

<https://doi.org/10.15388/vu.thesis.708>

<https://orcid.org/0000-0002-5520-1534>

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Andrius Žučenka

Biožymenimis grįstų naujų refrakterios
bei recidyvavusios ūminės
mieloleukemijos gydymo metodų
tyrimas

DAKTARO DISERTACIJA

Medicinos ir sveikatos mokslai,

Medicina (M 001)

VILNIUS 2024

Disertacija rengta 2020–2024 metais Vilniaus universitete Medicinos fakultete.

Mokslinis vadovas – prof. dr. Laimonas Griškevičius (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina –M 001).

Gynimo taryba:

Pirmininkė – doc. dr. Birutė Brasiūnienė (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina –M 001).

Nariai:

Prof. dr. Sandra Lejniece (Rygos Stradinio universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai), medicina –M 001),

Dr. Mantas Radzevičius (Vilniaus universitetas medicinos ir sveikatos mokslai), medicina –M 001),

Dr. Skaistė Tulytė (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai), medicina –M 001,

Dr. Domas Vaitiekus (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai), medicina –M 001).

Disertacija ginama viešame Gynimo tarybos posėdyje 2024 m. gruodžio mėn. 13 d. 14 val. Vilniaus universiteto Santaros klinikų Raudonojoje auditorijoje. Adresas: (Santariškių g. 2, E122 auditorija, Vilnius, Lietuva), tel. +37061659891 ; el. paštas andrius.zucenka@mf.vu.lt.

Disertaciją galima peržiūrėti Vilniaus universiteto bibliotekoje ir VU interneto svetainėje adresu: <https://www.vu.lt/naujienos/ivykiu-kalendorius>

<https://doi.org/10.15388/vu.thesis.708>

<https://orcid.org/0000-0002-5520-1534>

VILNIUS UNIVERSITY

Andrius Zucenka

Biomarker-based Research of New Treatment Approaches for Relapsed and Refractory Acute Myeloid Leukemia

DOCTORAL DISSERTATION

Medicine and Health Sciences,
Medicine (M 001)

VILNIUS 2024

The dissertation was prepared between 2020 and 2024 in Vilnius University.

Academic supervisor –

Prof. Dr. Laimonas Griskevicius (Vilnius University, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001).

This doctoral dissertation will be defended in a public meeting of the Dissertation Defence Panel:

Chairman – Assoc. Prof. Dr. Birute Brasiuniene (Vilnius University, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001).

Members:

Prof. dr. Sandra Lejniece (Riga Stradins University, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001),

Dr. Mantas Radzevičius (Vilnius University, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001),

Dr. Skaistė Tulytė (Vilnius University, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001),

Dr. Domas Vaitiekus (Lithuanian University of Health Sciences Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001).

The dissertation shall be defended at a public meeting of the Dissertation Defence Panel at 14:00 on 13th of December 2024 in Red meeting room of the Vilnius University Hospital Santaros Klinikos.

Address: Santariskiu str. 2, Room No. E122, Vilnius, Lithuania

Tel. +37061659891; e-mail: andrius.zucenka@mf.vu.lt

The text of this dissertation can be accessed at the libraries of Vilnius university library as well as on the website of Vilnius University: www.vu.lt/lt/naujienos/ivykiu-kalendorius

SANTRUMPOS

AloKKLT: alogeninė kamieninių kraujodaros ląstelių transplantacija.

CR (angl. complete remission): pilna remisija.

CRc (angl. cumulative complete remission rate): kumuliacinis pilnų remisijų dažnis.

CRi (angl. complete remission with incomplete hematological recovery): pilna remisija su nepilnu kraujodaros atsistatymu.

CRh (angl. complete remission with partial hematological recovery): pilna remisija su daliniu kraujodaros atsistatymu.

CRp (angl. complete remission with incomplete platelet recovery): pilna remisija su nepilnu trombocitų atsistatymu.

DLI (angl. donor lymphocyte infusion): donoro limfocitų infuzija.

ECOG (angl. Eastern Cooperative Oncology group): Rytų jungtinės onkologijos grupė.

ELN 2022 (angl. European Leukemia Network): Europos leukemijų tinklo 2022 metų rekomendacijos.

FLAG – Ida: fludarabinas, citarabinas, idarubicinas, granulocitų kolonijas stimuliuojantis faktorius.

HOTC: hematologijos, onkologijos ir transfuziologijos centras.

MAC: (angl. myeloablative conditioning): mieloabliacinis kondicionavimas.

MDS: mielodisplastinis sindromas.

MDS – EB2: mielodisplastinis sindromas su blastų pertekliu – 2.

MPN: mieloproliferacinė liga.

MLFS (angl. morphological leukemia-free state): morfologinė būklė be leukemijos.

ORR (angl. overall response rate): bendras atsakų dažnis.

RIC: (angl. reduced-intensity conditioning): sumažinto intensyvumo kondicionavimas.

R/R: recidyvavusi arba refrakteri.

ŪML: ūminė mieloleukemija.

ŽLA: žmogaus leukocitų antigenai.

TURINYS

ĮVADAS.....	7
TEMOS AKTUALUMAS	11
DISERTACIJOS TIKSLAS IR UŽDAVINIAI	12
METODAI	13
PUBLIKACIJŲ APŽVALGA IR REZULTATAI.....	15
IŠVADOS.....	32
DISERTACIJOS REZULTATŲ PRAKTINĖ REIKŠMĖ.....	33
DISERTACIJOS MOKSLINIŲ STRAIPSNIŲ SĄRAŠAS	34
SANTRAUKA	35
GYVENIMO APRAŠYMAS.....	56
PADĖKA.....	64
LITERATŪROS SĄRAŠAS / REFERENCES.....	65
PUBLIKACIJŲ KOPIJOS / PUBLICATION COPIES.....	68

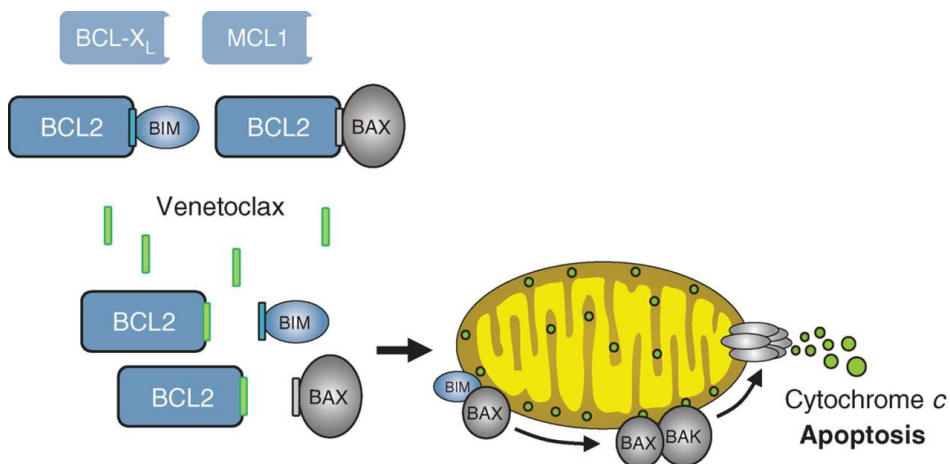
ĮVADAS

Ūminė mieloleukemija (ŪML) – piktybinė kraujo liga, kuriai būdingas nekontroliuojamas piktybinių mieloblastų dauginimasis ir diferenciacijos sutrikimas kaulų čiulpuose, sukiantis kraujodaros nepakankamumą. Dėl kaulų čiulpų infiltracijos sutrikus granulopoezei, eritropoezei ir megakariopoezei sergantiems sumažėja neutrofilų, eritrocitų ir trombocitų, **todėl** didėja imlumas infekcijoms, vystosi anemijos simptomai bei didėja kraujavimų rizika. Per metus vidutiniškai diagnozuojama 2 – 5 nauji ŪML atvejai 100 000 gyventojų, vidutinis sergančiųjų amžius yra 65 – 68 metai, dažniau serga vyrai. Pastaruoju metu ŪML genomikos tyrimai įgijo itin didelę reikšmę, kadangi jų rezultatai leidžia numatyti ligos prognozę, itin jautriai vertinti ir sekti likutinį leukeminių ląstelių kiekį bei maksimaliai individualizuoti kiekvieno paciento gydymą. Standartinis pirmos eilės ŪML jaunų, geros bendros būklės pacientų gydymas yra paremtas intensyvia citarabino ir antraciklino klasės vaisto (daunorubicino arba idarubicino) kombinuota chemoterapija, o nustačius specifines ŪML genetines pažaidas (*FLT3* geno mutacija) papildomai skiriama taikinių terapija *FLT3* inhibitoriais. Pasiekus ŪML remisiją po šio indukcinio gydymo didžiąjai daugumai pacientų, kurių ŪML ląstelėse diagnozės metu nenustatoma geros prognozės genetinių aberacijų, atliekama alogeninė kamieninių kraujodaros ląstelių transplantacija (aloKKLT) siekiant maksimaliai sumažinti ŪML atkryčio riziką dėl imunoterapinio aloKKLT efekto prieš likutines leukemines ląsteles. Tačiau dėl ženklaus toksiškumo ši gydymo taktika naudojama tik jaunesniems, geros bendros būklės pacientams. Vyresni, prastos bendros būklės bei sunkių gretutinių ligų turintys pirmos eilės ŪML pacientai gydomi hipometilinančio vaisto (azacitidino arba decitabino) deriniu su BCL – 2 antiapoptotinio baltymo inhibitoriumi venetoklaksu siekiant pilnos remisijos.¹

Nepaisant gerėjančių pirmos eilės intensyvaus ir neintensyvaus ŪML gydymo galimybių ir rezultatų, apie 40 – 50 % pirmą remisiją pasiekusių pacientų ŪML recidyvuoja arba liga yra refrakteri pirmos eilės gydymui – tokiu atveju diagnozuojama recidyvavusi arba refrakteri ŪML (R/R ŪML)^{1,2,3}. R/R ŪML yra priskiriama retų ligų grupei (angl. „Orphan Designation“, ORPHA:519). Atkreiptinas dėmesys, kad R/R ŪML pacientų grupė yra heterogeniška ir gali būti skirstoma į kliniškai svarbiausius pogrupius – pirminio refrakterumo pacientai (remisija nebuvo pasiekta po pirmos eilės gydymo), recidyvavę pacientai (konstatuotas ŪML recidyvas po pasiektos pilnos remisijos), pacientai, kurių ŪML recidyvavo po prieš tai atliktos aloKKLT, bei į kelias genomines grupes – R/R ŪML be taikinių genetinių pažaidų (t. y. R/R ŪML, neturinti taikinių terapijos galimybių) ir R/R ŪML

su taikininėmis genetinėmis pažaidomis (t.y. R/R ŪML, turinti taikinių terapijos galimybes). R/R ŪML be taikinių genominių pažaidų gelbstinčiajam gydymui remisijos tikslu įprastai yra naudojama didelių dozių chemoterapija – dažniausiai FLAG – Ida (fludarabino, didelių dozių citarabino ir idarubicino derinys) – o taip pat, CLAG – M (kladribino, didelių dozių citarabino ir mitoksantrono derinys), CLIA (kladribino, didelių dozių citarabino ir idarubicino derinys) ar MAE (mitoksantrono, didelių dozių citarabino ir etopozido derinys).⁴⁻⁸ Šie intensyvūs gydymai gali būti taikomi tik geros būklės, jaunesniems pacientams. Atlikus leukemijos genomikos tyrimus ir nustatius *IDH1*, *IDH2*, *FLT3* genų mutacijas (R/R ŪML su taikininėmis genetinėmis pažaidomis), gelbstinčiam gydymui šiuo metu jau gali būti taikomi JAV Maisto ir vaistų agentūros ir Europos vaistų agentūros patvirtinti taikinių terapijos vaistai ivosidenibas arba olutasidenibas (*IDH1* inhibitoriai), enasidenibas (*IDH2* inhibitorius) arba gilteritinibas (*FLT3* inhibitorius).⁹⁻¹¹ Deja, šių gydymų bendras atsakų dažnis (angl. overall response rate (ORR)) siekia tik apie 40 – 50 %, o didžiajai daugumai atsaką pasiekusių pacientų ŪML pakartotinai recidyvuoja. Dėl šių priežasčių pacientų, sergančių R/R ŪML, prognozė yra itin nepalanki, jų bendro išgyvenamumo mediana paprastai siekia tik apie 6 – 9 mėnesius, o 2 metų bendras išgyvenamumas yra tik apie 20 %.²⁻⁸ Šiai nedidelei daliai pasveikusių R/R ŪML pacientų stipriausią ir ilgiausiai veikiančią antileukeminį efektą beveik visais atvejais lemia po gelbstinčiojo gydymo konsolidaciniu tikslu atliekama aloKHLT, tad bet kurio gelbstinčio gydymo pagrindinis tikslas yra ne tik pasiekti remisiją, bet ir išlaikyti alotransplantacijai tinkamą pacientų būklę ir sukelti kuo mažesnę gydymo toksiškumą. Tai kliniškai itin reikšminga R/R ŪML pacientams, kurių būklė prieš gelbstinčią terapiją jau yra prastesnė dėl neseniai taikyto antileukeminio gydymo šalutinių reiškinių, o ypač tiems, kurie recidyvavo jau po prieš tai atliktos aloKHLT ir turi potransplantacinių komplikacijų, ženkliai bloginančių bet kokios gelbstinčios terapijos toleranciją.²⁻¹¹

Antiapoptotinio baltymo BCL – 2 inhibitorius venetoklaksas (Europos vaistų agentūros registruotas 2021 metais) kartu su hipometilinančiais vaistais reikšmingai pagerino pilnų remisijų dažnį bei bendrą išgyvenamumą ir yra naudojamas kaip standartinis pirmos eilės ŪML pacientų, kuriems negali būti taikoma intensyvi chemoterapija, gydymas, vadovaujantis III fazės atsitiktinių imčių tyrimo rezultatas.¹² Venetoklaksas yra vienas iš BH3 mimetikų, kuris stipriai ir selektyviai blokuoja vieną iš pagrindinių antiapoptotinių baltymų – BCL – 2. BCL – 2 inhibicija leidžia proapoptotiniams baltymams (BIM ir BAX) inicijuoti apoptozės mechanizmą leukeminėse ląstelėse (Paveikslas Nr. 1).¹³



Paveikslas Nr. 1. Venetoklakso veikimo mechanizmas

I – II fazės R/R ŪML tyrimų metu gelbstintis gydymas venetoklakso pasižymėjo įvairiais bendrų atsakų dažniais: 19 % (venetoklakso monoterapija), 21 – 66 % (venetoklakso derinyje su azacitidinu / decitabinu / mažų dozių citarabinu) ir 67 – 74 % (venetoklakso derinyje su intensyvia, didelių dozių chemoterapija FLAG – Ida). Vadovaujantis šiais rezultatais, venetoklakso derinio su hipometilinančiais vaistais ar įvairių dozių chemoterapija gydymas šiuolaikinėje klinikinėje praktikoje yra pradėtas naudoti kaip R/R ŪML gelbstintysis gydymas.¹⁴⁻²³

Atkreiptinas dėmesys, kad 1) optimalus venetoklakso derinys, užtikrinantis palankiausią priešleukeminio ir toksinio poveikio santykį, nėra nustatytas, 2) trūksta duomenų apie farmakodinamiškai parinktus ir sinergistiškai apoptozę veikiančius venetoklakso derinius, 3) klinikiniuose tyrimuose venetoklakso R/R ŪML derinių gydymo rezultatai nėra tiesiogiai palyginti su įprastine didelių dozių gelbstinčiąja chemoterapija.

Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Hematologijos, onkologijos ir transfuziologijos centre (HOTC) R/R ŪML gydymas venetoklakso deriniais pradėtas taikyti nuo 2017 metų ankstyvojo vaisto prieinamumo programos metu. Vadovaujantis programos kriterijais gydymą galėjo gauti tik R/R ŪML pacientai, kurie buvo išnaudoję visas prieinamas standartinio ir tiriamojo gydymo galimybes. Vadovaujantis mokslinės literatūros duomenimis, HOTC R/R ŪML gydymui venetoklakso buvo pradėtas skirti derinyje su mažų dozių citarabinu bei aktinomicinu D (ACTIVE gydymo protokolas). ACTIVE gydyme naudojamas venetoklakso ir mažų dozių citarabino sinergistinis derinys jau buvo aprašytas kaip reikšmingu antileukeminiu efektyvumu pasižyminti gelbstinti R/R ŪML

terapija.^{16,17,20,21,22} Tačiau maždaug 50 – 60 % pacientų šis gydymas nesuveikdavo, o likę pacientai pakartotinai recidyvuodavo po trumpalaikės remisijos.^{16,17,20,21,22} Vienas iš pagrindinių atsparumo venetoklaksui mechanizmų yra kito antiapoptotinio baltymo, MCL – 1, aktyvumas.^{13,24,25} Šio atsparumo mechanizmo blokavimui ACTIVE schemeje yra naudojamas farmakodinamiškai parinktas trečiasis vaistas: chemoterapinis preparatas aktinomicinas D, kuris blokuoja transkripcijos iniciaciją prisijungdamas prie DNR. Aktinomicinas D, remiantis prieš tai atliktų ikiklinikinių tyrimų su vėžinėmis ląstelėmis rezultatais, slopina MCL – 1 antiapoptotinį baltymą bei sinergistiškai veikia kartu su BCL – 2 inhibitoriumi.²⁶ Klinikiniuose tyrimuose taip pat buvo stebėtas aktinomicino D monoterapijos efektyvumas (ORR 43 %) gydant R/R ŪML su *NPM1* geno mutacija, skiriant aktinomiciną D 12.5 µg/d doze iki penkių dienų.^{27,28}

Siekiant pagerinti klinikinius R/R ŪML gydymo rezultatus, suformuluotas pagrindinis doktorantūros darbo tikslas – ištirti inovatyvaus, farmakodinamiškai parinkto derinio – venetoklakso, mažų citarabino dozių bei aktinomicino D (ACTIVE) – efektyvumą, toksiškumą bei predikcinius genetinius biožymenis, taip pat palyginti ACTIVE ir įprastinės FLAG – Ida intensyvios chemoterapijos klinikinį efektyvumą.

TEMOS AKTUALUMAS

1. Pacientų, sergančių R/R ŪML, išgyvenamumo prognozė yra itin prasta: 5 metų bendras išgyvenamumas siekia tik apie 10 – 20%.
 - 1.1 Recidyvavusių po aloKCLT ŪML pacientų pogrupis pasižymi labiausiai ribotomis gydymo galimybės ne tik dėl R/R ŪML biologinio atsparumo gydymui, bet ir dėl prastos pacientų bendros būklės bei potransplantacinių komplikacijų.
2. Trūksta efektyvių ir saugių R/R ŪML gydymo metodų:
 - 2.1. R/R ŪML be taikinių genetinių pažaidų - šiuo metu taikomi nuo ŪML genomikos nepriklausomi (genomikai agnostiniai) R/R ŪML intensyvios chemoterapijos gydymo metodai yra mažai efektyvūs bei pasižymi dideliu toksiškumu;
 - 2.2. R/R ŪML su taikininėmis genetinėmis pažaidomis – modernūs taikinių terapijos *FLT3* ir *IDH1/2* inhibitoriais gydymo metodai yra dalinai efektyvūs bei mažai toksiški, tačiau jų antileukeminis efektas beveik visais atvejais yra trumpalaikis;
 - 2.3. trūksta BCL – 2 inhibitoriaus venetoklakso derinio su kitais priešleukeminiais vaistais platesnių tyrimų rezultatų, gydant R/R ŪML su taikininėmis pažaidomis ar be jų;
 - 2.4. nėra BCL – 2 inhibitoriaus venetoklakso derinio bei intensyvios chemoterapijos palyginamųjų tyrimų, gydant R/R ŪML, kurie leistų kritiškai įvertinti didelių dozių chemoterapijos kaip R/R ŪML pasirinktino gydymo paradigmą bei implementuoti modernesnę venetoklakso deriniu paremtą gydymą.
3. R/R ŪML predikcinių genetinių biožymenų nustatymas leistų individualizuoti R/R ŪML gydymą venetoklakso deriniu.
4. Trūksta duomenų apie R/R ŪML pacientų išėitis bei tolimesnio gydymo galimybes, kuomet venetoklaksu derinio terapija nėra efektyvi.
5. R/R ŪML atsparumo venetoklakso mechanizmų tyrimų rezultatai leistų formuoti hipotezes tolimesniems klinikiniais tyrimams ir terapiniam taikymui bei pagerinti venetoklakso derinių priešleukeminį efektyvumą naudojant papildomus preparatus, kurie slopintų venetoklakso atsparumo mechanizmus.

DISERTACIJOS TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

Disertacijos tikslas – įvertinti aktinomicino D, mažų dozių citarabino bei venetoklakso (ACTIVE) derinio efektyvumą, toksiškumą bei nustatyti biožymenis, prognozuojančius individualų atsaką į gydymą ir pagerinti R/R ŪML gydymo rezultatus.

Disertacijos uždaviniai:

1. Įvertinti ACTIVE saugumą, efektyvumą ir predikcinius efektyvumo veiksnius.
2. Palyginti dviejų skirtingų R/R ŪML gydymų - ACTIVE derinio ir įprastinės intensyvios chemoterapijos - efektyvumą ir saugumą gydant recidyvavusią po aloKKLT ŪML.
3. Įvertinti R/R ŪML pacientų, kuriems ACTIVE gydymas buvo neefektyvus, išėitis.
4. Įvertinti *FLT3* inhibitoriaus gilteritinibo ir ACTIVE derinio efektyvumą ir saugumą gydant R/R ŪML su specifiniu biožymeniu (*FLT3* geno mutacija).
5. Įvertinti venetoklakso derinių veiksmingumui svarbaus oksidacinio fosforilinimo kelio aktyvumą bei jo slopinimo galimybes R/R ŪML pacientų leukeminėse ląstelėse.

METODAI

Siekiant įvertinti venetoklaksu ACTIVE derinio gydymo efektyvumą ir toksiškumą bei nustatyti predikcinius biožymenis gydant R/R ŪML buvo inicijuotas Vilniaus regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto patvirtintas biomedicininis, prospektyvus stebėsenos tyrimas „Ligonių, sergančių gydymui atsparia onkologine ir kraujo liga, klinikinės eigos bei medicininės priežiūros tyrimas. Nr. 2019/2 – 1088 – 591”. Į tyrimą buvo įtraukti informuoto asmens sutikimo formą pasirašę 18 metų ir vyresni pacientai, kuriems diagnozuota R/R ŪML ir kurie gavo ACTIVE gelbstintį gydymą ankstyvos venetoklakso prieinamumo programos rėmuose, kuomet buvo išnaudotos visos efektyvaus gydymo galimybės. Kiekvieno paciento ACTIVE gydymo tikslingumas bei indikacijos buvo aptartos gydytojų hematologų konsiliume, kiekvienas pacientas raštu davė informuotą sutikimą gydymui ACTIVE, kiekvieno paciento gydymui pritarė Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Medicinos etikos komisija. 28 dienų ACTIVE gydymo kursą sudarė venetoklakso (600 mg/d peroraliai, 1 – 28 kurso dienomis), citarabinas (20 mg/m² į poodį 1 – 10 kurso dienomis) ir aktinomicinas D (12.5 mcg/kg į veną 1 – 3 kurso dienomis arba 1 ir 2 kurso dienomis vyresniems nei 65 metų pacientams). Priklausomai nuo atsako į gydymą hematologų konsiliumo sprendimu pacientai galėjo gauti iki dviejų ACTIVE gydymo kursų ir vėliau tęsė palaikomąjį gydymą tik venetoklakso ir citarabino deriniu. Tyrimo metu buvo renkami pacientų demografiniai duomenys, klinikinių, laboratorinių, instrumentinių, molekulinų, tėkmės citometrijos, genetinių tyrimų rezultatai, funkcinės būklės įvertis pagal Rytų kooperatinės onkologijos grupės skalę (angl. Eastern Cooperative Oncology group (ECOG)). Pirminė vertinamoji baigtis buvo bendras išgyvenamumas. Antrinės vertinamosios baigtys: pilna remisija (angl. complete remission (CR)), pilna remisija su nepilnu kraujodaros atsistatymu (angl. complete remission with incomplete hematological recovery (CRi)), pilna remisija su nepilnu trombocitų atsistatymu (angl. complete remission with incomplete platelet recovery (CRp)), morfologinė būklė be leukemijos (angl. morphological leukemia – free state (MLFS)) ir bendras atsako dažnis (ORR = CR + CRi + CRp + MLFS)) dažnis, vadovaujantis Europos leukemijų tinklo (angl. European Leukemia Network (ELN)) 2022 metų kriterijais ir rekomendacijomis.¹ Pasiėkusiųjų atsaką pacientų pogrupiuose taip pat vertintas minimalios liktinės ligos (angl. minimal residual disease (MRD)) tėkmės citometrijos ir / ar polimerazės grandininės reakcijos metodu. Papildomai vertintas išgyvenamumas be ligos progresijos, šalutinių reiškinių dažnis (3 – 5 laipsnio nehematologiniai šalutiniai reiškiniai remiantis

Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) 5.0 vertinimo sistema²⁹, ankstyvas mirštamumas per 30 ir 60 dienų nuo ACTIVE gydymo pradžios bei laikas iki neutrofilų ir trombocitų atsistatymo nuo ACTIVE gydymo pradžios.

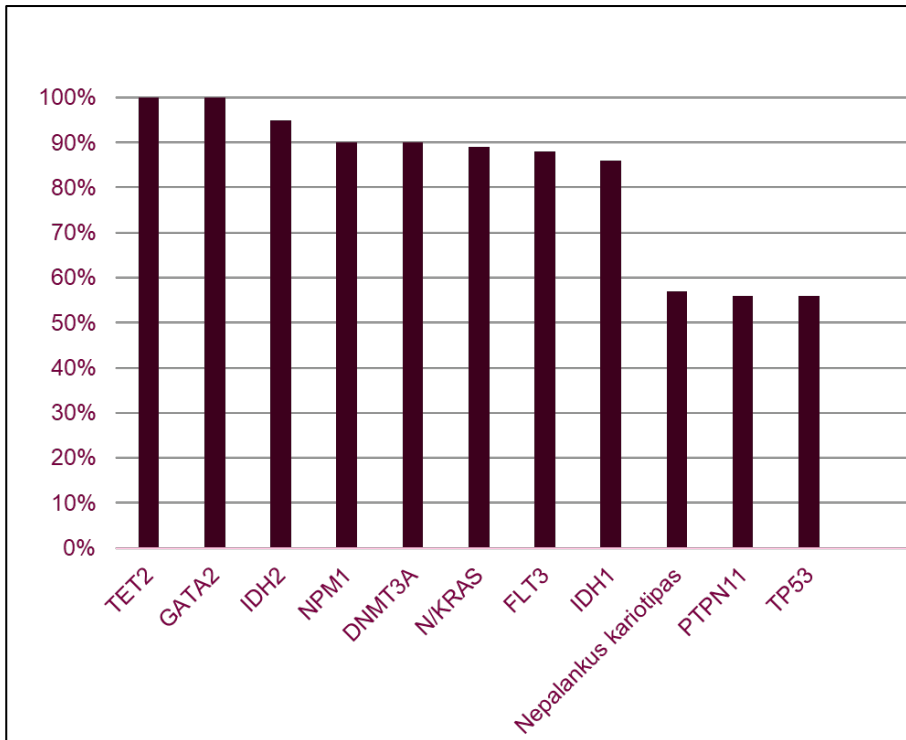
Duomenys buvo apdorojami ir analizuojami MS Excel, MedCalc, SPSS, R statistiniais paketais. Aprašomajai statistikai naudotos dažnių pasiskirstymo lentelės, charakteristikų vidurkis, mediana, minimalios ir maksimalios reikšmės. Hipotezių tikrinimui naudotas Kokso regresijos modelis, Chi kvadrato, Fišerio, T testai, Mano – Vitnio – U kriterijus, išgyvenamumo analizei naudotos Kaplano – Mejerio kreivės, kumuliacinio konkuruojančių įvykių dažnio analizei naudotas Grėjaus testas.

Pacientų leukeminių ląstelių tyrimų metu buvo bendradarbiauta su Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro Biochemijos instituto Ląstelės molekulinės biologijos skyriumi (projektas „Inovatyvių terapijų ir prognostinių įrankių, skirtų chemoterapijai atsparios ūminės mieloleukemijos gydymui, sukūrimas“) bei UAB Atrandi Biosciences (Vilniaus regioninio biomedicinių tyrimų etikos komiteto patvirtintas biomedicininis tyrimas „Refrakteria arba recidyvavusia ūmine mieloleukemija sergančių pacientų, gydomų venetoklaksu, kaulų čiulpų ėminių pavienių ląstelių RNR sekoskaitos analizė, Nr 2020/11 – 1278 – 760“).

PUBLIKACIJŲ APŽVALGA IR REZULTATAI

ACTIVE gydymas pasižymi aukštu priešleukeminiu efektyvumu. Ilgesnis bendras išgyvenamumas po gydymo ACTIVE deriniu sietinas su *IDH2*, *DNMT3A* mutacijomis ir aloKKLT, o trumpesnis – *TP53*, *PTPN11* mutacijomis ir paciento ECOG 3-4 būkle

2021 – 2023 metais ACTIVE terapijos rezultatai buvo reguliariai atnaujinami ir pristatomi Europos hematologijos asociacijos (angl. The European Hematology Association (EHA)) ir Amerikos hematologijos draugijos (angl. The American Society of Hematology (ASH)) kasmetiniuose kongresuose. Į didžiausios apimties prospektyviai surinktų pacientų duomenų analizę, pristatytą 2022 metų ASH kongrese, buvo įtraukti 134 pacientai, iš kurių 88 sirgo R/R ŪML ir gavo ACTIVE gelbstintį gydymą. (1) Kumuliacinis pilnų remisijų dažnis (CRc = CR + CRi + CRp) ir ORR dažnis (CRc + MLFS) buvo atitinkamai 62 % ir 74 %. Vertinant biožymenis, siejamus su ACTIVE antileukeminiu efektyvumu, buvo nustatyta, kad didžiausi bendro atsako (CR + CRi + CRp + MLFS) dažniai buvo leukeminėse ląstelėse nustačius *TET2* (100 %, 15/15), *GATA2* (100 %, 5/5), *IDH2* (95 %, 21/22), *NPM1* (90 %, 19/21), *DNMT3A* (90 %, 19/21), *N/KRAS* (89 %, 12/14), *FLT3* (88 %, 22/25) ir *IDH1* (86 %, 12/14) genų mutacijos (Paveikslas Nr. 2). Didžiausias ORR ir minimalios liktinės ligos neigiamumo dažnis (atitinkamai 100 % ir 73 %) stebėtas leukeminėse ląstelėse nustačius *NPM1* geno mutacijas kartu su *IDH1/2* genų mutacijomis. Bendro išgyvenamumo mediana R/R ŪML kohortoje siekė 8 mėnesius. 60 dienų mirštamumas nuo ACTIVE gydymo pradžios siekė 16%. Vienalypėje Cox regresinėje analizėje *IDH2*, *DNMT3A* ir aloKKLT buvo siejami su ilgesniu bendru išgyvenamumu, o ECOG 3 – 4 bendros būklės įvertis, antrinė ŪML, *PTPN11*, *TP53* genų mutacijos ir ELN 2022 gairių apibrėžiamas nepalankios prognozės kariotipas, buvo siejami su trumpesiu bendru išgyvenamumu. Daugialypėje Cox regresinėje analizėje *DNMT3A*, *IDH2* genų mutacijos ir po gydymo ACTIVE atlikta aloKKLT taip pat buvo reikšmingai susiję su ilgesniu bendru išgyvenamumu, tuo tarpu ECOG 3 – 4 bendros būklės įvertis, *TP53* ir *PTPN11* genų mutacijos buvo susijusios su trumpesniu išgyvenamumu.



Paveikslas Nr. 2 Bendras atsakų dažnis po ACTIVE gydymo skirtinguose genominiuose pogrupiuose

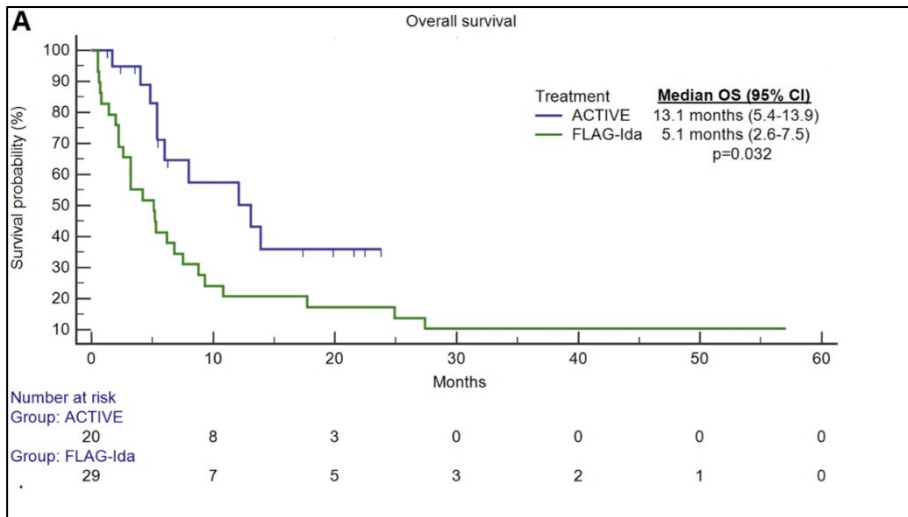
ACTIVE pasižymi aukštu priešleukeminiu veikimu ir yra toks pats efektyvus bei saugesnis nei FLAG – Ida chemoterapija gydant po alogeninės kraujodaros kamieninių ląstelių transplantacijos recidyvavusią ŪML

ACTIVE gydymo rezultatai 2021 metais buvo publikuoti straipsnyje “Venetoclax – based salvage therapy followed by Venetoclax and DLI maintenance vs. FLAG – Ida for relapsed or refractory acute myeloid leukemia after allogeneic stem cell transplantation”. (1) Straipsnyje buvo nagrinėjama itin svarbi klinikinė problema – net ir po intensyviausio bei stipriausio priešleukeminio konsolidacinio gydymo aloKKLT net iki 50 % ŪML pacientų recidyvuoja, o 2 metų bendras išgyvenamumas šiame pacientų pogrupyje yra mažesnis nei 20 %. (2) HOTC ŪML pacientams, kurių liga recidyvavo po aloKKLT, gelbstinčiam gydymui taikyto ACTIVE derinio rezultatai buvo palyginti su retrospektyviai surinktais R/R ŪML intensyvios chemoterapijos FLAG – Ida gydymo rezultatais. Į analizę buvo įtraukti prospektyviai surinkti 20 R/R ŪML pacientų, gavusių ACTIVE gydymą,

duomenys bei retrospektyviai surinkti 29 FLAG – Ida terapija gydytų pacientų duomenys. Pacientų charakteristika detalai pateikiama Lentelėje Nr. 1. Visiems pacientams buvo patvirtintas morfologinis ŪML recidyvas po prieš tai atliktos aloKKLT. Statistiškai reikšmingų skirtumų tarp abiejų grupių pacientų charakteristikų (amžiaus mediana, lytis, ECOG, ELN 2017 metų ŪML genominės rizikos stratifikacija, prieš tai taikytas ŪML gydymo eilių skaičius ar aloKKLT donoro tipas) nebuvo stebėta, todėl grupės vertintos kaip homogeniškos. Atkreiptinas dėmesys, kad mažose imtyse tik dideli skirtumai įgyja statistinį reikšmingumą. Kliniškai svarbiausi skirtumai tarp dviejų grupių buvo susiję su kondicionavimo režimais bei laiku nuo aloKKLT iki recidyvo. Pacientams FLAG – Ida grupėje prieš aloKKLT reikšmingai dažniau (45 %, 13/29) buvo skirtas didžiausio intensyvumo mieloabliacinis kondicionavimas (angl. myeloablative conditioning (MAC)) lyginant su 15 % (3/20) ACTIVE grupėje ($p = 0,035$). ACTIVE grupėje medianinis laikas nuo aloKKLT iki ŪML recidyvo buvo reikšmingai trumpesnis nei FLAG – Ida grupėje (atitinkamai 216 dienų ir 380 dienų, $p = 0,012$). CR + CRp dažnis ACTIVE grupėje siekė 70 % (14/20) ir buvo reikšmingai didesnis nei FLAG – Ida grupėje (34 % (10/29), $p = 0,02$). ORR tarp dviejų grupių nesiskyrė: 75 % (15/20) ACTIVE ir 66 % (19/29), $p = 0,542$. Atsaką pasiekusiems ACTIVE pacientams dažniau buvo tęstas palaikomasis gydymas donoro limfocitų infuzijomis (DLI) (73 %, 11/15), tuo tarpu FLAG – Ida grupėje atsaką pasiekusiems pacientams dažniausiai buvo atlikta antroji aloKKLT (63 %, 12/19). Bendro išgyvenamumo mediana buvo reikšmingai ilgesnė ACTIVE grupėje nei FLAG – Ida grupėje (atitinkamai 13,1 mėnesio ir 5,1 mėnesio, $p = 0,032$) (Paveikslas Nr. 3). Kumuliacinis ŪML recidyvų dažnis abeiose grupėse nesiskyrė ($p = 0,673$). Mirštamumas per pirmas 30 dienų nuo gydymo pradžios FLAG – Ida grupėje siekė 17 % (5/29) lyginant su 0 % ACTIVE kohortoje ($p = 0,07$). Su gydymo komplikacijomis susijęs kumuliacinis mirštamumas buvo reikšmingai didesnis FLAG – Ida grupėje (34 %, 10/29) lyginant su 0 % ACTIVE grupėje ($p = 0,003$).

Straipsnio diskusijose ir išvadose apžvelgėme HOTC taikomo ACTIVE gydymo efektyvumas lyginant su publikuotais kitų derinių rezultatais – ACTIVE kohortoje stebėtas ORR (75 %) yra didesnis nei kituose centruose taikytų venetoklakso derinių (21 – 67 %) gydant R/R ŪML, o ACTIVE gydytų pacientų bendro išgyvenamumo mediana (13,1 mėnesio) yra ilgesnė nei publikuotuose kitų neintensyvių venetoklakso derinių rezultatuose (3 – 7,8 mėnesio). Kita svarbi išvada buvo susijusi su reikšmingai mažesniu ACTIVE gydymo toksiškumu, kuris lėmė ilgesnį bendrą išgyvenamumą, lyginant su įprastine intensyvia FLAG – Ida chemoterapija, kadangi abiejose kohortose bendras atsakų ar kumuliacinis ŪML recidyvų dažnis nesiskyrė.

Remiantis biožymenų analizės duomenimis, ilgiausiai trunkančios remisijos po ACTIVE gydymo buvo stebėtos *IDH1* arba *IDH2* mutacijas turinčių pacientų pogrupyje. Šio tyrimo pagrindu HOTC pakeista R/R ŪML po aloKKLT gydymo taktika: vietoje FLAG – Ida taikomas ACTIVE gydymas.



Paveikslas Nr. 3. ACTIVE ir FLAG-Ida pacientų bendras išgyvenamumas, gydant R/R ŪML po alogeninės kraujodaros kamieninių ląstelių transplantacijos

ACTIVE: aktinomycinas D, citarabinas, venetoklaksas. FLAG-Ida: fludarabinas, citarabinas, idarubicinas, granulocitų kolonijas stimuliuojantis faktorius. AloKkLT: alogeninė kamieninių kraujodaros ląstelių transplantacija. OS: bendras išgyvenamumas. CI: pasikliautinis intervalas.

Lentelė Nr. 1. ACTIVE ir FLAG-Ida gydytų pacientų charakteristika

Charakteristika	ACTIVE (20)	FLAG – Ida (29)	P reikšmė
Lytis			
Vyras	12/20 (60%)	12/29 (41%)	0.251
Moteris	8/20 (40%)	17/29 (59%)	
Amžius			
Mediana, metai (intervalas)	59 (20-71)	48 (20-75)	0.098
Vyresni nei 60 metų	8/20 (40%)	4/29 (14%)	0.048
ECOG būklė			
ECOG mediana	1 (0 - 3)	1 (0 – 2)	0.196
ECOG 0-1	14/20 (70%)	9/10 (90%)	0.371
ECOG 2-3	6/20 (30%)	1/10 (10%)	
ECOG nevertintas	0	19	
Diagnozė			
MDS - EB2	0	1/29 (3%)	0.26
Naujai diagnozuota ŪML	9/20 (45%)	19/29 (66%)	
ŪML po MDS/MPN	7/20 (35%)	7/29 (24%)	
Su gydymu susijusi ŪML	4/20 (20%)	2/29 (7%)	

Charakteristika	ACTIVE (20)	FLAG – Ida (29)	P reikšmė
Blastų skaičius, mediana	19% (4 – 46)	18% (0-92)	0.941
ELN 2017 rizikos grupė			
Palanki	2/20 (10%)	2/24 (8%)	0.363
Vidutinė	6/20 (30%)	12/24 (50%)	
Nepalanki	12/20 (60%)	10/24 (42%)	
Kariotipas			
Nepalankios prognozės	2/20 (10%)	2/22 (9%)	0.877
Kompleksinis	4/20 (20%)	3/22 (14%)	
Vidutinės prognozės	14/20 (70%)	17/22 (77%)	
Prieš tai taikytas ŪML gydymas			
Intensyvi chemoterapija	17/20 (85%)	35 (29%)	1
Didelių dozių citarabino terapija	13/20 (65%)	20/29 (69%)	1
FLAG-Ida	7/20 (35%)	0	<0.001
Taikytas gydymas venetoklaksu	4/20 (20%)	0	0.023
Eilių skaičius, mediana (intervalas)	1 (1 – 4)	2 (1 – 4)	0.468
1 eilė	11/20 (55%)	14 (48%)	0.64
2 eilės	6/20 (30%)	13/29 (45%)	
3 eilės	1/20 (5%)	1/29 (3%)	
4 eilės	2/20 (10%)	1/29 (3%)	
Donoro tipas			
ŽLA tapatus giminingas (10/10)	5/20 (25%)	11/29 (38%)	0.59
ŽLA tapatus negiminingas (10/10)	12/20 (60%)	14/29 (48%)	
ŽLA netapatus (9/10)	1/20 (5%)	3/29 (10%)	
Haploidentinis donoras (5/10)	2/20 (10%)	1/29 (3%)	

ACTIVE: aktinomicinas D, citarabinas, venetoklaksas. FLAG-Ida: fludarabinas, citarabinas, idarubicinas, granulocitų kolonijas stimuliuojantis faktorius. AloKkLT: alogeninė kamieninių kraujodaros ląstelių transplantacija. ELN: Europos leukemijų tinklo rekomendacijos. ECOG: Rytų kooperatinė onkologijos grupė. ŽLA: žmogaus leukocitų antigenai. MDS: mielodisplastinis sindromas. MPN: mieloproliferacinė liga.

R/R ŪML pacientų, kuriems ACTIVE derinys buvo neefektyvus, tolimesnis antileukeminis gydymas, įskaitant taikinių gydymą, yra

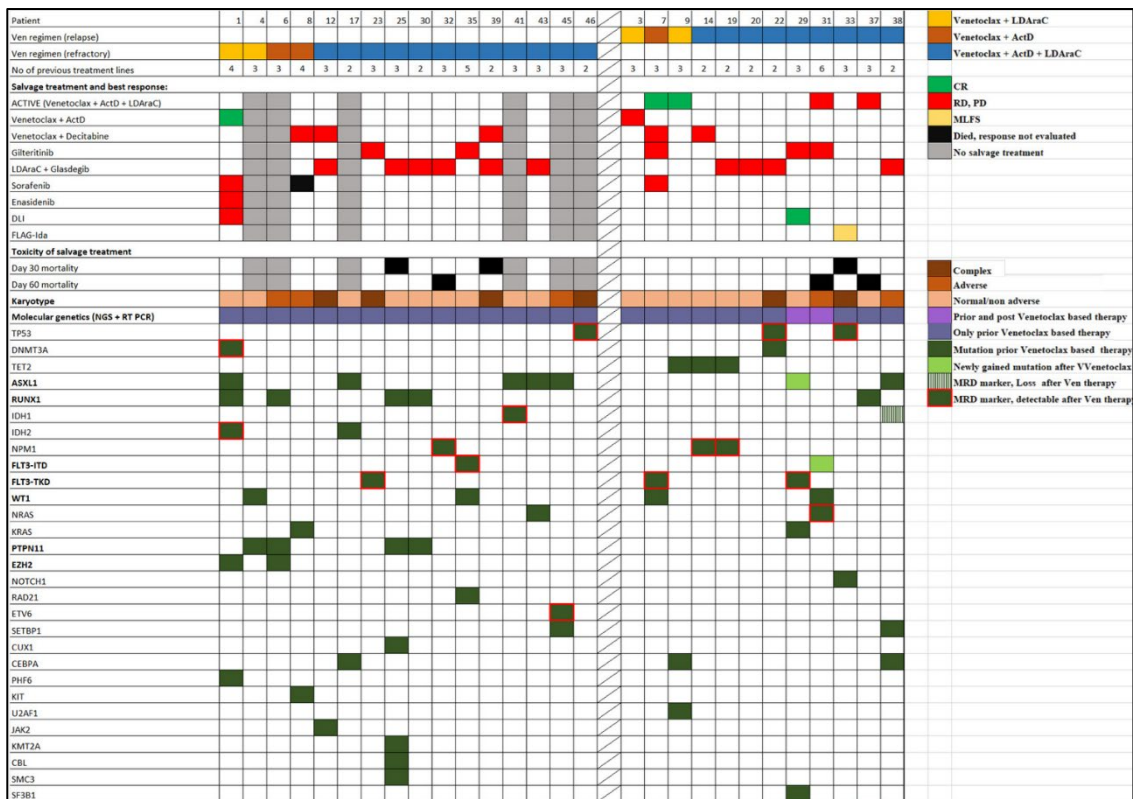
neefektyvus, o bendras išgyvenamumas yra itin trumpas – tai nauja „nepatenkinto medicininio poreikio“ R/R ŪML grupė

Nepaisant didelio ACTIVE derinio veiksmingumo, didžiajai daugumai pacientų pakartotinai įvyksta ŪML recidyvas. 2021 metais buvo publikuotas straipsnis “Outcomes of relapsed or refractory acute myeloid leukemia patients failing venetoclax – based salvage therapies” kuriame apžvelgėme pacientų išeitį ir tolimesnį taikytą gydymą, kuomet ACTIVE arba venetoklakso ir mažų dozių citarabino (LDARaC + Ven) derinys buvo neefektyvus (konstatuotas recidyvas po pasiektos remisijos arba patvirtintas refrakterumas gydymui). (3) Tai pirmasis publikuotas tyrimas, analizuojantis minėtų pacientų klinikinius rezultatus. Į prospektyviai surinktų duomenų analizę buvo įtraukti 28 pacientai su R/R ŪML, amžiaus mediana buvo 59 metai (20 – 80), vidutinis ECOG įvertis buvo 2 (0 – 4). Detali pacientų charakteristika pateikta Lentelėje Nr. 2. 64 % (18/28) tiriamųjų buvo stratifikuoti į nepalankios ELN 2017 rizikos grupę, o 39 % (11/28) turėjo nepalankios prognozės kariotipo pokyčius. Prieš ACTIVE arba LDARaC + Ven gelbstintį gydymą pacientai vidutiniškai buvo gydyti 3 gydymo eilėmis (2-6), 57 % (16/28) pacientų prieš tai buvo taikyta aloKKLT. Daugiau pacientų (57 %, 16/28) buvo refrakterūs ACTIVE terapijai, tuo tarpu 43 % (12/28) recidyvavo po prieš tai pasiektos pilnos remisijos. Šiems pacientams dažniausiai buvo nustatytos *ASXL1* (21 %, 6/28), *FLT3* (18 %, 5/28), *RUNX1* (18 %, 5/28), *PTPN11* (14 %, 4/28), *N(K)RAS* (14 %, 4/28), *WT1* (14 %, 4/28) ir *TP53* (11 %, 3/28) genų mutacijos (Paveikslas Nr. 4). Daugelis pacientų (79 %, 22/28) po nesėkmingos ACTIVE terapijos gavo tolimesnį priešleukeminį gydymą, tuo tarpu 21 % (6/28) dėl blogos bendros būklės specifinis priešleukeminis gydymas nebuvo skirtas. Bendras atsakų dažnis toliau gydytų pacientų pogrupyje buvo 23 % (5/22): 3 pacientams buvo efektyvus ACTIVE gydymas (šie pacientai prieš tai buvo gavę LDARaC + Ven dviejų vaistų derinį), vienas pacientas pasiekė atsaką po intensyvios chemoterapijos (FLAG – Ida), o vienas pacientui buvo efektyvios DLI (Paveikslas Nr. 4). Taikinių terapija *FLT3* arba *IDH1/2* inhibitoriais buvo neefektyvi visais taikytais atvejais. Bendro išgyvenamumo mediana visoje 28 pacientų grupėje buvo tik 3,9 mėnesio. Ilgesnis medianinis bendras išgyvenamumas buvo stebėtas toliau gydytų pacientų pogrupyje lyginant su pacientų, negavusių tolimesnio gydymo pogrupiu (atitinkamai 4,3 ir 1,3 mėnesio, $p < 0,001$). Išvadose buvo konstatuota, kad R/R ŪML pacientų išeitys yra itin prastos, kuomet venetoklakso derinio gelbstinti terapija yra neefektyvi arba pacientai po šio gydymo recidyvuoja. Šios prognostiškai nepalankios grupės pacientams, kurie prieš tai dar nebuvo gydyti aktinomicinu D (pacientai buvo gavę tik LDARaC + Ven), gydymas ACTIVE gali būti efektyvus nepaisant venetoklakso

naudojimo praeityje. Tuo tarpu po taikinių terapijos pavieniais vaistais (*FLT3* inhibitoriai gilteritinibas / sorafenibas arba *IDH2* inhibitorius enasidenibas taikyti pacientams, kuriems buvo nustatytos *FLT3* arba *IDH2* genų mutacijos) klinikinių atsakų stebėta nebuvo, labiausiai tikėtina dėl kartu esančių kitų leukemijos atsparumo mechanizmų.

2021 metais buvo publikuotas straipsnis “Glasdegib in combination with low-dose Cytarabine for the outpatient treatment of relapsed or refractory acute myeloid leukemia in unfit patients”, kuriame apžvelgėme nedidelio intensyvumo SMO receptoriaus inhibitoriaus glasdegibo ir mažų dozių citarabino derinio rezultatai, kai buvo gydyti R/R ŪML pacientai. (4)

Šiame straipsnyje buvo retrospektyviai surinkti ir analizuoti 14 R/R ŪML pacientų duomenys, kuriems prieš tai buvo nesėkmingai taikytas venetoklaksu paremtas gydymas (ACTIVE arba venetoklakso ir mažų dozių citarabino arba venetoklakso ir decitabino derinys) po kurio toliau buvo skirtas jau minėtas glasdegibo ir mažų dozių citarabino kombinuotas gydymas. Šiame pacientų pogrupyje tik 7 % (1/14) pasiekė pilną remisiją po glasdegibu paremto gydymo, o bendro išgyvenamumo mediana buvo labai trumpa ir siekė tik 3,9 mėnesio. Kaip ir prieš tai minėtoje publikacijoje, šio straipsnio išvadose pakartotinai buvo akcentuotas efektyvių ir saugių gelbstinčių gydymo metodų trūkumas, kuomet R/R ŪML pacientai yra refrakterūs arba recidyvavo po venetoklakso derinio terapijos.



Paveikslas Nr. 4. Pacientų, kuriems ACTIVE arba LDaraC + Ven gydymas buvo neefektyvus, leukeminių ląstelių genomika ir taikytas tolimesnis gydymas

ACTIVE: aktinomicinas D, citarabinas, venetoklaksas. ECOG: Rytų kooperatinė onkologijos grupė. LDaraC: mažų dozių citarabinas. ActD: aktinomicinas D. Ven: venetoklaksas. DLI: donorų limfocitų infuzija. CR: pilna remisija. RD/PD: refrakteri liga. MLFS: morfologinė būklė be leukemijos. MRD: minimali liktinė liga. NGS: naujos kartos sekoskaita. FLAG-Ida: fludarabinas, citarabinas, granulocitų kolonijas stimuliuojantis faktorius, idarubicinas.

Lentelė Nr. 2. Pacientų, kuriems ACTIVE arba LDArac + Ven gydymas buvo neefektyvus, charakteristika

	n/N	%
Baseline characteristics (N28)		
Male	16/28	57
Female	12/28	43
Median age (min-max)	59 (20-80)	
ECOG 0	1/28	4%
ECOG 1	7/28	25%
ECOG 2	9/28	32%
ECOG 3	9/28	32%
ECOG 4	2/28	7%
de Novo AML	12/28	43%
sAML	14/28	50%
tMDS-EB	2/28	7%
Adverse ELN2017 risk group	18/28	64%
Adverse karyotype	11/28	39%
Previous treatment		
Median number of previous treatment lines (min-max)	3 (2-6)	
Relapse after venetoclax-based therapy	12/28	43%
Refractory to venetoclax-based therapy	16/28	57%
venetoclax + LDArac	4/28	14%
venetoclax + ActD	3/28	11%
venetoclax + ActD + LDArac	21/28	75%
Previous alloSCT	16/28	57%
Relapse post-alloSCT within <12 mo	13/28	46%

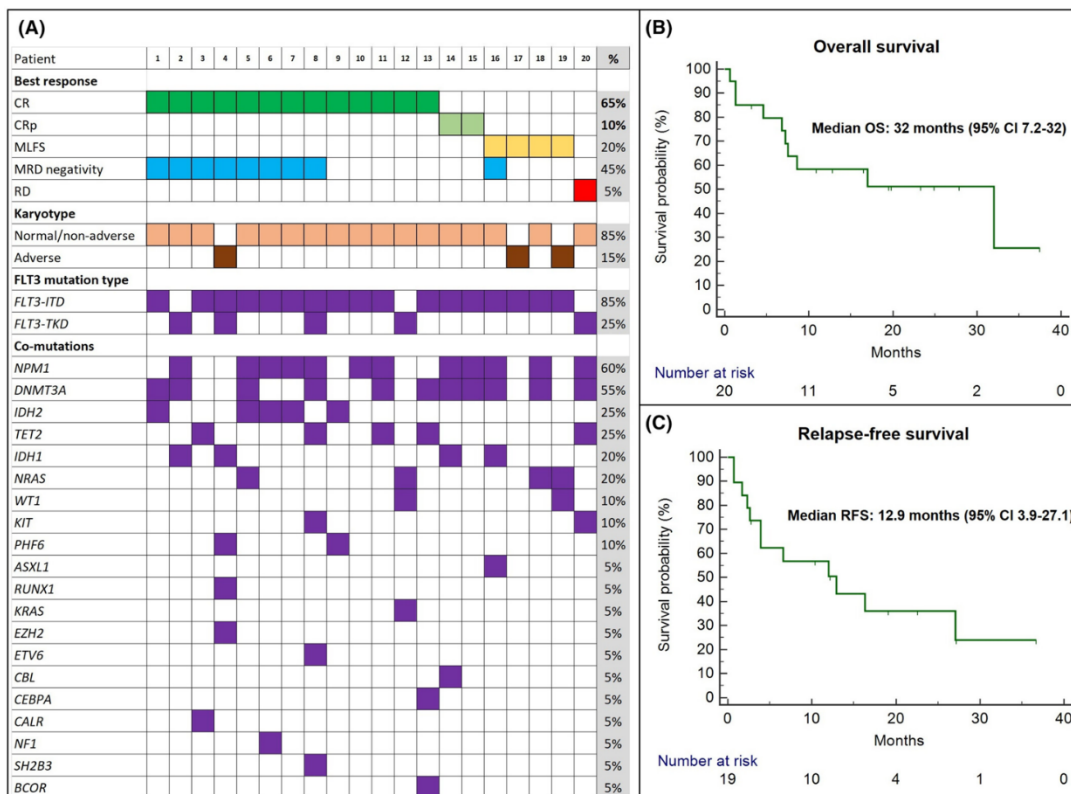
ACTIVE: aktinomicinas D, citarabinas, venetoklaksas. AlloSCT: alogeninė kamieninių kraujodaros ląstelių transplantacija. ELN: Europos leukemijų tinklo rekomendacijos. AML: ūminė mieloleukemija. sAML: antrinė ūminė mieloleukemija. tMDS-EB: su gydymu susijęs mielodisplastinis sindromas. ECOG: Rytų kooperatinė onkologijos grupė. LDArac: mažų dozių citarabinas. ActD: aktinomicinas D.

FLT3 inhibitoriaus gilteritinibo ir ACTIVE derinys yra labai efektyvus gydant R/R ŪML su FLT3 geno mutacija

R/R ŪML su FLT3 geno mutacija priklauso R/R ŪML su taikininėmis genetinėmis pažaidomis. 2024 metais publikuotas straipsnis “Gilteritinib in combination with venetoclax, low – dose cytarabine and actinomycin D for relapsed or refractory FLT3 – mutated acute myeloid leukaemia”, kuriame apžvelgėme ACTIVE derinio su antros kartos FLT3 inhibitoriumi gilteritinibu

(G-ACTIVE) gelbstinčio gydymo rezultatai, gydant R/R ŪML su *FLT3* geno mutacija. (5)

Į prospektyviai surinktų duomenų analizę buvo įtraukti 20 R/R ŪML su *FLT3* mutacija pacientų, kurių vidutinis amžius buvo 65 metai (35 – 87), o vidutinis ECOG įvertis buvo 1 (0 – 2), gydymo rezultatai. Didžiajai daliai pacientų (75 %, 15/20) buvo nustatyta *FLT3 – ITD* mutacija, 15 % (3/20) *FLT3 – TKD* mutacija, o 10 % (2/10) buvo nustatytos *FLT3 – ITD* ir *FLT3 – TKD* ko-mutacijos. 15 % (3/20) atvejų buvo nustatytas prognostiškai nepalankus kariotipas. Prieš G-ACTIVE gelbstintį gydymą pacientai vidutiniškai buvo gydyti 1 (1 – 5) gydymo eile, 55 % (11/20) buvo gavę *FLT3* inhibitorių, 20 % (4/20) buvo gydyti venetoklaksu paremtais gydymais, 15 % (3/20) buvo prieš tai taikyta aloKKLt. ORR po G-ACTIVE gydymo siekė 95 % (19/20), o CR + CRp dažnis buvo 75 % (15/20) (Paveikslas Nr. 3). Tėkmės citometriniu tyrimu minimali liktinė liga (<0.1%) buvo neaptinkama 45 % (9/20) atvejų. Gydymo atsakas visiems pacientams buvo pasiektas jau po pirmojo gydymo kurso, o iš 13 pacientų, kurių būklė buvo tinkama konsolidacinei aloKKLt, 11 (85 %) buvo alotransplantuoti ir atnaujino giliteritinibą palaikomajam gydymui po aloKKLt. Bendro išgyvenamumo mediana visoje kohortoje siekė 32 mėnesius, o išgyvenamumo be ŪML recidyvo mediana buvo 12,9 mėnesio (Paveikslas Nr. 5). 2 metų bendras išgyvenamumas siekė 51 %. Pacientų, kuriems buvo atlikta aloKKLt po G-ACTIVE gydymo ir atnaujintas potransplantacinis palaikomasis gydymas giliteritinibu, 2 metų išgyvenamumas buvo 80 %. Analizuojant G-ACTIVE gydymo šalutinius reiškinius dažniausiai fiksuota febrili neutropenija (50 %, 10/20) ir pneumonija (15 %, 3/20). Ankstyvas mirštamumas per pirmąsias 30 ir 60 dienų nuo G-ACTIVE gydymo pradžios siekė atitinkamai 5 % (1/20) ir 15 % (3/20). Medianinis dienų skaičius nuo G-ACTIVE gydymo pradžios iki pilno neutrofilų ($> 1 \times 10^9/l$) ir trombocitų ($> 100 \times 10^9/l$) atsistatymo buvo atitinkamai 24 ir 29 dienos. Pagrindinėse straipsnio išvadose palyginome G-ACTIVE bendras atsakų (95 %) ir pilnų remisijų dažnis (75 %) su kitų hematologijos centrų publikuotais efektyvumo duomenimis taikant venetoklakso ir giliteritinibo dviejų vaistų derinį (ORR 74 % ir CR 37 %) arba venetoklakso, giliteritinibo ir azacitidino tripletą (ORR 75 %, CR 40 %) gydant R/R ŪML su *FLT3* geno mutacija. Atkreiptinas dėmesys, kad laikas nuo gydymo pradžios iki pilno neutrofilų trombocitų atsistatymo buvo trumpesnis po G-ACTIVE gydymo lyginant su venetoklakso ir giliteritinibo deriniu arba venetoklakso, giliteritinibo ir azacitidino tripletu. Apibendrinus, G-ACTIVE keturių vaistų derinys yra saugus ir efektyvus gelbstintysis gydymas, leidžiantis daugumai R/R ŪML su *FLT3* geno mutacija pacientų pasiekti remisiją ir atlikti aloKKLt išgydymo tikslu.



Paveikslas Nr. 5. G–ACTIVE gydytų pacientų atsako dažniai, leukeminių ląstelių genomika ir išgyvenamumas

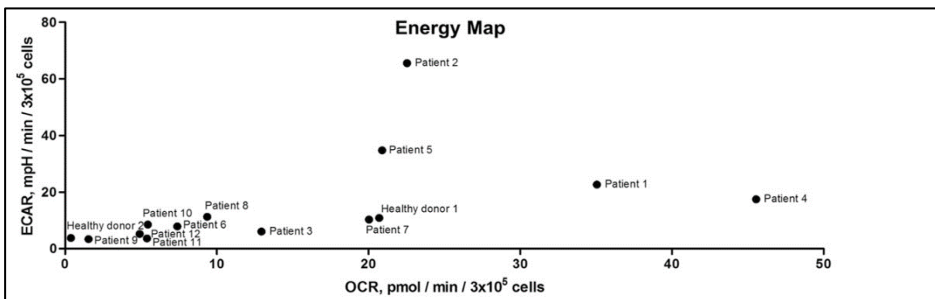
ACTIVE: aktinomocinas D, citarabinas, venetoklaksas. AlloSCT: alogeninė kaimenių kraujodaros ląstelių transplantacija. ELN: Europos leukemijų tinklo rekomendacijos. AML: ūminė mieloleukemija. ECOG: Rytų kooperatinė onkologijos grupė. Overall survival/OS: bendras išgyvenamumas. RFS: išgyvenamumas be recidyvo. CI: pasikliautinis intervalas. CR: pilna remisija. CRp: pilna remisija be trombocitų atsistatymo. MLFS: morfologinė būklė be leukemijos. MRD: minimali liktinė liga. RD: refrakteri liga.

Oksidacinio fosforilinimo aktyvumas skiriasi R/R ŪML leukeminėse ląstelėse, o jo slopinimas gali lemti efektyvesnę antileukeminių vaistų poveikį

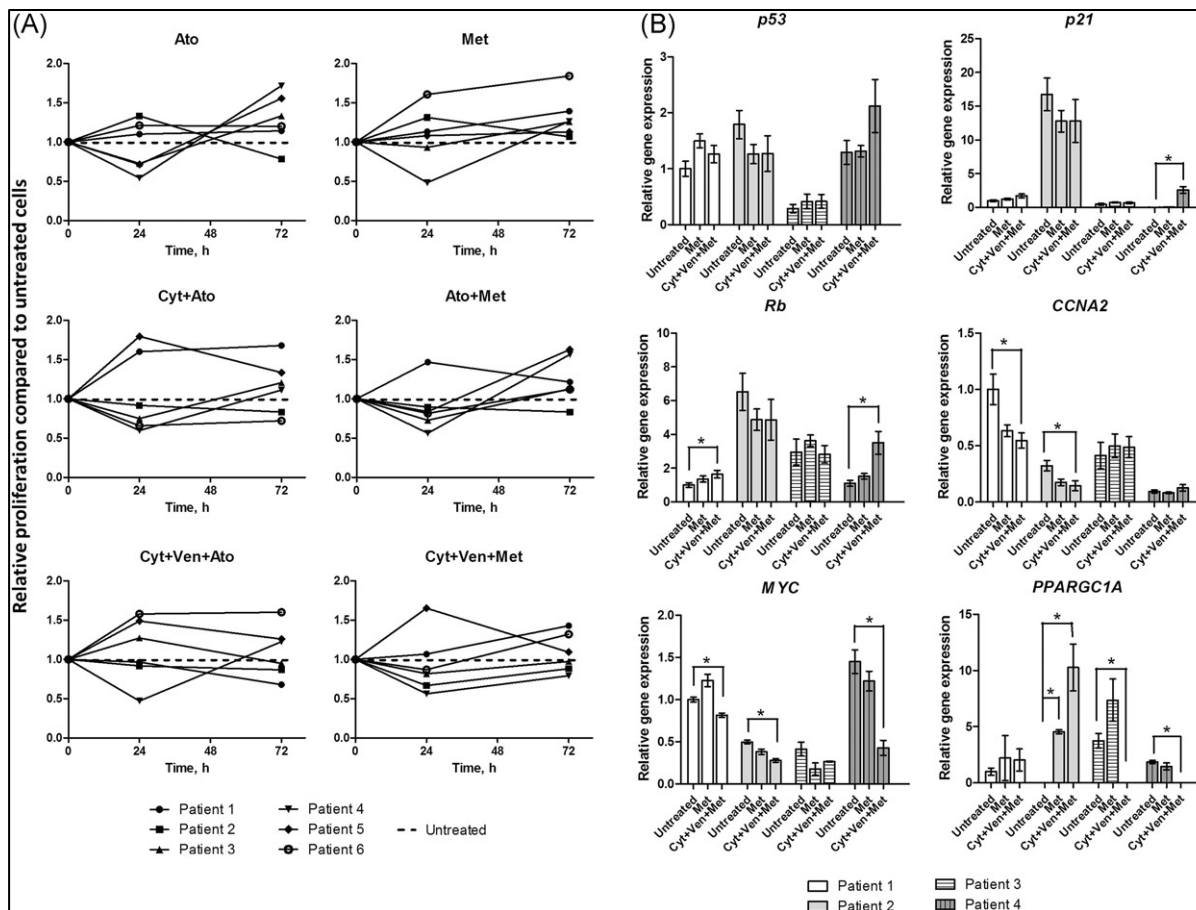
Ikiklinikinių R/R ŪML biožymenų tyrimuose naudojant R/R ŪML pacientų natyvinės leukemines ląsteles buvo bendradarbiauta su Vilniaus universiteto Gamtos mokslų centro, Biochemijos instituto, Ląstelės molekulinės biologijos skyriaus tyrėjais vykdamas „Inovatyvių terapijų ir prognostinių įrankių, skirtų chemoterapijai atsparios ūminės mieloleukemijos gydymui, sukūrimas“ projektą. Vieno tyrimo rezultatai buvo publikuoti straipsnyje “Oxidative phosphorylation inhibition induces anticancerous changes in therapy-resistant – acute myeloid leukemia patient cells”. (6)

Tyrimo metu buvo nustatyta, kad skirtingų pacientų, sergančių R/R ŪML, periferinio kraujo leukeminėse ląstelėse skiriasi oksidacinio fosforilinimo ir glikolizės aktyvumas (Paveikslas Nr. 6). Atliekant tolimesnius bandymus tik su R/R ŪML pacientų ląstelėmis, kuriose stebėtas didžiausias mitochondrijų oksidacinio fosforilinimo aktyvumas (1 – 6 pacientai), buvo nustatyta, kad metforminas, inhibuojantis oksidacinio fosforilinimo kvėpavimo grandinės pirmąjį kompleksą, reikšmingai sumažino deguonies suvartojimą leukeminėse ląstelėse, tačiau įtakos leukeminių ląstelių proliferacijai neturėjo. Tolimesnių tyrimų tikslas buvo nustatyti ar oksidacinio fosforilinimo inhibicija metforminu gali pagerinti priešleukeminį venetoklakso ir citarabino efektyvumą. Metformino derinys su venetoklaksu ir citarabinu leukeminių ląstelių proliferaciją slopino labiau nei metformino monoterapija, tačiau poveikis taip pat nebuvo reikšmingas lyginant su oksidacinio fosforilinimo lygiu prieš poveikius (Paveikslas Nr. 7A). Genų ekspresijos profilio analizėje buvo nustatyta, kad *PPARGC1A* geno, koduojančio transkripcinį faktorių $PGC1\alpha$ (kvėpavimo grandinės ir riebiųjų rūgčių metabolizmo kontrolė), ekspresija buvo reikšmingai slopinama tik metformino, citarabino ir venetoklakso deriniu (1, 3, 4 pacientai), tuo tarpu monoterapija metforminu reikšmingo poveikio *PPARGC1A* geno ekspresijai neturėjo (Paveikslas Nr. 7B). Padidėjusi ląstelės ciklą inhibuojančių genų (*p53*, *p21*, *Rb*) ekspresija buvo pastebima leukeminėse ląstelėse, kuriose bazinis oksidacinis fosforilinimas buvo aktyviausias (1 ir 4 pacientai) po poveikio metforminu, o efektas buvo didesnis po metformino, citarabino ir venetoklakso kombinuoto poveikio (Paveikslas Nr. 7B). Metformino, citarabino ir venetoklakso poveikis taip pat turėjo didžiausią efekto *MYC* onkogeno ekspresijos sumažėjimui (Paveikslas Nr. 7B). Skysčių chromatografijos – masių spektrometrijos metodu atliktoje baltymų analizėje buvo nustatyta, kad metformino, citarabino ir venetoklakso kombinuotas poveikis slopina didžiausią medžiagų apykaitos kelių skaičių, lyginant tik su vieno vaisto

metformino poveikiu. Remiantis gautais rezultatais, straipsnio išvadose buvo pabrėžta, kad tik dalies R/R ŪML pacientų leukeminėse ląstelėse stebėtas padidėjęs oksidacinio fosforilinimo aktyvumas, kuris buvo efektyviausiai slopinamas kvėpavimo grandinę inhibuojančiu vaistu metforminu derinyje su venetoklaksu ir citarabinu bei sąlygojo leukeminių ląstelių proliferacijos inhibiciją. Straipsnio išvadose akcentuota R/R ŪML individualizavimo svarba, o vienas iš galimų biožymenų yra oksidacinis fosforilinimas, kurio inhibicija ir terapinis pritaikomumas yra tolimesnių R/R ŪML tyrimų sritis siekiant pagerinti gydymo venetoklakso deriniais efektyvumą.



Paveikslas Nr. 6. R/R ŪML pacientų leukeminių ląstelių oksidacinio fosforilinimo (OCR) ir glikolizės (ECAR) aktyvumas



Paveikslas Nr. 7. Leukeminių ląstelių proliferacijos (A) ir genų ekspresijos pokyčiai slopinant oksidacinį fosforilinimą (B)

**Disertacijos publikacijų pagrindinių rezultatų santrauka
pavaizduota Lentelėje Nr. 3.**

Lentelė Nr. 3

Pacientai	Tyrimas	Rezultatai
1. R/R ŪML pacientai, gavę gelbstintį ACTIVE gydymą (1)	Retrospektyviai analizuota visa 88 R/R ŪML pacientų kohorta, kuriai taikytas ACTIVE gydymas.	<ul style="list-style-type: none"> • Kumuliacinis CR + CRp + CRi dažnis siekė 62 %, o ORR 74 %. • Bendro išgyvenamumo mediana siekė 8 mėnesius. • <i>IDH2</i>, <i>DNMT3A</i> genų mutacijos ir aloKHLT siejama su ilgesniu išgyvenamumu. • <i>TP53</i>, <i>PTPN11</i> genų mutacijos ir ECOG 3-4 būklė siejosi su blogesniu išgyvenamumu.
2. Recidyvavę po aloKHLT ŪML pacientai (2)	Retrospektyviai palyginti 20 pacientų, kuriems taikytas ACTIVE gydymas, rezultatai su 29 pacientų išėjimais po FLAG-Ida gelbstinčio gydymo.	<ul style="list-style-type: none"> • ACTIVE ir FLAG-Ida antileukeminis efektyvumas nesiskyrė. • ACTIVE klinikinis veiksmingumas buvo didesnis: bendras išgyvenamumas buvo ilgesnis ACTIVE kohortoje palyginti FLAG-Ida grupe (13,1 ir 5,1 mėn.).
3. R/R ŪML pacientai, kuriems ACTIVE gydymas buvo neefektyvus (3)(4)	Retrospektyviai analizuota 29 pacientų, kuriems ACTIVE gydymas buvo neefektyvus, išeitys. Atskirai analizuota 14 pacientų subkohorta, kuriai toliau buvo taikytas citarabino ir glasdegibo kombinuotas gydymas.	<ul style="list-style-type: none"> • Pacientų, kuriems ACTIVE gydymas buvo neefektyvus, išgyvenamumas tebuvo 3,9 mėn. • Šiems pacientams tolimesnis taikiniams agnostiškas, taikinių ar citarabino ir glasdegibo derinio gydymas pasižymėjo minimaliu laikiniu efektyvumu.
4. R/R ŪML pacientai su <i>FLT3</i> geno mutacija (5)	Retrospektyviai analizuotos 20 pacientų su R/R ŪML su <i>FLT3</i> geno mutacija išeitys, kuriems buvo skirtas gilteritinibo ir ACTIVE kombinuotas gydymas.	<ul style="list-style-type: none"> • Gilteritinibas + ACTIVE pasižymėjo 95 % ORR ir 75 % CR + CRp dažniu. • Bendro išgyvenamumo mediana siekė 32 mėn. • 85 % tinkamų alotransplantuoti pacientų buvo atlikta aloKHLT, o jų 2 metų išgyvenamumas siekė 80%.

Pacientai	Tyrimas	Rezultatai
5. Ikiklinikiniai R/R ŪML pacientų leukeminių ląstelių tyrimai (6)	Analizuotas oksidacinio fosforilinimo aktyvumas bei oksidacinio fosforilinimo inhibicijos poveikis leukeminėms ląstelėms.	<ul style="list-style-type: none"> • Metforminas slopino oksidacinį fosforilinimą bei medžiagų apykaitų kelius. • Metformino efektą stiprino venetoklakso ir citarabino derinys, kuris taip pat slopino PPARγ ir MYC genų ekspresiją bei ląstelių proliferaciją.

IŠVADOS

1. R/R ŪML gydymas aktinomicino D, mažų dozių citarabino ir venetoklakso (ACTIVE) deriniu pasižymėjo 62 % kumuliaciniu pilnų remisijų bei 74 % bendro atsako dažniais. Šie rezultatai viršija mokslinėje literatūroje publikuotą įprastos intensyvios chemoterapijos ar venetoklakso ir citarabino / hipometilinančių vaistų derinių efektyvumą gydant R/R ŪML ir pagrindžia ACTIVE klinikinį pritaikomumą bei saugumą. IDH2, DNMT3A mutacijos ir aloKFLT, atlikta po ACTIVE gydymo, reikšmingai siejosi su ilgesniu bendru išgyvenamumu, tuo tarpu TP53, PTPN11 mutacijos ir bloga pacientų bendra būklė su trumpesniu bendru išgyvenamumu po gydymo ACTIVE deriniu.
2. Gydant po aloKFLT recidyvavusią ŪML ACTIVE derinio antileukeminis efektyvumas prilygo intensyviai chemoterapijai FLAG-Ida, tačiau dėl mažesnio toksiškumo bendras išgyvenamumas po gydymo ACTIVE buvo statistiškai reikšmingai ilgesnis.
3. Pacientų prognozė R/R ŪML atsinaujinus po gelbstinčiojo gydymo venetoklakso deriniu yra labai bloga. Šiems pacientams tolimesnis taikiniams agnostiškas, taikinių ar citarabino ir glasdegibo derinio gydymas pasižymėjo minimaliu efektyvumu.
4. *FLT3* inhibitoriaus gilteritinibo ir ACTIVE (G-ACTIVE) derinys pasižymi dideliu bendrų atsakų (95 %) ir pilnų remisijų su arba be trombocitų atsistatymo dažniu (75 %) bei sudaro sąlygas daugumai pacientų, sergančių R/R ŪML su *FLT3* geno mutacija, atlikti aloKFLT bei reikšmingai pagerinti jų prognozę - šių pacientų 2 metų bendras išgyvenamumas siekė 80 %.
5. R/R ŪML pacientų leukeminių ląstelių oksidacinio fosforilinimo aktyvumas skyrėsi. Prieš poveikį nustačius aukštą oksidacinį fosforilinimą, kvėpavimo grandinės inhibitoriaus ir klinikinėje praktikoje naudojamo vaisto metformino derinys su citarabinu ir venetoklaksu veiksmingiausiai slopino deguonies suvartojimo lygį, medžiagų apykaitos reguliacinius kelius, *PPARGCIA* ir *MYC* genų ekspresiją bei ląstelių proliferaciją.

DISERTACIJOS REZULTATŲ PRAKTINĖ REIKŠMĖ

1. ACTIVE derinio pademonstruotas efektyvumas ir saugumas gydant R/R ŪML yra vienas geriausių tarp šiuo metu naudojamų gydymo metodų. Įvertinus tyrimo rezultatus VUL SK HOTC ACTIVE pradėtas naudoti, kaip pirmojo pasirinkimo derinys šiai pacientų kategorijai.
2. G-ACTIVE derinys pakeitė intensyvią chemoterapiją arba monoterapiją gilteritinibu gydant R/R ŪML su *FLT3* geno mutacija HOTC remiantis geresniu efektyvumu, saugumu bei didesne galimybe atlikti aloKFLT pasveikimo tikslu.
3. Pakeista R/R ŪML pacientų, kuriems venetoklakso derinys buvo neefektyvus, gydymo taktika HOTC – dėl itin blogų tolimesnio konvencinio bei taikinių gydymo rezultatų pacientams pradėtos taikyti sekvencinės gelbstinčios aloKFLT.
4. Nustatyti predikciniai biožymenys naudojami parenkant R/R ŪML gydymo taktiką HOTC: numatant mažą ACTIVE gydymo efektyvumą, pacientams taikoma ACTIVE gydymo ir sekvencinės aloKFLT kombinuota terapija.
5. Planuojami tolimesni ikiklinikiniai bei R/R ŪML klinikiniai tyrimai, panaudojant potencialias oksidacinio fosforilinimo kelio intervencijas.

Apibendrinta disertacijos rezultatų praktinė reikšmė pavaizduota paveiksle Nr. 8.

R/R ŪML subgrupė	Anksčiau taikytas gydymas HOTC	Nauja gydymo taktika HOTC
R/R ŪML po aloKFLT	<ul style="list-style-type: none"> • FLAG-Ide chemoterapija ± pakartotinė aloKFLT • Paliatyvus gydymas mažų dozių citarabinu 	ACTIVE ± sekvencinė pakartotinė aloKFLT arba DLI
R/R ŪML su <i>FLT3</i> geno mutacija	<ul style="list-style-type: none"> • Gilteritinibas • FLAG-Ide chemoterapija • Paliatyvus gydymas mažų dozių citarabinu 	ACTIVE + Gilteritinibas ir aloKFLT
R/R ŪML be taikinių genitinių pažaidų	<ul style="list-style-type: none"> • FLAG-Ide chemoterapija • Paliatyvus gydymas mažų dozių citarabinu ± glasdegibu 	ACTIVE ± sekvencinė aloKFLT
R/R ŪML po nesėkmingo gydymo venetoklakso deriniu	<ul style="list-style-type: none"> • Gydymas <i>FLT3</i> ir <i>IDH1/2</i> inhibitoriais • FLAG-Ide chemoterapija • Paliatyvus gydymas mažų dozių citarabinu ir glasdegibu 	ACTIVE + sekvencinė aloKFLT

Paveikslas Nr. 8. R/R ŪML gydymo taktikos pokyčiai HOTC po doktorantūros darbo išvadų

DISERTACIJOS MOKSLINIŲ STRAIPSNIŲ SĄRAŠAS

1. **Andrius Žučenka**, Lukas Kevličius, Linas Davainis, Birutė Davainienė, Kazimieras Maneikis, Regina Pileckytė, Dominika Vasilevska, Igoris Trociukas, Vilmantė Vaitekėnaitė, Laimonas Griškevičius; Venetoclax-Based Therapies for Acute Myeloid Leukemia or Myelodysplastic Syndrome with Excess Blasts-2 in Clinical Practice Setting. *Blood* 2022; 140 (Supplement 1): 3358–3359. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2022-165459>
2. **Zucenka, A.**, Vaitekenaitė, V., Maneikis, K. et al. Venetoclax-based salvage therapy followed by Venetoclax and DLI maintenance vs. FLAG-Ida for relapsed or refractory acute myeloid leukemia after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* (2021). <https://doi.org/10.1038/s41409-021-01416-5>
3. **Zucenka, A.**, Pileckyte, R., Trociukas, I., Peceliunas, V., Vaitekenaitė, V., Maneikis, K., Davainis, L., Zvirblis, T., Stoskus, M., Gineikiene, E., Norvilas, R., Dirse, V., Suraciute, A., Zucenkiene, E. and Griskevicius, L. (2020). Outcomes of Relapsed or Refractory Acute Myeloid Leukemia Patients Failing Venetoclax Based Salvage Therapies. *Eur J Haematol*. <https://doi.org/10.1111/ejh.13527>
4. **Zucenka A**, Maneikis K, Pugaciute B, Ringeleviciute U, Dapkeviciute A, Davainis L, Daukelaite G, Burzdikaite P, Staras V, Griskevicius L. Glasdegib in combination with low-dose Cytarabine for the outpatient treatment of relapsed or refractory acute myeloid leukemia in unfit patients. *Ann Hematol*. 2021 Mar 4:1–8. <https://doi.org/10.1007/s00277-021-04471-6>
5. **Zucenka A**, Griskevicius L. Gilteritinib in combination with venetoclax, low-dose cytarabine and actinomycin D for relapsed or refractory FLT3-mutated acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2024 Jan 30. <https://doi.org/10.1111/bjh.19318>.
6. Vitkevičienė A, Janulis V, **Žučenka A**, et al. Oxidative phosphorylation inhibition induces anticancerous changes in therapy-resistant–acute myeloid leukemia patient cells. *Molecular Carcinogenesis* 2019; 1-9 <https://doi.org/10.1002/mc.23092>

SANTRAUKA

INTRODUCTION

Acute myeloid leukemia (AML) is a malignant blood disease characterized by the uncontrolled proliferation and differentiation of malignant myeloblasts in the bone marrow, leading to hematopoietic failure. Due to bone marrow infiltration, patients with impaired granulopoiesis, erythropoiesis, and megakaryopoiesis lack neutrophils, erythrocytes, and platelets, which increases susceptibility to infections, causes anemia symptoms and increases the risk of bleeding. On average, 2-5 new cases of AML per 100,000 inhabitants are diagnosed per year, the average age of the patients is 65-68 years, and men are more often affected. Nowadays, AML genomic analysis has gained great importance due to its prognostic and therapeutical implementation¹. The standard first-line therapy of young and fit AML patients is intensive combination chemotherapy with cytarabine and an anthracycline class drug (daunorubicin or idarubicin). If specific AML genetic lesions (FLT3 gene mutation) are identified, concomitant targeted therapy with FLT3 inhibitors is used. After achieving AML remission, most patients undergo allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (alloSCT) to minimize the risk of AML relapse due to the immunotherapeutic effect of alloSCT against residual leukemic cells. However, due to significant toxicity, this treatment strategy is used only in younger, fit patients. Older, unfit patients with newly diagnosed AML and severe comorbidities are treated with a hypomethylating drug (azacytidine or decitabine) in combination with the BCL-2 antiapoptotic protein inhibitor venetoclax.¹

Despite the improvement of first-line intensive and non-intensive AML therapies, about 40-50% of patients who achieve the first remission suffer an AML relapse or AML is refractory to the first-line treatment. These patients are diagnosed with relapsed or refractory AML (R/R AML).^{1,2,3} R/R AML is classified as a rare disease (Orphan Designation, ORPHA:519). It should be noted that R/R AML is quite heterogeneous and can be divided into clinically important subgroups - patients with primary refractory disease (remission was not achieved after the first-line treatment), relapsed patients (relapse of AML a complete remission), patients with relapsed AML after alloSCT, and also into several genomic groups: R/R AML without targetable genetic aberrations (R/R AML with no targeted therapy options) and R/R AML with targeted genetic aberrations (i.e., R/R AML, having targeted therapy options). For R/R AML without targeted genomic lesions, high-dose chemotherapy is routinely used for remission induction – most commonly FLAG-Ida (a combination of

fludarabine, high-dose cytarabine and idarubicin) - and also CLAG-M (a combination of cladribine, high-dose cytarabine and mitoxantrone), CLIA (a combination of cladribine, high-dose cytarabine, and idarubicin), or MAE (a combination of mitoxantrone, high-dose cytarabine, and etoposide).⁴⁻⁸ These intensive treatments can only be used in fit, younger patients. If *IDH1*, *IDH2* or *FLT3* gene mutations had been identified (R/R AML with targeted genetic lesions), the approved targeted therapy with ivosidenib, olutasidenib (*IDH1* inhibitors), enasidenib (*IDH2* inhibitor), or gilteritinib (*FLT3* inhibitor) can be used.⁹⁻¹¹ Unfortunately, the overall response rate (ORR) of these treatments is only about 40-50% and the vast majority of responders eventually relapse. For these reasons, the prognosis of patients with R/R AML is poor, with a median overall survival usually of only about 6–9 months, and a 2-year overall survival of only about 20%.²⁻⁸

Of note, alloSCT remains the cornerstone consolidation therapy for curing R/R AML. Thus, the main goal of any R/R AML salvage treatment is achieving remission and maintaining the patient's condition suitable for allotransplantation by causing minimal toxicity. This is of the highest importance for unfit R/R AML patients due to the adverse effects of prior antileukemic therapy, and especially for those who have already relapsed after a previous alloSCT and have post-transplant complications that significantly worsen the tolerance of any salvage therapy.²⁻¹¹

The BCL-2 inhibitor Venetoclax (registered by the European Medicines Agency in 2021) in combination with a hypomethylating agent significantly improved the rate of complete remissions and overall survival and is now used as standard-of-care in newly diagnosed AML patients unfit for intensive chemotherapy.¹² Venetoclax is one of the BH3 mimetics that strongly and selectively inhibits the antiapoptotic protein BCL-2. Inhibition of BCL-2 allows proapoptotic proteins (BIM and BAX) to initiate the mechanism of apoptosis in leukemic cells (Figure 1).¹³

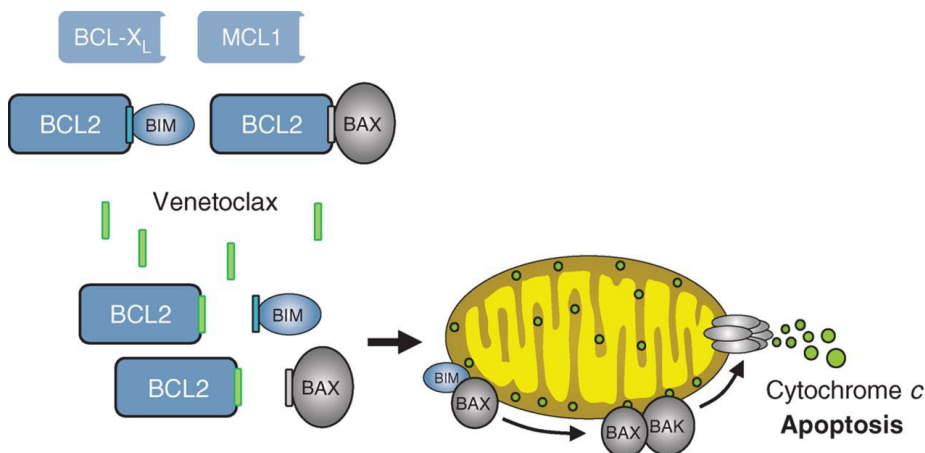


Figure 1. Mechanism of action of Venetoclax

In the phase I-II R/R AML clinical trials, salvage treatment with venetoclax varying overall response rates: 19% (venetoclax monotherapy), 21-66% (venetoclax in combination with azacitidine/decitabine/low-dose cytarabine), and 67-74% (venetoclax in combination with intensive, high-dose chemotherapy FLAG - Ida). Based on these results, the combination of venetoclax with hypomethylating drugs or various doses of chemotherapy is currently used as a salvage treatment for R/R AML in clinical practice.¹⁴⁻²³

Importantly, 1) the optimal backbone to venetoclax in terms of efficacy and toxicity has not yet been determined, 2) there is a lack of data on pharmacodynamically selected backbones to venetoclax that act synergistically on apoptosis induction, 3) the results of venetoclax-based regimens in R/R AML had not been previously compared with conventional high-dose salvage chemotherapy in clinical trials.

At the Hematology, Oncology, and Transfusion Center of Vilnius University Hospital Santaros Klinikos (VULSK HOTC), the treatment of R/R AML with venetoclax-based combination regimens has been applied since 2017 via the early access program (EAP). According to the EAP inclusion criteria, only R/R AML patients who had exhausted all available standard and investigational treatment options could receive venetoclax. Venetoclax is used in combination with low-dose cytarabine and actinomycin D (ACTIVE treatment protocol). The synergistic combination of venetoclax and low-dose cytarabine used in ACTIVE treatment has already been described as a salvage therapy for R/R AML with significant antileukemic efficacy.^{16,17,20,21,22} However, this treatment was ineffective in approximately 50-60% of R/R AML patients, and the remaining patients subsequently relapsed after a short-term remission.^{16,17,20,21,22} One of the main mechanisms of resistance to

venetoclax is the activity of another antiapoptotic protein, MCL-1.^{13,24,25} Actinomycin D is used as a third drug in the ACTIVE regimen for MCL-1 inhibition. The rationale for adding actinomycin D is based on preclinical studies where actinomycin D demonstrated MCL-1 inhibiting properties and acted synergistically with a BCL-2 inhibitor in cancer cells.²⁶ In clinical trials, actinomycin D monotherapy resulted in an ORR of 43% treating *NPM1* mutated R/R AML.^{27,28}

To improve the clinical results of R/R AML therapy, the main goal of the doctoral work is to investigate the efficacy, toxicity, and predictive genetic biomarkers of the triplet combination regimen of venetoclax, low-dose cytarabine and actinomycin D (ACTIVE), as well as to compare the efficacy and toxicity of ACTIVE and conventional intensive chemotherapy.

RELEVANCE OF THE TOPIC

1. The survival prognosis of patients with R/R AML is poor.
 - 1.1 The subgroup of relapsed AML patients after alloSCT has very limited treatment options, not only due to the biological resistance of R/R AML, but also due to the post-transplant complications and poor general condition of the patients.
2. There is a lack of effective and safe treatment methods for R/R AML:
 - 2.1 R/R AML without targeted genetic lesions – standard intensive chemotherapy therapies lack efficacy and are toxic;
 - 2.2 R/R AML with targeted genetic lesions – targeted therapy with FLT3 or IDH1/2 inhibitors have lower toxicity, however, their antileukemic effect is short in almost all cases;
 - 2.3 lack of clinical trial results of the combination of the BCL-2 inhibitor venetoclax with other anti-leukemic drugs in the treatment of R/R AML with or without targetable genomic aberrations;
 - 2.4 there are no clinical trials that compare venetoclax-based salvage therapies with the standard intensive chemotherapy approaches in R/R AML.
3. Identification of predictive genetic biomarkers for R/R AML would allow individualization of R/R AML treatment with venetoclax-based regimens.
4. There is a lack of data on the outcome of R/R AML patients and further treatment options when venetoclax-based therapy is not effective.
5. Research on the mechanisms of R/R AML resistance to venetoclax would allow the formation of hypotheses for clinical research and therapeutic application improving the results of venetoclax-based therapies.

THE AIM AND TASKS OF THE DISSERTATION

The dissertation aims to improve the results of R/R AML treatment by evaluating the efficacy and toxicity of the combination of actinomycin D, low-dose cytarabine, and venetoclax (ACTIVE) and identifying predictive biomarkers.

Dissertation tasks:

1. To assess the efficacy and toxicity of ACTIVE in the treatment of R/R AML and to determine the efficacy-predictive factors of ACTIVE therapy.
2. To compare the efficacy and safety of two different R/R AML treatments - ACTIVE and conventional intensive chemotherapy treating post-alloSCT relapsed AML.
3. To evaluate the efficacy and safety of the combination of *FLT3* inhibitor gilteritinib and ACTIVE in the treatment of R/R AML with a specific biomarker (*FLT3* gene mutation).
4. To evaluate the outcomes of R/R AML patients for whom ACTIVE treatment was ineffective.
5. To evaluate the activity and inhibition of oxidative phosphorylation in R/R AML patient-derived leukemic cells for possible clinical implementation and improvement of antileukemic effects of venetoclax.

METHODS

To evaluate the efficacy and toxicity of Venetoclax-based ACTIVE treatment and to determine predictive biomarkers in the treatment of R/R AML, an observational study "Clinical course and medical care study of patients with treatment-resistant oncological and blood disease" was initiated. The study included patients 18 years of age and older diagnosed with R/R AML who received ACTIVE salvage treatment based on the early access program of venetoclax with the approval of the VULSK Medical Ethics Committee. The 28-day ACTIVE treatment course consisted of venetoclax (600 mg/d on days 1-28 of the course), cytarabine (20 mg/m² on days 1-10 of the course), and actinomycin D (12.5 mcg/kg on days 1-3 of the course or on days 1 and 2 for patients older than 65 years). Patients could receive up to two courses of ACTIVE treatment and then continue maintenance treatment with venetoclax and cytarabine alone. In the study's framework, demographic data of patients, results of clinical (ECOG scale), laboratory, instrumental, molecular, flow cytometry and genetic tests were collected. The efficacy of the salvage ACTIVE treatment was evaluated based on complete remission (CR), complete remission with incomplete hematological recovery (CRi), complete remission with incomplete platelet recovery (CRp), morphological leukemia-free state (MLFS), and ORR (CR + CRi + CRp + MLFS) rates according to the European Leukemia Network (ELN) criteria and recommendations. Minimal residual disease (MRD) was also assessed in responders based on flow cytometry and/or polymerase chain reaction methods. Overall survival, progression-free survival, incidence of adverse events (grade 3-5 non-hematological adverse events based on the Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) 5.0 grading system), early mortality within 30 and 60 days of ACTIVE treatment initiation, and time until recovery of neutrophils and platelets from the start of ACTIVE treatment.

Data were processed and analyzed with MS Excel, MedCalc, SPSS, R statistical programs. Frequency tables, average, median, minimum and maximum values of characteristics were used for descriptive statistics. The Cox regression model, Chi-square, Fisher, Mann-Whitney-U, T tests were used for hypothesis testing, Kaplan-Meier curves were used for survival analysis, Gray's test was used for the analysis of the cumulative incidence of competing events.

During the research on leukemic cells of the patients, there was cooperation with the Department of Molecular Cell Biology of the Institute of Biochemistry of the Vilnius University Life Sciences Center (the project

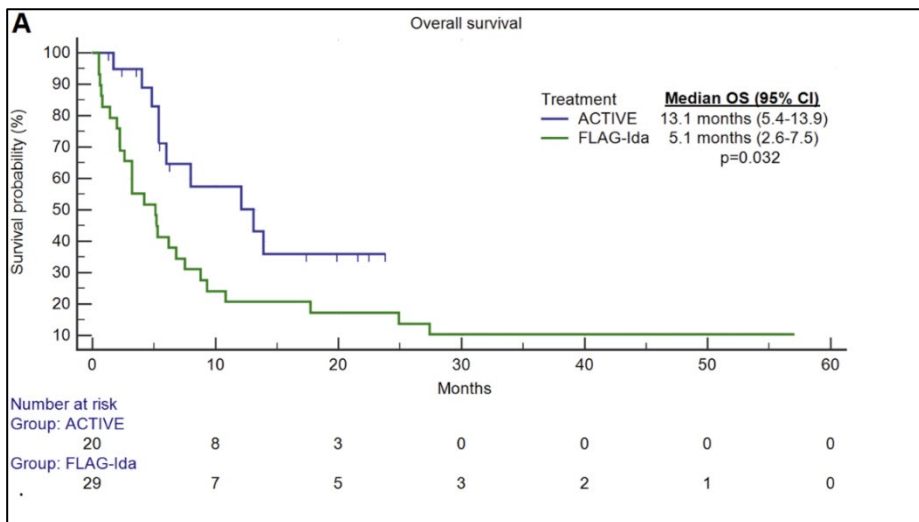
"Development of innovative therapies and prognostic tools for the treatment of chemotherapy-resistant acute myeloid leukemia") and Atrandi Biosciences (the study "Refractory or relapsed acute myeloid leukemia RNA sequencing analysis of single cells from bone marrow samples of patients treated with venetoclax" 2020/11 - 1278 - 760).

RESULTS

The first results of ACTIVE treatment were published in 2021 in the article "Venetoclax – based salvage therapy followed by Venetoclax and DLI maintenance vs. FLAG - Ida for relapsed or refractory acute myeloid leukemia after allogeneic stem cell transplantation". (1) The article addressed an unmet need: even after the most intensive and effective consolidation treatment - alloSCT - about 40-50% of AML patients relapse, and the 2-year overall survival in this subgroup of patients is less than 20%. It is important to note that a proportion of post-alloSCT relapsed patients are unfit for intensive chemotherapy due to complications related to alloSCT, whereas lower-intensity targeted therapies are limited by the specific genomics of leukemia and their short-lasting efficacy. The results of ACTIVE therapy for post-alloSCT relapsed AML were retrospectively compared with intensive chemotherapy FLAG – Ida in VULSK HOTC. 20 R/R AML patients who received ACTIVE treatment and 29 patients treated with FLAG - Ida therapy were included in the analysis. All patients had a confirmed morphologic AML relapse after a previous alloSCT. No statistically significant differences were observed regarding the age, sex, ECOG, ELN 2017 AML genomic risk stratification, number of prior therapy lines, or alloSCT donor type between the two groups. The most important differences between the two groups were related to conditioning regimens and time from alloSCT to relapse. Patients in the FLAG-Ida group significantly more often (45%, 13/29) received myeloablative conditioning (MAC) compared to 15% (3/20) in the ACTIVE group ($p = 0.035$). In the ACTIVE group, the median time from alloSCT to AML relapse was significantly shorter than in the FLAG-Ida group (216 days vs. 380 days, respectively, $p = 0.012$). The CR + CR_p rate in the ACTIVE group was 70% (14/20) and was significantly higher than that in the FLAG - Ida group (34% (10/29), $p = 0.02$). The ORR did not differ between the two arms: 75% (15/20) in the ACTIVE cohort vs 66% (19/29) in the FLAG-Ida group, $p = 0.542$. ACTIVE responders were more likely to continue maintenance therapy with donor lymphocyte infusions (73%, 11/15), whereas FLAG-Ida responders were more likely to receive a second alloSCT (63%, 12/19). The median overall survival was significantly longer in the ACTIVE group than in the FLAG-Ida group (13.1 months vs. 5.1 months, respectively, $p = 0.032$) (Figure 2). The cumulative incidence of AML relapse did not differ between the two groups ($p = 0.673$). Mortality within the first 30 days from initiation of treatment was 17% (5/29) in the FLAG-Ida cohort compared to 0% in the ACTIVE cohort ($p = 0.07$). Treatment-related mortality was

significantly higher in the FLAG-Ida group (34%, 10/29) compared to 0% in the ACTIVE group ($p = 0.003$). We also compared the efficacy of ACTIVE treatment with the published results of other therapies - the ORR observed in the ACTIVE cohort (75%) is higher than that of venetoclax-based therapies (21-67%) for R/R AML, while the median overall survival of patients treated with ACTIVE (13.1 months) is longer than the published results of other non-intensive venetoclax-based therapies (3 - 7.8 months). Another important study finding was related to the significantly lower toxicity of ACTIVE treatment, which resulted in longer overall survival compared to standard intensive FLAG-Ida chemotherapy, as there was no difference in overall response or cumulative AML relapse rates between the two cohorts. According to the analysis of specific biomarkers, the longest remissions after ACTIVE treatment were observed in the subgroup of patients with *IDH1* or *IDH2* gene mutations. Based on this study, in VULSK HOTC, the guidelines for salvage treatment of R/R AML after alloSCT had been changed - ACTIVE treatment is used in these patients instead of FLAG-Ida chemotherapy.

Figure 2. Overall survival of patients treated ACTIVE and FLAG-Ida



In 2021 - 2023, the results of ACTIVE therapy were regularly updated and presented at the annual congresses of the European Hematology Association (EHA) and the American Society of Hematology (ASH). The largest outcome analysis presented at the 2022 ASH Congress included 134 patients, 88 of whom had R/R AML and received ACTIVE salvage therapy. (2) The ORR and cumulative CR + CRi + CRp rates were 74% and 62%, respectively. When evaluating the biomarkers associated with the antileukemic efficacy of ACTIVE therapy, it was found that the highest response rates were observed in patients with *TET2* (100%), *GATA2* (100%), *IDH2* (95%), *NPM1* (90%), *DNMT3A* (90%), *N/KRAS* (89%), *FLT3* (88%) and *IDH1* (86%) gene mutations. The highest ORR and minimal residual disease negativity rates (100% and 73%, respectively) were found in patients with *NPM1* and *IDH1/2* co-mutations. The median overall survival in the R/R AML cohort was 8 months. In univariate Cox regression analysis, *IDH2*, *DNMT3A*, and alloSCT were associated with longer overall survival, whereas ECOG 3–4 overall status score, secondary AML, *PTPN11*, *TP53* gene mutations, and unfavorable karyotype were associated with shorter overall survival. In multivariate Cox regression analysis, *DNMT3A*, *IDH2* mutations, and alloSCT were also significantly associated with longer overall survival, whereas ECOG 3–4, *TP53*, and *PTPN11* gene mutations were associated with worse survival.

Despite the high response rates, most patients relapse after ACTIVE salvage therapy. In 2021, the article "Outcomes of relapsed or refractory acute myeloid leukemia patients failing venetoclax – based salvage therapies" reviewed the outcomes of patients and their further treatment when ACTIVE or venetoclax and low-dose cytarabine (LDArAC + Ven) combination therapy was ineffective. (3) Clinical data analyzing the outcomes of such patients have not been published before. 28 patients with R/R AML were included in the analysis, their median age was 59 years (20–80) and the median ECOG score was 2 (0–4). 64% (18/28) of subjects were stratified to the adverse ELN 2017 risk group, and 39% (11/28) had unfavorable cytogenetic aberrations. Patients had been previously treated with a median of 3 prior therapy lines (2-6) before ACTIVE or LDArAC + Ven salvage treatment, with 57% (16/28) of patients receiving prior alloSCT. More patients (57%, 16/28) were refractory to ACTIVE therapy, whereas 43% (12/28) had relapsed after a previous complete remission induced by ACTIVE. The most common gene mutations were *ASXL1* (21%, 6/28), *FLT3* (18%, 5/28), *RUNX1* (18%, 5/28), *PTPN11* (14%, 4/28), *N(K)RAS* (14%, 4/28), *WT1* (14%, 4/28), and *TP53* (11%, 3/28) (Figure 3). The median overall survival in the entire group of 28 patients was only 3.9 months. Longer median overall survival was observed in the

subgroup of patients who received further treatment post ACTIVE compared to patients who did not receive further treatment (4.3 and 1.3 months, respectively, $p < 0.001$). The findings concluded that the outcome of patients with R/R AML is very poor when venetoclax-based salvage therapy is ineffective, or patients relapse after this treatment. In this prognostically unfavorable group of patients who had not been exposed to actinomycin D, treatment with ACTIVE may be effective despite prior venetoclax use. Meanwhile, no clinical responses were observed after targeted therapy with single agents (*FLT3* inhibitors gilteritinib/sorafenib or *IDH2* inhibitor enasidenib in patients with *FLT3* or *IDH2* gene mutations), most likely due to heavy pretreatment.

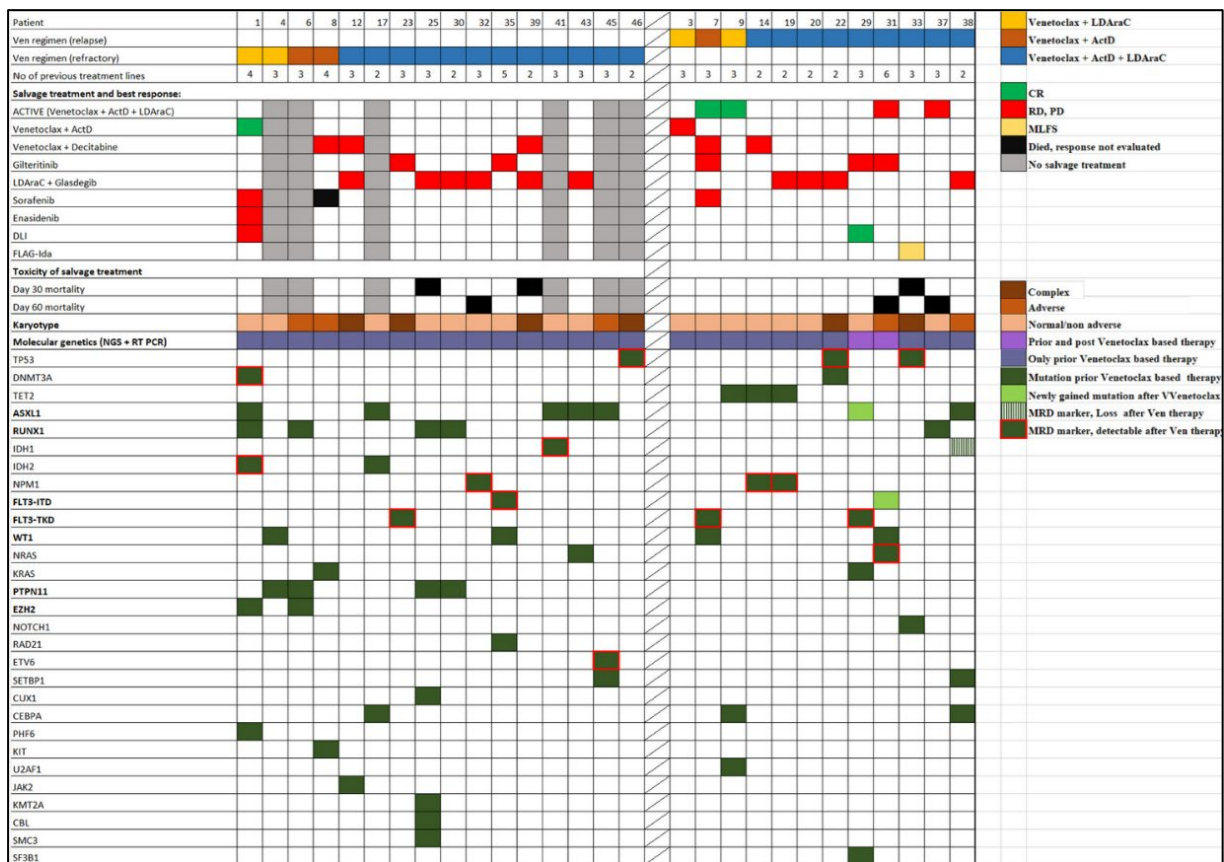


Figure 3. Genomics and treatment outcomes of patients failing ACTIVE or Ven + LDARaC

In 2021, the article "Glasdegib in combination with low-dose Cytarabine for the outpatient treatment of relapsed or refractory acute myeloid leukemia in unfit patients" reviewed the results of SMO inhibitor glasdegib and low-dose cytarabine combination regimen for R/R AML. (4) A separate analysis highlighted 14 R/R AML patients who had previously failed venetoclax-based therapy (ACTIVE or venetoclax plus low-dose cytarabine or venetoclax plus decitabine) and were further treated with the aforementioned glasdegib plus low-dose cytarabine regimen. In this subgroup of patients, only 7% (1/14) achieved complete remission after glasdegib-based therapy, and the median overall survival was only 3.9 months. As in the previously mentioned publication, the findings of this article reiterated the lack of effective and safe salvage treatments when R/R AML patients are refractory or have relapsed after venetoclax-based therapies.

In 2024, the article "Gilteritinib in combination with venetoclax, low-dose cytarabine and actinomycin D for relapsed or refractory *FLT3* mutated acute myeloid leukemia" reviewed the results of ACTIVE salvage treatment, when the second-generation *FLT3* inhibitor gilteritinib was added to ACTIVE (G-ACTIVE treatment protocol) for the treatment of *FLT3* mutated (*FLT3m*) R/R AML. (5) Twenty *FLT3m* R/R AML patients with a median age of 65 years (35–87) and a median ECOG score of 1 (0–2) were included in the analysis. Most patients (75%, 15/20) had *FLT3 - ITD* mutations, 15% (3/20) had *FLT3 - TKD* mutations and 10% (2/10) had both *FLT3 - ITD* and *FLT3 - TKD* co-mutations. Prognostically unfavorable karyotype was found in 15% (3/20) of cases. Before the G-ACTIVE salvage therapy, patients had received a median of 1 (1 - 5) prior therapy line, 55% (11/20) had previously received a *FLT3* inhibitor, 20% (4/20) had received venetoclax-based therapies, and 15% (3/20) relapsed post alloSCT. The ORR after G-ACTIVE treatment was 95% (19/20) and the CR + CRp rate was 75% (15/20) (Figure 4). Undetectable minimal residual disease by flow cytometry was confirmed in 45% (9/20) of cases. Responses were achieved after the first cycle in all cases, and of the 13 patients eligible for alloSCT, 11 (85%) were allotransplanted and resumed gilteritinib as maintenance treatment after alloSCT. The median overall survival for the entire cohort was 32 months, and the median AML relapse-free survival was 12.9 months (Figure 4). The 2-year overall survival rate was 51%. Patients who underwent alloSCT after G-ACTIVE treatment and resumed post-transplant gilteritinib had a 2-year overall survival rate of 80%. Analyzing the adverse events of the G-ACTIVE treatment, febrile neutropenia (50%, 10/20) and pneumonia (15%, 3/20) were mostly reported. Early mortality in the first 30 and 60 days after initiation of G-ACTIVE treatment was 5% (1/20) and 15% (3/20), respectively. The median number of days from

initiation of G-ACTIVE treatment to complete recovery of neutrophils ($> 1 \times 10^9/l$) and platelets ($> 100 \times 10^9/l$) were 24 and 29 days, respectively. The main findings of the article compared the ORR (95%) and CR rate (75%) of G-ACTIVE with previously published efficacy data from other hematology centers (ORR of 74%-75% and CR rate of 37%-40%) for the two-drug combination of venetoclax and gilteritinib or venetoclax, gilteritinib, and azacitidine triplet, respectively. Importantly, time from the start of treatment to the complete recovery of neutrophil platelets was shorter after treatment with G-ACTIVE compared to the combination of venetoclax and gilteritinib or the triplet of venetoclax, gilteritinib, and azacitidine. In summary, the G-ACTIVE four-drug combination is a safe and effective salvage treatment that allows most R/R AML patients with *FLT3* gene mutation to achieve remissions and undergo potentially curative alloSCT.

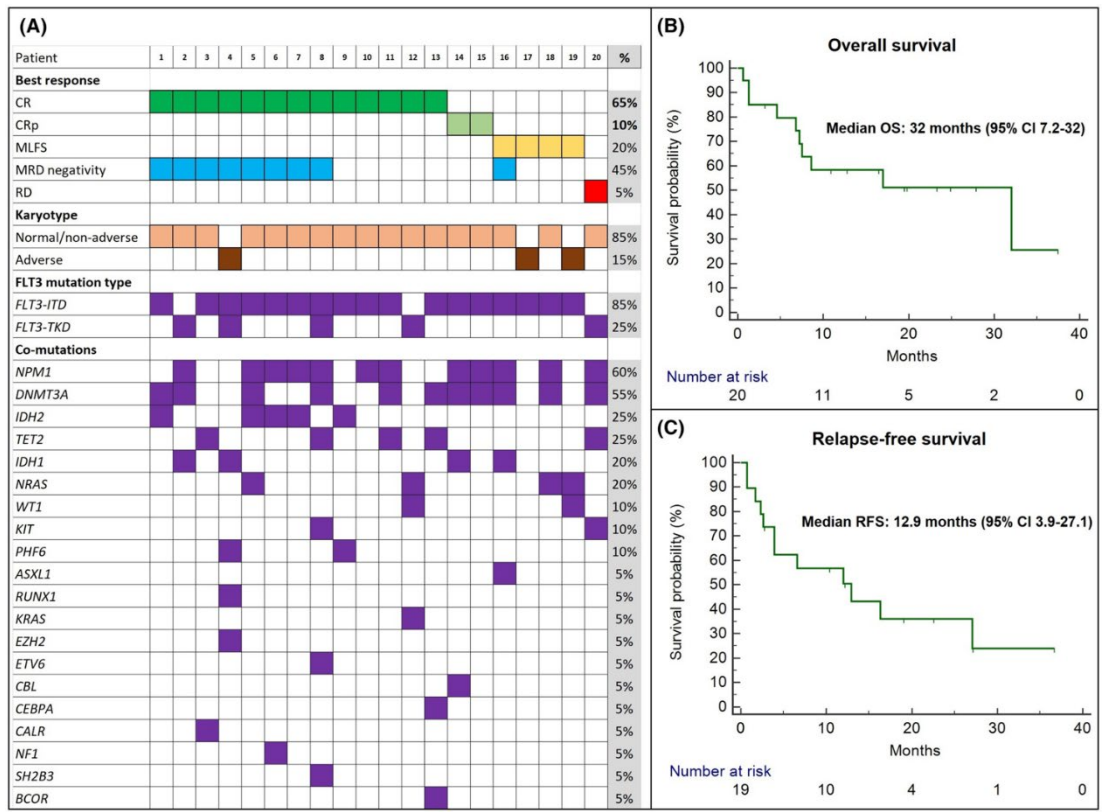


Figure 4. Genomics, responses and survival of patients treated with G-ACTIVE

Preclinical R/R AML biomarker research was carried out in cooperation with the researchers of Department of Molecular Cell Biology of the Institute of Biochemistry of the Vilnius University Life Sciences Center within the framework of the project "Development of Innovative Therapies and Prognostic Tools for the Treatment of Chemotherapy-resistant Acute Myeloid Leukemia"). The results of one of the studies were published in the article "Oxidative phosphorylation inhibition induces anticancerous changes in therapy-resistant – acute myeloid leukemia patient cells". (6) During the study, it was found that the oxidative phosphorylation and glycolysis profile differed in R/R AML patients' peripheral blood mononuclear cells (Figure 5A). In further experiments with the leukemic cells having the highest activity of mitochondrial oxidative phosphorylation before exposure (patients 1-6), it was found that metformin, an inhibitor of the first complex of the oxidative phosphorylation respiratory chain, significantly reduced oxygen consumption in leukemic cells, but did not affect the proliferation of leukemic cells. Meanwhile, the combination of metformin with venetoclax and cytarabine inhibited the proliferation of leukemic cells more than metformin monotherapy, but the effect was still minor compared to the standard control (Figure 5A). Gene expression profiling revealed that the expression of the *PPARGC1A* gene encoding the transcription factor PGC1 α (regulation of the respiratory chain and fatty acid metabolism) was significantly inhibited only by the combination of metformin, cytarabine, and venetoclax (patients 1, 3, 4), while metformin monotherapy had no significant effect on *PPARGC1A* gene expression (Figure 5B). Exposure to metformin increased expression of cell cycle inhibitory genes (*p53*, *p21*, *Rb*) was observed in leukemic cells in which baseline levels of oxidative phosphorylation were the highest (patients 1 and 4), and the effect was greater after combined exposure to metformin, cytarabine, and venetoclax (Figure 5B). Exposure to metformin, cytarabine, and venetoclax also had the highest effect on the reduction of the *MYC* oncogene expression (Figure 5B). Protein analysis by liquid chromatography-mass spectrometry showed that the combined effect of metformin, cytarabine, and venetoclax inhibited the highest number of metabolic pathways compared to metformin alone.

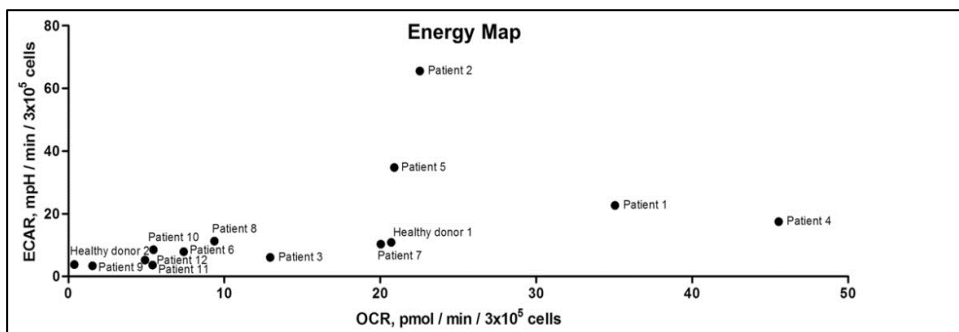


Figure 5A. Oxidative phosphorylation activity

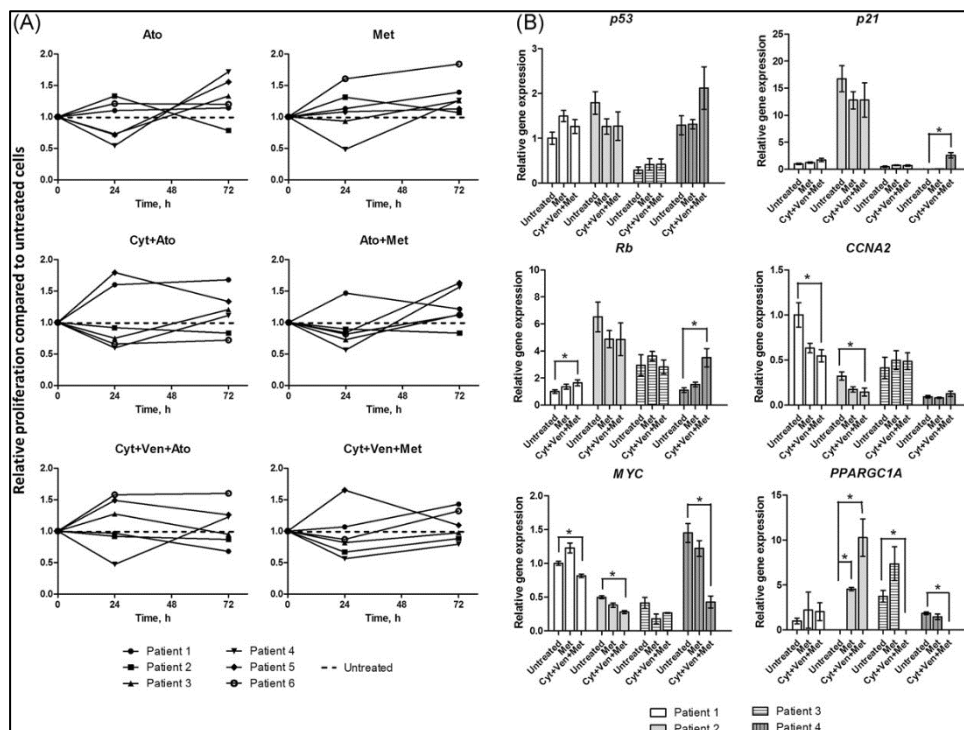


Figure 5B. Leukemic cell proliferation and gene expression

CONCLUSIONS

1. The combination regimen of actinomycin D, low-dose cytarabine, and venetoclax (ACTIVE) demonstrated a cumulative complete remission rate of 62% and an overall response rate of 74% in R/R AML. *IDH2*, *DNMT3A* mutations, and alloSCT were significantly associated with longer overall survival, whereas *TP53*, *PTPN11*, and ECOG 3-4 status were associated with shorter overall survival after ACTIVE therapy.
2. In the treatment of post-alloSCT R/R AML, the anti-leukemic efficacy of ACTIVE was similar to intensive chemotherapy FLAG-Ida, but the overall survival after ACTIVE therapy was longer due to lower toxicity.
3. The prognosis of patients with R/R AML after failing venetoclax-based salvage treatments is very poor regardless of further anti-leukemic treatment, including targeted therapy with *FLT3* or *IDH1/2* inhibitors.
4. The combination of the *FLT3* inhibitor gilteritinib and ACTIVE (G-ACTIVE) has a high overall response rate (95%) and complete remission rate (75%). This enables most patients with *FLT3* mutated R/R AML to undergo alloSCT and to achieve significant improvement in their prognosis - the 2-year overall survival of these patients is 80%.
5. Oxidative phosphorylation activity differs in R/R AML patient-derived leukemic cells. The combination of metformin (inhibitor of the 1st respiratory chain) with cytarabine and venetoclax had a high inhibitory effect on oxygen consumption levels, metabolic regulatory pathways, *PPARGC1A* and *MYC* gene expression, and cell proliferation.

Practical applicability of the results

1. ACTIVE therapy replaced intensive chemotherapy with FLAG-Ida in the treatment of R/R AML in VULSK HOTC.
2. G-ACTIVE combination therapy replaced intensive chemotherapy or gilteritinib monotherapy in the treatment of *FLT3* mutated R/R AML in HOTC.
3. The VULSK HOTC treatment guidelines for R/R AML with prior venetoclax exposure were changed: sequential alloSCT is used in the patients due to the very low efficacy of alternative therapies.
4. The identified predictive biomarkers are used for selecting the optimal R/R AML therapy in VULSK HOTC: sequential alloSCT is offered for patients when the expected efficacy of ACTIVE is low.

5. Further preclinical and clinical studies are planned for possible therapeutic interventions in the oxidative phosphorylation pathways.

PUBLISHED DISSERTATION ARTICLES

1. Zucenka, A., Vaitekenaite, V., Maneikis, K. et al. Venetoclax-based salvage therapy followed by Venetoclax and DLI maintenance vs. FLAG-Ida for relapsed or refractory acute myeloid leukemia after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* (2021). <https://doi.org/10.1038/s41409-021-01416-5>
2. Andrius Žučenka, Lukas Kevličius, Linas Davainis, Birutė Davainienė, Kazimieras Maneikis, Regina Pileckytė, Dominika Vasilevska, Igoris Trociukas, Vilmantė Vaitekėnaitė, Laimonas Griškevičius; Venetoclax-Based Therapies for Acute Myeloid Leukemia or Myelodysplastic Syndrome with Excess Blasts-2 in Clinical Practice Setting. *Blood* 2022; 140 (Supplement 1): 3358–3359. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2022-165459>
3. Zucenka, A., Pileckyte, R., Trociukas, I., Peceliunas, V., Vaitekenaite, V., Maneikis, K., Davainis, L., Zvirblis, T., Stoskus, M., Gineikiene, E., Norvilas, R., Dirse, V., Surauciute, A., Zucenkiene, E. and Griskevicius, L. (2020). Outcomes of Relapsed or Refractory Acute Myeloid Leukemia Patients Failing Venetoclax Based Salvage Therapies. *Eur J Haematol.* <https://doi.org/10.1111/ejh.13527>
4. Zucenka A, Maneikis K, Pugaciute B, Ringeleviciute U, Dapkeviciute A, Davainis L, Daukelaite G, Burzdikaite P, Staras V, Griskevicius L. Glasdegib in combination with low-dose Cytarabine for the outpatient treatment of relapsed or refractory acute myeloid leukemia in unfit patients. *Ann Hematol.* 2021 Mar 4:1–8. <https://doi.org/10.1007/s00277-021-04471-6>
5. Zucenka A, Griskevicius L. Gilteritinib in combination with venetoclax, low-dose cytarabine and actinomycin D for relapsed or refractory FLT3-mutated acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol.* 2024 Jan 30. <https://doi.org/10.1111/bjh.19318>.
6. Vitkevičienė A, Janulis V, Žučenka A, et al. Oxidative phosphorylation inhibition induces anticancerous changes in therapy-resistant–acute myeloid leukemia patient cells. *Molecular Carcinogenesis* 2019; 1-9 <https://doi.org/10.1002/mc.23092>

GYVENIMO APRAŠYMAS

Vardas pavardė	Andrius Žučenka		
Aukštasis mokslas	Magistro diplomas		
Adresas	Hematologijos, onkologijos ir transfuziologijos centras Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos Santariškių g. 2, 08661 Vilnius, Lietuva		
Telefonas	+37068862467		
Faksas	+37052365088		
El. paštas	andrius.zucenka@santa.lt		
Aukštasis mokslas			
Universitetas	Baigimo metai	Įgyta kvalifikacija	
Vilniaus universitetas	2015	Medicinos gydytojas	
Vilniaus universitetas	2019	Gydytojas hematologas	
Licencijos, sertifikatai			
Data	Licencija		
2015	Medicinos gydytojo licencija: MPL-20239		
2019	Gydytojo hematologo licencija: MPL-23743		
Darbo patirtis			
Metai (nuo/iki)	Darbovietė	Pareigos	
2015-2019	Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos	Hematologijos gydytojas rezidentas, medicinos gydytojas	
2017-2021	Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos	Jaunesnysis mokslo darbuotojas	
2019 iki dabar	Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos	Gydytojas hematologas, tyrėjas	
2019 iki dabar	Vilniaus universitetas	Lektorius, jaun. asistentas, doktorantas	
2023 iki dabar	Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos	Imunosupresuotųjų specializuotos pagalbos skyriaus vedėjas	
Kalbos (1- pradmenys, 5 – puikūs įgūdžiai)			
Kalba	Skaitymas	Rašymas	Kalbėjimas
Lietuvių (gimtoji)	5	5	5
Anglų	5	5	5
Rusų	5	4	5
Vokiečių	2	2	2
Mokslinė veikla, pedagoginė veikla			
Universitetas			Metai
Vilniaus universitetas	Lektorius, jaun. asistentas		Nuo 2019
Vilniaus universitetas	Doktorantas		Nuo 2020

Mokslinės domėjimosi sritys:	Ūmios leukemijos, mielodisplastiniai sindromai, kaulų čiulpų transplantologija, ląstelinė terapija, taikinių terapija, CAR-T terapija.
Klinikinių tyrimų patirtis	<ul style="list-style-type: none"> • Pagrindinis tyrėjas: <ul style="list-style-type: none"> • Augment-101, II fazės klinikinis tyrimas, nuo 2023 metų • Stebėsenos tyrimai, nuo 2018 metų • Tyrėjas: <ul style="list-style-type: none"> • II/III fazės klinikiniai tyrimai HOVON 132, HOVON 135, HOVON 150, HOVON 156, EORTC-1301. Nuo 2019 metų • I fazės MP0533-CP101 klinikinis tyrimas. Nuo 2023 metų • Duomenų administratorius: 2015-2019
Pagrindinės publikacijos	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Wang YH, Wei CH, Lin CC, Gurnari C, Awada H, Benajiba L, Daltro de Oliveira R, Soret-Dulphy J, Cassinat B, Zucenka A, Mosquera Orgueira A, Yuan CT, Lee SH, Yao CY, Gurashi K, Hou HA, Batta K, Pérez Encinas MM, Chou WC, Maciejewski JP, Wiseman DH, Kiladjian JJ, Tien HF. Synergistic effect of concurrent high molecular risk mutations and lower JAK2 mutant variant allele frequencies on prognosis in patients with myelofibrosis-insights from a multicenter study. <i>Leukemia</i>. 2024 Oct 4. doi: 10.1038/s41375-024-02422-4. Epub ahead of print. PMID: 39367172. 2. Zucenka A, Griskevicius L. Gilteritinib in combination with venetoclax, low-dose cytarabine and actinomycin D for relapsed or refractory FLT3-mutated acute myeloid leukaemia. <i>Br J Haematol</i>. 2024 Jan 30. doi: 10.1111/bjh.19318. Epub ahead of print. PMID: 38291741. 3. Banceviča L, Žučenka A. A Case of Successful Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in a Severely Underweight Patient with Aplastic Anemia. <i>Case Rep Hematol</i>. 2024 Mar 4;2024:2044820. doi: 10.1155/2024/2044820. PMID: 38469371; PMCID: PMC10927337. 4. Andrius Zucenka, Ghayas C. Issa, Martha Arellano, Sajad Khazal, Nandita Khera, Wendy Stock, Branko Cuglievan, Yu Gu, Huy Van Nguyen, Angela R. Smith, Eytan M. Stein; Revumenib Maintenance Therapy Following Revumenib-Induced Remission and Transplant. <i>Blood</i> 2023; 142 (Supplement 1): 4950. doi: https://doi.org/10.1182/blood-2023-189036 5. Andrius Zucenka, Birutė Davainienė, Vilmantė Vaitekėnaitė, Rūta Čepulytė, Linas Davainis, Guoda Daukėlaitė, Lukas Kevličius, Regina Pileckytė, Igoris Trociukas, Laimonas Griškevičius; Real-World Comparison of Venetoclax-Based Treatment Versus Intensive Chemotherapy As Bridging to Allogeneic Stem Cell Transplantation in 	

MDS-IB2 Patients. *Blood* 2023; 142 (Supplement 1): 6474. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2023-178611>

6. Yu-Hung Wang, Carmelo Gurnari, Chao-Hung Wei, Hussein Awada, Chien-Chin Lin, **Andrius Žučenka**, Chi-Yuan Yao, Kristian Gurashi, Hsin-An Hou, Kiran Batta, Wen-Chien Chou, Jaroslaw P. Maciejewski, Daniel H Wiseman, Hwei-Fang Tien; HMR Mutations Drive Poor Prognosis in Myelofibrosis Patients with Lower JAK2V617F Allele Burden but Not in Those with Higher Allele Burden: Results of a Multicenter Study. *Blood* 2023; 142 (Supplement 1): 627. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2023-179907>
7. Shallis RM, Daver N, Altman JK, Komrokji RS, Pollyea DA, Badar T, Bewersdorf JP, Bhatt VR, de Botton S, de la Fuente Burguera A, Carraway HE, Desai P, Dillon R, Duployez N, El Chaer F, Fathi AT, Freeman SD, Gojo I, Grunwald MR, Jonas BA, Konopleva M, Lin TL, Mannis GN, Mascarenhas J, Michaelis LC, Mims AS, Montesinos P, Pozdnyakova O, Pratz KW, Schuh AC, Sekeres MA, Smith CC, Stahl M, Subklewe M, Uy GL, Voso MT, Walter RB, Wang ES, Zeidner JF, **Žučenka A**, Zeidan AM. Standardising acute myeloid leukaemia classification systems: a perspective from a panel of international experts. *Lancet Haematol.* 2023 Sep;10(9):e767-e776. doi: 10.1016/S2352-3026(23)00159-X. Epub 2023 Aug 9. PMID: 37572683.
8. Birute Davainiene, Ruta Cepulyte, Igoris Trociukas, Regina Pileckyte, Laimonas Griskevicius, **Andrius Žučenka**. AML-299 Azacitidine in Combination With Venetoclax for Myelodysplastic Syndrome (MDS) With Increased Blasts-2 in Clinical Practice Setting. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*. Volume 23, Supplement 1,2023,Page S287, ISSN 2152-2650, [https://doi.org/10.1016/S2152-2650\(23\)01033-9](https://doi.org/10.1016/S2152-2650(23)01033-9).
9. Dominika Vasilevska, Guoda Daukėlaitė, Igoris Trociukas, Regina Pileckytė, Laimonas Griškevičius, **Andrius Žučenka**. AML-519 Sequential Allogeneic Stem Cell Transplantation (alloSCT) After Venetoclax (Ven)-Based Therapy for Relapsed or Refractory Acute Myeloid Leukemia (R/R AML) or Myelodysplastic Syndrome With Excess Blasts 2 (MDS-EB2). *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*, Volume 23, Supplement 1, 2023, Page S309, ISSN 2152-2650, [https://doi.org/10.1016/S2152-2650\(23\)01047-9](https://doi.org/10.1016/S2152-2650(23)01047-9).
10. Guoda Daukėlaitė, Dominika Vasilevska, Vilmantė Vaitekėnaitė, Igoris Trociukas, Regina Pileckytė, Laimonas Griškevičius, **Andrius Žučenka**. AML-377 Venetoclax in Combination With Low-Dose Cytarabine and/or Actinomycin D in Relapsed or Refractory (R/R) Acute Myeloid Leukemia (AML) Patients With IDH1 or IDH2 Mutations. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*, Volume 23, Supplement 1, 2023, Pages S293-S294, ISSN 2152-2650, [https://doi.org/10.1016/S2152-2650\(23\)01047-9](https://doi.org/10.1016/S2152-2650(23)01047-9).
11. **Žučenka A**, Čepulytė R, Davainienė B, Vasilevska D, Pileckyte R, Trociukas I, Pečeliūnas V, Griškevičius L. PB2005: AZACITIDINE IN COMBINATION WITH 14-DAY VENETOCLAX VERSUS AZACITIDINE MONOTHERAPY FOR MYELODYSPLASTIC

SYNDROME WITH INCREASED BLASTS-2 IN CLINICAL PRACTICE SETTING. *Hemasphere*. 2023 Aug 8;7(Suppl):e00135ea. doi: 10.1097/01.HS9.0000974836.00135.ea. PMID: PMC10429938.

12. **Žučenka A**, Vasilevska D, Daukėlaitė G, Trociukas I, Pečeliūnas V, Pileckyte R, Griškevičius L. P575: GILTERITINIB MAINTENANCE AFTER ALLOGENEIC STEM CELL TRANSPLANTATION FOR FLT3 MUTATED ACUTE MYELOID LEUKEMIA. *Hemasphere*. 2023 Aug 8;7(Suppl):e07443aa. doi: 10.1097/01.HS9.0000969204.07443.aa. PMID: PMC10429772.
13. Rubnitz J, C. Issa G, M. Stein E, Shukla N, Stock W, **Žučenka A**, Khazal S, Khera N, Stieglitz E, Rubinstein J, Rosen G, Ghiraldi R, Van Nguyen H, Meneer N, Zwaan CM. P561: REVUMENIB IN PATIENTS WITH ACUTE LEUKEMIAS: COMPASSIONATE USE PROGRAM EXPERIENCE. *Hemasphere*. 2023 Aug 8;7(Suppl):e221187f. doi: 10.1097/01.HS9.0000969148.22118.7f. PMID: PMC10429340.
14. Dapkevičiūtė-Purlienė A, Augustinavičius V, **Žučenka A**. Case report: Relapsed/refractory extranodal natural killer/T-cell lymphoma nasal type with extensive central nervous system involvement. *Pathol Oncol Res*. 2023 Jan 9;28:1610866. doi: 10.3389/pore.2022.1610866.
15. Ghayas C, Issa, Branko Cuglievan, Eytan Stein, Martha L. Arellano, **Andrius Žucenka**, Nandita Khera, Richard M. Stone, Michael J. Thirman, John F. DiPersio, Nicole Karras, Yu Gu, Rebecca G. Bagley, Galit Rosen, David Tamang, Kimberly Dishman, Sushama Scalera, Michael L. Meyers, Kate Madigan, Nicole McNeer, Ibrahim Aldoss; Outcomes after Transplant in Relapsed/Refractory KMT2Ar (MLLr) and mNPM1 (NPM1c) leukemia Patients Achieving Remissions after Menin Inhibition: SNDX-5613 (revumenib) Ph1 Experience. *Blood* 2022; 140 (Supplement 1): 914–916. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2022-164600>
16. **Andrius Žucenka**, Lukas Kevličius, Linas Davainis, Birutė Davainienė, Kazimieras Maneikis, Regina Pileckytė, Dominika Vasilevska, Igoris Trociukas, Vilmantė Vaitekėnaitė, Laimonas Griškevičius; Venetoclax-Based Therapies for Acute Myeloid Leukemia or Myelodysplastic Syndrome with Excess Blasts-2 in Clinical Practice Setting. *Blood* 2022; 140 (Supplement 1): 3358–3359. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2022-165459>
17. **Andrius Žučenka**, Regina Pileckytė, Kazimieras Maneikis, Vilmantė Vaitekėnaitė, Lukas Kevličius, Laimonas Griškevičius. GILTERITINIB IN COMBINATION WITH VENETOCLAX, LOW DOSE CYTARABINE AND ACTINOMYCIN D FOR FLT3 MUTATED RELAPSED OR REFRACTORY ACUTE MYELOID LEUKEMIA. *HemaSphere*: June 2022 - Volume 6 - Issue - p 491-492 doi: 10.1097/01.HS9.0000845256.68897.e2
18. Vitkevičienė A, Skliutė G, **Žučenka A**, Borutinskaitė V, Navakauskienė R. Potential Prognostic Markers for Relapsed/Refractory vs. Responsive

- Acute Myeloid Leukemia. *Cancers (Basel)*. 2022 Jun 1;14(11):2752. doi: 10.3390/cancers14112752.
19. Daraskevicius J, Petraitis V, Davainis L, **Zucenka A**. The Feasibility of Ibrexafungerp for the Treatment of Fungal Infections in Patients with Hematological Malignancies. *Journal of Fungi*. 2022; 8(5):440. <https://doi.org/10.3390/jof8050440>
 20. Kevlicius L, Cepulyte R, Vasilevska D, Griskevicius L, **Zucenka A**. Venetoclax-based regimens in combination with trametinib for RAS-mutated relapsed or refractory myeloid malignancies. *Bone Marrow Transplant*. 2022 Apr 16. doi: 10.1038/s41409-022-01679-6
 21. Borutinskaitė Veronika, **Žučenka Andrius**, Vitkevičienė Aida, Stoškus Mindaugas, Kaupinis Algirdas, Valius Mindaugas, Gineikienė Eglė, Navakauskienė Rūta. Genetic and Epigenetic Signatures in Acute Promyelocytic Leukemia Treatment and Molecular Remission. *Frontiers in Genetics* 2022; 13. doi: 10.3389/fgene.2022.821676
 22. **Andrius Zucenka**, Vilmantė Vaitekėnaitė, Kazimieras Maneikis, Regina Pileckytė, Igoris Trociukas, Valdas Pečeliūnas, Laimonas Griškevičius; Venetoclax, Actinomycin D and Low Dose Cytarabine for Relapsed or Refractory Acute Myeloid Leukemia in Clinical Practice Setting. *Blood* 2021; 138 (Supplement 1): 3422. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2021-144434>
 23. Judickas S, Stasiūnaitis R, **Zucenka A**, et al. Survival of Critically Ill Older Patients with Haematological Malignancies. *Int J Gerontol*. 2022;16(2):128-132. doi: 10.6890/IJGE.202204_16(2).0010
 24. Judickas Š, Stasiūnaitis R, **Žučenka A**, Žvirblis T, Šerpytis M, Šipylaitė J. Outcomes and Risk Factors of Critically Ill Patients with Hematological Malignancy. Prospective Single-Centre Observational Study. *Medicina*. 2021; 57(12):1317. <https://doi.org/10.3390/medicina57121317>
 25. Daraskevicius J, Everatt V, Vaitekėnaitė V, Ringelevičiute U, Maneikis K, **Zucenka A**. Venetoclax in combination with low dose Cytarabine and Actinomycin D for primary refractory acute myeloid leukemia patients failing intensive chemotherapy. *Leuk Res*. 2021 Aug 21;111:106692. doi: 10.1016/j.leukres.2021.106692
 26. **Zucenka, A.**, Vaitekėnaitė, V., Maneikis, K. et al. Venetoclax-based salvage therapy followed by Venetoclax and DLI maintenance vs. FLAG-Ida for relapsed or refractory acute myeloid leukemia after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* (2021). <https://doi.org/10.1038/s41409-021-01416-5>
 27. **Zucenka A**, Maneikis K, Pugaciute B, Ringelevičiute U, Dapkeviciute A, Davainis L, Daukelaite G, Burzdikaite P, Staras V, Griskevicius L. Glasdegib in combination with low-dose Cytarabine for the outpatient treatment of relapsed or refractory acute myeloid leukemia in unfit patients. *Ann Hematol*. 2021 Mar 4:1–8. doi: 10.1007/s00277-021-04471-6

28. **Andrius Zucenka**, Kazimieras Maneikis, Ugne Ringeleviciute, Birute Pugaciute, Linas Davainis, Paulina Burzdikaite, Guoda Daukelaite, Laimonas Griskevicius. GLASDEGIB IN COMBINATION WITH LOW DOSE CYTARABINE FOR ELDERLY ACUTE MYELOID LEUKEMIA PATIENTS FAILING HYPOMETHYLATING AGENTS. EHA Library. Zucenka A. 06/09/21; 325246; EP486
29. Ringeleviciute, U., Cernauskiene, S., **Zucenka, A.**, Pileckyte, R. and Griskevicius, L. (2021), TEMOZOLOMIDE, ETOPOSIDE, DOXIL, DEXAMETHASONE, IBRUTINIB AND RITUXIMAB FOR THE TREATMENT OF RELAPSED OR REFRACTORY CENTRAL NERVOUS SYSTEM LYMPHOMA IN CLINICAL PRACTICE. Hematological Oncology, 39:. https://doi.org/10.1002/hon.34_2881
30. Čepulytė R, **Žučenka A**, Pečeliūnas V. Combination of Dabrafenib and Trametinib for the Treatment of Relapsed and Refractory Multiple Myeloma Harboring BRAF V600E Mutation. Case Rep Hematol. 2020 Oct 15;2020:8894031. doi: 10.1155/2020/8894031.
31. Maneikis K, Ringeleviciute U, Bacevicius J, Dieninyte-Misiune E, Burokaite E, Kazbaraite G, Monika Janusaite M, Dapkeviciute A, **Zucenka A**, Peceliunas V, Kryzauskaite L, Kasiulevicius V, Ringaitiene D, Zablockiene B, Zvirblis T, Marinskis G, Jancoriene L, Griskevicius L. Mitigating arrhythmia risk in Hydroxychloroquine and Azithromycin treated COVID-19 patients using arrhythmia risk management plan. Int J Cardiol Heart Vasc. 2020 Dec 11;32:100685. doi: 10.1016/j.ijcha.2020.100685
32. **Zucenka, A.**, Pileckyte, R., Trociukas, I., Peceliunas, V., Vaitekenaite, V., Maneikis, K., Davainis, L., Zvirblis, T., Stoskus, M., Gineikiene, E., Norvilas, R., Dirse, V., Surauciute, A., Zucenkiene, E. and Griskevicius, L. (2020), Outcomes of Relapsed or Refractory Acute Myeloid Leukemia Patients Failing Venetoclax Based Salvage Therapies. Eur J Haematol. doi:10.1111/ejh.13527
33. **Andrius Zucenka**, Regina Pileckyte, Igoris Trociukas, Valdas Peceliunas, Vilmante Vaitekenaite, Orinta Mickeviciute, Laimonas Griskevicius. Venetoclax in combination with low dose cytarabine, actinomycin d and donor lymphocyte infusions for early relapse of acute myeloid leukemia after allogeneic stem cell transplantation. EHA Library. 06/12/20; 294508; EP590
34. **Zucenka, A.** & Pileckyte, R. & Vaitekenaite, V. & Surauciute, A. & Griskevicius, L. (2019). Venetoclax in combination with low dose cytarabine and/or actinomycin d in real life relapsed/refractory acute myeloid leukemia patients: PF273. HemaSphere. 3. 88.
35. **Andrius Zucenka**, Valdas Peceliunas, Emile Maciutaite, Justina Chaleckaite, Ruta Jakimaviciute, Laimonas Griskevicius. Etoposide + Granulocyte Colony-Stimulating Factor and Optional Plerixafor in Patients Who Failed Chemomobilization with or without Plerixafor. Biology of Blood and Marrow Transplantation, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2019.02.026>

36. Vitkevičienė A, Janulis V, **Žučėnka A**, et al. Oxidative phosphorylation inhibition induces anticancerous changes in therapy-resistant acute myeloid leukemia patient cells. *Molecular Carcinogenesis* 2019; 1-9 <https://doi.org/10.1002/mc.23092>
37. Aida Vitkevičienė, Giedrė Skiauterytė, **Andrius Žučėnka**, Mindaugas Stoškus, Eglė Gineikienė, Veronika Borutinskaitė, Laimonas Griškevičius, Rūta Navakauskienė. “HDAC and HMT Inhibitors in Combination with Conventional Therapy: A Novel Treatment Option for Acute Promyelocytic Leukemia,” *Journal of Oncology*, vol. 2019, Article ID 6179573, 11 pages, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/6179573>

Pristatyti pranešimai

EHA 2024: Gilteritinib plus venetoclax, low-dose cytarabine, and actinomycin D as first salvage therapy for relapsed or refractory FLT3 mutated acute myeloid leukemia

12th Annual Acute Leukemia Meeting, MD Anderson, Madrid, Spain. 2023: FLT3 Inhibitor Maintenance

EHA 2023: Gilteritinib maintenance after allogeneic stem cell transplantation for FLT3 mutated acute myeloid leukemia

ASH 2023: Revumenib Maintenance Therapy Following Revumenib-Induced Remission and Transplant

EHA 2022: Gilteritinib in combination with venetoclax, low dose cytarabine and actinomycin d for FLT3 mutated relapsed or refractory acute myeloid leukemia

ASH 2022: Venetoclax-Based Therapies for Acute Myeloid Leukemia or Myelodysplastic Syndrome with Excess Blasts-2 in Clinical Practice Setting

EHA 2021: Glasdegib in combination with low dose cytarabine for elderly acute myeloid leukemia patients failing hypomethylating agents

ASH 2021: Venetoclax, Actinomycin D and Low Dose Cytarabine for Relapsed or Refractory Acute Myeloid Leukemia in Clinical Practice Setting

EHA 2020: Venetoclax in combination with low dose cytarabine, actinomycin d and donor lymphocyte infusions for early relapse of acute myeloid leukemia after allogeneic stem cell transplantation

EHA 2019: Venetoclax in combination with low dose cytarabine, actinomycin d and donor lymphocyte infusions for early relapse of acute myeloid leukemia after allogeneic stem cell transplantation.

Baltic Conference of Hematology 2018: First results of Venetoclax in combination with low dose Cytarabine or Actinomycin D in relapsed/refractory acute leukemia patients.

Baltic Conference of Hematology 2021: Targeted therapy in relapsed/refractory acute myeloid leukemia

Baltic Conference of Hematology 2023: AML Management in Vilnius

Geros klinikinės praktikos mokymai		
Data	Trukmė	Sertifikatą išdavė
2019-07-04	8 val.	Biomapas
Organizacijos		
Amerikos hematologijos asociacijos (ASH) narys Hematologinės onkologijos (SOHO) draugijos narys ir Lietuvos ambasadorius Europos hematologų asociacijos (EHA) narys Europos vėžio tyrimų ir gydymo organizacijos (EORTC) leukemijų grupės valdymo komiteto narys Lietuvos hematologų draugijos valdybos narys		

PADĖKA

- *Darbo vadovui prof. dr. Laimonui Griškevičiui.*
- *Recenzentams: doc. dr. Valdui Pečeliūnui, prof. dr. Rolandui Gerbutavičiui, dr. Vaidui Dirsei.*
- *Administratorei Justei Petrėnei.*
- *Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Hematologijos, onkologijos ir transfuziologijos centro komandai.*
- *Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro Biochemijos instituto Ląstelės molekulinės biologijos skyriaus komandai.*
- *Pacientams ir jų artimiesiems.*
- *Šeimai, ypač žmonai Emilei ir sūneliui Margiriui, bei draugams.*
- *a.a. seneliui Michailui.*

LITERATŪROS SĄRAŠAS / REFERENCES

1. Döhner H, Wei AH, Appelbaum FR, Craddock C, DiNardo CD, Dombret H, Ebert BL, Fenaux P, Godley LA, Hasserjian RP, Larson RA, Levine RL, Miyazaki Y, Niederwieser D, Ossenkoppele G, Röllig C, Sierra J, Stein EM, Tallman MS, Tien HF, Wang J, Wierzbowska A, Löwenberg B. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. *Blood*. 2022 Sep 22;140(12):1345-1377.
2. Schmid C, de Wreede LC, van Biezen A, Finke J, Ehninger G, Ganser A, et al. Outcome after relapse of myelodysplastic syndrome and secondary acute myeloid leukemia following allogeneic stem cell transplantation: a retrospective registry analysis on 698 patients by the Chronic Malignancies Working Party of the European Society of Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica*. 2018;103:237–45.
3. Christopeit M, Kuss O, Finke J, Bacher U, Beelen DW, Bornhäuser M, et al. Second allograft for hematologic relapse of acute leukemia after first allogeneic stem-cell transplantation from related and unrelated donors: the role of donor change. *J Clin Oncol*. 2013;31:3259–71.
4. Barrett AJ, Battiwalla M. Relapse after allogeneic stem cell transplantation. *Expert Rev Hematol*. 2010;3:429–41.
5. Levine JE, Braun T, Penza SL, Beatty P, Cornetta K, Martino R, et al. Prospective trial of chemotherapy and donor leukocyte infusions for relapse of advanced myeloid malignancies after allogeneic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol*. 2002;20:405–12.
6. Martin MG, Augustin KM, Uy GL, Welch JS, Hladnik L, Goyal S, et al. Salvage therapy for acute myeloid leukemia with Fludarabine, Cytarabine, and Idarubicin with or without gemtuzumab ozogamicin and with concurrent or sequential G-CSF. *Am J Hematol*. 2009;84:733–7.
7. Sauer T, Silling G, Groth C, Rosenow F, Krug U, Görlich D, et al. Treatment strategies in patients with AML or high-risk myelodysplastic syndrome relapsed after Allo-SCT. *Bone Marrow Transpl*. 2015;50:485–92.
8. Bergua JM, Montesinos P, Martínez-Cuadrón D, Fernández-Abellán P, Serrano J, Sayas MJ, et al. A prognostic model for survival after salvage treatment with FLAG-Ida +/- gemtuzumab-ozogamicine in adult patients with refractory/relapsed acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2016;174:700–10.

9. Perl AE, Martinelli G, Cortes JE, Neubauer A, Berman E, Paolini S, et al. Gilteritinib or chemotherapy for relapsed or refractory FLT3-mutated AML. *N Engl J Med*. 2019;381:1728–40.
10. DiNardo CD, Stein EM, de Botton S, Roboz GJ, Altman JK, Mims AS, et al. Durable remissions with ivosidenib in IDH1-mutated relapsed or refractory AML. *N Engl J Med*. 2018;378:2386–98.
11. Stein EM, DiNardo CD, Pollyea DA, Fathi AT, Roboz GJ, Altman JK, et al. Enasidenib in mutant IDH2 relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Blood*. 2017;130:722–31.
12. DiNardo CD, Jonas BA, Pullarkat V, Thirman MJ, Garcia JS, Wei AH, Konopleva M, Döhner H, Letai A, Fenaux P, Koller E, Havelange V, Leber B, Esteve J, Wang J, Pejsa V, Hájek R, Porkka K, Illés Á, Lavie D, Lemoli RM, Yamamoto K, Yoon SS, Jang JH, Yeh SP, Turgut M, Hong WJ, Zhou Y, Potluri J, Pratz KW. Azacitidine and Venetoclax in Previously Untreated Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2020 Aug 13;383(7):617-629
13. Konopleva M, Pollyea DA, Potluri J, Chyla B, Hogdal L, Busman T, McKeegan E, Salem AH, Zhu M, Ricker JL, Blum W, DiNardo CD, Kadia T, Dunbar M, Kirby R, Falotico N, Levenson J, Humerickhouse R, Mabry M, Stone R, Kantarjian H, Letai A. Efficacy and Biological Correlates of Response in a Phase II Study of Venetoclax Monotherapy in Patients with Acute Myelogenous Leukemia. *Cancer Discov*. 2016 Oct;6(10):1106-1117
14. Xu H, Krystal GW. Actinomycin D decreases Mcl-1 expression and acts synergistically with ABT-737 against small cell lung cancer cell lines. *Clin Cancer Res*. 2010;16:4392–400.
15. Maiti A, DiNardo CD, Rausch CR, Cortes JE, Pemmaraju N, Daver NG, et al. Ten-day decitabine with Venetoclax (DEC10-VEN) in acute myeloid leukemia: updated results of a Phase II Trial. *Blood*. 2019;134:2637. Supplement_1
16. DiNardo CD, Rausch CR, Benton C, Kadia T, Jain N, Pemmaraju N, et al. Clinical experience with the BCL2-inhibitor Venetoclax in combination therapy for relapsed and refractory acute myeloid leukemia and related myeloid malignancies. *Am J Hematol*. 2018;93:401–7.
17. Goldberg AD, Horvat TZ, Hsu M, Devlin SM, Cuello BM, Daley RJ. et al. Venetoclax combined with either a hypomethylating agent or low-dose Cytarabine shows activity in relapsed and refractory myeloid malignancies. *Blood*. 2017;130 Supplement 1:1353.
18. Aldoss I, Yang D, Aribi A, Ali H, Sandhu K, Al Malki MM, et al. Efficacy of the combination of Venetoclax and hypomethylating agents in

- relapsed/refractory acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2018;103:e404–7.
19. Gaut D, Burkenroad A, Duong T, Feammelli J, Sasine J, Schiller G. Venetoclax combination therapy in relapsed/refractory acute myeloid leukemia: a single institution experience. *Leuk Res*. 2020;90:106314.
 20. Ganzel C, Ram R, Gural A, Wolach O, Gino-Moor S, Vainstein V, et al. Venetoclax is safe and efficacious in relapsed/refractory AML. *Leuk Lymphoma*. 2020;61:2221–5.
 21. Asghari H. Outcomes of patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia receiving hypomethylating agent and Venetoclax. *Blood* (2019) 134 (Supplement_1): 1357.
 22. Bewersdorf JP, Giri S, Wang R, Williams RT, Tallman MS, Zeidan AM, et al. Venetoclax as monotherapy and in combination with hypomethylating agents or low dose Cytarabine in relapsed and treatment refractory acute myeloid leukemia: a systematic review and meta-analysis. *Haematologica*. 2020;105:2659–63.
 23. DiNardo CD, Lachowicz CA, Takahashi K, Loghavi S, Xiao L, Kadia T, et al. Venetoclax combined with FLAG-IDA induction and consolidation in newly diagnosed and relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2021;JCO2003736.
 24. Tahir SK, Smith ML, Hessler P, Rapp LR, Idler KB, Park CH, et al. Potential mechanisms of resistance to Venetoclax and strategies to circumvent it. *BMC Cancer*. 2017;17:399.
 25. Oppermann S, Ylanko J, Shi Y, Hariharan S, Oakes CC, Brauer PM, et al. High-content screening identifies kinase inhibitors that overcome Venetoclax resistance in activated CLL cells. *Blood*. 2016;128:934–47.
 26. Luedtke DA, Niu X, Pan Y, Zhao J, Liu S, Edwards H, et al. Inhibition of Mcl-1 enhances cell death induced by the Bcl-2-selective inhibitor ABT-199 in acute myeloid leukemia cells. *Signal Transduct Target Ther*. 2017;2:17012.
 27. Falini B, Brunetti L, Martelli MP. Dactinomycin in NPM1-mutated acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2015;373:1180–2.
 28. Beziat G, Tavitian S, Bertoli S, Huguet F, Largeaud L, Luquet I, et al. Dactinomycin in acute myeloid leukemia with NPM1 mutations. *Eur J Haematol*. 2020;105:302–7.
 29. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 5.0. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. 2017