

# Agentes Hipometilantes

Campestri, Reinaldo<sup>1</sup> y Iastrebnner, C. Marcelo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sanatorio Trinidad Mitre/ Jefe de hematología Sanatorio Anchorena.  
rcampestri@infovia.com.ar

<sup>2</sup>Centro Médico San Luis / Jefe de hematología Sagrado Corazón, OSECAC.  
miastrebnner@gmail.com



ACTUALIZACIÓN

Fecha de recepción: 05-12-2010  
Fecha de aprobación: 15-12-2010

HEMATOLOGIA, Vol. 14 N° 3: 135-140  
Septiembre-Diciembre, 2010

## INTRODUCCIÓN

Dentro de los cambios fisiopatogénicos más relevantes de los Síndromes Mielodisplásicos (SMD) figuran los epigenéticos. La hipermetilación en algunas zonas del genoma denominadas islas "CpG" explica los cambios transcripcionales y la haploinsuficiencia genómica. Los genes supresores tumorales (GST) se encuentran frecuentemente hipermetilados en los SMD, siendo este, la hipermetilación, un proceso reversible y modificable con medicación. Existen 2 drogas aprobadas por la FDA (Food and Drug Administration), la Azacitidina (5-azacitidina, AZA) y la decitabina (5-aza-2'-deoxicitidina, DAC) que se incorporan al ADN reemplazando a la citosina y formando uniones irreversibles con la enzima ADN-Metil-Transferasa (DNMT). Esta última enzima se agotará y, como consecuencia, el ADN recientemente sintetizado estará menos metilado y se re-expresará<sup>1</sup>.

## AZACITIDINA (VIDAZA®)<sup>2, 3</sup>

### Indicación

La azacitidina (AZA) encuentra su indicación (nivel de evidencia Ia) en aquellos pacientes con SMD de riesgo Alto e INT-2<sup>4, 5</sup>.

### Literatura

Los 2 ensayos clínicos en fase III randomizados, multicéntricos en INT-2/alto riesgo (AR) que demostraron los beneficios clínicos más significativos fueron el CALGB 9221 y el AZA-001 (Tabla 1). El primer estudio, el CALGB 9221 (N=191), logró retrasar el tiempo de progresión a LMA (21 vs. 12 meses para el grupo de mejor tratamiento de soporte; p=0,007) y el ensayo AZA-001 (N=235) demostró sobrevida prolongada estadísticamente significativa (24,5 vs. 15 meses; p=0,0001)<sup>3, 4, 6</sup>.

TABLA 1

Estudios randomizados Fase III	N	RC+RP	Puntos Finales Evaluados
CALGB 9221	191	16%	Tiempo a la Progresión a Leucemia o Muerte 21 vs. 12 meses (p: 0,007)
AZA-001	358	29%	Sobrevida Global 24 vs. 15 meses (p0,0001)

En el estudio CALGB 9221 se incluyeron 46% de pacientes con INT-2/AR con una edad media de 68 años; 60% de los pacientes tratados con AZA respondieron versus 5% de aquellos manejados con mejor cuidado de soporte (MCS). La calidad de vida de los pacientes bajo tratamiento con AZA fue superior al grupo comparativo. Si los pacientes de la rama del mejor tratamiento de soporte progresaban después de 6 meses, se los cruzaban al brazo con AZA y, en estos pacientes, se observaron menores respuestas que los que recibían AZA de inicio. Ya en ese estudio en el sub-análisis de los pacientes mayores de 65 años con AREB o AREB-T se demostró una diferencia estadísticamente significativa en la sobrevida global con respecto a los que recibían MCS, aún teniendo en cuenta el cruce del tratamiento (crossover) del estudio. Junto a otros estudios<sup>6</sup> se demostró que AZA no incrementaba la tasa de infección ni de sangrado comparada al grupo control. La media de ciclos recibidos para obtener la primera respuesta en los ensayos clínicos fue 3 (R 1-17) en el estudio CALB 8421, 8921 y 9221 y, entre los pacientes respondedores, como se mencionó previamente, el 90% de ellos mostraba respuesta dentro de los primeros 6 ciclos. Una vez alcanzada la primera evidencia de actividad de la droga, la mejor respuesta se observó generalmente 2 ciclos después<sup>4,6</sup>.

En el estudio AZA-001<sup>4</sup> el 87% de los pacientes eran INT-2/AR con una edad mediana de 69 años. AZA demostró diferencia significativa en mejorar la mediana de sobrevida global (24,5 vs. 15 meses,  $p=0,0001$ ) en comparación a cuidado convencional (quimioterapia intensiva, bajas dosis de Ara C o soporte transfusional) e incrementando al doble la sobrevida global a dos años ( $p=0,0001$ ). El requerimiento transfusional, la frecuencia de infecciones y de transformación a LMA fue también estadísticamente favorable para AZA. Es de destacar que la ventaja en la sobrevida fue independiente de la edad del paciente (se incluyeron a mayores de 75 años), porcentaje de blastos (incluidos los subtipos AREB-T, ahora LMA por la OMS) o los distintos cariotipos. No hubo diferencias significativas en la sobrevida cuando se utilizó quimioterapia intensiva debido al bajo número de pacientes.

### Recomendaciones<sup>7</sup>

Un panel de expertos liderado por Fenaux, P y col. obtuvo recomendaciones dignas de mención:

- ¿Cuáles pacientes con INT-2/AR deben recibir azacitidina? Respuesta: Todos los pacientes previa clasificación según IPSS.
- Cuando el cariotipo no está disponible y la MO muestra >10% de blastos debe ser considerado al menos como INT-2 y ser tratado.

- Azacitidina debe ser considerada en primera línea en vez de citarabina a bajas dosis para la mayoría de pacientes con INT-2/AR que no sean elegibles para Trasplante de Médula Ósea (TMO). Esta elección es independiente de la edad, cariotipo, clasificación FAB u OMS y de las co-morbilidades asociadas. No hay consenso entre AZA y Quimioterapia (Qm) en altas dosis para pacientes no elegibles para TMO pero, potenciales candidatos a Qm intensa. La Qm intensa está asociada con altas respuestas en pacientes con cariotipo normal aunque duren corto tiempo (12-15 meses) pero, se ha asociado a mala calidad de vida.
- Se recomienda AZA (versus Qm) en pacientes con cariotipo desfavorable.
- Pacientes >75 años se beneficiarían con AZA porque la mielosupresión es menor que con bajas dosis de ara C.
- En los raros casos de INT-2/AR sin citopenias limitantes, se desconoce si AZA debería comenzarse inmediatamente después del diagnóstico o esperar a que el paciente se haga sintomático o profundice su citopenia.

### Dosis<sup>7</sup>

La dosis de AZA es de 75 mg/m<sup>2</sup> día por 7 días consecutivos cada 4 semanas según los datos provenientes de trabajos en fase III publicados hasta la fecha. Esta dosis ha demostrado ventajas en la sobrevida de pacientes con INT-2/AR. Un estudio de fase II<sup>27</sup> que comparó diferentes esquemas entre sí, sin utilizar el esquema aprobado, no demostró evidencia suficiente para recomendar otras dosis alternativas. La vía de administración evaluada fue la subcutánea, pero puede usarse alternativamente la vía endovenosa.

### Número de ciclos<sup>7</sup>

Varios ciclos de AZA son requeridos para obtener respuesta por las características de su mecanismo de acción dependiente de la fase S del ciclo celular. En el estudio AZA 001, el 81% de los respondedores lograron una primera respuesta en el ciclo 6 y el 90% en el ciclo 9, por lo tanto, el paciente debe recibir al menos 6 ciclos antes de considerarse otra variable terapéutica.

### Duración del tratamiento<sup>7</sup>

En el estudio AZA 001 la duración del tratamiento puede haber contribuido a demostrar el beneficio en la sobrevida, observado no solo en pacientes que lograban RC, sino también en aquellos con RP o

mejoría hematológica, en especial, con independencia transfusional de glóbulos rojos (GR) y menos de plaquetas según criterios del International Working Group (IWG) 2000. Un estudio de Silverman y colaboradores sugiere que puede requerirse hasta 18 ciclos para lograr una respuesta máxima<sup>9</sup>. Así, se debería mantener el tratamiento con AZA en pacientes que hayan logrado RC, RP o mejoría hematológica, en especial en pacientes con factores de mal pronóstico como -7, cariotipo complejo, exceso de blastos o marcada citopenia.

### Evaluación de la respuesta<sup>7</sup>

Deben realizarse recuentos hematológicos necesarios para evaluar respuesta y toxicidad (semanalmente al principio y luego cada 15 días). Se recomienda que la MO sea evaluada por punción después del cuarto o sexto ciclo o sospecha de progresión de enfermedad. En caso de hipocelularidad o fibrosis se realizará biopsia.

### Manejo de efectos hematológicos adversos<sup>7</sup>

Las citopenias son frecuentes y pueden exacerbarse en los primeros 2 o 3 ciclos como también las complicaciones infecciosas (lo que no afectaría la tasa de respuestas o sobrevida con un buen monitoreo) por lo que es aconsejable advertir al paciente de esta posibilidad. Las modificaciones de dosis deben ajustarse a lo indicado en el inserto del producto pero, teniendo en cuenta que las disminuciones de la dosis o el retraso en los ciclos se pueden asociar a menor efectividad. En caso de severa pancitopenia, de más del 20% de blastos o de cariotipo complejo, las modificaciones en las dosis no son recomendadas aún con citopenias profundas salvo complicaciones que hagan peligrar la vida del paciente (por ej. sepsis). El soporte transfusional es el habitual para pacientes bajo tratamiento quimioterápico. El uso de G-CSF es aconsejable en neutropenia febril o como profilaxis después de un episodio infeccioso severo, si bien faltan evidencias para esto. No hay suficiente evidencia para el uso profiláctico de quinolonas o antifúngicos en los neutropénicos, puede quedar a criterio del centro tratante.

### Manejo de efectos adversos no hematológicos<sup>7</sup>

Para las náuseas, vómitos y constipación, la conducta es la habitual a los pacientes sometidos a Qm. Para las reacciones en el sitio de inyección se recomienda no purgar el aire de la jeringa previa a la inyección, realizar un masaje suave, alejar cada inyección más de 2 cm., no superar los 4cc por administración y no aplicar en zonas previamente

irritadas. En caso de reacción persistente se sugiere cremas locales con corticoides o aceite de prímula local. Pacientes con fallo renal o hepático: han sido manejados con disminución de la dosis (aproximadamente un tercio) pero no hay recomendaciones específicas demostradas.

## DECITABINA (DACOGEN®)

### Indicación y literatura

La decitabina es un agente hipometilante que se administra por vía endovenosa, tiene similar indicaciones y tasa de respuesta a la AZA, con respuesta citogenética del 31%<sup>10,11</sup>. En base a diferentes estudios de fase II y III con diferentes esquemas y dosis, Kantarjian y colaboradores<sup>12,13</sup> trataron pacientes de alto riesgo a una dosis de 20 mg/m<sup>2</sup>/d por 5 días cada 4 semanas por vía IV obteniendo la tasa de respuesta global más alta reportada. Se necesitaron más de dos cursos para alcanzar algún tipo de respuesta. Desde el punto de vista histórico, la tasa de RC reportada en la aprobación por la FDA en USA (2006) fue de 9% pero, con el uso de nuevos esquemas las RC alcanzaron el 34%, mientras que la tasa global de mejoría hematológica varió de 30 a 73%. Un reporte Argentino-Coreano<sup>14</sup> comunicó una tasa de respuesta del 35% y de enfermedad estable o mejor del 50%.

### Farmacología

Desde el punto de vista farmacológico, la decitabina tendría 2 modelos de mecanismo de acción que son dependientes de la dosis<sup>15</sup>: a alta dosis induce daño del ADN, arresto de la síntesis y citotoxicidad y, a baja dosis modula la expresión de genes por mecanismos epigenéticos, inhibiendo la DNMT y reactivando los GST. De esta manera, activa las funciones de diferenciación, proliferación y apoptosis de células neoplásicas.

El diseño del protocolo D-0007 establecía que los pacientes suspendiesen el tratamiento después de 2 ciclos de mantenimiento. Sólo el 26% de los pacientes recibió >6 ciclos. En el protocolo EORCT 06011 el diseño también establecía que se suspendiese el tratamiento después de 2 ciclos de mantenimiento. La población seleccionada tenía 46% de alteraciones citogenéticas de mal pronóstico y 20% de los pacientes habían recibido tratamientos previos. Este protocolo mostró pobres resultados en cuanto a la RC y apenas una mejoría significativa en la sobrevida libre de enfermedad (6,6 vs 3 meses de los que recibieron tratamiento de soporte). El estudio 1D03-0180 comparó 3 esquemas (todos con 100 mg/m<sup>2</sup>/ciclo) 5 días intravenoso vs. 5 días subcutáneo vs. 10 días intravenoso. El primer esquema (5 días IV) dio los

TABLA 2.- Estudios clínicos con Decitabine\*

Variables	D-0007 <sup>16</sup> Kantarjian et al.	1D03-0180 <sup>17</sup> Kantarjian et al.	D-020, ADOPT <sup>18</sup> Steensma et al.	EORTC <sup>19</sup> Wijerman et al.
Fase	3	2	2	3
Dosis/ciclo	135mg/m <sup>2</sup>	100mg/m <sup>2</sup>	100mg/m <sup>2</sup>	135mg/m <sup>2</sup>
N	89	95	99	180
INT-2 y Alto (%)	69	66	46	93
SMD 1 <sup>o</sup>	17%	68	89	NR
N° ciclos, media	3	>7	5	4
RC (%)	9	34	17	13
RC+RP+MH (%)	30	73	43	34
Indep. Transf. (%)	23	NR	33	NR
S/V global, mediana, meses	14	19	19,4	10,1

\*SMD: Síndrome mielodisplásico; RC: Respuesta completa; RP: Remisión Parcial; MH: Mejoría Hematológica; S/V sobrevida.

mejores resultados. El protocolo ADOPT se diseñó para evaluar la eficacia y seguridad sin grupo comparativo. Para optimizar el tratamiento, dado que la decitabina es un agente ciclo celular dependiente, se pensó en prolongar su administración. Pero, más que el tiempo de infusión se observó que los mejores resultados se asociaban al número de infusiones recibidas. El estudio 1D03 fue el que más eficacia mostró (73%) y coincidió con el de mayor número de ciclos (>7)<sup>17</sup>.

### Resistencia

Los mecanismos de resistencia a hipometilantes son diferentes en los 2 agentes (AZA y DAC) debido principalmente a que sus metabolismos son distintos. Aparentemente, la resistencia a la decitabina se correlacionaría con baja expresión de hENT-1 (transportador de nucleótidos equilibrado y humano 1 y 2)<sup>20</sup> y con la alta expresión de la enzima que degrada la enzima Deaminasa Citosina. En la clínica no hay recomendación con evidencia suficiente para cruzar los hipometilantes pero reportes aislados demostraron efectividad<sup>21</sup>.

### Leucemia Mielomonocítica Crónica (LMMC)

El ADOPT mostró una tasa de respuesta del 73%<sup>18</sup>. Autores como Kantarjian A. e Issa JP basados en la alta efectividad, recomiendan utilizar DAC en primera línea en LMMC. En ASH 2009 un grupo de médicos Argentinos publicó 26 casos de LMMC con una tasa de respuesta global del 56%<sup>22</sup>.

### Toxicidad

La tasa de citopenias en protocolos con DAC y AZA fue de 95 y 78% de incidencia respectivamente.

AZA presentó 20% menos neutropenias febriles que el protocolo D0007 con decitabina a 135mg/m<sup>2</sup> por ciclo.<sup>23</sup> Los hipometilantes pueden dañar el ADN y su reparación, causando apoptosis<sup>24</sup>.

### Predictores de Respuesta clínica

Los estudios que procuraron investigar factores predictores de respuesta clínica han aportado resultados conflictivos. Se investigó la expresión de genes, marcadores de daño del ADN, estado de hipermetilación genómico global y específico de islas CpG y, ninguno pudo ser validado como predictor de respuesta al tratamiento. Por ejemplo, se encontraron GST hipermetilados: p15, CDH-1, DAP-kinasa y SOCS-1 en el 79, 48, 28 y 62% respectivamente<sup>25</sup>. Con la técnica HpaII tiny enrichment fragment por PCR se evaluó globalmente las zonas hipermetiladas correspondientes a CpG del genoma<sup>26, 27</sup>. Los predictores de respuesta a decitabine cuasi-validados son la monosomía del 7 (al igual que AZA)<sup>28</sup> y, en experimentos preclínicos, el gen de la ribonucleótido reductasa ubicado en p53 e inducible por DAC (p53R2/RRM2B)<sup>29</sup>. Otros predictores que también fueron estudiados sin resultados validados fueron por ejemplo: el p15, p73, LINE, ATRX, etc. El único factor predictor de respuesta validado hasta el momento, es el propio tratamiento dado por el número de ciclos recibidos (a mayor número mejor respuesta). Estudios preliminares recomiendan no menos de 4 ciclos para DAC y de 6 ciclos para AZA. El grupo liderado por el doctor Pierre Fenaux demostró que la prolongación de la sobrevida global en alto riesgo no se correlacionaba con los niveles de metilación de GST como variable independiente pero, observó que los pacientes que lograron mayor hipometilación durante el tratamiento eran los que alcanzaban la mejor sobrevida. En una publicación reciente este

autor destacó ciertos predictores de respuesta a la Azacitidina, el performance status, el porcentaje de blastos circulantes, la independencia transfusional eritroide y el citogenético<sup>30</sup>.

### Trasplante de Médula Ósea e Hipometilantes

El uso de AZA o DAC como terapia puente tiene como finalidad alcanzar al trasplante en mejores condiciones clínicas reduciendo la carga tumoral y estabilizando la enfermedad. Las recomendaciones orientan al uso de hipometilantes pre-trasplante, principalmente, si el paciente es sometido a un régimen condicionante con dosis reducidas; en cambio, si el condicionamiento es mieloablatoivo, los hipometilantes podrían ser omitidos. Hay reportes que utilizaron AZA luego del trasplante para reducir el riesgo de recaída<sup>31,32</sup>.

### Tratamiento combinado de Hipometilantes (DNMTi) con otros agentes

La combinación del DNMTi + inhibidores de Histonas D-Acetiladas (HDACi) debe ser realizada de manera secuencial, primero la DNMTi y luego, la HDACi. Los resultados fueron más evidentes in vitro que clínicos. Estudios con Fenilbutirato de sodio y Entinostat combinados con AZA mostraron los mejores resultados de 38 y 50% (estudios fase I). La combinación de AZA y lenalidomida ha mostrado respuesta cercana al 70% en pacientes AR<sup>33</sup>.

### RESUMEN

- La azacitidina encuentra su indicación (nivel de evidencia Ia) en aquellos pacientes con SMD de riesgo Alto e INT-2. En el estudio CALGB 9221 (N=191) se logró retrasar el tiempo de progresión a LMA (21 vs. 12 meses para el grupo de mejor tratamiento de soporte; p=0,007) y el ensayo AZA-001 (N=235) demostró sobrevida prolongada estadísticamente significativa (24,5 vs. 15 meses; p=0,0001). Se describieron recomendaciones para la mejor elección del paciente, clasificación pronóstica, inicio del tratamiento, dosis y número de ciclos, duración del tratamiento, evaluación de la respuesta y manejo de los efectos adversos.
- La decitabina presenta similar indicación que la azacitidina pero con nivel de evidencia IIa. No hay estudios cabeza a cabeza que compare un hipometilante con otro. Tiene rápida respuesta global (2 a 4 ciclos) y alta tasa de respuesta en LMMC. Se mencionaron factores predictivos de respuesta, utilidad en trasplante de médula ósea, mantenimiento, mecanismos de resistencia y toxicidad.

### Comentario final

Los SMD son una compleja patología clonal hematopoyética que involucra muchos más actores de los que hasta ahora conocemos. Recientes investigaciones han demostrado la importancia de la stem cell me-senquimática en la fisiopatología de la enfermedad abriendo puertas al desarrollo de nuevos conceptos terapéuticos que podrían incluir el microambiente medular en las terapias futuras dejando claro que se está recién en un comienzo muy temprano para resolver el dilema que plantean. Los hipometilantes utilizados solos o en combinación con inhibidores de las Histonas Deacetilasas en primera o segunda línea, como inducción o mantenimiento, en pacientes con bajo o alto riesgo, antes o después del trasplante alogénico de células precursoras hematopoyéticas forman parte del arsenal terapéutico que busca poner luz a una entidad de diagnóstico complejo totalmente no definida ni clasificada aún, con scores pronósticos que no terminan de incluir todos los parámetros de utilidad. Los agentes hipometilantes son, aunque no los únicos, indudablemente centrales al momento de decidir un tratamiento en los SMD.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Silverman LR. Targeting hypomethylation of DNA to achieve cellular differentiation in MDS. *Oncologist* 2001; 6 (supp 15): 8-14.
2. Kornblit AB, et al. Impact of Azacitidine on the quality of life of patients with MDS treated in a randomized phase III trial: A CALB Study. *JCO* 2002; 20: 2441-52.
3. Silverman LR, et al. Randomized controlled trial of Azacitidine in patients with MDS. *Journal Clinical Oncology* 2002; 24:29-40.
4. Fenaux P. et al. Efficacy of AZA compared with conventional care regimens in the treatment of higher risk MDS: a randomized open label, phase III study. *Lancet Oncol* 2009; 10: 223-232.
5. BOULDER, CO - May 20, 2004. FDA. First Drug Approved for the Treatment of MDS.
6. Silverman LR, McKenzie DR, Peterson BL, et al; Cancer and Leukemia Group B. Further analysis of trials with azacitidine in patients with myelodysplastic syndrome: studies 8421,8921, and 9221 by the Cancer and Leukemia Group B. *J Clin Oncol* 2006; 24: 3895-3903
7. Practical use of azacitidine in higher-risk myelodysplastic syndromes:An expert panel opinion. Pierre Fenaux, DavidBowen, Norbert Gattermann, Eva Hellström-Lindberg, Wolf-Karsten Hofmanne, Michael Pfeilstöcker, Guillermo Sanz, Valeria Santini. *Leuk Res* 2010 Nov; 34 (11): 1410-6.
8. Lyons RM, Cosgriff TM, Modi SS, Gersh RH, Hainsworth JD, Cohn AL,et al. Hematologic response to three alternative dosing schedules of azacitidine in patients with myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2009; 27 (11): 1850-6.
9. Silverman LR, McKenzie DR, Peterson BL, Holland JF, Backstrom JT, Beach CL,et al. Further analysis of trials with azacitidine in patients with myelodysplastic syndrome: studies 8421, 8921, and 9221 by the Cancer and Leukemia Group B. *J Clin Oncol* 2006; 24(24): 3895-903.
10. Wijerman P, et al. Low dose 5-aza-2'-deoxycytidine, a DNA hypomethylating agent, for the treatment of high-risk MDS. *JCO* 2000; 18:956-962

11. Lubbert M, et al. Cytogenetics responses in high risk MDS following low dose treatment with decitabine. **BJH** 2001; 14: 349-357.
12. Kantarjian H, et al. Decitabine improves patient outcomes in MDS: results of a phase III randomized study. **Cancer** 2006; 106 (8): 1794-1803.
13. Saba HI, et al. Decitabine in MDS. *Seminars in Hematology* 2005, 42: 23-31.
14. Iastrebnier M, et al. Decitabine in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukemia: Argentinian/South Korean multi-institutional clinical experience. **Leukemia & Lymphoma** 2010; Early on Line, 1-8.
15. Jabbour E et al. Evolution of decitabine development: accomplishments, ongoing investigations, and future strategies. **Cancer** 2008; 112: 2341-51
16. Kantarjian H et al. Decitabine improve patients outcomes in MDS: results of phase III randomized study. **Cancer** 2006; 106: 1794-1803.
17. Kantarjian H et al. Results of a randomized study of 3 schedules of low-dose decitabine in higher-risk MDS and CMML. **Blood** 2007; 109: 52-7
18. Steensma DP et al. Multicenter study of decitabine administered daily for 5 days every 4 weeks to adults with MDS: the alternative dosing for outpatient treatment (ADOPT) trial. **JCO** 2009; 27: 3842-8.
19. Wijerman P et al. Low dose decitabine versus best supportive care in elderly patients with intermediate or high risk MDS not eligible for intensive chemotherapy: final results of the randomized phase III study (06011) of EORTC. **Blood** 2008; 112: Abstract 226.
20. Lamba JK, Genetic factors influencing cytarabine therapy, *Pharmacogenomics*. 2009 Oct; 10 (10): 1657-74.
21. Taichun Qin, et al. Mechanisms of resistance to 5-aza-2-deoxycytidine in human cancer cell lines. **Blood** 2009 113: 659-667.
22. Iastrebnier M, et al. Effectiveness of Decitabine in Chronic Myelomonocytic Leukemia Patients. International Cooperative Multi-Center Study. **ASH** 2009 (Abs 3809).
23. Steensma D et al. Decitabine treatment of patients with higher-risk Myelodysplastic Syndromes. **Leukemia Research**, Vol 33, Suppl 2, pages S12-S17.
24. Karpf AR et al. Activation of the p53 DNA damage response pathway after inhibition of DNA methyltransferase by 5-aza-2'-deoxycytidine. **Mol Pharmacol** 2001 Apr; 59 (4): 751.
25. Fandy TE, et al. Early epigenetic changes and DNA damage do not predict clinical response in an overlapping schedule of 5-azacytidine and entinostat in patients with myeloid malignancies. **Blood** 2009; 114: 2764-73.
26. Figueroa ME et al. MDS and Secondary AML display unique patterns and abundance of aberrant DNA methylation. **Blood** 2009.
27. Figueroa ME et al. Genome-wide determination of DNA methylation by HpaII tiny fragment enrichment by ligation-mediated PCR (HELP) for the study of Acute leukemias. **Methods Mol Biol** 2009; 538: 395-407.
28. Rüter B et al. Preferential cytogenetic response to continuous intravenous low-dose decitabine administration in MDS with monosomy 7. **Blood** 2007; 110: 1080-2(letter).
29. Link PA et al. p53-inducible ribonucleotide reductase (p53R2/RRM28) is a DNA hypomethylation-independent decitabine gene target that correlates with clinical response in MDS/AML. **Cancer Res** 2008; 68: 9358-66.
30. Itzykson R, Fenaux P. Prognostic factors of response and overall survival in 282 higher-risk myelodysplastic syndromes treated with Azacitidine. *Blood* 2010, October 12 in press.
31. Graef T et al. Successful treatment of relapsed AML after allogeneic Stem Cell transplantation with AZA. **Leuk Res** 2007; 31: 257-9.
32. Field T, Perkins J, Alsina M, et al. Pre-transplant 5-azacytidine (Vidaza) may improve outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation (HCT) in patients with myelodysplastic syndrome (MDS). **Blood** 2006; 108: 1047a. Abs 3664.
33. Sekeres MA, List AF, Cuthbertson D, Paquette R, Ganetzky R, Latham D, Paulic K, Afaible M, Saba HI, Loughran TP Jr, Maciejewski JP. Phase I combination trial of lenalidomide and azacitidine in patients with higher-risk myelodysplastic syndromes. **J Clin Oncol** 2010 Jun 20; 28 (18): 3098.