

نقش ژنتیک در مقاومت دارویی در بیماری AML

● زهرا حاتمی پور

کارشناسی ارشد ژنتیک مولکولی، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی و میکروبیولوژی



● دکتر صادق ولیان بروجنی

متخصص ژنتیک پزشکی، استاد تمام ژنتیک مولکولی انسانی، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی و میکروبیولوژی



svallian@sci.ui.ac.ir

● زینب مشایخ

دانشجوی دکتری ژنتیک مولکولی، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی و میکروبیولوژی



چکیده

مقدمه

لوسمی میلوئیدی حاد (AML) شکلی از سرطان خون است که حدود یک سوم انواع سرطان‌های خون تشخیص داده شده را در بر می‌گیرد. در این بیماری، سلول‌های سیستم خون ساز (HSCs) که موفق به تمایز به صورت نرمال نشده‌اند تکثیر شده و به مغز استخوان، خون محیطی و سایر بافت‌ها نفوذ می‌کنند (۱). دلیل اصلی ایجاد این بیماری تولید سلول‌های خونی غیر نرمال است. در اکثر موارد، علت ایجاد این بیماری تغییرات ژنتیکی (کروموزوم‌های غیر نرمال یا جهش‌های مجزای ژنی) بدون داشتن علت مشخص هستند. مشخص کردن این ناهنجاری‌های ژنتیکی برای طبقه بندی بیماران و مشخص کردن درمان مناسب امری ضروری است.

شیوع و اپیدمیولوژی AML

لوسمی‌ها به عنوان پنجمین نوع سرطان مرگبار در جهان

لوسمی میلوئیدی حاد (AML) شایع‌ترین نوع سرطان خون در میان بزرگسالان به شمار می‌رود. این بیماری از نظر فنوتیپی و ژنتیکی بسیار ناهمگون است. ناهنجاری‌های ژنتیکی باعث ایجاد تغییرات نئوپلاستیک و تکثیر کلونال در این بیماری می‌شود. با وجود اینکه AML یک بدخیمی نادر است اما حدود یک سوم لوسمی‌های تشخیص داده شده را به خود اختصاص می‌دهد. مقاومت به داروهای شیمی درمانی دلیل اصلی موفق نبودن درمان در AML می‌باشد. پیشرفت‌ها و یافته‌های اخیر در زمینه ژنتیک و تغییرات ژنتیکی در AML منجر به ایجاد درمان‌های جدید و امید به بهبود درصد بیشتری از بیماران در آینده شده است. در این مطالعه نقش و اهمیت ژنتیک در تشخیص و انتخاب روش درمانی مؤثر در بیماری AML مورد بررسی قرار گرفته است.

کلمات کلیدی: لوسمی میلوئیدی حاد، مقاومت دارویی، شیمی درمانی، ژنتیک

- 1- Adult Acute Myeloid Leukemia
- 2- Hematopoietic stem cells

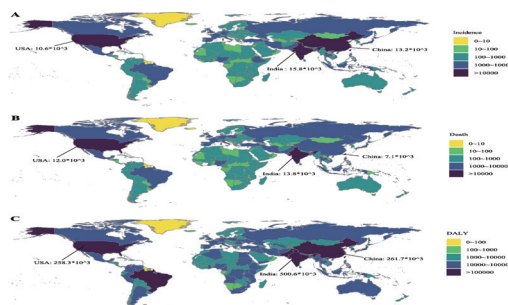


به طور معمول بیماران به دلیل کاهش یافتن گلبول‌های قرمز، پلاکت‌ها و گلبول‌های سفید به ترتیب نشانه‌هایی مثل خستگی، خونریزی یا عفونت و تب نشان می‌دهند. علائمی مثل رنگ‌پریدگی و تنگی نفس هم بین این بیماران شایع می‌باشد. بزرگ شدن طحال، بزرگ شدن کبد، متورم شدن گره‌های لنفی در صورت نفوذ سلول‌های لوسمیایی به سایر بافت‌های بدن دیده می‌شود (۱).

طبقه بندی AML

طبقه بندی AML بر اساس فاکتورهای ژنتیکی در دهه ۱۹۷۰ میلادی، براساس سیستم طبقه بندی FAB^۵ بیماری AML به ۸ زیر گروه دسته بندی شد (M0-M7). دسته بندی FAB از ویژگی‌های مورفولوژی، سیتوشیمیایی و فلوسایتومتری استفاده می‌کند تا AML را براساس اینکه سلول‌های بلاست از چه دودمان سلولی هستند و تا چه حد بالغ شده‌اند دسته بندی کند. با وجود این که این روش طبقه بندی برای توصیف آزمایشگاهی بلاست‌های لوسمیایی کاربردی است، ولی تا اواخر قرن بیستم با پیشرفت علم ژنتیک و پیشرفت تکنیک‌های سیتوژنتیکی و ژنتیک مولکولی، این روش به خاطر در نظر نگرفتن ویژگی‌های ژنتیکی، کاربرد خود را از دست داد (۴). در سال ۲۰۰۸ سازمان بهداشت جهانی طبقه بندی جدیدی برای AML ارائه داد که علاوه بر ویژگی‌های مورفولوژی و ایمونوفنوتیپی، ویژگی‌های ژنتیکی را نیز در نظر می‌گیرد و اطلاعات پیش آگاهی خوبی را فراهم می‌کند. این دسته بندی براساس جهش‌های ژنتیکی و ناهنجاری‌های کروموزومی موجود در سلول‌های لوسمی انجام می‌شود (۵). در سال ۲۰۱۶، سازمان بهداشت جهانی مجدد دسته بندی قبلی را بازبینی کرده و تغییرات ژنتیکی و مولکولی شایع را با علائم بالینی، ویژگی‌های مورفولوژیکی، ایمونوفنوتیپی و سیتوشیمیایی ترکیب کرده و AML را به پنج زیر گروه

و دومین نوع سرطان مرگبار در ایران در نظر گرفته می‌شوند (۲). شیوع AML در ایران بسته به منطقه و جمعیت مورد مطالعه متفاوت است. همچنین به نظر می‌رسد در مقایسه با کشورهای غربی، در ایران سن ابتلای به این بیماری پایین‌تر است و به طور میانگین حدود ۴۵ سال گزارش شده است (۲). در شکل ۱-۱ آمار شیوع و مرگ و میر AML در ۱۹۵ کشور در سال ۲۰۱۷ نشان داده شده است (۳).



شکل ۱-۱- شیوع و مرگ و میر AML در ۱۹۵ کشور در سال ۲۰۱۷ (۳)

علائم بالینی AML

AML از نظر فنوتیپی و ژنتیکی بسیار ناهمگون است. جهش‌های متنوع و مکملی که در ایجاد لوسمی نقش دارند در سلول‌های بنیادی خون ساز ایجاد می‌شوند و باعث افزایش خود نوسازی^۳ و تکثیر در این سلول‌ها می‌شوند. در نتیجه، مکانیسم‌های طبیعی تمایز سلول‌های خون ساز معیوب شده و در نهایت بلاست‌های لوسمیایی نابالغ گسترش پیدا کرده و در مغز استخوان تجمع می‌یابند. این بلاست‌ها به تدریج جایگزین بافت خون ساز طبیعی می‌شوند و تولید سلول‌های خونی طبیعی را با اختلال مواجه می‌کنند. علائم بالینی AML متنوع‌اند و مختص این بیماری نیستند، اما معمولاً منجر به کم خونی یا سیتوپنی^۴ می‌شوند.

- 3- Self-Renewal
- 4- Cytopenia
- 5- French-American-British



طبقه بندی می‌کند. این طبقه بندی در جدول ۱-۱ نشان داده شده است (۶).

جدول ۱) طبقه بندی AML ارائه شده توسط سازمان بهداشت جهانی (۶)

Types	Genetic abnormalities
AML with recurrent genetic abnormalities	AML with t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1 AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); CBFB-MYH11 APL with PML-RARA AML with t(9;11)(p21.3;q23.3); MLLT3-KMT2A ML with t(6;9)(p23;q34.1); DEK-NUP214 AML with inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); GATA2, MECOM AML (megakaryoblastic) with t(11;22)(p13.3;q13.3); RBM15-MLL1 AML with BCR-ABL1 (provisional entity) AML with mutated NPM1 AML with biallelic mutations of CBFB AML with mutated RUNX1 (provisional entity)
AML with myelodysplasia-related changes Therapy-related myeloid neoplasms	AML with minimal differentiation AML without maturation AML with maturation Acute myelomonocytic leukemia Acute monoblastic/monocytic leukemia Acute erythroid leukemia Pure erythroid leukemia Acute megakaryoblastic leukemia Acute basophilic leukemia Acute pancytopenia with myelofibrosis
Myeloid sarcoma Myeloid proliferations related to Down syndrome	Transient abnormal myelopoiesis ML associated with Down syndrome

Abbreviations: AML, acute myeloid leukemia; APL, acute promyelocytic leukemia; ML, myeloid leukemia; WHO, World Health Organization.

تشخیص AML

تجمع یافتن سلول‌های نابالغ و بدون عملکرد در مغز استخوان شروع می‌شود، ولی در اکثر مواقع، این سلول‌ها به سرعت در خون هم شروع به تجمع می‌کنند و حتی گاهی اوقات به سایر قسمت‌های بدن مثل گره‌های لنفی، طحال، کبد، سیستم عصبی مرکزی و بیضه‌ها هم گسترش پیدا می‌کنند. این سلول‌ها بسیار سریع تکثیر و تقسیم می‌شوند و در نتیجه خون سازی طبیعی را سرکوب می‌کنند. تشخیص لوسمی میلوئیدی حاد براساس آنالیز مغز استخوان و خون محیطی در زیر میکروسکوپ انجام می‌شود. این آنالیزها شامل توجه به شکل و اندازه سلول‌ها و همچنین شمارش سلول‌های خونی و بلاست‌ها می‌باشد. در افراد مبتلا به AML درصد

بلاست‌ها در خون و مغز استخوان باید حداقل ۲۰ درصد باشد (درصد بلاست‌ها در افراد نرمال زیر ۵ درصد می‌باشد). البته در برخی موارد AML که تغییرات کروموزومی در فرد وجود دارد ملاک تشخیص AML درصد بلاست‌ها نیست. تشخیص دقیق با روش‌هایی مثل ایمونوفلوروسانس^۶ و سیتوشیمی^۷، فلوسایتومتری^۸ و ایمونوهیستوشیمی^۹، بررسی عملکرد میلوپروکسیداز^{۱۰} روی بلاست‌ها و ایمونوفلوروسانس CD123، CD45، CD34 همچون CD38 تأیید می‌شود (۷).

از تست‌های کروموزومی و بیومارکرهای مولکولی با استفاده از تکنیک‌های مختلف نیز برای تشخیص AML استفاده می‌شود. این تست‌ها ناهنجاری‌های ژنتیکی و نوع آن‌ها را در افراد مشخص می‌کنند. تست‌های بیومارکری تغییرات و جهش در ژن‌هایی که عموماً در افراد مبتلا به AML دارای ناهنجاری هستند را بررسی می‌کنند. در نهایت می‌توان از روش‌های تصویربرداری مثل CT-scan^{۱۱}، MRI^{۱۲} و سونوگرافی برای بررسی گسترش بیماری به سایر بافت‌ها استفاده کرد (۴).

همچنین، یک فرآیند شناخته شده برای تشخیص ژنوتیپ بیماری و طبقه بندی زیرگروه‌های AML که توسط سازمان بهداشت جهانی پیشنهاد شده است، استفاده از تکنیک‌های طبقه بندی ریخت شناسی^{۱۳}، ایمنی شناسی، سیتو ژنتیک و زیست شناسی مولکولی است. این روش طبقه بندی برای تمایز دادن ناهنجاری‌های ژنتیکی و مولکولی در AML پیشنهاد داده شده است و برای مدیریت بالینی بیماری نیز مفید است. با این وجود، برای هر مورد مشکوک به AML، ابتدا لازم است کاربوتایپینگ^{۱۴} انجام شود. در صورت نرمال بودن کاربوتایپ فرد، از تکنیک‌های FISH^{۱۵} و qPCR برای

- 6- Immunophenotyping
- 7- Cytochemistry
- 8- Flow cytometry
- 9- Immunohistochemistry
- 10- Myeloperoxidase
- 11- Computed Tomography -scan
- 12- Magnetic resonance imaging
- 13- Morphologic
- 14- Karyotyping
- 15- Fluorescence in situ hybridization

پیدا کردن نوآرایی‌های پنهان در لوکوس مربوطه استفاده می‌شود. از این رویکرد برای تشخیص اولیه و تصمیم‌گیری برای درمان مناسب استفاده می‌شود. سپس براساس این که بهبودی حاصل شده یا عود مجدد^{۱۶} رخ دهد، از تست‌های اضافی دیگر برای بهتر شدن پیش‌بینی بیماری استفاده می‌شود (۷).

❑ ریسک فاکتورهای خطر بیماری AML

از مهم‌ترین عوامل خارجی که در ایجاد AML نقش دارند می‌توان به قرارگیری در معرض پرتوهای با دوز بالا، قرارگیری طولانی مدت در معرض بنزن با دوز بالا، استعمال تنباکو برای مدت طولانی و داروهای شیمی‌درمانی مثل عوامل آلکیل‌کننده اشاره کرد. این عوامل می‌توانند با مکانیسم‌های مختلف به ویژه از طریق آسیب اکسیداتیو باعث ایجاد آسیب در DNA شوند.

به AML ای که در اثر درمان با داروهای شیمی‌درمانی به وجود می‌آید، AML مرتبط با درمان می‌گویند. چاقی نیز می‌تواند به عنوان یک فاکتور داخلی ریسک ابتلا به AML را افزایش دهد. مکانیسم دقیق آن هنوز مشخص نیست ولی ممکن است با افزایش سطح انسولین خون، مقاومت به انسولین، سطح افزایش یافته لپتین^{۱۷}، کاهش سطح آدیپونکتین^{۱۸} و همچنین تلومرهای کوتاه شده که در

این بیماران دیده می‌شود مرتبط باشد (۸).
AML همچنین می‌تواند بر اثر یک بدخیمی خونی قبلی مثل MDS^{۱۹} یا MPN^{۲۰} ایجاد شود. برخی بیماری‌های خونی غیر بدخیم مثل آنمی دیسپلاستیک هم می‌توانند ریسک ایجاد این بیماری را افزایش دهند. بیماران مبتلا به این نوع AML که به آن AML ثانویه می‌گویند و همچنین بیماران مبتلا به AML مرتبط با درمان در مقایسه با بیمارانی که به صورت جدید به AML^{۲۱} مبتلا شده‌اند بقای کلی^{۲۲} کمتری دارند، احتمال داشتن سیتوژنتیک با ریسک بالا در آن‌ها بیشتر است و کمتر ممکن است کاملاً بهبود پیدا کنند.

مواردی از سندروم‌های توارثی / خانوادگی هم وجود دارند که با ایجاد AML مرتبط هستند. این سندرم‌ها شامل سندرم‌های توارثی نارسایی مغز استخوان مثل آنمی فانکونی^{۲۳} یا سندرم‌های تلومری که با جهش ژن‌های TERT و TERC مرتبط هستند می‌باشند. از دیگر اختلالاتی که استعداد ابتلا به AML را افزایش می‌دهند می‌توان به جهش ژن‌های CEBPA^{۲۴}، DDX41^{۲۵}، ANKRD26^{۲۶}، SRP72^{۲۸}، GATA2^{۲۷}، RUNX1^{۲۶} و ETV6^{۲۰} در سلول‌های زایا اشاره کرد. سندرم‌های خاصی که استعداد ابتلا به سرطان را افزایش می‌دهند مثل سندرم لی-فراومنی^{۳۱} و جهش‌های BRCA1/2 در

- 16- Relapse
- 17- Leptin
- 18- Adiponectin
- 19- Myelodysplastic syndrome
- 20- Myeloproliferative neoplasm
- 21 Denovo AML
- 22- Overall Survival
- 23- Fanconi anemia
- 24- CCAAT/enhancer-binding protein alpha
- 25- Dead/H-box helicase gene
- 26- runt-related transcription factor 1
- 27- GATA-binding factor 1
- 28- Signal recognition particle 72
- 29- Ankyrin repeat domain-containing protein 26
- 30- ETS variant transcription factor
- 31- Li-Fraumeni



در دهه ۱۹۷۰، رژیم القایی متمرکز سیتارابین^{۳۰} و آنتراسایکلین^{۳۳} (که به آن رژیم ۷+۳ هم می گویند)، برای درمان AML در نظر گرفته شد. این رژیم استاندارد شامل استفاده از دانوروبیسین^{۳۷} یا ایداروبیسین^{۳۸} در سه روز اول و سپس دریافت سیتارابین برای ۷ روز است. هدف این درمان دستیابی به بهبودی کامل در بیماران می باشد. حدود ۶۵ تا ۷۳ درصد بیماران زیر ۶۰ سال و ۳۸ تا ۶۲ درصد بیماران بالای ۶۰ سال با تشخیص ابتلا به AML با دریافت این درمان به بهبودی کامل دست پیدا می کنند (۱۰).

مشخص کردن میزان سلامتی افراد بزرگسال مخصوصاً در افراد مسن تر در انتخاب استراتژی درمان اهمیت بسیاری دارد. در افراد مسنی که گمان می شود درمان القایی برای آن ها مؤثر نیست مخصوصاً افرادی که دارای کاربوتاپ پپیچیده بدون جهش در ژن NPM1 هستند استفاده از عوامل هایپومتیله کننده (HMA^{۳۹}) مثل دسیتابین^{۴۰} و آزاسیتیدین^{۴۱} که مهار کننده DNA متیل ترانسفرازها هستند مؤثر است. با وجود این که این رژیم کمتر باعث مرگ ناشی از درمان می شود، میانگین بقای بیماران بعد از دریافت این رژیم فقط ۶ تا ۱۰ ماه است. این موضوع نشان دهنده نیاز به رژیم های موثرتری برای درمان افراد میانسال مبتلا به AML است (۱۱). بیماران مشکوک به ابتلای لوسمی پرومیلوسیتیک حاد (APL^{۴۲}) حتی قبل از تشخیص نهایی باید تحت درمان با ATRA قرار گیرند. درمان اولیه با این دارو خطر انعقاد خون و مرگ را کاهش می دهد (۱۲).

درمان تحکیمی برای جلوگیری از عود مجدد و از

سلول های زایا^{۳۲} هم با ریسک افزایش یافته ابتلا به AML مرتبط هستند. ریسک ابتلا به AML در افراد مبتلا به سندرم داون^{۳۳} (تریزومی ۲۱) به طور قابل توجهی بالا است و با جهش های سوماتیک در ژن GATA1 مرتبط است (۹). AML در چند نوع متفاوت طبقه بندی می شود. هدف از این طبقه بندی ها تعیین روش درمانی موثرتر و چشم انداز تأثیر درمان بر بهبود وضعیت بیمار است. دلیل طبقه بندی این است که AML برخلاف دیگر سرطان ها که فرآیند تشکیل و توسعه تومور مرحله بندی می شود، مراحل مشابهی برای تشکیل و پیشرفت تومور وجود ندارد. زیر گروه های مختلف AML با روش های درمانی مختلفی تحت کنترل و درمان قرار می گیرند. همین طور روند درمانی اتخاذ شده می تواند بر میزان بقای بالقوه نیز تأثیر داشته باشد.

درمان و نرخ درمان AML

در سال های اخیر توسعه آنالیزهای گسترده ژنومی منجر به درک بهتری از ویژگی های مولکولی AML شده که در پیش آگهی و درمان بیماری حائز اهمیت هستند. هر چند استراتژی عمومی درمان در طی ۳۰ سال گذشته تغییر چندانی نکرده است ولی گزینه درمانی مناسب برای AML بسته به فاکتورهای مختلفی مثل سن، وضعیت سلامتی بیمار و نوع زیر گروه AML متفاوت می باشد.

بررسی اولیه مشخص می کند آیا بیمار واجد شرایط دریافت شیمی درمانی متمرکز^{۳۴} هست یا خیر. اگر بعد از دریافت شیمی درمانی متمرکز بهبودی کامل حاصل شود، درمان های پس از بهبودی مناسب باید در نظر گرفته شود.

- 32- Germ line
- 33- Down Syndrome
- 34- Intensive chemotherapy
- 35- Cytarabine
- 36- Anthracycline
- 37- Daunorubicin
- 38- Idarubicin
- 39- Hypomethylating agents
- 40- decitabine
- 41- Azacitidine
- 42- Acute promyelocytic leukemia

بین بردن حداقل جزء باقی مانده بیماری (MRD^{۴۲}) در مغز استخوان و به عنوان پلی برای پیوند یا روشی برای درمان استفاده می‌شود. ارزیابی MRD با روش‌های Real-time PCR یا NGS^{۴۳} برای ردیابی پاسخ به درمان و پیش‌بینی عود مجدد نیز کمک می‌کند (۱۳). دو روش اصلی برای درمان تحکیمی وجود دارد: شیمی درمانی و پیوند سلول‌های بنیادی خون ساز (۱۰). این روش‌ها می‌توانند بسته به نوع لوسمی، میزان سلامتی بیمار و در دسترس بودن اهدا کننده به تنهایی یا به صورت ترکیبی استفاده شوند.

بعد از دریافت درمان القایی، به بیمارانی که براساس طبقه بندی ELN دارای ریسک کم هستند (مثل CBF-AML) و بهبود پیدا کرده‌اند پیشنهاد می‌شود شیمی درمانی تحکیمی^{۴۴} دریافت کنند که یک رژیم بر پایه دوز بالای سیتارابین است. در حالی که افرادی که دارای AML با ریسک متوسط یا بالا هستند باید پیوند سلول‌های بنیادی خون ساز آلوتونیک دریافت کنند، چون میزان عود مجدد در این افراد پس از دریافت شیمی‌درمانی به طور غیر منتظره‌ای بالاست. این درمان که براساس طبقه بندی ریسک^{۴۵} انجام می‌شود در ۳۵ تا ۴۵ درصد افراد زیر ۶۰ سال مؤثر است. اما در افراد بالای ۶۰ سال این رویکرد درمانی در کمتر از ۱۵ درصد افراد مؤثر است. این افراد تحمل دریافت شیمی درمانی متمرکز را ندارند و احتمال مرگ مرتبط با درمان هم در آن‌ها بالاست. همچنین در این افراد ریسک بالای سیتوتوکسیکی و جهش‌های بیشتری هم وجود دارد. AML بیماری بزرگسالان است و متوسط

سن تشخیص آن ۶۸ سال است. در نتیجه درصد زیادی از بیماران واجد شرایط دریافت شیمی درمانی متمرکز و HSCT^{۴۶} آلوتونیک نیستند (۱۱).

بسیاری از عوامل شیمی درمانی قدیمی یا کلاسیک، مستقیماً به DNA سلول‌های سرطانی آسیب می‌زنند؛ که روشی غیر اختصاصی است و دارای سمیت نسبتاً بالایی است. در دهه‌های گذشته داروهای هدفمند جدیدی توسعه داده شده‌اند که به صورت اختصاصی تغییراتی که باعث تکثیر و رشد سرطان می‌شوند را هدف قرار داده و آن‌ها را محدود می‌کنند. درمان‌های جدید شامل مهارکننده‌های FLT3^{۴۷}، مهارکننده‌های IDH، مهارکننده‌های گیرنده‌های صادرکننده هسته‌ای و ایمنی درمانی است (۱۴).

بسیاری از مولکول‌های مهارکننده FLT3 با کارایی‌های متفاوت شناسایی شده‌اند. مهارکننده‌های نسل اول شامل مهارکننده‌های کینازها هستند که از میان آن‌ها داروی Midostaurin روی بیماران AML دارای جهش در FLT3 بیشترین تأثیر را دارد. این دارو همراه با شیمی درمانی القایی مصرف می‌شود (۱۴). مقاومت دارویی چالش اصلی درمان بیماران تنها با یک مهارکننده FLT3 است. مهارکننده‌های FLT3 که جدیداً شناسایی شده‌اند شامل G-749 و ASP2215 هستند. این داروها احتمالاً ایجاد مقاومت دارویی را کاهش می‌دهند ولی مطالعات بالینی بیشتری برای تأیید کارایی آن‌ها مورد نیاز است. مهارکننده‌های IDH شامل AG-120 و AG-221 هستند و براساس تحقیقات باعث پاسخ بیش از ۶ ماه در ۷۶ درصد بیماران می‌شود (۱۵). مهارکننده‌های گیرنده هسته‌ای CRM1^{۴۸} که غیر

- 42- Minimal residual disease
- 43- Next-generation sequencing
- 44- Consolidative chemotherapy
- 45- Risk stratification
- 46- Hematopoietic stem cell transplant
- 47 Fms-like tyrosine kinase 3
- 48- Chromosomal Region Maintenance 1



فعال شدن و خروج از هسته ژن‌های سرکوب‌گر تومور مثل p53^{۴۹}، FOXO1^{۵۰} و p21^{۵۱} را واسطه‌گری می‌کند بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. این گیرنده در تعدادی از سرطان‌ها مثل AML افزایش بیان پیدا می‌کند (۱۶).
درمان با آنتی‌بادی انقلابی در درمان لوسمی‌ها از جمله AML ایجاد کرده است. این داروها شامل آنتی‌بادی‌های مونوکلونال (Gemtuzumab Ozogamicin) CD33 و آنتی‌بادی دارای اختصاصیت برای CD33 و CD3 (AMG330) هستند (۱۷). سلول‌های T مهندسی شده (CAR-T cells^{۵۲}) سلول‌هایی هستند که یک گیرنده آنتی‌ژن خاص که آنتی‌ژن سطح سلولی خاصی را مورد هدف قرار می‌دهد بیان می‌کنند. برای مثال CD123 روی سطح اکثر بلاست‌ها در AML بیان می‌شود. مطالعات روی موش نشان می‌دهند هدف قرار دادن CD123 با CARTs باعث از بین رفتن سلول‌های میلوئیدی می‌شود (۱۸).

□ مقاومت دارویی

با پیشرفت در شیمی‌درمانی، پیوند سلول‌های بنیادی، ایمنی‌درمانی و همچنین درمان هدفمند، امروزه اکثر بیماران مبتلا به AML به بهبودی کامل دست پیدا می‌کنند. نرخ بهبودی کامل بعد از اولین خط درمانی (رژیم ۳+۷) در جوانان ۶۰ تا ۸۰ درصد و در بیماران بالای ۶۵ سال ۴۰ تا ۶۰ درصد است. با این وجود، در بیش از ۶۰ درصد بیماران مسن به دلیل عود مجدد درمان القایی شکست می‌خورد و در کل درمان در بیش از ۸۵ درصد بیماران با شکست مواجه می‌شود. مطالعات نشان می‌دهند دلیل اصلی شکست روش‌های درمانی رایج در حال حاضر مقاومت دارویی است که با کاهش بقا در AML مرتبط است.

مقاومت دارویی عامل محدود کننده اصلی دستیابی به بهبودی کامل در بیماران است. با وجود موفقیت‌های به دست آمده در زمینه درمان سرطان، مقاومت به شیمی‌درمانی‌های کلاسیک یا درمان‌های هدفمند جدید، مشکل اصلی در درمان سرطان و همچنین دلیل اصلی بروز عود مجدد، که یکی از عوامل اصلی مرگ در اثر سرطان است، می‌باشد (۱۹). مقاومت به داروهای شیمی‌درمانی می‌تواند ذاتی یا اکتسابی باشد. مقاومت ذاتی به این معناست که قبل از دریافت شیمی‌درمانی، عوامل ایجاد مقاومت از قبل در سلول‌های توموری وجود دارند و باعث ناکارآمدی درمان می‌شوند. مقاومت اکتسابی می‌تواند در حین درمان باعث ایجاد تومورهایی شود که ابتدا به درمان حساس بوده‌اند. این نوع مقاومت می‌تواند در اثر جهش‌هایی که حین درمان به وجود می‌آیند یا پاسخ‌های انطباقی مثل افزایش بیان ژن مورد هدف درمان و در نتیجه فعال شدن مسیرهای پیام‌رسانی جبرانی ایجاد گردد. علاوه بر این، تومورها دارای ناهمگونی مولکولی شدیدی هستند و به همین دلیل، مقاومت دارویی می‌تواند در اثر مقاومت زیرگروه کوچکی از سلول‌ها به درمان (که در تومور اولیه وجود داشته‌اند) ایجاد شود (۲۰).

□ ارتباط جهش‌های ژنی ارثی در AML و خطر بروز بیماری

تغییرات در ساختار کروموزومی (مثل t(15;17)، t(9;21)، inv(16)، t(8;21) و ...) به عنوان مارکرهای تشخیص و پیشگیری این بیماری مشخص شده‌اند و نشان‌دهنده این موضوع هستند که ناهنجاری‌های ژنتیکی اکتسابی نقش مهمی در ایجاد لوسمی ایفا می‌کنند.

- 49- TP53 gene
- 50- Forkhead box O-3
- 51- CDKN1A gene
- 52- Chimeric antigen receptor-transduced T cells

در نتیجه همکاری بین حداقل دو گروه از جهش‌ها به وجود می‌آید: دسته اول جهش‌هایی که باعث افزایش تکثیر و بقا می‌شوند (مثل جهش در ژن‌های FLT3، KIT، RAS، JAK2^{۵۶} و PNP11 و CBL) و دسته دوم باعث تغییر در تمایز سلولی و مرگ برنامه ریزی شده سلولی می‌شوند (مثل جهش در ژن‌های CEBPA، NPM1^{۵۷} و MLL^{۵۸}). با این وجود، مطالعات جدید با استفاده از تکنیک‌های جدید توالی‌یابی نشان می‌دهند یک گروه دیگر از جهش‌ها هم وجود دارند که در هیچ کدام از دو گروه قبلی جای نمی‌گیرند و بنابراین دسته بندی نشده‌اند (جدول ۲). این جهش‌ها باعث ایجاد تغییرات اپی ژنتیکی می‌شوند و شامل جهش در ژن‌های IDH1، IDH2، WT1، TET2^{۵۹} و ASXL1^{۶۰} DNMT3a هستند (۲۲).

جدول ۲) انواع جهش‌های ژنی افزایش دهنده

استعداد ابتلا به AML

Classification	Gene	Pathways
Class I	FLT3, KIT, RAS, PNP11, JAK2, CBL	Proliferation & Survival
Class II	CEBPA, NPM1, MLL	Differentiation & Apoptosis
Class III	WT1, TET2, IDH1, IDH2, ASXL1, DNMT3a	Epigenetic modification

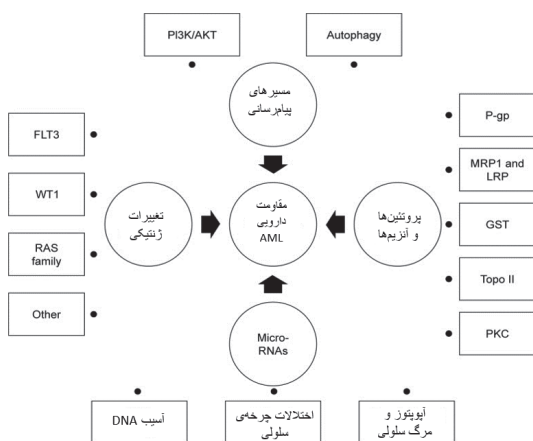
براساس نتایج سیتوژنتیکی بیماران را به سه دسته باریسک

جابجایی‌های کروموزومی باعث ایجاد پروتئین‌های کایمر^{۶۳} مثل PML-RARA در لوسمی پرومیلوسیتیک حاد^{۶۴} یا RUNX-RUNX1T1 در CBF-AML^{۶۵} می‌شوند و این پروتئین‌ها پروسه بالغ شدن طبیعی سلول‌های پیش‌ساز میلوئیدی را تغییر می‌دهند. با این وجود، بسیاری از موارد AML دارای کاربوتایپ نرمال هستند و در بسیاری از آن‌ها ناهنجاری‌های ساختاری هم دیده نمی‌شود. جهش در شش ژن شامل FLT3، NPM1، TP53، CEBPA، RUNX1 و ASXL1 خطر ابتلا به AML را افزایش می‌دهد. جهش در ژن‌های دیگری نیز در بیماران مبتلا به AML گزارش شده است. مشخص کردن ویژگی‌های این جهش‌های ژنی برای درک مکانیسم‌های ایجاد لوسمی به ما کمک می‌کند. برخی از این جهش‌های ژنی نیز به عنوان مارکرهای مهم تشخیص و پیشگیری این بیماری مشخص شده‌اند. همچنین درمان‌های جدیدی که این تغییرات مولکولی را هدف قرار می‌دهند در حال پیشرفت هستند. بنابراین، امروزه پیشنهاد می‌شود که تشخیص مولکولی بسیاری از این مارکرهای ژنتیکی برای بیماران که در مراحل اولیه تشخیص این بیماری هستند انجام شود (۲۱). زیرگروه‌های مختلف AML هر کدام با ناهنجاری‌های ژنتیکی و مولکولی خاصی مرتبط هستند. به دلیل ناهمگونی ژنومی لوسمی، تلاش‌های زیادی در راستای ایجاد درمان‌های هدفمند برای شخصی سازی درمان AML در حال انجام است. براساس مدلی که در سال ۲۰۰۱ ارائه شده است، AML

- 53- Chimeric Proteins
- 54- Acute promyelocytic leukemia
- 55- Core-binding factor acute myeloid leukemia
- 56- Janus Kinase 2
- 57- Nucleophosmin
- 58- Mixed-Lineage Leukemia 1
- 59- Tet methylcytosine dioxygenase 2
- 60- Putative Polycomb group protein



مقاومت دارویی دلیل اصلی شکست خوردن درمان سرطان است. در حال حاضر مطالعات زیادی بر روی MDR و مهارکننده‌های مکانیسم‌های ایجاد مقاومت دارویی انجام شده است. مهم است در فردی که به AML مبتلا شده تشخیص داده شود که آیا حامل فاکتورهای پرخطر ایجاد مقاومت دارویی می‌باشد یا خیر. بنابراین ریسک ایجاد مقاومت دارویی را می‌توان تا حدودی با شناسایی ژن‌های درگیر در مقاومت دارویی از طریق روش‌های جدید ژنتیک مانند تعیین توالی اگزون‌ها با روش NGS مشخص کرد. با این وجود این موضوع که چگونه از مکانیسم‌های گفته شده استفاده کنیم تا میزان بهبودی کامل در بیماران AML بیشتر شود و میزان بقای آن‌ها افزایش پیدا کند نیاز به تأیید بالینی روی تعداد زیادی از بیماران دارد (۲۳). در شکل ۱-۲ عوامل مرتبط با مقاومت دارویی در AML نشان داده شده است.



شکل ۱-۲- مکانیسم‌های ایجاد مقاومت دارویی در لوسمی میلوئیدی حاد (۲۳)

در AML چهار عامل اصلی باعث ایجاد مقاومت دارویی می‌شوند: ۱- پروتئین‌ها و آنزیم‌های مرتبط با ایجاد مقاومت دارویی: این پروتئین‌ها شامل P-gp، LRP، PKC، GST،

کم، با ریسک متوسط و با ریسک بالا تقسیم بندی می‌کنند. بنابراین بیمارانی که دارای ناهنجاری‌های سیتوژنتیکی $t(8;21)(q22;q22)$ [RUNX1/RUNX1T1]، $inv(16)(p13;q22)$ [CBFB/MYH11] و $t(15;17)(q24;q21)$ [PML/RARA] هستند دارای پیش‌آگهی خوبی هستند، به درمان پاسخ خوبی می‌دهند و کاملاً بهبود پیدا می‌کنند. از سوی دیگر، بیماران حامل [MLLT3/MLL] $t(9;11)(p22;q23)$ دارای پیش‌آگهی متوسط هستند و بیماران حامل $t(6;9)(p23;q34)$ [DEK/NUP214]، $inv(3)(q21;q26)$ [RPN1/EV11] و $t(1;22)(p13;q13)$ [RBM15/MKL1]، به دلیل تهاجمی بودن بیماری دارای پیش‌آگهی ضعیف هستند و به درمان خوب پاسخ نمی‌دهند. این تغییرات سیتوژنتیکی ژن‌های فیوژن را ایجاد می‌کنند که پروتئین‌های ناقص با عملکردهای تغییر یافته را کد می‌کنند (۱۴).

اهمیت ژنتیک در روند درمان بیماران AML

مکانیسم دقیق ایجاد مقاومت دارویی در سرطان هنوز مشخص نیست. مطالعات نشان می‌دهند که فاکتورهای مختلفی در ایجاد آن دخیل هستند. مقاومت سلول‌های سرطانی به داروهای شیمی درمانی متفاوت که ساختار و نحوه عملکرد متفاوتی دارند تحت عنوان مقاومت دارویی چندگانه^{۱۱} شناخته می‌شود. وقتی مقاومت دارویی چندگانه ایجاد می‌شود، تأثیر ضد سرطانی داروهای شیمی درمانی کاهش پیدا می‌کند. MDR دلیل اصلی شکست شیمی درمانی بوده و برای ایجاد متاستاز ضروری است. از مکانیسم‌های بالقوه ایجاد مقاومت دارویی و MDR می‌توان به غیر فعال سازی دارو، افزایش خروج داروها و کاهش ورود داروها، تغییر هدف داروها، فرار از پیری سلولی، ریزمحیط تومور، القای آپوپتوز، القای اتوفاژی، تنظیم سلول‌های بنیادی سرطان، تنظیم miRNAها، القای هایپوکسی^{۱۲}، تخریب و بازسازی DNA و تنظیم اپی ژنتیکی تومور اشاره کرد (۱۹).

- 61- Multi Drug Resistant
- 62- Hypoxia

و توپوایزومراز II می‌باشند که با مکانیسم‌های مختلف در ایجاد مقاومت دارویی نقش دارند. ۲- تغییرات ژنی: داروهایی که مولکول‌ها را در سلول مورد هدف قرار می‌دهند در درمان AML بسیار مهم هستند. ایجاد تغییر در هدف این داروها می‌تواند منجر به ایجاد مقاومت دارویی شود. از مهم‌ترین ژن‌هایی که در افراد مبتلا به AML دچار جهش می‌شوند و با مقاومت دارویی مرتبط هستند می‌توان به WT1، FLT3 و ژن‌های خانواده Ras اشاره کرد. ۳- miRNA-ها: این مولکول‌ها با تنظیم تقسیم سلولی، خودنوسازی سلولی و تخریب DNA باعث ایجاد مقاومت دارویی در AML می‌شوند. ۴- مسیرهای پیام‌رسانی: مسیرهای پیام‌رسانی PI3K/AKT و اتوفازژی با همکاری با مسیرهای دیگر در ایجاد مقاومت دارویی نقش دارند.

بسیاری از عوامل داخل و خارج سلولی در ایجاد مقاومت دارویی در سلول‌های بنیادی (LSCs^{۱۳}) نقش دارند و روی نهفتگی، مقاومت به آپوپتوز و پیری، تغییرات اپی ژنتیکی و حفظ ریزمحیط مغز استخوان تأثیر می‌گذارند. با وجود پیشرفت درمان‌های هدفمند و استفاده آن‌ها در بالین، ریشه کن کردن سلول‌های بنیادی لوسمیایی هنوز مشکل است. احتمالاً در حین درمان کلون‌های لوسمیایی تغییر می‌کنند که این امر باعث پیشرفت بیماری می‌شود. همان‌طور که اشاره شد، LSC‌ها کلون‌های سلولی بسیار ناهمگونی هستند و تنوع آن‌ها با ایجاد جهش در تومور بیشتر هم می‌شود.

کلون AML می‌تواند به صورت خطی یا شاخه‌ای پیشرفت کند. در الگوی خطی ابتدا جهش‌های CH^{۱۴} و سپس جهش‌های مرتبط با AML ایجاد می‌شوند. در الگوی شاخه‌ای این جهش‌ها به صورت موازی و در جمعیت‌های مختلف سلولی ایجاد می‌شوند. CH یا خون‌سازی کلونی به حالتی گفته می‌شود که سلول بنیادی خون ساز شروع به ساختن سلول‌هایی با جهش‌های مشابه

کند. جهش‌های CH در کلون AML برجسته هستند و حالت پیش بدخیمی را ایجاد می‌کنند. این جهش‌ها به طور عمده شامل جهش در ژن‌های DNMT3A، TET2 و ASXL1 (DAT) و همچنین جهش در ژن‌های TP53 و IDH1/2 هستند و می‌توانند ریسک عود مجدد در AML را افزایش دهند (۲۴).

تبدیل شدن کلون LSC به AML به واسطه جهش‌های مرتبط با AML اتفاق می‌افتد که شامل جهش در ژن‌های NPM1، FLT3 و NRAS/KRAS هستند. جهش‌ها در AML می‌توانند بعد از درمان القایی هم باقی بمانند یا انواع جدیدی از جهش‌های مرتبط با AML می‌توانند بعد از شیمی درمانی ایجاد شوند و در نهایت این عوامل باعث ایجاد مقاومت دارویی و عود مجدد می‌شوند (۲۵).

miRNA‌ها در ایجاد مقاومت دارویی در AML نقش اساسی دارند و این کار را به واسطه تغییر دادن یا کنترل کردن تقسیم سلولی، آسیب به DNA، آپوپتوز^{۱۵} و ... انجام می‌دهند (۲۶). برای مثال miR-181a در سلول‌های AML افزایش بیان دارد و باعث کاهش بیان ژن ATM می‌شود و در نتیجه سلول‌های AML به صورت مهار نشده رشد می‌کنند و مقاومت دارویی ایجاد می‌شود (۲۳). همچنین با استفاده از رویکرد DICaS^{۱۶} و تکنیک CaLR، حدود ۱۴۰۰۰ ژن کد کننده LncRNA^{۱۷} هدف گذاری شدند و آنالیزها باعث شناسایی ژن‌های جدید دخیل در چرخه سلولی، آپوپتوز و مسیرهای پیام‌رسانی سرطان شدند. یکی از LncRNA‌های به دست آمده از این بررسی GAS6-AS2 است که فعال شدن آن در سطح رونویسی باعث فعال شدن بیش از حد مسیر پیام‌رسانی GAS6/TAM می‌شود که یکی از مسیرهای ایجاد مقاومت دارویی در AML می‌باشد (۲۷).

به طور کل، عوامل درمانی باید به صورتی طراحی شوند که کلون‌های LSC تغییر یافته را مورد هدف قرار دهند.

63- Leukemic stem cells

64- Clonal hematopoiesis

65- Apoptosis

66- Dual protein-coding and non-coding integrated CRISPRa screening

67- Long non-coding RNAs



و اتوفازی و همچنین افزایش بیان برخی آنزیم‌های مرتبط با مقاومت دارویی منجر به عود مجدد و مقاومت دارویی می‌شود. بنابراین ژنتیک نقش مهمی در ایجاد مقاومت دارویی AML ایفا می‌کند. یکی از موضوعات مهم در به دست آوردن بهبود کامل در بیماران AML توانایی پیش بینی پاسخ به درمان‌های خاص، مدت زمان پاسخ دهی به دارو و احتمال ایجاد مقاومت دارویی است. با پیشرفت تکنیک‌های ژنتیکی و مولکولی پیش آگاهی^{۷۲} این بیماری در حال بهبود است. در حال حاضر بیومارکرهایی مانند FLT3 و IDH1/2 به عنوان مارکرهای پیش بینی کننده و برای شخصی سازی درمان استفاده می‌شوند. تکنیک‌های دیگر مانند تکنیک‌های اندازه گیری بیان ژن هنوز قدرت پیش بینی کافی را برای استفاده در بالین ندارند ولی احتمالاً در آینده امکان استفاده از این تکنیک‌ها و اندازه گیری بیان ژن‌ها به عنوان بیومارکر وجود دارد.

نتیجه گیری

لوسمی میلوئیدی حاد شایع‌ترین لوسمی حاد در بزرگسالان می‌باشد بیشتر تغییرات ژنتیکی مربوط به AML در طول زندگی فرد رخ می‌دهند و ارثی نیستند. برخی از این تغییرات ممکن است به دلیل عوامل خارجی مانند تشعشعات یا مواد شیمیایی سرطان زا و عوامل ناشناخته به وجود آیند. در هر صورت اساس بیماری ناشی از تغییر ژنتیکی (جهش) در ماده ژنتیک فرد می‌باشد. انجام آزمایشات ژنتیک خصوصاً روش‌های تعیین توالی نسل جدید می‌تواند در تشخیص جهش‌های بیماری زا کمک شایانی نماید. به علاوه، بررسی ارتباط برخی از جهش‌های شناخته شده در پیش آگاهی و درمان بیماری امکان پذیر شده است.

شیمی درمانی می‌تواند LSC های مقاوم به درمان را مورد هدف قرار دهد و موضوع مهمی که باید به آن توجه شود این است که کلون‌های ابتدایی مورد هدف قرار داده شده و از بین بروند تا ایجاد LSC های پلی کلونال^{۷۸} به حداقل برسد. به دلیل مکانیسم‌های متعدد ایجاد مقاومت دارویی، استفاده از درمان‌های ترکیبی برای از بین بردن LSC ها ضروری است. در نهایت، استفاده از روش‌های توالی یابی تک سلولی^{۷۹} همراه با توالی یابی وسیع ژنی^{۷۰} (مولتی اومیکس^{۷۱}) برای شناسایی مکانیسم‌های ایجاد مقاومت دارویی در LCS ها بسیار کمک کننده است. آزمایش‌های بالینی نشان می‌دهند ترکیب عوامل دارویی جدید با عوامل شیمی درمانی مرسوم، شانس درمان این بیماری را افزایش داده و برای غلبه بر مقاومت دارویی اولیه و ثانویه نیز مؤثر است (۲۸).

روندهای درمانی متداول در AML

خط اول درمانی برای این بیماری بر پایه رژیم دانوروبیسین یا ایداروبیسین همراه با سیتوزین آرابینوزید می‌باشد. با این وجود میزان بهبودی کامل در بیماران AML و مخصوصاً در افراد مسن هنوز امید بخش نیست و کمتر از ۳۰ درصد بیماران بقای تا ۵ سال دارند. همچنین میزان عود مجدد بعد از بهبودی کامل هنوز هم بالاست. مقاومت سلول‌های لوسمی به داروهای شیمی درمانی مهم‌ترین مانع برای درمان AML می‌باشد. مقاومت به داروهای شیمی درمانی می‌تواند ذاتی یا اکتسابی باشد. در بیماران مبتلا به AML برخی از انواع جهش‌های ژنی، بیان غیرطبیعی برخی miRNA های مرتبط با مقاومت دارویی، تنظیم مثبت مسیرهای پیام رسانی PI3K/AKT

- 68- Polyclonal
- 69- Single-Cell Sequencing
- 70- Whole Genome Sequencing
- 71- Multi Omics
- 72- Prognosis

References:

- 1- Döhner H, Weisdorf DJ, Bloomfield CD. Acute myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2015;373(12):1136-52.
- 2- Ranjbar M, Barouni M, Moazed V, Fallahzadeh H, Sheikholeslami S. Survival rate of patients with acute leukemia: a case study in Iran. *Evidence Based Health Policy, Management and Economics*. 2020.
- 3- Yi M, Li A, Zhou L, Chu Q, Song Y, Wu K. The global burden and attributable risk factor analysis of acute myeloid leukemia in 195 countries and territories from 1990 to 2017: estimates based on the global burden of disease study 2017. *Journal of hematology & oncology*. 2020;13(1):1-16.
- 4- Appelbaum FR. Acute leukemias in adults. *Abeloff's Clinical Oncology: Elsevier*; 2014. p. 1890-906.
- 5- Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2009;114(5):937-51.
- 6- De Kouchkovsky I, Abdul-Hay M. Acute myeloid leukemia: a comprehensive review and 2016 update. *Blood cancer journal*. 2016;6(7):e441-e.
- 7- Vosberg S, Greif PA. Clonal evolution of acute myeloid leukemia from diagnosis to relapse. *Genes, chromosomes and cancer*. 49-839(12)58;2019.
- 8- Lagunas-Rangel FA, Chávez-Valencia V, Gómez-Gujosa MA, Cortes-Penagos C. Acute myeloid leukemia—genetic alterations and their clinical prognosis. *International journal of hematology-oncology and stem cell research*. 2017;11(4):328.
- 9- Faderl SH, Kantarjian HM, Estey E. *Acute leukemias: Springer*; 2021.
- 10- Estey E, Döhner H. Acute myeloid leukaemia. *The Lancet*. 2006;368(9550):1894-907.
- 11- Short NJ, Konopleva M, Kadia TM, Borthakur G, Ravandi F, DiNardo CD, Daver N. Advances in the treatment of acute myeloid leukemia: new drugs and new challenges. *Cancer discovery*. 2020;10(4):506-25.
- 12- Lo-Coco F, Avvisati G, Vignetti M, Thiede C, Orlando SM, Iacobelli S, et al. Retinoic acid and arsenic trioxide for acute promyelocytic leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2013;369(2):111-21.
- 13- Grimwade D, Freeman SD. Defining minimal residual disease in acute myeloid leukemia: which platforms are ready for "prime time"? *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2014;124(23):55-3345.
- 14- Saultz JN, Garzon R. Acute myeloid leukemia: a concise review. *Journal of clinical medicine*. 2016;5(3):33.
- 15- Stein EM, Altman JK, Collins R, DeAngelo DJ, Fathi AT, Flinn I, et al. AG-221, an oral, selective, first-in-class, potent inhibitor of the IDH2 mutant metabolic enzyme, induces durable remissions in a phase I study in patients with IDH2 mutation positive advanced hematologic malignancies. *Blood*. 2014;124(21):115.
- 16- Kojima K, Komblau SM, Ruvolo V, Dilip A, Duvvuri S, Davis RE, et al. Prognostic impact and targeting of CRM1 in acute myeloid leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2013;121(20):4166-74.
- 17- Gasiorowski RE, Clark GJ, Bradstock K, Hart DN. Antibody therapy for acute myeloid leukaemia. *British journal of haematology*. 2014;164(4):481-95.
- 18- Gill S, Tasian SK, Ruella M, Shestova O, Li Y, Porter DL, et al. Preclinical targeting of human acute myeloid leukemia and myeloblast using chimeric antigen receptor-modified T cells. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2014;123(15):2343-54.
- 19- Wang X, Zhang H, Chen X. Drug resistance and combating drug resistance in cancer. *Cancer Drug Resistance*. 2019;2(2):141.
- 20- Holohan C, Van Schaeybroeck S, Longley DB, Johnston PG. Cancer drug resistance: an evolving paradigm. *Nature Reviews Cancer*. 2013;13(10):714-26.
- 21- Prada-Arismendy J, Arroyave JC, Röthlisberger S. Molecular biomarkers in acute myeloid leukemia. *Blood reviews*. 2017;31(1):63-76.
- 22- Kirtonia A, Pandya G, Sethi R, Pandey AK, Das BC, Garg M. A comprehensive review of genetic alterations and molecular targeted therapies for the implementation of personalized medicine in acute myeloid leukemia. *Journal of molecular medicine*. 2020;98:1069-91.
- 23- Liu X, Liao W, Peng H, Luo X, Luo Z, Jiang H, Xu L. miR-181a promotes G1/S transition and cell proliferation in pediatric acute myeloid leukemia by targeting ATM. *Journal of cancer research and clinical oncology*. 2016;142:77-87.
- 24- Morita K, Wang F, Jahn K, Hu T, Tanaka T, Sasaki Y, et al. Clonal evolution of acute myeloid leukemia revealed by high-throughput single-cell genomics. *Nature communications*. 2020;11(1):5327.
- 25- Shlush LI, Mitchell A, Heisler L, Abelson S, Ng SW, Trotman-Grant A, et al. Tracing the origins of relapse in acute myeloid leukaemia to stem cells. *Nature*. 2017;547(7661):104-8.
- 26- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*. 2011;144(5):646-74.
- 27- Bester AC, Lee JD, Chavez A, Lee Y-R, Nachmani D, Vora S, et al. An integrated genome-wide CRISPRa approach to functionalize lncRNAs in drug resistance. *Cell*. 2018;173(3):649-64. e20.
- 28- Niu J, Peng D, Liu L. Drug resistance mechanisms of acute myeloid leukemia stem cells. *Frontiers in Oncology*. 2022;12:896426.

