

## Аберрантное метилирование промоторных областей генов *SOX7*, *p15INK4b* и антагонистов сигнального пути Wnt у больных острыми миелоидными лейкозами

И.И. КОСТРОМА, С.В. ГРИЦАЕВ, Ж.Ю. СИДОРОВА, С.А. ТИРАНОВА, С.П. СВИТИНА, Ю.С. ДРИЖУН, Ж.В. ЧУБУКИНА, И.С. МАРТЫНКЕВИЧ, С.И. КАПУСТИН, С.С. БЕССМЕЛЬЦЕВ

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» ФМБА, Москва, Россия

### Резюме

**Цель исследования.** Изучение статуса метилирования генов *SOX7*, *p15INK4b* и антагонистов сигнального пути Wnt у больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) для оценки сопряженности частоты аберрантного метилирования (АМ) с морфологическим вариантом и характером хромосомных aberrаций, а также влияния статуса метилирования на выживаемость больных.

**Материалы и методы.** Проанализированы данные 57 больных ОМЛ в возрасте от 20 до 79 лет. Статус метилирования генов изучали посредством метилспецифической полимеразной цепной реакции.

**Результаты.** Признаки АМ $\geq$ 1 генов выявлены у 52 (91,2%) из 57 больных. Наиболее частой находкой было АМ 2 или 3 генов одновременно: у 29,8 и 21,1% больных соответственно. Одновременное метилирование 3—5 генов оказалось более частой находкой у больных ОМЛ с миелодисплазией — у 7 (70%) из 10. Доля больных с метилированием 5 генов значительно выше в группе с комплексным кариотипом: 50% против 8,3% среди других больных (отношение шансов 11,0 при 95% доверительном интервале от 2,0 до 61,6;  $p=0,01$ ). Не выявлено различий по медиане общей и безрецидивной выживаемости у больных с нормальным кариотипом и без мутаций генов *FLT3* и *NPM*, получавших стандартную индукционную терапию в зависимости от числа генов с АМ.

**Заключение.** АМ генов *p15INK4b*, *SOX7* и антагонистов сигнального пути Wnt обнаруживается у большинства больных ОМЛ, что позволяет рекомендовать гипометилирующие препараты для лечения больных, которым по разным причинам не может быть назначена интенсивная цитостатическая терапия. Обнаружение у большинства пациентов с ОМЛ с миелодисплазией или комплексным кариотипом значительного числа генов с аберрантным статусом метилирования служит основанием для инициации исследований по оценке эффективности комбинации 5-азациитидина с цитостатиками.

**Ключевые слова:** острый миелоидный лейкоз, аберрантное метилирование, *SOX7*, *p15INK4b*, антагонисты Wnt.

## Aberrant methylation of the promoter regions of the *SOX7* and *p15INK4b* genes and Wnt signaling pathway antagonists in patients with acute myeloid leukemias

I.I. KOSTROMA, S.V. GRITSAEV, ZH.YU. SIDOROVA, S.A. TIRANOVA, S.P. SVITINA, YU.S. DRIZHUN, ZH.V. CHUBUKINA, I.S. MARTYNKEVICH, S.I. KAPUSTIN, S.S. BESSMELTSEV

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Federal Biomedical Agency of Russia, Moscow, Russia

**Aim.** To investigate the methylation status of the *SOX7* and *p15INK4b* genes and Wnt signaling pathway antagonists in patients with acute myeloid leukemia (AML) in order to assess the association of the rate of aberrant methylation (AM) with the morphological variant and pattern of chromosomal aberrations, as well as the impact of the methylation status on survival.

**Subjects and methods.** The data of 57 AML patients aged 20 to 79 years were analyzed. The methylation status of the genes was studied by methylation-specific polymerase chain reaction.

**Results.** The signs of the AM of  $\geq$ 1 gene were detected in 52 (91.2%) of the 57 patients. The most common finding was AM of simultaneously 2 or 3 genes: in 29.8 and 21.1% of the patients, respectively. Concurrent methylation of 3-5 genes proved to be a more frequent finding in AML patients with myelodysplasia: in 7 (70%) of 10 patients. The proportion of patients with methylation of 5 genes was considerably higher in a group of patients with a complex karyotype: 50% versus 8.3% among other patients (odds ratio: 11.0; 95% confidence interval 2.0 to 61.6;  $p=0.01$ ). There were no differences in the median overall and relapse-free survival rates in patients with a normal karyotype and without *FLT3* and *NPM* mutations, who received induction therapy, in relation to the number of genes with AM.

**Conclusion.** AM of the *p15INK4b* and *SOX7* genes and Wnt signaling pathway antagonists is detected in the majority of patients with AML, which allows hypomethylating agents to be recommended for the treatment of patients who cannot use intensive cytostatic therapy for different reasons. The detection of a large number of genes with the aberrant methylation status in most AML patients with myelodysplasia or a complex karyotype serves as the basis for initiating trials to evaluate the efficiency of a combination of 5-azacytidine and cytostatics.

**Keywords:** acute myeloid leukemia, aberrant methylation, *SOX7*, *p15INK4b*, Wnt antagonists.

АМ — аберрантное метилирование  
ДИ — доверительный интервал  
ОВ — общая выживаемость

ОМЛ — острый миелоидный лейкоз  
ОШ — отношение шансов

Аберрантное метилирование (АМ) промоторных областей некоторых генов, участвующих в регуляции процессов дифференцировки и пролиферации клеток, рассматривается как один из принципиальных механизмов патогенеза ряда гемобластозов, включая острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) [1, 2]. В отличие от генетических аберраций, нередко обнаруживаемых при лейкозной трансформации, эффект АМ реализуется на эпигенетическом уровне, поскольку в данном случае не происходит изменения последовательности нуклеотидов в молекуле ДНК [3]. Избыточное метилирование остатков цитозина в регуляторной области гена, происходящее главным образом в островках CpG, приводит к снижению или полной блокаде его транскрипционной активности. Несмотря на то что данный механизм является важнейшим регулятором генной экспрессии в онтогенезе, нарушение процессов метилирования в клетке может стать одной из причин ее злокачественной трансформации.

Предполагается, что роль гиперметилирования ДНК в лейкозогенезе опосредована инактивацией определенных генов — супрессоров опухолевого роста. Вместе с тем недостаточно информации о том, какие именно гены-супрессоры характеризуются АМ при том или ином варианте лейкоза. При ОМЛ в качестве потенциальных кандидатов рассматриваются гены *SOX7*, *p15INK4b* и антагонисты сигнального пути Wnt/ $\beta$ -катенина, включая гены семейства *SFRP* (secreted frizzled related proteins) [4–9]. Известно, что метилирование генов *SFRP* приводит к увеличению уровня цитоплазматического и внутриядерного  $\beta$ -катенина, повышению экспрессии генов *c-MYC* и циклина D1 (*CCND1*), дизрегуляции клеточного цикла [4, 5].

Изучение процессов метилирования у онкогематологических больных представляет практический интерес. Это связано с опубликованными данными о возможной ассоциации статуса АМ с неблагоприятным течением миелоидных неоплазий, а также внедрением в клиническую практику гипометилирующих препаратов, в частности децитабина и 5-азациитидина (азануклеозиды) [1, 2]. Результаты исследований статуса метилирования генов семейства *SFRP* при ОМЛ носят противоречивый характер, что отражает гетерогенность биологического фенотипа заболевания и не исключает влияние половой и расовой принадлежности больных [5–9]. Более привлекательным для практического использования представляется совокупный анализ статуса метилирования генов *SFRP* с другими генами, например, *SOX7* и *p15INK4b* [10]. В этом случае возможно получение новых данных, в частности об ассо-

циации числа аберрантных генов с клинико-гематологическими показателями и прогнозом заболевания [11]. Выделение однородных групп больных со значительным числом метилированных генов может послужить основанием для модификации лечебного пособия, что имеет принципиальное значение для пациентов, которым по разным причинам не может быть назначена интенсивная полихимиотерапия, а монотерапия азануклеозидами не дает желаемого результата [12, 13].

Цель исследования — изучить статус метилирования генов *SOX7*, *p15INK4b* и антагонистов сигнального пути Wnt у больных ОМЛ для оценки сопряженности частоты АМ с морфологическим вариантом и характером хромосомных аберраций, а также влияние статуса метилирования на выживаемость больных.

## Материалы и методы

Для достижения поставленной цели из банка биологических образцов отобрали образцы геномной ДНК 57 больных ОМЛ, соответствующих следующим условиям: наличие подписанного информированного согласия на исследование и лечение, достаточное для исследования количество ДНК, отсутствие в анамнезе указаний на ранее проводимую терапию гипометилирующими препаратами, доступность клинико-гематологических показателей и информации о результатах терапии. Больных острым промиелоцитарным лейкозом в исследование не включали.

Возраст больных, из которых 20 мужчин и 37 женщин, был в диапазоне от 20 до 79 лет, медиана 51 год. Диагноз устанавливали по критериям классификации ВОЗ. Верификацию отдельных вариантов осуществляли по результатам изучения морфологических препаратов костного мозга, цитохимического анализа и иммунофенотипирования бластных клеток. Распределение по вариантам было следующим: 2 больных с вариантом М0, 7 — с М1, 23 — с М2, 4 — с М4, 8 — с М5, 3 — с М6 и 10 — с ОМЛ с миелодисплазией. У 8 больных ОМЛ с миелодисплазией в анамнезе имелись указание на один из вариантов миелодиспластического синдрома.

По результатам изучения кариотипа, известного у 56 больных, сформировали 3 группы: 31 (54,4%) больной с нормальным кариотипом, 8 (14,0%) с комплексным кариотипом и 17 (29,8%) с другими хромосомными аберрациями.

Заготовку образцов крови для исследования статуса метилирования осуществляли при диагностике ОМЛ. Геномную ДНК выделяли стандартным способом. До проведения исследования образцы ДНК хранили при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ . Статус метилирования генов изучали посредством метилспецифической полимеразной цепной реакции [14–16].

Статистическую обработку данных осуществляли по точному методу Фишера. Для описания межгрупповых различий использовали отношение шансов (ОШ) с 95% доверительным интервалом (ДИ) и значением  $p$ . Кривые Каплана—Майера использовали для расчета выживаемости.

## Результаты

Признаки АМ  $\geq 1$  генов выявлены у 52 (91,2%) из 57 больных. У 5 пациентов статус метилирования исследованных генов не был изменен. На рис. 1 представлены данные о доле больных с аберрантным статусом метилирования отдельных генов. Наиболее часто выявлялось метилирование генов *SFRP1* и *p15INK4b* — у 39 (68,4%) и 36

### Контактная информация:

Кострома Иван Иванович — м.н.с. клинического отд. гематология; 191024 Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16; e-mail: gniht@mail.ru

### Сведения об авторах:

Грицаев Сергей Васильевич — г.н.с. клинического отд. гематология

Сидорова Жанна Юрьевна — с.н.с. лаб. биохимии

Тиранова Софья Александровна — врач клинико-диагностической лаб.

Свитина Светлана Петровна — лаборант-исследователь лаб. биохимии

Дрижун Юлия Семеновна — м.н.с. лаб. биохимии

Чубукина Жанна Викторовна — с.н.с. лаб. клинической иммунологии

Мартынкевич Ирина Степановна — рук. молекулярно-генетической лаб.

Капустин Сергей Игоревич — рук. лаб. биохимии

Бессмельцев Станислав Семенович — зам. директора по науке

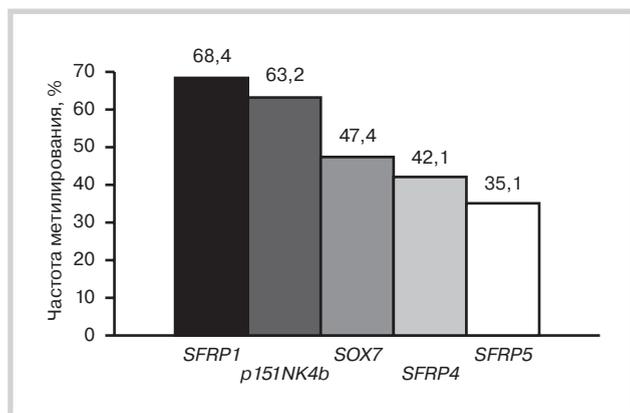


Рис. 1. Частота АМ исследованных генов у больных ОМЛ.

(63,2%) больных соответственно. Следующими по частоте убывания оказались гены *SOX7*, *SFRP4* и *SFRP5* — у 27 (47,4%), 24 (42,1%) и 20 (35,1%) больных соответственно. Метилирование  $\geq 1$  гена семейства *SFRP* обнаружено у 48 (84,2%) больных.

При анализе распределения больных по числу метилированных генов установлено, что метилирование 1, 2, 3, 4 и 5 генов имелось у 8 (14,0%), 17 (29,8%), 12 (21,1%), 7 (12,3%) и 8 (14%) больных соответственно. Таким образом, наиболее частой находкой было АМ двух или трех генов одновременно. Статистически значимого различия в распределении по числу генов с АМ между больными в возрасте моложе или старше 60 лет не обнаружено.

Учитывая небольшое число больных с отдельными вариантами ОМЛ, мы посчитали нецелесообразным сравнивать характер распределения по числу генов с АМ в группах, выделенных по морфологическим критериям. Вместе с тем необходимо отметить следующие находки. Во-первых, половина всех случаев с метилированием 5 генов (4 из 8 больных) приходилась на группу ОМЛ с миелодисплазией. Во-вторых, среди больных ОМЛ с миелодисплазией было больше лиц с одновременным метилированием 3—5 генов — 7 (70%) из 10, чем при любом другом варианте.

В группах, сформированных по результатам цитогенетического исследования, выявлено, что у больных с нормальным кариотипом чаще обнаруживалось метилирование генов *SFRP1* и *p15INK4b*: в 71 и 64,5% случаев соответственно. Аберрантный статус метилирования этих же генов, а также гена *SOX7* были наиболее частой находкой у больных с хромосомными поломками независимо от их вида: 64, 60 и 64% соответственно.

При анализе числа метилированных генов в группах с разными вариантами кариотипа выявлено, что у больных с нормальным кариотипом или с одной или двумя независимыми хромосомными аберрациями чаще обнаруживалось метилирование 2 (32,3 и 29,4% соответственно) и 3 (22,6 и 23,5% соответственно) генов одновременно. Напротив, метилирование 5 генов чаще выявлялось у больных с множественными хромосомными аберрациями (рис. 2 см. на цв. вклейке). Отражением этого является статистически значимое различие между долей больных с комплексным и нормальным кариотипом, у которых вы-

явлено одновременное метилирование 5 генов: 50% против 9,7% соответственно (ОШ 9,3 при 95% ДИ от 1,5 до 58,0;  $p=0,022$ ). Еще более выраженное различие по данному показателю наблюдалось при сравнении группы больных с комплексным кариотипом со всеми остальными пациентами (50% против 8,3% соответственно; ОШ 11,0 при 95% ДИ от 2,0 до 61,6;  $p=0,01$ ).

В ходе исследования также изучено влияние числа генов с аберрантным статусом метилирования (0—2 против 3—5) на выживаемость больных с нормальным кариотипом при проведении стандартной индукционной терапии. Для этого из анализа исключены данные 5 больных, у которых выявлены мутации генов *FLT3* и *NPM1*, и 3 больных, которые по причине возраста, наличия сочетанных заболеваний и соматического статуса не получили такой терапии. Из оставшихся больных у 13 метилированы от 0 до 2 генов и у 10 больных — от 3 до 5 генов.

В группе с 0—2 метилированными генами полная ремиссия достигнута у 9 (69,2%) больных. У 4 больных констатирован первично-резистентный вариант, рецидив ОМЛ развился у 5. Медиана времени наблюдения составила 24 (7—64) мес. В группе с 3—5 метилированными генами полная ремиссия диагностирована у 8 (80%) больных, из которых у 4 в последующем развился рецидив. Период наблюдения варьировал от 2 до 96 мес, медиана 17 мес. Как отражено на рис. 3, медиана общей продолжительности жизни между группами не различалась: не достигнута и 31 мес соответственно. Кроме того, не различалась и медиана продолжительности жизни без рецидивов: 26,7 и 33,5 мес в группах с 0—2 и 3—5 метилированными генами соответственно.

## Обсуждение

Результаты проведенного исследования в сочетании с данными литературы дают основание рассматривать АМ генов как неслучайный биологический феномен, наблюдающийся у большинства больных ОМЛ. Ранее рядом авторов получены различные данные относительно частоты метилирования отдельных генов у больных ОМЛ, что, вероятно, объясняется сопряженностью аберрантного статуса с вариантом и стадией заболевания, а также характером молекулярных и цитогенетических аберраций. Так, Н. Kroeger и соавт. [17] при обследовании 30 больных во время постановки диагноза ОМЛ наибольшую частоту аберрантного статуса выявили в генах *CDH13* (83%), *OLIG2* (77%), *PGR1* (72%), *PGRB* (70%), *NOR1* (63%), *NPM2* (63%) и *p15* (47%). При рецидиве число больных с метилированными генами *CDH13*, *PGR1* и *p15* увеличивалось до 93, 92 и 80% соответственно. Н. Ноу и соавт. [8] обнаружили статистически значимое различие по частоте метилирования антагонистов сигнального пути Wnt между больными M0- и M4/M5-вариантами ОМЛ *de novo*: 100% против 47,3% ( $p=0,0006$ ). Е. Jost и соавт. [5] установили ассоциацию между гиперметилированием одного и более генов семейства *SFRP* с вариантами CBF ОМЛ ( $p=0,02$ ).

Внимание, уделяемое исследователями гену *p15INK4b*, объясняется его ролью в процессах регуляции клеточного цикла. Метилирование островков CpG промоторных областей *p15INK4b* сопровождается подавлением активности гена с последующим снижением чувствительности

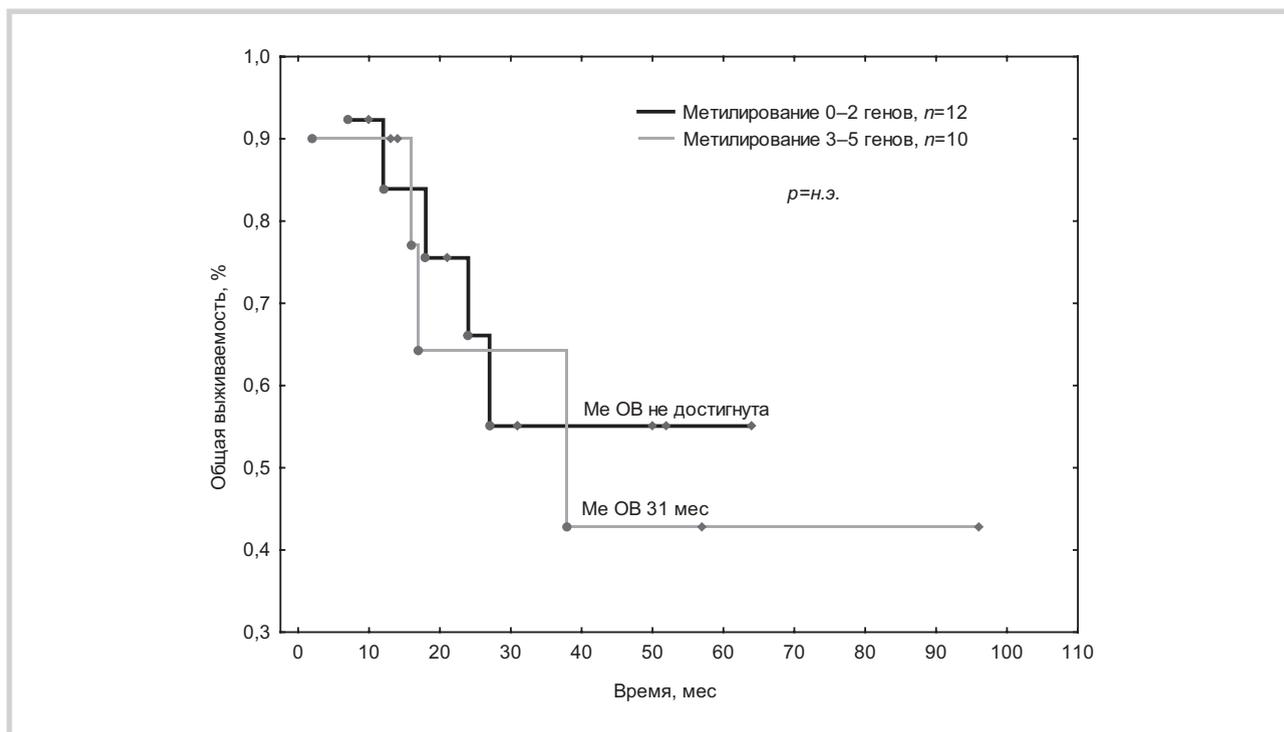


Рис. 3. Зависимость кривой выживаемости от числа генов с АМ.

Me — медиана.

лейкозных клеток к ингибирующему действию  $\beta$ -фактора, трансформирующего рост (TGF $\beta$ ) [18]. АМ *p15INK4b* — типичное для больных вторичными ОМЛ и миелодиспластическим синдромом эпигенетическое событие, ассоциированное с абберациями 7-й хромосомы и неблагоприятным прогнозом [19]. Прогностическая значимость абберантного статуса гена *p15INK4b* у больных ОМЛ *de novo* сомнительна [20, 21]. В то же время М. Grovdal и соавт. [22] констатировали отсутствие полной ремиссии после стандартного индукционного курса у больных с миелодиспластическими неоплазиями в случае гиперметилирования гена *p15INK4b* одновременно с генами *CDH* и *HIC*.

Участие сигнального пути Wnt/ $\beta$ -катенина в гемопоэзе обуславливает повышенный интерес к механизмам его регуляции и, в частности, к таким ингибиторам, как DKK1 и 2, LKB1, RASS-F1A, RUNX3, SFRPs, SOX17 и WIF1 [7, 23]. Метилирование островков CpG промоторных областей генов, контролирующих ингибиторы Wnt, — частая находка у больных ОМЛ. А. Valencia и соавт. [6] у 64% обследованных больных обнаружили АМ, по крайней мере, 1 из 6 изученных генов. Метилирование генов *SFRP1*, *SFRP2*, *SFRP5* и *SFRP4* имелось у 41, 31, 22 и 4% больных соответственно. Авторами установлена ассоциация статуса метилирования *SFRP5* с резистентностью к химиотерапии ( $p=0,015$ ) и снижением безрецидивной выживаемости у больных в возрасте 60 лет и моложе с промежуточным кариотипом. Н. Ноу и соавт. [8] обнаружили ассоциацию частоты метилирования ингибиторов Wnt с хромосомными абберациями ( $p=0,0034$ ), но при этом не подтвердили сопряженности абберантного статуса с эффективностью лечения. Напротив, Е. Jost и соавт. [5] уста-

новили низкую выживаемость больных с вариантами СBF ОМЛ с метилированием гена *SFRP2* ( $p=0,003$ ), а Е. Griffiths и соавт. [7] выявили ассоциацию между АМ этого гена и высоким риском смерти больных, имеющих нормальный кариотип.

Учитывая противоречивый характер результатов предшествующих исследований и небольшое число собственных наблюдений, при анализе полученных данных мы уделили особое внимание распространенности абберантного статуса метилирования изученных генов и их ассоциации с клинико-гематологическими показателями. В итоге установлено, что АМ 3–5 генов являются преимущественной находкой у больных ОМЛ с миелодисплазией или с комплексным кариотипом. Это позволяет прогнозировать низкую эффективность монотерапии гипометилирующими препаратами у больных этой категории. Основанием для такого предположения является сообщение М. Abaigar и соавт. [11], которые при многофакторном анализе результатов лечения 63 больных ОМЛ и миелодиспластическим синдромом с медианой возраста 69 лет установили снижение общей выживаемости (ОВ) в случае лейкоцитоза  $\geq 15,0 \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p=0,033$ ), содержания гемоглобина  $< 100$  г/л ( $p=0,029$ ) и числа метилированных генов  $\geq 2$  ( $p=0,022$ ). При этом необходимо отметить, что авторы не выявили сопряженности числа метилированных генов с ответом на 5-азациитидин.

Совокупный анализ собственных находок с данными литературы, в частности о реэкспрессии гена *p15INK4b* и антагонистов сигнального пути Wnt *in vitro* при добавлении 5-азациитидина к культуре лейкозных клеток [5, 6, 24], делает обоснованным назначение больным ОМЛ с миело-

дисплазией или комплексным кариотипом 5-азациитидина в комбинации с цитостатиками [12, 13]. В настоящее время увеличивается число сообщений о модификации терапии 5-азациитидином у больных с миелоидными неоплазиями. Так, G. Vorthakur и соавт. [12] приводят результаты одновременного назначения 5-азациитидина и цитарабина. Доза 5-азациитидина варьирует от 37,5 до 75 мг/м<sup>2</sup> и вводится внутривенно однократно в течение последовательных 7 дней. Цитарабин назначается по 100 мг/м<sup>2</sup> внутривенной суточной инфузией в течение 7 дней или по 1 г/м<sup>2</sup> в виде внутривенной суточной инфузии в течение 4 или 3 дней (последняя доза использована у больных 65 лет и старше). Полная ремиссия констатирована у 2 из 34 больных, один из которых имел комплексный кариотип, а другой — мутацию FLT3-ITD. Необходимо отметить крайне неблагоприятный прогноз у больных в данном исследовании: 94% имели рецидив или резистентный вариант. При этом случаев негематологической токсичности IV степени не зафиксировано.

Возможен и другой вариант комбинированной терапии, предполагающий последовательное введение препаратов. U. Krug и соавт. [13] ранее не леченным больным ОМЛ в возрасте ≥61 года перед стандартным индукционным курсом 7+3 в течение 5 дней вводили 5-азациитидин по 37,5 или 75 мг/м<sup>2</sup>. В гематологической клинике РосНИИГТ инициировано пилотное клиническое исследование схемы, предполагающей последовательное введение 5-азациитидина в стандартной дозе (75 мг/м<sup>2</sup> подкожно в 1—7-й день) и малых доз цитарабина (20 мг/м<sup>2</sup> подкожно однократно в день на 8—14-й день). Данную схему планируется назначать больным ОМЛ с миелодисплазией или комплексным кариотипом после завершения первых двух курсов монотерапии 5-азациитидином.

Для оценки прогностической значимости aberrантного статуса метилирования отобраны больные ОМЛ с нормальным кариотипом и не имеющие мутаций в генах *FLT3* и *NPM1*. Это обусловлено выраженной клинической вариабельностью течения заболевания у лиц указанной группы, когда выбор интенсивности постремиссионной терапии затруднителен и, следовательно, актуальным представляется поиск новых прогностических факторов. Сопряженности показателей ОВ и/или безрецидивной выживаемости с числом метилированных генов не выявлено. Тем не менее не исключено, что информативной может оказаться динамика статуса метилирования при проведении первых курсов терапии 5-азациитидином.

## Заключение

АМ генов *p15INK4b*, *SOX7* и антагонистов сигнального пути Wnt обнаруживается у большинства больных ОМЛ, что позволяет рекомендовать гипометилирующие препараты для лечения больных, которым по разным причинам не может быть назначена интенсивная цитостатическая терапия. Обнаружение у большинства больных ОМЛ с миелодисплазией или комплексным кариотипом значительного числа генов с aberrантным статусом метилирования служит основанием для инициации пилотного исследования по оценке эффективности комбинации 5-азациитидина с малыми дозами цитарабина. Число гиперметилированных генов не может использоваться как предиктор эффективности лечения больных ОМЛ с нормальным кариотипом и без мутаций в генах *FLT3* и *NPM1* с применением стандартных схем индукционной терапии.

**Конфликт интересов отсутствует.**

## ЛИТЕРАТУРА

1. Toyota M, Kopecky KJ, Toyota MO, Jair KW, Willman CL, Issa JP. Methylation profiling in acute myeloid leukemia. *Blood*. 2001;97(9):2823-2829. doi:10.1182/blood.v97.9.2823
2. Figueroa ME, Lugthart S, Li Y, Erpelinck-Verschueren C, Deng X, Christos PJ, Schifano E, Booth J, van Putten W, Skrabanek L, Campagne F, Mazumdar M, Grealley JM, Valk PJ, Lowenberg B, Delwel R, Melnick A. 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
3. Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev*. 2002;16(1):6-21. doi:10.1101/gad.947102
4. Wang H, Fan R, Wang X-Q, Wu DP, Lin GW, Xu Y, Li WY. Methylation of Wnt antagonist genes: a useful prognostic marker for myelodysplastic syndrome. *Ann Hematol*. 2013;92(2):199-209. doi:10.1007/s00277-012-1595-y
5. Jost E, Schmid J, Wilop S, Schubert C, Suzuki H, Herman JG, Osieka R, Galm O. Epigenetic inactivation of secreted frizzled-related proteins in acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2008;142(5):745-753. doi:10.1111/j.1365-2141.2008.07242.x
6. Valencia A, Roman-Gomez J, Cervera J, Such E, Barragan E, Bolufer P, Moscardo F, Sanz GF, Sanz MA. Wnt signaling pathway is epigenetically regulated by methylation of Wnt antagonists in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2009;23(9):1658-1666. doi:10.1038/leu.2009.86
7. Griffiths EA, Gore SD, Hooker C, McDevitt MA, Karp JE, Smith BD, Mohammad HP, Ye Y, Herman JG, Carraway HE. Acute myeloid leukemia is characterized by Wnt pathway inhibitor promoter hypermethylation. *Leuk Lymphoma*. 2010;51(9):1711-1719. doi:10.3109/10428194.2010.49650
8. Hou H, Kuo Y, Liu C, Lee MC, Tang JL, Chen CY, Chou WC, Huang CF, Lee FY, Liu MC, Yao M, Tien HF. Distinct association between aberrant methylation of Wnt inhibitors and genetic alterations in acute myeloid leukaemia. *Br J Cancer*. 2011;105(12):1927-1933. doi:10.1038/bjc.2011.471
9. Ghasemi A, Rostami S, Chahardouli B, Ghandforosh NA, Ghotaslou A, Nadali F. Study of SFRP1 and SFRP2 methylation status in patients with de novo acute myeloblastic leukemia. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*. 2015;9(1):15-21.
10. Грицаев С.В., Сидорова Ж.Ю., Капустин С.И., Кострома И.И., Потихонова Н.А., Мартынкевич И.С., Блинов М.Н.,

- Абдулкадыров К.М. Анализ статуса метилирования генов *p15INK4B* и *SOX7* у больных миелодиспластическим синдромом и острым миелоидным лейкозом. *Гематология и трансфузиология*. 2015;60(1):12-17.
11. Abaigar M, Ramos F, Benito R, Diez-Campelo M, Sanchez-del-Real J, Hermosin L, Rodríguez JN, Aguilar C, Recio I, Alonso JM, de las Heras N, Megido M, Fuertes M, del Cañizo MC, Hernández-Rivas JM. Prognostic impact of the number of methylated genes in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemias treated with azacitidine. *Ann Hematol*. 2013;92(11):1543-1552. doi:10.1007/s00277-013-1799-9
  12. Borthakur G, Huang X, Kantarjian H, Faderl S, Ravandi F, Ferrajoli A, Torma R, Morris G, Berry D, Issa JP. Report of a phase 1/2 study of a combination of azacitidine and cytarabine in acute myelogenous leukemia and high-risk myelodysplastic syndromes. *Leuk Lymphoma*. 2010;51(1):73-78. doi:10.3109/10428190903318329
  13. Krug U, Koschmieder A, Schwammbach D, Gerss J, Tidow N, Steffen B, Bug G, Brandts CH, Schaich M, Röllig C, Thiede C, Noppeney R, Stelljes M, Büchner T, Koschmieder S, Dührsen U, Serve H, Ehninger G, Berdel WE, Müller-Tidow C. Feasibility of azacitidine added to standard chemotherapy in older patients with acute myeloid leukemia — a randomised SAL pilot study. *PLOS ONE*. 2012;7(12):e52695. doi:10.1371/journal.pone.0052695
  14. Herman JG, Graff JR, Myohanen S., Nelkin BD, Baylin SB. Methylation-specific PCR: A novel PCR assay for methylation status of CpG islands. *PNAS*. 1996;93(18):9821-9826. doi:10.1073/pnas.93.18.9821
  15. Fan R, Zhang LY, Wang H, Yang B, Han T, Zhao XL, Wang W, Wang XQ, Lin GW. Methylation of the CpG island near *SOX7* gene promoter is correlated with the poor prognosis of patients with myelodysplastic syndrome. *Tohoku J Exp Med*. 2012;227(2):119-128. doi:10.1620/tjem.227.119
  16. Wang H, Fan R, Wang XQ, Wu DP, Lin GW, Xu Y, Li WY. Methylation of Wnt antagonist genes: a useful prognostic marker for myelodysplastic syndrome. *Ann Hematol*. 2013;92(2):199-209. doi:10.1007/s00277-012-1595-y
  17. Kroeger H, Jelinek J, Estreco MRH, He R, Kondo K, Chung W, Zhang L, Shen L, Kantarjian HM, Bueso-Ramos CE, Issa JP. Aberrant CpG island methylation in acute myeloid leukemia is accentuated at relapse. *Blood*. 2008;112(4):1366-1377. doi:10.1182/blood-2007-11-126227
  18. Quesnel B, Guillerm G, Verecque R, Wattel E, Preudhomme C, Bauters F, Vanrumbeke M, Fenaux P. Methylation of the *p15INK4b* gene in myelodysplastic syndromes is frequent and acquired during disease progression. *Blood*. 1998;91(8):2985-2990. doi:10.1016/0145-2126(94)90231-3
  19. Christiansen DH, Andersen MK, Pedersen-Bjergaard J. Methylation of *p15INK4B* is common, is associated with deletion of genes on chromosome arm 7q and predicts a poor prognosis in therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2003;17(9):1813-1819. doi:10.1038/sj.leu.2403054
  20. Chim CS, Tam CYY, Liang R, Kwong YL. Methylation of *p15* and *p16* in adult acute leukemia: lack of prognostic significance. *Cancer*. 2001;91(12):2222-2229. doi:10.1002/1097-0142(20010615)91:12<2222::aid-cncl1252>3.0.co;2-r
  21. Chim CS, Liang R, Tam CYY, Kwong YL. Methylation of *p15* and *p16* genes in acute promyelocytic leukemia: potential diagnostic and prognostic significance. *J Clin Oncol*. 2001;19(7):2033-2040. doi:10.1002/1097-0142(20010615)91:12<2222::aid-cncl1252>3.3.co;2-i
  22. Grovdal M, Khan R, Aggerholm A, Antunovic P, Astermark J, Bernell P, Engström LM, Kjeldsen L, Linder O, Nilsson L, Olsson A, Wallvik J, Tangen JM, Oberg G, Jacobsen SE, Hokland P, Porwit A, Hellström-Lindberg E. Negative effect of DNA hypermethylation on the outcome of intensive chemotherapy in older patients with high-risk myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia following myelodysplastic syndrome. *Clin Cancer Res*. 2007;13(23):7107-7112. doi:10.1158/1078-0432.ccr-07-1193
  23. Mikesch J, Steffen B, Berdel W, Serve H, Müller-Tidow C. The emerging role of Wnt signaling in the pathogenesis of acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2007;21(8):1638-1647. doi:10.1038/sj.leu.2404732
  24. Herman JG, Jen J, Merlo A, Baylin SB. Hypermethylation-associated inactivation indicates a tumor suppressor role for *p15INK4B*. *Cancer Res*. 1996;56(4):722-727.

Поступила 05.04.2016