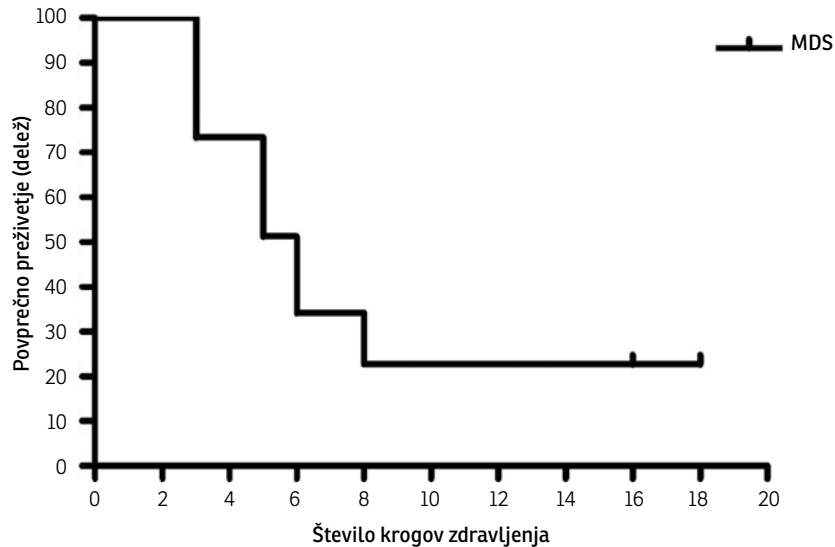
Tabela 4: Vzroki, da so bolniki z AML, MDS in KMMoL prejeli le enega do dva kroga zdravljenja z azacitidinom.

Vzroki/Diagnoza	Napredovanje v AML	Umrli zaradi zapletov*	Prehod na drugo zdravljenje	Zdravljenje nadaljuje	Skupaj
AML		7	2	1	10
MDS	1	8			9
KMMoL	2				2
Skupaj	3	15	2	1	21

Legenda: AML – akutna mieloična levkemija (AML), RA – refraktarna anemija, MDS – mielodisplastični sindrom, KMMoL – kronična mielomonocitna levkemija

*Vsi bolniki so imeli hudo nevtropenijo in/ali hudo trombocitopenijo ≥ 3

Slika 2: Preživetje bolnikov z MDS in KMMoL, ki so prejeli 3 in več krogov zdravljenja z azacitidinom.



Če smo upoštevali pri oceni zdravljenja vse bolnike, tudi tiste, ki so prejeli en krog in več krogov zdravljenja z azacitidinom, so bili izsledki zdravljenja slabši. Ugotovili smo delno remisijo bolezni pri 5/20 bolnikov (25 %) z AML, pri 5/9 bolnikih (56 %) z RA, pri 1/8 bolnikov (13 %) z RAPB-I, pri 1/8 bolnikov (13 %) z RAPB-II in pri 1/3 bolnikov (33 %) s KMMoL (Tabela 3). Pri bolnikih, pri katerih je bilo zdravljenje uspešno, so povprečno potrebovali transfuzije eritrocitov in/ali trombocitov do 3. ali 4. kroga zdravljenja.

Med 21 bolniki, ki so prejeli le 1 ali 2 kroga zdravljenja, so bili naslednji razlogi za prekinitev zdravljenja z azacitidinom: pri 3 bolnikih prehod bolezni v sekundarno AML; pri 15 bolnikih poslabšanje citopenije in smrt zaradi zapleta, v večini okužbe; pri 2 bolnikih smo spremenili zdravljenje; pri

enem bolniku s sekundarno AML nadaljujemo zdravljenje (Tabela 4).

Le 2/27 bolnikov (7 %) sta imela napovedno ugodne citogenetične opredelitve, večina 11/27 bolnikov (41 %) je imela vmesne ali neugodne, ki imajo večinoma neugoden potek (Tabela 5), izjemoma smo pri enem bolniku z RAPB-II in kompleksnim kariotipom (Tabela 6) ugotovili popolno citogenetično remisijo.

80 % bolnikov z AML je preživel 5 mesecev zdravljenja, 40 % od njih pa 14 mesecev zdravljenja (Slika 1). 50 % bolnikov z MDS in KMMoL je preživel 6 mesecev zdravljenja, nekoliko več kot 20 % od njih pa 18 mesecev zdravljenja (Slika 2).

Tabela 5: Ocena napovednega poteka bolezni pri bolnikih z AML, MDS in KMMoL glede na citogenetične preureditve pred zdravljenjem z azacitidinom.

Diagnoza/ Citogenetične preureditve	AML	RA	RAPB-I	RAPB-II	KMMoL	Skupaj
Preiskava ni uspela	2	1	2	2	0	7 (26 %)
Brez sprememb	4	2	0	0	1	7 (26 %)
Ugodne	0	1	1	0	0	2 (7 %)
Vmesne	2	2	1	1	0	6 (22 %)
Neugodne	2	0	0	2	0	5 (19 %)
Skupaj	10	6	4	6	1	27 (100 %)

Razpravljanje

Obe veliki prvi raziskavi CALGB 9221⁴ in AZA-001,⁵ ki sta potrdili učinkovitost zdravljenja z azacitidinom pri bolnikih z AML in MDS, sta razvrstili bolnike z več kot 30 % levkemičnih blastnih celic v kostnem mozgu v AML, medtem ko zadnja razvrstitev po SZO razvrsti v AML že bolnike z 20 %. Večji delež levkemičnih blastov v kostnem mozgu je bil tudi razlog za nastanek priporočil za zdravljenje z azacitidinom MDS, KMMoL in AML. Poznano je, da je povprečno preživetje bolnikov z MDS z manj kot 5 % blastnih celic znatno boljše od tistih bolnikov, ki jih imajo več kot 5 %, kot tudi pri KMMoL in AML.

Za ocenjevanje uspešnosti zdravljenja smo upoštevali bolnike, ki so prejeli vsaj 3 kroge zdravljenja, saj se je v raziskavi CALGB 9221⁴ večina bolnikov odzvala na zdravljenje z azacitidinom po 3 do 4 mesecih zdravljenja. Da to dosežemo, je potrebno najprej izbrati bolnike z AML, MDS in KMMoL, ki lahko glede na sočasne druge bolezni učinek zdravljenja dočakajo. Bolniki s hudo citopenijo, predvsem nevtropenijo in/ali trombocitopenijo, so izrazito ogroženi za zaplete, zato jih moramo v prvih mesecih zdravljenja intenzivno preprečevati s preventivnim prejetjem antibiotikov in transfuzijami koncentriranih trombocitov. Razlogi, da so naši bolniki prejeli le enega do dva kroga zdravljenja, so bili predvsem zapleti s smrtnim izidom (Tabela 3) ali pre-

hod MDS v akutno levkemijo pri 18/21 bolnikov (86 %).

Citotoksično in hipometilacijsko delovanje azacitidina je odvisno od vgradnje presnovkov zdravila v novo nastalo RNK in DNK.⁸ Raziskave potrjujejo, da je potrebno neprestano enkratmesečno dajanje zdravila za zaviranje metilacije DNK,⁹ doseganje popolne remisije bolezni po zdravljenju z azacitidinom pa ni obvezno za kakovostno dolgotrajno preživetje.^{5,10} Nadaljevanje zdravljenja z azacitidinom po odzivu na zdravljenje pozneje še dodatno izboljša stopnjo odziva pri bolnikih z MDS in velikim tveganjem.¹¹ Zdravljenje z azacitidinom je bilo uspešnejše v primerjavi s poznanim zdravljenjem z malimi odmerki citozin-arabinozidaza tako pri celotnem preživetju bolnikov, kot tudi pri odzivnosti na zdravljenje bolnikov z AML in MDS s citogenetično malim in velikim tveganjem.⁵ Tudi citotoksičnost azacitidina, ki se kaže z nevtropenijo in trombocitopenijo, je bila manjša med zdravljenjem z azacitidinom kot med zdravljenjem z malimi odmerki citozin-arabinozida.⁵

Zaključki

Zdravljenje bolnikov z azacitidinom, ki so prejeli 3 in več krogov zdravljenja, je bilo uspešno pri polovici bolnikov z AML, večini bolnikov z RA in KMMoL in slabi četrtini bolnikov z RAPB-I in RAPB-II. Skrbno moramo izbrati tiste bolnike z AML, KMMoL

Tabela 6: Ocena napovednega poteka bolezni pri bolnikih z AML, MDS in KMMoL glede na citogenetične preureditve pred zdravljenjem z azacitidinom in ocena uspešnosti zdravljenja.

Diagnoza/ Citogenetične preureditve	Citogenetična prognoza	AML	RA	RAPB-I	RAPB-II	Skupaj
del(11)	V- I	1sek, N				1
del(20)	U		1, R			1
Trisomija +8	V- II	1, N	1, R	1, N		3
del 5q	U			1, N		1
Kompleksen*	N	1sek, N	2, R		1, R	4

Legenda: AML – akutna mieloična levkemija (AML), RA – refraktarna anemija, MDS – mielodisplastični sindrom, KMMoL – kronična mielomonocitna levkemija V – srednje tveganje prve ali druge stopnje, U – ugodna napoved izida, N – neugodna napoved izida, neuspešno zdravljenje, R – remisija bolezni
*primer kompleksnega kariotipa: der(1), t(1;2), -2, der(3), t(1;3), -5, der(7), t(7;18), der(12) add(12), -18, idic(22), +1-2mar/46,XY89)

in MDS, ki bodo ob podpornem zdravljenju lahko prejeli več kot tri kroge zdravljenja z azacitidinom, ko se pojavijo znaki izboljšanja bolezni.

Literatura

1. Mlakar U. Zdravljenje akutne mieločne levkemije odraslih–5-letne izkušnje v UKC Ljubljana. *Zdrav Vestn* 2008; 77: I-31–5.
2. Lowenberg B. Prognostic factors in acute myeloid leukemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001; 14: 65–75.
3. Burnett AK, Milligan D, Prentice AG, Goldstone AH, McMullin MF, Hills RK, et al. National Cancer Research Institute Haematological Oncology Study Group Adult Leukemia Working Party. A comparison of low-dose cytarabine and hydroxyurea with or without all-trans retinoic acid for acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome in patients not considered fit for intensive treatment. *Cancer* 2007; 109: 1114–24.
4. Silverman LR, Demakos EP, Peterson BL, Kornblith AB, Holland JC, Odchimar-Reissig R, et al. Randomized controlled trial of azacytidine in patients with the myelodysplastic syndrome: a study of the cancer and leukemia group B. *J Clin Oncol* 2002; 20: 2429–40.
5. Fenaux P, Mufti GJ, Hellstroem-Lindberg E, Santini V, Gattermann N, Germing U, et al. Efficacy of azacytidine compared with that of conventional care regimens in higher-risk myeloid syndromes: A randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol* 2009; 10: 223–32.
6. Khan R, Schmidt-Mende J, Karimi M, Gogvadze V, Hassan M, Ekström TJ, et al. Hypomethylation and apoptosis in 5-azacytidine-treated myeloid cells. *Exp Hematol* 2008; 36: 149–57.
7. Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ, Büchner T, Willman CL, Estey EH, et al. Revised recommendations of the International Working Group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2003; 21: 4642–9.
8. Stresemann C, Lyko F. Modes of action of the of the DNA methyltransferase inhibitors azacytidine and decitabine. *Int J Cancer* 2008; 123: 8–13.
9. Herman JG, Baylin SB. Gen silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N Engl J Med* 2003; 349: 2042–54.
10. Silverman LR, McKenzie DR, Peterson BL, Holland JF, Backstrom JT, Beach CL, et al. Further analysis of trials with azacytidine in patients with myelodysplastic syndrome: studies 8421, 8921, and 9221 by the Cancer and Leukemia Group B. *J Clin Oncol* 2006; 24: 3895–903.
11. Silverman LR, Fenaux P, Mufti GJ, Santini V, Hellstroem-Lindberg E, Gattermann N, et al. Continued azacytidine therapy beyond time of first response improves quality of response in patients with higher-risk myelodysplastic syndromes. *Cancer* 2011; 117: 2697–702.