

Эпигенетика острого миелоидного лейкоза у детей и взрослых

Руденко В.В.¹, Танас А.С.^{1,2}, Попа А.В.³, Залетаев Д.В.^{1,2,4}, Стрельников В.В.^{1,2*}

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, 115478; e-mail: shkarupo@mail.ru

² Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, 117997; e-mail: vstrel@list.ru

³ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина, Москва, 115478; e-mail: apopa@list.ru

⁴ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, 119991; e-mail: zalnem@mail.ru

Эпигенетические нарушения играют важную роль в процессах лейкемогенеза. В настоящем обзоре изложены современные представления об эпигенетических механизмах, вовлеченных в процесс формирования и прогрессии острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) у детей и взрослых. Подробно охарактеризованы нарушения генной экспрессии при ОМЛ вследствие деацетилирования гистонов, метилирования промоторных CpG-островков, а также посттрансляционного воздействия миРНК. В обзоре представлены наиболее изученные эпигенетические маркеры, а также краткий обзор собственного исследования маркеров метилирования ДНК при ОМЛ у детей. Рассматриваются терапевтические схемы воздействия на эпигенетическое звено патогенеза. Взаимодействие процессов ацетилирования/деацетилирования гистонов и деметилирования/метилирования ДНК представлено как значимое событие для определения курса терапии пациентов с ОМЛ.

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз, модификации гистонов, метилирование ДНК, миРНК, внутриядерный рецептор ретиноидов X, аденин/урацил-богатые последовательности мРНК.

Финансирование. Руденко В.В. является получателем стипендии Президента Российской Федерации для молодых ученых и аспирантов, осуществляющих перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Epigenetics of acute myeloid leukemia in adults and children

Rudenko V.V.¹, Tanas A.S.^{1,2}, Popa A.V.³, Zaletaev D.V.^{1,2,4}, Strelnikov V.V.^{1,2}

¹ Research Centre for Medical Genetics, Moscow, 115478, Russia, e-mail: shkarupo@mail.ru

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997, Russia, e-mail: vstrel@list.ru

³ N.N. Blokhin Russian Research Center for Oncology, Moscow, 115478, Russia, e-mail: apopa@list.ru

⁴ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, 119991, Russia, e-mail: zalnem@mail.ru

Epigenetic alterations play a significant role in leukemogenesis. Here we present the current view on the epigenetic phenomena involved in the formation and progression of acute myeloid leukemia in children and adults. These include aberrant gene silencing by deactivating histone marks, aberrant DNA methylation of promoter CpG-islands, and posttranslational regulation of gene expression by means of miRNA. We present the most well studied epigenetic markers of acute myeloid leukemia in children and adults and briefly review our own recent advances in the field. Due attention is given to the epigenetic agents for acute myeloid leukemia treatment. We highlight the significance of the histone modifications and DNA methylation crosstalk which is to be considered in the developing of the treatment regimens.

Keywords: acute myeloid leukemia, histone modifications, DNA methylation, miRNA, nuclear retinoid X receptor, adenine/uracil-rich mRNA sequences.

Введение

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) — злокачественное новообразование миелоидного ростка кроветворения. ОМЛ является наиболее распространенной формой острого лейкоза у взрослых [1] и встречается в 15—20% случаев острого лейкоза у детей [2]. Цитогенетические аномалии и мутации генов при ОМЛ хорошо известны и используются для классификации заболеваний, предлежонной ВОЗ [3]. В процесс озлокачествления миелоидного ростка вовлечены молекулярные события, по крайней мере, двух типов. Нарушения I типа представляют собой мутации в генах *FLT3*, *KIT*, *NRAS*, *KRAS* и *PTPN11*, ответственных за

пролиферацию и/или апоптоз лейкозных клеток [4]. Аномалии II типа заключаются в нарушении клеточной дифференцировки и обусловлены, главным образом, нарушениями структуры и функции транскрипционных факторов: *t(8;21)(q22;q22)/AML-ETO*, *11q23/MLL*, *NPM1*, *CEBPA* и др. [5]. Показано также, что в лейкемогенезе помимо нарушений I и II типов участвуют эпигенетические механизмы [6]. Исследования этой области способны пролить свет на биологическую природу заболевания и привести к совершенствованию клинической классификации ОМЛ с целью стратификации рисков и индивидуализации таргетной терапии [7].

Эпигенетика ОМЛ у взрослых

Модификации гистонов

Степень ацетилирования хроматина определяется гистоновыми ацетилтрансферазами (НАТ) и деацетилазами (HDAC) и является одним из фундаментальных механизмов регуляции транскрипции. Ацетилирование гистонов способствует усилению транскрипционной активности генов за счет повышения доступности их промоторных областей транскрипционным факторам. Напротив, деацетилирование гистонов приводит к компактизации хроматина и потере способности ДНК взаимодействовать с факторами транскрипции [8–10].

Ярким доказательством участия деацетилирования гистонов в процессе лейкемогенеза является наблюдение эффективного излечения пациентов с острым промиелоцитарным лейкозом (ОПЛ) полностью транс-ретиноевой кислотой — ATRA (табл. 1). Хорошо известно, что хромосомная транслокация t(15;17), патогномичная для ОПЛ, приводит к разрыву генов *PML* на хромосоме 15 и *RARA* на хромосоме 17 с образованием химерного онкогена *PML-RARA*. Химерный белок *PML/RARα* снижает транскрипционную активность генов-мишеней за счет образования стабильного комплекса между ядерным корепрессором и гистоновой деацетилазой в промоторных областях генов-мишеней. Под воздействием фармакологических концентраций (10^{-7} – 10^{-6} моль/л) полностью транс-ретиноевой кислоты компоненты комплекса освобождаются от консолидирующего воздействия *PML/RARα*, после чего ко-активатор и гисто-

новая ацетилтрансфераза восстанавливают транскрипционную активность и дифференцировку гемопоэтических стволовых клеток [18].

В то же самое время существует тесное взаимодействие между деацетилированием гистонов и еще одним фундаментальным механизмом регуляции транскрипции — метилированием ДНК. Метилирование ДНК приводит к нарушению экспрессии генов за счет создания сайтов связывания для метил-зависимых белков-репрессоров, либо за счет снижения доступности таргетной последовательности для транскрипционных факторов. Присоединение метильной группы к ДНК катализируется ферментами метилтрансферазами (DNMT). В клетках млекопитающих существует три биологически активных формы ДНК-метилтрансфераз: DNMT1, DNMT3A и DNMT3B. При высоких уровнях метилирования механизм вовлечения HDAC в процессы регуляции транскрипции реализуется через непосредственное взаимодействие HDAC с DNMT1, либо за счет ассоциации с белками, содержащими домены для связывания метилированной ДНК [19]. Возможно, это общий механизм, определяющий функциональное значение химерных онкогенов при ОМЛ. Известно, что химерные белки *PML/RARα* при ОПЛ с транслокацией t(15;17) и *RUNX1/MTG8* при t(8;21)(q22;q22) действуют как негативные регуляторы транскрипции генов через взаимодействие с DNMT1 и HDAC1 [20, 23].

Взаимодействие двух фундаментальных механизмов эпигенетической регуляции может быть проде-

Таблица 1

Эпигенетические препараты для лечения острого миелоидного лейкоза.

HDAC — гистоновые деацетилазы; FR901228 — депсипептид (ромидепсин); ATRA — полностью транс-ретиноевая кислота; ATO — триоксид мышьяка

Эпигенетический модификатор	Биологическая роль	Терапевтический агент	Стадия клинических исследований [ссылка]
HDAC	Деацетилирование гистонов; регулирует доступность ДНК для транскрипционных факторов	FR901228	Фаза II (NCT00042822) [11]
PML-RARA	Снижает экспрессию таргетных генов за счет взаимодействия с белковым комплексом N-CoR — HDAC	ATRA+ATO	Фаза II (NCT01409161) [12]
Белки с бромодоменами (BRD2/3/4)	Участвуют в ремоделировании хроматина, модулируют экспрессию генов <i>BCL2</i> и <i>c-MYC</i>	OTX015	Фаза I (NCT01713582) [13]
DOT1L	Метилтрансфераза, специфичная для лизина 79 в гистоне 3 (H3K79), вовлеченная в ОМЛ с транслокациями t(9;11) и t(11;19)	EPZ-5676	Фаза I (NCT01684150) [14]
DNMT3A	Катализирует метилирование цитозина	5-aza-2' deoxycytidine	Клиническое использование (NCT00968071) [15]
TET2	Катализирует окисление 5-метилцитозина до 5-гидроксиметилцитозина, фактически приводя к утрате метилирования ДНК	azacitidine	Доклиническая [16]
EZH2	Компонент PRC2 (polycomb repressive complex 2) с метилтрансферазной активностью	E7438	Доклиническая [17]

монстрировано на примере ОМЛ с транслокацией t(8;21)(q22;q22). Эта несбалансированная транслокация приводит к образованию химерного гена *RUNX1/MTG8*, состоящего из amino-терминального участка гена *RUNX1* (21q22) и гена *MTG8* с практически сохранной длиной (8q22) [24]. Один из двух химерных партнеров — ген *RUNX1* — кодирует субъединицу ядерного связывающего фактора [25]. Как транскрипционный фактор *RUNX1* вовлекает дополнительные кофакторы, в том числе ацетилтрансферазу гистонов, опосредуя изменения хроматина, иницирующие транскрипцию, что, в конечном итоге, приводит к экспрессии генов-мишеней [26]. Его химерный партнер — *MTG8* — предполагаемый репрессор транскрипции. В составе химерного транскрипта *MTG8* формирует стабильный комплекс с N-CoR/mSin3A и гистоновыми деацетилазами, которые присоединяются к промоторным зонам генов-мишеней за счет части *RUNX1* [27]. Связующим звеном между активностью DNMT и HDAC, а следовательно, между деацетилизацией гистонов и метилированием ДНК, являются MeCP2 и другие белки, связывающиеся с метилированной ДНК и входящие в состав комплекса N-CoR/mSin3A/HDAC [28, 29]. Деметилирующие агенты и препараты, ингибирующие HDAC, восстанавливают экспрессию генов, нарушенную за счет метилирования ДНК и деацетилирования гистонов. Было показано, что ингибитор HDAC — депептид (FR228) вместе с ингибитором DNMT — децитабином (5-аза-2'-деоксицитидин) усиливают транскрипцию гена-мишени для *RUNX1* — *IL3* — в *RUNX1/MTG8*-позитивных клетках [30, 31]. Таким образом, функция химерного белка *RUNX1/MTG8* как репрессора транскрипции опосредована деацетилизацией гистонов и метилированием ДНК.

Аналогичную роль играет химерный белок inv(16)/CBFB-MYH11, который также взаимодействует с Sin3A и HDAC. Inv(16)-опосредованная репрессия транскрипции чувствительна к ингибитору HDAC. Получены результаты, подтверждающие, что активность HDAC, привлекаемой белком Sin3A, приводит к снижению экспрессии генов-мишеней, опосредованной соответствующим химерным белком [32].

Метилирование ДНК

Нормальный профиль метилирования ДНК важен для развития организма, дифференцировки тканей и поддержания гомеостаза клетки [33]. Паттерны метилирования ДНК наследуются при делении клеток с высокой точностью. Нарушение распределения метилирования (гиперметилирование или гипометилирование) является маркерным событием процесса канцерогенеза и может играть значимую роль в инициации и прогрессии опухолевого перерождения генома.

Значение аномального метилирования при ОМЛ доказывается терапевтической эффективностью деметилирующего агента Децитабина (5-аза-2'-деоксицитидин) (табл. 1). Децитабин — лекарство, в настоящее время широко используемое для лечения ОМЛ; его гипометилирующий эффект достигается за счет ингибирования ДНК-метилтрансфераз.

Аномальное метилирование при ОМЛ характерно для промоторных областей ряда генов, в норме отвечающих за баланс между клеточной дифференцировкой и ростом клетки. Примером аномального метилирования генов супрессоров опухолевого роста является метилирование *CDKN2B/p15* [34–36], *ESR1* [37–39], *IGSF4* [40], обнаруженное при различных видах лейкемии и других видах миелоидных неоплазий. Гиперметилирование промоторных областей этих генов приводит к снижению их экспрессии [41–46]. Кроме того, статус метилирования генов *ESR1*, *CDKN2B/p15*, *IGSF4* позволяет идентифицировать подгруппы пациентов с достоверными различиями в общей выживаемости ($p < 0,0001$) [47]. Значимость статуса метилирования отдельных генов с точки зрения фенотипирования ОМЛ не всегда очевидна. Однако на основе анализа большого числа генов было сделано предположение, что отдельные аномалии метилирования при ОМЛ могут быть не случайными событиями, а отражением глобальных нарушений процессов метилирования ДНК [48, 49].

Figueoa с соавторами (2010) предположили, что профили аномального метилирования ДНК при ОМЛ могут кластеризоваться в уникальные паттерны, характеризующие различные биологические подтипы опухолей с разной чувствительностью к терапевтическим схемам [7]. В подтверждение этой гипотезы был представлен сравнительный анализ профилей метилирования ДНК в выборке 344 взрослых пациентов с ОМЛ. По профилю метилирования образцы были разделены на 16 групп. Три группы соответствовали подтипам ОМЛ, выделяемым классификацией ВОЗ (2008): t(8;21), inv(16) и t(15;17). Восемь групп имели специфические генетические или цитогенетические нарушения. Пять оставшихся групп, кластеризованных по профилю метилирования, не имели специфических морфологических, цитогенетических или молекулярных особенностей. Результаты исследования подтверждают, что при ОМЛ метилирование ДНК является не результатом случайного распределения, а организовано в четко определяемые паттерны [7], которые могут быть использованы для диагностики и прогнозирования ОМЛ при отсутствии генетических и цитогенетических аномалий [50, 51].

МикроРНК

МикроРНК (миРНК) представляют собой короткие (18–25 нуклеотидов) высококонсервативные некодирующие последовательности РНК, которые регулируют экспрессию более чем 60% генов человека. Действие миРНК достигается за счет связывания участка их по-

следовательности (как правило, это 2–8 нуклеотидов на 5'-конце миРНК) с частично комплементарной последовательностью в 3'-нетранслируемой области (3'-UTR) таргетной мРНК. Это приводит к ингибированию трансляции или дестабилизации мРНК за счет деаденирования и, таким образом, к снижению экспрессии соответствующего белка [52]. Поскольку нарушения экспрессии миРНК и мРНК-мишеней зачастую наблюдаются в злокачественных новообразованиях, нельзя исключить их инициирующую роль в озлокачествлении тканей. МиРНК вовлечены в процессы нарушения дифференцировки, пролиферации и апоптоза гемопоэтических стволовых клеток при ОМЛ. Изучение профилей экспрессии миРНК используется для характеристики генетической гетерогенности опухолей, определения чувствительности к терапии, прогноза заболевания наряду с другими генетическими и эпигенетическими маркерами.

Показано, что функции миРНК могут отличаться в различных клеточных типах. Так, миРНК-221 и миРНК-222 функционируют как супрессоры опухолевого роста в клетках эритробластного лейкоза, в то же самое время, действуя как онкогены в солидных опухолях [53]. Двойственность значения миРНК-221/222 указывает на специфические различия молекулярных механизмов, включая роль миРНК, в солидных опухолях и при онкогематологических заболеваниях.

Fazi F. с соавторами было показано, что миРНК-223 специфически экспрессируется в клетках миелоидного ростка кроветворения и является важным участником процесса дифференцировки миелоидных клеток у человека. При ОПЛ после применения ретиноевой кислоты экспрессия миРНК-223 повышается *in vivo* и *in vitro* [54]. Garzon R. с соавторами продемонстрировали, что у пациентов с ОПЛ, прошедших курс АТРА, начинают экспрессироваться миРНК, большая часть которых в качестве мишеней имеют гены, вовлеченные в дифференцировку гемопоэтических стволовых клеток. В этом исследовании было показано, что миРНК-223 и миРНК-107 подавляют экспрессию NF1-A — белка, контролирующего гены, ответственные за регуляцию клеточного роста [55].

Ген *MIR155HG* (chr21q21.3) кодирует миРНК-155. В норме миРНК-155 присутствует при воспалительном ответе в гемопоэтических стволовых клетках и клетках-предшественниках миелоидного ростка кроветворения под транскрипционным контролем ядерного фактора κВ (NF-κВ) и активирующего белка 1 (AP-1) [56]. Онкогенный эффект опосредован снижением экспрессии генов *SHIP* и *C/EBPβ*. Оба гена были определены как мишени для миРНК-155 с помощью ресурса TargetScan (www.targetscan.org), впоследствии это было подтверждено люциферазным тестом [57]. Трансдукция лейкозных клеток миРНК-155 ведет, помимо снижения экспрессии *SHIP*, к ингибированию *PTEN* и *PDCD4* — генов супрессоров опухолевого роста. Белки SHIP и PTEN яв-

ляются негативными регуляторами PI3K-опосредованной имortalизации клетки [58]. Потенциальная онкогенная роль миРНК-155 также подтверждена усилением ее экспрессии в лимфомах, агрессивных подтипах хронического лимфоидного лейкоза и ряде солидных опухолей. При ОМЛ высокая экспрессия миРНК-155 часто ассоциирована с внутренней тандемной дупликацией гена *FLT3 (FLT3-ITD)* (табл. 2), которая является маркером плохого прогноза для пациента [54, 66]. Однако на настоящий момент неизвестно, является ли гиперэкспрессия миРНК-155 фактором, влияющим на прогноз течения заболевания независимо от *FLT3-ITD* и других известных прогностических факторов или в комплексе с ними.

Одна из самых изученных миРНК — *let-7* — известна как супрессор опухолевого роста благодаря своему воздействию на онкогены *NRAS*, *KRAS*, *MYC*, *HMG2*, *IMP1* и *TRIM71*, показанному для различных типов злокачественных новообразований [67–70]. Garzon R. с соавторами показали гиперэкспрессию миРНК *let-7a-3*, *let-7c*, *let-7d* у пациентов с ОПЛ, прошедших курс лечения полностью транс-ретиноевой кислотой. АТРА индуцирует связывание NF-κВ и промоторной области кластера *let-7a-3/let-7*, активируя тем самым его транскрипцию. В том же исследовании было показано, что снижение экспрессии *RAS* и *BCL2* под действием АТРА коррелирует с активацией миРНК (*let-7a* и *miR-15a/miR-16-1* соответственно), являющихся регуляторами этих белков [55].

Полногеномное исследование экспрессии миРНК продемонстрировало, что лейкозные клетки пациентов с ОМЛ и нормальные гемопоэтические стволовые клетки имеют различные экспрессионные паттерны миРНК [55, 61–62, 71]. Пациенты с *t(8;21)/AML1-ETO* или *inv(16)/CBFβ-MYH11* отличались от других пациентов с ОМЛ высоким и низким уровнем экспрессии миРНК-126/126* [62] и *let-7b/c* [61] соответственно. Высокая экспрессия других миРНК, включая миРНК-382, была уникальна для ОПЛ-RARα [61, 71]. При ОМЛ с перестановками гена *MLL* была показана гиперэкспрессия онкогенной миРНК-17-92 [62] и снижение экспрессии опухолевого супрессора миРНК-29 [55]. Уровни экспрессии миРНК ассоциированы с молекулярными подтипами ОМЛ, мутационным статусом и паттернами генной экспрессии при ОМЛ. Случаи ОМЛ без цитогенетических аномалий, но имеющие благоприятные для прогноза мутации в гене *C/EBPα* демонстрировали высокие уровни миРНК-181 [65], в то время как цитогенетически нормальные случаи, с прогностически неблагоприятными мутациями в гене изоцитрат дегидрогеназы 2 (*IDH2*), показывали высокие уровни миРНК-1 и миРНК-133a, по сравнению с цитогенетически нормальными, не имевшими соответствующих маркерных мутаций. Цитогенетически нормальные пациенты, имевшие прогностически благоприятные мутации в гене нуклеоплазмина (*NPM1*)

показали гиперэкспрессию таких миРНК, как миРНК-10а, миРНК-10б, миРНК-100, миРНК-196а, миРНК-196б и let-7, в то время как миРНК-126, миРНК-130а и миРНК-451 демонстрировали снижение экспрессии по сравнению с пациентами, не имевшими мутаций в гене *NPM1* [60].

Суммируя все вышесказанное, можно утверждать, что миРНК играют важную роль в процессе лейкемогенеза и, следовательно, могут быть кандидатами для таргетной терапии, в то время как паттерны экспрессии миРНК — служить в качестве диагностических и прогностических маркеров ОМЛ.

Таблица 2

МикроРНК, характеризующие различные цитогенетические и молекулярные подтипы ОМЛ

миРНК	Аномальная экспрессия	Подтип ОМЛ	Контроль	Ссылка
У детей				
miR-29a,b,c	Низкая (-8-50)	ОМЛ с транслокацией 11q23/MLL	ОМЛ без транслокации 11q23/MLL	[59]
miR-155	Высокая (+2/+5)	ОМЛ с <i>FLT3-ITD</i>	ОМЛ без <i>FLT3-ITD</i>	
miR-196a	Высокая (+45)	ОМЛ с транслокацией 11q23/MLL	ОМЛ без транслокации 11q23/MLL	
miR-196b	Высокая (+212)	ОМЛ с транслокацией 11q23/MLL	ОМЛ без транслокации 11q23/MLL	
У взрослых				
let7a	Высокая (+2)	ЦН-ОМЛ с мутациями <i>NPM1</i>	ЦН-ОМЛ без мутаций <i>NPM1</i>	[60]
let7b	Высокая (+3)	ОМЛ с <i>inv(16)/CBFb-MYH11</i>	ОМЛ без <i>inv(16)/CBFb-MYH11</i>	[61]
	Низкая (-4)	ОМЛ с <i>t(8;21)/AML1-ETO</i>	ОМЛ без <i>t(8;21)/AML1-ETO</i>	
let7c	Низкая (-4)	ОМЛ с <i>inv(16)/CBFb-MYH11</i>	ОМЛ без <i>inv(16)/CBFb-MYH11</i>	[61]
	Низкая (-5)	ОМЛ с <i>t(8;21)/AML1-ETO</i>	ОМЛ без <i>t(8;21)/AML1-ETO</i>	
	Высокая (+2)	ЦН-ОМЛ с мутациями <i>NPM1</i>	ЦН-ОМЛ без мутаций <i>NPM1</i>	[60]
miR-17-92	Высокая	ОМЛ с транслокацией 11q23/MLL	ОМЛ без транслокации 11q23/MLL	[62]
miR-1	Высокая (+4/+10)	ЦН-ОМЛ с мутациями <i>IDH2</i>	ЦН-ОМЛ без мутаций <i>IDH1/IDH2</i>	[63]
miR-10a	Высокая (+10)	ЦН-ОМЛ с мутациями <i>NPM1</i>	ЦН-ОМЛ без мутаций <i>NPM1</i>	[60]
miR-10b	Высокая (+2/+8)	ЦН-ОМЛ с мутациями <i>NPM1</i>	ЦН-ОМЛ без мутаций <i>NPM1</i>	[60]
miR-29	Низкая (-8-50)	ОМЛ с транслокацией 11q23/MLL	ОМЛ без транслокации 11q23/MLL	[55]
	Высокая (-3)	ЦН-ОМЛ с мутациями <i>NPM1</i>	ЦН-ОМЛ без мутаций <i>NPM1</i>	
miR-100	Высокая (+3)	ЦН-ОМЛ с мутациями <i>NPM1</i>	ЦН-ОМЛ без мутаций <i>NPM1</i>	[60]
miR-107	Низкая	ЦН-ОМЛ с мутациями <i>NPM1</i>	ЦН-ОМЛ без мутаций <i>NPM1</i>	[60]
miR-126/126*	Высокая	ОМЛ с <i>inv(16)/CBFb-MYH11</i> или <i>t(8;21)/AML1-ETO</i>	ОМЛ с <i>inv(16)/CBFb-MYH11</i> или <i>t(8;21)/AML1-ETO</i>	[62]
	Низкая (-3)	ЦН-ОМЛ с мутациями <i>NPM1</i>	ЦН-ОМЛ без мутаций <i>NPM1</i>	[60]
miR-130a	Низкая (-3)	ЦН-ОМЛ с мутациями <i>NPM1</i>	ЦН-ОМЛ без мутаций <i>NPM1</i>	[60]
miR-133a	Высокая (+4/+7)	ЦН-ОМЛ с мутациями <i>IDH2</i>	ЦН-ОМЛ без мутаций <i>IDH1/IDH2</i>	[63]
miR-155	Высокая (+2/+8)	ОМЛ с <i>FLT3-ITD</i>	ОМЛ без <i>FLT3-ITD</i>	[64]
miR-181	Высокая (+2)	ЦН-ОМЛ с мутациями <i>C/EBPα</i>	ЦН-ОМЛ без мутаций <i>C/EBPα</i>	[65]
miR-196a	Высокая (+2)	ЦН-ОМЛ с мутациями <i>NPM1</i>	ЦН-ОМЛ без мутаций <i>NPM1</i>	[61]
miR-196b	Высокая (+2)	ЦН-ОМЛ с мутациями <i>NPM1</i>	ЦН-ОМЛ без мутаций <i>NPM1</i>	[61]
miR-382	Высокая (+58)	ОМЛ с <i>t(15;17)/PML-RARα</i>	ОМЛ без <i>t(15;17)/PML-RARα</i>	[61]
miR-451	Низкая (-3)	ЦН-ОМЛ с мутациями <i>NPM1</i>	ЦН-ОМЛ без мутаций <i>NPM1</i>	[60]

Примечание. ЦН-ОМЛ — цитогенетически нормальный ОМЛ; *NPM1* — нуклеоплазмин; *IDH1/2* — изоцитрат дегидрогеназа 1/2

Эпигенетика ОМЛ у детей

Профиль молекулярно-генетических нарушений при ОМЛ у детей не соответствует таковому у взрослых пациентов. Эпигенетические паттерны, наблюдаемые у взрослых, также не могут быть экстраполированы на детский ОМЛ. Несмотря на то, что результаты исследований эпигенетических аномалий при детском ОМЛ противоречивы, исследователи сходятся во мнении, что существуют возрастные различия в спектре мутаций генов, отвечающих за эпигенетические модификации [6], а также в гиперметилировании промоторных областей генов, вовлеченных в контроль клеточного цикла [72]. Это также относится к экспрессионным паттернам мРНК [59].

Экспрессия мРНК варьирует в различных подтипах детского ОМЛ. Высокие уровни экспрессии мРНК-196a/b были показаны при перестановках гена *MLL*, мутациях *NPM1* и *FLT3-ITD* при отсутствии цитогенетических аномалий. Напротив, случаи с мутациями в гене *C/EBPα* демонстрировали низкую экспрессию мРНК-196a/b. Экспрессия мРНК-155 не обнаруживалась в ОМЛ без цитогенетических аномалий, а при мутациях в *NPM1* и *FLT3-ITD*, напротив, наблюдалась ее гиперэкспрессия. Низкие уровни экспрессии мРНК-29a у детей с ОМЛ выявлены главным образом при перестройках гена *MLL*, особенно у носителей перестройки t(10;11) [59, 73].

У детей с ОМЛ была изучена частота мутаций в генах, отвечающих за эпигенетические модификации (метилирование ДНК и модификация гистонов): *TET2*, *IDH1*, *IDH2*, *EZH2*, *DNMT3A* и *ASXL1*. Большая часть этих генов имеют высокую частоту мутаций при ОМЛ у взрослых, 12—35% в зависимости от выборки [63, 74—77]. При детском ОМЛ мутации в этих генах обнаруживаются крайне редко [6, 78]. Несмотря на это многие другие онкогены и гены-супрессоры опухолевого роста могут иметь отношение к лейкозной трансформации благодаря прямому или опосредованному воздействию на эпигенетический статус клетки.

Было продемонстрировано различие в метилировании ряда генов у взрослых и детей с ОМЛ. Например, низкая частота метилирования промоторных областей генов *CDKN2B* (*p15*), *RARB* и высокая частота метилирования гена *ESR1* была более характерна для детей, чем для взрослых пациентов с ОМЛ [72, 79]. Очевидно, необходимы дальнейшие исследования вовлеченности эпигенетических аномалий в патогенез детского ОМЛ с использованием широкогеномных технологий. Значимость этих исследований подтверждается уже обнаруженными различиями в уровнях метилирования у детей с лейкозами, ассоциированными с inv(16)/CBFb-MYH11, и ОМЛ с перестройками в сегменте 11q23. Выраженное гиперметилирование промоторных областей при inv(16)/CBFb-MYH11 демонстрирует значимость аномального метилирования в процессе лейкемогенеза [72]. В работе Larmonie

N.C.D. с соавторами было представлено полногеномное исследование профиля метилирования CpG-островков на репрезентативной и хорошо охарактеризованной на молекулярном уровне выборке пациентов с детским ОМЛ. Показано, что пациенты-носители inv(16)(p13;q22) имеют уникальный профиль метилирования по сравнению с остальными пациентами (ОМЛ с перестройками *MLL*, t(8;21), t(15;17), t(8;16) и цитогенетически нормальные формы) [80].

Раскрытие механизмов, лежащих в основе эпигенетических изменений, приводящих к ОМЛ, должно способствовать созданию новых лекарственных препаратов для лечения ОМЛ у детей. Исследования в этой области немногочисленны, однако они демонстрируют, что образцы детского ОМЛ имеют различные профили метилирования ДНК, что может служить основанием для введения в курс терапии деметилирующих агентов и/или ингибиторов гистоновых деацетилаз для некоторых из подтипов ОМЛ [80].

Профили метилирования ДНК, наравне с молекулярным профилированием подтипов ОМЛ с различной чувствительностью к используемым терапевтическим схемам, могут служить универсальным маркером ОМЛ, в частности, маркером для определения минимальной остаточной болезни (МОБ) при детском ОМЛ. В случае определения МОБ метилирование как универсальный маркер злокачественного процесса потенциально полезен в тех случаях, когда цитогенетические аномалии и/или мутации в генах отсутствуют или неочевидны. Различные цитогенетические аномалии у детей с ОМЛ встречаются у 50%, генные мутации обнаруживаются как в цитогенетически позитивных, так и негативных случаях заболевания [4]. Однако разнообразие этих нарушений осложняет определение МОБ при ОМЛ у детей. Определение профиля метилирования может быть ценным универсальным инструментом прогнозирования заболевания, включая определение МОБ.

Для идентификации универсальных маркеров метилирования ДНК при ОМЛ нами была использована модификация метода амплификации интерметилированных сайтов, представляющая собой способ скрининга дифференциального метилирования ДНК [81, 82], на выборке из 32 детей с первичным ОМЛ. Было идентифицировано 16 новых геномных локусов, аномально метилированных при детском ОМЛ, из них 15 принадлежали промоторным CpG-островкам различных генов, а один — межгенному CpG-островку в участке 7p21.1 [83]. В ряде предыдущих исследований другими авторами уже была показана инактивация метилированием промоторных областей трех из 15 генов, обнаруженных нами (*EGFLAM*, *CLDN7* и *CXCL14*) [84, 94, 96, 98]. Кроме того, для двух других генов, *RXRα* и *KHSRP*, показано вовлечение белковых продуктов в систему эпигенетической регуляции генной экспрессии при ОМЛ [85, 86, 93].

Белок RXRA — ключевой элемент онкогенного комплекса при ОПЛ. Внутрядерный рецептор ретиноидов X (RXR) и рецептор ретиноевой кислоты (RAR) опосредуют биологические эффекты активации экспрессии генов ретиноевой кислотой. Регуляция транскрипции происходит за счет присоединения гомо- или гетеродимерных рецепторов к таргетным последовательностям промоторных областей генов. При отсутствии лиганда (ретиноевой кислоты) гетеродимер RXR/RAR ассоциирует в мультибелковый комплекс, содержащий транскрипционный корепрессор, индуцирующий конденсацию хроматина и подавление транскрипции. Наличие лиганда приводит к отсоединению корепрессора от рецептора, после чего с рецептором взаимодействует коактиватор, приводящий к активации транскрипции [94]. Белковый комплекс PML-RARA/RXRA действует как ингибитор ядерных транскрипционных факторов, приводя к снижению экспрессии генов, отвечающих за дифференцировку стромальных клеточных элементов костного мозга и развитию ОПЛ. Рецептор RXRA способствует связыванию с ДНК белка PML/RARA, который имеет широкий спектр сайтов связывания с ДНК [86].

В настоящее время нет свидетельств, подтверждающих участие RXRA в патогенезе ОМЛ за исключением ОПЛ, а метилирование гена *RXRA* ранее не являлось объектом исследований при детском ОМЛ.

Ген *KHSRP* кодирует белок KHSRP/KSRP, связывающийся с аденин/урацил (AU)-богатой последовательностью мРНК. AU-богатые последовательности найдены в 3'-нетранслируемой области многих мРНК, кодирующих регуляторы клеточного роста и апоптоза, таких, как цитокины и белки-супрессоры опухолевого роста. Стабилизация мРНК за счет связывания белков с AU-богатыми последовательностями играет важную роль в механизмах посттрансляционной регуляции генов, контролирующей рост, дифференцировку и злокачественную трансформацию гемопоэтических стволовых клеток, наряду с регуляцией стабильности мРНК, опосредованной миРНК [93].

Таким образом, аномальное метилирование, по крайней мере, части генов, идентифицированных методом непредвзятого скрининга дифференциального метилирования геномов в образцах детского ОМЛ, может учитываться не только как маркерное событие злокачественной трансформации, но также рассматриваться в качестве функционального звена в процессе лейкогенеза.

Перспективы области исследования

В обзоре продемонстрирован механизм тесного взаимодействия генетических и эпигенетических событий в этиопатогенезе ОМЛ у детей и взрослых. Охарактеризованы многочисленные генетические маркеры различных молекулярных подтипов ОМЛ. Среди них эпигенетические события являются наименее изученной группой.

В настоящее время известно, что одиночные эпигенетические маркеры являются менее специфичным признаком ОМЛ по сравнению с хорошо изученными структурными генетическими аномалиями (патогномоничные хромосомные перестройки, мутации генов). Невысокая специфичность отдельных нарушений согласуется с разнообразием эпигенетических механизмов и их значением для жизнедеятельности клетки. Основная роль эпигенетических изменений — трансляция соответствующих команд генетического кода в клеточный фенотип, нормальный или патологический. С другой стороны, нарушение эпигенетических эндотипов клетки является наиболее ранним и общим событием при злокачественных новообразованиях, что может быть использовано для эффективной молекулярной диагностики неопластических изменений. В приложении к ОМЛ это может быть использовано для определения минимальной остаточной болезни. Метилирование ДНК, будучи наиболее изученным эпигенетическим явлением, имеет потенциал использования в качестве универсального субстрата определения МОБ.

Полногеномные исследования в данной области перспективны в плане более четкой молекулярной стратификации ОМЛ по сравнению с единичными эпигенетическими маркерами. Уровень развития методов в геномике обеспечивает технические возможности для полного профилирования генетических или эпигенетических аномалий для отдельных пациентов, что может быть использовано в индивидуализации курсов терапии при ОМЛ.

Результаты эпигенетических исследований в перспективе могут использоваться для диагностики ОМЛ и разработки новых подходов к терапии. Значение эпигенетической терапии в лечении ОМЛ у детей и взрослых в настоящее время возрастает. Включение в химиотерапевтические схемы агентов, действующих на эпигенетическом уровне, способно снизить токсичность курса и позволить добиться полного молекулярного ответа существенно раньше, а также получить ответ на лечение у пациентов, устойчивых к действию традиционной химиотерапии. В частности, известно, что пациенты с ОМЛ старшей возрастной группы (>60 лет) имеют плохой прогноз при использовании интенсивной химиотерапии. Курсы терапии для пациентов старшей возрастной группы с использованием Децитабина позволили повысить выживаемость по сравнению с пациентами той же возрастной группы, проходившими курс интенсивной химиотерапии [95].

Ожидается внедрение в клиническую практику большого количества агентов, воздействующих на эпигенетические модификаторы. При этом важно, чтобы при клинических испытаниях этих лекарств проводилась оценка состояния эпигенома в процессе лечения. В ближайшем будущем такая возможность будет получена, благодаря развитию простых и доступных методов оценки соответствующих нарушений.

Список литературы

1. Siegel R., Ma J., Zou Z., Jemal A. 2014. Cancer statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 64(1), 9-29.
2. Zwaan C.M., van den Heuvel-Eibrink M.M. 2011. Pediatric Acute Myeloid Leukemia. *Acute Leukemia — The Scientist's Perspective and Challenge*. Prof. Mariastefania Antica. ISBN: 978-953-307-553-2, InTech, DOI: 10.5772/20108. Available from: <http://www.intechopen.com/books/acute-leukemia-the-scientist-s-perspective-and-challenge/pediatric-acute-myeloid-leukemia>.
3. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. *et al.* 2008. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. IARC Press, Lyon, France.
4. Balgobind B.V., Hollink I.H., Arentsen-Peters S.T. *et al.* 2011. Integrative analysis of type-I and type-II aberrations underscores the genetic heterogeneity of pediatric acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 96(10), 1478-1487.
5. De Rooij J.D.E., Zwaan C.M., van den Heuvel-Eibrink M.M. 2015. Pediatric AML: From Biology to Clinical Management. *J. Clin. Med.* 4, 127-149.
6. Valerio D.G., Katsman-Kuipers J.E., Jansen J.H. *et al.* 2014. Mapping epigenetic regulator gene mutations in cytogenetically normal pediatric acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 99(8), e130-e132.
7. Figueroa M.E., Lugthart S., Li Y. *et al.* 2010. DNA methylation signatures identify biologically distinct subtypes in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell*. 17(1), 13-27.
8. Grunstein M. 1997. Histone acetylation in chromatin structure and transcription. *Nature*. 389, 349-352.
9. Hassig C.A., Schreiber S.L. 1998. Nuclear histone acetylases and deacetylases and transcriptional regulation: HATs off to HDACs. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 1, 300-308.
10. Kadonaga J.T. 1998. Eukaryotic transcription: an interlaced network of transcription factors and chromatin-modifying machines. *Cell*. 92, 307-313.
11. ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00042822.
12. ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01409161.
13. ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01713582.
14. ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01684150.
15. ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00968071.
16. Itzykson R., Kosmider O., Cluzeau T. *et al.* 2011. Impact of *TET2* mutations on response rate to azacitidine in myelodysplastic syndromes and low blast count acute myeloid leukemias. *Leukemia*. 25(7), 1147-1152.
17. Tanaka S., Miyagi S., Sashida G. *et al.* 2012. Ezh2 augments leukemogenicity by reinforcing differentiation blockage in acute myeloid leukemia. *Blood*. 120(5), 1107-1117.
18. Zhou G., Guo L.I., Chen S., Chen Z. 2007. From dissection of disease pathogenesis to elucidation of mechanisms of targeted therapies: leukemia research in the genomic era. *Acta Pharmacol Sin.* 28(9), 1434 — 1449.
19. Fuks F., Burgers W.A., Brehm A., Hughes-Davies L., Kouzarides T. 2000. DNA methyltransferase Dnmt1 associates with histone deacetylase activity. *Nat. Genet.* 24, 88-91.
20. Liu S., Shen T., Huynh L. *et al.* Interplay of RUNX1/MTG8 and DNA methyltransferase 1 in acute myeloid leukemia. 2005. *Cancer Res.* 65(4), 1277-1284.
21. Grignani F., De Matteis S., Nervi C. *et al.* 1998. Fusion proteins of the retinoic acid receptor-a recruit histone deacetylase in promyelocytic leukaemia. *Nature*. 391, 815-818.
22. Lin R.J., Nagy L., Inoue S. *et al.* 1998. Role of the histone deacetylase complex in acute promyelocytic leukaemia. *Nature*. 391, 811-814.
23. Di Croce L., Raker V.A., Corsaro M. *et al.* 2002. Methyltransferase recruitment and DNA hypermethylation of target promoters by an oncogenic transcription factor. *Science*. 295, 1079-1082.
24. Miyoshi H., Kozu T., Shimizu K. *et al.* 1993. The t(8;21) translocation in acute myeloid leukemia results in production of an AML1-MTG8 fusion transcript. *EMBO J.* 12, 2715-2721.
25. Speck N.A., Gilliland D.G. 2002. Core-binding factors in haematopoiesis and leukaemia. *Nat Rev Cancer*. 2, 502-513.
26. Blobel G.A. 2000. CREB-binding protein and p300: molecular integrators of hematopoietic transcription. *Blood*. 95, 745-755.
27. Amann J.M., Nip J., Strom D.K. *et al.* 2001. ETO, a target of t(8;21) in acute leukemia, makes distinct contacts with multiple histone deacetylases and binds mSin3A through its oligomerization domain. *Mol Cell Biol.* 21, 6470-6483.
28. Nan X., Ng H.H., Johnson C.A., Laherty C.D., Turner B.M., Eisenman R.N., Bird A. 1998. Transcriptional repression by the methyl-CpG-binding protein MeCP2 involves a histone deacetylase complex. *Nature*. 393, 386-389.
29. Jones P.L., Veenstra G.J., Wade P.A. *et al.* 1998. Methylated DNA and MeCP2 recruit histone deacetylase to repress transcription. *Nat Genet.* 19, 187-191.
30. Cameron E.E., Bachman K.E., Myohanen S., Herman J.G., Baylin S.B. 1999. Synergy of demethylation and histone deacetylase inhibition in the re-expression of genes silenced in cancer. *Nat Genet.* 21, 103-107.
31. Klisovic M.I., Maghaby E.A., Parthun M.R. *et al.* 2003. Depsipeptide (FR 901228) promotes histone acetylation, gene transcription, apoptosis and its activity is enhanced by DNA methyltransferase inhibitors in AML1/ETO-positive leukemic cells. *Leukemia*. 17(2), 350-358.
32. Durst K.L., Lutterbach B., Kummalue T., Friedman A.D., Hiebert S.W. 2003. The inv(16) fusion protein associates with corepressors via a smooth muscle myosin heavy-chain domain. *Mol. Cell Biol.* 23(2), 607-619.
33. Okano M., Bell D.W., Haber D.A., Li E. 1999. DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. *Cell*. 99, 247-257.
34. Griffiths E.A., Gore S.D., Hooker C.M. *et al.* 2010. Epigenetic differences in cytogenetically normal versus abnormal acute myeloid leukemia. *Epigenetics*. 5:7, 590-600.
35. Shimamoto T., Ohyashiki J.H., Ohyashiki K. 2005. Methylation of p15(*INK4b*) and *E-cadherin* genes is independently correlated with poor prognosis in acute myeloid leukemia. *Leuk. Res.* 29, 653-659.
36. Aggerholm A., Holm M.S., Guldborg P., Olesen L.H., Hokland P. 2006. Promoter hypermethylation of p15(*INK4B*), *HIC1*, *CDH1*, and *ER* is frequent in myelodysplastic syndrome and predicts poor prognosis in early-stage patients. *Eur. J. Haematol.* 76, 23-32.
37. Ekmekci C.G., Gutierrez M.I., Siraj A.K., Ozbek U., Bhatia K. 2004. Aberrant methylation of multiple tumor suppressor genes in acute myeloid leukemia. *Am. J. Hematol.* 77, 233-240.
38. Melki J.R., Vincent P.C., Clark S.J. 1999. Concurrent DNA hypermethylation of multiple genes in acute myeloid leukemia. *Cancer Res.* 59, 3730-3740.
39. Li Q., Kopecky K.J., Mohan A. *et al.* 1999. Estrogen receptor methylation is associated with improved survival in adult acute myeloid leukemia. *Clin. Cancer Res.* 5, 1077-1084.
40. Li M., Lou F.D., Lu X.C., Jin H.J., Yu L. 2004. The study on methylation of gene *IGSF4* promoter in acute leukemia cells. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi.* 12, 125-127.

41. Issa J.P., Zehnbaauer B.A., Civin C.I. *et al.* 1996. The estrogen receptor CpG island is methylated in most hematopoietic neoplasms. *Cancer Res.* 56, 973-977.
42. Issa J.P., Baylin S.B., Belinsky S.A. 1996. Methylation of the estrogen receptor CpG island in lung tumors is related to the specific type of carcinogen exposure. *Cancer Res.* 56, 3655-3658.
43. Li J., Zhang Z., Bidder M. *et al.* 2005. *IGSF4* promoter methylation and expression silencing in human cervical cancer. *Gynecol. Oncol.* 96, 150-158.
44. Kuramochi M., Fukuhara H., Nobukuni T. *et al.* 2001. *TSLC1* is a tumor-suppressor gene in human non-small-cell lung cancer. *Nat. Genet.* 27(4), 427-430.
45. Herman J.G., Civin C.I., Issa J.P., Collector M.I., Sharkis S.J., Baylin S.B. 1997. Distinct patterns of inactivation of *p15INK4B* and *p16INK4A* characterize the major types of hematological malignancies. *Cancer Res.* 57, 837-841.
46. Matsuno N., Hoshino K., Nanri T. *et al.* 2005. *p15* mRNA expression detected by realtime quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction correlates with the methylation density of the gene in adult acute leukemia. *Leuk. Res.* 29, 557-564.
47. Hess C.J., Errami A., Berkhof J. *et al.* 2008. Concurrent methylation of promoters from tumor associated genes predicts outcome in acute myeloid leukemia. *Leukemia & Lymphoma.* 49(6), 1132-1141.
48. Toyota M., Kopecky K.J., Toyota M.O., Jair K.W., Wilman C.L., Issa J.P. 2001. Methylation profiling in acute myeloid leukemia. *Blood.* 97, 2823-2829.
49. Galm O., Wilop S., Luders C. *et al.* 2005. Clinical implications of aberrant DNA methylation patterns in acute myelogenous leukemia. *Ann. Hematol.* 84 (Suppl 13), 39-46.
50. Wouters B.J., Jorda M.A., Keeshan K. *et al.* 2007. Distinct gene expression profiles of acute myeloid/T-lymphoid leukemia with silenced *CEBPA* and mutations in *NOTCH1*. *Blood.* 110, 3706-3714.
51. Wouters B.J., Lowenberg B., Erpelinck-Verschueren C.A., Van Putten W.L., Valk P.J., Delwel R. 2009. Double *CEBPA* mutations, but not single *CEBPA* mutations, define a subgroup of acute myeloid leukemia with a distinctive gene expression profile that is uniquely associated with a favorable outcome. *Blood.* 113, 3088-3091.
52. Bartel D.P. 2009. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell.* 136, 215-233.
53. Croce C.M. 2009. Causes and consequences of microRNA dysregulation in cancer. *Nat. Rev. Genet.* 10, 704-714.
54. Fazi F., Rosa A., Fatica A. *et al.* 2005. A microcircuitry comprised of microRNA-223 and transcription factors NFI-A and C/EBP-Alpha regulates human granulopoiesis. *Cell.* 123(5), 819-831.
55. Garzon R., Pichiorri F., Palumbo T. *et al.* 2007. MicroRNA gene expression during retinoic acid-induced differentiation of human acute promyelocytic leukemia. *Oncogene.* 26, 4148-4157.
56. Tili E., Michaille J.J., Wernicke D. *et al.* 2011. Mutator activity induced by microRNA-155 (miR-155) links inflammation and cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 108, 4908-4913.
57. Costinean S., Sandhu S.K., Pedersen I.M. *et al.* 2009. Src homology 2 domain-containing inositol-5-phosphatase and CCAAT enhancer-binding protein beta are targeted by miR-155 in B cells of Emicro-MiR-155 transgenic mice. *Blood.* 114, 1374-1382.
58. Yamanaka Y., Tagawa H., Takahashi N. *et al.* 2009. Aberrant overexpression of microRNAs activate AKT signaling via down-regulation of tumor suppressors in natural killer-cell lymphoma/leukemia. *Blood.* 114, 3265-3275.
59. Danen-van Oorschot A.A., Kuipers J.E., Arentsen-Peters S. *et al.* 2012. Differentially expressed miRNAs in cytogenetic and molecular subtypes of pediatric acute myeloid leukemia. *Pediatr. Blood Cancer.* 58, 715-721.
60. Becker H., Marcucci G., Maharry K. *et al.* 2010. Favorable prognostic impact of *NPM1* mutations in older patients with cytogenetically normal de novo acute myeloid leukemia and associated gene- and microRNA-expression signatures: a Cancer and Leukemia Group B study. *J. Clin. Oncol.* 28, 596-604.
61. Jongen-Lavrencic M., Sun S.M., Dijkstra M.K., Valk P.J., Lowenberg B. 2008. MicroRNA expression profiling in relation to the genetic heterogeneity of acute myeloid leukemia. *Blood.* 111, 5078-5085.
62. Li Z., Lu J., Sun M. *et al.* 2008. Distinct microRNA expression profiles in acute myeloid leukemia with common translocations. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 105, 15535-15540.
63. Marcucci G., Maharry K., Wu Y.Z. *et al.* 2010. *IDH1* and *IDH2* gene mutations identify novel molecular subsets within de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *J. Clin. Oncol.* 28(14), 2348-2355.
64. Whitman S.P., Maharry K., Radmacher M.D. *et al.* 2010. *FLT3* internal tandem duplication associates with adverse outcome and gene- and microRNA-expression signatures in patients 60 years of age or older with primary cytogenetically normal acute myeloid leukemia: A Cancer and Leukemia Group B study. *Blood.* 116, 3622-3626.
65. Marcucci G., Maharry K., Radmacher M.D. *et al.* 2008. Prognostic significance of, and gene and microRNA expression signatures associated with, *CEBPA* mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia with high-risk molecular features: a Cancer and Leukemia Group B Study. *J. Clin. Oncol.* 26, 5078-5087.
66. Thiede C., Studel C., Mohr B. *et al.* 2002. Analysis of *FLT3*-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: Association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. *Blood.* 99, 4326-4335.
67. Boyerinas B., Park S.M., Shomron N. *et al.* 2008. Identification of let-7-regulated oncofetal genes. *Cancer Res.* 68, 2587-2591.
68. Johnson S.M., Grosshans H., Shingara J. *et al.* 2005. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell.* 120, 635 - 647.
69. Sampson V.B., Rong N.H., Han J. *et al.* 2007. MicroRNA let-7a down-regulates MYC and reverts MYC-induced growth in Burkitt lymphoma cells. *Cancer Res.* 67, 9762-9770.
70. Maller Schulman B.R., Liang X., Stahlhut C., DelConte C., Stefani G., Slack F.J. The let-7 microRNA target gene, *Mlin41/Trim71* is required for mouse embryonic survival and neural tube closure. 2008. *Cell Cycle.* 7, 3935-3942.
71. Dixon-McIver A., East P., Mein C.A. *et al.* 2008. Distinctive patterns of microRNA expression associated with karyotype in acute myeloid leukaemia. *PLoS One.* 3(5), e2141.
72. Juhl-Christensen C., Ommen H.B., Aggerholm A. *et al.* 2012. Genetic and epigenetic similarities and differences between childhood and adult AML. *Pediatr. Blood Cancer.* 58, 525-531.
73. Schotte D., Pieters R., Den Boer M.L. 2012. MicroRNAs in acute leukemia: from biological players to clinical contributors. *Leukemia.* 26, 1-12.
74. Metzeler K.H., Maharry K., Radmacher M.D. *et al.* 2011. *TET2* mutations improve the new European LeukemiaNet risk classification of acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *J. Clin. Oncol.* 29(10), 1373-1381.
75. Makishima H., Jankowska A.M., Tiu R.V. *et al.* 2010. Novel homo- and hemizygous mutations in *EZH2* in myeloid malignancies. *Leukemia.* 24(10), 1799-1804.
76. Metzeler K.H., Becker H., Maharry K. *et al.* 2011. *ASXL1* mutations identify a high-risk subgroup of older patients with primary cytogenetically normal AML within the ELN Favorable genetic category. *Blood.* 118(26), 6920-6929.
77. Metzeler K.H., Walker A., Geyer S. *et al.* 2012. *DNMT3A* mutations and response to the hypomethylating agent decitabine in acute myeloid leukemia. *Leukemia.* 26(5), 1106-1107.

78. Liang Der-Cherng, Liu Hsi-Che, Yang Chao-Ping *et al.* 2013. Cooperating gene mutations in childhood acute myeloid leukemia with special reference on mutations of *ASXL1*, *TET2*, *IDH1*, *IDH2*, and *DNMT3A*. *Blood*. 121(15), 2988-2995.
79. Li Q., Kopecky K.J., Mohan A. *et al.* 1999. Estrogen receptor methylation is associated with improved survival in adult acute myeloid leukemia. *Clin. Cancer Res.* 5, 1077-1084.
80. Larmonie N.S.D., van den Heuvel-Eibrink M.M., Obulksim A. *et al.* DNA methylation profiling of pediatric AML reveals that hypomethylation of *MNI* is characteristic of inv(16) AML and a driver of *MNI* overexpression. *Blood*. 2014, p.867.
81. Tanas A.S., Shkarupo V.V., Kuznetsova E.B., Zaletayev D.V., Strelnikov V.V. 2010. Novel tools for unbiased DNA differential methylation screening. *Epigenomics*. 2(2), 325-333.
82. Танас А.С., Шкарупо В.В., Кузнецова Е.Б., Залетаев Д.В., Стрельников В.В. 2010. Дизайн эксперимента и анализ результатов амплификации интерметилованных сайтов с использованием компьютерной программы AIMS in silico. *Молекуляр. биология*. 44(2), 355-365. (Tanas A.S., Shkarupo V.V., Kuznetsova E.B., Zaletayev D.V., Strelnikov V.V. 2010. Amplification of intermethylated sites experimental design and results analysis with AIMS in silico computer software. *Mol. Biol. (Mosk.)*. 44(2), 317-325.)
83. Руденко В.В., Немировченко В.С., Танас А.С., Попа А.В., Казакова С.А., Кузнецова Е.Б., Залетаев Д.В., Стрельников В.В. Новые маркеры аномального метилирования ДНК при остром миелоидном лейкозе у детей, идентифицированные непредвзятым скринингом дифференциального метилирования геномов. *Медицинская генетика*. 2015. 14(1), 36-44.
- (Rudenko V.V., Nemirovchenko V.S., Tanas A.S., Popa A.V., Kazakova S.A., Kuznetsova E.B., Zaletayev D.V., Strelnikov V.V. 2015. Novel markers of aberrant DNA methylation in pediatric acute myeloid leukemia identified by unbiased screening of differential methylation. *Med. Genet.* 14(1), 36-44.)
84. Gu X.H., Lu Y., Ma D., Liu X.S., Guo S.W. 2009. Model of aberrant DNA methylation patterns and its applications in epithelial ovarian cancer. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 44 (10), 754-759.
85. De Braekeleer E., Douet-Guilbert N., De Braekeleer M. 2014. RARA fusion genes in acute promyelocytic leukemia: a review. *Expert Rev Hematol.* 7(3), 347-357.
86. Halftermeyer J., Le Bras M., De The H. 2011. RXR, a key member of the oncogenic complex in acute promyelocytic leukemia. *Med. Sci.* 27 (11), 973-978.
87. Hamze Z., Vercherat C., Bernigaud-Lacheretz A. *et al.* 2013. Altered *MENIN* expression disrupts the MAFA differentiation pathway in insulinoma. *Endocr. Relat. Cancer*. 20(6), 833-48.
88. Xu Y.Y., Jin H.Y., Tan X.Z., Liu X.F., Ding Y.J. 2010. Tea polyphenol inhibits colorectal cancer with microsatellite instability by regulating the expressions of *HES1*, *JAG1*, *MT2A* and *MAFA*. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*. 8(9), 870 — 876.
89. Cuajungco M.P., Podevin W., Valluri V.K., Bui Q., Nguyen V.H., Taylor K. 2012. Abnormal accumulation of human transmembrane (TMEM)-176A and 176B proteins is associated with cancer pathology. *Acta Histochem.* 114(7), 705-712.
90. Fu J., Tang W., Du P. *et al.* Identifying microRNA-mRNA regulatory network in colorectal cancer by a combination of expression profile and bioinformatics analysis. *BMC Syst. Biol.* 2012. 6(1), 68.
91. Zhou Y.X., Chen S.S., Wu T.F. *et al.* 2012. A novel gene *RNF138* expressed in human gliomas and its function in the glioma cell line U251. *Anal. Cell Pathol. (Amst)*. 35 (3), 167-78.
92. Malouf G.G., Su X., Yao H. *et al.* 2014. Next-generation sequencing of translocation renal cell carcinoma reveals novel RNA splicing partners and frequent mutations of chromatin-remodeling genes. *Clin. Cancer Res.* 20(15), 4129-40.
93. Baou M., Norton J.D., Murphy J.J. 2011. AU-rich RNA binding proteins in hematopoiesis and leukemogenesis. *Blood*. 118(22), 5732-5740.
94. Ablain J., de The H. 2011. Revisiting the differentiation paradigm in acute promyelocytic leukemia. *Blood*. 117, 5795-5802.
95. Quintas-Cardama A., Ravandi F., Liu-Dumlao T. *et al.* 2012. Epigenetic therapy is associated with similar survival compared with intensive chemotherapy in older patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia. *Blood*. 120(24), 4840-4845.