

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ КОСТНОГО МОЗГА

Клиническое значение гиперэкспрессии *miR-3151* при синергичном взаимодействии с геном-хозяином *BAALC* у пациентов с острыми миелоидными лейкозами после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

А.И. Шакирова, И.М. Бархатов, А.И. Чуркина,
Н.Н. Мамаев, Л.С. Зубаровская, Б.В. Афанасьев

НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова», ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197022

РЕФЕРАТ

Актуальность. Среди множества молекулярно-генетических изменений, потенциально обуславливающих развитие острых миелоидных лейкозов (ОМЛ), нарушение эпигенетической регуляции в лейкозных клетках занимает особое место. В их числе фигурирует изменение экспрессии гена *miR-3151*, который находится в составе гена *BAALC*, расположенного на хромосоме 8 в локусе q22.3. В настоящее время гиперэкспрессия гена *BAALC* отмечается у половины больных ОМЛ, причем у значительной части из них в комбинации с повышенной транскрипционной активностью гена *miR-3151*, что связано с наихудшим прогнозом течения ОМЛ.

Цель. Изучить прогностическое значение гиперэкспрессии *miR-3151* при синергичном взаимодействии с геном-хозяином *BAALC* у пациентов с ОМЛ после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК).

Материалы и методы. В исследование включены образцы костного мозга 10 здоровых доноров ГСК и 29 пациентов с ОМЛ, которым выполнена аллоТГСК. Уровень относительной экспрессии *miR-3151* и относительное количество копий гена *BAALC* определяли методом количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Результаты. В ходе исследования обнаружена слабая корреляционная зависимость между уровнем экспрессии *miR-3151* и числом бластных клеток в костном мозге ($r = 0,330$; $p = 0,005$), а также между уровнем экспрессии *miR-3151* и гена *BAALC* ($r = 0,273$; $p = 0,020$). Кроме того, выявлено существенное прогностическое значение гиперэкспрессии *miR-3151* в посттрансплантационный период ($p = 0,005$). У пациентов с коэкспрессией *miR-3151* и *BAALC* в посттрансплантационный период прогноз зна-

BONE MARROW TRANSPLANTATION

Clinical Value of *miR-3151* Overexpression in Synergistic Interaction with *BAALC* Host Gene in Patients with Acute Myeloid Leukemia after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation

AI Shakirova, IM Barkhatov, AI Churkina,
NN Mamaev, LS Zubarovskaya, BV Afanas'ev

RM Gorbacheva Scientific Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation; IP Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, 6/8 L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197022

ABSTRACT

Background. Among a multitude of molecular genetic changes underlying acute myeloid leukemia (AML) disordered epigenetic regulation is of special importance. It includes expression change in *miR-3151* gene forming a part of *BAALC* gene on chromosome 8 in q22.3 locus. At present *BAALC* gene overexpression is observed in a half of AML patients. A considerable part of them shows a combination of it with an increased transcriptional activity of *miR-3151* gene, which is associated with the poorest AML prognosis.

Aim. To assess the prognostic value of *miR-3151* overexpression in synergistic interaction with *BAALC* host gene in AML patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT).

Materials & Methods. The trial included bone marrow samples taken from 10 healthy SCT donors and 29 AML patients after receiving allo-HSCT. Relative *miR-3151* expression level and relative *BAALC* copy number were measured by quantitative real-time polymerase chain reaction.

Results. The analysis yielded a poor correlation between *miR-3151* expression level and blast cell count in bone marrow ($r = 0.330$; $p = 0.005$) as well as between the expression levels of *miR-3151* and *BAALC* ($r = 0.273$; $p = 0.020$). In addition, a great prognostic value of *miR-3151* overexpression in post-transplantation period was confirmed ($p = 0.005$). Patients with *miR-3151* and *BAALC* co-expression in post-transplantation period have also the poorest prognosis than the control group with regard to both disease-free survival and relapse risks within 2 years after allo-HSCT.

чительно хуже по сравнению с группой контроля в отношении как безрецидивной выживаемости, так и риска развития рецидивов в течение 2 лет после аллотГСК.

Заключение. Мониторинг уровня экспрессии *miR-3151* и гена-хозяина *BAALC* у больных ОМЛ, которым выполнена аллотГСК, представляется значимым в плане оценки не только прогноза течения ОМЛ, но и эффективности терапии.

Ключевые слова: острые миелоидные лейкозы, *miR-3151*, *BAALC*, прогноз, трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.

Получено: 22 октября 2018 г.

Принято в печать: 7 июня 2019 г.

Для переписки: Алена Игоревна Шакирова, ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197022; тел.: +7(812)338-62-72; e-mail: alyona.i.shakirova@gmail.com

Для цитирования: Шакирова А.И., Бархатов И.М., Чуркина А.И. и др. Клиническое значение гиперэкспрессии *miR-3151* при синергичном взаимодействии с геном-хозяином *BAALC* у пациентов с острыми миелоидными лейкозами после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Клиническая онкогематология. 2019;12(3):303–8.

doi: 10.21320/2500-2139-2019-12-3-303-308

Conclusion. Monitoring expression level of *miR-3151* and its host gene *BAALC* in AML patients after receiving allo-HSCT seems to be important not only in AML prognosis but also in therapy efficacy evaluation.

Keywords: acute myeloid leukemia, *miR-3151*, *BAALC*, prognosis, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

Received: October 22, 2018

Accepted: June 7, 2019

For correspondence: Alena Igorevna Shakirova, 6/8 L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197022; Tel.: +7(812)338-62-72; e-mail: alyona.i.shakirova@gmail.com

For citation: Shakirova AI, Barkhatov IM, Churkina AI, et al. Clinical Value of *miR-3151* Overexpression in Synergistic Interaction with *BAALC* Host Gene in Patients with Acute Myeloid Leukemia after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Clinical oncohematology. 2019;12(3):303–8 (In Russ).

doi: 10.21320/2500-2139-2019-12-3-303-308

ВВЕДЕНИЕ

Среди множества молекулярно-генетических изменений, приводящих к развитию острых миелоидных лейкозов (ОМЛ), нарушения эпигенетической регуляции занимают особое место в патогенезе ОМЛ [1, 2]. К таким нарушениям относятся aberrантное метилирование ДНК, ковалентные модификации гистонов и ассоциированное с микроРНК подавление экспрессии генов. Как известно, некодирующие микроРНК длиной 19–25 нуклеотидов являются регуляторами экспрессии генов на посттранскрипционном уровне. Связываясь с таргетными мРНК, они прерывают их трансляцию и могут приводить к деградации транскриптов [3]. Согласно данным литературы, каждому из подтипов ОМЛ в соответствии с теми или иными молекулярно-генетическими aberrациями свойствен определенный профиль экспрессии микроРНК, для многих из которых описан молекулярный механизм лейкозогенеза. Данный факт позволяет рассматривать микроРНК как важную потенциальную мишень для развития таргетной терапии ОМЛ [4–8].

Локус *BAALC/miR-3151* на хромосоме 8 в сегменте q22.3 включает в себя гены *BAALC* (brain and acute leukemia, cytoplasmic) и *miR-3151*, локализованный в интроне 1 *BAALC* [9]. В лейкозных клетках микроРНК-3151 связывается с 3'-нетранслируемой областью мРНК *TP53*, причем избыток микроРНК-3151 приводит к подавлению экспрессии *TP53* и ингибированию p53-зависимого пути апоптоза [10]. Ген *miR-3151* имеет собственный сайт инициации транскрипции, обладающий высокой аффинностью

связывания с комплексом транскрипционных факторов SP1/NF-κB, что делает его экспрессию автономной от гена-хозяина *BAALC* [10]. Согласно данным литературы, пациенты с синхронной гиперэкспрессией *BAALC* и *miR-3151* имеют наихудший прогноз течения заболевания как в группе старше 60 лет с нормальным кариотипом, так и в группе более молодых пациентов с промежуточным цитогенетическим риском [11, 12], причем *miR-3151* является независимым от *BAALC* прогностическим фактором.

Цель данного исследования — изучить клиническое значение повышенного уровня экспрессии *miR-3151* в костном мозге пациентов с ОМЛ после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (аллотГСК) при синергичном взаимодействии с геном-хозяином *BAALC*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены образцы костного мозга 10 здоровых доноров ГСК и 29 пациентов с ОМЛ, которым выполнена аллотГСК в НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой. Медиана наблюдения в посттрансплантационный период составила 17,3 мес. (диапазон 2,3–24 мес.). Характеристика пациентов представлена в табл. 1.

РНК из образцов костного мозга пациентов, полученных после выполнения аллотГСК, выделяли методом гуанидин-фенол-хлороформной экстракции с помощью комплекта реагентов «РИБО-золь-D» («ИнтерЛабСервис», Россия). Для определения уровня экспрессии *miR-3151* перед реакцией обратной транс-

Таблица 1. Характеристика пациентов

Показатель	Число случаев
Число больных	29
Медиана (диапазон) возраста, лет	26,5 (6–60)
Мужской/женский пол	13/16
FAB-варианты	
M0	3 (10,3 %)
M1	6 (20,7 %)
M2	8 (27,6 %)
M4	10 (34,5 %)
M5	2 (6,9 %)
Цитогенетические характеристики	
t(8;21)	4 (13,8 %)
inv(16)	2 (6,9 %)
Нормальный кариотип	15 (51,7 %)
Другие цитогенетические поломки	4 (13,8 %)
Комплексный кариотип	4 (13,8 %)
Тип донора аллоТГСК	
Родственный	4 (13,8 %)
Неродственный	23 (79,3 %)
Гаплоидентичный	2 (6,9 %)
Режим кондиционирования	
Миелоаблативный	6 (20,7 %)
Немиелоаблативный	23 (79,3 %)
Посттрансплантационные рецидивы	15 (51,7 %)

крипции осуществляли предварительный контроль качества выделенной РНК методом агарозного гель-электрофореза и полиаденилирование РНК с помощью реагента *E. coli* Poly(A) Polymerase (NEB, США) согласно инструкции производителя. Обратную транскрипцию проводили с помощью набора Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit (Life Technologies, США) в присутствии адаптерного праймера OligodT (5'-3'): GCATAGACCTGAATGGCGGTAAGGGTGTGGTAGGC GAGACATTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT.

Для определения уровня экспрессии *BAALC* реакцию обратной транскрипции проводили без предварительного полиаденилирования РНК, но с добавлением случайных гексануклеотидных праймеров. Уровень экспрессии *miR-3151* и *BAALC* определяли методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием технологии TaqMan относительно референс-генов *RNU44* и *ABL1* для *miR-3151* и *BAALC* соответственно. При этом были использованы следующие последовательности праймеров и зондов (5'-3'): *miR-3151* — прямой праймер GGTGGGGCAATGGGATCAGGT, обратный праймер CATAGACCTGAATGGCGGTAA, зонд (FAM)AATGTCCTCGCCTACCACACC(BHQ1); *RNU44* — прямой праймер GCAAATGCTGACTGAACATGA, обратный праймер и зонд, как для *miR-3151*; *BAALC* — прямой праймер CTACAGCCCCAGGTGGAATA, обратный праймер TTGCAGGCATTCTCTTAGCA, зонд (FAM)ATGGCCTTCAGACCACAGAG(BHQ1); *ABL1* — прямой праймер TGGAGATAACACTCTAAGCATAACTAAAGGT, обратный праймер GATGTAGTTGCTTGGGACCCA, зонд (JOE)CCATTTTTGGTTTGGGCTTCACACCATT(BHQ1).

Для расчета относительного уровня экспрессии *miR-3151* применяли сравнительный метод ΔC_t , результаты выражены в процентах [11]. Калибровочная кривая для определения относительного количества копий транскрипта гена *BAALC* строилась с при-

менением серийных разведений линейризованной плазмидной ДНК, содержащей клонированные фрагменты таргетных участков кДНК *BAALC* и *ABL1* (Inogene, Россия). Пробы кДНК, содержащие менее 10 000 копий гена *ABL1* были исключены из анализа. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы IBM SPSS Statistics 22.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе исследования у пациентов с ОМЛ в посттрансплантационный период были обнаружены слабые положительные связи между уровнем экспрессии *miR-3151* и числом бластных клеток в костном мозге ($r = 0,330$; $p = 0,005$), а также с уровнем экспрессии гена *BAALC* ($r = 0,273$; $p = 0,020$), но отрицательная корреляция с уровнем донорского химеризма ($r = -0,283$, $p = 0,028$). Такую низкую силу взаимосвязи уровня экспрессии *miR-3151* и гена *BAALC* можно объяснить независимой регуляцией транскрипции данных локусов в клетках, которая ранее была описана группой А.-К. Eisfeld и соавт. [10]. Что касается небольшой корреляции уровня экспрессии *miR-3151* и содержания бластных клеток в костном мозге, которая также известна из литературы [12], она может быть объяснена более высоким уровнем продуцирующих его лейкозных клеток в сравнении с бластными. Однако это требует дополнительного изучения.

Для оценки прогностического значения гиперэкспрессии *miR-3151* путем сравнения уровня ее экспрессии у пациентов в ремиссии и при рецидивах после аллоТГСК, а также у здоровых доноров был определен пороговый уровень (cut-off) экспрессии для *miR-3151* (рис. 1, А). Анализ чувствительности и специфичности мониторинга уровня экспрессии *miR-3151* как маркера эффективности терапии проводили путем построения характеристических ROC-кривых (рис. 1, Б). Оптимальным пороговым значением для *miR-3151* с учетом чувствительности и специфичности данного метода является 15 %. При такой величине площадь под кривой (AUC) составила $0,643 \pm 0,113$ при значениях чувствительности 0,364 и специфичности 1,000 (см. рис. 1, Б). Экспрессия *miR-3151* > 15 % у пациентов без рецидивов ($n = 14$) в посттрансплантационный период имела место лишь в 21 % наблюдений ($n = 3$). В то же время медиана уровня экспрессии *miR-3151* у данной когорты больных статистически значимо отличалась от уровня экспрессии при рецидивах после аллоТГСК ($n = 29$; $p = 0,016$) (см. рис. 1, А). Практическая целесообразность использования порогового уровня 15 % для изучения клинического значения гиперэкспрессии *miR-3151* в посттрансплантационный период подтвердилась и при сравнении уровня ее экспрессии у здоровых доноров, у которых экспрессия *miR-3151* в костном мозге выше 15 % не наблюдалась (см. рис. 1, А). Для оценки же клинического значения гиперэкспрессии *BAALC* в группах пациентов с *miR-3151*-позитивным и *miR-3151*-негативным статусом был применен пороговый уровень 60 % [13, 14].

Из 29 обследованных пациентов с ОМЛ повышенная экспрессия *miR-3151* после аллоТГСК была обнаружена у 14 (48,3 %), из которых 11 (73,3 %) больных

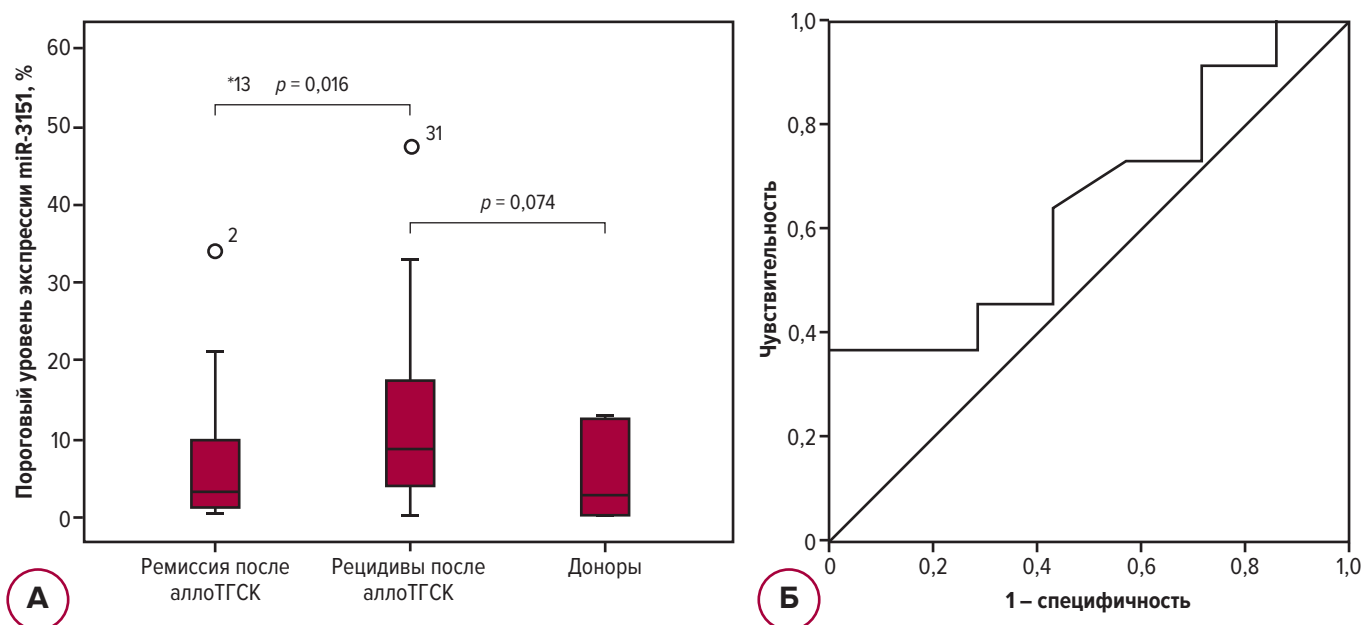


Рис. 1. Определение клинически значимого порогового уровня экспрессии для *miR-3151*:

А — путем сравнения уровня экспрессии *miR-3151* у пациентов в ремиссии и при рецидивах после аллоТГСК, а также у здоровых доноров (* — экстремальные значения, ° — выпадающие значения); Б — путем построения характеристических ROC-кривых (синяя линия) относительно значений химерных транскриптов *RUNX1-RUNX1T1* и *CBFB-MYH11*, а также уровня экспрессии *miR-3151* у здоровых доноров, определенных методом количественной ПЦР в реальном времени (зеленая линия — базальная линия)

Fig. 1. Evaluation of clinically important cut-off expression level for *miR-3151*:

А — by comparing *miR-3151* expression level in patients with remission and relapses after allo-HSCT as well as in healthy donors (* — extreme values, ° — outlier values); Б — by means of ROC-curves (blue line) with respect to the values of *RUNX1-RUNX1T1* and *CBFB-MYH11* chimeric transcripts as well as to *miR-3151* expression level in healthy donors estimated by quantitative real-time PCR (green line — basal line)

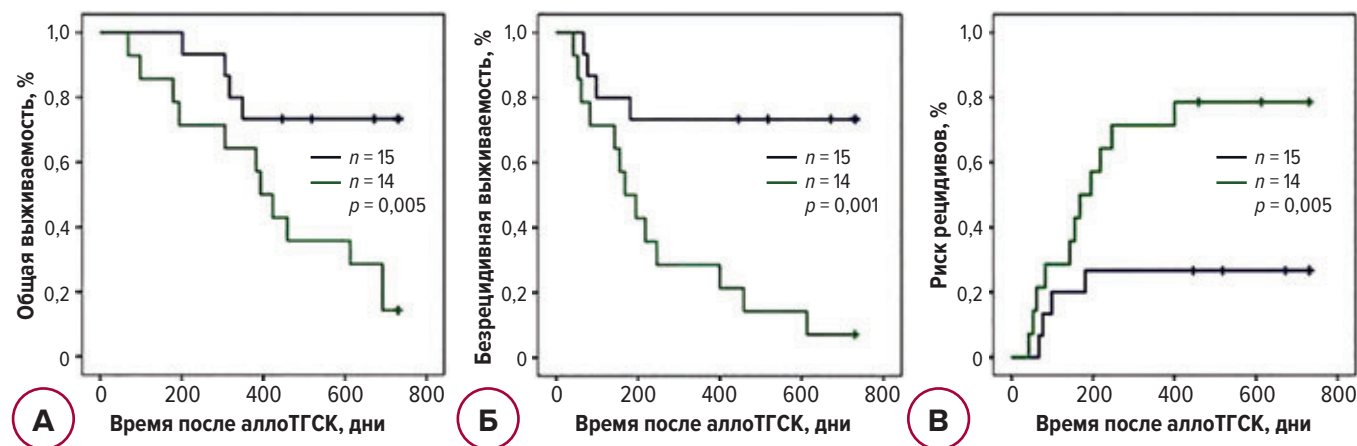


Рис. 2. Влияние гиперэкспрессии *miR-3151* после аллоТГСК на (А) общую выживаемость, (Б) безрецидивную выживаемость и (В) риск развития рецидивов. Кривые выживаемости построены по методу Каплана—Мейера. Зеленая линия — наличие гиперэкспрессии в посттрансплантационный период, синяя линия — отсутствие гиперэкспрессии

Fig. 2. Influence of *miR-3151* overexpression after allo-HSCT on (А) overall survival, (Б) disease-free survival, and (В) relapse risks. Kaplan-Meier survival curves. Green line shows the presence of overexpression in post-transplantation period, blue line shows the absence of overexpression

после развития гиперэкспрессии *miR-3151* имели рецидив. Гиперэкспрессия гена *BAALC* в исследуемой выборке пациентов выявлена в 11 (39,7 %) наблюдениях. В то же время коэкспрессия *miR-3151* и гена-хозяина *BAALC* присутствовала только у 7 (24,1 %) пациентов. В ходе исследования было выявлено существенное прогностическое значение гиперэкспрессии *miR-3151* в посттрансплантационный период. В частности, уровень экспрессии *miR-3151* оказывал значимое влияние на общую (ОВ) и безрецидивную выживаемость

(БРВ) пациентов, а также на риск развития рецидивов в течение 2 лет после аллоТГСК (рис. 2). При наличии гиперэкспрессии *miR-3151* показатели 2-летней ОВ и БРВ составили 14,3 и 7,1 % ($p = 0,005$ и $p = 0,001$) соответственно, в то время как рецидивы заболевания развились у 78,5 % больных в течение 2 лет после аллоТГСК ($p = 0,005$).

По нашим данным, наихудший прогноз в отношении БРВ и риска развития рецидивов в течение 2 лет после аллоТГСК ($p < 0,0001$) имели больные

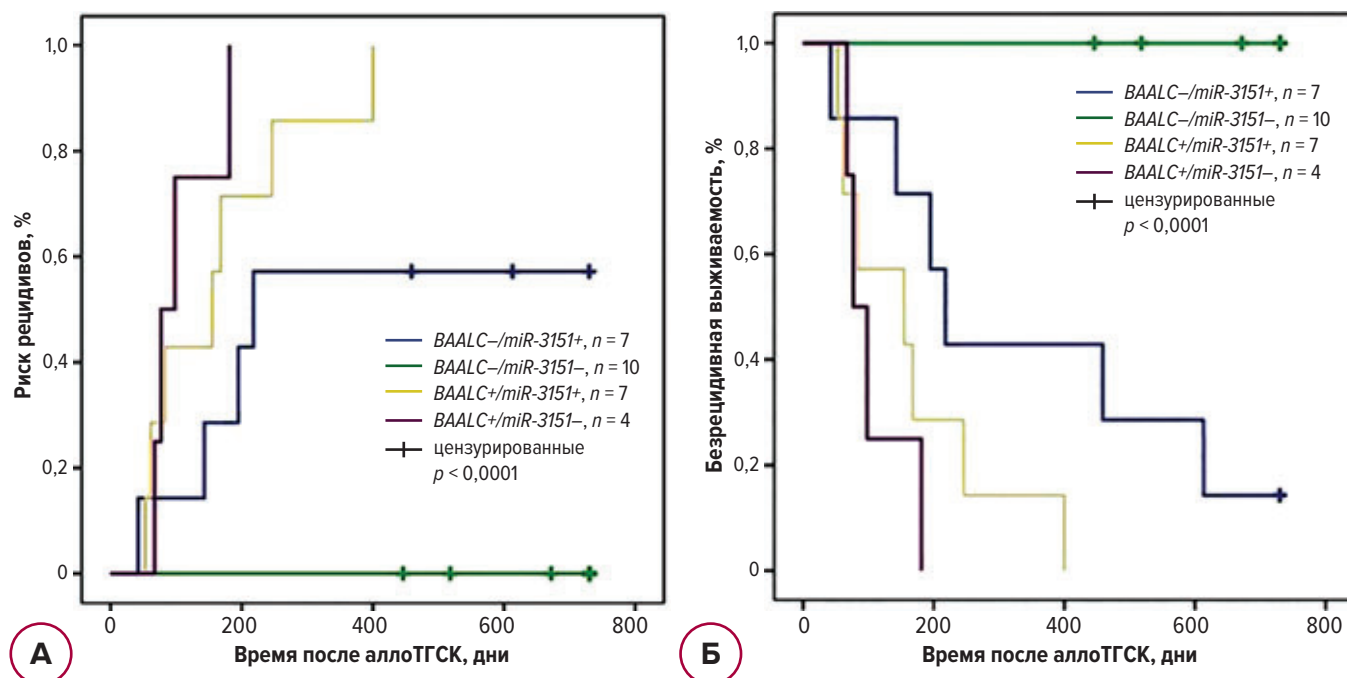


Рис. 3. Влияние одновременной гиперэкспрессии *miR-3151* и *BAALC* на (А) риск развития рецидивов и (Б) безрецидивную выживаемость у пациентов с ОМЛ после аллотГСК

Fig. 3. Influence of *miR-3151* and *BAALC* co-overexpression on (A) relapse risks and (B) disease-free survival of AML patients after allo-HSCT

($n = 28$), которые в посттрансплантационный период демонстрировали одновременную гиперэкспрессию *miR-3151* и *BAALC* (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно современной концепции патогенеза лейкозов, ОМЛ представляет собой результат процесса поэтапной трансформации ГСК, в ходе которой происходит нарушение сигнальных путей пролиферации, дифференцировки и апоптоза [15]. Высокая транскрипционная активность локуса *miR-3151* в интроне 1 гена *BAALC* часто встречается при ОМЛ и способствует ингибированию р53-зависимого пути программируемой клеточной гибели при лейкозе. В комбинации с гиперэкспрессией гена-хозяина она связана с ухудшением прогноза течения заболевания, в то время как гиперэкспрессия *BAALC* в отсутствие *miR-3151* при ОМЛ с нормальным кариотипом характерна для пациентов промежуточной группы риска [11, 12]. С другой стороны, наличие у больных в посттрансплантационный период гиперэкспрессии *BAALC* в качестве одиночного фактора может способствовать переходу заболевания в прогностически неблагоприятную группу риска (см. рис. 3).

Согласно данным литературы, гиперэкспрессия широко известного панспецифического молекулярного маркера *WT1* при ОМЛ сильно коррелирует с содержанием бластных элементов в костном мозге [16, 17]. В то же время в норме экспрессия *WT1* в костном мозге слабая и ограничивается наиболее ранними гемопоэтическими предшественниками (CD34+), а также несколькими типами клеток в терминальной стадии дифференцировки [18, 19]. Вместе с тем данные литературы о различиях уровня экспрессии *WT1* между

более ранними, чем бластные, лейкозными клетками и нормальными CD34+ ГСК противоречивы [18, 20]. При этом лейкозный потенциал и рецидивы при ОМЛ, в т. ч. и в посттрансплантационный период, связаны именно с этой смешанной популяцией стволовых клеток в костном мозге, содержащей как нормальные ГСК, так и более ранние, чем бластные, лейкозные клетки. В этой связи представляется важным иметь в рутинной клинической практике высокоспецифичный маркер, отражающий функциональное состояние ранних гемопоэтических предшественников, каким может служить *BAALC* в комбинации с сопровождающим его локусом *miR-3151*.

В ходе нормального гемопоэза экспрессия *BAALC* в костном мозге слабая и ограничена исключительно популяцией ГСК CD34+ [21]. Несмотря на то что гиперэкспрессия *BAALC* и *miR-3151* в различных субпопуляциях бластных элементов и лейкозных стволовых клеток изучена слабо, на правомерность высказываемой гипотезы о продуцирующих *BAALC* более молодых, чем бластные, лейкозных клетках указывают следующие данные. Это более низкий уровень экспрессии гена *BAALC* при высокодифференцированном М3 FAB-варианте ОМЛ, а также связь повышенного уровня его экспрессии в большей степени с CD34-позитивными и малодифференцированными FAB-вариантами ОМЛ М0, М1, М2 и М4 [22–24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показывает большую теоретическую и практическую значимость изучения уровней экспрессии *miR-3151* и гена-хозяина *BAALC* у пациентов с ОМЛ, в программе лечения которых используется аллотГСК.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: А.И. Шакирова, И.М. Бархатов.

Сбор и обработка данных: А.И. Шакирова, А.И. Чуркина.

Предоставление материалов исследования: все авторы.

Анализ и интерпретация данных: А.И. Шакирова, И.М. Бархатов, Н.Н. Мамаев.

Подготовка рукописи: А.И. Шакирова.

Организационная поддержка: Л.С. Зубаровская, Б.В. Афанасьев.

Окончательное одобрение рукописи: все авторы.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Testa U, Pelosi E. MicroRNAs expressed in hematopoietic stem/progenitor cells are deregulated in acute myeloid leukemias. *Leuk Lymphoma*. 2015;56(5):1466–74. doi: 10.3109/10428194.2014.955019.
2. Liao Q, Wang B, Li X, Jiang G. miRNAs in acute myeloid leukemia. *Oncotarget*. 2017;8(2):3666–82. doi: 10.18632/oncotarget.12343.
3. Ambros V. MicroRNAs: tiny regulators with great potential. *Cell*. 2001;107(7):823–6. doi: 10.1016/S0092-8674(01)00616-X.
4. Marcucci G, Haferlach T, Dohner H. Molecular genetics of adult acute myeloid leukemia: prognostic and therapeutic implications. *J Clin Oncol*. 2011;29(5):475–86. doi: 10.1200/JCO.2010.30.2554.
5. Ehtesham N, Sharifi M. From conventional therapy toward microRNA-based therapy in acute promyelocytic leukemia. *Adv Biomed Res*. 2016;5:187. doi: 10.4103/2277-9175.190996.
6. Li Z, Lu J, Sun M, et al. Distinct microRNA expression profiles in acute myeloid leukemia with common translocations. *Proc Natl Acad Sci*. 2008;105:15535–40. doi: 10.1073/pnas.0808266105.
7. Dixon-Mclver A, East P, Mein CA, et al. Distinctive patterns of microRNA expression associated with karyotype in acute myeloid leukaemia. *PLoS One*. 2008;3(5):e2141. doi: 10.1371/journal.pone.0002141.
8. Jongen-Lavrencic M, Sun SM, Dijkstra MK, et al. MicroRNA expression profiling in relation to the genetic heterogeneity of acute myeloid leukemia. *Blood*. 2008;111(10):5078–85. doi: 10.1182/blood-2008-01-133355.

9. Stark M, Tyagi S, Nancarrow D, et al. Characterization of the Melanoma miRNAome by Deep Sequencing. *PLoS One*. 2010;5(3):e9685. doi: 10.1371/journal.pone.0009685.

10. Eisfeld A-K, Schwind S, Patel R, et al. Intronic miR-3151 within BAALC drives leukemogenesis by deregulating the TP53 Pathway. *Sci Signal*. 2014;7(321):ra36. doi: 10.1126/scisignal.2004762.

11. Eisfeld A-K, Marcucci G, Maharry K, et al. miR-3151 interplays with its host gene BAALC and independently affects outcome of patients with cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *Blood*. 2012;120(2):249–58. doi: 10.1182/blood-2012-02-408492.

12. Diaz-Beya M, Brunet S, Nomdedeu J, et al. The expression level of BAALC-associated microRNA miR-3151 is an independent prognostic factor in younger patients with cytogenetic intermediate-risk acute myeloid leukemia. *Blood Cancer J*. 2015;5(10):e352. doi: 10.1038/bcj.2015.76.

13. Weber S, Haferlach T, Alpermann T, et al. Feasibility of BAALC gene expression for detection of minimal residual disease and risk stratification in normal karyotype acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2016;175(5):904–16. doi: 10.1111/bjh.14343.

14. Shakirova A, Barkhatov I, Churkina A, et al. Prognostic significance of BAALC overexpression in patients with AML during the posttransplant period. *Cellular Therapy and Transplantation*. 2018;7(2):54–63. doi: 10.18620/ctt-1866-8836-2018-7-2-54-63.

15. Schnerch D, Yalcintepe J, Schmidts A, et al. Cell cycle control in acute myeloid leukemia. *Am J Cancer Res*. 2012;2(5):508–28.

16. Cilloni D, Renneville A, Hermitte F, et al. Real-time quantitative polymerase chain reaction detection of minimal residual disease by standardized WT1 assay to enhance risk stratification in acute myeloid leukemia: a European LeukemiaNet study. *J Clin Oncol*. 2009;27(31):5195–201. doi: 10.1200/JCO.2009.22.4865.

17. Мамаев Н.Н., Горбунова А.В., Бархатов И.М. и др. Молекулярный мониторинг течения острых миелоидных лейкозов по уровню экспрессии гена WT1 после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Клиническая онкогематология*. 2015;8(3):309–20. doi: 10.21320/2500-2139-2015-8-3-309-320.

[Мамаев NN, Gorbunova AV, Barkhatov IM, et al. Molecular Monitoring of WT1 Gene Expression Level in Acute Myeloid Leukemias after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Clinical oncohematology*. 2015;8(3):309–20. doi: 10.21320/2500-2139-2015-8-3-309-320. (In Russ)]

18. Hosen N, Sonoda Y, Oji Y, et al. Very low frequencies of human normal CD34+ haematopoietic progenitor cells express the Wilms' tumour gene WT1 at levels similar to those in leukaemia cells. *Br J Haematol*. 2002;116(2):409–20. doi: 10.1046/j.1365-2141.2002.03261.x.

19. Ellisen LW, Carlesso N, Cheng T, et al. The Wilms tumor suppressor WT1 directs stage-specific quiescence and differentiation of human hematopoietic progenitor cells. *EMBO J*. 2001;20(8):1897–909. doi: 10.1093/emboj/20.8.1897.

20. Panyajai P, Amnajphook N, Keawsangthongcharoen S, et al. Study of Leukemic Stem Cell Population (CD34+/CD38-) and WT1 Protein Expression in Human Leukemic Cell Lines. *J Assoc Med Sci*. 2018;51(1):38–44. doi: 10.14456/jams.2018.5.

21. Baldus C, Tanner S, Kusewitt D, et al. BAALC, a novel marker of human hematopoietic progenitor cells. *Exp Hematol*. 2003;31(11):1051–6. doi: 10.1016/j.exphem.2003.08.004.

22. Najima Y, Ohashi K, Kawamura M, et al. Molecular monitoring of BAALC expression in patients with CD34-positive acute leukemia. *Int J Hematol*. 2010;91(4):636–45. doi: 10.1007/s12185-010-0550-8.

23. Xiao S, Shen JZ, Huang JL, et al. Prognostic significance of the BAALC gene expression in adult patients with acute myeloid leukemia: A meta-analysis. *Mol Clin Oncol*. 2015;3(4):880–8. doi: 10.3892/mco.2015.562.

24. Lucena-Araujo A, Pereira-Martins D, Koury L, et al. Clinical impact of BAALC expression in high-risk acute promyelocytic leukemia. *Blood Adv*. 2017;1(21):1807–14. doi: 10.1182/bloodadvances.2017005926.