doi: 10.48095/cctahd2022prolekare.cz6

Mutace v epigenetických regulátorech – potenciální prognostické markery a terapeutické cíle u akutní myeloidní leukemie

Mutations in epigenetic regulators – potential prognostic markers and therapeutic targets in acute myeloid leukaemia

Navrátilová J., Katrincsáková B., Szotkowski T., Indrák K., Urbánková H., Papajík T.

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

SOUHRN: Správné řízení genové exprese hraje zásadní roli v diferenciaci hematopoetických kmenových buněk a dalších procesech hematopoézy. Zásah do epigenetické regulace genové exprese charakterizuje patogenezi celé řady nejen hematologických malignit. V genomech pacientů s akutní myeloidní leukemií, zejména ve skupině s normálním karyotypem, byly opakovaně prokázány somatické mutace v epigenetických regulátorech vč. *DNMT3A, TET2, IDH1, IDH2, ASXL1, MLL* nebo *EZH2*. Jedná se o časné preleukemické zásahy, které bývají stabilním ukazatelem klinického vývoje onemocnění a v kombinaci s *„driver"* mutacemi (*NPM1, FLT3, MLL, RUNX1* aj.) představují kandidátní markery pro monitorování minimální reziduální nemoci. Specifický mutační profil každého pacienta získaný s využitím moderních molekulárních metod, jako je sekvenování nové generace, může přinést zásadní informaci o případném rozvoji relapsu či dosažení remise onemocnění. Cílem této práce je shrnout poznatky o klinickém, biologickém a terapeutickém významu mutací vybraných epigenetických regulátorů rekurentních u akutní myeloidní leukemie.

KLÍČOVÁ SLOVA: akutní myeloidní leukemie – epigenetické mutace – epigenetické regulátory – prognóza

SUMMARY: Regulation of gene expression, especially in hematopoietic stem cells, plays an essential role in differentiation and other important processes of haematopoiesis. Pathogenesis of different malignant diseases is characterised by disruption of epigenetic regulation. Certain somatic mutations, including genes such as *DNMT3A, TET2, IDH1, IDH2, ASXL1, MLL* or *EZH2*, have been found in acute myeloid leukaemia, especially in patients with normal karyotype AML. These mutations are considered to be pre-leukemic events and are stable indicators of clinical course. In combination with driver mutations, they are suitable markers for monitoring minimal residual disease. Specific mutational profiles of individual patients could provide essential information about disease progression, relapse or achievement of complete remission. The aim of this article is to review current knowledge regarding the clinical and therapeutical value of mutations in selected genes involved in epigenetic regulation of gene expression in acute myeloid leukaemia.

KEY WORDS: acute myeloid leukaemia – epigenetic mutations – epigenetic regulators – prognosis

ÚVOD

Akutní myeloidní leukemie (AML) jsou onemocnění, kterými trpí především lidé staršího věku (dospělí nad 60 let). Představují značně heterogenní skupinu klonálních poruch krvetvorby, které jsou charakterizovány kumulací nezralých hematopoetických buněk myeloidní řady v kostní dřeni a periferní krvi, případně v extramedulárních tkáních. Navzdory intenzivnímu hledaní nových terapeutických cílů, které by pomohly zlepšit výsledky léčby nejen u starších pacientů, zůstávají léčebné strategie pro pacienty s nově diagnostikovanou AML dlouhodobě bez výrazných změn [1]. Režimy s kurativním potenciálem se zakládají na intenzivní indukční chemoterapii s cytarabinem v kombinaci s antracykliny (7 + 3), následované chemoterapií konsolidační, alogenní transplantací krvetvorných kmenových buněk (aloTKB) u pacientů s rizikovým onemocněním, nebo několika cykly léčby založené na vysoko-dávkovaném cytarabinu u pacientů s příznivou prognózou [2]. Indukční chemoterapie je v současné době zlatým standardem pro dosažení kompletní remise onemocnění (*complete remission* – CR) u mladších nemocných

(< 65 let). V kombinaci s aloTKB nabízí velké části pacientů šanci na úplné vyléčení. Kritéria pro léčbu intenzivní chemoterapií a následnou aloTKB ve většině případů nesplňují starší nemocní (> 65 let), tedy významná část (cca 50 %) dospělých pacientů s AML. Jejich prognóza, vyplývající ze samotné podstaty onemocnění a velkého počtu přidružených komorbidit, je neuspokojivá a dlouhodobé přežití se pohybuje pod úrovní 10 % [3].

Na patogenezi AML se podílí řada cytogenetických změn, které zasahují krvetvorné kmenové buňky nebo progenitory. Odpovídají za klonální proliferaci abnormálně diferencovaných či nediferencovaných myeloidních buněk a za heterogenní klinickou manifestaci AML. Díky detailnímu náhledu na genetické pozadí AML se povedlo podrobně zhodnotit genetickou heterogenitu jednotlivých genomů AML a částečně propojit patofyziologii AML s desítkami různých genových mutací, z nichž vybrané somatické mutace našly uplatnění nejen v diagnostice, ale i v prognostické stratifikaci AML [3–5]. Samotné genetické změny (mutace, chromozomální přestavby) jsou často provázeny deregulací epigenetických mechanizmů. Na porušení epigenomu se podílí nejčastěji mutace v genech zodpovědných za samotné epigenetické pochody, ale byl prokázán i vliv některých složek životního prostředí (např. složení stravy, expozice chemikáliím aj.). Základními epigenetickými mechanizmy regulace genové exprese jsou metylace a hydroxymetylace DNA (*DNMT3A, TET2*), posttranslační modifikace histonů (*EZH2, ASXL1, MLL*) a aktivita velké skupiny nekódujících RNA. Jako epigenetické jsou označované mechanizmy ovlivňující strukturu chromatinu (komplex DNA a histonů) a mechanizmy ovlivňující genovou expresi přímo pomocí metylace DNA. Jedná se o dynamické a přísně regulované procesy, které mění elektrostatický náboj chromatinu a podílí se na modulaci vazeb mezi chromatinem a transkripčními faktory, mezi chromatinem a chromatin remodelujícím komplexem či modifikujícím internukleozomální interakce. Jejich vzájemným působením dochází k reverzibilnímu vypínání a zapínání genů bez zásahu do sekvence nukleotidů v samotné DNA. Podílí se na regulaci základních buněčných procesů replikace, transkripce a opravy poškození DNA. Vývoj AML je důsledkem vzniku mutací v genech fyziologicky zapojených do epigenetických procesů [6]. Obecné pravidlo, že frekvence mutací se zvyšuje úměrně s věkem nemocných a v průběhu klonální evoluce AML, platí i pro epigenetiku. Odpověď na otázku, zda by „náprava" narušených epigenetických procesů mohla ovlivnit průběh AML, je aktuálně předmětem intenzivních studií. Tento přehled věnujeme vybraným epigenetickým regulátorům, jejichž mutace jsou u AML rekurentní a které představují potenciální prognostické markery a do budoucna slibné terapeutické cíle.

MUTACE V GENECH, KTERÉ ZASAHUJÍ DO MODIFIKACÍ CYTOZINOVÝCH ZBYTKŮ V DNA – *DNMT3A* A *TET2*

Metylace DNA probíhá na cytozinu a je katalyzována DNA metyltransferázami (DNMT). Po ní následuje změna prostorové konformace nukleozomů (komplex DNA a histonů) a vazba dalších enzymů (histon deacetylázy a histon metyltransferázy), což vede k umlčení transkripce daného genu. Samotná metylace DNA je reverzibilní. Buňka má k dispozici enzymy, které vzhledem k výše zmíněným DNMT plní funkci antagonistickou. Účinek DNMT ruší specifické enzymy katalyzující hydroxymetylaci, TET (*ten-eleven-translocation genes*).

Mutace DNMT3A

Asi 15–25 % pacientů s *de novo* AML má v době diagnózy prokázánou mutaci v genu pro DNA metyltransferázu 3A (*DNMT3A*). Nejvyšší incidence mutací je popisována u AML s intermediární prognózou, která zahrnuje i AML s NK (normální karyotyp) [7]. Až 65 % všech mutací *DNMT3A* jsou heterozygotní substituce v kodonu R882, postihující katalytickou (metyltransferázovou) doménu proteinu. Ostatní somatické mutace v *DNMT3A* jsou naopak považované za příčinu hypermetylačního stavu způsobeného ztrátou autoinhibiční funkce proteinu. Alela $DNMT3A^{R882}$ funguje pravděpodobně jako dominantně negativní regulátor alely standardní $DNMT3A^{wt}$ (*wild type*). Zabraňuje normální tetramerizaci proteinových podjednotek, která je nezbytná pro fyziologickou funkci enzymu. Tím je negativně ovlivněna katalytická aktivita celého komplexu, jeho stabilita a schopnost vázat se na DNA ve srovnání s nemutovaným enzymem [8]. Dle výsledků meta-analýzy z roku 2016, zahrnující 4474 AML z 8 nezávislých studií, detekce $DNMT3A^{R882}$ signifikantně zkracuje dobu přežití bez relapsu (*relapse free survival* – RFS) i celkové přežití (*overall survival* – OS) jak u mladších nemocných (< 60 let), tak u starších pacientů (≥ 60 let), a to bez ohledu na cytogenetické změny [9]. Prognostickou hodnotu mutací v *DNMT3A* u pacientů s AML je ovšem nutné posuzovat v kontextu přítomnosti dalších molekulárních změn, vč. mutací ve *Fms-like tyrosine kinase 3* (*FLT3*), nukleofosminu (*NPM1*) nebo izocitrát dehydrogenázách (*IDH1/2*), které s nimi mohou koexistovat. Mechanizmus leukemogeneze způsobené $DNMT3A^{mut}$ u AML nebyl zatím úplně objasněn. Výzkum v oblasti klonální evoluce AML však ukázal, že mutace *DNMT3A* zasahují krvetvorné buňky již v raném stádiu vyzrávání. Představují kandidáty původních mutací, které vznikají již na úrovni zakladatelského „preleukemického" klonu a stabilně doprovázejí „*driver*" mutace během klonální evoluce AML [10]. Perzistence $DNMT3A^{mut}$ u pacientů v dlouhodobé CR či po indukční a konsolidační terapii nemá podle některých studií negativní vliv na klinický průběh AML [11,12]. Otázkou proto zůstává vhodnost využití $DNMT3A^{mut}$ jako markeru pro sledování minimální reziduální nemoci (MRD). Současná doporučení se zmiňují o možnosti využít tyto mutace jako markery pro sledování MRD pouze v případě, že je k dispozici ještě druhý stabilní marker pro tento monitoring [13].

Mutace TET2

Gen *Ten-Eleven Translocation 2* (*TET2*) je považován za tumor supresor. V roce 2009 několik studií upozornilo na častý výskyt somatických mutací v genu *TET2* u poruch myeloidní řady vč. MDS, MPN, AML, CMML a systémové mastocytózy [14]. Rekurentní výskyt *TET2*^{mut} bývá detekován až u 28 % dospělých pacientů s AML v závislosti na klinickém a etiologickém podkladu onemocnění. Incidenci 18–23 % vykazují AML s NK [15]. Studie na klinických souborech AML zdokumentovaly četný výskyt *TET2*^{mut} ve skupině starších nemocných (> 65 let) a poukazují na koincidenci *TET2*^{mut} s prognostickými mutacemi v genech *NPM1*, *FLT3*-ITD$_{low}$ a bialelickými mutacemi v CCAAT/*enhancer-binding* proteinu alfa (*CEBPA*^{dm}) [16]. Jako rizikový se považuje nález *TET2*^{mut} u AML s NK a lze u nich zvážit aloTKB již po dosažení prvního CR onemocnění. Tito nemocní mohou představovat kandidáty pro alternativní formy terapie [3].

Vlivem mutací ve vysoce evolučně konzervovaných doménách ztrácí protein TET2 svou fyziologickou funkci. *Missense* mutace na C-konci postihují hlavní oxygenázovou funkci enzymu. Posunové a nonsense mutace na N-konci vedou k předčasně ukončené syntéze proteinu a narušují jeho fyziologickou konformaci. Důsledkem je hypermetylace oblastí regulujících především expresi tumor supresorů. Podobně jako *DNMT3A*^{mut} se inaktivace *TET2* řadí do raného období leukemogeneze. Populace iniciovaných buněk získává díky inaktivaci *TET2* schopnost rychlé sebeobnovy, klonálně expanduje na úkor fyziologické populace HSC a dává vznik preleukemickému klonu [17].

MUTACE V GENECH, KTERÉ ZASAHUJÍ DO MODIFIKACE DNA I DO POSTTRANSLAČNÍCH MODIFIKACÍ HISTONŮ – *IDH1/IDH2*

Přibližně 20 % dospělých s AML má v době diagnózy prokázánou heterozygotní mutaci v jednom z genů kódujících izocitrát dehydrogenázy [18]. Incidence 6–16 % připadá na mutace v genu *IDH1*, jejichž výskyt je méně častý než mutace v mitochondriálním homologu *IDH2* s frekvencí 8–19 % [19]. Vyšší výskyt, 25–30 % *IDH1/2*^{mut}, bývá detekován ve skupinách starších nemocných a u AML s NK, především u AML s mutací v *NPM1*. Často se vyskytují společně s *FLT3*-ITD. Téměř jistě lze vyloučit vzájemný výskyt *IDH1/2*^{mut} a *TET2*^{mut} a současný výskyt mutací v obou *IDH* genech je také vzácný [20]. V genomech pacientů s AML byly popsány tři rekurentní mutační *hot spoty*, které odpovídají evolučně vysoce konzervovaným aminokyselinám v aktivních místech obou enzymů. Ve všech třech případech se jedná o argininy v pozicích *IDH1*^{R132}, *IDH2*^{R140} a *IDH2*^{R172}. Jejich bodové mutace jsou spojeny se ztrátou fyziologické aktivity enzymu, přeměny citrátu na α-KG (α-ketoglutarát) v Krebsově cyklu a v buněčném metabolizmu. Aberantní enzymy získávají novou katalytickou funkci (*gain-of-function*), a to schopnost redukovat α-KG na 2-hydroxyglutarát (R-2-HG). Abnormální akumulace onkometabolitu (R)-2-HG kompetitivně inhibuje řadu α-KG dependentních enzymů vč. TET2, demetylaci histonů, ale také aktivaci HIF-1a [21]. Zásahem do metylačních procesů se spouští rozsáhlá epigenetická deregulace a IDH^{mut} mají podíl na globální hypermetylaci genomu, tzv. hypermetylačním fenotypu, který typicky doprovází patogenezi AML.

I když se mutace v *IDH1/2* řadí mezi nejčastější rekurentní mutace AML a jejich podíl na leukemogenezi tohoto onemocnění byl jasně prokázán, přínos pro rizikovou stratifikaci AML je zatím méně jasný. Pilotní studie klinických souborů AML přinesly řadu kontroverzních dat [19]. Nicméně v případě nálezu *IDH1*^{mut} či *IDH2*^{mut} u AML se doporučuje přihlížet i na typ mutace (*IDH1* vs *IDH2*, *IDH2*^{R140} vs *IDH2*^{R172}) [22]. Papaemmanuil et al. 2016 se domnívají, že pacienti s izolovaným nálezem *IDH2* ^{R172} bez dalších *driver* mutací by měli dle modelu *NPM1*^{mut} AML tvořit provizorní molekulární skupinu AML. Doporučují zvážit začlenění mutací *IDH2* do prognostických podskupin společně s dalšími mutacemi v *TP53*, *SRSF2, ASXL1 a DNMT3A* [6].

MUTACE V GENECH, KTERÉ ZASAHUJÍ DO POSTTRANSLAČNÍCH MODIFIKACÍ HISTONŮ – GENY SKUPINY POLYCOMB

Metylace probíhá nejen na DNA, ale i na histonových proteinech. Kromě ní dochází na N-terminálních koncích histonů k řadě dalších posttranslačních úprav (acetylaci, fosforylaci, ubikvitinylaci, sumoylaci). Deregulace metylace a acetylace histonů je popisována u širokého spektra hematologických malignit, nejen u AML, ale i u leukemií se smíšeným fenotypem a akutních lymfoblastických leukemií [23]. Spojení mezi epigenetickou regulací DNA a histony tvoří specifický multiproteinový komplex vázající se na chromatin, tzv. *polycomb repesive group* (PcG nebo PRC).

Historicky prvním genem podílejícím se na posttranslačních modifikacích histonů je dobře známý gen histon lyzin metyltransferázy 2A (*KMT2A*). Variabilní přestavby *KMT2A* při diagnóze vykazuje 5–10 % případů AML. Až na několik málo výjimek jsou onkogenní přestavby *KMT2A* známkou agresivního typu onemocnění s velmi nepříznivou prognózou [24]. Druhým typem mutací v genu *KMT2A* jsou parciální tandemové duplikace mezi exony 2 a 8, které se vyskytují u 4–14 % AML a jsou indikátorem horšího průběhu onemocnění, obzvlášť u AML s NK [25].

Méně prostudovaným genem z rodiny Polycomb, jehož mutace byly iniciálně prokázány u MDS a CMMoL a posléze u všech ostatních poruch myeloidní krvetvorby, vč. AML, je gen Additional Sex Comb Like 1 (***ASXL1***). Mutace *ASXL1*, nejčastěji posunové a *missense* v exonu 12, se raritně vyskytují u 3–5 % případů AML. Vyšší frekvenci *ASXL1*^{mut} (11–17 %) vykazuje AML s intermediární

prognózou, starší nemocní (≥ 60 let) a pacienti se sekundárními AML [26,27]. V několika případech byl popsán výskyt *ASXL1*^{mut} spolu s *RUNX1*^{mut} nebo trizomií chromozomu 8 [28]. V souboru starších nemocných měla *ASXL1*^{mut} negativní vliv na počet dosažených CR a OS u AML s NK [29].

Malá skupina dospělých s AML (do 2 %) vykazovala mutace v genu pro histon metyltransferázu *Enhancer of Zeste Homologue* 2 (***EZH2***). EZH2 je součástí komplexu PRC2 (*polycomb repressive complex 2*) a podílí se na inaktivaci transkripce metylací lyzinu v pozici 27 v histonu H3, a tím na udržování rovnováhy mezi diferenciací a obnovou hematopoetických progenitorů [30]. Mutace *EZH2* bývají častěji pozorovány u vzácného typu megakaryoblastické AML a u leukemie asociované s Downovým syndromem. U těchto byly korelovány s horším OS [31,32]. Klinický význam těchto mutací u AML se i s ohledem na jejich nízkou incidenci hodnotí velmi obtížně.

EPIGENETICKÁ TERAPIE A CÍLENÁ LÉČBA U AML

Molekulární patogenezi AML doprovází řada rekurentních mutací a mnohé z nich představují potenciální terapeutické cíle. Právě absence specifických mutací, které by definovaly konkrétní onemocnění, dlouhou dobu brzdila rozvoj cílené terapie AML. Průkaz rekurentních mutací v genech podílejících se na epigenetické regulaci i samotná aberantní epigenetická deregulace přispěly k rozvoji strategií, které směřují k „nápravě" aberantního epigenomu u AML [33]. Epigenom jako terapeutický cíl má ve srovnání s genetickými změnami několik specifických rysů: (i) epigenetická deregulace je reverzibilní a lze ji úspěšně zvrátit farmakologicky, (ii) řada modifikátorů DNA a histonů má jasnou enzymatickou aktivitu, na kterou lze směřovat malé molekulární inhibitory, (iii) mutace epigenetických regulátorů primárně zasahují zakladatelské klony AML. To znamená, že pokud by se povedlo zaměřit terapii cíleně na tyto defekty, potenciálně bude možné eliminovat nemoc již na úrovni preleukemické kmenové buňky a zabránit tak případnému relapsu onemocnění. Epigenetická terapie AML v současnosti nabízí různé strategie pro přeprogramování epigenomu např. inhibicí aktivity enzymů DNMT, KMT, HDAC aj. V neposlední řadě existují strategie, které inhibují aktivitu epigenetických regulátorů, jež sice nevykazují přítomnost rekurentních mutací, ale byl prokázán jejich podíl na leukemogenezi AML (DOT1L, MLL-Menin, proteiny s bromodoménou).

Inhibitory DNMT a hypometylační agens

Inhibice aktivity DNMT pomocí hypometylačních agens (HMA) je nedílnou součástí běžné terapeutické praxe u myeloidních malignit. Azacytidin (AZA) a jeho analog decitabin (DEC) představují terapeutickou alternativu pro skupinu starších nemocných s vysoce rizikovými MDS a AML, u nichž není možné podání intenzivní indukční chemoterapie z důvodu její vysoké toxicity [1,34,35]. Odpověď na léčbu HMA v monoterapii lze očekávat u 50 % pacientů. Nicméně tyto nejsou trvalé a pouze malá část pacientů dosáhne stavu stabilní CR [36]. Mechanizmy vzniku rezistence na terapii HMA a příčiny terapeutického selhání se prozatím objasnit nepovedlo. Jednou z možností, jak zvýšit efektivitu HMA terapie je aplikace nových, stabilnějších HMA. Slibné výsledky na úrovni I/II klinických studií u neléčených i refrakterních/relabovaných (R/R) AML vykazoval např. guadecitabin (SGI-110) [37]. Jedná se o dinukleotid decitabinu a deoxyadenozinu, který je na rozdíl od AZA a DEC odolný vůči degradaci cytidin deaminázou. Proběhlo zpracování výsledků 3. fáze klinických studií u pacientů ve věku ≥ 65 let s neléčenou AML [38]. Nelze však očekávat, že epigenetickou deregulaci leukemických buněk úplně napraví zásah pouze na úrovni jednoho mechanizmu (např. na úrovni metylace DNA). Potencování účinku slibuje kombinace HMA s jinými formami epigenetické terapie, např. inhibitory histondeacetyláz nebo inhibitory IDH1/2 [33]. Řada klinických studií hodnotí účinnost epigenetické terapie v kombinaci s konvenční chemoterapií nebo různými směry cílené terapie (inhibitory FLT3, venetoklax, imunoterapie) [39]. Dle dostupných výsledků slibuje vůbec nejlepší účinnost aplikace HMA v kombinaci se selektivním inhibitorem *B-cell lymphoma-2*, venetoklaxem. Protein BCL-2 představuje klíčový regulátor apoptózy a jeho nadměrná exprese bývá známkou nepříznivé prognózy AML s rizikem chemorezistence [40]. Při dávce 400 mg venetoklaxu v kombinaci s AZA v první linii dosáhlo CR 71 % pacientů a medián trvání odpovědi po dosažení CR byl 21 měsíců. Medián OS dosahoval 17 měsíců [41]. Srovnáním těchto dat s výsledky léčby AZA v monoterapii (CR do 20 %, celkové přežití do 12 měsíců) [36] lze předpokládat, že kombinace venetoklax – AZA může perspektivně nahradit léčebné strategie ve skupině starších AML.

Inhibitory IDH1/2

Vyšší frekvence a onkogenní potenciál předurčují IDH^{mut} k tomu, aby se staly mimořádně atraktivními terapeutickými cíli. V preklinické i klinické fázi testování se nachází řada selektivních inhibitorů cílených na IDH1^{mut} i IDH2^{mut}. Tyto malé molekuly se vážou do aktivního místa mutovaných izocitrát dehydrogenáz a zabraňují redukci a-KG na (R)-2-HG. Kompletní data z fáze I/II klinického testování jsou prozatím dostupná pro dva inhibitory, a to AG-120 (Ivosidenib, IDH1i) a AG-221 (Enasidenib, IDH2i). Ivosidenib selektivně inhibuje aktivitu IDH1^{R132}, enasidenib účinně blokuje aktivitu jak IDH2^{R140}, tak IDH2^{R172} [41]. Enasidenib podávaný v kombinaci s konvenční chemoterapií u 239 R/R AML byl dobře tolerován [42,43]. U některých pacientů se objevila pouze mírná hematologická toxicita. Celkově na podanou léčbu odpovědělo až 40 % pacientů a z nich 20,2 % dosáhlo kompletní remise onemocnění [42]. Odpověď na léčbu byla dopro-

vázena signifikantním snížením hladiny (R)-2-HG i obnovou diferenciace plně funkčních neutrofilů [43]. V souboru starších nemocných (≥ 60 let) jsou k dispozici výsledky studie fáze Ib/II, která hodnotila účinnost enasidenibu v souboru neléčených *IDH2*^{mut} AML při dávkování enasidenibu 100 mg/den kontinuálně po dobu 28 dnů. U pacientů, kteří nedosáhli kompletní remise nebo u nich nedošlo k úplné obnově neutrofilních segmentů (CRi), byl enasidenib podáván v kombinaci s AZA (75 mg/m^2, prvních 7 dnů). Z 23 pacientů, kteří dostávali enasidenib v monoterapii, dosáhlo CR/CRi 43 % pacientů [44]. Ve studii testující účinnost ivosidenibu u R/R AML s *IDH1*^{mut} bylo podávání ivosidenibu (500 mg/den) asociováno s malým výskytem nežádoucích účinků (stupeň ≥ 3). Kompletní remise či kompletní remise s neúplnou obnovou hematologických parametrů (CR/CRi) dosáhlo 30,4 % pacientů [45,46]. Z tohoto počtu dosáhlo 21,6 % pacientů CR a celkově na léčbu odpovědělo 41,6 % pacientů. Další IDHi (FT-2102, IDH-305, AGI-5198) vykazují slibný protinádorový účinek skrze indukci apoptózy a zároveň redukují hladinu onkometabolitu 2-HG.

Inhibitory HDAC a BET

Histon deacetylázy (HDAC) odstraňují acetylovou skupinu z histonů, čímž se významně podílí na snížení genové exprese. Mutace v *HDAC* jsou u nádorů méně frekventované než např. mutace v histon acetyl transferázách (*HAT*). Společně s hypometylačními látkami představují inhibitory HDAC (HDACi) vůbec první epigeneticky orientované inhibitory, které našly uplatnění při terapii nádorů. Od roku 2006, kdy bylo započato testování HDACi, je dnes ve studiích zkoušeno v monoterapii či kombinaci celkem 12 inhibitorů. V klinických studiích u pacientů s AML je nejčastěji využíván panHDACi panobinostat, případně vorinostat inhibující HDAC třídy I/II. Inhibice HDAC třídy I ovlivňuje expresi řady genů zapojených do regulace buněčného cyklu, diferenciace a buněčné smrti a může se podílet na reaktivaci nádorových supresorů vč. p21 a TP53. Studie hodnotící účinnost HDACi v monoterapii nepřinesly uspokojivé výsledky. Na léčbu odpovědělo jen 20 % pacientů. Lepší výsledky vyplynuly ze studií kombinujících HDACi s HMA (AZA, DEC) nebo konvenční chemoterapií [47]. Na různých úrovních klinického testování se nachází HDACi druhé generace (vorinostat, entinostat, panobinostat) se slibnými výsledky právě v kombinovaných režimech.

Zvláštní pozici v této kategorii inhibitorů zaujímají proteiny se specifickou bromodoménou označované jako BET (*bromodomain and extra terminal*). Proteinová rodina BET (BRD1, BRD2, BRD3, BRD4) se podílí na aktivaci transkripce a na udržování buněčné homeostázy. Přes svou bromodoménu se tyto proteiny vážou na acetylované zbytky lyzinů v histonech a podílí se na aktivaci exprese řady onkogenů vč. MYC. Na úrovni buněčných linií vedla suprese BRD4 k potlačení aktivity genu *MYC* u AML. Malý molekulární inhibitor OTX015 indukuje apoptózu u AML [48].

INHIBICE METYLACE HISTONŮ. PRC A OSTATNÍ

Testování specifických inhibitorů cílených na PRC2 (GSK343, UNC1999, EPZ-6438 EPZ005687) je zatím v preklinické fázi. Všechny fúzní proteiny histon lyzin metyltransferáz vykazují interakci s tumor supresorem Meninem (MEN1). Opakovaně se poukazovalo na kritickou roli Meninu v leukemické transformaci AML. Porušená interakce mezi KMT2A a Meninem snižuje onkogenní potenciál fúzních genů a potlačuje leukemogenezi *in vivo*. Malé molekulární inhibitory MI-463 a MI-503, které farmakologicky zabraňují interakci mezi MLL a Meninen, byly schopné potlačit progresi AML *in vivo*, aniž by došlo k narušení normální krvetvorby.

Role EZH2 v patogenezi AML nebyla dosud plně objasněna. UNC1999, malý molekulární inhibitor histon metyltransferáz EZH1/2, indukuje zvýšenou expresi cílových genů PRC2 (vč. p16 a p19) a potlačuje transformaci leukemie s přestavbami *MLL*.

Několik studií dokumentuje účinnost farmakologické inhibice histon metyltransferázy DOTL1 u AML s přestavbami *MLL*. Zásah do metylačního profilu histonu H3 v krvetvorných buňkách odpovídá za aberantně aktivovanou expresi řady genů řídících leukemogenezi, vč. Homeobox genu A9 a *MEIS* Homeobox 1. Pilotní studie prokázaly protinádorový efekt EPZ-5676 (molekula cílená na histon lyzin metyltransferázu DOTL1) na preklinických modelech AML s přestavbami *MLL* [49]. Následně proběhlo jeho testování v klinických studiích u dětských i dospělých R/R AML. EPZ-5676 byl dobře tolerován, ale efektivita léčby byla nízká.

V současnosti se rozvíjí použití DOT1L1 inhibitorů u *DNMT3A*^{mut} AML [50].

ZÁVĚR

Z pilotních studií na souborech AML s NK [51] vyplynulo mnoho podkladů, díky nimž je možné hodnotit klinický dopad molekulární heterogenity AML. Významně se pokročilo v charakterizaci AML genomu a dnes, v éře celogenomových analýz, je zřejmé, že prognostická i léčebná stratifikace AML se dynamicky mění v závislosti na nových poznatcích genetického i epigenetického pozadí AML. Ukázalo se, že přídatné genetické změny je nutno analyzovat i v jednotlivých prognosticky definovaných molekulárních podskupinách AML [6,52]. Příkladem může být negativní vliv koexistujících mutací, vč. těch epigenetických v *IDH* a/nebo *DNMT3A,* ve skupině AML s mutací v *NPM1*, která představuje nejpočetnější molekulární entitu AML primárně s příznivou prognózou [6].

Klinická hodnota mnohých rekurentních mutací, vč. mutací v epigenetických regulátorech, se v kontextu komplexní molekulární heterogenity AML posuzuje obtížně. Je důležité, že se staly perspektivními terapeutickými cíli. Jejich poznání pomůže lépe stratifikovat pa-

cienty, pro které bude moderní terapie AML nejvíc přínosná. Navzdory potenciálu vysoké specificity a nízké toxicity je však zřejmé, že účinnost léků specificky cílených na genetické či epigenetické defekty AML genomu je na úrovni monoterapie neuspokojivá. Do centra pozornosti se proto dostávají strategie kombinující konvenční chemoterapii, epigenetickou terapii, imunoterapii a další formy cílené léčby. Kompletní přehled kombinací terapeutických schémat mnohonásobně přesahuje kapacitu tohoto souhrnu. Aktuální trend translačního výzkumu orientovaný na variabilitu prospektivních klinických studií je do budoucna velice perspektivní. Jako možný přístup (efektivní) léčby AML se nabízí strategie personalizované cílené terapie na podkladě komplexního zhodnocení molekulárního profilu, cytogenetiky a předcházející léčby pacienta.

Literatura

1. Čerňan M, Szotkovski T. Moderní léčba akutní myeloidní leukemie. Transfuze Hematol Dnes. 2017;1:16–28.
2. Döhner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults. 2017 ELN recommendations from an international expert panel. Blood. 2017;129:424–447.
3. Podoltsev NA, Stahl M, Zeidan AM, Gore SD. Selecting initial treatment of acute myeloid leukaemia in older adults. Blood Rev. 2017;31:43–62.
4. 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):2391–2405.
5. Estey EH. Acute myeloid leukemia: 2019 update on risk-stratification and management. Am J Hematol. 2018;93(10):1267–1291.
6. Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, et al. Genomic classification and prognosis in acute myeloid leukemia. N Engl J Med. 2016;374:2209–2221.
7. Bunetti LA, Gundry MC, Goodell M. DNMT3A in leukemia. Cold Spring Harb Perspect Med. 2017;2:a030320.
8. Russler-Germain DA, Spencer DH, Yang MA, et al. The R882H DNMT3A mutation associated with AML dominantly inhibits wild-type DNMT3A by blocking its ability to form active tetramers. Cancer Cell. 2014;25:442–454.
9. Yuan XQ, Peng L, Zeng WL, Jiang BY, Li GC, Chen XP. DNMT3A R882 mutations predict a poor prognosis in AML a meta-analysis from 4474 patients. Medicine (Baltimore). 2016;95(18):e3519.
10. Corces-Zimmerman RM, Hong WJ, Weissman IL, Medeiros BC, Majeti R. Preleukemic mutations in human acute myeloid leukemia affect epigenetic regulators and persist in remission. Proc Natl Acad Sci. 2014;111:2548–2553.
11. Gaidzik VI. DNMT3A mutant transcript levels persist in remission and do not predict outcome in patients with acute myeloid leukemia. Leukemia. 2018;1:30–37.
12. Jeziskova I, Musilova M, Culen M et al. Distribution of mutations in DNMT3A gene and the suitability of mutations in R882 codon for MRD monitoring in patients with AML. Int J Hematol. 2015;(102):553–557.
13. Ravandi F, Walter RB, Freeman SD. Evaluating measurable residual disease in acute myeloid leukemia. Blood Adv. 2018;2(11):1356–1366.
14. Bowman RL, Levine RL. TET2 in normal and malignant hematopoiesis. Cold Spring Harb Perspect Med. 2017;(8):a026518.
15. Wang R, Gao X, Yu L. The prognostic impact of tet oncogene family member 2 mutations in patients with acute myeloid leukemia: a systematic-review and meta analysis. BMC Cancer. 2019;1:1–11.
16. Weissmann S, Alpermann T, Grossmann V, et al. Landscape of TET2 mutations in acute myeloid leukemia. Leukemia. 2012;(5):934–942.
17. Rasmussen KD, Jia G, Johansen JV, et al. Loss of TET2 in hematopoietic cells leads to DNA hypermethylation of active enhancers and induction of leukemogenesis. Genes Dev. 2015;(29):910–922.
18. Montalban-Bravo G, DiNardo C. The role of IDH mutations in acute myeloid leukemia. Future Oncol 2018;14(10):979–993.
19. Medeiros BC, Fathi AT, DiNardo CD, Polyeya DA, Chan SM, Swords R. Isocitrate dehydrogenase mutations in myeloid malignancies. Leukemia. 2017;31:272–281.
20. Solary E, Bernard OA, Tefferi A, Fuks F, Vainchenker W. The Ten-Eleven Translocation-2 (TET2) gene in hematopoiesis and hematopoietic diseases. Leukemia. 2014;28(3):485–496.
21. Nassereddine S, Lap CJ, Haroun F, Tabbara I. The role of mutant IDH1 and IDH2 inhibitors in the treatment of acute myeloid leukemia. Ann Hematol. 2017;96:1983–1991.
22. Green CL, Evans CM, Zhao L, et al. The prognostic significance of IDH2 mutations in AML depends on the location of the mutation. Blood. 2011;118(2):409–412.
23. Conway O'Brien E, Prideaux S, Chevassut T. The epigenetic landscape of acute myeloid leukemia. Adv Hematol. 2014;103175. doi: 10.1155/2014/103175.
24. Winters AC, Bernt KM. MLL-rearranged leukemias. An update on science and clinical approaches. Front Pediatr. 2017. doi: 10.3389/fped.2017.00004.
25. Al Hinai ASA, Pratcorona M, Grob T, et al. The landscape of KMT2A-PTD AML: concurrent mutations, gene expression signatures, and clinical outcome. HemaSphere. 2019;(3)2:e181.
26. Schnittger S, Eder C, Jeromin S, et al. ASXL1 exon 12 mutations are frequent in AML with intermediate risk karyotype and are independently associated with an adverse outcome. Leukemia. 2013;(27):82–91.
27. Metzeler KH, Becker H, Maharry K, et al. ASXL1 mutations identify a high-risk subgroup of older patients with primary cytogenetically normal AML within the ELN Favorable genetic category. Blood. 2011;(118):6920–6929.
28. Paschka P, Schlenk RF, Döhner K, et al. ASXL1 mutations in younger adult patients with acute myeloid leukemia: a study by the German-Austrian Acute Myeloid Leukemia Study Group. Haematologica. 2015;100(3):324–330.
29. Alpermann T, Haferlach C, Eder C, et al. AML with gain of chromosome 8 as the sole chromosomal abnormality (+8sole) is associated with a specific molecular mutation pattern including ASXL1 mutations in 46.8% of the patients. Leuk Res. 2015;39:265–272.
30. Lund K, Adams PD, Copland M. EZH2 in normal and malignant hematopoiesis. Leukemia. 2014;28:44–49.
31. Yoshida K, Toki T, Okuno Y, et al. The landscape of somatic mutations in Down syndrome-related myeloid disorders. Nat Genet. 2013;45:1293–1299.
32. Larsson CA, Cote G, Quintas-Cardama A. The changing mutational landscape of acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. Mol Cancer Res. 2013;11:815–827.
33. Bewersdorf JP, Shallis R, Stahl M, Zeidan AM. Epigenetic therapy combinations in acute myeloid leukemia: what are the options? Ther Adv Hematol. 2019;10:1–19.
34. Čermák J. Posledních 25 let v diagnostice a léčbě myelodysplastického syndromu. Transfuze Hematol Dnes. 2019;1:108–117.
35. Pleyer L, Döhner H, Dombret H, et al: Azacitidine for front-line therapy of patients with AML: reproducible efficacy established by direct comparison of international phase 3 trial data with registry data from the Austrian azacitidine registry of the AGMT Study Group. Int J Mol Sci. 2017;18(2):1–18.
36. 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):291–299.
37. Kantarjian HM, Roboz GJ, Kropf PL, et al. Guadecitabine (SGI-110) in treatment-naive patients with acute myeloid leukaemia: phase 2 results from a multicentre, randomised, phase 1/2 trial. Lancet Oncol. 2017;18(10):1317–1326.
38. Roboz GJ, Kantarjian HM, Yee KWL, et al. Dose, schedule, safety, and efficacy of guadecitabine in relapsed or refractory acute myeloid leukemia. Cancer. 2018;124(2):325–334.
39. Cerrano M, Itzykson R. New treatment options for acute myeloidl in 2019. Current Oncol Rep. 2019;21:1–12.
40. Dinardo CD, Pratz KW, Potluri J, et al. Durable response with venetoclax in combination with decitabine or azacitadine in elderly patients with acute myeloid leukemia (AML). J Clin Oncol. 2018;36:7010–7010.

41. DiNardo CD, Pratz K, Pullarkat V, et al. Venetoclax combined with decitabine or azacitidine in treatment-naive, elderly patients with acute myeloid leukemia. Blood. 2019;133(1):7–17.
42. DiNardo CD, Stein EM, de Botton S, et al. Durable remissions with ivosidenib in IDH1-mutated relapsed or refractory AML. N Engl J Med. 2018;378(25):2386–2398.
43. Stein EM, DiNardo CD, Pollyea DA, et al. Enasidenib in mutant IDH2 relapsed or refractory acute myeloid leukemia. Blood. 2017;130:722–731.
44. Amatangelo MD, Quek L, Shih A, et al. Enasidenib induces acute myeloid leukemia cell differentiation to promote clinical response. Blood. 2017;130:732–741.
45. Stein EM, Shoben A, Borate U, et al. Enasidenib is highly active in previously untreated IDH2 mutant AML: early results from the BEAT AML Master Trial. Blood. 2018;132:287.
46. Nassereddine S, Coen J, Tabbara IA. Evaluating ivosidenib for the treatment of relapsed/refractory AML: design, development, and place in therapy. OncoTargets Ther. 2019;12: 303–308.
47. San Jose-Eneriz E, Gimenez-Camino N, Agirre X, Prosper F. HDAC inhibitors in acute myeloid leukemia. Cancers. 2019;1794:1–24.
48. Corrales-Medina FF, Manton CA, Orlowski RZ, et al. Efficacy of panobinostat and marizomib in acute myeloid leukemia and bortezomib-resistant models. Leuk Res. 2015;39(3):371–379.
49. Berthon C, Raffoux E, Thomas X, et al. Bromodomain inhibitor OTX015 in patients with acute leukaemia: a dose-escalation, phase 1 study. Lancet Haematol. 2016;3(4):e186–e195.
50. Stein EM, Garcia-Manero G, Rizzieri DA. The DOT1L inhibitor pinometostat reduces H3K79 methylation and has modest clinical activity in adult acute leukemia. Blood. 2018;131(24):2661–2669.
51. Katrincsáková B, Szotkowski T, Divoká M, Indrák K, Jarošová M. Klinický význam génových mutácií u akútnych myeloidných leukemií s normálnym karyotypom. Transfuze Hematol Dnes. 2011;2:72–80.
52. Dunlap JB, Leonard J, Rosenberg M, et al. The combination of NPM1, DNMT3A, and IDH1/2 mutations leads to inferior overall survival in AML. Am J Hematol. 2019;(94):913–920.

PODÍL AUTORŮ NA RUKOPISU

JN – hlavní autor
TS – revize dokumentu
TP – revize dokumentu
BK – revize dokumentu
HU – revize dokumentu
KI – revize dokumentu

PODĚKOVÁNÍ

Práce byla podpořena grantem IGA-LF-2021-001.

ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Autoři práce prohlašují, že v souvislosti s tématem, vznikem a publikací tohoto článku nejsou ve střetu zájmů a vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou firmou.

Do redakce doručeno dne: 20. 10. 2021.
Přijato po recenzi dne: 24. 11. 2021.

Mgr. Jana Navrátilová
Laboratoř molekulární biologie
Hemato-onkologická klinika
LF UP a FN Olomouc
I. P. Pavlova 6
779 00 Olomouc
e-mail: jana.navratilova@fnol.cz