

## ТРАНСПЛАНТАЦИЯ КОСТНОГО МОЗГА

## BONE MARROW TRANSPLANTATION

### Ведущая роль *BAALC*-экспрессирующих клеток-предшественниц в возникновении и развитии посттрансплантационных рецидивов у больных острыми миелоидными лейкозами

### Crucial Role of *BAALC*-Expressing Progenitor Cells in Emergence and Development of Post-Transplantation Relapses in Patients with Acute Myeloid Leukemia

*Н.Н. Мамаев, А.И. Шакирова, И.М. Бархатов, Я.В. Гудожникова, Т.Л. Гиндина, О.В. Паина, Л.С. Зубаровская, Б.В. Афанасьев*

*NN Mamaev, AI Shakirova, IM Barkhatov, YaV Gudozhnikova, TL Gindina, OV Paina, LS Zubarovskaya, BV Afanas'ev*

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

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

#### РЕФЕРАТ

Представлены данные, указывающие на частую гиперэкспрессию гена *BAALC*, в т. ч. в комбинации с гиперэкспрессией гена *WT1*, у детей и взрослых с острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ). Программа лечения включала трансплантацию аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. При анализе данных серийного измерения уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1* у 50 больных ОМЛ (37 взрослых и 13 детей) было показано, что повышенная экспрессия гена *BAALC* чаще наблюдалась у больных с M1, M2, M4 и M5 ФАБ-вариантами ОМЛ, причем одинаково часто у взрослых и детей. Более того, гиперэкспрессия гена *BAALC* нередко сочеталась с повышенной экспрессией гена *WT1*, что указывало на худший прогноз. Поскольку уровень экспрессии гена *BAALC* у больных ОМЛ тесно связан с продуцирующими его клетками-предшественницами лейкозного гемопоэза, серийное изучение этого феномена открывает перспективы к пониманию места этих клеток в возникновении и развитии посттрансплантационных рецидивов, что имеет важное значение как в теоретическом, так и практическом плане.

**Ключевые слова:** острые миелоидные лейкозы, гены *BAALC* и *WT1*, синхронная гиперэкспрессия, посттрансплантационные рецидивы, *BAALC*-продуцирующие клетки-предшественницы, прогноз.

**Получено:** 30 июня 2019 г.

**Принято в печать:** 1 декабря 2019 г.

Для переписки: Николай Николаевич Мамаев, д-р мед. наук, профессор, ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197022; e-mail: nikmamaev524@gmail.com

#### ABSTRACT

This article presents data demonstrating frequent *BAALC* hyperexpression, also in combination with *WT1* hyperexpression, in children and adults with acute myeloid leukemia (AML). Treatment included allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. The analysis of serial measurements of *BAALC* and *WT1* expression level in 50 AML patients (37 adults and 13 children) showed that the increased *BAALC* expression is more common in patients with M1, M2, M4, and M5 FAB variants of AML with equal frequency in adults and children. Furthermore, the increased *BAALC* expression was rather common in combination with the increased *WT1* expression, which predicted poorer prognosis. Since *BAALC* expression level in AML patients is closely related to AML-producing progenitor cells of leukemia hematopoiesis, a serial study of this phenomenon offers insights into the role of these cells in emergence and development of post-transplantation relapses, which is of both theoretical and practical importance.

**Keywords:** acute myeloid leukemia, *BAALC* and *WT1* genes, synchronous hyperexpression, post-transplantation relapses, *BAALC*-producing progenitor cells, prognosis.

**Received:** June 30, 2019

**Accepted:** December 1, 2019

For correspondence: Prof. Nikolai Nikolaevich Mamaev, MD, PhD, 6/8 L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197022; e-mail: nikmamaev524@gmail.com

Для цитирования: Мамаев Н.Н., Шакирова А.И., Бархатов И.М. и др. Ведущая роль BAALC-экспрессирующих клеток-предшественниц в возникновении и развитии посттрансплантационных рецидивов у больных острыми миелоидными лейкозами. Клиническая онкогематология. 2020;13(1):75–88.

DOI: 10.21320/2500-2139-2020-13-1-75-88

For citation: Mamaev NN, Shakirova AI, Barkhatov IM, et al. Crucial Role of BAALC-Expressing Progenitor Cells in Emergence and Development of Post-Transplantation Relapses in Patients with Acute Myeloid Leukemia. Clinical oncohematology. 2020;13(1):75–88 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2020-13-1-75-88

## ВВЕДЕНИЕ

Как известно, в физиологических условиях гемопоэз обеспечивается системой взаимосвязанных между собой CD34-позитивных клеток-предшественниц [1–3], незрелых бластных элементов и формирующихся из них более зрелых видов кроветворных клеток, имеющих взаиморегулирующие связи [4–6]. По-видимому, такие же несколько модифицированные системы регуляции образования кроветворных элементов имеют место и при лейкозах.

Одной из причин неуспеха терапии острых миелоидных лейкозов (ОМЛ), включая трансплантацию аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК), считаются рецидивы. Последние у большинства больных успешно верифицируются с помощью серийного измерения уровня экспрессии гена *WT1* [7, 8], что позволяет количественно оценить число накапливающихся в тканях бластных элементов. Однако источником накопления в лейкозной популяции этих клеток являются предшественники лейкозного гемопоэза с иммунофенотипом CD34+CD38– [9–12].

Новым молекулярным маркером в понимании патогенеза рецидивов острых лейкозов постепенно становится ген *BAALC*, высокий уровень экспрессии которого как раз тесно связан с активностью этих лейкозных клеток-предшественниц [13–16]. Сначала белковый продукт этого гена был обнаружен в цитоплазме клеток головного мозга [17], откуда и пошло его необычное название. В гематологии феномен гиперэкспрессии гена *BAALC* был продемонстрирован у больных ОМЛ с трисомией хромосомы 8, на длинном плече которой и находится этот ген [17]. Позднее наличие этого феномена и его тесная связь с клинико-лабораторными показателями были подтверждены у многих больных ОМЛ [18–33].

Накопленный к настоящему времени опыт показывает, что в случае как нормального, так и лейкозного гемопоэза экспрессия гена *BAALC* является чрезвычайно специфичной для CD34-позитивных клеток-предшественниц костного мозга, но значительно снижена в CD34-негативных клетках [13–15, 34]. При ОМЛ наиболее высокий уровень экспрессии гена *BAALC* наблюдается у больных с М2 ФАБ-вариантом ОМЛ, маркированным транслокацией  $t(8;21)(q22;q22)$ , чему имеется частичное объяснение [19, 35–37]. Чуть реже она встречается у больных с М1 ФАБ-вариантом ОМЛ и практически отсутствует при М3-варианте [31, 38].

По последним данным, в роли иницирующих ОМЛ клеточных элементов выступают прежде всего ранние предшественники с иммунофенотипом CD34+CD38–. Важной особенностью этих клеток является их малая чувствительность к цитостатическим

препаратам и иммунотерапии [39, 40]. В силу данного обстоятельства они могут выдерживать проводимую терапию, включая режимы кондиционирования со сниженной цитостатической активностью. После ее прекращения они легко восстанавливают свой патологический потенциал с развитием рецидива. Немаловажно и то, что активированные в гемопоэзе лейкозные клетки-предшественницы способны к экспрессии гена *BAALC*, что, по аналогии с геном *WT1*, может быть легко измерено методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени [7, 32]. Исходя из этих предпосылок, одновременное измерение уровней экспрессии обоих обсуждаемых здесь экспрессионных молекулярных маркеров представляется чрезвычайно важным для дальнейшего прояснения механизмов возникновения, развития и коррекции рецидивов, включая посттрансплантационные (ПТР).

Одно из первых, не связанных с трансплантацией, исследований [41] было выполнено в когорте из 45 взрослых больных с ОМЛ, положительным по ядровсвязывающему фактору (core-binding factor, CBF). Эта группа была представлена 28 больными со стандартной транслокацией  $t(8;21)(q22;q22)$  и 17 пациентами с инверсией  $inv(16)$ . Одновременное использование в работе данных по экспрессии генов *BAALC* и *WT1* представляется многообещающим как в теоретическом, так и практическом плане. Как оказалось, наличие у таких больных высокого уровня экспрессии гена *BAALC* ко времени постановки диагноза четко ассоциировалось с нарастанием кумулятивной частоты рецидивов (КЧР;  $p = 0,002$ ) и ухудшением безрецидивной выживаемости (БРВ;  $p = 0,011$ ). В посттрансплантационный же период высокие уровни экспрессии генов *BAALC* и *WT1* были связаны с ухудшением общей выживаемости (ОВ;  $p = 0,001$  и  $p = 0,003$  соответственно) и БРВ ( $p = 0,002$  и  $p = 0,006$  соответственно), так же как и с нарастанием КЧР ( $p = 0,001$  и  $p = 0,003$  соответственно). Обращало на себя внимание, что обнаруженные в посттрансплантационный период более высокие уровни экспрессии генов *BAALC* и *WT1* у больных ОМЛ с транслокацией  $t(8;21)(q22;q22)$  были отрицательно связаны с ухудшением ОВ ( $p = 0,018$  и  $p = 0,015$  соответственно) и нарастанием КЧР ( $p = 0,019$  и  $p = 0,011$  соответственно). Таким образом, данное исследование стало первым, в котором в группе больных со стандартным лечением показано, что более высокие уровни экспрессии генов *BAALC* и *WT1* в посттрансплантационный период у пациентов с CBF-позитивными вариантами ОМЛ позволяют предсказывать не только вероятность развития рецидивов, но и ожидаемую продолжительность жизни у этой категории больных.

**Цель настоящего исследования** состоит в оценке взаимоотношения между количеством лейкозных

клеток-предшественниц и бластных элементов у больных с различными ФАБ-цитологическими и цитогенетическими вариантами ОМЛ с помощью одновременного серийного измерения уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В настоящее исследование включено 107 больных с различными ФАБ-цитологическими и цитогенетическими вариантами ОМЛ, программа лечения включала аллотГСК в клинике НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой при Первом СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. Среди них было 54 лица женского пола и 53 — мужского в возрасте от 2 до 60 лет с медианой возраста 27 лет. Определение количества копий транскриптов обоих изучаемых в исследовании генов выполняли методом ПЦР в реальном времени по ранее описанной методике [7, 33] с использованием соответствующих наборов реагентов и калибраторов производителя Inogene (Россия). В качестве порога для разграничения групп больных с высоким и низким уровнями экспрессии гена *BAALC* была выбрана величина 3100 (31 %) копий/ $10^4$  копий гена *ABL*, которая была сопоставима с максимальным значением уровня экспрессии гена *BAALC* у больных в состоянии цитологической ремиссии до и после аллотГСК в течение 2 лет. Согласно рекомендациям группы European LeukemiaNet, уровень экспрессии гена *WT1* 250 копий/ $10^4$  копий гена *ABL* был выбран в качестве порогового для разграничения больных с высоким и низким уровнями экспрессии данного молекулярного маркера [7]. Статистический анализ полученных данных осуществ-

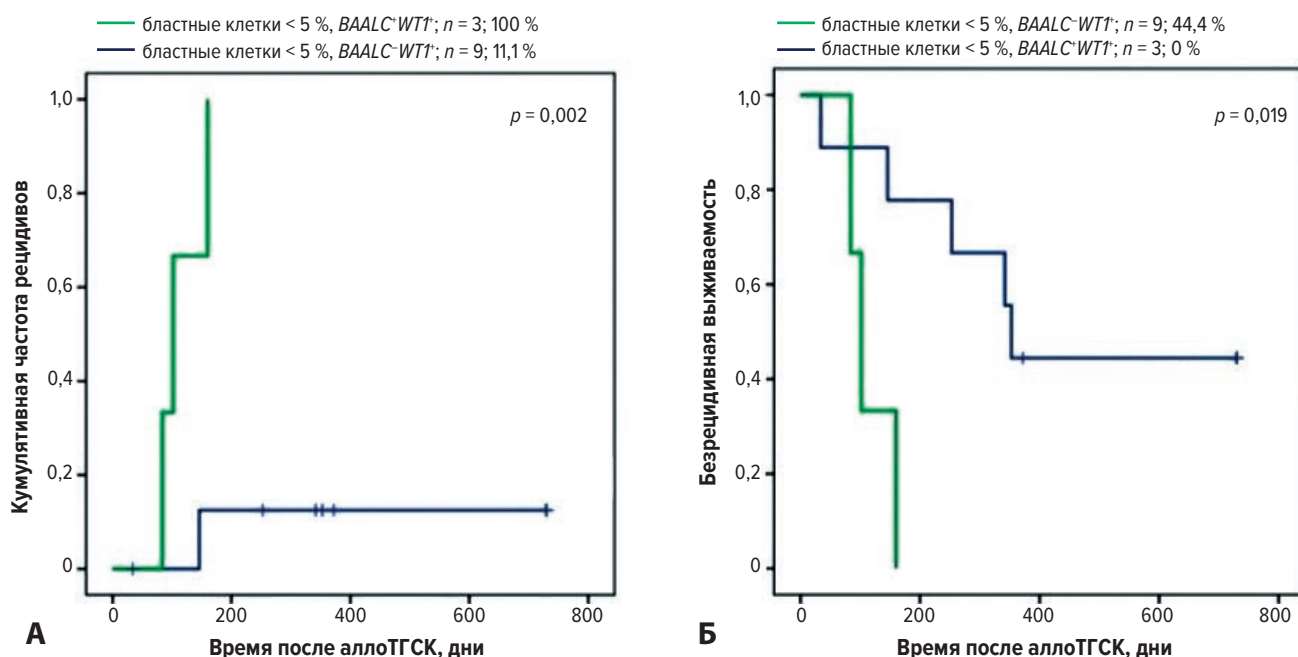
ляли с использованием программного обеспечения SPSS Statistics ver. 22.0.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Доказательство участия *BAALC*-продуцирующих клеток-предшественниц в возникновении и развитии посттрансплантационных рецидивов ОМЛ

Главное доказательство участия *BAALC*-продуцирующих клеток-предшественниц в возникновении и развитии ПТР было получено нами при анализе группы больных ОМЛ ( $n = 12$ ), у которых перед трансплантацией уровень экспрессии гена *WT1* был повышен, а содержание бластных элементов в аспиратах костного мозга было менее 5 % [8]. Медиана времени взятия пробы костного мозга перед проведением аллотГСК в этой группе больных составила 14 дней (с Д-17 по Д-6). Это исследование выявило наличие гиперэкспрессии гена *BAALC* на этапе трансплантации только у 3 из 12 пациентов, что сопровождалось ранним возникновением у них рецидивов ОМЛ после выполнения аллотГСК и статистически значимым ухудшением показателей БРВ ( $p = 0,002$  и  $p = 0,019$  соответственно) (рис. 1).

Эти данные стали основанием для проведения исследования с параллельным измерением уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1* у 95 больных с различными ФАБ-вариантами ОМЛ, программа лечения которых включала аллотГСК. У 50 из них (37 взрослых и 13 детей до 17 лет) значения уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1* были получены на этапе рецидивов, а их сопоставление с клиническими и лабораторными характеристиками больных представлено в табл. 1.



**Рис. 1.** Кумулятивная частота рецидивов (А) и 2-летняя безрецидивная выживаемость (Б) у больных ОМЛ с высоким уровнем экспрессии гена *WT1* и сниженным до 4 % содержанием бластных элементов в аспиратах костного мозга с повышенным и подпороговыми уровнями экспрессии гена *BAALC* на этапе выполнения аллотГСК (в ДО)

**Fig. 1.** Cumulative incidence of relapses (A) and 2-year disease-free survival (B) in AML patients with high *WT1* expression level and the blast percentage decreased to 4 % in bone marrow aspirates with increased and subthreshold levels of *BAALC* expression at the time of allo-HSCT (Day 0)

**Таблица 1.** Уровни экспрессии генов *BAALC* и *WT1* на этапе постановки диагноза, перед аллотГСК и при посттрансплантационных рецидивах у больных с различными ФАБ-вариантами ОМЛ

Пациент №	ФАБ-вариант ОМЛ	Пол	Возраст, лет	Этапы заболевания										Исход	Время после аллотГСК, дни
				Диагноз (Д)		Перед аллотГСК (ДО)		ПТР		Этапы заболевания с одновременной гиперэкспрессией генов <i>BAALC</i> и <i>WT1</i>		День ПТР	Исход		
				<i>BAALC</i> , %	<i>WT1</i> , копий/ $10^4$ копий <i>ABL</i>	<i>BAALC</i> , %	<i>WT1</i> , копий/ $10^4$ копий <i>ABL</i>	<i>BAALC</i> , %	<i>WT1</i> , копий/ $10^4$ копий <i>ABL</i>	<i>BAALC</i> , %	<i>WT1</i> , копий/ $10^4$ копий <i>ABL</i>				
1	M1	М	21	НД	НД	0,5	379	2,5	329	7858	70,0	146	Умер	306	
2	M1	Ж	48	17	386	НД	НД	НД	117	281	40,0	61	Умер	98	
3	M1	Ж	54	НД	НД	32	18 439	79,2	77	32 981	35,4	24	Умер	61	
4	M1	Ж	26	130	10 493	НД	НД	НД	125	6500	11,6	400	Умер	692	
5	M1	Ж	60	2617	1728	3	29	0,6	378	197	37,0	155	Умер	382	
6	M1	Ж	18	370	402	НД	НД	НД	—	—	—	—	Умер	95	
7	M1	М	18	242	13 542	НД	НД	НД	—	—	—	—	Жив	730*	
8	M1	Ж	25	НД	НД	40	1764	13,2	—	—	—	—	Умер	613	
9	M1	Ж	44	НД	НД	29	2355	8,8	НД	НД	НД	21	Умер	45	
10	M1	Ж	32	НД	НД	21	40	2,0	4	41	7,8	98	Жив	672	
11	M1	М	26	НД	НД	2	47	2,6	2	35	48,0	143	Умер	179	
12	M2	М	30	4	725	НД	НД	НД	153	2363	23,0	53	Умер	194	
13	M2	Ж	15	89	37	34	322	9,0	67	2033	45,0	67	Умер	306	
14	M2	М	39	НД	НД	НД	НД	НД	83	18 872	26,0	77	Умер	350	
15	M2	Ж	38	НД	НД	787	8756	59,4	—	—	—	—	Умер	407	
16	M2	М	58	НД	НД	366	26 100	45,8	НД	НД	НД	763	Умер	763	
17	M2	М	35	НД	НД	34	4238	5,0	—	—	—	—	Умер	20	
18	M2	М	8	321	1236	22	7	4,2	—	—	—	—	Жив	469	
19	M2	М	9	99	10 789	27	4	1,6	—	—	—	—	Жив	730*	
20	M2	М	28	НД	НД	НД	НД	НД	23	5518	24,0	68	Умер	162	
21	M2	Ж	49	НД	НД	14	4	6,5	НД	НД	НД	188	Умер	214	
22	M2	М	15	0,6	37	НД	НД	НД	—	—	—	—	Жив	730*	
23	M0	Ж	42	НД	НД	521	8296	14,0	НД	НД	НД	138	Умер	166	
24	M0	М	25	124	2,5	НД	НД	НД	82	5	28,2	98	Умер	103	
25	M0	Ж	12	0,01	1168	НД	НД	НД	НД	НД	НД	112	Умер	129	
26	M4	М	6	982,1	183	НД	НД	НД	7118	296	41,2	246	Умер	779	
27	M4	Ж	34	НД	НД	549	10 819	11,6	НД	НД	НД	526	Умер	560	
28	M4	М	39	НД	НД	503	3548	62,0	—	—	—	—	Жив	614	
29	M4	Ж	21	107	867	НД	НД	НД	389	529	12,0	83	Умер	393	
30	M4	Ж	25	107	1790	НД	НД	НД	—	—	—	—	Жив	730*	
31	M4	М	5	95	999	НД	НД	НД	35	411	12,6	223	Жив	730*	
32	M4	М	21	НД	НД	39	41	5,4	—	—	—	—	Жив	518	
33	M4	Ж	28	НД	НД	34	7367	7,6	НД	НД	НД	195	Жив	730*	
34	M4	Ж	16	34	1479	НД	НД	НД	—	—	—	—	Умер	128	
35	M4	М	19	27	14 929	9	1319	25,4	—	—	—	—	Умер	311	

36	M4	Ж	19	НД	НД	НД	НД	25	96	10,6	—	—	—	—	Жив	730*
37	M4	М	27	НД	НД	НД	НД	20	1696	10,0	—	—	—	—	Умер	459
38	M4	М	18	НД	НД	НД	НД	10	836	7,2	—	—	—	—	Умер	61
39	M4	М	17	НД	НД	НД	НД	5	51	3,0	6	362	7,0	99	Умер	197
40	M4	Ж	55	4	11686	68,0	НД	НД	НД	НД	0,06	1020	20,0	57	Умер	101
41	M4	М	17	НД	НД	НД	НД	2	2258	12,0	—	—	—	—	Жив	730*
42	M5	Ж	32	НД	НД	НД	НД	272	3779	31,6	—	—	—	23	Умер	142
43	M5	М	11	45	11753	88,0	НД	НД	НД	НД	—	—	—	—	Жив	730*
44	M5	М	37	2	177	8,0	2	2	77	3,8	24	4542	21,0	195	Умер	423
45	M5	М	22	17	25	94,4	0,6	0,6	6	1,4	10	25	9,6	42	Жив	730*
46	M5	М	55	1,3	9631	40,0	НД	НД	НД	НД	—	—	—	—	Жив	730*
47	M3	Ж	17	НД	НД	НД	НД	НД	НД	НД	3	32 684	24,4	136	Умер	160
48	M3	М	18	0,053	4375	33,6	НД	НД	НД	НД	—	—	—	—	Жив	730*
49	M7	Ж	3	0,25	282	12,8	3	3	3693	13,4	0,3	1049	20,8	60	Умер	258
50	MДС	М	8	НД	НД	НД	НД	51	2048	7,2	121	10 239	30,4	181	Умер	317

«←» — ПТР не зарегистрирован в течение 2 лет после аллоТГСК; аллоТГСК — трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток; МДС — миелодиспластический синдром; НД — нет данных; ОМЛ — острые миелоидные лейкозы; ПТР — посттрансплантационный рецидив.

\* Цензурирование.

### Обоснование клинической значимости гиперэкспрессии гена BAALC у взрослых пациентов с различными ФАБ-вариантами ОМЛ и повышенной экспрессией гена WT1, получавших аллоТГСК

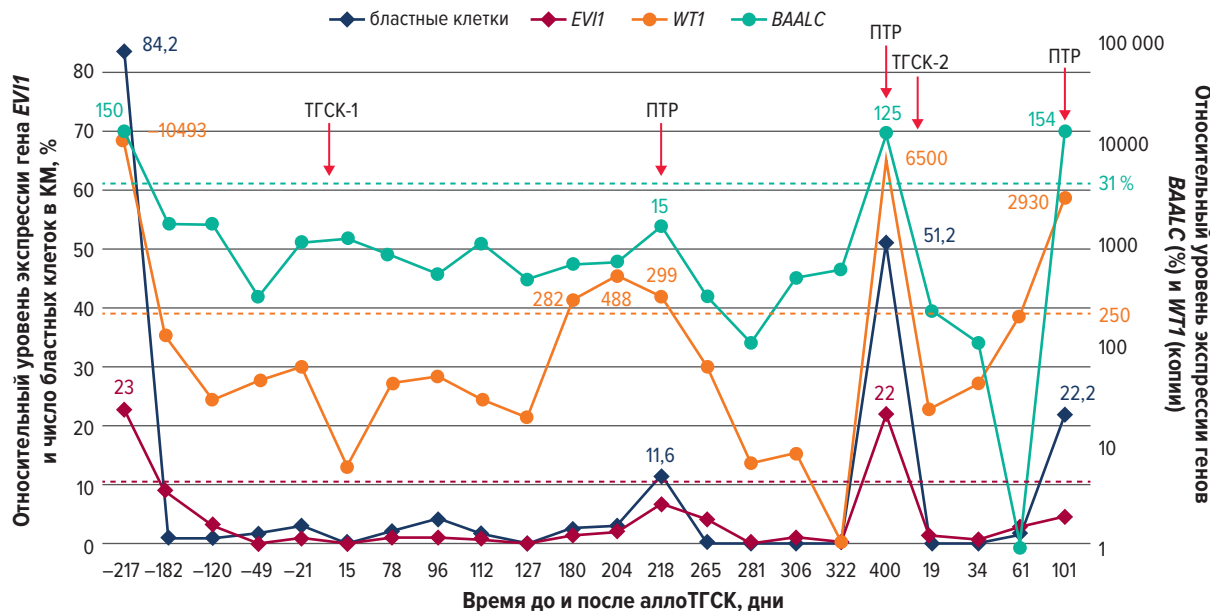
#### M1 ФАБ-вариант ОМЛ

Как видно из данных, представленных в табл. 1, на начальном этапе заболевания повышенная экспрессия гена BAALC имела место у 4 (80 %) из 5 обследованных пациентов с M1 ФАБ-вариантом ОМЛ (№ 4–7), причем у всех в комбинации с повышенным уровнем экспрессии гена WT1. Незадолго до трансплантации (в Д0) умеренная гиперэкспрессия гена BAALC (32 и 40 % соответственно) была отмечена только у 2 (28,6 %) из 7 обследованных пациентов, причем в обоих наблюдениях (№ 3 и 8) в комбинации с гиперэкспрессией гена WT1. Наконец, на этапе ПТР повышенная экспрессия гена BAALC выявлена у 5 (71 %) из 7 обследованных пациентов, в т. ч. у 4 (№ 1–4) в комбинации с гиперэкспрессией гена WT1.

В качестве иллюстрации представлены развернутые клинические и лабораторные данные одной из этих больных (рис. 2). Речь идет о пациентке 26 лет с M1 ФАБ-вариантом ОМЛ (№ 4), имевшей сложный кариотип, который дополнительно усугублялся наличием в этих клетках повышенной экспрессии гена EVI1. В данном наблюдении одновременное повышение уровней экспрессии генов BAALC и WT1 было зарегистрировано уже в начале заболевания, но аллоТГСК с использованием миелоаблативного режима кондиционирования была выполнена в состоянии достигнутых клинико-гематологической и молекулярной ремиссий. Несмотря на это обстоятельство, в посттрансплантационный период у больной диагностировано два цитологических рецидива (в Д218+ и Д400+), что потребовало проведения неотложной повторной трансплантации от гаплоидентичного родственного донора. Исход этой гаплоТГСК был неутешительный, поскольку ранний рецидив развился уже в Д101+. В это время имел место синхронный скачок уровней экспрессии обоих изучаемых молекулярных маркеров. Из этого следует, что плохой исход заболевания при лейкозе с повышенной экспрессией трех прогностически неблагоприятных молекулярных маркеров был предрешен, а продолжительность жизни со времени проведения последней трансплантации составила всего 249 дней.

#### M2 ФАБ-вариант ОМЛ

На начальном этапе заболевания повышенная экспрессия гена BAALC имела место только у 3 (60 %) из 5 обследованных нами пациентов с M2 ФАБ-вариантом ОМЛ, в т. ч. у 2 (№ 18 и 19) в комбинации с гиперэкспрессией гена WT1. Непосредственно перед трансплантацией доля BAALC-экспрессирующих клеток-предшественниц была увеличена у 4 (57 %) из 7 пациентов, включая 4 (№ 13, 15–17) с синхронным повышением уровня экспрессии гена WT1. На этапе ПТР гиперэкспрессия гена BAALC отмечена у 3 (75 %) из 4 обследованных нами пациентов (№ 12–14), причем у всех в комбинации с резко повышенной экспрессией гена WT1.



**Рис. 2.** Серийное измерение уровней экспрессии генов *BAALC*, *WT1* и *EVI1*, а также содержания бластных элементов в аспиратах костного мозга больной 26 лет с М1 ФАБ-вариантом ОМЛ (№ 4) и сложным кариотипом 47,XX, der(11)add(q15), del(q23), +21, дополненным гиперэкспрессией гена *EVI1*. У больной имело место одновременное повышение уровней экспрессии обоих генов на этапах первичного диагноза ОМЛ, а также 2-го и 3-го рецидивов, что предопределило летальный исход через 692 дня после 1-й аллоТГСК

аллоТГСК — трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток; KM — костный мозг; ПТР — посттрансплантационный рецидив.

**Fig. 2.** Serial measurements of both *BAALC*, *WT1* and *EVI1* expression levels, and blast percentage in bone marrow aspirates of a female patient, aged 26 years, with M1 FAB variant of AML (No. 4) and complex 47,XX, der(11)add(q15), del(q23), +21 karyotype with *EVI1* hyperexpression. In this patient simultaneous expression increase of both genes was observed at the time of primary AML diagnosis as well as on the 2nd and 3rd relapses, which caused death 692 days after the 1st allo-HSCT

аллоТГСК — allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; KM — bone marrow; ПТР — post-transplantation relapse.

В качестве иллюстрации приводим развернутые клинические и лабораторные данные одного из этих пациентов (рис. 3). Речь идет о больном 30 лет (№ 12) с М2 ФАБ-вариантом ОМЛ и кариотипом 46,XY, add(1)(p36), t(8;21)(q22;q22), add(17)(q25).

АллоТГСК выполнена в состоянии достигнутой клинко-гематологической ремиссии, но с наличием минимальной остаточной болезни с использованием режима кондиционирования сниженной интенсивности. Посттрансплантационный период осложнился развитием двух цитологических рецидивов (в Д53+ и Д139+) с увеличением содержания бластных элементов до 23 и 28 % соответственно, что четко коррелировало с двумя пиками синхронного повышения экспрессии генов *BAALC* и *WT1*. Второй цитологический рецидив сопровождался более высоким содержанием бластных элементов в костном мозге (28 %) и нарастанием уровня экспрессии гена *WT1* до 2649 копий. При этом количество *BAALC*-экспрессирующих клеток-предшественниц лейкозного гемопоэза в данном наблюдении оставалось увеличенным (47 %), что, естественно, предвещало неблагоприятный исход. Продолжительность жизни со времени выполнения аллоТГСК составила 194 дня.

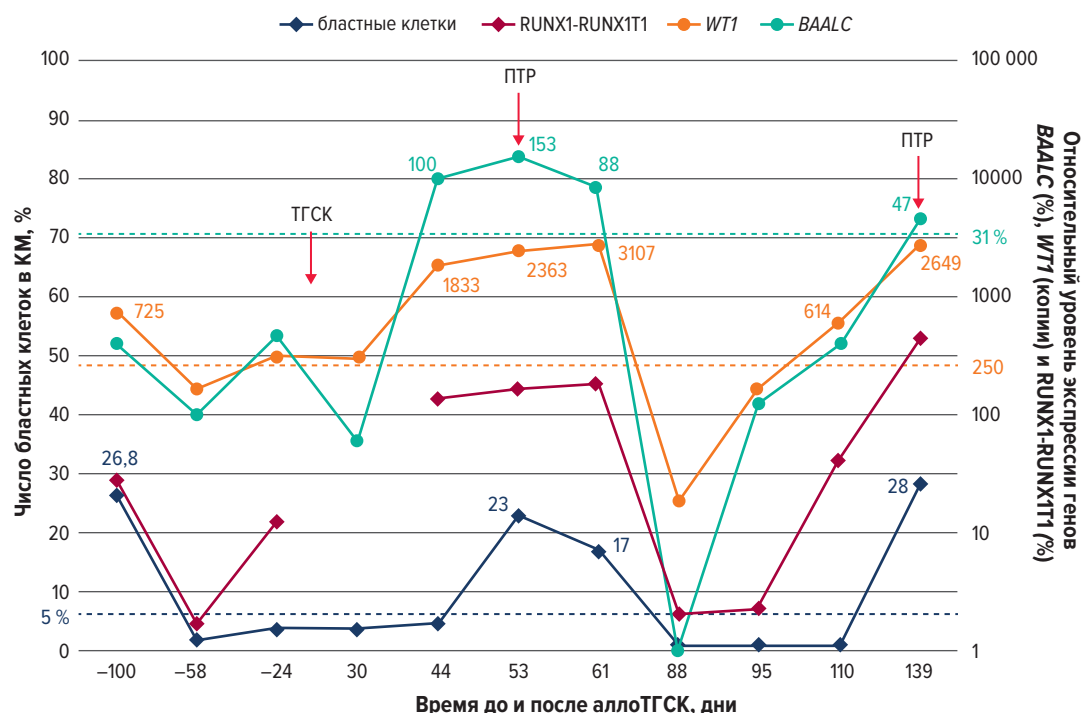
#### М4 ФАБ-вариант ОМЛ

На начальном этапе гиперэкспрессия гена *BAALC* была зафиксирована у 5 (71 %) из 7 обследованных нами больных с М4 ФАБ-вариантом ОМЛ, в т. ч. у 4 пациентов (№ 29–31, 34) в комбинации с гипер-

экспрессией гена *WT1*. Непосредственно перед трансплантацией повышение уровня экспрессии гена *BAALC* имело место у 4 пациентов (№ 27, 28, 32 и 33), в т. ч. у 2 (№ 27 и 28) с высокой экспрессией гена *WT1*. На этапе ПТР гиперэкспрессия гена *BAALC* была обнаружена у 3 (60 %) из 5 обследованных больных (№ 26, 29 и 31), причем у всех в комбинации с повышенной экспрессией гена *WT1*.

В качестве иллюстрации представленных положений приводим расширенные клинические и лабораторные данные одной из этих пациенток (рис. 4), часть клинических и лабораторных данных которой опубликована ранее [42]. Речь идет о больной в возрасте 21 года (№ 29) с М4 ФАБ-вариантом ОМЛ с исходным кариотипом 45,XX, inv(3)(q21q26), -7 и гиперэкспрессией гена *EVI1*.

Как видно из данных, представленных на рис. 4, феномен одновременного повышения уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1* сначала был зарегистрирован перед выполнением аллоТГСК с использованием режима кондиционирования сниженной интенсивности. На этапах 1-го и 2-го рецидивов выраженность феномена одновременной гиперэкспрессии обоих изучаемых генов стала нарастать. Более того, стало ясно, что подъемы экспрессии генов *BAALC* и *WT1* были взаимосвязаны, а также существенно опережали по времени рост содержания бластных элементов в костном мозге. Такое прогрессирующее течение заболевания в комбинации с отмеченными выше неблагоприятными изменениями хромосом



**Рис. 3.** Серийное измерение уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1*, а также химерного транскрипта *RUNX1-RUNX1T1* и содержания бластных элементов в костном мозге больного 30 лет (№ 12) с М2 ФАБ-вариантом ОМЛ и кариотипом 46,XY, add(1)(p36), t(8;21)(q22;q22), add(17)(q25). АллотГСК выполнена в состоянии клинико-гематологической ремиссии, но при наличии минимальной остаточной болезни (по данным измерения уровня экспрессии химерного транскрипта *RUNX1-RUNX1T1*) с использованием режима кондиционирования сниженной интенсивности. Посттрансплантационный период осложнился развитием двух цитологических рецидивов (в Д53+ и Д139+) с повышением содержания бластных элементов в костном мозге до 23 и 28 % соответственно, что четко ассоциировалось с двумя пиками синхронного повышения экспрессии генов *BAALC* и *WT1*

аллотГСК — трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток; КМ — костный мозг; ПТР — посттрансплантационный рецидив.

**Fig. 3.** Serial measurements of *BAALC* and *WT1* expression levels, the *RUNX1-RUNX1T1* chimeric transcript, and blast percentage in bone marrow aspirates of a patient (No. 12), aged 30 years, with M2 FAB variant of AML and the 46,XY, add(1)(p36), t(8;21)(q22;q22), add(17)(q25) karyotype. Allo-HSCT was performed in clinical and hematologic remission but with minimal residual disease (according to the measurements of the *RUNX1-RUNX1T1* chimeric transcript expression) using reduced intensity conditioning regimen. In post-transplantation period two cytological relapses occurred (on Days 53+ and 139+) with blast percentage in bone marrow increasing to 23 % and 28 %, respectively, which was clearly associated with two peaks of simultaneous increase of *BAALC* and *WT1* expression

аллотГСК — allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; КМ — bone marrow; ПТР — post-transplantation relapse.

не только предвещало плохой прогноз, но и привело к летальному исходу через 393 дня после выполнения аллотГСК.

#### М5 ФАБ-вариант ОМЛ

На начальном этапе гиперэкспрессия гена *BAALC* на фоне высокого содержания бластных элементов в костном мозге и резкого повышения уровня экспрессии гена *WT1* (11 753 копии/10<sup>4</sup> копий гена *ABL*) была зафиксирована только у 1 (25 %) из 4 обследованных нами больных с М5 ФАБ-вариантом ОМЛ (№ 43). Непосредственно же перед трансплантацией измеренная у 2 больных экспрессия гена *BAALC* не достигала порогового уровня.

#### Данные по экспрессии генов *BAALC* и *WT1* у детей с ОМЛ до 17 лет, получавших аллотГСК

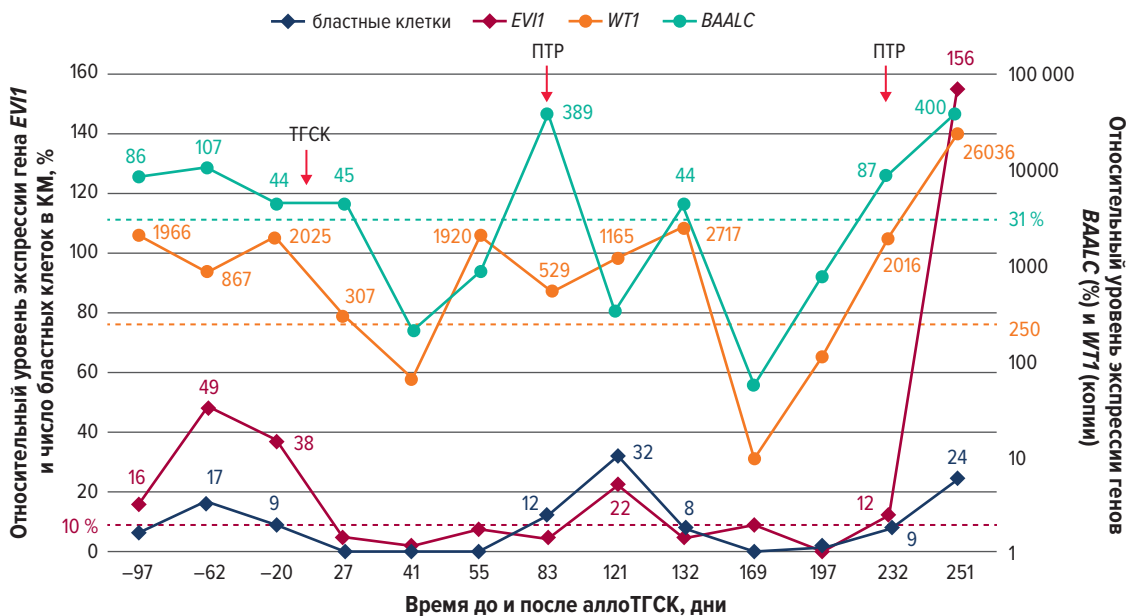
Поскольку, по литературным данным, уровни экспрессии генов *BAALC* и *WT1* у взрослых и детей с ОМЛ могут различаться [43], мы сочли необходимым посвятить этому вопросу отдельный раздел работы.

Как видно из данных табл. 1, в общую когорту пациентов исследования включено 13 детей в возрасте 3–17 лет. У 4 из них был диагностирован М2

ФАБ-вариант ОМЛ, у 5 — М4-вариант. По 1 пациенту имели М0, М3 и М7 ФАБ-варианты.

На начальном этапе заболевания повышенный уровень экспрессии гена *BAALC* отмечался у 8 (42 %) из 13 пациентов (№ 13, 18, 19, 26, 31, 34, 43 и 47), в т. ч. у 5 в комбинации с гиперэкспрессией гена *WT1* (№ 18, 19, 31, 34 и 43). Непосредственно перед трансплантацией феномен повышения экспрессии обоих интересующих нас генов был зарегистрирован только у 1 больной (№ 13), клинические и лабораторные данные которой представлены на рис. 5.

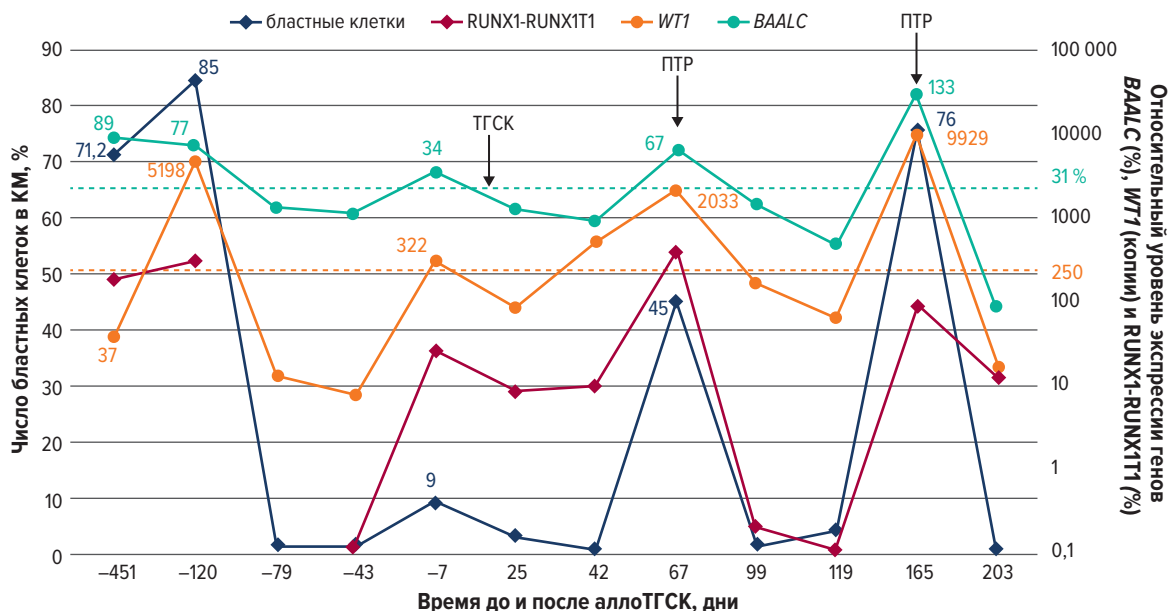
В этом наблюдении кариотип лейкозных клеток 49,XX,+X,+4,t(8;21)(q22;q22),+15 формально должен был расцениваться как прогностически благоприятный в связи с наличием транслокации t(8;21), дополненной присутствием трех хромосом. На таком цитогенетическом фоне было зарегистрировано одновременное повышение уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1* как в дебюте заболевания, так на этапах 1-го и 2-го ПТР (в Д67+ и Д165+). При этом в условиях 2-го рецидива содержание бластных элементов в костном мозге было более высоким — 76 %, что сопровождалось увеличением уровня экспрессии генов *WT1* (9929 копий) и *BAALC* (133 %). В итоге справиться



**Рис. 4.** Серийное измерение уровней экспрессии генов *BAALC*, *WT1* и *EVI1*, а также содержания бластных элементов в аспиратах костного мозга у пациентки в возрасте 21 год (№ 29) с М4 ФАБ-вариантом ОМЛ, кариотипом 45,XX, inv(3)(q21q26), -7 и гиперэкспрессией гена *EVI1*. У больной имело место одновременное надпороговое их повышение как перед аллотГСК с использованием режима кондиционирования сниженной интенсивности, так и на этапах обоих рецидивов, что в сочетании с прогностически неблагоприятными изменениями хромосом, по-видимому, могло определить летальный исход через 393 дня после аллотГСК. аллотГСК — трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток; КМ — костный мозг; ПТП — посттрансплантационный рецидив.

**Fig. 4.** Serial measurements of both *BAALC*, *WT1* and *EVI1* expression levels, and blast percentage in bone marrow aspirates of a female patient (No. 29), aged 21 years, with M4 FAB variant of AML, the 45,XX, inv(3)(q21q26), -7 karyotype, and *EVI1* hyperexpression. In this patient simultaneous above-threshold increase of them was observed both prior to allo-HSCT using reduced intensity conditioning regimen and at the time of both relapses, which along with prognostically unfavorable chromosomal changes could probably be the reason of death 393 days after allo-HSCT.

аллотГСК — allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; КМ — bone marrow; ПТП — post-transplantation relapse.



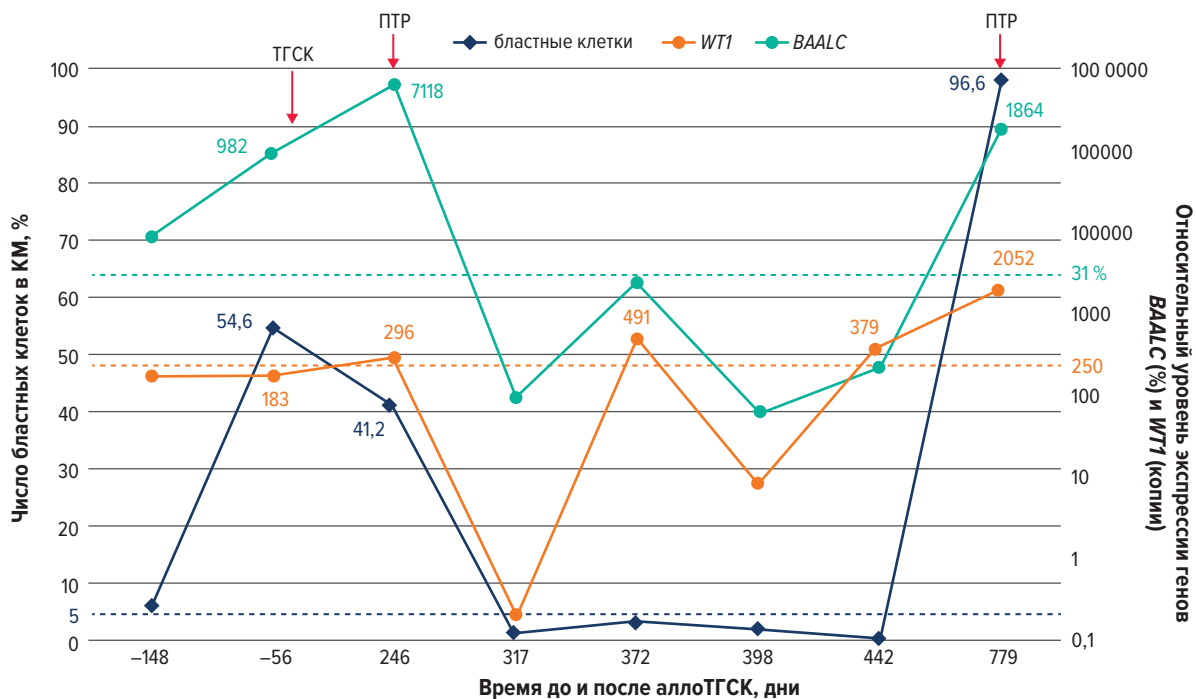
**Рис. 5.** Серийное измерение уровней экспрессии генов *BAALC*, *WT1* и содержания бластных элементов в аспиратах костного мозга у больной 15 лет (№ 13) с М2 ФАБ-вариантом ОМЛ и кариотипом 49,XX, +X, +4, t(8;21)(q22;q22), +15. У больной имело место одновременное повышение уровней экспрессии обоих генов на этапах первичной диагностики ОМЛ, а также 1-го и 2-го рецидивов, что и предопределило летальный исход через 306 дней после аллотГСК.

аллотГСК — трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток; КМ — костный мозг; ПТП — посттрансплантационный рецидив.

**Fig. 5.** Serial measurements of both *BAALC*, *WT1* expression levels, and blast percentage in bone marrow aspirates of a female patient (No. 13), aged 15 years, with M2 FAB variant of AML and the 49,XX, +X, +4, t(8;21)(q22;q22), +15 karyotype. In this patient simultaneous expression increase of both genes was observed at the time of primary AML diagnosis as well as on the 1st and 2nd relapses, which caused death 306 days after allo-HSCT.

аллотГСК — allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; КМ — bone marrow; ПТП — post-transplantation relapse.





**Рис. 6.** Серийное измерение уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1*, а также содержания бластных элементов в костном мозге ребенка 6 лет (№ 26) с М4 ФАБ-вариантом ОМЛ и исходно нормальным кариотипом 46,XY. ГаплоТГСК выполнена по жизненным показаниям в условиях прогрессирования лейкоза с высоким уровнем экспрессии гена *BAALC*. При последнем цитологическом рецидиве, который был диагностирован в Д779+, содержание бластных элементов в костном мозге достигло 96,6 %, что сопровождалось синхронным повышением экспрессии генов *WT1* и *BAALC* (до 2052 копий и 1864 % соответственно). На этом этапе заболевания его неблагоприятный исход был предрешен. Продолжительность жизни после гаплоТГСК составила 779 дней  
гаплоТГСК — гаплоидентичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; КМ — костный мозг; ПТР — посттрансплантационный рецидив.

**Fig. 6.** Serial measurements of both *BAALC*, *WT1* expression levels, and blast percentage in bone marrow aspirates of a child (No. 26), aged 6 years, with M4 FAB variant of AML and initially normal 46,XY karyotype. Haplo-HSCT was performed as life-saving procedure in the context of leukemia progression with a high *BAALC* expression level. On the last cytological relapse diagnosed on Day 779+ blast percentage in bone marrow reached 96.6 %, which was accompanied by simultaneous increase of *WT1* and *BAALC* expression (up to 2052 copies and 1864 %, respectively). At this stage of the disease a poor outcome was undoubtedly to expect. The time from haplo-HSCT to death was 779 days

гаплоТГСК — haploidentical hematopoietic stem cell transplantation; КМ — bone marrow; ПТР — post-transplantation relapse.

с прогрессированием данного варианта ОМЛ не удалось, что, по-видимому, предопределило как общий неблагоприятный исход заболевания, так и уменьшение срока жизни до 306 дней.

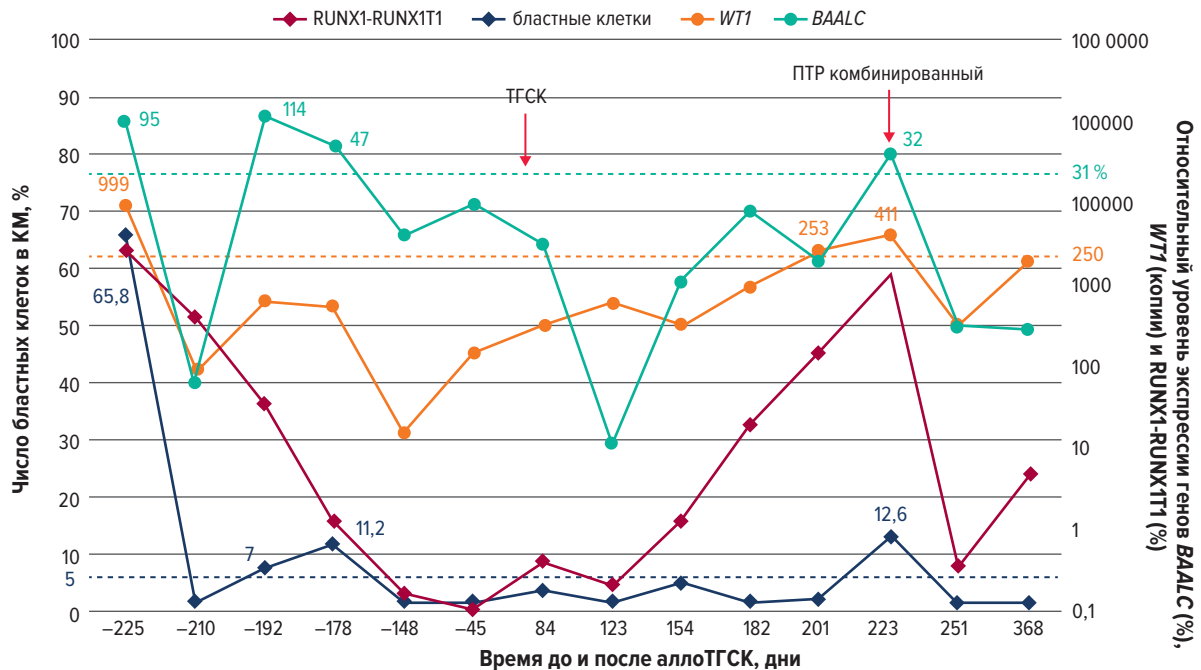
Следующее наблюдение касается ребенка 6 лет с М4 ФАБ-вариантом ОМЛ (№ 26) с исходно нормальным кариотипом 46,XY, у которого родственная гаплоТГСК была проведена по жизненным показаниям в условиях непрерывного прогрессирования лейкоза с высоким уровнем экспрессии гена *BAALC*. При этом предпочтение было отдано режиму кондиционирования сниженной интенсивности (рис. 6).

Повышение уровней экспрессии гена *BAALC* имело место на начальном этапе заболевания, непосредственно перед выполнением гаплоТГСК, а также при 1-м и 2-м цитологических рецидивах, установленных в Д246+ и Д774+ соответственно. Это совпало по времени с появлением в клетках сложного кариотипа в 1-м ПТР: 46,XY, del(2)(q?33), del(5)(q?22), add(19)(q13)[2]/46, idem, add(X)(p22), del(5)(q31), add(6)(q25), add(9)(p24)[3]. При этом обсуждаемый в работе феномен двойной (синхронной) гиперэкспрессии генов *BAALC* и *WT1* имел место лишь на этапе 2-го ПТР на фоне резкого (96,6 %) повышения содержания бластных элементов в костном мозге

до уровня тотальной метаплазии. В такой ситуации общий плохой исход заболевания был предрешен, а продолжительность жизни от времени выполнения гаплоТГСК составила 779 дней.

Наконец, в заключение мы представляем данные серийного измерения генов *BAALC* и *WT1* у 5-летнего ребенка с М4 ФАБ-вариантом ОМЛ (№ 31), имевшего в кариотипе транслокацию t(8;21)(q22;q22), делецию del(7q) и ряд других, менее значимых хромосомных изменений. Как видно из данных, представленных на рис. 7, одновременная гиперэкспрессия генов *BAALC* и *WT1* имела место перед трансплантацией, а в более ослабленном виде — и на этапе ПТР.

Подводя итог этой части работы, следует заметить, что гиперэкспрессия гена *BAALC*, отражающая увеличение количества *BAALC*-продуцирующих клеток-предшественниц лейкозного гемопоэза, была представлена при всех ФАБ-вариантах ОМЛ как у взрослых, так и детей. По нашим данным, она часто встречалась в комбинации с повышенной экспрессией гена *WT1*, что четко ассоциировалось как с общим неблагоприятным исходом заболевания, так и с уменьшением продолжительности жизни. В целом вклад гиперэкспрессии гена *BAALC*, а также его комбинации с гиперэкспрессией гена *WT1* представляется клинически



**Рис. 7.** Серийное измерение уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1*, а также содержания бластных элементов в костном мозге ребенка 5 лет (№ 31) с М4 ФАБ-вариантом ОМЛ и кариотипом 46,XY, t(8;21)(q22;q22), del(7)(q32;q36). АллоТГСК выполнена в состоянии клинко-гематологической ремиссии, но при наличии минимальной остаточной болезни (по данным измерения уровня экспрессии химерного транскрипта RUNX1-RUNX1T1) с использованием режима кондиционирования сниженной интенсивности. Рецидив диагностирован в Д223+, после купирования которого дальнейшее течение ОМЛ расценивалось как относительно благоприятное

аллоТГСК — трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток; КМ — костный мозг; ПТР — посттрансплантационный рецидив.

**Fig. 7.** Serial measurements of both *BAALC*, *WT1* expression levels, and blast percentage in bone marrow aspirates of a child (No. 31), aged 5 years, with M4 FAB variant of AML and the 46,XY, t(8;21)(q22;q22), del(7)(q32;q36) karyotype. Allo-HSCT was performed in clinical and hematologic remission but with minimal residual disease (according to the measurements of the RUNX1-RUNX1T1 chimeric transcript expression) using reduced intensity conditioning regimen. A relapse was diagnosed on Day 223+, after its arrest the course of AML was considered relatively favorable

аллоТГСК — allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; КМ — bone marrow; ПТР — post-transplantation relapse.

значимым. Это отчетливо представлено ниже в виде объединенных данных разного профиля.

Во-первых, по нашим данным, 2-летняя КЧР четко зависела от наличия или отсутствия у больных перед выполнением аллоТГСК феномена гиперэкспрессии гена *BAALC* (рис. 8).

Во-вторых, при наличии у больных ОМЛ одновременного сопряженного повышения уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1* в посттрансплантационный период 2-летние КЧР, БРВ и ОВ статистически значимо ухудшались (рис. 9).

В-третьих, нежелательные эффекты повышения числа *BAALC*-продуцирующих клеток-предшественниц в виде увеличения КЧР у больных ОМЛ после аллоТГСК были существенно нивелированы при условии использования миелоаблативных режимов кондиционирования (рис. 10).

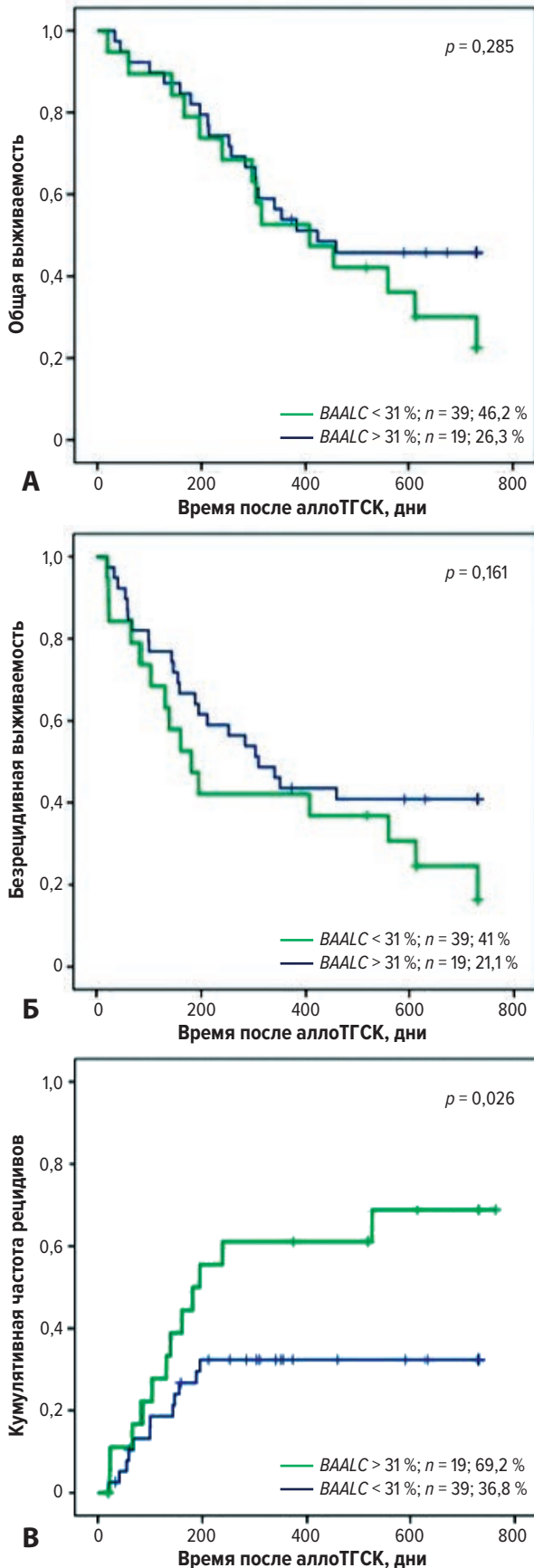
## ОБСУЖДЕНИЕ

Представленные в настоящей работе данные по одновременному измерению уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1* у больных ОМЛ, которым выполнена аллоТГСК, получены впервые. Они показывают, что одним из важных неблагоприятных факторов, связанных с увеличением КЧР и ухудшением

БРВ у больных ОМЛ после аллоТГСК, является наличие у них одновременной гиперэкспрессии генов *BAALC* и *WT1*, регистрируемой не в дебюте заболевания, а на этапе трансплантации и/или после ее выполнения. Эти данные вполне согласуются с результатами выполненных в этом направлении единичных работ как у больных ОМЛ [41], так и с миелодиспластическим синдромом [44]. В основе этого феномена лежит то, что выявляемые с помощью количественной ПЦР транскрипты *BAALC* и *WT1* у этих больных отражают число *BAALC*-продуцирующих клеток-предшественниц и функционально тесно связанных с ними *WT1*-экспрессирующих бластных элементов.

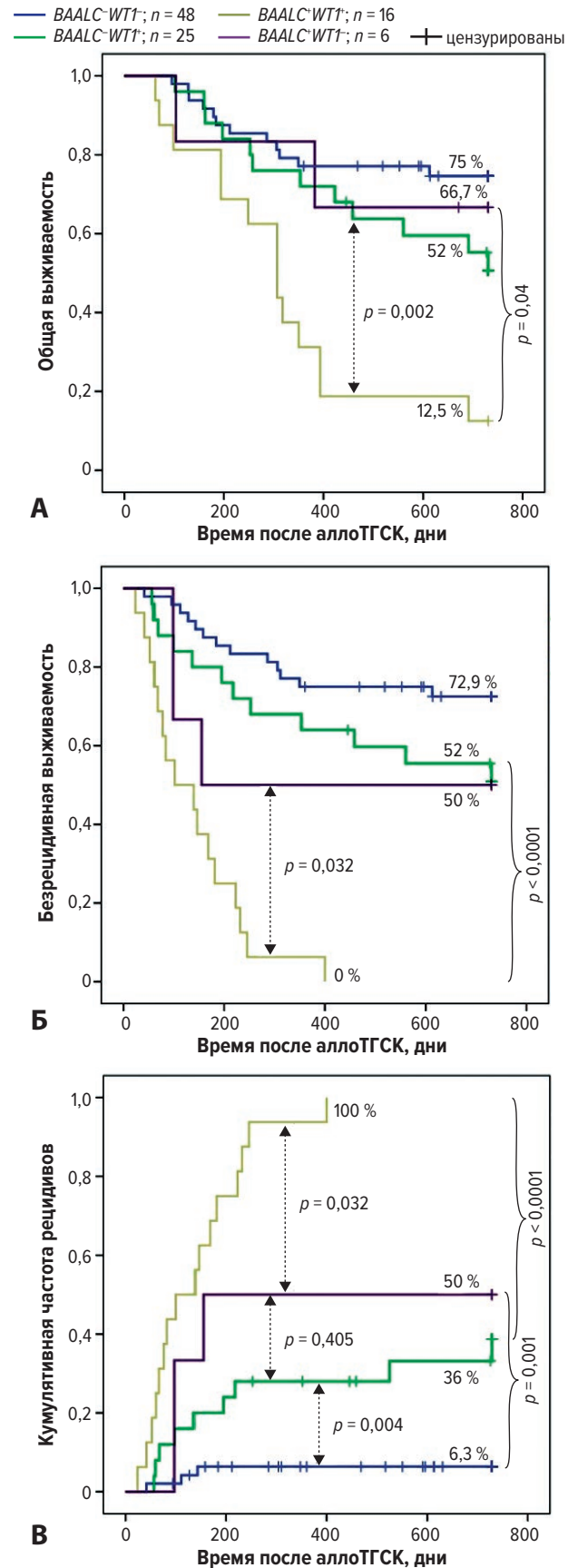
По нашим данным, феномен одновременной гиперэкспрессии двух генов имел место у больных с М1 и М2 ФАБ-вариантами ОМЛ, а также в случае сложных и более прогностически благоприятных кариотипов. Кроме того, он наблюдался у всех 3 обследованных нами больных с гиперэкспрессией ответственного за резистентность к терапии гена *EVII* [45]. Важно и то, что у части больных с наиболее неблагоприятным течением лейкоза пики двойной гиперэкспрессии исследуемых нами генов повторялись.

Согласно имеющейся концепции, уровень экспрессии гена *BAALC* отражает количество готовых к трансформации в лейкозный гемопоэз клеток-предшественниц [13–15]. Окончательная



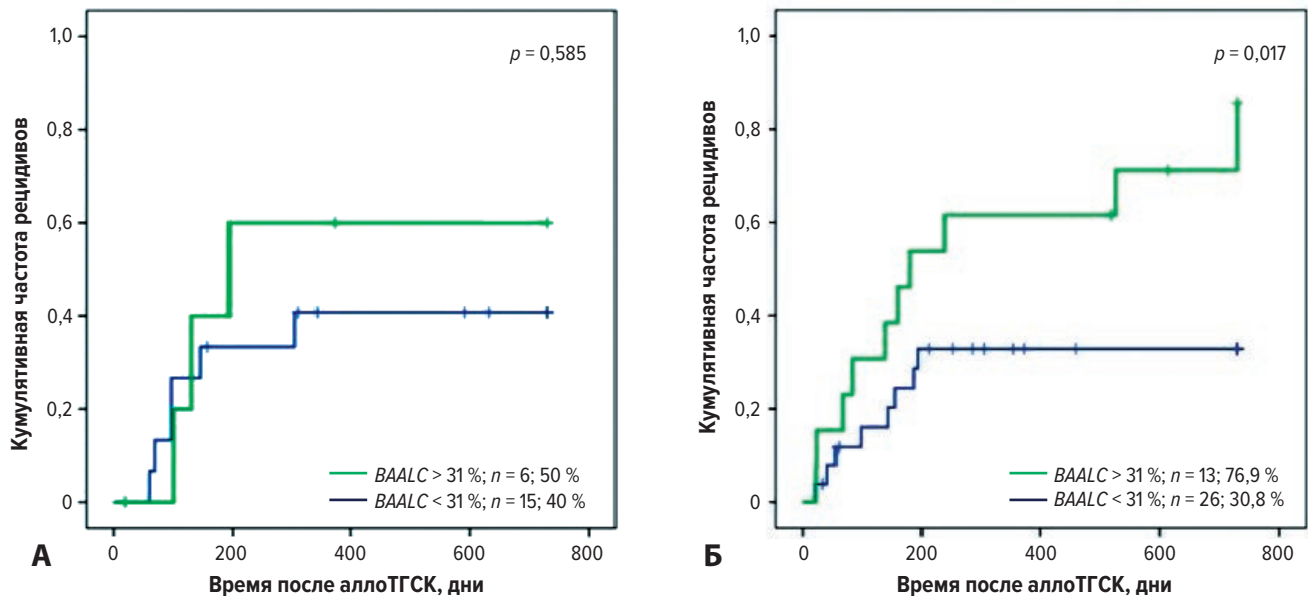
**Рис. 8.** Показатели 2-летних общей выживаемости (А), безрецидивной выживаемости (Б) и кумулятивной частоты рецидивов (В) после аллотГСК в группах больных ОМЛ с наличием или отсутствием гиперэкспрессии гена BAALC на этапе трансплантации в ДО

**Fig. 8.** 2-year overall survival (A), disease-free survival (Б), and cumulative incidence of relapses (B) after allo-HSCT in AML patients with or without BAALC hyperexpression at the time of transplantation on Day 0



**Рис. 9.** Показатели 2-летних общей выживаемости (А), безрецидивной выживаемости (Б) и кумулятивной частоты рецидивов (В) после аллотГСК в группах больных ОМЛ с наличием или отсутствием одновременной гиперэкспрессии генов BAALC и WT1 в посттрансплантационный период

**Fig. 9.** 2-year overall survival (A), disease-free survival (Б), and cumulative incidence of relapses (B) after allo-HSCT in AML patients with or without simultaneous BAALC and WT1 hyperexpression in the post-transplantation period



**Рис. 10.** Показатели 2-летней кумулятивной частоты рецидивов после аллотГСК в группах больных ОМЛ с миелоаблативным (А) и немиелоаблативным (Б) режимами кондиционирования с учетом наличия или отсутствия гиперэкспрессии гена *BAALC* до проведения кондиционирования

**Fig. 10.** 2-year cumulative incidence of relapses after allo-HSCT in AML patients with myeloablative (A) and non-myeloablative (B) conditioning regimens with or without *BAALC* hyperexpression prior to conditioning treatment

природа этих клеток до конца не установлена [2, 46], хотя больше всего на эту роль претендуют CD34-позитивные клетки с иммунофенотипом CD34+CD38- [9–12]. С нашей точки зрения, небольшой пробел в знаниях о природе лейкозных клеток-предшественниц большого значения не имеет. Важно то, что они ответственны за повышенную экспрессию гена *BAALC*, на основании чего могут быть легко определены и количественно измерены. Если к этому добавить, что нарастание числа этих клеток-предшественниц, особенно в комбинации с увеличением массы *WT1*-продуцирующих бластных элементов, связано с быстрым развитием стандартных цитологических рецидивов, а также с ухудшением как БРВ, так и ОВ, то клиническая важность такого комбинированного маркера становится еще более очевидной. Что касается успеха проводимой терапии, то о нем можно говорить лишь в случае стойкого достижения у больных снижения числа *BAALC*-экспрессирующих лейкозных клеток-предшественниц.

Вопрос о причинах и механизмах перехода этих клеток из дремлющего в активное состояние до конца не решен [1]. В какой-то мере эту роль могли выполнять возможные в лейкозных клетках цитогенетические и молекулярные изменения, которые обнаруживаются в клетках-предшественницах. Согласно недавним работам, уровень экспрессии гена *BAALC* и, соответственно, количество продуцирующего его транскрипт клеток-предшественниц у больных со сложным и моносомным кариотипами, а также при ряде широко распространенных транслокаций и трисомий выше, чем при других изменениях кариотипа [19, 47, 48]. В то же время у больных с нормальным кариотипом активно обсуждается участие в этом процессе повреждений генов *Pten*, *TP53*, *NPM1*

и ряда других [1, 49]. Кроме того, не исключается участие в нарастании экспансии клеток-предшественниц в гемопоэз некоторых видов микроРНК, в частности микроРНК-3151, локус *miR-3151* которой в геноме человека тесно связан с геном *BAALC* [50]. На наш взгляд, заслуживает также внимания гипотетическая утрата лейкозными клетками некоего тормозящего влияния на экспансию в гемопоэз клеток-предшественниц патологически измененных бластных элементов [6]. Похоже, что у больных с одновременной гиперэкспрессией генов *BAALC* и *WT1* это нарушение торможения представлено сильнее, в т. ч. из-за присущих бластным элементам цитогенетических и/или молекулярных изменений, а также воздействия на них химиотерапии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Говоря о терапии ОМЛ, следует помнить, что прежде всего она повреждает бластные элементы и в меньшей степени влияет на клетки-предшественницы. В связи с этим КЧР у больных ОМЛ, получавших лечение, пока высока. В то же время препаратов для избирательного повреждения лейкозных клеток-предшественниц до сих пор мало. Согласно нашим данным, аллотГСК может оказаться мощным инструментом воздействия на них при условии использования миелоаблативных режимов кондиционирования. Последние могут быть дополнены эпигенетической терапией, направленной на деацетилирование гистонов [51]. Что касается оценки эффективности любой, в т. ч. экспериментальной, терапии, на основании результатов нашей работы она может базироваться на серийном контроле уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1*.

## КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

## ВКЛАД АВТОРОВ

**Концепция и дизайн:** Н.Н. Мамаев, А.И. Шакирова.

**Предоставление материалов исследования:** А.И. Шакирова, И.М. Бархатов, Я.В. Гудожникова, Т.Л. Гиндина, О.В. Паина.

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

**Подготовка рукописи:** Н.Н. Мамаев, А.И. Шакирова.

**Административная поддержка:** Б.В. Афанасьев, Л.С. Зубаровская.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- MacLean AL, Lo Celso C, Stumpf MPH. Stem cell population biology: Insights from hematopoiesis. *Stem Cells*. 2017;35(1):88–8. doi: 10.1002/stem.2508.
- Yilmaz OH, Valdez R, Theisen BK, et al. Pten dependence distinguishes hematopoietic stem cells from leukemia-initiating cells. *Nature*. 2006;441(25):475–82. doi: 10.1038/nature04703.
- Quek E, Otto GW, Garnett C, et al. Genetically distinct leukemic stem cells in human CD34+ acute myeloid leukemia are arrested at a hematopoietic precursor-like stage. *J Exp Med*. 2016;213(8):1513–35. doi: 10.1084/jem.20151775.
- Brenet F, Scandura JM. Cutting the brakes on hematopoietic regeneration by blocking TGFβ to limit chemotherapy-induced myelosuppression. *Mol Cell Oncol*. 2015;2(3):e978703. doi: 10.4161/23723556.2014.978703.
- Riether C, Schurch CM, Ochsenbein AF. Regulation of hematopoietic and leukemic stem cells by the immune system. *Cell Death Differ*. 2015;22(2):187–98. doi: 10.1038/cdd.2014.89.
- Laurenti E, Gottgens B. From haematopoietic stem cells to complex differentiation landscapes. *Nature*. 2018;553(7689):418–26. doi: 10.1038/nature25022.
- 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.
- Гудожникова Я.В., Мамаев Н.Н., Бархатов И.М. и др. Результаты молекулярного мониторинга в посттрансплантационный период с помощью серийного исследования уровня экспрессии гена WT1 у больных острыми миелоидными лейкозами. *Клиническая онкогематология*. 2018;1(3):241–51. doi: 10.21320/2500-2139-2018-11-3-241-251.
- [Gudozhnikova YaV, Mamaev NN, Barkhatov IM, et al. Results of Molecular Monitoring in Posttransplant Period by Means of Series Investigation of WT1 Gene Expression in Patients with Acute Myeloid Leukemia. *Clinical oncohematology*. 2018;1(3):241–51. doi: 10.21320/2500-2139-2018-11-3-241-251. (In Russ)]
- Won EJ, Kim H-R, Choi S-Y, et al. Direct confirmation of quiescence of CD34+CD38- leukemia stem cell populations using single cell culture, their molecular signature and clinicopathological implications. *BioMed Central Cancer*. 2015;15(1):2017. doi: 10.1186/s12885-015-1233-x.
- Gerber JM, Smith BD, Ngwang B, et al. A clinically relevant population of leukemic CD34+CD38(-) cells in acute myeloid leukemia. *Blood*. 2012;119(15):3571–7. doi: 10.1182/blood-2011-06-364182.
- Gerber JM, Zeidner JF, Morse S, et al. Association of acute myeloid leukemia's most immature phenotype with risk groups and outcomes. *Haematologica*. 2016;101(5):607–16. doi: 10.3324/haematol.2015.135194.
- Jentzsch M, Bill M, Nicolet D, et al. Prognostic impact of the CD34+/CD38- cell burden in patients with acute myeloid leukemia receiving allogeneic stem cell transplantation. *Am J Hematol*. 2017;92(4):388–96. doi: 10.1002/ajh.24663.
- Baldus CD, Tanner SM, Kusewitt DF, 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.
- Rapin N, Bagger FO, Jendholm J, et al. Comparing cancer vs normal gene expression profiles identifies new disease entities and common transcriptional programs in AML patients. *Blood*. 2014;123(6):894–904. doi: 10.1182/blood-2013-02-485771.
- Morita K, Masamoto Y, Kataoka K, et al. BAALC potentiates oncogenic ERK pathway through interactions with MEKK1 and KLF4. *Leukemia*. 2015;29(11):2248–56. doi: 10.1038/leu.2015.137.
- Jentzsch M, Bill M, Grimm J, et al. High BAALC copy numbers in peripheral blood prior to allogeneic transplantation predict early relapse in acute myeloid leukemia patients. *Oncotarget*. 2017;8(50):87944–54. doi: 10.18632/oncotarget.21322.
- Tanner SM, Austin JL, Leone G, et al. BAALC, the human member of a novel mammalian neuroectoderm gene lineage, is implicated in hematopoiesis and acute leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98(24):13901–6. doi: 10.1073/pnas.241525498.
- Baldus CD, Tanner SM, Ruppert AS, et al. BAALC expression predicts clinical outcome of de novo acute myeloid leukemia patients with normal cytogenetics: a Cancer and Leukemia Group B Study. *Blood*. 2003;102(5):1613–8. doi: 10.1182/blood-2003-02-0359.
- Qi X, Shen Y, Cen J, et al. Up-regulation of BAALC gene may be an important alteration in AML-M2 patients with t(8;21) translocation. *J Cell Mol Med*. 2008;12(6A):2301–4. doi: 10.1111/j.1582-4934.2008.00447.x.
- Langer C, Radmacher MD, Ruppert AS, et al. High BAALC expression associates with other molecular prognostic markers, poor outcome, and a distinct gene-expression signature in cytogenetically normal patients younger than 60 years with acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B (CALGB) study. *Blood*. 2008;111:5371–9. doi: 10.1182/blood-2007-11-124958.
- Mizushima Y, Taki T, Shimada A, et al. Prognostic significance of the BAALC isoform pattern and CEBPA mutations in pediatric acute myeloid leukemia with normal karyotype: a study by the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *Int J Hematol*. 2010;91(5):831–7. doi: 10.1007/s12185-010-0585-x.
- Yahya RS, Sofan MA, Abdelmasseih HM, et al. Prognostic implication of BAALC gene expression in adult acute myeloid leukemia. *Clin Lab*. 2013;59:621–8. doi: 10.7754/Clin.Lab.2012.120604.
- Becker H, Maharry K, Mrozek K, et al. Prognostic gene mutations and distinct gene- and microRNA-expression signatures in acute myeloid leukemia with a sole trisomy 8. *Leukemia*. 2014;28(8):1754–8. doi: 10.1038/leu.2014.114.
- Santamaria C, Chillon MC, Garcia-Sanz R, et al. BAALC is an important predictor of refractoriness to chemotherapy and poor survival in intermediate-risk acute myeloid leukemia (AML). *Ann Hematol*. 2010;89(5):453–8. doi: 10.1007/s00277-009-0864-x.
- 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.
- Staffas A, Kanduri M, Hovland R, et al. Nordic Society of Pediatric Hematology and Oncology (NOPHO). Presence of FLT3-ITD and high BAALC expression are independent prognostic markers in childhood acute myeloid leukemia. *Blood*. 2011;118(22):5905–13. doi: 10.1182/blood-2011-05-353185.
- Hirsch P, Tang R, Marzac C, et al. Prognostic impact of high ABC transporter activity in 111 adult acute myeloid leukemia patients with normal cytogenetics when compared to FLT3, NPM1, CEBPA and BAALC. *Haematologica*. 2012;97(2):241–5. doi: 10.3324/haematol.2010.034447.
- Haferlach C, Kern W, Schindela S, et al. Gene expression of BAALC, CDKN1B, ERG, and MN1 adds independent prognostic information to cytogenetics and molecular mutations in adult acute myeloid leukemia. *Genes Chromosomes Cancer*. 2012;51(3):257–65. doi: 10.1002/gcc.20950.
- Zhang J, Shi J, Zhang G, et al. BAALC and ERG expression levels at diagnosis have no prognosis impact on acute myeloid leukemia patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Hematol*. 2018;97(8):1391–7. doi: 10.1007/s00277-018-3331-8.
- Zhou JD, Yang L, Zhang YY, et al. Overexpression of BAALC: clinical significance in Chinese de novo acute myeloid leukemia. *Med Oncol*. 2015;32(1):386. doi: 10.1007/s12032-014-0386-9.
- Xiao SJ, Shen JZ, Huang JL, Fu HY. 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.
- 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.
- Shakirova A, Barkhatov I, Churkina A, et al. Prognostic significance of BAALC overexpression in patients with AML during the post-transplant period. *Cell Ther Transplant*. 2018;7(2):54–63. doi: 10.18620/ctt-1866-8836-2018-7-2-54-63.
- Pogosova-Agadjanyan E, Moseley A, Othus M, et al. Impact of specimen heterogeneity on biomarkers in repository samples from patients with acute myeloid leukemia: a SWOG report. *Biopreserv Biobank*. 2018;16(1):42–52. doi: 10.1089/bio.2017.0079.
- Eisfeld AK, Marcucci G, Liyanarachchi S, et al. Heritable polymorphism predisposes to high BAALC expression in acute myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109(17):6668–73. doi: 10.1073/pnas.1203756109.
- Nadimi M, Rahgozar S, Moafi A, et al. Evaluation of rs62527607 [GT] single nucleotide polymorphism located in BAALC gene in children with acute leukemia using mismatch PCR-RFLP. *Cancer Genet*. 2016;209(7–8):348–53. doi: 10.1016/j.cancergen.2016.06.005.
- Lam K, Zhang DE. RUNX1 and RUNX1-ETO: roles in hematopoiesis and leukemogenesis. *Front Biosci*. 2012;1(17):1120–39. doi: 10.2741/3977.

38. Nolte F, Hecht A, Reinwald M, et al. In acute promyelocytic leukemia (APL) low BAALC gene expression identifies a patient group with favorable overall survival and improved relapse free survival. *Leuk Res.* 2013;37(4):378–82. doi: 10.1016/j.leukres.2012.
39. Iijima N, Miyamura K, Itou T, et al. Functional expression of FAS (CD95) in acute myeloid leukemia cells in context of CD34 and CD38 expression: possible correlation with sensitivity to chemotherapy. *Blood.* 1997;90(12):4901–9. doi: 10.1182/blood.v90.12.4901.
40. Ding Y, Gao H, Zhang Q. The biomarkers of leukemia stem cells in acute myeloid leukemia. *Stem Cell Investig.* 2017;4(3):19. doi: 10.21037/sci.2017.02.10.
41. Yoon JH, Kim HJ, Shin SH, et al. BAALC and WT1 expressions from diagnosis to hematopoietic stem cell transplantation: consecutive monitoring in adult patients with core-binding-factor-positive AML. *Eur J Haematol.* 2013;91(2):112–21. doi: 10.1111/ejh.12142.
42. Мамаев Н.Н., Горбунова А.В., Гиндина Т.Л. и др. Лейкозы и миелодиспластические синдромы с высокой экспрессией гена EVI1: теоретические и клинические аспекты. *Клиническая онкогематология.* 2012;5(4):361–4.  
[Mamaev NN, Gorbunova AV, Gindina TL, et al. Leukemias and myelodysplastic syndromes with high EVI1 gene expression: theoretical and clinical aspects. *Klinicheskaya onkogematologiya.* 2012;5(4):361–4. (In Russ)]
43. Hermkens MCH, van den Heuvel-Eibrink MM, Arentsen-Peters STCJM, et al. The clinical relevance of BAALC and ERG expression levels in pediatric AML. *Leukemia.* 2013;27(3):735–7. doi: 10.1038/leu.2012.233.
44. Minetto P, Guolo F, Clavio M, et al. Combined assessment of WT1 and BAALC gene expression at diagnosis may improve leukemia-free survival prediction in patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk Res.* 2015;39(8):866–73. doi: 10.1016/j.leuk.res.2015.04.011.
45. Hinai A, Valk P. Review: Aberrant EVI1 expression in acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol.* 2016;172(6):870–8. doi: 10.1111/bjh.13898.
46. Varn FS, Andrews EH, Cheng C. Systematic analysis of hematopoietic gene expression profiles for prognostic prediction in acute myeloid leukemia. *Sci Rep.* 2015;5(1):16987. doi: 10.1038/srep16987.
47. Miglino M, Colombo N, Pica G, et al. WT1 overexpression at diagnosis may predict favorable outcome in patients with de novo non-M3 acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma.* 2011;52(10):1961–9. doi: 10.3109/10428194.2011.585673.
48. Zhu YM, Wang PP, Huang JY, et al. Gene mutational pattern and expression level in 560 acute myeloid leukemia patients and their clinical relevance. *J Transl Med.* 2017;15(1):178. doi: 10.1186/s12967-017-1279-4.
49. DiNardo CD, Cortes JE. Mutations in AML: prognostic and therapeutic implications. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2016;2016(1):348–55. doi: 10.1182/asheducation-2016.1.348.
50. Eisfeld AK, 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.
51. Franzoni A, Passon N, Fabbro D, et al. Histone post-translational modifications associated to BAALC expression in leukemic cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;417(2):721–5. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.12.013.

