

МИЕЛОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

Гиперэкспрессия гена *WT1* в дифференциальной диагностике Ph-негативных миелопролиферативных заболеваний

Е.Г. Ломаиа¹, Н.Т. Сиордия¹, Е.Г. Лисина²,
О.М. Сендерова³, А.А. Силютин¹, А.Ю. Зарицкий¹

¹ ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341

² ГБУЗ «Городская клиническая больница № 52 ДЗМ», ул. Пехотная, д. 3, Москва, Российская Федерация, 123182

³ ГБУЗ «Иркутская ордена «Знак Почета» областная клиническая больница», микрорайон Юбилейный, д. 100, Иркутск, Российская Федерация, 664049

РЕФЕРАТ

Цель. Оценить частоту гиперэкспрессии гена *WT1* и ее клиническое значение при Ph-негативных миелопролиферативных заболеваниях (МПЗ).

Материалы и методы. В исследование включено 72 пациента с Ph-негативными МПЗ. Среди них были больные с первичным миелофиброзом (МФ; $n = 32$), вторичным МФ после истинной полицитемии ($n = 7$), истинной полицитемией (ИП; $n = 17$) и эссенциальной тромбоцитемией (ЭТ; $n = 16$) с медианой возраста 57 лет (диапазон 19–78 лет). Медиана (диапазон) времени от постановки диагноза до даты исследования уровня экспрессии *WT1* при ИП, ЭТ и МФ составила 9,4 (0–309), 14,4 (0–55) и 21,4 мес. (0–271 мес.) соответственно. Оценка экспрессии гена *WT1* на 10^4 копий *ABL* проводилась методом количественной ПЦР.

Результаты. Гиперэкспрессия гена *WT1* выявлена исключительно у пациентов с МФ (у 34/39; 87 %). При ИП/ЭТ гиперэкспрессии гена *WT1* не отмечалось. Медиана уровня экспрессии гена *WT1* при МФ составила 230 копий/ 10^4 копий *ABL* (диапазон 42,2–9316,45/ 10^4 копий *ABL*). Чувствительность и специфичность гиперэкспрессии гена *WT1* при МФ по отношению к ИП/ЭТ составили 87 и 100 % соответственно. Выявлена четкая зависимость уровня экспрессии гена *WT1* от размера селезенки, длительности заболевания, числа бластных клеток в крови, группы риска по шкале DIPSS. На уровень экспрессии гена *WT1* не влияли пол и возраст пациентов, мутационный статус МФ, уровень лейкоцитов, тромбоцитов, гемоглобина.

Заключение. Представляется, что высокие специфичность и чувствительность уровня экспрессии гена *WT1* при МФ позволяют использовать данный маркер для дифференциальной диагностики Ph-негативных МПЗ. Не исключается связь уровня экспрессии гена *WT1* с объемом опухолевой массы при МФ. Целесообразно изучать динамику уровня экспрессии гена *WT1* для прогнозирования эффективности современной таргетной терапии.

MYELOID TUMORS

WT1 Gene Overexpression in Differential Diagnosis of Ph-negative Myeloproliferative Disorders

EG Lomaia¹, NT Siordiya¹, EG Lisina², OM Senderova³,
AA Silyutina¹, AYu Zaritsky¹

¹ VA Almazov National Medical Research Center, 2 Akkuratova str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197341

² Municipal Clinical Hospital No. 52, 3 Pekhotnaya str., Moscow, Russian Federation, 123182

³ Irkutsk Regional Clinical Hospital, 100 Yubileyni microdistrict, Irkutsk, Russian Federation, 664049

ABSTRACT

Aim. To assess the rate of *WT1* gene overexpression and its clinical value in Ph-negative myeloproliferative disorders (MPD).

Materials & Methods. The trial included 72 patients with Ph-negative MPD. Among them there were patients with primary myelofibrosis (MF; $n = 32$), post-polycythemia vera MF ($n = 7$), polycythemia vera (PV; $n = 17$), and essential thrombocythemia (ET; $n = 16$) with median age of 57 years (range 19–78 years). Median (range) time from diagnosis to the date of evaluating *WT1* expression in PV, ET, and MF was 9.4 (0–309), 14.4 (0–55), and 21.4 months (0–271 months), respectively. *WT1* expression in terms of *WT1* copies/ 10^4 *ABL* copies was measured by quantitative PCR.

Results. *WT1* gene overexpression is revealed solely in patients with MF (in 34/39; 87 %). In PV/ET no *WT1* gene overexpression was observed. Median *WT1* expression in MF was 230/ 10^4 *ABL* copies (range 42.2–9,316.45/ 10^4 *ABL* copies). Sensitivity and specificity of *WT1* gene overexpression in MF with respect to PV/ET were 87 % and 100 %, respectively. A distinct correlation was identified between *WT1* gene expression level and spleen size, duration of the disease, blast cell count, and DIPSS risk group. *WT1* gene expression level could be correlated neither with age and sex, nor with MF mutation status and leucocyte, thrombocyte, and haemoglobin levels.

Conclusion It appears that due to a high specificity and sensitivity of *WT1* gene expression in MF it can be used as a marker for differential diagnosis of Ph-negative MPD. A correlation between *WT1* gene expression and tumor mass in MF cannot be excluded. It is advisable to analyze the dynamics of *WT1* expression level to predict the efficacy of current targeted therapy.

Ключевые слова: ген *WT1*, Ph-негативные миелопролиферативные заболевания, миелофиброз, истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия.

Keywords: *WT1* gene, Ph-negative myeloproliferative disorders, myelofibrosis, polycythemia vera, essential thrombocythemia.

Получено: 27 декабря 2018 г.

Принято в печать: 2 июня 2019 г.

Received: December 27, 2018

Accepted: June 2, 2019

Для переписки: Надия Тамазовна Сиордия, ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341; тел.: +7(921)358-31-32; e-mail: siordian@list.ru

Для цитирования: Ломаиа Е.Г., Сиордия Н.Т., Лисина Е.Г. и др. Гиперэкспрессия гена *WT1* в дифференциальной диагностике Ph-негативных миелопролиферативных заболеваний. Клиническая онкогематология. 2019;12(3):297–302.

doi: 10.21320/2500-2139-2019-12-3-297-302

For correspondence: Nadiya Tamazovna Siordiya, 2 Akkuratova str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197341; Tel.: +7(921)358-31-32; e-mail: siordian@list.ru

For citation: Lomaia EG, Siordiya NT, Lisina EG, et al. *WT1* Gene Overexpression in Differential Diagnosis of Ph-Negative Myeloproliferative Disorders. Clinical oncohematology. 2019;12(3):297–302 (In Russ).

doi: 10.21320/2500-2139-2019-12-3-297-302

ВВЕДЕНИЕ

Ген *WT1* локализован на коротком плече хромосомы 11 (11p13) и кодирует транскрипционные факторы семейства цинк-пальцевых белков. Дикий тип данного гена или его мутантные формы могут регулировать транскрипцию генов *RARα*, *c-MYC*, *BCL-2*, *PDGF-A*, *CSF-1* и др. [1–5], играющих определенную роль в гемопоэзе. Известно, что в норме *WT1* экспрессируется в ранних предшественниках CD34+ и не обнаруживается в зрелых субпопуляциях гемопоэтических клеток [6, 7]. Мутации данного гена крайне редко выявляются при онкогематологических заболеваниях, тогда как доля пациентов с гиперэкспрессией гена *WT1* при острых миелобластных лейкозах (ОМЛ) и миелодиспластических синдромах (МДС) значительная [8–11]. Точная роль данного гена в патогенезе заболеваний крови не установлена. Предполагается, что *WT1* может влиять на пролиферативный потенциал лейкозных клеток, их жизнеспособность и выступать в роли онкогена при развитии гематологических опухолей [12]. Прогностическое значение исходного уровня гена *WT1* при ОМЛ четко не определено, при этом динамика уровня его экспрессии активно используется для оценки минимальной остаточной болезни и прогнозирования отдаленных результатов терапии [13–15]. Клиническое значение гиперэкспрессии гена *WT1* при других миелоидных опухолях, в т. ч. при Ph-негативных миелопролиферативных заболеваниях (МПЗ), активно изучается. Так, при МДС рост уровня экспрессии данного гена коррелирует с прогрессированием болезни и может быть предвестником трансформации в ОМЛ [16]. У пациентов с миелофиброзом (МФ) была показана связь уровня экспрессии гена *WT1* с опухолевой массой, а также с группами риска по шкалам Dupriez и IPSS (International Prognostic Scoring System) [17].

В нашем исследовании гиперэкспрессия гена *WT1* выявлялась у подавляющего большинства пациентов с первичным (ПМФ), вторичным после истинной полицитемии (пост-ИП МФ) или эссенциальной тромбоцитемии (пост-ЭТ МФ) миелофиброзом.

У пациентов с МФ, получающих терапию ингибитором *JAK1/2*-киназ руксолитинибом, уровень экспрессии *WT1* коррелировал с размером селезенки и числом бластных клеток в крови [18, 19].

Цель настоящего исследования — оценить частоту гиперэкспрессии гена *WT1* при всех классических Ph-негативных МПЗ (МФ, ИП, ЭТ), а также сопоставить уровень его экспрессии с клинико-лабораторными проявлениями заболеваний данной группы для выявления клинической значимости маркера.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 72 пациента: 33 (46 %) мужчины и 39 (54 %) женщин. Из них пациентов с диагнозом ИП, ЭТ и МФ было 17 (24 %), 16 (22 %) и 39 (54 %) соответственно. Среди пациентов с МФ большинство были с ПМФ — 32 (82 %) из 39. Пост-ИП МФ был у 7 (18 %) из 39 больных. Пациентов с пост-ЭТ МФ в целевой группе не было. В исследование включены только пациенты с Ph-негативными МПЗ, установленными в соответствии с критериями классификации ВОЗ 2008 г. Медиана возраста на момент включения в исследование в общей группе пациентов составила 57 лет (диапазон 19–78 лет). Существенных различий по возрасту в группах ИП (медиана 54 года, диапазон 21–78 лет), ЭТ (медиана 53 года, диапазон 19–73 года) и МФ (медиана 58 лет, диапазон 26–77 лет) не наблюдалось. Медиана времени от постановки диагноза до начала исследования была существенно выше в группе пациентов с МФ. Так, этот показатель в общей группе был 13,7 мес. (диапазон 0–309 мес.), а в группах ИП, ЭТ и МФ — 9,4 (диапазон 0–309 мес.), 14,4 (диапазон 0–55 мес.) и 21,4 мес. (диапазон 0–271 мес.) соответственно. Всем пациентам на момент первичного обращения по поводу МПЗ или позже с целью подтверждения диагноза проводилось исследование на мутации генов *JAK2*, *CALR* и *MPL*. Частота выявления мутаций данных генов приведена в табл. 1.

У всех пациентов уровень транскрипта гена *WT1* определяли в крови. С этой целью осуществляли забор крови в количестве 2,5 мл в пробирку ЭДТА-КЗ.

Оценка экспрессии гена *WT1* проводилась путем количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием стандартного набора Profilequant *WT1* kit (Ipsogen, Франция) на ПЦР-анализаторе Rotor-gene 6000. Результат выражался в нормализованном количестве копий *WT1* на 10^4 копий *ABL*. Не учитывался результат при концентрации гена нормализатора менее 10 000 копий *ABL* на реакцию. Согласно рекомендациям D. Cilloni и соавт., пороговый уровень *WT1* стандартизован и составляет $50/10^4$ копий *ABL* в крови [20]. В связи с этим как повышенный (гиперэкспрессия) определяли уровень экспрессии гена *WT1* > 50 копий/ 10^4 копий *ABL*.

При обработке данных были использованы методы описательной и сравнительной статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе исследования гиперэкспрессия гена *WT1* была выявлена у подавляющего большинства пациентов с МФ, тогда как у больных ИП и ЭТ этот показатель не превышал порогового значения. Медиана уровня экспрессии *WT1* также была статистически значимо выше в группе пациентов с МФ по сравнению с группами ИП и ЭТ. В последних группах данный показатель был в пределах нормальных значений и сравнимым для ИП и ЭТ ($p = 0,11$). При этом у 6 (86 %) из 7 пациентов с

пост-ИП МФ выявлялась гиперэкспрессия гена *WT1*, а медиана его уровня в этой группе была сравнимой с таковой в группе с ПМФ ($p = 0,56$). Так, медиана (диапазон) уровня *WT1* у пациентов с ПМФ и пост-ИП МФ была одинаковой и составила 230 (2,6–9316,45) и 230 (47,9–6869,88) копий/ 10^4 копий *ABL* соответственно. Частота гиперэкспрессии гена *WT1* и медиана его уровня у пациентов с ИП, ЭТ и МФ представлены в табл. 2. Чувствительность и специфичность гиперэкспрессии *WT1* при МФ по отношению к ИП и ЭТ были высокими и составили 87 и 100 % соответственно.

У пациентов с ПМФ проанализирован уровень экспрессии гена *WT1* в зависимости от мутационного статуса генов *JAK2* и *CALR*. Он был выше у больных с положительным мутационным статусом гена *CALR* по сравнению с пациентами с мутацией *JAK2V617F* и составил 611 (2,6–6000) и 164 (12,07–9316,45) копий/ 10^4 копий *ABL* соответственно. Однако статистически значимых различий не получено ($p < 0,5$). Эти данные у пациентов с мутацией *MPL* и тройным негативным статусом из-за малого числа наблюдений (1 и 3 пациента соответственно) не подвергались сравнительному анализу. Тем не менее следует отметить, что у всех пациентов с тройным негативным статусом отмечалась гиперэкспрессия гена *WT1* > 160 копий/ 10^4 копий *ABL*.

Мы также изучили зависимость уровня экспрессии гена *WT1* у пациентов с МФ от целого ряда других клинико-гематологических показателей, таких как пол, возраст, размер селезенки, число бластных клеток в крови, уровень гемоглобина, лейкоцитов, тромбоцитов, группа риска по модифицированной шкале DIPSS (Dynamic International Prognostic Scoring System), активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), длительность МПЗ до исследования. С этой целью мы разделили уровень *WT1* на: 1) нормальный (0–50), 2) высокий (> 50 –500) и 3) очень высокий (> 500 копий/ 10^4 копий *ABL*). Среди изученных факторов выявлено, что пол, возраст, уровень лейкоцитов, тромбоцитов, гемоглобина, ЛДГ на степень экспрессии гена *WT1* не влияли ($p > 0,5$). Статистически значимая разница получена в группах пациентов с различными длительностью болезни, размером селезенки, числом бластных клеток в крови, наличием неблагоприятной группы риска DIPSS ($p < 0,05$) (табл. 3).

Таблица 1. Частота мутаций генов *JAK2*, *CALR* и *MPL* у пациентов с Rh-негативными миелопролиферативными заболеваниями

Мутации, <i>n</i> (%)	МФ, <i>n</i> = 39				Всего, <i>n</i> = 72
	ИП, <i>n</i> = 17	ЭТ, <i>n</i> = 16	ПМФ, <i>n</i> = 32	Пост-ИП МФ, <i>n</i> = 7	
<i>JAK2V617F</i>	17 (100)	8 (50,0)	17(53,1)	7 (100)	49 (68,0)
<i>CALR</i>	0	8 (50,0)	11 (34,4)	0	19 (26,4)
<i>MPL</i>	0	0	1 (3,1)	0	1 (1,4)
Тройной негативный статус	0	0	3 (9,4)	0	3 (4,2)

ИП — истинная полицитемия; МФ — миелофиброз; ПМФ — первичный миелофиброз; пост-ИП МФ — миелофиброз после истинной полицитемии; ЭТ — эссенциальная тромбоцитемия.

Таблица 2. Уровень экспрессии гена *WT1* при Rh-негативных миелопролиферативных заболеваниях

Показатель	ИП, <i>n</i> = 17	ЭТ, <i>n</i> = 16	МФ, <i>n</i> = 39	<i>p</i>
Частота гиперэкспрессии гена <i>WT1</i> , <i>n</i> (%)	0	0	34 (87)	0,0004
Медиана (диапазон) копий гена <i>WT1/10^4</i> копий <i>ABL</i>	8,44 (0–34,8)	4,87 (0–36,12)	230 (2,6–9316,45)	0,0001

ИП — истинная полицитемия; МФ — миелофиброз; ЭТ — эссенциальная тромбоцитемия.

Таблица 3. Клинико-гематологические показатели, статистически значимо влияющие на уровень экспрессии гена *WT1* у пациентов с миелофиброзом

Показатель	Уровень экспрессии <i>WT1</i> , копии/ 10^4 копий <i>ABL</i>			Всего
	0–50 (<i>n</i> = 5)	> 50 –500 (<i>n</i> = 21)	> 500 (<i>n</i> = 13)	
Медиана (диапазон) времени от диагноза миелофиброза до исследования уровня <i>WT1</i> , мес.	3,6 (0–67)	21,4 (2–271)	37,5 (0–160)	21,4 (0–271)
Медиана (диапазон) спленомегалии из-под реберной дуги, см	7 (2–18)	9,5 (2–30)	17 (1–24)	9 (1–30)
Случаи спленомегалии > 10 см из-под реберной дуги, <i>n</i> (%)	1 (20)	9 (43)	9 (69)	19 (49)
Число бластных клеток в крови ≥ 1 %, <i>n</i> (%)	1 (20)	6 (29)	8 (62)	15 (38,5)
Пациенты промежуточной-2 и высокой групп риска, <i>n</i> (%)	1 (20)	9 (43)	8 (62)	18 (46)

В группе пациентов с числом бластных клеток в крови 1 % и более уровень экспрессии гена *WT1* был статистически значимо выше по сравнению с группой пациентов без бластных элементов в крови и составил 611 (45,8–9316,45) и 149 (2,6–6000) копий/10⁴ копий *ABL* соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

За последнее десятилетие сделан прорыв в изучении биологии Ph-негативных МПЗ. Выявлены молекулярно-генетические маркеры, играющие важную роль в патогенезе заболеваний данной группы. Мутации генов *JAK2*, *CALR*, *MPL* являются высокоспецифичными для классических Ph-негативных МПЗ. В то же время определить конкретное заболевание внутри этой группы с помощью перечисленных маркеров не представляется возможным. Так, мутация *JAK2V617F* встречается при всех Ph-негативных МПЗ данной группы, а мутации генов *CALR* и *MPL* выявляются как при ЭТ, так и при ПМФ [21–23]. При этом активно изучается влияние данных молекулярных маркеров на клиническое течение заболевания, его осложнений и их прогностическая роль [24–26]. У пациентов с ИП, ЭТ и ПМФ выявлены и другие молекулярно-генетические aberrации. Однако они также не являются строго специфичными, встречаются при многих миелоидных новообразованиях и, следовательно, не помогают в определении конкретной нозологической формы в пределах группы Ph-негативных МПЗ [27, 28]. На сегодня единственным способом подтверждения диагноза ПМФ, а также перехода ИП и ЭТ в миелофиброз является морфологическая оценка костного мозга.

Диагностика МПЗ — комплексная, включает трепанобиопсию костного мозга [29], которая является обязательным элементом для подтверждения диагноза МФ, ИП и ЭТ в соответствии с Российскими рекомендациями по ведению пациентов с МПЗ [30]. Процедура инвазивная и болезненная. В редких случаях возможны тяжелые осложнения [31], поэтому важен поиск малоинвазивных методов диагностики МФ. В этом контексте данные, полученные в ходе нашего исследования, представляются интересными.

Так, у подавляющего большинства пациентов с МФ (87 %) выявлялась гиперэкспрессия гена *WT1*, тогда как этот маркер был в пределах нормы у всех пациентов с ИП и ЭТ. Интересно, что только у 1 (14 %) из 7 пациентов с пост-ИП МФ экспрессия гена *WT1* была в пределах нормальных значений. Высокие специфичность и чувствительность данного теста позволяют разграничить МФ и другие Ph-негативные МПЗ, такие как ИП и ЭТ. Представляется, что данный тест может быть надежным методом дифференциальной диагностики между ПМФ и ИП/ЭТ. Вероятно, этот тест также может использоваться для диагностики трансформации ИП/ЭТ во вторичный МФ. Большинство пациентов (86 %) с пост-ИП-МФ имели высокий уровень экспрессии *WT1*. Однако утверждать последнее сложно из-за небольшого числа наблюдений со вторичным МФ. Следует также иметь в виду, что среди пациентов со вторичным МФ не было случаев с пост-ЭТ МФ. В данное исследование также не вклю-

чены пациенты с префибротической формой ПМФ, в связи с чем невозможно оценить диагностическую ценность определения уровня экспрессии гена *WT1* в этой группе пациентов.

В настоящей работе морфологическое исследование костного мозга выполнялось не одновременно с количественной оценкой уровня *WT1*, поэтому невозможно сопоставить степень фиброза костного мозга с уровнем экспрессии данного гена. Интересно, что в работе D. Gallo и соавт. динамика уровня экспрессии гена *WT1* на фоне терапии ингибитором *JAK1/2* руксолитинибом коррелировала с динамикой степени фиброза костного мозга [17].

Причины гиперэкспрессии гена *WT1* при МПЗ недостаточно изучены. Известно, что гиперэкспрессия гена *WT1* наблюдается в CD34+ гемопоэтических предшественниках здоровых доноров, так же как и в опухолевых клетках при некоторых лейкозах [32]. В исследованиях было показано, что количество клеток CD34+ в крови как при ПМФ, так и при вторичном пост-ЭТ и пост-ИП МФ было значимо выше, чем у здоровых людей [33, 34]. Колониеобразующая способность гемопоэтических предшественников при лейкозах, а также при МПЗ отличается [35]. Интересно, что в исследовании B. Arora и соавт. количество клеток CD34+ было выше нормы у 86 % пациентов с ПМФ [32], что сопоставимо с долей пациентов с гиперэкспрессией гена *WT1* в наших наблюдениях (87 %). Можно предположить, что при МФ уровень экспрессии *WT1* служит суррогатным маркером количества клеток CD34+.

В представленной работе, как и в работе D. Gallo и соавт. [17], не удалось выявить четкую корреляцию между уровнем экспрессии гена *WT1* и мутационным статусом гена *JAK2* или *CALR*. При этом в обоих исследованиях выявлена взаимосвязь между уровнем экспрессии *WT1* и рядом клинико-гематологических показателей. В нашей работе гиперэкспрессия гена *WT1* наблюдалась статистически значимо чаще у пациентов с длительным анамнезом (28,2 vs 3,6 мес.), массивной спленомегалией (53 vs 20 %), бластными клетками в крови (41 vs 20 %), а также с промежуточной-2 и высокой группами риска (50 vs 20 %).

В наблюдении D. Gallo и соавт. у 5 из 10 пациентов повышение экспрессии гена *WT1* отмечалось за несколько месяцев до трансформации в ОМЛ, еще в отсутствие других признаков прогрессирования болезни [17]. В ретроспективном исследовании P.A. Veeg и соавт. показано, что у всех 16 пациентов со вторичным ОМЛ после *JAK2V617F*-позитивного МПЗ в анамнезе наблюдалась гиперэкспрессия гена *WT1*. Однако оценка экспрессии *WT1* в дебюте заболевания или до момента трансформации не проводилась [23]. За время наблюдения только в 1 случае установлена трансформация болезни в ОМЛ. При этом как в хронической фазе МФ, так и после трансформации в ОМЛ уровень экспрессии гена *WT1* существенно не менялся. Вероятно, требуется больше данных для уточнения прогностического значения изучаемого маркера с точки зрения развития вторичного ОМЛ у пациентов с МПЗ. Представляется, однако, что уровень экспрессии гена *WT1* может отражать объем опухолевой массы при МФ.

Таргетная терапия ингибитором JAK1/2 руксолитинибом при МФ существенно увеличивает продолжительность жизни пациентов с неблагоприятным прогнозом и приводит к значительному улучшению статуса больного (уменьшение селезенки, исчезновение общих симптомов) [36, 37]. В исследовании Т.И. Ионовой и соавт. было подтверждено, что у пациентов с МФ препарат значительно улучшает качество жизни [38]. Однако доля больных МФ с первичной или вторичной неэффективностью руксолитиниба оказалась высокой [36, 39]. Важно найти молекулярные маркеры, позволяющие на ранних этапах оценить степень и темпы прогрессирования заболевания. Это даст возможность своевременно включить в план лечения пациентов трансплантацию аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. В этом контексте представляется целесообразным дальнейшее изучение роли гена *WT1* в прогнозировании течения заболевания и результатов современной терапии.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: Е.Г. Ломаиа, А.Ю. Зарицкий.
Сбор и обработка данных: Н.Т. Сиордия, Е.Г. Лисина.
Предоставление материалов исследования: Н.Т. Сиордия, Е.Г. Лисина, А.А. Силютин, О.М. Сендерова.
Анализ и интерпретация данных: Е.Г. Ломаиа, Н.Т. Сиордия.
Подготовка рукописи: Е.Г. Ломаиа, Н.Т. Сиордия.
Окончательное одобрение рукописи: А.Ю. Зарицкий.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Han Y, San-Marina S, Liu J, et al. Transcriptional activation of c-myc proto-oncogene by WT1 protein. *Oncogene*. 2004;23(41):6933–41. doi: 10.1038/sj.onc.1207609.
- Hewitt SM, Hamada S, McDonnell TJ, et al. Regulation of the proto-oncogenes bcl-2 and c-myc by the Wilms' tumor suppressor gene WT1. *Cancer Res*. 1995;55(22):5386–9.
- Jin DK, Kang SJ, Kim SJ, et al. Transcriptional regulation of PDGF-A and TGF-beta by +KTS WT1 deletion mutants and a mutant mimicking Denys-Drash syndrome. *Ren Fail*. 1999;21(6):685–94.
- Harrington MA, Konicek B, Song A, et al. Inhibition of colony-stimulating factor-1 promoter activity by the product of the Wilms' tumor locus. *J Biol Chem*. 1993;268(28):21271–5.
- Hu Q, Gao F, Tian W, et al. Wt1 ablation and Igf2 upregulation in mice result in Wilms tumors with elevated ERK1/2 phosphorylation. *J Clin Invest*. 2011;121(1):174–83. doi: 10.1172/JCI43772
- Maurer U, Brieger J, Weidmann E, et al. The Wilms' tumor gene is expressed in a subset of CD34+ progenitors and downregulated early in the course of differentiation in vitro. *Exp Hematol*. 1997;25(9):945–50.
- Baird PN, Simmons PJ. Expression of the Wilms' tumor gene (WT1) in normal hemopoiesis. *Exp Hematol*. 1997;25(4):312–20.
- King-Underwood L, Renshaw J, Pritchard-Jones K. Mutations in the Wilms' tumor gene WT1 in leukemias. *Blood*. 1996;87(6):2171–9.

9. Ho PA, Zeng R, Alonzo TA, et al. Prevalence and prognostic implications of WT1 mutations in pediatric acute myeloid leukemia (AML): a report from the Children's Oncology Group. *Blood*. 2010;116(5):702–10. doi: 10.1182/blood-2010-02-268953.

10. Tamaki H, Ogawa H, Ohyashiki K, et al. The Wilms' tumor gene WT1 is a good marker for diagnosis of disease progression of myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 1999;13(3):393–9. doi: 10.1038/sj.leu.2401341.

11. Miwa H, Beran M, Saunders GF. Expression of the Wilms' tumor gene (WT1) in human leukemias. *Leukemia*. 1992;6(5):405–9.

12. Alberta JA, Springett GM, Rayburn H, et al. Role of the WT1 tumor suppressor in murine hematopoiesis. *Blood*. 2003;101(7):2570–4. doi: 10.1182/blood-2002-06-1656.

13. Гиршова Л.Л., Будаева И.Г., Овсянникова Е.Г. и др. Прогностическое значение и корреляция динамики гиперэкспрессии гена WT1 и мутации гена NPM1 у пациентов с острым миелобластным лейкозом. *Клиническая онкогематология*. 2017;10(4):485–93. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-4-485-493.

[Girshova LL, Budaeva IG, Ovsyannikova EG, et al. Prognostic Value and Correlation Between WT1 Overexpression and NPM1 Mutation in Patients with Acute Myeloblastic Leukemia. *Clinical oncohematology*. 2017;10(4):485–93. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-4-485-493. (In Russ)]

14. Мамаев Н.Н., Гудожникова Я.В., Горбунова А.В. Гиперэкспрессия гена WT1 при злокачественных опухолях системы крови: теоретические и клинические аспекты (обзор литературы). *Клиническая онкогематология*. 2016;9(3):257–64. doi: 10.21320/2500-2139-2016-9-3-257-264.

[Mamaev NN, Gudozhnikova YaV, Gorbunova AV. WT1 Gene Overexpression in Oncohematological Disorders: Theoretical and Clinical Aspects (Literature Review). *Clinical oncohematology*. 2016;9(3):257–64. doi: 10.21320/2500-2139-2016-9-3-257-264. (In Russ)]

15. Будаева И.Г., Гиршова Л.Л., Кузин С.О. и др. Прогностическое значение уровня гена WT1 у больных острыми миелоидными лейкозами с изолированной мутацией NPM1 и мутацией NPM1 с дополнительными молекулярными маркерами. *Клиническая онкогематология*. 2017;10(4):530–1.

[Budaeva IG, Girshova LL, Kuzin SO, et al. Prognostic Value of WT1 Gene Level in Patients with Acute Myeloid Leukemia with Isolated NPM1 and NPM1 Mutation with Additional Molecular Markers. *Clinical oncohematology*. 2017;10(4):530–1. (In Russ)]

16. Tamura H, Dan K, Yokose N, et al. Prognostic significance of WT1 mRNA and anti-WT1 antibody levels in peripheral blood in patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk Res*. 2010;34(8):986–90. doi: 10.1016/j.leukres.2009.11.029.

17. Gallo D, Nicoli P, Calabrese C, et al. The Wilms' tumor (WT1) gene expression correlates with the International Prognostic Scoring System (IPSS) score in patients with myelofibrosis and it is a marker of response to therapy. *Cancer Medicine*. 2016;5(7):1650–3. doi: 10.1002/cam4.735.

18. Siordiya N, Lisina E, Butylin P, et al. Incidence of Elevated Expression of wt1 in Primary Myelofibrosis (pmf) and Postpv-, Postet Myelofibrosis and Its Dynamics during Ruxolitinib Treatment. *Blood*. 2016;128:5498.

19. Сиордия Н.Т., Булычева Е.Н., Холопова И.В. Частота встречаемости гиперэкспрессии WT1 у пациентов с миелоидными неоплазиями. *Бюллетень Федерального Центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова*. 2012;6(17):116–20.

[Siordiya NT, Bulycheva EN, Kholopova IV. WT1 overexpression rate in patients with myeloid neoplasm. *Byulleten' Federal'nogo Tsentra serdtsa, krovi i endokrinologii im. V.A. Almazova*. 2012;6(17):116–20. (In Russ)]

20. 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 Leukemia Net study. *J Clin Oncol*. 2009;27(31):5195–201. doi: 10.1200/jco.2009.22.4865.

21. Vizmanos JL, Ormazabal C, Larrayoz MJ, et al. JAK2 V617F mutation in classic chronic myeloproliferative diseases: a report on a series of 349 patients. *Leukemia*. 2006;20(3):534–5. doi: 10.1038/sj.leu.2404086.

22. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, et al. Somatic CALR Mutations in Myeloproliferative Neoplasms with Nonmutated JAK2 *N Engl J Med*. 2013;369(25):2391–405. doi: 10.1056/NEJMoa1312542.

23. Beer PA, Campbell PJ, Scott LM, et al. MPL mutations in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. *Blood*. 2008;112(1):141–9. doi: 10.1182/blood-2008-01-131664.

24. Меликян А.А., Суборцева И.Н., Судариков А.Б. и др. Клинические особенности эссенциальной тромбоцитемии и первичного миелофиброза в зависимости от молекулярных характеристик заболевания. *Терапевтический архив*. 2017;89(7):4–9. doi: 10.17116/terarkh20178974-9.

[Melikyan AL, Subortseva IN, Sudarikov AB, et al. Clinical features of essential thrombocythemia and primary myelofibrosis, depending on the molecular characteristics of disease. *Terapevticheskii arkhiv*. 2017;89(7):4–9. doi: 10.17116/terarkh20178974-9. (In Russ)]

25. Жернякова А.А., Мартынкевич И.С., Шуваев В.А. и др. Молекулярно-генетические маркеры и особенности течения эссенциальной тромбоцитемии. *Клиническая онкогематология*. 2017;10(3):402–8. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-402-408.

[Zhernyakova AA, Martynkevich IS, Shuvaev VA, et al. Molecular Genetic Markers and Clinical Characteristics of Essential Thrombocythemia. *Clinical oncohematology*. 2017;10(3):402–8. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-402-408. (In Russ)]

26. Лисина Е.Г., Сиордия Н.Т., Бутылин П.А. и др. Клинико-лабораторные особенности эссенциального тромбоцитоза и первичного миелофиброза в зависимости от мутационного статуса генов JAK2 и CALR1. *Онкогематология*. 2017;12(3):8–16.

[Lisina EG, Siordiya NT, Butylin PA, et al. Clinical and laboratory features of essential thrombocytosis and primary myelofibrosis depending on JAK2 and CALR1 mutation status. *Onkogematologiya*. 2017;12(3):8–16. (In Russ)]

27. Delic S, Rose D, Kern W, et al. Application of an NGS-based 28-gene panel in myeloproliferative neoplasms reveals distinct mutation patterns in essential thrombocythaemia, primary myelofibrosis and polycythaemia vera. *Br J Haematol*. 2016;175(3):419–26. doi: 10.1111/bjh.14269.

28. Tefferi A. Novel mutations and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms: JAK2, MPL, TET2, ASXL1, CBL, IDH and IKZF1. *Leukemia*. 2010;24(6):1128–38. doi: 10.1038/leu.2010.69.

29. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391–405. doi: 10.1182/blood-2016-03-643544.

30. Меликян А.Л., Туркина А.Г., Ковригина А.М. и др. Клинические рекомендации по диагностике и терапии Рн-негативных миелопролиферативных заболеваний (истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз) (редакция 2016 г.). *Гематология и трансфузиология*. 2017;62(1, прил. 1):25–60.

[Melikyan AL, Turkina AG, Kovrigina AM, et al. Clinical recommendations for diagnosis and therapy of Ph-negative myeloproliferative disorders (polycythemia vera, essential thrombocythemia, primary myelofibrosis) (edition 2016). *Gematologiya i transfuziologiya*. 2017;62(1, Suppl 1):25–60. (In Russ)]

31. Bain BJ. Bone marrow biopsy morbidity: review of 2003. *J Clin Pathol*. 2005;58(4):406–8. doi: 10.1136/jcp.2004.022178.

32. Arora B, Sirhan S, Hoyer JD, et al. Peripheral blood CD34 count in myelofibrosis with myeloid metaplasia: a prospective evaluation of prognostic value in 94 patients. *Br J Haematol*. 2005;128(1):42–8. doi: 10.1111/j.1365-2141.2004.05290.x.

33. Barosi G, Viarengo G, Pecci A, et al. Diagnostic and clinical relevance of the number of circulating CD34+ cells in myelofibrosis with myeloidmetaplasia. *Blood*. 2001;98(12):3249–55. doi: 10.1182/blood.V98.12.3249.

34. Xu M, Bruno E, Chao J, et al. Constitutive mobilization of CD34+ cells into the peripheral blood in idiopathic myelofibrosis may be due to the action of a number of proteases. *Blood*. 2005;105(11):4508–15. doi: 10.1182/blood-2004-08-3238.

35. Забелина Т.С., Постриганева Т.И., Сайдали М.А. и др. Колониеобразующая способность клеток костного мозга и крови больных с различными формами лейкозов. *Терапевтический архив*. 1977;6:53–9.

[Zabelina TS, Postriganeva TI, Saidali MA, et al. Bone marrow and blood cell colony-forming ability in patients with different leukemia types. *Terapevticheskii arkhiv*. 1977;6:53–9. (In Russ)]

36. Harrison CN, Vannucchi AM, Kiladjan JJ, et al. Long-term findings from COMFORT-II, a phase 3 study of ruxolitinib vs best available therapy for myelofibrosis. *Leukemia*. 2016;30(8):1701–7. doi: 10.1038/leu.2016.148.

37. Verstovsek S, Gupta V, Jason R, et al. A Pooled Overall Survival (OS) Analysis of 5-Year Data from the COMFORT-I and COMFORT-II Trials of Ruxolitinib for the Treatment of Myelofibrosis (MF). *Blood*. 2016;128(22):3110.

38. Ионова Т.И., Анчукова Л.В., Виноградова О.Ю. и др. Качество жизни и спектр симптомов у больных миелофиброзом на фоне терапии: данные клинической практики. *Гематология и трансфузиология*. 2016;61(1):17–25.

[Ionova TI, Anchukova LV, Vinogradova OYu, et al. Quality of life and symptoms in patients with myelofibrosis during the treatment: Data of clinical practice. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2016;61(1):17–25. (In Russ)]

39. Foltz L, Palumbo GA, Martino B, et al. Safety and Efficacy of Ruxolitinib for the Final Enrollment of JUMP: An Open-Label, Multicenter, Single-Arm, Expanded-Access Study in Patients with Myelofibrosis (n=2233). *Blood*. 2016;128(22):3107.

