

ОБЗОРЫ

REVIEWS

EV11-позитивные лейкозы и миелодиспластические синдромы: теоретические и клинические аспекты (обзор литературы)

Н.Н. Мамаев, А.И. Шакирова, Е.В. Морозова, Т.Л. Гиндина

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

РЕФЕРАТ

Настоящий обзор посвящен анализу теоретической базы и проводимой в клинике НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой терапии наиболее неблагоприятных в прогностическом отношении *EV11*-позитивных вариантов миелоидных лейкозов и миелодиспластических синдромов. Основной акцент в работе сделан на доказательстве ведущей роли гена *EV11* в нарушении эпигенетической регуляции гемопоэза и, следовательно, целесообразности использования трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток с гипометилирующими агентами и/или транс-ретиноевой кислотой для лечения этих заболеваний.

Ключевые слова: *EV11*, острые миелоидные лейкозы, хронический миелоидный лейкоз, миелодиспластический синдром, аллоТГСК, гипометилирующие агенты, транс-ретиноевая кислота.

Получено: 12 сентября 2020 г.

Принято в печать: 6 декабря 2020 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

Для цитирования: Мамаев Н.Н., Шакирова А.И., Морозова Е.В., Гиндина Т.Л. *EV11*-позитивные лейкозы и миелодиспластические синдромы: теоретические и клинические аспекты (обзор литературы). Клиническая онкогематология. 2021;14(1):103–17.

DOI: 10.21320/2500-2139-2021-14-1-103-117

EV11-Positive Leukemias and Myelodysplastic Syndromes: Theoretical and Clinical Aspects (Literature Review)

NN Mamaev, AI Shakirova, EV Morozova, TL Gindina

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

The present review provides the analysis of theoretical background and therapy of prognostically poorest *EV11*-positive myeloid leukemias and myelodysplastic syndromes which is performed at the RM Gorbacheva Scientific Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation. The focus is on the evidence of the dominating role of *EV11* gene in impaired epigenetic regulation of hematopoiesis and, thus, on the feasibility of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with hypomethylating agents and/or trans-retinoic acid used for these diseases treatment.

Keywords: *EV11*, acute myeloid leukemia, chronic myeloid leukemia, myelodysplastic syndrome, allo-HSCT, hypomethylating agents, trans-retinoic acid.

Received: September 12, 2020

Accepted: December 6, 2020

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

For citation: Mamaev NN, Shakirova AI, Morozova EV, Gindina TL. *EV11*-Positive Leukemias and Myelodysplastic Syndromes: Theoretical and Clinical Aspects (Literature Review). Clinical oncohematology. 2021;14(1):103–17. (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2021-14-1-103-117

ОПРЕДЕЛЕНИЕ *EVI1*-ПОЗИТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СИСТЕМЫ КРОВИ ОПУХОЛЕВОЙ ПРИРОДЫ

EVI1-позитивные (*EVI1*⁺) лейкозы представляют смешанную группу заболеваний системы крови опухолевой природы, которые объединяет выраженная резистентность клеток к химиотерапии и частое возникновение рецидивов [1–5], в т. ч. посттрансплантационных [6–10]. Часть этих заболеваний связана с вовлечением в перестройки хромосомного локуса 3q26 [6, 11–16]. В то же время $1/3$ *EVI1*-позитивных лейкозов и миелодиспластических синдромов (МДС) этих повреждений хромосом не имеет [17–20].

ГЕН *EVI1*

История открытия и локализация в геноме человека

Ген *EVI1* был открыт в 1988 г. [21] во фрагменте ДНК, экстрагированной из лейкозных клеток мышей линии AKXD. Свое необычное название (ecotropic viral integration site-1, *EVI1*) он получил от основного места внедрения в геном экотропного ретровируса. В геноме человека этот ген расположен в локусе 3q26.2 в составе локуса *MECOM*.

Тонкая структура гена *EVI1*

Тонкая структура этого гена и его важная роль в эмбриогенезе, нормальном и лейкозном гемопоэзе неоднократно обсуждались [22–24]. В связи с этим в данной работе основное внимание обращено на открытые недавно особенности структуры гена *EVI1*, его основные биологические функции, тесно связанные с рецепторами транс-ретиноевой кислоты (ТРК), а также с эпигенетическими изменениями генома на уровне клеток-предшественниц гемопоэза.

В геноме человека этот ген занимает около 65 тыс. пар оснований. Он состоит из 12 экзонов, кодирующих ДНК-связывающий белок с молекулярной массой 145 кДа (рис. 1) [24]. N-концевая часть белка содержит 7 доменов с мотивами цинковых пальцев (ЦП), а C-концевая часть имеет три таких мотива [24]. Первый из

этих экзонов находится рядом с 5'-концом, природа которого чрезвычайно изменчива, что обуславливает транскрипцию 6 разных вариантов мРНК, которые по данным полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени в исследованных тканях отличаются мало. В свою очередь, эти домены с ЦП-1 и ЦП-2 способны распознавать и специфически связываться с ДНК, включая GATA-содержащие повторяющиеся последовательности [25–28]. В дополнение к этим двум ЦП-содержащим доменам в *EVI1* есть еще домены репрессии транскрипции, а также специальный домен с областью для внедрения вируса [29, 30].

Другой ген, расположенный выше *EVI1* в составе локуса *MECOM*, с названием *MDS1* кодирует 4 экзона с занимаемой площадью в 500 kb. В итоге полный локус *MECOM* в геноме человека занимает 565 kb и представлен 16 экзонами, 14 из которых являются кодирующими (рис. 2). Они кодируют 4 разных изоформы белка: *MDS1-EVI* (*EVI1-C*), *EVI1* (*EVI1-A*) и *EVI1* Δ 324 (*EVI1-B*) размером 135, 123 и 103 кДа соответственно, а также *EVI1* Δ 9AA (рис. 2, Б). Первые две из этих изоформ имеют отмеченные выше домены с ЦП (ЦП-1 и ЦП-2 соответственно). Что касается *MDS1-EVI1*, этот молекулярный продукт образуется в результате альтернативного сплайсинга 3-го экзона *MDS1* со 2-м экзоном *EVI1*. Изоформа *EVI1* Δ 324 получила свое необычное название из-за отсутствия в ее составе 324 внутренних аминокислот. Вследствие этого дефекта она не способна связываться с ДНК через домен ЦП-1 по причине отсутствия в нем ЦП-6 и ЦП-7 [31]. Необходимо также отметить, что в последней изоформе *EVI1* наблюдается потеря 9 аминокислот в области богатого пролином (PR) домена, которая большого значения для связывания ДНК и ее трансформации не имеет [32]. Кроме того, следует иметь в виду, что в белковом продукте гена *EVI1* есть PR-домен, который кодируется в общем комплексе *MDS1-EVI1* и является утрачиваемой частью *MDS1* [33]. Между тем домен PR содержит чрезвычайно вариабельную область SU 3–9, так же как активирующий домен SET [34]. Этот домен имеет отношение к гистонам метилтрансферазы и, таким образом, способен принимать участие не только в перенастройке хроматина, но и в регуляции экспрессии самого гена (см. детали в [23]).

Что касается полученных на моделях данных о роли *EVI1* в трансформации гемопоэза в острые миелоидные лейкозы (ОМЛ), они оказались довольно противоречивыми. К настоящему времени можно считать установленным, что усиленная экспрессия *EVI1* в клетках-предшественниках как человека, так и мыши связана с нарастанием их количества и нарушением дифференцировки в гранулоцитопоз [35, 36]. На трансплантационных моделях было показано, что гиперэкспрессия *EVI1* может приводить к различным эффектам, в частности к развитию ОМЛ [37], к индукции МДС без ОМЛ [38], хотя может и не сопровождаться никакой патологией [39]. Отсюда следует, что роль *EVI1* в развитии прогностически неблагоприятных миелоидных лейкозов сомнений не вызывает [40]. Однако одной гиперэкспрессии *EVI1* для формирования лейкозного гемопоэза все же недостаточно. Помимо этого необходимо участие таких дополнительных факторов, как *HOXA9*, *MEIS1*

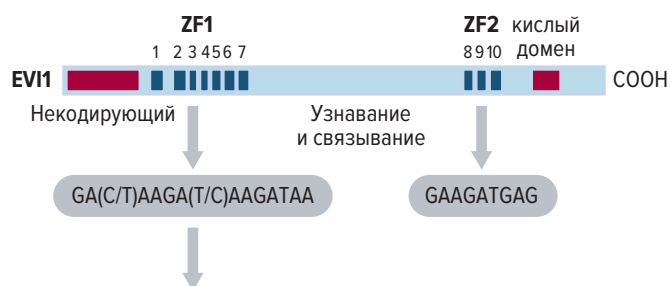
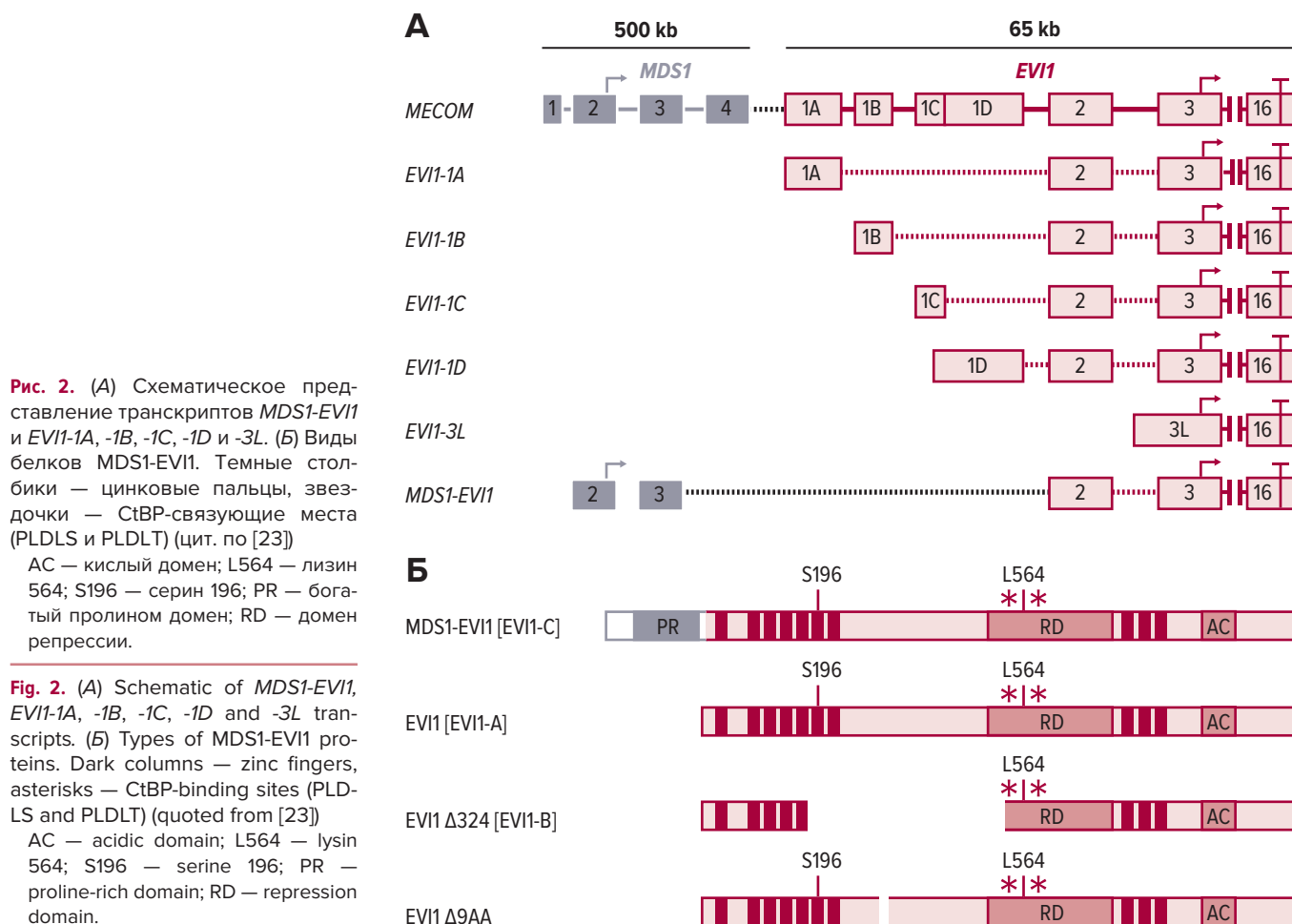


Рис. 1. Схематическое изображение структуры белка *EVI1* с присущими ему важными регуляторами транскрипции — цинковыми пальцами ZF1 и ZF2 (цит. по [24])

Fig. 1. Schematic of the *EVI1* protein structure with its important transcriptional regulators, i.e. zinc fingers ZF1 and ZF2 (quoted from [24])



[41] или *KMT-MLLT3* [23, 42, 43], что требует глобальной идентификации всех тесно связанных с *EVI1* генов-мишеней [44].

Место *EVI1* в эмбриогенезе и гемопоэзе здоровых лиц

В норме в тканях взрослого человека экспрессия гена *EVI1* наиболее выражена в почках, легких, поджелудочной железе и в яичниках. В меньшей мере она представлена в скелетных мышцах, селезенке и тимусе [45]. В периферической крови и костном мозге человека уровень экспрессии гена *EVI1* ниже, чем в других тканях [43, 46]. Наиболее высокий уровень мРНК *EVI1* в нормальном гемопоэзе отмечается в незрелых клетках-предшественниках с иммунофенотипом $CD34^+/CD38^-$. Он существенно ниже в клетках-предшественниках с иммунофенотипами $CD34^+/CD38^+$, $CD34^+/CD38^{++}$ и $CD34^-/CD38^-$ [43] и практически отсутствует в окончательно дифференцированных кроветворных элементах [47–49].

Несмотря на выраженную экспрессию гена *EVI1* в ходе раннего развития млекопитающих [50], единственным хорошо известным регулирующим этот процесс физиологическим агентом является ТРК [51, 52]. Важность ее для гемопоэза млекопитающих стала особенно очевидной после серии экспериментальных работ, позволивших показать одинаково плохую выживаемость экспериментальных мышей как в случае гомозиготного разрушения гена *EVI1*, так и при подавлении ответственного за синтез ретиноевой кислоты гена ретинальдегиддегидрогеназы [45, 53].

Поскольку ретиновые рецепторы в тканях человека представлены довольно широко, связывающийся с ними *EVI1* способен обеспечивать разноплановую регуляцию основных функций клеток-предшественниц как в эмбриогенезе, так и в онтогенезе, включая гемопоэз, а также проявлять свои важнейшие биологические эффекты через ТРК. Если точнее, он связывается с ядерными рецепторами, которые, в свою очередь, как транскрипционные факторы оказывают непосредственное воздействие в области промоторов генов-мишеней.

ЧАСТОТА *EVI1*-ПОЗИТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СИСТЕМЫ КРОВИ ОПУХОЛЕВОЙ ПРИРОДЫ, ОСНОВНЫЕ ВАРИАНТЫ

Обогащенный цинковыми пальцами ядерный белок *EVI1* прежде всего необходим для пролиферации и поддержания гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) [35, 48]. В клинических условиях это имеет место приблизительно у 10 % больных ОМЛ и коррелирует с плохим прогнозом [1–3, 54]. Ген *EVI1* находится в локусе 3q26.2, а повышение его экспрессии тесно связано с инверсией $inv(3)(q21;q26.2)$ или с транслокацией $t(3;3)(q21;q26.2)$ [12, 55, 56]. При наличии же в клетках этих повреждений хромосом высокий уровень экспрессии имеет место независимо от характера самой патологии [1, 2, 57]. При этом ни мутационные, ни молекулярные профили экспрессии гена у этих больных не различаются [23]. Данное обстоятельство

позволяет объединять их в одну группу вне зависимости от исходного содержания бластных элементов в костном мозге [58].

Кроме того, установлено, что гиперэкспрессия *EVII* может встречаться при этой патологии и в отсутствие перестройки локуса 3q26.2 [1, 2, 18, 19, 59–64]. Наличие этого феномена более характерно для детей [19, 61, 63], а также свойственно больным ОМЛ с наличием в кариотипах различных перестроек локуса 11q23 с находящимся здесь геном *KMT2A* [19, 43, 65]. Другими кандидатами на активную экспрессию этого гена являются миелоидные лейкозы с моносомией 7 [3, 66] или с иными, реже встречающимися хромосомными аномалиями.

МЕХАНИЗМЫ ПОВЫШЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ *EVII* У БОЛЬНЫХ СО СТАНДАРТНЫМ ВОВЛЕЧЕНИЕМ В ПЕРЕСТРОЙКИ ЛОКУСА 3q26.2 И БЕЗ ТАКОВОГО

За последние годы тонкие молекулярные механизмы повышения уровня экспрессии *EVII* у больных со стандартным вовлечением в перестройки локуса 3q26.2 стали более понятны. Этому, прежде всего, способствовали исследования на трансформированных вирусом клетках-предшественниках гемопоэза экспериментальных животных, а также перевиваемых клеточных линий, полученных от *EVII*-позитивных лейкозов человека. Долгое время основной механизм гиперэкспрессии гена *EVII* при ОМЛ базировался на вовлечении в перестройки хромосомы 3 [17, 55]. При этом активацию экспрессии гена *EVII* отмечали в результате хромосомной перестройки и перемещения энхансера *GATA2* из локуса 3q21 в локус 3q26 [58, 67], что, естественно, приводило к моноаллельной экспрессии гена *GATA2* [68]. Помимо этого у подавляющего большинства таких больных имели место мутации в генах, активирующих сигнальные пути RAS-рецептора тирозинкиназ [68]. К этим изменениям хромосом нередко присоединялись гетерозиготные мутации генов *GATA2*, *RUNX* и *SF3B1*, а также генов, кодирующих некоторые эпигенетические модификаторы [67, 68]. Немаловажно и то, что на молекулярном уровне гиперэкспрессия гена *EVII* была тесно связана с нарушением метилирования ДНК [69] и с активацией важного метаболического пути mTOR [37].

До сих пор изолированная инверсия inv(3)/t(3;3) наблюдалась у 43,7 % этих больных [6]. При этом гиперэкспрессия гена *EVII* ассоциировалась не только с вовлечением в перестройки локуса 3q26, но и с рядом других хромосомных aberrаций [3]. Наиболее частыми среди них были: а) моносомия 7 или делеция 7q [6, 66]; б) вовлечение в перестройки гена *KMT2A* [18]. Из других независимых цитогенетических отрицательных факторов должны обязательно учитываться сложные и моносомные кариотипы [6]. Далее было установлено, что экспрессия гена *EVII* регулируется факторами транскрипции *RUNX1* и *ELK1*, а также некоторыми сливными белками, включившими в свой состав продукты гена *KMT2A* [18, 43].

Гиперэкспрессия *EVII* у мышей с экспериментальными опухолями была тесно связана с внедре-

нием в этот ген последовательностей промотора и активатора индуцирующего лейкоз ретровируса [70]. При этом параллельно повышению экспрессии *EVII* происходит нарушение дифференцировки ГСК в гранулоцитарном [55] и эритроидном [71] направлениях, что прямо указывает на трансформирующую способность экспрессирующих *EVII* ГСК. Что касается конкретного молекулярного патогенетического механизма, он теперь видится во взаимном переносе активных участков генов *EVII* и *GATA* с последующим усилением первого и ослаблением второго [23]. Отсюда следует, что нарушенная экспрессия *EVII* является критической в отношении становления основных биологических функций лейкозных ГСК и, более того, патогенетически значима [72]. Вопрос о месте транскриптов *MDS1* и *MDS1-EVII* в формировании этого вида лейкоза пока изучен недостаточно.

Необходимо иметь в виду, что предполагаемые механизмы активации *EVII* у больных без стандартного вовлечения в перестройки локуса 3q26.2 должны быть сложнее, хотя встречаются такие случаи в клинике, особенно в детской, в 4–5 раз чаще [23]. При этом среди больных с *EVII*⁺ ОМЛ, не имеющих вовлечения в перестройки локуса 3q26, прогностически благоприятные цитогенетические и молекулярные варианты ОМЛ являются редкостью [23]. Напротив, эти лейкозы тесно связаны с наличием в кариотипе моносомии 7 или перестроек локуса 11q23 с расположенным здесь геном *KMT2A*, ответственным за образование богатой лизинном К-специфической метилтрансферазы-2.

ОСНОВНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ БЕЛКА *EVII*

В ходе исследований стало ясно, что белковый продукт гена *EVII* оказывает влияние не только на нормальный гемопоэз, связанный с транскрипционными факторами *RUNX1*, *GATA1* [73, 74] и *PU.1* [37, 75–77], но и на патологический. Он нарушает регуляцию таких критически значимых сигнальных путей, как трансформирующий фактор роста β (TGF- β) и интерферон- α [78, 79], которые в костном мозге ответственны за рост и дифференцировку кроветворных элементов. Выявлены также тесные связи между *EVII* и эпигенетическими механизмами регуляции ДНК, в частности с гиперметилированием промоторов, в т. ч. микроРНК [66]. Обобщая большой экспериментальный материал, полученный в этой области, основоположники исследований функций *EVII* [37] пришли к мнению, что ему свойствен ряд функций онкобелка.

Как уже отмечалось, он участвует в регуляции нескольких сигнальных путей, в т. ч. TGF- β , причем как через прямое физическое взаимодействие с Smad3, так и через опосредованное торможение CtBP [80, 81]. В свою очередь, это способствует дальнейшей активации гена *EVII* через усиление клеточной пролиферации и дифференцировки. Кроме того, было показано, что *EVII* способен подавлять сигнальный путь *JNK1*, нарушая фосфорилирование c-Jun [82], вмешиваться в регуляцию гена *PML* [83], а также существенно тормозить сигнальный путь интерферона- α . Наконец, у *EVII* обнаружен несомненный эффект

против апоптоза [37, 84]. Не ограничиваясь этим, EVI1 может действовать и как транскрипционный фактор, участвуя в связывании цинковыми пальцами с последовательностью ДНК GA(C/T)AAGA(T/C)AAGATAA [85] или же с мотивом GACAAGATA [78]. В итоге нарушаются регуляции GATA-2 [85], PBX1 [79] и PML [86], детали которых подробно описаны в обзоре [37].

Наконец, имеются данные о том, что EVI1 способен активировать часть эпигенетических механизмов, в т. ч. метилирование ДНК [69, 87], модификацию гистонов [88] и активность некоторых видов микроРНК [89], к чему далеко не безразличны связанные с этими механизмами сигнальные пути [37]. По мнению исследователей, выдвинувших концепцию о важной роли эпигенетических изменений в патогенезе EVI1-позитивных миелоидных лейкозов, она находит косвенное подтверждение в частом обнаружении при этой патологии мутаций ряда связанных с эпигенетической регуляцией генов: *EZH2* [86, 90, 91], *DNMT3A* [92, 93], *TET2* [94, 95], *ASXL1* [96] и *UTX* [97]. В дополнение к этому EVI1 принимает активное участие в экспрессии *PTEN*, что приводит к активации такого важного метаболического пути клеток, как P13K/AKT/mTOR [98, 99]. Похоже, что активация именно этого сигнального пути позволяет клетке эффективно ускользать от направленной на нее терапии и особенно важна для EVI1-позитивных лейкозов.

Суммируя сказанное, в рассмотренной только что фундаментальной работе «EVI1 forms a bridge between the epigenetic machinery and signaling pathways» [37] основные разработчики этого направления в онкогематологии всесторонне обосновали теснейшую связь между гиперэкспрессией гена *EVI1* и изменением эпигенетической регуляции в клетке. С этих позиций стало яснее, почему при резистентных к терапии и трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) EVI1-позитивных лейкозах и МДС такие относительно мягкие препараты, как ТРК [99, 100] и гипометилирующие агенты (ГА) [69], с доказанным более низким профилем токсичности по сравнению с полихимиотерапией оказываются чрезвычайно эффективными. Однако преждевременно обольщаться этими предварительными многообещающими результатами лечения EVI1-позитивных лейкозов и МДС все-таки не стоит. Дело в том, что вследствие терапии ТРК, действующей во многом синхронно с геном *EVI1*, количество ГСК в гемопоэзе может существенно нарастать, что диктует настоятельную необходимость включения в протоколы аллоТГСК. Следовательно, лечение ТРК и ГА должно рассматриваться в рамках протокола комбинированной терапии с аллоТГСК.

ВИДЫ ЛЕЙКОЗОВ И УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *EVI1* У БОЛЬНЫХ СО СТАНДАРТНЫМ ВОВЛЕЧЕНИЕМ В ПЕРЕСТРОЙКИ ЛОКУСА 3q26 ИЛИ СООТВЕТСТВУЮЩИМИ МУТАЦИЯМИ

Как было показано [1, 2, 57, 59], гиперэкспрессия гена *EVI1* выявлялась у всех взрослых больных ОМЛ с t(3;3)/inv(3). Поскольку хромосомная поломка обычно

происходила на границе генов *EVI1* и *MDS1-EVI1* [2], первые среди экспрессий преобладали. Помимо инверсий и транслокаций с вовлечением в перестройки локуса 3q26 у этих больных были выявлены другие нарушения длинного плеча хромосомы 3. Например, транслокации t(2;3)(p15-22;26), t(3;7)(q26;q21), t(3;6)(q26;q25) и t(3;17)(q26;q22), при которых также чаще экспрессировался ген *EVI1*, а не *MDS1-EVI1* [13, 23]. При наличии же в клетках транслокаций t(3;21) и t(3;12) полученные сливные гены представляли сложную систему из транскрипционных факторов RUNX и ETV6 соответственно [13]. Интересно, что в одной из недавно выполненных работ [102] гиперэкспрессия гена *EVI1* отмечалась у 92 (19,3 %) из 476 пациентов с ОМЛ. При этом имелась статистически значимая разница ($p = 0,001$) в частоте экспрессии в различных в прогностическом отношении цитогенетических группах. В частности, она была высокой (72 %) у больных с обменов 3q, в т. ч. у всех 25 пациентов с обменов локуса 3q26 ($p = 0,001$). Из других цитогенетических нарушений с гиперэкспрессией гена *EVI1* ассоциировались только вовлечение в перестройки гена *KMT2A* ($p = 0,001$) и моносомия 7 ($p = 0,003$), но не делеция del(7q) ($p = 0,56$). В то же время ни у одного из больных с трисомией 8 ($n = 16$) и мутациями гена *NPM1* ($n = 79$) феномена гиперэкспрессии гена *EVI1* не обнаружено. Здесь следует также упомянуть, что у больных с *EVI1*⁺ ОМЛ встречались сложные нарушения кариотипа. Кроме того, у 21 % пациентов с EVI1-позитивными лейкозами никаких видимых под микроскопом хромосомных изменений не наблюдалось [69]. В свою очередь, у больных с резистентным течением хронического миелолейкоза (ХМЛ) варианты *EVI1*⁺ были представлены довольно часто [103].

ВИДЫ EVI1-ПОЗИТИВНЫХ ЛЕЙКОЗОВ, НЕ СВЯЗАННЫЕ С ВОВЛЕЧЕНИЕМ В ПЕРЕСТРОЙКИ ЛОКУСА 3q26

На начальном этапе разработки этой проблемы казалось, что феномен гиперэкспрессии гена *EVI1* свойствен только ОМЛ и МДС с вовлечением в перестройки локуса 3q26, где как раз и расположен ген *EVI1* [60]. Однако по мере накопления данных стало ясно, что это не так. Например, высокая частота гиперэкспрессии гена *EVI1* вне перестроек локуса 3q26 отмечалась у больных ОМЛ с вовлечением в перестройки гена *KMT2A* [18], причем чаще с транслокацией t(6;11), а также у больных с моносомией 7 [6]. Она реже встречалась при наличии в кариотипе трисомии 8, а также транслокаций t(8;21)(q22;q22), t(15;17)(q22;q22) и t(9;22)(q34;q22). Нельзя полностью исключить, что некоторые EVI1-позитивные лейкозы и МДС никаких видимых под микроскопом изменений хромосом не имеют.

Углубленное изучение этого вопроса [17, 102] показало, что в целом гиперэкспрессия гена *EVI1* вне повреждений локуса 3q26 была свойственна 10–15 % больных. Она была характерна для 3 (17 %) из 18 пациентов с ОМЛ, 10 (29 %) из 34 с МДС в случае исключения из анализа исходно негативных больных

с хроническим миеломоноцитарным лейкозом, у половины (2 из 4) пациентов с острым промиелоцитарным лейкозом (ОПЛ) и бластным кризом ХМЛ (1 из 2). В то же время в другой достаточно представительной работе было показано, что приблизительно такая же частота (8 из 75; 10,7 %) гиперэкспрессии гена *EVII* наблюдается у получавших ингибиторы тирозинкиназ больных с хронической стадией ХМЛ [102].

Раздельный анализ полученных данных в зависимости от изученной патологии представлен ниже.

Острые миелоидные лейкозы

Прежде чем обсуждать детали, следует напомнить, что прогностически неблагоприятное повышение экспрессии гена *EVII* имеет место у 10 % обследованных больных ОМЛ, причем только у 2–2,5 % с классическими абберациями хромосом *inv(3)/t(3;3)*. Не связанная с этими повреждениями хромосом гиперэкспрессия *EVII* больше свойственна лейкозам у детей, при которых прогноз значительно хуже [2, 3, 102, 103].

Для выяснения роли гиперэкспрессии гена *EVII* в развитии лейкозов и их рецидивов группа американских исследователей [43] выполнила филигранную экспериментальную работу, направленную на изучение возможности переноса лейкоза предварительно сортированными *EVII*-позитивными клетками-предшественницами лейкозного гемопоэза иммунодефицитным мышам. В качестве источника перевиваемых клеток был выбран *EVII*⁺ ОМЛ, связанный со слиянием генов *MLL (KMT2A)* и *AF9*. Полученные данные показали, что приблизительно 40 % больных с вовлечением в слияния гена *MLL* были *EVII*-позитивными. Кроме упомянутого выше варианта *MLL-AF9* в эту группу вошли также лейкозы со слияниями *MLL-AF6*, *-AF10*, *-ENN* и *-ELL*. При этом *EVII*⁺ ОМЛ с обменными генами отличались от *EVII*-негативных не только морфологически и иммунологически, но и молекулярно. Далее было установлено, что сливной ген *MLL-AF9* принимал активное участие в усилении трансплантационного потенциала лейкозных клеток-предшественниц, причем успешный перенос лейкозов обеспечивался прежде всего *EVII*-позитивными предшественниками с иммунофенотипами *CD34⁺/CD38⁺* и *CD34⁺/CD38⁺*. Отсюда возникло ощущение возможности существования в системе лейкоз-инициирующих клеток (ЛИК), помимо уже известных ранних предшественников с иммунофенотипом *CD34⁺/CD38⁻*, более зрелых *EVII*-экспрессирующих ЛИК. Косвенно это наблюдение было подтверждено и нами.

В группе больных из 14 взрослых и детей с *EVII*⁺ ОМЛ (данные не приводятся) уровень экспрессии генов *EVII* и *WT1* независимо от возраста изменялся синхронно, в то время как у экспрессируемого ранними ЛИК гена *BAALC* обнаружен ряд особенностей. В частности, у больных ОПЛ, при котором уровень ЛИК иной, чем при ФАБ-вариантах ОМЛ М0, М1, М2 и М4 [104], ни на одном из исследовательских этапов экспрессия гена *BAALC* не превышала порогового уровня, в то время как экспрессия генов *EVII* и *WT1* была наивысшей в данной когорте пациентов. Важно и то, что после признания существования

специального класса *EVII*-экспрессирующих ЛИК [43] наличие большого количества не связанных с вовлечением в перестройки локуса 3q26 *EVII*⁺ ОМЛ перестало удивлять исследователей. Такое же объяснение вполне приемлемо в случае появления *EVII*-позитивности у части пациентов с ХМЛ, получавших ингибиторы тирозинкиназ, а с ОПЛ — ТРК. Наконец, этому представлению не противоречит наличие частой сочетанной прогностически неблагоприятной реакции гиперэкспрессии гена *EVII* с таковой гена *WT1*, но не с геном *BAALC*, что требует дополнительного исследования. Актуальность такой трактовки полученных данных возрастает в свете недавно установленного положительного влияния на исход при *EVII*-позитивных лейкозах включения в лечебные протоколы ТРК [102].

Острый промиелоцитарный лейкоз

Из представленных выше рассуждений видно, какое важное место в понимании современной структуры ЛИК и возможности воздействия на них ряда эпигенетических факторов, в частности ТРК, занимает ОПЛ. В экспериментах показано, что при этом виде острого лейкоза ЛИК более дифференцированные [105, 106], чем при основных ФАБ-вариантах ОМЛ, а для активации *PML/RARα* необходимо даже участие ДНК-метилтрансферазы 3A [107]. Создается впечатление, что продуцируемый этими ЛИК молекулярный экспрессионный маркер идентичен таковому бластных элементов, т. е. *WT1* [108]. Появились также данные, что эффективная при ОПЛ ТРК может действовать на эти ЛИК в том же направлении, что и продукт гена *EVII*. Исследований уровня экспрессии этого гена при ОПЛ проведено немного, а интересующие нас больные, как правило, были включены в общие когорты пациентов. Например, одно из таких ранних исследований [51] включало 2 больных ОПЛ, причем стандартная транслокация *t(15;17)* имела место лишь в одном из этих наблюдений.

Дополнительное изучение этого вопроса у 11 других больных ОПЛ показало следующее. До начала терапии *EVII*-позитивными были 5 (55 %) из 9 больных. После терапии ТРК в течение 2–5 нед. 2 пациента, исходно *EVII*-негативных и не достигших ремиссии, стали *EVII*-позитивными. Кроме того, после 5-недельного успешного лечения ТРК мРНК *EVII* была обнаружена еще у 1 пациента. В чем-то похожие данные были опубликованы в другой работе [59], в которой уровни экспрессии гена *EVII* были изучены у 336 больных ОМЛ, в т. ч. у 139 с ОПЛ. В итоге наличие экспрессии *EVII* установлено у 7 (70 %) из 10 больных с наличием в кариотипе перестройки локуса 3q26 и только у 23 (7 %) из 326 — без такого повреждения хромосом. Отсюда следует, что гиперэкспрессия *EVII* у больных ОПЛ встречается реже, чем в общей популяции ОМЛ. При этом резистентность к проводимой терапии была ожидаемой.

Хорошей иллюстрацией рассматриваемых здесь проблем может служить одно из наших наблюдений детского варианта *EVII*⁺ ОПЛ у девочки 13 лет, когда проведенное в клинике стандартное лечение комбинацией ретиноидов с антрациклиновыми антибиотиками, цитарабином, а затем — триоксидом мышьяка

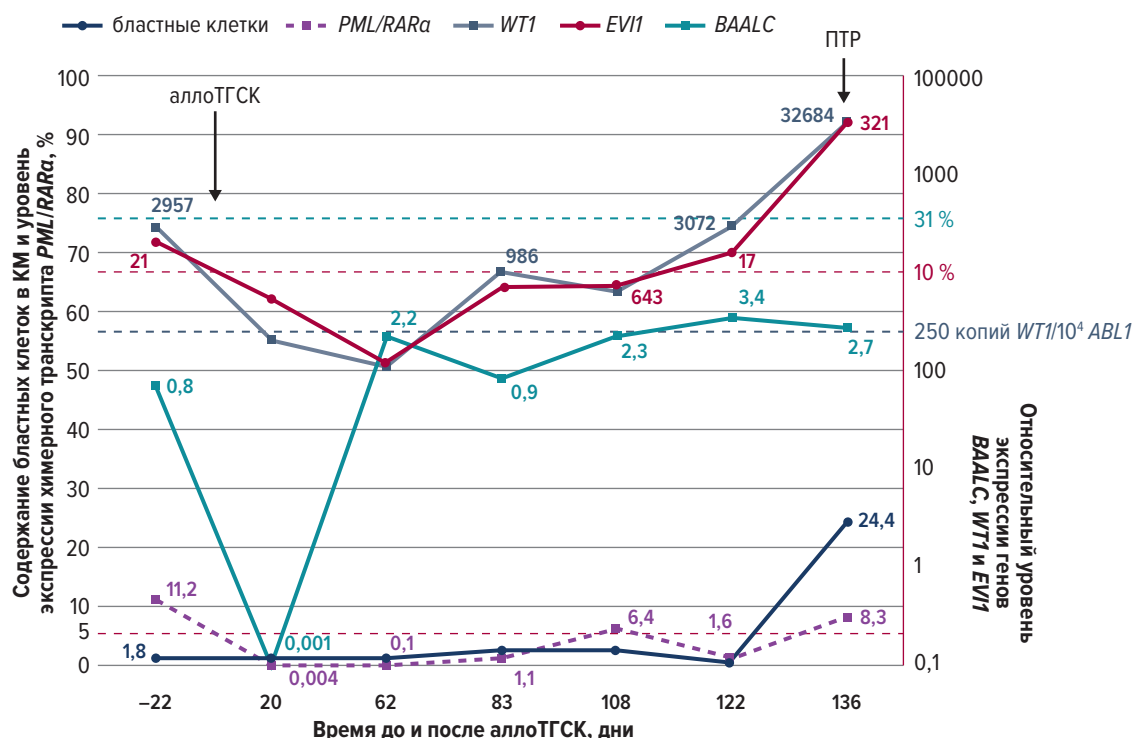


Рис. 3. Молекулярный мониторинг посттрансплантационного течения резистентного к стандартной терапии третиноином, триоксидом мышьяка, антрациклинами, цитарабином и гемтузумабом *EVI1*⁺ ОПЛ у девочки 13 лет
аллоТГСК — трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток; КМ — костный мозг; ПТР — посттрансплантационный рецидив.

Fig. 3. Molecular monitoring of post-transplant *EVI1*⁺ APL resistant to standard therapy with tretinoin, arsenic trioxide, anthracyclines, cytarabine, and gemtuzumab in a girl aged 13 years

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

с добавлением гемтузумаба оказалось недостаточно эффективным (рис. 3). Это потребовало проведения сначала трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК), а потом и аллоТГСК. Для выполнения последней больная была переведена в НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой. Результаты молекулярного мониторинга течения заболевания на этом этапе показали, что, несмотря на интенсивную терапию, достигнуть молекулярной ремиссии к моменту аллоТГСК так и не удалось. При этом были выявлены умеренно повышенные уровни экспрессии генов *EVI1* (21 %), *WT1* (2957 копий) и *PML/RARα* (11,2 %). Посттрансплантационный рецидив (ПТР) заболевания, сначала молекулярный, а потом и цитологический, был зафиксирован в течение 122–136 дней после выполнения аллоТГСК. При этом имело место синхронное высокое повышение экспрессии генов *EVI1* (32 %) и *WT1* (32 684 копии) и умеренное — специфического гена *PML/RARα* (8,3 %), а также содержания бластных элементов в аспирате костного мозга (24,4 %). В то же время экспрессия гена *BAALC*, ассоциируемая нами с самыми ранними клетками-предшественницами лейкозного гемопоэза [104], не достигла порогового уровня ни на одном из этапов исследования.

Наличие же у больной очень высокого, не соответствующего низкому содержанию бластных элементов в аспирате костного мозга уровня экспрессии гена *WT1* позволило нам предположить активное участие в этой экспрессии не только бластных элементов, но и клеток-предшественниц зрелого типа.

Миелодиспластические синдромы

То, что между ОМЛ и МДС много общего, известно давно. Если же иметь в виду их *EVI1*-позитивные варианты, то общего становится еще больше [23, 101]. Возможно, поэтому, а не только из-за редкости обсуждаемых здесь вариантов в общих когортах больных должного внимания им практически не уделялось [5, 17, 109, 110]. По нашим данным, уровень экспрессии гена *EVI1* у больных МДС ($n = 4$) составлял 14, 9, 22 и 34,2 % соответственно при его пороговом значении 10 %. При этом в параллельно обследованной группе больных ОМЛ ($n = 9$) уровень экспрессии гена *EVI1* варьировал от 10,36 до 69 % (медиана 25,26 %). Приблизительно такие же данные были получены у пациентов с МДС [17, 109, 110]. Основное отличие выполненных до нас работ заключалось в использовании других методических приемов, нежели ПЦР в реальном времени, что не позволило этим исследователям выразить полученные ими результаты количественно.

Хронический миелоидный лейкоз

В отличие от МДС исследование уровня экспрессии гена *EVI1* в клетках костного мозга или крови у больных ХМЛ было проведено качественнее [103, 111–115], а информативность оказалась выше. В частности, одно из первых исследований по этой проблеме [112] уже включало 73 пациента с различными стадиями ХМЛ. Самая высокая частота гиперэкспрессии гена *EVI1* отмечалась у 10 (71 %) из 14 больных с бластным кризом ХМЛ, причем вовлечение в перестройки

локуса 3q26 не выявлено ни у одного из них. Кроме того, у этих больных не было ни амплификаций, ни обменов интересующего нас гена, что могло бы как-то исказить результат исследования. На основании полученных данных был сделан вывод о клинической важности феномена гиперэкспрессии гена *EVII* при прогрессировании ХМЛ в фазу бластного криза.

Другая работа, выполненная в Индии [113], включала только больных ХМЛ ($n = 85$). Из них 54 были с хронической стадией ХМЛ, 12 — в фазе акселерации и 19 — бластного криза, причем ни в одном из наблюдений ТГСК не проводили. Гиперэкспрессия гена *EVII* выявлена у 4 (21 %) из 19 обследованных пациентов. Следующая работа [103] включала 75 специально отобранных пациентов с хронической стадией ХМЛ, которые не имели в кариотипе вовлечения локуса 3q26, а в геноме — мутаций молекулярной петли BCR/ABL. Другим условием включения в исследование было наличие у больных резистентности к иматинибу, потребовавшей их перевода на терапию ингибиторами тирозинкиназ 2-го поколения. Следует отметить, что частота гиперэкспрессии гена *EVII* в этой группе больных была такой же (8 из 75; 10,7 %), как при ОМЛ. При этом показатели безрецидивной (БРВ) и общей выживаемости (ОВ) у *EVII*-позитивных больных с хронической стадией ХМЛ были хуже, чем в группе сравнения, а по данным многофакторного анализа, наиболее значимым прогностическим индикатором оказался именно статус *EVII*.

Наконец, наше исследование [114] было проведено у 35 больных ХМЛ с резистентностью к ингибиторам тирозинкиназ и выполнением аллоТГСК после лечения. В итоге было показано, что на снижение возможности достижения полной ремиссии влияло наличие в кариотипе дополнительных хромосомных аномалий. В группе пациентов с повышенным уровнем экспрессии гена *EVII* отмечалось статистически значимое ($p = 0,043$) снижение показателей 3-летней БРВ.

Лимфопролиферативные заболевания

Работ, направленных на изучение уровня экспрессии гена *EVII* у больных острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), опубликовано немного [5, 112, 116], а общее количество обследованных пациентов пока мало. При этом частота феномена гиперэкспрессии этого гена, в т. ч. при Rh-позитивном ОЛЛ [5], была существенно ниже, чем при ОМЛ, МДС и ХМЛ [5, 112], что нашло косвенное подтверждение и в других исследованиях [116]. Однако здесь следует заметить, что в нашей работе речь шла о Rh⁺ ОЛЛ, при котором исключить реальную возможность начала заболевания с лимфоидного варианта бластного криза ХМЛ нам не удалось.

ОСНОВНЫЕ ВИДЫ ЛЕЧЕНИЯ

Стандартная химиотерапия и аллоТГСК

Проведенные исследования показали, что в условиях индукционной терапии цитарабином с антрациклинами достичь полной ремиссии удается менее чем у 40 % пациентов [2, 117], а медиана ОВ не достигает 1 года [1–3, 118]. С другой стороны,

из-за редкости неблагоприятного варианта ОМЛ эффективность аллоТГСК до последнего времени оценивали недостаточно [10, 119]. В одном из этих исследований [120] высокий прогностически значимый уровень гиперэкспрессии гена *EVII* был показан в группе пациентов с аллоТГСК, выполненной в первой ремиссии, причем с использованием миелоаблативного режима кондиционирования. В итоге в группе больных с гиперэкспрессией гена *EVII* показатели 2-летней ОВ и бессобытийной выживаемости (БСВ) были статистически значимо ниже, чем у больных с *EVII*-негативным статусом (52,6 vs 71 %, $p = 0,027$ и 52,6 vs 72,4 %, $p = 0,012$ соответственно). В то же время 2-летняя кумулятивная частота рецидивов (КЧР) оказалась статистически значимо выше, чем в группе сравнения (39,5 vs 22,5 %; $p = 0,013$). Многофакторный анализ показал, что высокая экспрессия гена *EVII* была независимым прогностически неблагоприятным фактором как для БСВ, так и ОВ ($p = 0,01$).

Наиболее представительное в данной области исследование было опубликовано 2 года назад [10]. Оно включало 98 участников со стандартными для этих больных нарушениями хромосом *inv(3)(q21q26)/t(3;3)*, которые были тщательно отобраны в регистре Европейского общества по трансплантации крови и костного мозга (ЕВМТ). В большинстве наблюдений выполнялась аллоТГСК от неродственного донора с применением режимов кондиционирования с использованием миелоаблативных доз. У 53 больных аллоТГСК проведена в активной фазе болезни, у 45 — в полной ремиссии. В итоге 2-летние ОВ, БСВ, а также КЧР и не связанная с заболеванием летальность составляли 26, 20, 64 и 16 % соответственно. Статус по заболеванию на показатели 20-летних ОВ и БСВ не повлиял.

Эпигенетическая терапия

Поскольку эпигенетические изменения генома у этой категории больных представлены широко, среди резервных подходов для их лечения рассматриваются разные виды эпигенетической терапии, предполагающей использование ГА и ТРК, а в качестве резервных могут выступать ингибиторы гистондеацетилазы [88].

Анализ публикаций [121], подтвержденный собственными данными [119, 121–123], показал, что эпигенетические изменения ДНК у больных с *EVII*-позитивными лейкозами и МДС представлены широко. Эффективность различных видов эпигенетической терапии, направленной на гипометилирование ДНК и деацетилирование гистонов, в общей группе больных ОМЛ и МДС никаких сомнений не вызывает, хотя эффект их, за редким исключением, временный. В то же время тщательный анализ результатов применения эпигенетической терапии с выполнением аллоТГСК и без такового пока проводился недостаточно, хотя все основания для таких исследований есть. Во-первых, можно считать доказанным, что *EVII* существенно изменяет эпигенетический профиль лейкозных клеток [69, 124–127]. Во-вторых, из-за особенностей эпигенетической терапии осуществить полную эрадикацию ответственных за рецидивы ЛИК в большинстве наблюдений не удастся [128].

Гипометилирующие агенты

Одним из наиболее частых эпигенетических нарушений при ОМЛ может быть аномальный уровень метилирования промоторов генов-супрессоров опухолевого роста [69, 87]. Прямое отношение к рассматриваемой проблеме имеет также выявленный недавно феномен преходящего глобального гиперметилирования промоторов многих генов в клетках-предшественниках донора в ответ на выполнение аллоТГСК [129]. В связи с этим добавление ГА к стандартным курсам индукционной химиотерапии и к аллоТГСК у больных с *EVI1*-позитивными лейкозами и МДС представляется крайне важным.

Что касается добавления ГА к трансплантации, оно осуществлялось перед выполнением аллоТГСК [130–133] или же в посттрансплантационный период [134–137]. В обоих вариантах переносимость малых доз ГА была удовлетворительной и они не ухудшали результаты аллоТГСК. Одним из недостатков этих работ было то, что число включенных в исследования больных с *EVI1*-позитивными лейкозами и МДС было небольшое, поэтому результаты обсуждаемого здесь лечения не приводились. Одним из исключений стала работа по изучению тотального метилирования ДНК у большой группы больных с *EVI1*⁺ ОМЛ и участия в этом процессе продукта гена *EVI1* [69]. В ней было показано, что характер метилирования промоторов ДНК в бластных элементах *EVI1*⁺ у больных ОМЛ отличался от такового CD34-позитивных клеток-предшественниц доноров и ОМЛ без *EVI1*⁺. Этот список включал промоторные области 294 разных генов, 238 (81 %) из которых были гиперметилированы с участием *EVI1*. Похоже, что среди них были также промоторы генов микроРНК *miR-9* и *miR-124*, доказательство непосредственного участия *EVI1* в гиперметилировании которых было получено недавно [89, 117, 125, 126]. Из проведенных исследований следует, что механизм этого процесса напрямую связан со взаимодействием *EVI1* с ДНК-метилтрансферазами (DNMT3A и DNMT3B), отвечающими за метилирование ДНК *de novo* [69]. В то же время репрессия транскрипции *EVI1* может осуществляться не прямо, а опосредованно, в частности через метилазу гистонов SUV39H1 или же через изменение состояния хроматина [138].

В нашей работе [123] повышение экспрессии гена *EVI1* > 10 % от порогового уровня выявлено у 20 (8,7 %) из 230 обследованных пациентов. Их возраст ко времени диагностики высокой экспрессии гена *EVI1* варьировал от 2 до 80 лет (средний возраст 32,7 года). Среди больных было 7 человек с ОМЛ, 3 — с МДС, 9 — с ХМЛ и 1 — с Ph⁺ ОЛЛ. Вовлечение в перестройки локуса 3q26 имело место у 2 больных ОМЛ, причем у одного из них с предшествующим ОМЛ синдромом 8p11, а также у больной с бластным кризом ХМЛ. Моносомия 7 имела место в 4 наблюдениях, а вовлечение в перестройки гена *MLL* — в 2 других. Кроме того, высокая экспрессия гена *EVI1* отмечалась у 9 резистентных к ингибиторам тирозинкиназ больных ХМЛ, у 1 больного с Ph⁺ ОЛЛ, у 2 — с ОМЛ и транслокацией t(8;21), у 3 — со сложным кариотипом и у 1 — без видимых под микроскопом изменений хромосом. Пациентам были выполнены неродственная аллоТГСК (*n* = 6), аллогенная родственная (*n* = 1), га-

плоидентичная (*n* = 2) и аутоТГСК (*n* = 1). У 2 (22 %) из 9 больных аллоТГСК проведена в первой ремиссии, у 1 — в третьей. В то же время у остальных 6 пациентов аллоТГСК выполнялась вне ремиссии. В итоге полные клиничко-гематологические и цитогенетические ремиссии достигнуты у 4 пациентов с аллоТГСК, в т. ч. у 2 в период ремиссии. Летальный исход через 3–15 мес. после аллоТГСК зафиксирован у 5 пациентов. Причинами смерти были рецидивы основного заболевания (*n* = 4) или неприживление трансплантата (*n* = 1). Что касается лечения посттрансплантационных рецидивов, оно оказалось успешным лишь в 2 из 10 наблюдений.

В настоящее время есть публикации, показывающие несомненную эффективность ГА у больных МДС высокого и промежуточного-2 риска. Поскольку эрадикации лейкозных клонов при этом не происходит, терапия ГА не приводит к улучшению долгосрочных результатов, что требует решения вопроса о возможности выполнения аллоТГСК. На наш взгляд, работ такого рода пока проведено немного. В одной из них [133] речь шла о 25 больных с МДС высокого риска, которым назначали азацитидин в предтрансплантационный период в дозе 75 мг/м² в последние 3 дня каждой недели. Число таких циклов варьировало от 1 до 6 (в среднем 3). Переносимость препарата была удовлетворительная. В итоге у 48 % получивших лечение больных была достигнута частичная ремиссия. У 33 % пациентов отмечалась стабилизация заболевания, у 19 % — зафиксирован рецидив. 1-летние БСВ и ОВ после выполнения аллоТГСК составили 52 и 62 % соответственно, что выше по сравнению с группой больных без аллоТГСК.

Полностью транс-ретиноевая кислота

До последнего времени основополагающих работ в этом направлении было немного, хотя попытки использовать ТРК (по аналогии с терапией ОПЛ) предпринимались [139, 140]. При этом разделение исследовательских когорт на отдельные прогностически неблагоприятные цитогенетические и молекулярные варианты, в частности *EVI1*-позитивные, за редким исключением [141, 142], не проводилось. В первом из этих исследований у 28 больных с МДС использовали для лечения комбинацию триоксида мышьяка с талидомидом. Ответ на эту терапию был получен у 7 пациентов, причем у 1 полный. Интересно, что наилучший эффект (3/5) имел место в группе больных с повышенной экспрессией гена *EVI1*, что соответствует последним представлениям по лечению ТРК [101]. Что касается самой ТРК, то ее первый ощутимый успех также был продемонстрирован у больных ОМЛ с гиперэкспрессией гена *EVI1* [118]. В условиях эксперимента было показано, что клетки значительной части включенных в исследование больных с *EVI1*⁺ ОМЛ реагировали на ТРК усилением созревания и снижением агрессивного потенциала бластных элементов.

Последовавшее за этим расширение исследований в данном направлении принесло неожиданный успех. Основанием для оптимизма стали результаты оригинальных работ французских исследователей [101, 143, 144], которые показали отчетливую эффективность ТРК при всех вариантах *EVI1*-позитивных мие-

лоидных лейкозов и МДС. Теоретической основы для объяснения этого результата авторы не представили, хотя достижение полной ремиссии у 7 из 13 явно резистентных к стандартной терапии больных ОМЛ, МДС и ХМЛ, сопровождавшееся отчетливым снижением в лейкозных популяциях пула ранних клеток-предшественниц, указывало на прямой эффект ТРК на уровне ЛИК. На наш взгляд, объяснение этого успеха лечения *EVII*-позитивных миелоидных лейкозов и МДС с помощью ТРК можно найти в недавно полученных данных прямого изучения механизмов взаимодействия *EVII* и ретиноидов в клетках-предшественницах больных ОМЛ [145]. На мышинной модели MLL-AF9 ОМЛ эти исследователи подтвердили, что *EVII* активно угнетал дифференцировку ЛИК и тем самым способствовал увеличению их количества, активности, а также переходу в состояние покоя. Немаловажно и то, что на уровне ЛИК ТРК действовала в том же ключе, что и *EVII*. В частности, она активно участвовала в увеличении транскрипции ряда связанных с *EVII* генов, в т. ч. способных поддерживать основные биологические свойства клеток-предшественниц, как это делает ген *Notch-4*. Важно и то, что все описанные побочные эффекты ретиноидов удавалось полностью устранить при добавлении к культурам нового панспецифического ингибитора всех RAR-рецепторов.

Подтверждение правильности всех сделанных в экспериментах на мышах выводов исследователи получили на клеточных культурах, а также в условиях клиники. Как оказалось, отмеченный выше ингибитор всех RAR-рецепторов был способен задерживать лейкозогенез *in vivo*. На первый взгляд, эти данные вступали в противоречие с полученным в клинике эффектом ТРК при всех основных видах *EVII*-позитивных миелоидных лейкозов и МДС [101, 144]. Однако это не так. По-видимому, в условиях клиники речь идет как о разноплановом действии ретиноидов, так и о каком-то временном успехе терапии, связанным с дифференцировкой не стволовых, а более зрелых клеток. В то же время обусловленное *EVII* в комбинации с ретиноидами накопление пула ЛИК упускать из внимания нельзя. В связи с этим для предупреждения новых рецидивов заболевания достигаемый с помощью ТРК временный успех лечения, на наш взгляд, должен закрепляться проведением аллоТГСК.

Применение эпигенетической терапии в пред- и посттрансплантационный периоды

Как уже отмечалось ранее, результаты аллоТГСК у больных с *EVII*-позитивными лейкозами и МДС нуждаются в улучшении [8, 9], а комбинированная терапия эпигенетическими агентами и аллоТГСК требует дополнительного изучения [14, 119, 123, 128, 146–148].

На наш взгляд, наиболее представительная работа в этой области [10] включила данные 98 больных с *inv(3)(q21q26)/t(3;3)(q21;q26)* в полной ремиссии из объединенного регистра EBMT. В итоге 2-летние ОВ, БРВ, КЧР и связанная с трансплантацией летальность равнялись 20, 26, 64 и 16 % соответственно, что вряд ли можно признать удовлетворительными результатами. По данным многофакторного анализа, единственным прогностически благоприятным фактором был статус

по заболеванию, хотя полные ремиссии у данной группы пациентов достигаются с большим трудом.

Накапливающийся опыт показывает, что эффект аллоТГСК может быть усилен в условиях добавления к ней ГА, ТРК и других видов эпигенетической терапии. Иллюстрацией к сказанному может быть несколько представленных здесь работ. Одна из них [147] включала 19 больных с высоким ($n = 12$) и низким ($n = 7$) риском МДС, у которых перед аллоТГСК с использованием преимущественно немиелоаблативного режима кондиционирования (95 % пациентов) предшествовало назначение ГА. В итоге у 8 больных была достигнута полная ($n = 2$) или частичная ($n = 6$) ремиссия, а у 9 пациентов было констатировано гематологическое улучшение. Восстановление гранулоцитов и тромбоцитов имело место у 95 и 79 % соответственно. Частота острой и хронической реакции «трансплантат против хозяина» достигала 42 и 26 % соответственно, а 2-летняя ОВ оказалась равна 68 %, причем результаты аллоТГСК были успешнее в группе больных с достигнутыми перед аллоТГСК ремиссиями, чем без таковых.

В другом исследовании [133], которое включило 25 больных МДС высокого риска, перед аллоТГСК проводили лечение азациитидином в дозе 75 мг/м² в стандартном режиме. В среднем выполнено 3 таких цикла. В итоге частичная ремиссия достигнута у 48 % больных. Стабилизация заболевания имела место у 36 % пациентов, в то время как у 19 % констатировано прогрессирование. АллоТГСК с использованием миелоаблативного режима кондиционирования была выполнена у 21 больного. При среднем 30-месячном наблюдении 1-летние БРВ и ОВ составили 55 и 62 % соответственно. Важно и то, что используемый перед аллоТГСК для улучшения клинического статуса препарат больные переносили хорошо. Расширение этого исследования в нашем Центре (НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой) показало, что назначение ГА как в пред-, так и в посттрансплантационный период было безопасно [14, 123]. Эффективность же ГА в отношении улучшения ОВ и БСВ становилась очевиднее ($p = 0,001$ и $p = 0,02$ соответственно), когда такие препараты назначались в посттрансплантационный период [134], что может быть связано с их влиянием на открытый недавно феномен гиперметилирования промоторов клеток доноров в условиях применения ГА и аллоТГСК [129]. К сожалению, в опубликованных работах отсутствуют данные о наличии больных с *EVII*⁺ ОМЛ, наглядный пример которого представлен в следующем наблюдении [148].

Речь идет о 24-летнем пациенте с *EVII*⁺ ОМЛ, характеризующимся моносомией хромосомы 7 [148]. Из-за отсутствия HLA-совместимого донора этому больному был проведен 5-дневный курс лечения децитабином в дозе 15 мг/м², что привело к улучшению гематологических показателей, но не к достижению ремиссии. Несмотря на это, приживление трансплантата, несовместимого по 1 локусу клеток пуповинной крови, прошло успешно. В итоге были достигнуты полная стойкая клинико-гематологическая, цитогенетическая и молекулярная ремиссии, которые сохранялись не менее 18 мес., что можно расценивать как несомненный успех при лечении сложного варианта *EVII*⁺ ОМЛ.

Приблизительно такая же ситуация имела место у одной из наших молодых больных с *EVI1*-позитивным вторичным (из МДС) ФАБ-вариантом ОМЛ М4 с кариотипом клеток 45,XX, inv(3)(q21q26.2), -7, при котором посттрансплантационный рецидив удавалось какое-то время успешно лечить применением ГА в сочетании с повторными возрастающими инфузиями донорских лимфоцитов [119]. Развившийся позднее новый костномозговой рецидив временно контролировали с помощью высокодозной химиотерапии. При этом гиперэкспрессия гена *EVI1* больше не наблюдалась, хотя гиперэкспрессия гена *WT1* бластными клетками и тесно связанными с ними относительно зрелыми клетками-предшественницами лейкозного гемопоэза продолжала иметь место.

К сожалению, работ с одновременным использованием при лечении ТРК и аллоТГСК у больных с доказанными *EVI1*-позитивными миелоидными лейкозами и МДС нам найти не удалось. В то же время применение ТРК в дозе 45 и 15 мг/м² на 6–8-й и 9–21-й дни в комбинации с цитарабином в высоких дозах у больных с относительно благоприятным вариантом ОМЛ с мутацией гена *NPM1* в условиях крупного рандомизированного по ТРК исследования никаких преимуществ в отношении БСВ в общей группе больных ОМЛ и таковых с мутацией *NPM1* не показало ($p = 0,93$ и $p = 0,17$ соответственно) [149].

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ И ЛЕЧЕНИЯ

Из всего сказанного следует, что устранить все проблемы лечения *EVI1*-позитивных лейкозов с помощью одной эпигенетической терапии или комбинации ее с аллоТГСК не удастся. В то же время для разработки и оценки новых лечебных подходов потребуется особый методический контроль. В связи с этим следует напомнить, что за возникновение резистентности к терапии и рецидивов миелоидных лейкозов прежде всего ответственны ЛИК. Как показали некоторые экспериментальные исследования по трансплантации этих клеток иммунодефицитным мышам, по уровню дифференцировки они неоднородны. В частности, самые ранние ЛИК, которые свойственны большинству вариантов ОМЛ, имеют иммунофенотип CD34⁺CD38⁻ [105] и избирательно экспрессируют ген *BAALC* [104]. Большинство ЛИК с промежуточной степенью дифференцировки имеет иммунофенотип CD34⁺CD38⁺ или CD34⁺CD38⁺⁺ и способно к избирательной экспрессии гена *EVI1* [43]. Наконец, у больных ОПЛ и ОМЛ с мутацией гена *NPM1* фракция ЛИК в основном представлена CD34-негативными клетками [150, 151], которые, по нашим предварительным данным, как и бластные клетки, могут экспрессировать ген *WT1*. Немаловажно и то, что продукты экспрессии перечисленных выше генов могут быть оценены количественно методом ПЦР в реальном времени. Данное обстоятельство открывает реальную возможность оценивать в динамике относительное содержание разных видов ЛИК, что для мониторинга хода лечения больных с аллоТГСК представляется крайне важным.

В недавно опубликованной нами работе [104] относительное содержание экспрессирующих эти виды генов ЛИК было определено у 2 больных *EVI1*⁺ ОМЛ с ФАБ-вариантами М1 и М4 (№ 4 и 29), имевших соответственно сложный кариотип (№ 4) или стандартное вовлечение в перестройки локуса 3q26.2, дополненное моносомией 7 (№ 29). Результаты динамического параллельного измерения уровня экспрессии этих генов показали ведущую роль *BAALC*-экспрессирующих ЛИК в возникновении таких лейкозов. В то же время у больных с более благоприятными в прогностическом отношении молекулярными вариантами ОМЛ ответственные за рецидив ЛИК могут быть другого уровня дифференцировки.

Иллюстрируя это положение, мы представили здесь часть лабораторных данных одной из наших больных с *EVI1*-позитивным, резистентным к терапии ретиноидами детским вариантом ОПЛ (см. рис. 3), который имел стандартную транслокацию t(15;17)(q22;q11-22). При этом экспрессия гена *BAALC* не превышала порогового уровня 31 % ни на одном из этапов исследования. В то же время уровень экспрессии генов *EVI1* (31,2 %) и *WT1* (32 684 копии) на этапе ПТР был наивысшим у 14 больных с *EVI1*⁺ ОМЛ с различными цитогенетическими вариантами (данные не приводятся). Отсюда следует, что в этом наблюдении ведущую роль в прогрессировании заболевания и возникновении ПТР сыграли не *BAALC*-экспрессирующие, а *EVI1*- и *WT1*-экспрессирующие ЛИК. Как вести этих больных с учетом открывающихся возможностей комбинации основных видов эпигенетической терапии и аллоТГСК, покажут ближайшие исследования с подключением к ним молекулярного мониторинга.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, наше представление о *EVI1*-позитивных миелоидных лейкозах и МДС начинает претерпевать значительные изменения. Подобно ОПЛ, имевшему ранее (до применения ТРК) крайне неблагоприятный прогноз, при введении этой группы заболеваний начинает формироваться «окно» для активной терапии. При этом важную роль в успехе предстоящего лечения должна сыграть эпигенетическая терапия ТРК и ГА в сочетании с аллоТГСК. На наш взгляд, оценка эффективности такой терапии должна проводиться в условиях молекулярного мониторинга с динамическим измерением уровня экспрессии генов *EVI1*, *WT1* и *BAALC*. Поскольку эти маркеры открывают возможности для количественной оценки постоянно меняющихся в условиях терапии и аллоТГСК пулов разнонаправленных дифференцированных клеток-предшественниц лейкозного гемопоэза, данное обстоятельство создает реальную основу для разработки новых стратегий лечения этой прогностически неблагоприятной группы гематологических злокачественных опухолей.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: Н.Н. Мамаев.

Предоставление материалов исследования: А.И. Шакирова, Е.В. Морозова, Т.Л. Гиндина.

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

Подготовка рукописи: Н.Н. Мамаев, А.И. Шакирова, Е.В. Морозова.

Окончательное одобрение рукописи: все авторы.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Barjesteh van Waalwijk van Doorn-Khosrovani S. High EVI1 expression predicts poor survival in acute myeloid leukemia: a study of 319 de novo AML patients. *Blood*. 2002;101(3):837–45. doi: 10.1182/blood-2002-05-1459.
- Lugthart S, van Druenen E, van Norden Y, et al. High EVI1 levels predict adverse outcome in acute myeloid leukemia: prevalence of EVI1 overexpression and chromosome 3q26 abnormalities underestimated. *Blood*. 2008;111(8):4329–37. doi: 10.1182/blood-2007-10-119230.
- Groschel S, Lugthart S, Schlenk RF, et al. High EVI1 expression predicts outcome in younger adult patients with acute myeloid leukemia and is associated with distinct cytogenetic abnormalities. *J Clin Oncol*. 2010;28(12):2101–7. doi: 10.1200/JCO.2009.26.0646.
- Paquette RL, Nicoll J, Chalukya M, et al. Frequent EVI1 translocations in myeloid blast crisis CML that evolves through tyrosine kinase inhibitors. *Cancer Genet*. 2011;204(7):392–7. doi: 10.1016/j.cancergen.2011.06.002.
- 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 expression of EVI1 gene: theoretical and clinical aspects. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2012;5(4):361–4. (In Russ)]
- Rogers HJ, Vardiman JW, Anastasi J, et al. Complex or monosomal karyotype and not blast percentage is associated with poor survival in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome patients with inv(3)(q21q26.2)/t(3;3)(q21;q26.2): a Bone Marrow Pathology Group study. *Haematologica*. 2014;99(5):821–9. doi: 10.3324/haematol.2013.096420.
- Reiter E, Greinix H, Rabitsch W, et al. Low curative potential of bone marrow transplantation for highly aggressive acute myelogenous leukemia with inversion inv(3)(q21q26) or homologous translocation t(3;3)(q21;q26). *Ann Hematol*. 2000;79(7):374–7. doi: 10.1007/s002770000158.
- He X, Wang Q, Cen J, et al. Predictive value of high EVI1 expression in AML patients undergoing myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in first CR. *Bone Marrow Transplant*. 2016;51(7):921–7. doi: 10.1038/bmt.2016.71.
- Gindina TL, Mamaev NN, Afanasyev BV. Chromosome abnormalities and hematopoietic stem cell transplantation in acute leukemias. In: ML Larramendy, S Soloneski (eds). *Chromosomal abnormalities – A hallmark manifestation of genomic instability*. IntechOpen; 2017. pp. 71–86. doi: 10.5772/67802.
- Halaburda K, Labopin M, Houhou M, et al. AlloHSCT for inv(3)(q21;q26)/t(3;3)(q21;q26) AML: a report from the acute leukemia working party of the European society for blood and marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2018;53(6):683–91. doi: 10.1038/s41409-018-0165-x.
- Martinelli G, Ottaviani E, Buonamici S, et al. Association of 3q21q26 syndrome with different RPN1/EVI1 fusion transcripts. *Haematologica*. 2003;88(11):1221–8.
- Poppe B, Dastugue N, Vandesompele J, et al. EVI1 is consistently expressed as principal transcript in common and rare recurrent 3q26 rearrangements. *Genes Chromos Cancer*. 2006;45(4):349–56. doi: 10.1002/gcc.20295.
- De Braekeleer M, Le Bris MJ, De Braekeleer E, et al. 3q26/EVI1 rearrangements in myeloid hemopathies: a cytogenetic review. *Fut Oncol*. 2015;11(11):1675–86. doi: 10.2217/fon.15.64.
- Mamaev NN, Gindina TL, Morozova EV, et al. Primary myelodysplastic syndrome with two rare recurrent chromosome abnormalities [t(3q26;2;q22 and trisomy 13] associated with resistance to chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation. *Cell Ther Transplant*. 2018;7(2):64–9. doi: 10.18620/ctt-1866-8836-2018-7-2-64-69.
- Hodge JC, Bosler D, Rubinstein L, et al. Molecular and pathologic characterization of AML with double inv(3)(q21q26.2). *Cancer Genet*. 2019;230:28–36. doi: 10.1016/j.cancergen.2018.08.007.
- Testoni N, Borsaru G, Martinelli G, et al. 3q21 and 3q26 cytogenetic abnormalities in acute myeloblastic leukemia: biological and clinical features. *Haematologica*. 1999;84(8):690–4.
- Russell M, List A, Greenberg P, et al. Expression of EVI1 in myelodysplastic syndromes and other hematologic malignancies without 3q26 translocations. *Blood*. 1994;84(4):1243–8. doi: 10.1182/blood.V84.4.1243.1243.
- Groschel S, Schlenk RF, Engelmann J, et al. Deregulated expression of EVI1 defines a poor prognostic subset of MLL-rearranged acute myeloid leukemias: a study of the German-Austrian Acute Myeloid Leukemia Study Group and the Dutch-Belgian-Swiss HOVON/SAKK Cooperative Group. *J Clin Oncol*. 2013;31(1):95–103. doi: 10.1200/JCO.2011.41.5505.
- Ho PA, Alonzo TA, Gerbing RB, et al. High EVI1 expression is associated with MLL rearrangements and predicts decreased survival in paediatric acute myeloid leukaemia: a report from the children's oncology group. *Br J Haematol*. 2013;162(5):670–7. doi: 10.1111/bjh.12444.
- Zhang Y, Owens K, Hatem L, et al. Essential role of PR-domain protein MDS1-EVI1 in MLL-AF9 leukemia. *Blood*. 2013;122(16):2888–92. doi: 10.1182/blood-2012-08-453662.
- Mucenski ML, Taylor BA, Ihle JN, et al. Identification of a common ecotropic viral integration site, Evi-1, in the DNA of AKXD murine myeloid tumors. *Mol Cell Biol*. 1988;8(1):301–8. doi: 10.1128/mcb.8.1.301.
- Goyama S, Kurokawa M. Pathogenetic significance of ecotropic viral integration site-1 in hematological malignancies. *Cancer Sci*. 2009;100(6):990–5. doi: 10.1111/j.1349-7006.2009.01152.x.
- Hinai AA, Valk PJ. Review: Aberrant EVI1 expression in acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2016;172(6):870–8. doi: 10.1111/bjh.13898.
- Yuan X, Wang X, Bi K, Jiang G. The role of EVI-1 in normal hematopoiesis and myeloid malignancies (Review). *Int J Oncol*. 2015;47(6):2028–36. doi: 10.3892/ijo.2015.3207.
- Delwel R, Funabiki T, Kreider BL, et al. Four of the seven zinc fingers of the Evi-1 myeloid-transforming gene are required for sequence-specific binding to GAC(T)AAGA(T/C)AAGATAA. *Mol Cell Biol*. 1993;13(7):4291–300. doi: 10.1128/mcb.13.7.4291.
- Funabiki T, Kreider BL, Ihle JN. The carboxyl domain of zinc fingers of the Evi-1 myeloid transforming gene binds a consensus sequence of GAAGATGAG. *Oncogene*. 1994;9(6):1575–81.
- Morishita K, Suzukawa K, Taki T, et al. EVI-1 zinc finger protein works as a transcriptional activator via binding to a consensus sequence of GACAAGATA-AGATAAN1-28 CTCATCTTC. *Oncogene*. 1995;10(10):1961–7.
- Perkins AS, Kim JH. Zinc fingers 1–7 of EVI1 fail to bind to the GATA motif by itself but require the core site GACAAGATA for binding. *J Biol Chem*. 1996;271(2):1104–10. doi: 10.1074/jbc.271.2.1104.
- Bartholomew C, Kilbey A, Clark AM, Walker M. The Evi-1 proto-oncogene encodes a transcriptional repressor activity associated with transformation. *Oncogene*. 1997;14(5):569–77. doi: 10.1038/sj.onc.1200864.
- Kilbey A, Bartholomew C. Evi-1 ZF1 DNA binding activity and a second distinct transcriptional repressor region are both required for optimal transformation of Rat1 fibroblasts. *Oncogene*. 1998;16(17):2287–91. doi: 10.1038/sj.onc.1201732.
- Bordereaux D, Fichelson S, Tambourin P, Gisselbrecht S. Alternative splicing of the Evi-1 zinc finger gene generates mRNAs which differ by the number of zinc finger motifs. *Oncogene*. 1990;5(6):925–7.
- Alzuherri H, McGilvray R, Kilbey A, Bartholomew C. Conservation and expression of a novel alternatively spliced Evi1 exon. *Gene*. 2006;384:154–62. doi: 10.1016/j.gene.2006.07.027.
- Fears S, Mathieu C, Zeleznik-Le N, et al. Intergenic splicing of MDS1 and EVI1 occurs in normal tissues as well as in myeloid leukemia and produces a new member of the PR domain family. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93(4):1642–7. doi: 10.1073/pnas.93.4.1642.
- Huang S, Shao G, Liu L. The PR domain of the Rb-binding zinc finger protein RIZ1 is a protein binding interface and is related to the SET domain functioning in chromatin-mediated gene expression. *J Biol Chem*. 1998;273(26):15933–9. doi: 10.1074/jbc.273.26.15933.
- Goyama S, Yamamoto G, Shimabe M, et al. Evi-1 is a critical regulator for hematopoietic stem cells and transformed leukemic cells. *Cell Stem Cell*. 2008;3(2):207–20. doi: 10.1016/j.stem.2008.06.002.
- Laricchia-Robbio L, Nucifora G. Significant increase of self-renewal in hematopoietic cells after forced expression of EVI1. *Blood Cells Mol Dis*. 2008;40(2):141–7. doi: 10.1016/j.bcmd.2007.07.012.
- Yoshimi A, Kurokawa M. Evi1 forms a bridge between the epigenetic machinery and signaling pathways. *Oncotarget*. 2011;2(7):575–86. doi: 10.18632/oncotarget.304.
- Buonamici S, Li D, Chi Y, et al. EVI1 induces myelodysplastic syndrome in mice. *J Clin Invest*. 2005;115(8):2296. doi: 10.1172/jci21716c1.
- Cuenca GM, Ren R. Both AML1 and EVI1 oncogenic components are required for the cooperation of AML1/MDS1/EVI1 with BCR/ABL in the induction of acute myelogenous leukemia in mice. *Oncogene*. 2004;23(2):569–79. doi: 10.1038/sj.onc.1207143.
- Glass C, Wilson M, Gonzalez R, et al. The role of EVI1 in myeloid malignancies. *Blood Cells Mol Dis*. 2014;53(1–2):67–76. doi: 10.1016/j.bcmd.2014.01.002.
- Jin G, Yamazaki Y, Takuwa M, et al. Trib1 and Evi1 cooperate with Hoxa and Meis1 in myeloid leukemogenesis. *Blood*. 2007;109(9):3998–4005. doi: 10.1182/blood-2006-08-041202.
- Krivtsov AV, Twomey D, Feng Z, et al. Transformation from committed progenitor to leukaemia stem cell initiated by MLL-AF9. *Nature*. 2006;442(7104):818–22. doi: 10.1038/nature04980.

43. Bindels EM, Havermans M, Lugthart S, et al. EVI1 is critical for the pathogenesis of a subset of MLL-AF9-rearranged AMLs. *Blood*. 2012;119(24):5838–49. doi: 10.1182/blood-2011-11-393827.
44. Glass C, Wuertzer C, Cui X, et al. Global Identification of EVI1 Target Genes in Acute Myeloid Leukemia. *PLoS One*. 2013;8(6):e67134. doi: 10.1371/journal.pone.0067134.
45. Hoyt PR, Bartholomew C, Davis AJ, et al. The *Evi1* proto-oncogene is required at midgestation for neural, heart, and paraxial mesenchyme development. *Mech Dev*. 1997;65(1–2):55–70. doi: 10.1016/s0925-4773(97)00057-9.
46. Nucifora G. The EVI1 gene in myeloid leukemia. *Leukemia*. 1997;11(12):2022–31. doi: 10.1038/sj.leu.2400880.
47. Kataoka K, Sato T, Yoshimi A, et al. *Evi1* is essential for hematopoietic stem cell self-renewal, and its expression marks hematopoietic cells with long-term multilineage repopulating activity. *J Exp Med*. 2011;208(12):2403–16. doi: 10.1084/jem.20110447.
48. Zhang Y, Stehling-Sun S, Lezon-Geyda K, et al. PR-domain-containing *Mds1-Evi1* is critical for long-term hematopoietic stem cell function. *Blood*. 2011;118(14):3853–61. doi: 10.1182/blood-2011-02-334680.
49. Steinleitner K, Rampetsreiter P, Koffel R, et al. EVI1 and MDS1/EVI1 expression during primary human hematopoietic progenitor cell differentiation into various myeloid lineages. *Anticancer Res*. 2012;32(11):4883–9.
50. Wieser R. The oncogene and developmental regulator EVI1: expression, biochemical properties, and biological functions. *Gene*. 2007;396(2):346–57. doi: 10.1016/j.gene.2007.04.012.
51. Xi ZF, Russell M, Woodward S, et al. Expression of the Zn finger gene, *EVI-1*, in acute promyelocytic leukemia. *Leukemia*. 1997;11(2):212–20. doi: 10.1038/sj.leu.2400547.
52. Aytekin M, Vinatzer U, Musteanu M, et al. Regulation of the expression of the oncogene EVI1 through the use of alternative mRNA 5'-ends. *Gene*. 2005;356:160–8. doi: 10.1016/j.gene.2005.04.032.
53. Niederreither K, Subbarayan Y, Dolle P, et al. Embryonic retinoic acid synthesis is essential for early mouse post-implantation development. *Nat Genet*. 1999;21(4):444–8. doi: 10.1038/7788.
54. Valk PJ, Verhaak RG, Beijnen MA, et al. Prognostically useful gene-expression profiles in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2004;350(16):1617–28. doi: 10.1056/NEJMoa040465.
55. Morishita K, Parganas E, William CL, et al. Activation of EVI1 gene expression in human acute myelogenous leukemias by translocations spanning 300–400 kilobases on chromosome band 3q26. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89(9):3937–41. doi: 10.1073/pnas.89.9.3937.
56. Ogawa S, Mitani K, Kurokawa M, et al. Abnormal expression of *Evi-1* gene in human leukemias. *Hum Cell*. 1996;9(4):323–32.
57. Lugthart S, Groschel S, Beverloo HB, et al. Clinical, molecular, and prognostic significance of WHO type inv(3)(q21;q26.2)/t(3;3)(q21;q26.2) and various other 3q abnormalities in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2010;28(24):3890–8. doi: 10.1200/JCO.2010.29.2771.
58. Groschel S, Sanders MA, Hoogenboezem R, et al. Mutational spectrum of myeloid malignancies with inv(3)/t(3;3) reveals a predominant involvement of RAS/RTK signaling pathways. *Blood*. 2015;125(1):133–9. doi: 10.1182/blood-2014-07-591461.
59. Langabeer SE, Rogers JR, Harrison G, et al. EVI1 expression in acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2001;112(1):208–11. doi: 10.1046/j.1365-2141.2001.02569.x.
60. Balgobind BV, Lugthart S, Hollink IH, et al. EVI1 overexpression in distinct subtypes of pediatric acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2010;24(5):942–9. doi: 10.1038/leu.2010.47.
61. Matsuo H, Kajihara M, Tomizawa D, et al. EVI1 overexpression is a poor prognostic factor in pediatric patients with mixed lineage leukemia-AF9 rearranged acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2014;99(11):e225–e227. doi: 10.3324/haematol.2014.107128.
62. Testa U, Lo-Coco F. Targeting of leukemia-initiating cells in acute promyelocytic leukemia. *Stem Cell Invest*. 2015;2:8. doi: 10.3978/j.issn.2306-9759.2015.04.03.
63. Jo A, Mitani S, Shiba N, et al. High expression of EVI1 and MEL1 is a compelling poor prognostic marker of pediatric AML. *Leukemia*. 2015;29(5):1076–83. doi: 10.1038/leu.2015.5.
64. Sadeghian MH, Rezaei Dezaki Z. Prognostic Value of EVI1 Expression in Pediatric Acute Myeloid Leukemia: A Systematic Review. *Iran J Pathol*. 2018;13(3):294–300.
65. Arai S, Yoshimi A, Shimabe M, et al. *Evi-1* is a transcriptional target of mixed-lineage leukemia oncoproteins in hematopoietic stem cells. *Blood*. 2011;117(23):6304–14. doi: 10.1182/blood-2009-07-234310.
66. De Weer A, Van der Meulen J, Rondou P, et al. EVI1-mediated down regulation of MIR449A is essential for the survival of EVI1 positive leukaemic cells. *Br J Haematol*. 2011;154(3):337–48. doi: 10.1111/j.1365-2141.2011.08737.x.
67. Yamazaki H, Suzuki M, Otsuki A, et al. A remote GATA2 hematopoietic enhancer drives leukemogenesis in inv(3)(q21;q26) by activating EVI1 expression. *Cancer Cell*. 2014;25(4):415–27. doi: 10.1016/j.ccr.2014.02.008.
68. Groschel S, Sanders MA, Hoogenboezem R, et al. A single oncogenic enhancer rearrangement causes concomitant EVI1 and GATA2 deregulation in leukemia. *Cell*. 2014;157(2):369–81. doi: 10.1016/j.cell.2014.02.019.
69. Lugthart S, Figueroa ME, Bindels E, et al. Aberrant DNA hypermethylation signature in acute myeloid leukemia directed by EVI1. *Blood*. 2011;117(1):234–41. doi: 10.1182/blood-2010-04-281337.
70. Bartholomew C, Morishita K, Askew D, et al. Retroviral insertions in the CB-1/Fim-3 common site of integration activate expression of the *Evi-1* gene. *Oncogene*. 1989;4(5):529–34.
71. Kreider BL, Orkin SH, Ihle JN. Loss of erythropoietin responsiveness in erythroid progenitors due to expression of the *Evi-1* myeloid-transforming gene. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993;90(14):6454–8. doi: 10.1073/pnas.90.14.6454.
72. Kataoka K, Kurokawa M. Ecotropic viral integration site 1, stem cell self-renewal and leukemogenesis. *Cancer Sci*. 2012;103(8):1371–7. doi: 10.1111/j.1349-7006.2012.02303.x.
73. Soderholm J, Kobayashi H, Mathieu C, et al. The leukemia-associated gene MDS1/EVI1 is a new type of GATA-binding transactivator. *Leukemia*. 1997;11(3):352–8. doi: 10.1038/sj.leu.2400584.
74. Laricchia-Robbio L, Fazzina R, Li D, et al. Point mutations in two EVI1 Zn fingers abolish EVI1-GATA1 interaction and allow erythroid differentiation of murine bone marrow cells. *Mol Cell Biol*. 2006;26(20):7658–66. doi: 10.1128/MCB.00363-06.
75. Seryuk V, Sinha KK, Li D, et al. Repression of RUNX1 activity by EVI1: a new role of EVI1 in leukemogenesis. *Cancer Res*. 2007;67(12):5658–66. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3962.
76. Laricchia-Robbio L, Premanand K, Rinaldi CR, Nucifora G. EVI1 impairs myelopoiesis by deregulation of PU1 function. *Cancer Res*. 2009;69(4):1633–42. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2562.
77. Steinmetz B, Hackl H, Slabakova E, et al. The oncogene EVI1 enhances transcriptional and biological responses of human myeloid cells to all-trans retinoic acid. *Cell Cycle*. 2014;13(18):2931–43. doi: 10.4161/15384101.2014.946869.
78. Yuasa H, Oike Y, Iwama A, et al. Oncogenic transcription factor *Evi1* regulates hematopoietic stem cell proliferation through GATA-2 expression. *EMBO J*. 2005;24(11):1976–87. doi: 10.1038/sj.emboj.7600679.
79. Shimada M, Goyama S, Watanabe-Okochi N, et al. *Pbx1* is a downstream target of *Evi-1* in hematopoietic stem/progenitors and leukemic cells. *Oncogene*. 2009;28(49):4364–74. doi: 10.1038/onc.2009.288.
80. Kurokawa M, Mitani K, Irie K, et al. The oncoprotein *Evi-1* represses TGF-beta signalling by inhibiting Smad3. *Nature*. 1998;394(6688):92–6. doi: 10.1038/27945.
81. Izutsu K, Kurokawa M, Imai Y, et al. The corepressor CtBP interacts with *Evi-1* to repress transforming growth factor beta signaling. *Blood*. 2001;97(9):2815–22. doi: 10.1182/blood.v97.9.2815.
82. Kurokawa M, Mitani K, Yamagata T, et al. The *evi-1* oncoprotein inhibits c-Jun N-terminal kinase and prevents stress-induced cell death. *EMBO J*. 2000;19(12):2958–68. doi: 10.1093/emboj/19.12.2958.
83. Buonamici S, Li D, Mikhail FM, et al. EVI1 abrogates interferon-alpha response by selectively blocking PML induction. *J Biol Chem*. 2004;280(1):428–36. doi: 10.1074/jbc.M410836200.
84. Pradhan AK, Mohapatra AD, Nayak KB, Chakraborty S. Acetylation of the proto-oncogene EVI1 abrogates Bcl-xL promoter binding and induces apoptosis. *PLoS One*. 2011;6(9):e25370. doi: 10.1371/journal.pone.0025370.
85. Yatsula B, Lin S, Read AJ, et al. Identification of binding sites of EVI1 in mammalian cells. *J Biol Chem*. 2005;280(35):30712–22. doi: 10.1074/jbc.M504293200.
86. Ernst T, Chase AJ, Score J, et al. Inactivating mutations of the histone methyltransferase gene *EZH2* in myeloid disorders. *Nat Genet*. 2010;42(8):722–6. doi: 10.1038/ng.621.
87. Figueroa ME, Lugthart S, Li Y, et al. DNA methylation signatures identify biologically distinct subtypes in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell*. 2010;17(1):13–27. doi: 10.1016/j.ccr.2009.11.020.
88. Wagner JM, Hackanson B, Lubbert M, Jung M. Histone deacetylase (HDAC) inhibitors in recent clinical trials for cancer therapy. *Clin Epigenet*. 2010;1(3–4):117–36. doi: 10.1007/s13148-010-0012-4.
89. Seryuk V, Zhang Y, Liu Y, et al. Critical role of miR-9 in myelopoiesis and EVI1-induced leukemogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013;110(14):5594–9. doi: 10.1073/pnas.1302645110.
90. Nikoloski G, Langemeijer SM, Kuiper RP, et al. Somatic mutations of the histone methyltransferase gene *EZH2* in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet*. 2010;42(8):665–7. doi: 10.1038/ng.620.
91. Makishima H, Jankowska AM, Tiu RV, et al. Novel homo- and hemizygous mutations in *EZH2* in myeloid malignancies. *Leukemia*. 2010;24(10):1799–804. doi: 10.1038/leu.2010.167.
92. Ley TJ, Ding L, Walter MJ, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2010;363(25):2424–33. doi: 10.1056/NEJMoa1005143.
93. Walter MJ, Ding L, Shen D, et al. Recurrent DNMT3A mutations in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2011;25(7):1153–8. doi: 10.1038/leu.2011.44.
94. Delhommeau F, Dupont S, Della Valle V, et al. Mutation in TET2 in myeloid cancers. *N Engl J Med*. 2009;360(22):2289–301. doi: 10.1056/NEJMoa0810069.
95. Langemeijer SM, Kuiper RP, Berends M, et al. Acquired mutations in TET2 are common in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet*. 2009;41(7):838–42. doi: 10.1038/ng.391.
96. Gelsi-Boyer V, Trouplin V, Adelaide J, et al. Mutations of polycomb-associated gene *ASXL1* in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2009;145(6):788–800. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07697.x.
97. van Haften G, Dalgliesh GL, Davies H, et al. Somatic mutations of the histone H3K27 demethylase gene *UTX* in human cancer. *Nat Genet*. 2009;41(5):521–3. doi: 10.1038/ng.349.
98. Liu Y, Chen L, Ko TC, et al. *Evi1* is a survival factor which conveys resistance to both TGF-beta- and taxol-mediated cell death via PI3K/AKT. *Oncogene*. 2006;25(25):3565–75. doi: 10.1038/sj.onc.1209403.

99. Yoshimi A, Goyama S, Watanabe-Okochi N, et al. Evi1 represses PTEN expression and activates PI3K/AKT/mTOR via interactions with polycomb proteins. *Blood*. 2011;117(13):3617–28. doi: 10.1182/blood-2009-12-261602.
100. Bingemann SC, Konrad TA, Wieser R. Zinc finger transcription factor ecotropic viral integration site 1 is induced by all-trans retinoic acid (ATRA) and acts as a dual modulator of the ATRA response. *FEBS J*. 2009;276(22):6810–22. doi: 10.1111/j.1742-4658.2009.07398.x.
101. Paubelle E, Plesa A, Hayette S, et al. Efficacy of All-Trans-Retinoic Acid in high-risk acute myeloid leukemia with overexpression of EVI1. *Oncol Ther*. 2019;7(2):121–30. doi: 10.1007/s40487-019-0095-9.
102. Vazquez I, Maicas M, Cervera J, et al. Down-regulation of EVI1 is associated with epigenetic alterations and good prognosis in patients with acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2011;96(10):1448–56. doi: 10.3324/haematol.2011.040535.
103. Daghistani M, Marin D, Khorashad JS, et al. EVI-1 oncogene expression predicts survival in chronic-phase CML patients resistant to imatinib treated with second-generation tyrosine kinase inhibitors. *Blood*. 2010;116(26):6014–7. doi: 10.1182/blood-2010-01-264234.
104. 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.
[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. doi: 10.21320/2500-2139-2020-13-1-75-88. (In Russ)]
105. Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature*. 1994;367(6464):645–8. doi: 10.1038/367645a0.
106. Matsushita H, Yahata T, Sheng Y, et al. Establishment of a humanized APL model via the transplantation of PML-RARA-transduced human common myeloid progenitors into immunodeficient mice. *PLoS One*. 2014;9(11):e111082. doi: 10.1371/journal.pone.0111082.
107. Cole CB, Verdoni AM, Ketkar S, et al. PML-RARA requires DNA methyltransferase 3A to initiate acute promyelocytic leukemia. *J Clin Invest*. 2016;126(1):85–98. doi: 10.1172/JCI82897.
108. 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;11(3):241–51. doi: 10.21320/2500-2139-2018-11-3-241-251.
[Gudzhnikova 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;11(3):241–51. doi: 10.21320/2500-2139-2018-11-3-241-251. (In Russ)]
109. Dreyfus F, Bouscary D, Melle J, et al. Expression of the Evi-1 gene in myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 1995;9(1):203–5. doi: 10.1016/0145-2126(94)90237-2.
110. Thol F, Yun H, Sonntag AK, et al. Prognostic significance of combined MN1, ERG, BAALC, and EVI1 (MEBE) expression in patients with myelodysplastic syndromes. *Ann Hematol*. 2012;91(8):1221–33. doi: 10.1007/s00277-012-1457-7.
111. Russell M, Thompson F, Spier C, Taetle R. Expression of the EVI1 gene in chronic myelogenous leukemia in blast crisis. *Leukemia*. 1993;7(10):1654–7.
112. Ogawa S, Kurokawa M, Tanaka T, et al. Increased Evi-1 expression is frequently observed in blastic crisis of chronic myelocytic leukemia. *Leukemia*. 1996;10(5):788–94.
113. Kuila N, Sahoo DP, Kumari M, et al. EVI1, BAALC and AME: prevalence of the secondary mutations in chronic and accelerated phases of chronic myeloid leukemia patients from eastern India. *Leuk Res*. 2009;33(4):594–6. doi: 10.1016/j.leukres.2008.07.018.
114. Горбунова А.В., Гиндина Т.Л., Морозова Е.В. и др. Влияние молекулярно-генетических и цитогенетических факторов на эффективность аллогенной трансплантации костного мозга у больных хроническим миелолейкозом. *Клиническая онкогематология*. 2013;6(4):445–50.
[Gorbunova AV, Gindina TL, Morozova EV, et al. Impact of molecular genetic and cytogenetic characteristics on outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in chronic myeloid leukemia. *Klinicheskaya oncogematologiya*. 2013;6(4):445–50. (In Russ)]
115. Sato T, Goyama S, Kataoka K, et al. Evi1 defines leukemia-initiating capacity and tyrosine kinase inhibitor resistance in chronic myeloid leukemia. *Oncogene*. 2014;33(42):5028–38. doi: 10.1038/onc.2014.108.
116. Konantz M, Andre MC, Ebinger M, et al. EVI-1 modulates leukemogenic potential and apoptosis sensitivity in human acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2013;27(1):56–65. doi: 10.1038/leu.2012.211.
117. Mittal N, Li L, Sheng Y, et al. A critical role of epigenetic inactivation of miR-9 in EVI1^{high} pediatric AML. *Mol Cancer*. 2019;18(1):30. doi: 10.1186/s12943-019-0952-z.
118. Verhagen HJ, Smit MA, Rutten A, et al. Primary acute myeloid leukemia cells with overexpression of EVI-1 are sensitive to all-trans retinoic acid. *Blood*. 2016;127(4):458–63. doi: 10.1182/blood-2015-07-653840.
119. Мамаев Н.Н., Горбунова А.В., Гиндина Т.Л. и др. Стойкое восстановление донорского гемопоэза у больной с посттрансплантационным рецидивом острого миелоидного лейкоза с inv(3)(q21q26), моносомией 7 и экспрессией онкогена EVI1 после трансфузий донорских лимфоцитов и использования гипометилирующих агентов. *Клиническая онкогематология*. 2014;7(1):71–5.
120. He X, Wang Q, Cen J, et al. Predictive value of high EVI1 expression in AML patients undergoing myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in first CR. *Bone Marrow Transplant*. 2016;51(7):921–7. doi: 10.1038/bmt.2016.71.
121. Мамаев Н.Н., Морозова Е.В., Горбунова А.В. Теоретические и клинические аспекты эпигенетических изменений при миелодиспластических синдромах и острых нелимфобластных лейкозах (обзор литературы). *Вестник гематологии*. 2011;7(3):12–21.
[Mamaev NN, Morozova EV, Gorbunova AV. Theoretical and practical aspects of epigenetic changes in myelodysplastic syndromes and acute non-lymphoblastic leukemias (literature review). *Vestnik gematologii*. 2011;7(3):12–21. (In Russ)]
122. Mamaev N, Morozova E, Gindina T, et al. Dacogen and allogeneic bone marrow transplantation in the treatment of high-risk myelodysplastic syndromes with non-random chromosome abnormalities. *Leuk Res*. 2011;35(Suppl 1):72–3. doi: 10.1016/S0145-2126(11)70186-2.
123. Mamaev N, Gorbunova A, Barkhatov I, et al. Biology and treatment of leukemia and myelodysplastic syndromes with high EVI-1 gene expression. *ELN Frontiers Meeting 2012 “Myeloid neoplasms: approaching cure”*. Istanbul, Turkey. Abstract No. 37.
124. Yang X, Wong MPM, Ng RK. Aberrant DNA Methylation in Acute Myeloid Leukemia and Its Clinical Implications. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18):4576. doi: 10.3390/ijms20184576.
125. Nowek K, Sun SM, Dijkstra MK, et al. Expression of a passenger miR-9* predicts favorable outcome in adults with acute myeloid leukemia less than 60 years of age. *Leukemia*. 2016;30(2):303–9. doi: 10.1038/leu.2015.282.
126. Li F, He W, Geng R, Xie X. Myeloid leukemia with high EVI1 expression is sensitive to 5-aza-2'-deoxycytidine by targeting miR-9. *Clin Transl Oncol*. 2020;22(1):137–43. doi: 10.1007/s12094-019-02121-y.
127. Cattaneo F, Nucifora G. EVI1 recruits the histone methyltransferase SUV39H1 for transcription repression. *J Cell Biochem*. 2008;105(2):344–52. doi: 10.1002/jcb.21869.
128. Craddock C, Quek L, Goardon N, et al. Azacitidine fails to eradicate leukemic stem/progenitor cell populations in patients with acute myeloid leukemia and myelodysplasia. *Leukemia*. 2013;27(5):1028–36. doi: 10.1038/leu.2012.312.
129. Trino S, Zoppoli P, Carella AM, et al. DNA methylation dynamic of bone marrow hematopoietic stem cells after allogeneic transplantation. *Stem Cell Res Ther*. 2019;10(1):138. doi: 10.1186/s13287-019-1245-6.
130. Ahn JS, Kim YK, Min YH, et al. Azacitidine Pre-Treatment Followed by Reduced-Intensity Stem Cell Transplantation in Patients with Higher-Risk Myelodysplastic Syndrome. *Acta Haematol*. 2015;134(1):40–8. doi: 10.1159/000368711.
131. Voso MT, Leone G, Picocchi A, et al. Feasibility of allogeneic stem-cell transplantation after azacitidine bridge in higher-risk myelodysplastic syndromes and low blast count acute myeloid leukemia: results of the BMT-AZA prospective study. *Ann Oncol*. 2017;28(7):1547–53. doi: 10.1093/annonc/mdx154.
132. Овечкина В.Н., Бондаренко С.Н., Морозова Е.В. и др. Роль терапии гипометилирующими препаратами перед аллогенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток при острых миелоидных лейкозах и миелодиспластическом синдроме. *Клиническая онкогематология*. 2017;10(3):351–7. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-351-357.
[Ovchikina VN, Bondarenko SN, Morozova EV, et al. The Role of Hypomethylating Agents Prior to Allogeneic Hematopoietic Stem Cells Transplantation in Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. *Clinical oncohematology*. 2017;10(3):351–7. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-351-357. (In Russ)]
133. Nishihori T, Perkins J, Mishra A, et al. Pretransplantation 5-azacitidine in high-risk myelodysplastic syndrome. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20(6):776–80. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.02.008.
134. de Lima M, Giral S, Thall PF, et al. Maintenance therapy with low-dose azacitidine after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for recurrent acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome: a dose and schedule finding study. *Cancer*. 2010;116(23):5420–31. doi: 10.1002/cncr.25500.
135. Craddock C, Jilani N, Siddique S, et al. Tolerability and Clinical Activity of Post-Transplantation Azacitidine in Patients Allografted for Acute Myeloid Leukemia Treated on the RICAZA Trial. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016;22(2):385–90. doi: 10.1016/j.bbmt.2015.09.004.
136. Marini C, Brissot E, Bazarbachi A, et al. Tolerability and Efficacy of Treatment With Azacitidine as Prophylactic or Preemptive Therapy for Myeloid Neoplasms After Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Clin Lymphoma Myel Leuk*. 2020;20(6):377–82. doi: 10.1016/j.clml.2019.10.011.
137. Бадаев Р.Ш., Заммеева Д.Б., Гиршова Л.Л. и др. Профилактическое применение азацитидина у пациентов с острыми миелоидными лейкозами после гаплоидентичной аллоТКМ. *Клиническая онкогематология*. 2019;12(1):37–42. doi: 10.21320/2500-2139-2019-12-1-37-42.
[Badaev RSh, Zammoeva DB, Girshova LL, et al. Preventive Use of Azacitidine in Patients with Acute Myeloid Leukemia after Haploidentical Allo-BMT. *Clinical oncohematology*. 2019;12(1):37–42. doi: 10.21320/2500-2139-2019-12-1-37-42. (In Russ)]
138. Cattaneo F, Nucifora G. EVI1 recruits the histone methyltransferase SUV39H1 for transcription repression. *J Cell Biochem*. 2008;105(2):344–52. doi: 10.1002/jcb.21869.

- 139.** Estey EH, Thall PF, Pierce S, et al. Randomized phase II study of fludarabine + cytosine arabinoside + idarubicin ± all-trans retinoic acid ± granulocyte colony-stimulating factor in poor prognosis newly diagnosed acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Blood*. 1999;93(8):2478–84. doi: 10.1182/blood.v93.8.2478.
- 140.** Schlenk RF, Frohling S, Hartmann F, et al. Phase III study of all-trans retinoic acid in previously untreated patients 61 years or older with acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2004;18(11):1798–803. doi: 10.1038/sj.leu.2403528.
- 141.** Raza A, Buonamici S, Lisak L, et al. Arsenic trioxide and thalidomide combination produces multi-lineage hematological responses in myelodysplastic syndromes patients, particularly in those with high pre-therapy EVI1 expression. *Leuk Res*. 2004;28(8):791–803. doi: 10.1016/j.leukres.2003.11.018.
- 142.** Burnett AK, Hills RK, Green C, et al. The impact on outcome of the addition of all-trans retinoic acid to intensive chemotherapy in younger patients with nonacute promyelocytic acute myeloid leukemia: overall results and results in genotypic subgroups defined by mutations in NPM1, FLT3, and CEBPA. *Blood*. 2010;115(5):948–56. doi: 10.1182/blood-2009-08-236588.
- 143.** van Gils N, Verhagen HJMP, Smit L. Reprogramming acute myeloid leukemia into sensitivity for retinoic-acid-driven differentiation. *Exp Hematol*. 2017;52:12–23. doi: 10.1016/j.exphem.2017.04.007.
- 144.** Plesa A, Dumontet C, Mattei E, et al. High frequency of CD34+CD38-/low immature leukemia cells is correlated with unfavorable prognosis in acute myeloid leukemia. *World J Stem Cells*. 2017;9(12):227–34. doi: 10.4252/wjsc.v9.i12.227.
- 145.** Nguyen CH, Bauer K, Hackl H, et al. All-trans retinoic acid enhances, and a pan-RAR antagonist counteracts, the stem cell promoting activity of EVI1 in acute myeloid leukemia. *Cell Death Dis*. 2019;10(12):944. doi: 10.1038/s41419-019-2172-2.
- 146.** Field T, Perkins J, Huang Y, et al. 5-Azacidine for myelodysplasia before allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2010;45(2):255–60. doi: 10.1038/bmt.2009.134.
- 147.** Kim DY, Lee JH, Park YH, et al. Feasibility of hypomethylating agents followed by allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with myelodysplastic syndrome. *Bone Marrow Transplant*. 2012;47(3):374–9. doi: 10.1038/bmt.2011.86.
- 148.** Jiang YZ, Su GP, Dai Y, et al. Effect of Decitabine Combined with Unrelated Cord Blood Transplantation in an Adult Patient with -7/EVI1+ Acute Myeloid Leukemia: a Case Report and Literature Review. *Ann Clin Lab Sci*. 2015;45(5):598–601.
- 149.** Schlenk RF, Lubbert M, Benner A, et al. All-trans retinoic acid as adjunct to intensive treatment in younger adult patients with acute myeloid leukemia: results of the randomized AMLSG 07-04 study. *Ann Hematol*. 2016;95(12):1931–42. doi: 10.1007/s00277-016-2810-z.
- 150.** Taussig DC, Vargaftig J, Miraki-Moud F, et al. Leukemia-initiating cells from some acute myeloid leukemia patients with mutated nucleophosmin reside in the CD34(-) fraction. *Blood*. 2010;115(10):1976–84. doi: 10.1182/blood-2009-02-206565.
- 151.** Patel S, Zhang Y, Cassinat B, et al. Successful xenografts of AML3 samples in immunodeficient NOD/shi-SCID IL2Rγ^{-/-} mice. *Leukemia*. 2012;26(11):2432–5. doi: 10.1038/leu.2012.154.

