

МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ВТОРИЧНЫХ ЛЕЙКОЗОВ, ВЫЗВАННЫХ ТЕРАПИЕЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ ИНГИБИТОРОВ ТОПОИЗОМЕРАЗ

Обзор

© 2023 Н.А. Ломов^{1*}, В.С. Вьюшков¹, М.А. Рубцов^{1,2}

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра молекулярной биологии, 119234 Москва, Россия; электронная почта: lomov@mail.bio.msu.ru

² Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Центр индустриальных технологий и предпринимательства, 119435 Москва, Россия

Поступила в редакцию 06.02.2023

После доработки 14.04.2023

Принята к публикации 20.04.2023

Лейкозы — опухолевые заболевания кроветворной ткани. Среди лейкозов выделяют отдельную группу заболеваний, развитие которых связано с предшествующей химиотерапией — вторичные лейкозы. Терапия рака ингибиторами ДНК-топоизомераз типа II является одной из самых эффективных среди химиотерапий. Однако ее побочным эффектом может стать развитие вторичного лейкоза, характеризующегося хромосомными перестройками с участием генов *AML1* или *MLL*. Характерный набор рекуррентных перестроек при таком лейкозе отличается от спектра хромосомных перестроек при других неоплазиях. В обзоре рассматриваются факторы, которые влияют на образование перестроек при обработке клеток ингибиторами ДНК-топоизомераз. К таким факторам в первую очередь относятся подвижность концов разрывов, образование которых предшествует транслокации, и появление новых функций у белков, которые образуются в клетке в результате транслокации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: лейкозы, транслокации, слитые белки, ингибиторы топоизомераз.

DOI: 10.31857/S0320972523070047, **EDN:** FVBNLW

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы благодаря совершенствованию химиотерапевтических подходов продолжительность жизни пациентов с онкологическими заболеваниями заметно возросла. В то же время увеличение продолжительности жизни выявляет отдаленные побочные эффекты химиотерапии. К числу таких последствий относится так называемый вторичный, или обусловленный терапией, лейкоз. Одной из частых причин развития вторичного лейкоза является применение для терапии первичных опухолей препаратов из класса ингибиторов ДНК-топоизомераз типа II.

Цитогенетической особенностью опухолевых клеток пациентов со вторичным лейко-

зом являются хромосомные транслокации с участием гена, ассоциированного с острым миелоидным лейкозом (Acute myeloid leukemia, *AML1*), и гена, ассоциированного с лейкозом смешанного фенотипа (Mixed lineage leukemia, *MLL*). Эти гены необходимы для нормального развития клеток крови, поэтому нарушение их функции вследствие транслокации приводит к опухолевой трансформации кроветворных клеток. Считается, что хромосомные перестройки возникают из-за ошибочной репарации двуцепочечных разрывов, вносимых ДНК-топоизомеразой II после ее ингибирования. В этом обзоре мы рассмотрим молекулярные механизмы развития вторичных лейкозов, вызванных терапией ингибиторами ДНК-топоизомераз типа II.

Принятые сокращения: ДЦР — двуцепочечный разрыв ДНК; *AML1* (или *RUNX1*) — ген, ассоциированный с острым миелоидным лейкозом; *ETO* (или *RUNX1T1*) — ген, часто перестраиваемый с образованием транслокации t(8;21); *MLL* (или *KMT2A*) — ген, ассоциированный с лейкозом смешанного фенотипа; NHEJ — репарация ДЦР по механизму негомологичного соединения концов.

* Адресат для корреспонденции.

ОСТРЫЕ МИЕЛОИДНЫЕ ЛЕЙКОЗЫ, ВЫЗВАННЫЕ ТЕРАПИЕЙ

Лейкозы и хромосомные транслокации. Лейкозы, или лейкемии, — опухолевые заболевания кроветворной ткани, которые развиваются, когда недифференцированные (бластные) клетки теряют способность к образованию зрелых форм и накапливаются в костном мозге и в крови. Считается, что лейкозы возникают в результате трансформации лишь одной исходной клетки — стволовой лейкозной клетки [1]. В результате ее деления получается неопластический клон бластных клеток, который вытесняет нормальные элементы кроветворения из костного мозга и приводит к недостатку зрелых клеток в периферической крови, а инфильтрация лейкозными клетками внутренних органов нарушает их работу. Кроме лейкозов, к злокачественным заболеваниям кроветворной системы также относятся лимфомы. При лимфомах опухолевые клетки поражают лимфатическую систему — в первую очередь лимфатические узлы.

Считается, что к онкогенной трансформации клеток крови и костного мозга приводят определенные хромосомные транслокации — обмен участками между разными хромосомами. Когда в месте контакта двух фрагментов разных хромосом соединяются фрагменты разных генов — эти гены называют генами-партнерами по транслокации — образуются слитые гены, продукты которых называют слитыми (химерными) белками [2]. Хромосомная перестройка сама по себе может быть достаточным событием для развития лейкоза. В пользу этого говорят данные высокопроизводительного секвенирования: лейкозы несут очень мало соматических мутаций по сравнению с другими видами злокачественных новообразований [3, 4]. Тип хромосомной перестройки в лейкозных клетках, в частности то, какие гены являются партнерами по транслокации, влияет на развитие заболевания, прогноз и выбор лечения [5–7]. Определение того, какая именно хромосомная транслокация ассоциирована с данным лейкозом, является первостепенной задачей при постановке диагноза у пациентов [8].

Причины развития лейкозов после терапии опухолей. Хромосомные транслокации возникают при ошибках репарации двуцепочечных разрывов ДНК (ДЦР), когда концы разных разрывов сшиваются вместе. Поэтому причиной хромосомных транслокаций могут быть любые процессы, приводящие к образованию разрывов в ДНК. Среди естественных причин возникновения большого количества ДЦР в

клетке — активность ферментов во время таких процессов, как V(D)J-рекомбинация, переключение класса антител (CSR) и соматический гипермутагенез (SHM) при созревании лимфоцитов. С активностью этих ферментов связывают развитие многих лимфом, например, лимфомы Беркитта, которая сопровождается транслокацией t(8;14) между локусом *IGH* и геном *MYC* [9–11].

Другой причиной образования ДЦР в клетках может быть действие цитотоксических агентов или ионизирующего излучения, что происходит при радио- и химиотерапии опухолей и аутоиммунных заболеваниях. Накопление ДЦР в раковых клетках приводит к остановке деления и развитию в них апоптоза [12]. Однако побочным эффектом терапии является развитие вторичных опухолей. Таким образом, с появлением различных видов терапии опухолей возник и особый класс заболеваний — обусловленные терапией миелоидные неоплазии (therapy-related myeloid neoplasms, t-MN, или myeloid neoplasms post cytotoxic therapy, MN-pCT), также называемые вторичными неоплазиями.

Обусловленные терапией миелоидные неоплазии составляют 10–20% от всех случаев миелоидных лейкозов. Они развиваются в 0,8–6,3% случаев в течение 20 лет после предшествующей терапии с медианным временем 3–5 лет [13]. Выживаемость при таких вторичных заболеваниях измеряется месяцами, а не годами, что делает их одними из самых агрессивных видов рака — они считаются даже более опасными, чем аналогичные лейкозы, возникающие *de novo* [14–18].

Вторичные неоплазии можно разделить на группы в зависимости от терапии, которая им предшествовала — терапия алкилирующими агентами, радиотерапия или терапия ингибиторами ДНК-топоизомеразы II [19]. Обусловленные алкилирующими агентами и/или радиотерапией вторичные лейкозы обычно возникают через 4–7 лет после терапии и чаще всего относятся к хроническому лейкозу, тогда как обусловленные ингибиторами ДНК-топоизомеразы II вторичные лейкозы развиваются через 1–3 года и относятся к острому миелоидному лейкозу (topoisomerase inhibitor-related AML, TI-related AML). Реже вторичные неоплазии встречаются после терапии антиметаболитами, например метотрексатом [20]. Примечательно, что обусловленные разной терапией неоплазии характеризуются разными хромосомными aberrациями. Так, для первой группы характерны крупные делеции участков 5 и 7 хромосом, тогда как для вторичных

неоплазий, вызванных терапией ингибиторами топоизомераз II, — сбалансированные (реципрокные) транслокации с участием хромосом 11 или 21 [13, 21–24]. Терапия ингибиторами ДНК-топоизомераз II выделяется в отдельную группу ввиду своего широкого распространения и вследствие своей эффективности.

ТОПОИЗОМЕРАЗНЫЕ ЯДЫ КАК ЭФФЕКТИВНОЕ СРЕДСТВО ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

В целом, противоопухолевая химиотерапия стала конвенциональным методом лечения только во второй половине XX века, до этого момента опухоли лечили хирургически или с помощью радиотерапии. Экстракт из тканей Подофилла щитовидного (*Podophyllum peltatum*), или подофиллин, эпизодически применялся в медицине против кожных опухолей и бородавок еще в XIX веке [25]. В 1946 г. было показано, что подофиллин препятствует делению клеток [26]. Однако попытки применения этого экстракта против опухолей были ограничены его высокой токсичностью [27]. Поэтому в 1950-х гг. начались поиски действующей молекулы из экстракта *Podophyllum*. Наилучшее противоопухолевое действие показал бензил-иден 4'-деметилэпиподофиллин глюкозид, и в 1966 г. был синтезирован его синтетический аналог — этопозид (VP-16), годом позже — тенипозид (VM-26). В 1974 г. завершились доклинические испытания, доказавшие их высокую эффективность против самых разных видов опухолей, а с 1983 г. было получено разрешение FDA (Food and Drug Administration) США на применение этопозидов в клинической практике [25]. На сегодня этопозид и аналогичные по механизму работы вещества находятся на переднем крае терапии самых разных типов опухолей: лейкозов, лимфом, сарком, рака молочной железы, рака легких и других [28, 29].

Интересно, что механизм действия этопозидов и тенипозидов на момент их одобрения еще не был установлен. Было показано, что этопозид приводит к фрагментации ДНК *in vivo*, однако он не способен вносить разрывы в очищенную ДНК [30]. Только в 1984 г. выяснили, что мишенью этопозидов являются топоизомеразы типа II — ферменты, особенно востребованные в делящихся клетках, к которым относятся клетки опухолей. Работа ДНК-топоизомераз типа II, с одной стороны, крайне необходима при делении, с другой — включает в себе смертельную опасность для клетки, так

как в процессе каталитического цикла топоизомеразы II вносит двуцепочечный разрыв в ДНК. Ниже пойдет речь о роли топоизомераз в клетке и механизме работы ДНК-топоизомераз типа II.

Топоизомеразы и их активность в клетках. К ДНК, представляющей собой двойную спираль, применимы законы топологии. Важной проблемой, связанной с топологией ДНК, является расхождение хромосом после репликации по дочерним клеткам. Так как репликация идет полуконсервативно — к каждой цепочке ДНК достраивается комплементарная ей цепь — то получившиеся хромосомы оказываются закручены относительно друг друга так же, как были закручены цепочки исходной двойной спирали ДНК. Эта ключевая проблема полуконсервативной модели репликации была сформулирована еще Фрэнсисом Криком и Джеймсоном Уотсоном, а также Максом Дельбрюком, который для ее разрешения даже предложил альтернативную модель репликации — дисперсную модель [31, 32].

Проблемы, связанные с топологией ДНК, решаются ферментами-топоизомеразами с помощью временного разрыва цепочки ДНК. Топоизомеразы типа I вносят одноцепочечный разрыв, позволяя одной цепочке вращаться вокруг второй, тогда как топоизомеразы типа II вносят двуцепочечный разрыв, через который может пройти другой фрагмент ДНК [33, 34]. Для разделения переплетенных хромосом может использоваться только ДНК-топоизомераза типа II, что было показано для многих организмов [35–38]. Поэтому любым делящимся клеткам критически необходима работа топоизомераз именно типа II.

Задача ДНК-топоизомераз типа II заключается в контролируемом внесении двуцепочечных разрывов в ДНК, которые необходимы для расплетения хромосом. Почти все ДНК-топоизомеразы типа II из разных организмов гомологичны друг другу (их относят к подтипу IIa) и работают по одному механизму (рис. 1). ДНК-топоизомераза IIa представляет собой гомодимер, мономеры которого соединяются друг с другом тремя участками, формируя трое «ворот» — N-, ДНК- и C-ворота. Ворота последовательно открываются и закрываются, пропуская фрагмент ДНК, называемый Т-фрагментом (от «transport»). ДНК-ворота, расположенные в середине, вызывают другой фрагмент ДНК (G-фрагмент, от «gate») и открываются, временно разрывая его. Когда Т-фрагмент ДНК проходит ДНК-ворота и они закрываются, разрыв в G-фрагменте лигируется. Образование двуцепочечного

разрыва в G-фрагменте происходит за счет двух реакций переэтерификации: остатки тирозина каждой из субъединиц топоизомеразы атакуют фосфодиэфирные связи на разных цепях ДНК, образуя ковалентные связи с 5'-фосфатами нуклеотидов [39–41]. Когда T-фрагмент высвобождается через С-ворота, топоизомераза возвращается в исходное состояние и цикл ее работы завершается. Хотя сама реакция переэтерификации не требует затрат энергии, в ходе каталитического цикла топоизомеразы типа II гидролизует две молекулы АТР, которые аллостерически координируют открытие и закрытие ворот во время каталитического цикла топоизомеразы [42–44]. Согласованность в работе ворот крайне важна: если все ворота окажутся одновременно открытыми, это значит, что субъединицы топоизомеразы отсоединились друг от друга, и временный разрыв ДНК превратится в постоянный.

Топоизомеразные яды. На сегодняшний день изучены различные ингибиторы ДНК-топоизомераз типа II (топо2-ингибиторы). По механизму действия их принято делить на 2 группы — ингибиторы каталитического цикла и топоизомеразные яды (catalytic inhibitors и poisons соответственно). Первые действуют на любых стадиях каталитического цикла, включая связывание и гидролиз АТР, связывание и разрезание ДНК. Вторая группа — так называемые топоизомеразные яды, действие которых характеризуется повышением в клетке количества ковалентно связанных комплексов ДНК–фермент (Top2cc). Большинство используемых на сегодня в терапии опухолей топо2-ингибиторов относятся к группе топоизомеразных ядов [41, 45]. Чаще всего среди них используется этопозид, его механизм действия подробно изучен. Этопозид связывается с ковалентным комплексом топоизомеразы с ДНК и стабилизирует его, препятствуя религированию ДНК [46]. Когда в G-фрагмент ДНК внесен разрыв, молекула этопозид нековалентно связывается с ферментом, что препятствует полному закрытию ДНК-ворот и сближению концов разрыва ДНК (рис. 2).

Пути удаления топоизомеразы с ДНК. Остановленная ДНК-топоизомераза, ковалентно связанная с ДНК, препятствует нормальной транскрипции и репликации, что запускает процесс ее деградации [47]. В клетках человека существует несколько путей удаления топоизомеразы, ковалентно сшитой с ДНК. Их можно разделить на протеолитические и нуклеолитические пути. Протеолитические пути предполагают деградацию белка с помощью протеасомы или специальной протеазы SPRTN

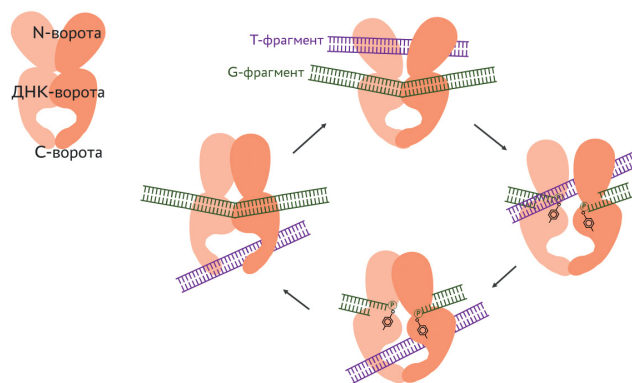


Рис. 1. Механизм работы топоизомеразы типа II. На схеме показано согласованное изменение конформации фермента, что приводит к последовательному перемещению T-фрагмента ДНК через G-фрагмент, при этом субъединицы фермента всегда удерживаются вместе. Для разрыва в G-фрагменте фермент формирует фосфодиэфирную связь с ДНК через остаток тирозина

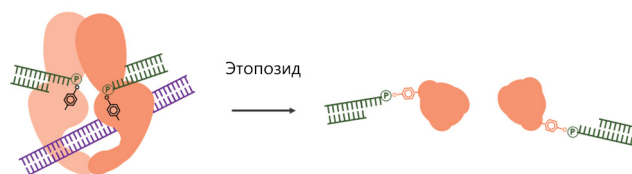


Рис. 2. Действие топоизомеразного яда (этопозид) на ДНК-топоизомеразу II, приводящее к образованию двуцепочечного разрыва ДНК с ковалентно связанной на конце ДНК субъединицей топоизомеразы — Top2cc по [48]

(Protein with SprT-like domain at the N terminus) с последующим отщеплением остатка полипептида ДНК-фосфодиэстеразой TDP2 (tyrosyl DNA phosphodiesterase 2). Нуклеолитический путь предполагает отщепление участка цепочки ДНК, на конце которого ковалентно пришит белок, с помощью эндонуклеаз систем репарации [48, 49].

В любом случае удаление топоизомеразы приводит к образованию в ДНК двуцепочечного разрыва. Множественные ДЦР приводят к запуску клеточного ответа на повреждение ДНК, что включает в себя фосфорилирование остатка S139 гистонов H2A.X, репарацию ДНК или индукцию апоптоза [50]. Действие этопозид можно зарегистрировать по появлению фосфорилированного гистона H2A.X (γ H2A.X) уже через несколько минут после обработки им клеток [51, 52]. Ряд экспериментов подтверждает ключевую роль ингибирования ДНК-топоизомеразы II в образовании транслокаций, вызванных соответствующей терапией. Так, этопозид индуцирует образование двуцепочечных разрывов в генах *AML1*, *MLL* и их партнеров, а к месту разрыва привлекаются белки репарации [52–56]. Эти разрывы локализуются в кластерах точек разрывов, обнаруженных у пациентов со вторичным лейкозом.

Рекуррентные транслокации, обнаруживаемые при лейкозах, вызванных терапией ингибиторами ДНК-топоизомераз II [57]

Ген	Транслокация	Ген-партнер	Ссылки
<i>AML1 (RUNX1)</i>	t(8;21)(q22;q22)	<i>ETO (RUNX1T1)</i>	[58–62]
	t(3;21)(q26.2;q22)	<i>MDS1-EVI1 (MECOM, PRDM3)</i>	[63, 64]
	t(1;21)(p36;q21)	<i>PRDM16</i>	[65, 66]
<i>MLL (KMT2A)</i>	t(9;11)(p22;q23)	<i>AF9 (MLLT3)</i>	[58, 60]
	t(4;11)(q21;q23)	<i>AF4 (AFF1, MLLT2)</i>	[67, 68]
	t(19;11)(q13;q23)	<i>ELL</i>	[60, 69]
	t(11;19)(q23;p13.3)	<i>ENL (MLLT1)</i>	[60, 69, 70]
	t(11;16)(q23;p13)	<i>CREBBP (CBP)</i>	[71–73]

Примечание. Указаны различные названия генов; полужирным шрифтом выделены те названия, которые приняты за официальные в современной классификации генов HUGO Gene Nomenclature Committee.

Транслокации, рекуррентные для вторичных острых миелоидных лейкозов (ОМЛ), вызванных терапией ингибиторами ДНК-топоизомеразы II. Вторичные лейкозы, вызванные терапией ингибиторами ДНК-топоизомеразы II, характеризуются транслокациями с участием генов *AML1* или *MLL*, лежащих на хромосомах 21 и 11. Причем список перестроек, которые раз за разом встречаются при этом типе лейкоза, включает лишь 8 транслокаций (таблица).

Представленный набор транслокаций отличается ограниченностью: для других опухолей характерен гораздо более широкий набор хромосомных аберраций, в том числе более широкий набор транслокаций с участием генов *AML1* и *MLL*. В данном обзоре будут рассмотрены факторы, обуславливающие возникновение транслокаций в случае лейкозов, вызванных терапией ингибиторами ДНК-топоизомераз типа II.

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ОБРАЗОВАНИЕ ХРОМОСОМНЫХ ТРАНСЛОКАЦИЙ

Поиск универсальных механизмов образования транслокаций поначалу привел к выявлению двух основных факторов, определяющих результат перестройки. Первый фактор — взаимное расположение в ядре перестраивающихся генов до момента образования в них разрыва. Чем ближе расположены локусы друг к другу в ядре, тем выше вероятность перестройки между ними. Второй фактор — подвижность перестраивающихся генов в пространстве

ядра. Чем выше подвижность концов разрывов в ядре, тем меньше на выбор партнера по перестройке будет влиять изначальное расположение перестраивающихся локусов. С одной стороны, различными методами была показана прямая корреляция между частотой формирования транслокаций и пространственной близостью перестраивающихся локусов [74–77]. С другой стороны, многие исследования подтверждают повышенную подвижность двуцепочечных разрывов в ядре, например, их кластеризацию [78–80]. Кроме того, было показано, что вероятность образования конкретных транслокаций во многом зависит от вероятности возникновения разрывов в перестраивающихся локусах [75]. Скорее всего, разные факторы важны в разной степени в случае той или иной транслокации [57, 81]. Например, в работе по наблюдению за процессом образования транслокаций в живых клетках было показано, что и изначально близкие, и далекие локусы формировали транслокации после внесения в них разрывов, однако чаще происходили транслокации между близкими локусами [82].

Далее, рассмотрим факторы, которые являются определяющими для транслокаций при вторичных лейкозах, вызванных терапией топоизомеразными ядами. Во-первых, топоизомеразные яды вызывают разрывы в неслучайных участках генома, хотя таких участков и очень много. Работы по секвенированию точек разрывов, вызванных обработкой этопозидом, показывают, что к ним в большей степени чувствительны участки в основаниях хроматиновых петель [83, 84]. Также разрывы ДНК, индуцированные этопозидом, отличаются ходом

репарации от прочих ДЦР в клетке — необходимость процессинга концов разрывов приводит к задержке начала их репарации, что способствует пространственному разделению концов разрыва. Так, флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH-анализ) с применением двуцветной пробы на разрыв (break-apart FISH probe) показывает, что при обработке клеток этопозидом начало и конец многих аллелей *MLL* и *AML1* расходятся на расстояние, детектируемое с помощью светового микроскопа (несколько сотен нанометров). Такого расхождения концов *MLL* и *AML1* не наблюдается при обработке клеток высокими дозами радиации [57]. Обычно репарация двуцепочечных разрывов осуществляется по механизму негомولوجичного соединения концов (NHEJ). Этот механизм довольно надежен, и при репарации концы разрыва сначала быстро соединяются с помощью комплекса белков и удерживаются до момента лигирования ДНК [85–87]. В случае же индукции разрывов ДНК этопозидом необходимость в процессинге ковалентного комплекса топоизомеразы с ДНК приводит к задержке формирования комплекса белков NHEJ. Это существенно повышает шансы расхождения концов разрыва в пространстве ядра и соединения их с концами другого разрыва с образованием транслокации. Похожая ситуация наблюдается при индукции разрывов эктопически экспрессируемой в клетках нуклеазой Cas9 с одновременной обработкой клеток ингибиторами белков системы NHEJ — в этом случае число транслокаций также возрастает [88].

В ситуации, когда разрывы дольше остаются не сшитыми, их концы демонстрируют и большую подвижность в пространстве ядра. Так, *in vivo* наблюдение за фокусами белка 53BP1, который связывается с разрывами ДНК, показывает более высокую подвижность разрывов, индуцированных этопозидом, по сравнению с разрывами, вызванными радиацией [89]. К свидетельствам в пользу высокой подвижности разрывов можно отнести и то, что после обработки клеток этопозидом разрывы чаще локализуются вне хромосомных территорий, в которых они находятся в норме [57, 90]. В связи с повышенной подвижностью концов разрывов для транслокаций, происходящих после воздействия этопозидом, взаимное расположение генов-партнеров в ядре уже не имеет определяющего значения. Так, 4С-анализ контактов *AML1* и *MLL* не выявляет какого-либо предпочтения для их генов-партнеров по транслокациям по сравнению с другими генами [57].

В целом, развитие опухоли — процесс, похожий на дарвиновскую эволюцию: среди клеток с различными транслокациями отбираются те, в которых образуются новые функциональные гены, влияющие на пролиферативные свойства клетки [91]. Поэтому набор наблюдаемых у пациентов транслокаций будет включать только те транслокации, которые дают клеткам пролиферативное преимущество. Далее мы рассмотрим, почему транслокации, характерные для вызванных терапией топоизомеразными ядами вторичных лейкозов, приводят к раковому перерождению бластных клеток. Для этого рассмотрим строение и функции нормальных белков *AML1* и *MLL*, а также слитых с ними белков, которые образуются в результате транслокаций с участием *AML1* и *MLL*.

МЕХАНИЗМЫ ОНКОГЕННОСТИ ТРАНСЛОКАЦИЙ С УЧАСТИЕМ ГЕНОВ *AML1* И *MLL*

Ген *AML1*. В 1991 г. был идентифицирован точный локус хромосомной перестройки t(8;21) у пациентов с острым миелоидным лейкозом. Перестраиваемый ген был, соответственно, назван *AML1* [92]. Затем ученые выяснили, что ген *AML1* гомологичен гену дрозофилы *runt*, открытому еще в 1980-е гг., и поэтому *AML1* получил второе название *RUNX1*, от Runt-related transcription factor [63]. Вскоре было обнаружено, что этот ген часто перестраивается при лейкозах, вызванных терапией ингибиторами ДНК-топоизомераз II [93, 94]. В настоящее время известно, что ген *AML1* участвует в перестройках не только при ОМЛ, но и при некоторых других видах лейкозов [63, 95].

Изоформы мРНК и белка *AML1*. Выделяют три основные изоформы белка: *AML1A*, *AML1B* и *AML1C*. Все они содержат вблизи N-конца Runt-домен (runt-homology domain, RHD), необходимый для связывания с ДНК и для гетеродимеризации *AML1* с белком *CBFβ* (core binding factor β). Гетеродимеризация с *CBFβ* повышает сродство *AML1* к ДНК, хотя сам *CBFβ* не взаимодействует с ДНК [96, 97]. Более длинные изоформы В и С содержат трансактивирующий домен (transactivation domain, TAD) и консервативный участок *VWRPY* на C-конце белка, участвующий во взаимодействии с некоторыми белками-репрессорами (рис. 3).

Нормальная функция *AML1*. Ген *AML1* экспрессируется в кроветворных клетках на протяжении всего онтогенеза [98]. Изучение его функции началось с нокаута *Aml1* у мышей. В этих работах было показано, что основную

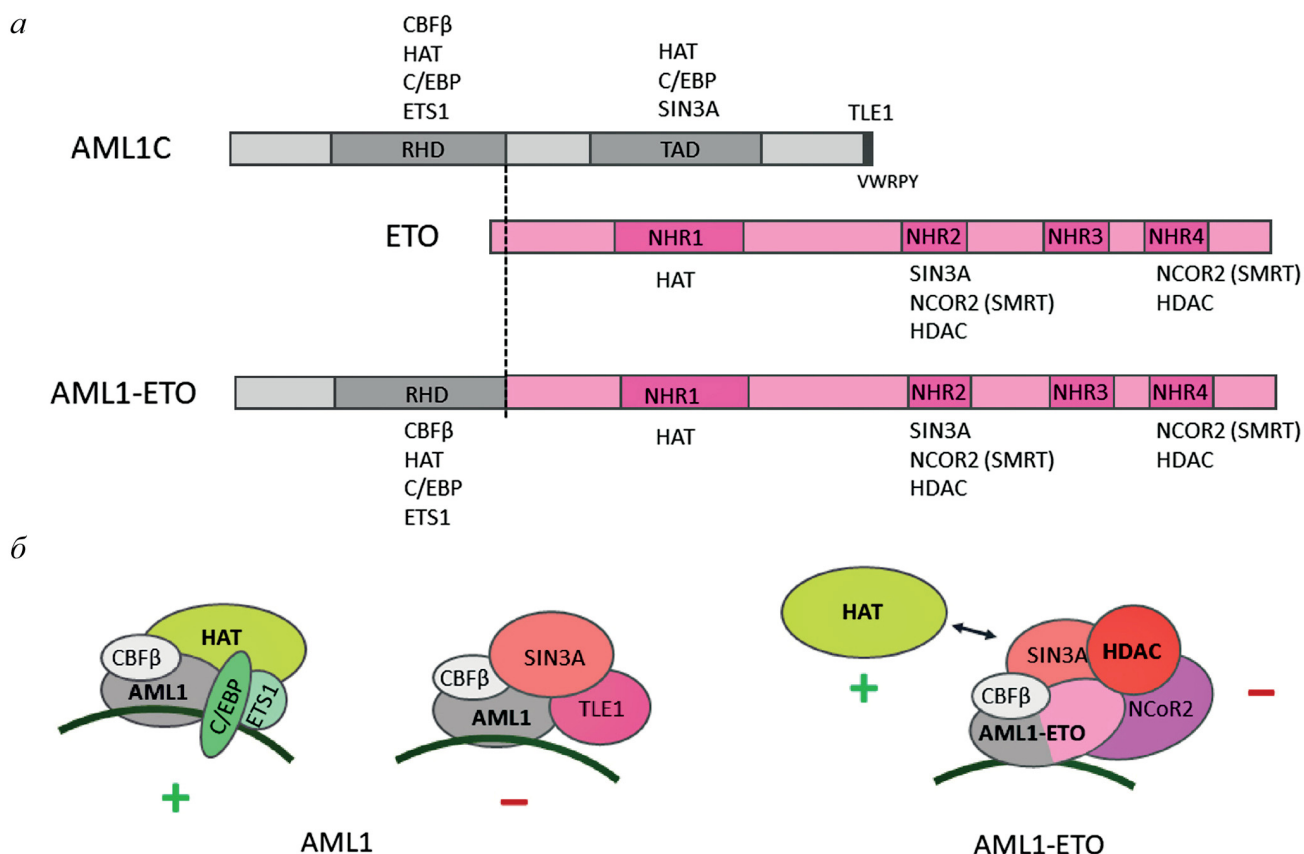


Рис. 3. Белки AML1, ETO и слитый белок AML1–ETO. *a* – Доменная структура AML1, ETO и слитого белка AML1–ETO. У AML1: RHD – runt-homology domain, TAD – трансаkтивирующий домен, на C-конце отмечен пентапептид VWRPY. У ETO: NHR1–3 – nervy homology regions, MYND – (myeloid, Nervy, and DEAF-1)-домен. Возле доменов перечислены белки, с которыми они взаимодействуют. *б* – Комплексы, формируемые на ДНК нормальным AML1 и слитым AML1–ETO. CBFβ, C/EBP, ETS1, TLE1 и SIN3A – белки, взаимодействующие с AML1 или AML1–ETO. HAT – гистонацетилтрансферазы; HDAC – гистондеацетилазы

свою роль AML1 играет при созревании гемопоэтических стволовых клеток в раннем эмбриогенезе [99–103]. Дальнейшие опыты, проведенные *in vitro* на клетках гемогенного эндотелия мыши, продемонстрировали направляющую функцию AML1 в гемопоэзе: при дифференцировке этих клеток до гемопоэтических стволовых клеток AML1 связывается с промоторами множества генов, привлекая коактиваторы или корепрессоры. AML1 активирует гены, участвующие в дифференцировке миелоидных клеток и эритроцитов, а к группе репрессируемых им принадлежат гены, играющие роль в развитии нервной системы, скелетных мышц и печени [104]. Таким образом, AML1 является многофункциональным регулятором транскрипции генов, участвующих в дифференцировке гемопоэтических клеток. Для активации генов комплекс AML1/CBFβ способен рекрутировать такие белки, как гистонацетилтрансферазы p300 и CREBBP (cyclic AMP response element binding protein), коактиватор транскрипции C/EBP (CCAAT-enhancer-binding protein), транскрипционные факторы

YAP (Yes[–киназа] associated protein), GATA-1 (названный по узнаваемой им последовательности), ETS1 (Erythroblast Transformation Specific) и другие [105–113]. А в роли рекрутируемых AML1 репрессоров выступают транскрипционные факторы TLE1 (Transducin like enhancer of split 1) и SIN3A (гомолог SIN3 дрожжей) [114, 115]. Связывание различных белков зависит от фосфорилирования AML1 и отличается у разных изоформ [115–117].

Развитие лейкозов при перестройках гена AML1. Среди партнеров AML1 при рекуррентных транслокациях, вызванных ингибиторами топоизомераз, самый частый – ген ETO (Eight twenty one), также называемый RUNX1T1 [118]. Оба названия гена отсылают к его транслокации t(8;21) с AML1 (RUNX1). Эта хромосомная транслокация встречается также при других лейкозах и в достаточной мере изучена [119]. При транслокации AML1–ETO в получающемся слитом белке присутствует N-конец от белка AML1, содержащий домен RHD. C-Конец слитого белка представлен почти полноразмерным белком ETO (рис. 3) [97].

Белок ЕТО представляет собой транскрипционный репрессор, в структуре которого присутствуют четыре консервативных участка NHR (nervy homology regions – гомологичны по последовательности белку Nervy дрозофилы) [120]. ЕТО сам по себе не связывается с ДНК – к целевому локусу он привлекается через транскрипционные факторы. А репрессия осуществляется с помощью корепрессоров, взаимодействующих с NHR-участками: NCoR1 (nuclear receptor corepressor), SMRT (silencing mediator of retinoid and thyroid receptors), SIN3A и деацетилаз гистонов [121, 122].

Ген *ETO* в норме не экспрессируется в кроветворных и лимфоидных органах [123]. Можно заключить, что образование слитого гена *AML1–ETO* приводит, во-первых, к появлению практически полноразмерного белка ЕТО в клетках, где он не должен присутствовать; а во-вторых, ЕТО за счет участка *AML1* привлекается к генам, к которым он не должен привлекаться. В итоге репрессируется транскрипция многих генов, экспрессия которых в норме регулируется транскрипционным фактором *AML1* [124–126].

В реальности ситуация сложнее – экспрессия слитого белка приводит не только к репрессии многих генов, но и к активации некоторых других генов с помощью привлекаемых белков-активаторов. Так, было показано, что ЕТО способен привлекать гистонацетилаз трансферазы с помощью первого участка NHR [127]. Вероятно, репрессирующее или активирующее действие *AML1–ETO* зависит от сигнальных каскадов, активных в данный момент в клетке, и особенностей хроматина в том месте, где находится регулируемый ген [128, 129].

Важной особенностью клеток с *t(8;21)*, полученных от пациентов, является наличие интактного аллеля *AML1*, что говорит о необходимости нормального *AML1* для клетки [130]. По-видимому, интактный *AML1* и слитый *AML1–ETO* конкурируют за связывание с промоторами генов – нокдаун *AML1–ETO* в этих клетках меняет распределение сайтов связывания нормального *AML1* [131, 132].

Также стоит отметить, что для развития лейкоза, кроме перестройки *AML1–ETO*, необходимы дополнительные мутации, по крайней мере в мышиных моделях [98, 133, 134]. Существуют данные о том, что на развитие лейкоза влияет и то, какие изоформы белка получают в результате альтернативного сплайсинга слитой мРНК [129, 135, 136]. Можно заключить, что экспрессия слитого белка *AML1–ETO* – первый шаг, который создает условия

для дальнейших преобразований клетки на пути к развитию лейкоза.

Ген *MLL*. В 1980-х гг. среди пациентов с острым лейкозом начали выделять подгруппу с крайне неблагоприятным прогнозом. С появлением проточной цитофлуориметрии было обнаружено, что бластные клетки этих агрессивных лейкозов часто экспрессируют поверхностные маркеры, свойственные как лимфоидной, так и миелоидной линиям. Иногда во время лечения наблюдалась даже смена набора этих поверхностных маркеров, и лейкоз, первоначально диагностированный как острый лимфоидный, мог рецидивировать в острый миелоидный. Соответственно, был введен термин «лейкоз смешанного фенотипа» [137–139]. Вскоре стало ясно, что для этого лейкоза характерна транслокация локуса 11q23. В 1991 г. был идентифицирован ген, который находится в точке перестройки в клетках таких пациентов. Соответственно, ген был назван *MLL*, от mixed lineage leukemia (лейкоз смешанного фенотипа). Выявленный ген оказался гомологом гена *trithorax* дрозофилы, кодирующего лизинметилтрансферазу, которая активирует Нох-гены [140, 141]. Ген *MLL* кодирует лизинметилтрансферазу 2А, и отсюда его другое название – *KMT2A* (lysine (K)-specific methyltransferase 2A).

Хромосомные транслокации с участием гена *MLL* наблюдаются примерно в 10% случаев острого миелоидного и острого лимфоидного лейкозов [142], причем среди лейкозов, вызванных терапией топоизомеразными ядами, такие транслокации составляют большую часть [24, 143, 144]. Особенно часто – до 85% случаев – перестройки *MLL* встречаются при острых лейкозах у детей первого года жизни. Также мутации этого гена обнаруживаются и при многих других видах рака: в частности, рака толстой кишки, легких, мочевого пузыря, эндометрия и при раке груди [145–148].

Экспрессия перестроившегося *MLL*, слившегося с одним из своих многочисленных генов-партнеров, достаточна для запуска событий, приводящих к развитию лейкоза, что напрямую показано на мышах [142]. Это объясняется глобальной функцией *MLL* в клетках, где он экспрессируется: комплекс белков, формирующийся на основе *MLL*, осуществляет эпигенетическую маркировку промоторов тканеспецифичных генов. Такая маркировка необходима для поддержания паттерна экспрессии этих генов в процессе пролиферации и дифференциации клеток – другими словами, *MLL* отвечает за «транскрипционную память» клеток при их делении [149].

Ген *MLL* играет важную роль в эмбриональном развитии, особенно на ранних стадиях гемопоэза, хотя и во взрослом возрасте активно экспрессируется в некоторых тканях. Особая роль *MLL* в эмбриональном развитии состоит в активации транскрипции *HOX*-генов и некоторых других генов, связанных с пролиферацией и регуляцией клеточного цикла [150–154]. Нокаут по *Mll* приводит к гибели мышей на ранних стадиях эмбриогенеза из-за нарушений гемопоэза и дифференциации гемопоэтических стволовых клеток [155–157]. Кондиционный нокаут *Mll* у мышей показывает, что во взрослом организме экспрессия *Mll* необходима клеткам костного мозга [158].

Структура белка MLL. Структура нормального белка *MLL* позволяет понять механизмы его работы в клетке и последствия образования слитых с *MLL* белков. *MLL* – крупный многодоменный белок, состоящий из 3969 аминокислот, его молекулярная масса – 500 кДа (рис. 4). Несколько доменов *MLL* отвечают за взаимодействие с определенными участками хроматина, а также с белками, работающими в комплексе с *MLL* – это домены AT-hook, CxxC, PHD. Каталитический домен осуществляет ди- и триметилирование лизина, находящегося в положении 4 полипептидной цепи гистона H3 (H3K4me2/3), что сопряжено с активацией транскрипции соответствующих генов [145]. После синтеза на рибосоме *MLL* расщепляется протеазой таспазой 1 на два полипептида – N-*MLL* и C-*MLL*, которые образуют единый комплекс, взаимодействуя доменами FYRN и FYRC [159].

На N-фрагменте *MLL* находятся все домены, отвечающие за связывание транскрибируемой ДНК. AT-hook – участок неспецифического взаимодействия белка с малой бороздкой ДНК. Домен CxxC обеспечивает уже специфическое связывание *MLL* с неметилированными CpG-динуклеотидами, которые характерны для активных промоторов [160–162]. Окружающие CxxC-домен участки – pre-CxxC и post-CxxC – важны для взаимодействия *MLL* с элонгационными факторами РНК-полимеразы II PAFc (polymerase associated factor complex) [163]. Ближе к середине белка находится домен PHD (plant homeodomain), распознающий H3K4me2/3, – метку промоторов активных генов [164–166]. Также на N-фрагменте *MLL* находится мотив для связывания адаптерных белков Menin1 и PSIP1 (PC4 [positive coactivator 4] And SFRS1 [Serine And Arginine Rich Splicing Factor 1] Interacting Protein 1; другое название белка – LEDGF/p75), которые дополнительно обеспечива-

ют привлечение *MLL* к участкам хроматина с H3K36me2/3 [167, 168].

C-Концевой фрагмент *MLL* содержит домен TAD (transactivation domain), привлекающий гистонацетилтрансферазы H3K27, H3K9 и H4K16 – p300/CREBBP, MOZ (monocytic leukemic zinc-finger protein) и MOF (назван по гомологу из дрозофилы MOF) соответственно [169]. На C-конце *MLL* находится домен SET (Su(var)3-9, Enhancer-of-zeste and Trithorax), который катализирует ди- и триметилирование H3K4 [170]. Вдобавок C-*MLL* привлекает белки WDR5 (WD repeat-containing protein 5), RbBP5 (Retinoblastoma-binding protein 5), ASH2L (Absent, small, or homeotic discs protein 2 like) и DPY30, и в составе полученного комплекса метилирующая активность SET-домена *MLL* многократно усиливается [145, 171–173].

Важным свойством *MLL*-комплекса является возможность его переключения между состояниями транскрипционного активатора и транскрипционного репрессора. Переключение происходит за счет белка CYP33 (cyclophilin 33) – пролин-изомеразы, при связывании с которой происходит *цис/транс*-изомеризация пролина в составе PHD [174]. В результате *MLL* меняет свою структуру так, что вместо узнавания H3K4me2/3 домен PHD начинает связывать деацетилазы гистонов, репрессирующие транскрипцию [175–177]. Важность этого механизма подчеркивается тем, что удаление из *MLL* участка PHD приводит к опухолевой трансформации клетки [178, 179].

Таким образом, белок *MLL* является регулятором транскрипции генов, которые несут метки активного хроматина – определенные гистоновые модификации и неметилированные CpG. В зависимости от контекста и активных сигнальных путей *MLL* записывает активирующие модификации с помощью SET-домена и привлекаемых гистоновых ацетилтрансфераз либо репрессирующие – за счет привлекаемых гистоновых деацетилаз [149]. Можно заключить, что *MLL* обеспечивает транскрипционную память при линейной дифференцировке клеток в ходе эмбрионального развития и в гемопоэзе.

Развитие лейкозов при перестройках гена MLL. Хромосомные транслокации гена *MLL* чаще всего происходят с разрывом этого гена в так называемом кластере точек разрыва, BCR (breakpoint cluster region), протяженностью около 10 т.п.н. Этот BCR захватывает интроны с 9 по 11. В структуре белка это соответствует области домена PHD. В слитых белках присутствует N-концевая часть белка *MLL*, а C-конец

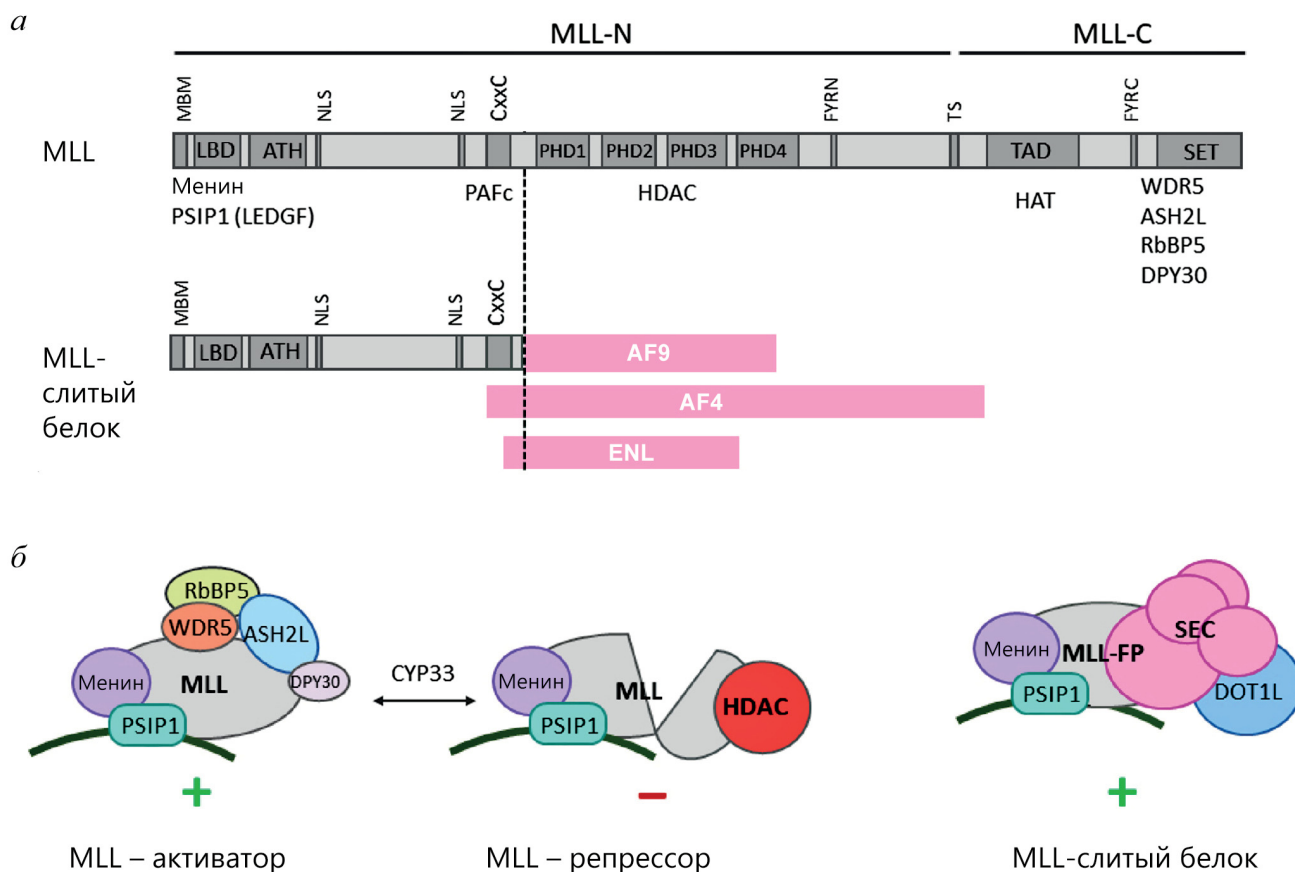


Рис. 4. Белок MLL и слитый с MLL белок. **а** – Доменная структура MLL и MLL-слитого белка. MLL-N и MLL-C – фрагменты, образующиеся при расщеплении таспазой; MBM – менин-связывающий мотив; LBD – LEDGF(PSIP1)-связывающий домен; ATH – участки AT-hook; NLS – сигналы ядерной локализации; CxxC – CxxC-домен и окружающие его участки; PHD1–4 – участки домена PHD; FYRN и FYRC – FY-rich участки N- и C-доменов; TS – сайты расщепления пре-MLL таспазой; TAD – трансаkтивирующий домен; SET – SET-домен. Возле доменов перечислены белки, с которыми они взаимодействуют. **б** – Комплексы, формируемые нормальным MLL и MLL-слитым белком (MLL-FP). Менин, PSIP1, DPY30, ASH2L, RbBP5, WDR5, DOT1L – белки, взаимодействующие с MLL и MLL-FP; HDAC – гистондеацетилазы; SEC – суперэлонгационный комплекс. По [176, 177, 181]

происходит от партнера по транслокации [56, 176, 180, 182]. Исходя из структуры MLL и функции его доменов понятно, что образование таких слитых белков принципиально нарушает функционирование комплекса на основе MLL.

Необычной особенностью транслокаций с участием гена *MLL* является то, что существует более 100 генов-партнеров *MLL* по транслокации [7]. И несмотря на такое разнообразие, большинство случаев лейкозов с транслокациями *MLL* схожи по своим клиническим проявлениям [183, 184]. Это можно объяснить, во-первых, сходными точками разрыва в слитых генах, и во-вторых, тем, что большинство пациентов с перестройкой *MLL* несут транслокации с одним из следующих генов: *ENL*, *AF9*, *AF4*, *ELL* и *AF10*, – тогда как остальные транслокации встречаются крайне редко. В частности, все транслокации *MLL*, вызванные действием ингибиторов ДНК-топоизомеразы II,

как раз происходят с этими партнерами, за исключением *MLL-CREBBP* (таблица).

Схожесть транслокаций с участием генов *ENL*, *AF9*, *AF4*, *ELL* и *AF10* объясняется тем, что они кодируют белки, образующие вместе с фактором Р-TEFb суперэлонгационный комплекс, необходимый для осуществления эффективной элонгации транскрипции РНК-полимеразой II [185, 186]. И когда MLL оказывается слит с одним из компонентов этого комплекса, то он привлекает к ДНК весь комплекс целиком, а также фактор DOT1L [187, 188]. Р-TEFb, входящий в данный комплекс, осуществляет фосфорилирование С-концевого домена РНК-полимеразы II, что стимулирует элонгацию транскрипции, а DOT1L осуществляет ди- и триметилирование H3K79 – эта метка ассоциирована с активным хроматином [189–190]. Следует также отметить, что при транслокации *MLL* теряется участок гена, который кодирует PHD-домен, отвечающий

за переключение MLL в репрессирующее состояние. В итоге остаток MLL полностью теряет способность к репрессии генов, а слитый с ним суперэлонгационный комплекс и фактор DOT1L напрямую активируют транскрипцию тех генов, с которыми связывается MLL.

Механизм развития лейкоза при транслокации MLL включает активацию транскрипции генов НохА-кластера, а также генов, кодирующих белки сигнальных путей, например, генов малой GTPазы RAC1 и рецепторной тирозинкиназы FLT3. Это приводит к опухолевой трансформации кроветворных клеток. Показано, что слитые MLL-белки стимулируют экспрессию гомеобоксных генов *HOXA*, *MEIS1* и *PBX*, генов-транскрипционных регуляторов *AML1* и *MYC* и других генов. Промоторы активированных генов содержат метки активного хроматина H3K4me3 и H3K27ac, а также имеют повышенный уровень H3K79me2 [146, 148, 191].

В случае транслокации MLL–CREBBP механизм влияния слитого белка на клетку схож — CREBBP является гистонацетилтрансферазой, которая навешивает активирующие метки на гистоны, а сам MLL разорван в том же месте, что и при описанных выше его транслокациях [133].

Также в последнее время накапливается все больше данных о том, что для развития лейкоза необходима хотя бы кратковременная экспрессия слитого гена, полученного в результате реципрокной транслокации. Например, выдвигается гипотеза, что продукт реципрокной транслокации AF4–MLL является глобальным активатором транскрипции, так как C-конец белка MLL вносит активирующие метки неспецифично, в отличие от интактного MLL [192]. Такие модификации могут привести к реактивации участков генома, которые уже были инактивированы в процессе дифференцировки клеток. В числе реактивированных могут быть гены, работающие в стволовых клетках, например, *NANOG* и *OCT4*, что было показано для клеток с транслокацией t(4;11) [193, 194]. Эксперименты показывают, что для активации хроматина достаточно экспрессии AF4–MLL в течение лишь 48 часов, при этом изменения в статусе хроматина остаются в популяции клеток надолго [195].

Таким образом, при транслокациях с участием MLL происходит потеря контроля над транскрипцией генов, работающих в первую очередь в незрелых клетках. Активируются гены, отвечающие за пролиферацию, и теряется контроль над делением клеток, что приводит к развитию лейкоза.

Общие закономерности развития лейкозов при перестройках *AML1* и *MLL*. Можно подытожить, что гены *AML1* и *MLL*, перестраиваемые в результате терапии ингибиторами ДНК-топоизомераз II, оба в норме регулируют транскрипцию в гемопоэтических клетках. А образующиеся в результате транслокации слитые AML1- и MLL-белки приводят к разбалансировке транскрипции в этих клетках. При этом, видимо, не существует единственного варианта изменения паттерна экспрессии генов — в клоне клеток с транслокацией, скорее всего, появляются клетки с разным паттерном экспрессии. И из этих эпигенетически разнообразных клеток постепенно выделяются наиболее активно делящиеся, которые становятся лейкозными клетками [196].

При развитии опухоли в клетках происходят и соматические мутации, которые могут повышать приспособленность опухолевых клонов: их возможность сопротивляться иммунной системе и повышенная скорость деления. Однако при делении клеток передаются не только мутации, но и эпигенетические метки, причем накопление эпигенетических изменений происходит гораздо быстрее, чем мутаций [197]. И эффект от изменения уровня экспрессии гена часто более масштабный, чем от точечной мутации. Поэтому клетки с транслокациями *AML1* и *MLL*, в результате которых наблюдаются масштабные эпигенетические эффекты, быстро развиваются в опасные лейкозы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вызванные терапией лейкозы — тяжелый побочный эффект терапии первичных опухолей топоизомеразными ядами. «Отравленная» ДНК-топоизомеразы типа II становится причиной образования двуцепочечных разрывов в геноме, что ведет к гибели клеток первичной опухоли. Однако в организме существуют и другие активно делящиеся клетки, например — предшественники клеток крови. Поэтому в ходе терапии топоизомеразными ядами в геноме таких клеток также возникают разрывы. В частности, разрывы возникают в генах *AML1*, *MLL* и их партнерах по перестройкам. Особый характер таких разрывов — наличие на концах разрывов ковалентно связанных субъединиц топоизомеразы — осложняет их репарацию. Концы разрывов могут отделяться друг от друга и встречаться с концами разрывов в генах-партнерах, в результате чего возникают хромосомные транслокации. Образующиеся слитые белки теряют часть функций нормальных

белков AML1 и MLL, а также приобретают новые функции, обусловленные функциональной активностью фрагментов (доменов) белков-партнеров. В результате в некоторых клетках костного мозга нарушается регуляция экспрессии генов, в норме регулируемых белками AML1 и MLL, что приводит к усилению экспрессии генов, стимулирующих пролиферацию клеток и к опухолевой трансформации клеток.

Повышенная частота встречаемости транслокаций с участием генов *AML1* и *MLL* вследствие обработки клеток ингибиторами ДНК-топоизомераз II (рекуррентный характер таких перестроек) так же, как и отличие от хромосомных aberrаций при других типах вторичных неоплазий, объясняется целым рядом факторов, а именно: повышенной частотой возникновения разрывов в этих генах при ингибировании ДНК-топоизомеразы и селективным преимуществом, которое дает клеткам экспрессия в них белковых продуктов слитых генов. При этом сложность репарации таких разрывов повышает их подвижность в ядре, что позволяет встретиться генам-партнерам, которые в норме удалены друг от друга.

Отдельно отметим, что разрывы в ДНК могут быть индуцированы и не ингибированной топоизомеразой [49], правда вероятность таких разрывов значительно меньше, чем при ингибировании топоизомеразы. Тем не менее для вторичных лейкозов, вызванных предшествующей терапией метотрексатом, характерны некоторые транслокации, характерные для лейкозов, вызванных терапией ингибиторами ДНК-топоизомеразы [198]. Влияние метотрексата на образование транслокаций еще предстоит подробно изучить, сейчас имеются предварительные данные, что он повышает вероятность транслокации *AML1-ETO* в экспериментах на клетках [88].

Несмотря на то что в последние годы было получено много экспериментальных подтверждений такого механизма развития вторичного лейкоза, ряд вопросов еще ожидает своего ответа. Среди таких вопросов: какое влияние оказывают различные партнеры по перестройкам генов *MLL* и *AML1*, а также положение точки разрыва внутри этих генов на развитие лейкоза, его клиническое проявление и прогноз? Как вещества, применяемые в терапии первичных опухолей совместно с топоизомеразными ядами, могут влиять на возникновение хромосомных транслокаций и их спектр? Ответить на эти вопросы помогут результаты экспериментов на клеточных моделях, где изучается как действие транслокаций на фенотип клеток [199, 200], так и сам процесс образования транслокаций [88, 201]. Будущие исследования на таких моделях могут не только пролить свет на эти вопросы, но также выявить способы снижения риска возникновения и развития вторичных лейкозов.

Вклад авторов. Все авторы участвовали в написании данного обзора.

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение 075-15-2021-1062) и Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Becker, M. W., and Jordan, C. T. (2011) Leukemia stem cells in 2010: Current understanding and future directions, *Blood Rev.*, **25**, 75-81, doi: 10.1016/j.blre.2010.11.001.
2. Wang, J. H. (2012) Mechanisms and impacts of chromosomal translocations in cancers, *Front. Med.*, **6**, 263-274, doi: 10.1007/s11684-012-0215-5.
3. Andersson, A. K., Ma, J., Wang, J., Chen, X., Giedman, A. L., Dang, J., Nakitandwe, J., Holmfeldt, L., Parker, M., Easton, J., Huether, R., Kriwacki, R., Rusch, M., Wu, G., Li, Y., Mulder, H., Raimondi, S., Pounds, S., Kang, G., Shi, L., Becksfort, J., Gupta, P., Payne-Turner, D., Vadodaria, B., Boggs, K., Yergeau, D., Manne, J., Song, G., Edmonson, M., Nagahawatte, P., Wei, L., Cheng, C., Pei, D., Sutton, R., Venn, N. C., Chetcuti, A., Rush, A., Catchpoole, D., Heldrup, J., Fioretos, T., Lu, C., Ding, L., Pui, C. H., Shurtleff, S., Mullighan, C. G., Mardis, E. R., Wilson, R. K., Gruber, T. A., Zhang, J., and Downing, J. R. (2015) The landscape of somatic mutations in infant MLL-rearranged acute lymphoblastic leukemias, *Nat. Genet.*, **47**, 330-337, doi: 10.1038/ng.3230.
4. Greaves, M. (2015) When one mutation is all it takes, *Cancer Cell*, **27**, 433-434, doi: 10.1016/j.ccell.2015.03.016.

5. Balgobind, B. V., Raimondi, S. C., Harbott, J., Zimmermann, M., Alonzo, T. A., Auvrignon, A., Beverloo, H. B., Chang, M., Creutzig, U., Dworzak, M. N., Forestier, E., Gibson, B., Hasle, H., Harrison, C. J., Heerema, N. A., Kaspers, G. J. L., Leszl, A., Litvinko, N., Lo Nigro, L., Morimoto, A., Perot, C., Pieters, R., Reinhardt, D., Rubnitz, J. E., Smith, F. O., Stary, J., Stasevich, I., Strehl, S., Taga, T., Tomizawa, D., Webb, D., Zemanova, Z., Zwaan, C. M., and Van Den Heuvel-Eibrink, M. M. (2009) Novel prognostic subgroups in childhood 11q23/MLL-rearranged acute myeloid leukemia: results of an international retrospective study, *Blood*, **114**, 2489-2496, doi: 10.1182/blood-2009-04-215152.
6. Döhner, H., Estey, E., Grimwade, D., Amadori, S., Appelbaum, F. R., Büchner, T., Dombret, H., Ebert, B. L., Fenaux, P., Larson, R. A., Levine, R. L., Lo-Coco, F., Naoe, T., Niederwieser, D., Ossenkoppele, G. J., Sanz, M., Sierra, J., Tallman, M. S., Tien, H. F., Wei, A. H., Löwenberg, B., and Bloomfield, C. D. (2017) Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel, *Blood*, **129**, 424-447, doi: 10.1182/blood-2016-08-733196.
7. Meyer, C., Burmeister, T., Gröger, D., Tsaur, G., Fechina, L., Renneville, A., Sutton, R., Venn, N. C., Emerenciano, M., Pombo-De-Oliveira, M. S., Barbieri Blunck, C., Almeida Lopes, B., Zuna, J., Trka, J., Ballerini, P., Lapillonne, H., De Braekeleer, M., Cazzaniga, G., Corral Abascal, L., Van Der Velden, V. H. J., Delabesse, E., Park, T. S., Oh, S. H., Silva, M. L. M., Lund-Aho, T., Juvonen, V., Moore, A. S., Heidenreich, O., Vormoor, J., Zerkalenkova, E., Olshanskaya, Y., Bueno, C., Menendez, P., Teigler-Schlegel, A., Zur Stadt, U., Lentjes, J., Göhring, G., Kustanovich, A., Aleinikova, O., Schäfer, B. W., Kubetzko, S., Madsen, H. O., Gruhn, B., Duarte, X., Gameiro, P., Lippert, E., Bidet, A., Cayuela, J. M., Clappier, E., Alonso, C. N., Zwaan, C. M., Van Den Heuvel-Eibrink, M. M., Izraeli, S., Trakhtenbrot, L., Archer, P., Hancock, J., Möricke, A., Alten, J., Schrappe, M., Stanulla, M., Strehl, S., Attarbaschi, A., Dworzak, M., Haas, O. A., Panzer-Grümayer, R., Sedék, L., Szczepa, T., Caye, A., Suarez, L., Cavé, H., and Marschalek, R. (2018) The MLL recombinome of acute leukemias in 2017, *Leukemia*, **32**, 273-284, doi: 10.1038/leu.2017.213.
8. Lomov, N., Zerkalenkova, E., Lebedeva, S., Viushkov, V., and Rubtsov, M. A. (2021) Cytogenetic and molecular genetic methods for chromosomal translocations detection with reference to the *KMT2A/MLL* gene, *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, **58**, 180-206, doi: 10.1080/10408363.2020.1844135.
9. Germini, D., Tsfasman, T., Klibi, M., El-Amine, R., Pichugin, A., Iarovaia, O. V., Bilhou-Nabera, C., Subra, F., Bou Saada, Y., Sukhanova, A., Boutboul, D., Raphaël, M., Wiels, J., Razin, S. V., Bury-Moné, S., Oksenhendler, E., Lipinski, M., and Vassetzky, Y. S. (2017) HIV Tat induces a prolonged MYC re-localization next to IGH in circulating B-cells, *Leukemia*, **31**, 2515-2522, doi: 10.1038/leu.2017.106.
10. Grande, B. M., Gerhard, D. S., Jiang, A., Griner, N. B., Abramson, J. S., Alexander, T. B., Allen, H., Ayers, L. W., Bethony, J. M., Bhatia, K., Bowen, J., Casper, C., Choi, J. K., Culibrk, L., Davidsen, T. M., Dyer, M. A., Gastier-Foster, J. M., Gesuwan, P., Greiner, T. C., Gross, T. G., Hanf, B., Harris, N. L., He, Y., Irvin, J. D., Jaffe, E. S., Jones, S. J. M., Kerchan, P., Knoetze, N., Leal, F. E., Lichtenberg, T. M., Ma, Y., Martin, J. P., Martin, M. R., Mbulaiteye, S. M., Mullighan, C. G., Mungall, A. J., Namirembe, C., Novik, K., Noy, A., Ogwang, M. D., Omoding, A., Orem, J., Reynolds, S. J., Rushton, C. K., Sandlund, J. T., Schmitz, R., Taylor, C., Wilson, W. H., Wright, G. W., Zhao, E. Y., Marra, M. A., Morin, R. D., and Staudt, L. M. (2019) Genome-wide discovery of somatic coding and noncoding mutations in pediatric endemic and sporadic Burkitt lymphoma, *Blood*, **133**, 1313-1324, doi: 10.1182/blood-2018-09-871418.
11. Lieber, M. R. (2016) Mechanisms of human lymphoid chromosomal translocations, *Nat. Rev. Cancer*, **16**, 387-398, doi: 10.1038/nrc.2016.40.
12. Roos, W. P., and Kaina, B. (2006) DNA damage-induced cell death by apoptosis, *Trends Mol. Med.*, **12**, 440-450, doi: 10.1016/j.molmed.2006.07.007.
13. Bhatia, S. (2013) Therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia, *Semin. Oncol.*, **40**, 666-675, doi: 10.1053/j.seminoncol.2013.09.013.
14. Schoch, C., Kern, W., Schnittger, S., Hiddemann, W., and Haeflrich, T. (2004) Karyotype is an independent prognostic parameter in therapy-related acute myeloid leukemia (t-AML): an analysis of 93 patients with t-AML in comparison to 1091 patients with *de novo* AML, *Leukemia*, **18**, 120-125, doi: 10.1038/sj.leu.2403187.
15. Borthakur, G., and Estey, E. E. (2007) Therapy-related acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome, *Curr. Oncol. Rep.*, **9**, 373-377, doi: 10.1007/s11912-007-0050-z.
16. Godley, L. A., and Larson, R. A. (2008) Therapy-related myeloid leukemia, *Semin. Oncol.*, **35**, 418-429, doi: 10.1053/j.seminoncol.2008.04.012.
17. Østgård, L. S. G., Medeiros, B. C., Sengeløv, H., Nørgaard, M., Andersen, M. K., Dufva, I., Friis, L. S., Kjeldsen, E., Marcher, C. W., Preiss, B., Severinsen, M., and Nørgaard, J. M. (2015) Epidemiology and clinical significance of secondary and therapy-related acute myeloid leukemia: A national population-based cohort study, *J. Clin. Oncol.*, **33**, 3641-3649, doi: 10.1200/JCO.2014.60.0890.
18. Tiruneh, T., Enawgaw, B., and Shiferaw, E. (2020) Genetic pathway in the pathogenesis of therapy-related myeloid neoplasms: a literature review, *Oncol. Ther.*, **8**, 45-57, doi: 10.1007/s40487-020-00111-7.

19. Pedersen-Bjergaard, J., Andersen, M. K., Christiansen, D. H., and Nerlov, C. (2002) Genetic pathways in therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia, *Blood*, **99**, 1909-1912, doi: 10.1182/blood.V99.6.1909.
20. Czader, M., and Orazi, A. (2009) Therapy-related myeloid neoplasms, *Am. J. Clin. Pathol.*, **132**, 410-425, doi: 10.1309/AJCPD85MCOHHCOMQ.
21. Kayser, S., Döhner, K., Krauter, J., Köhne, C.-H., Horst, H. A., Held, G., von Lilienfeld-Toal, M., Wilhelm, S., Kündgen, A., Götze, K., Rummel, M., Nachbaur, D., Schlegelberger, B., Göhring, G., Späth, D., Morlok, C., Zucknick, M., Ganser, A., Döhner, H., Schlenk, R. F., and German-Austrian AMLSG (2011) The impact of therapy-related acute myeloid leukemia (AML) on outcome in 2853 adult patients with newly diagnosed AML, *Blood*, **117**, 2137-2145, doi: 10.1182/blood-2010-08-301713.
22. McNerney, M. E., Godley, L. A., and Le Beau, M. M. (2017) Therapy-related myeloid neoplasms: When genetics and environment collide, *Nat. Rev. Cancer*, **17**, 513-527, doi: 10.1038/nrc.2017.60.
23. Ratain, M. J., and Rowley, J. D. (1992) Therapy-related acute myeloid leukemia secondary to inhibitors of topoisomerase II: From the bedside to the target genes, *Ann. Oncol.*, **3**, 107-111, doi: 10.1093/oxford-journals.annonc.a058121.
24. Mauritzson, N., Albin, M., Rylander, L., Billström, R., Ahlgren, T., Mikoczy, Z., Björk, J., Strömberg, U., Nilsson, P., Mitelman, F., Hagmar, L., and Johansson, B. (2002) Pooled analysis of clinical and cytogenetic features in treatment-related and *de novo* adult acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes based on a consecutive series of 761 patients analyzed 1976-1993 and on 5098 unselected cases reported in the literature 1974-2001, *Leukemia*, **16**, 2366-2378, doi: 10.1038/sj.leu.2402713.
25. Hande, K. R. (1998) Etoposide: four decades of development of a topoisomerase ii inhibitor, *Eur. J. Cancer*, **34**, 1514-1521, doi: 10.1016/S0959-8049(98)00228-7.
26. King, L. S., and Sullivan, M. (1946) The similarity of the effect of podophyllin and colchicine and their use in the treatment of condylomata acuminata, *Science*, **104**, 244-245, doi: 10.1126/science.104.2698.244.
27. Greenspan, E. M. (1950) Effect of alpha-peltatin, beta-peltatin, and podophyllotoxin on lymphomas and other transplanted tumors, *J. Natl. Cancer Inst.*, **10**, 1295-1333.
28. Baldwin, E. L., and Osheroff, N. (2005) Etoposide, topoisomerase II and cancer, *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents*, **5**, 363-372, doi: 10.2174/1568011054222364.
29. Burden, D. A., and Osheroff, N. (1998) Mechanism of action of eukaryotic topoisomerase II and drugs targeted to the enzyme, *Biochim. Biophys. Acta*, **1400**, 139-154, doi: 10.1016/S0167-4781(98)00132-8.
30. Wozniak, A. J., and Ross, W. E. (1983) DNA damage as a basis for 4'-demethylepipodophyllotoxin-9-(4,6-O-ethylidene-beta-D-glucopyranoside) (etoposide) cytotoxicity, *Cancer Res.*, **43**, 120-124.
31. Watson, J. D., and Crick, F. H. C. (1953) Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid, *Nature*, **171**, 964-967, doi: 10.1038/171964b0.
32. Delbrück, M. (1954) On the replication of desoxyribonucleic acid (DNA), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **40**, 783-788, doi: 10.1073/pnas.40.9.783.
33. McKie, S. J., Neuman, K. C., and Maxwell, A. (2021) DNA topoisomerases: Advances in understanding of cellular roles and multi-protein complexes via structure-function analysis, *BioEssays*, **43**, e2000286, doi: 10.1002/bies.202000286.
34. Champoux, J. J. (2001) DNA topoisomerases: structure, function, and mechanism, *Annu. Rev. Biochem.*, **70**, 369-413, doi: 10.1146/annurev.biochem.70.1.369.
35. Bliska, J. B., and Cozzarelli, N. R. (1987) Use of site-specific recombination as a probe of DNA structure and metabolism *in vivo*, *J. Mol. Biol.*, **194**, 205-218, doi: 10.1016/0022-2836(87)90369-X.
36. Zechiedrich, E. L., and Cozzarelli, N. R. (1995) Roles of topoisomerase IV and DNA gyrase in DNA unlinking during replication in *Escherichia coli*, *Genes Dev.*, **9**, 2859-2869, doi: 10.1101/gad.9.22.2859.
37. Yang, L., Wold, M. S., Li, J. J., Kelly, T. J., and Liu, L. F. (1987) Roles of DNA topoisomerases in simian virus 40 DNA replication *in vitro*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 950-954, doi: 10.1073/pnas.84.4.950.
38. Buchenau, P., Saumweber, H., and Arndt-Jovin, D. J. (1993) Consequences of topoisomerase II inhibition in early embryogenesis of *Drosophila* revealed by *in vivo* confocal laser scanning microscopy, *J. Cell Sci.*, **104** (Pt 4), 1175-1185, doi: 10.1242/jcs.104.4.1175.
39. Liu, L. F., Rowe, T. C., Yang, L., Tewey, K. M., and Chen, G. L. (1983) Cleavage of DNA by mammalian DNA topoisomerase II, *J. Biol. Chem.*, **258**, 15365-15370, doi: 10.1016/S0021-9258(17)43815-4.
40. Schmidt, B. H., Osheroff, N., and Berger, J. M. (2012) Structure of a topoisomerase II-DNA-nucleotide complex reveals a new control mechanism for ATPase activity, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **19**, 1147-1154, doi: 10.1038/nsmb.2388.
41. Nitiss, J. L. (2009) DNA topoisomerase II and its growing repertoire of biological functions, *Nat. Rev. Cancer*, **9**, 327-337, doi: 10.1038/nrc2608.
42. Bates, A. D., Berger, J. M., and Maxwell, A. (2011) The ancestral role of ATP hydrolysis in type II topoisomerases: prevention of DNA double-strand breaks, *Nucleic Acids Res.*, **39**, 6327-6339, doi: 10.1093/nar/gkr258.
43. Bush, N. G., Evans-roberts, K., and Maxwell, A. (2015) Macromolecules DNA topoisomerases, *EcoSal Plus*, **6**, 1-34, doi: 10.1128/ecosalplus.ESP-0010-2014.
44. Bax, B. D., Murshudov, G., Maxwell, A., and Germe, T. (2019) DNA topoisomerase inhibitors: trapping a DNA-cleaving machine in motion, *J. Mol. Biol.*, **431**, 3427-3449, doi: 10.1016/j.jmb.2019.07.008.

45. Vann, K. R., Oviatt, A. A., and Osheroff, N. (2021) Topoisomerase II poisons: converting essential enzymes into molecular scissors, *Biochemistry*, **60**, 1630-1641, doi: 10.1021/acs.biochem.1c00240.
46. Robinson, M. J., and Osheroff, N. (1991) Effects of antineoplastic drugs on the post-strand-passage DNA cleavage/religation equilibrium of topoisomerase II, *Biochemistry*, **30**, 1807-1813, doi: 10.1021/bi00221a012.
47. Yan, H., Tammam, M., and Liao, S. (2016) Collision of trapped topoisomerase 2 with transcription and replication: generation and repair of DNA double-strand breaks with 5' adducts, *Genes (Basel)*, **7**, 32, doi: 10.3390/genes7070032.
48. Riccio, A. A., Schellenberg, M. J., and Williams, R. S. (2020) Molecular mechanisms of topoisomerase 2 DNA-protein crosslink resolution, *Cell. Mol. Life Sci.*, **77**, 81-91, doi: 10.1007/s00018-019-03367-z.
49. Swan, R. L., Cowell, I. G., and Austin, C. A. (2022) Mechanisms to repair stalled topoisomerase II-DNA covalent complexes, *Mol. Pharmacol.*, **101**, 24-32, doi: 10.1124/molpharm.121.000374.
50. Tomicic, M. T., and Kaina, B. (2013) Topoisomerase degradation, DSB repair, p53 and IAPs in cancer cell resistance to camptothecin-like topoisomerase I inhibitors, *Biochim. Biophys. Acta Rev. Cancer*, **1835**, 11-27, doi: 10.1016/j.bbcan.2012.09.002.
51. Montecucco, A., and Biamonti, G. (2007) Cellular response to etoposide treatment, *Cancer Lett.*, **252**, 9-18, doi: 10.1016/j.canlet.2006.11.005.
52. Kantidze, O. L., and Razin, S. V. (2007) Chemotherapy-related secondary leukemias: a role for DNA repair by error-prone non-homologous end joining in topoisomerase II – induced chromosomal rearrangements, *Gene*, **391**, 76-79, doi: 10.1016/j.gene.2006.12.006.
53. Smith, K. A., Cowell, I. G., Zhang, Y., Sondka, Z., and Austin, C. A. (2014) The role of topoisomerase II beta on breakage and proximity of RUNX1 to partner alleles RUNX1T1 and EVI1, *Genes Chromosomes Cancer*, **53**, 117-128, doi: 10.1002/gcc.22124.
54. Zhang, Y., Strissel, P., Strick, R., Chen, J., Nucifora, G., Le Beau, M. M., Larson, R. A., and Rowley, J. D. (2002) Genomic DNA breakpoints in AML1/RUNX1 and ETO cluster with topoisomerase II DNA cleavage and DNase I hypersensitive sites in t(8;21) leukemia, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 3070-3075, doi: 10.1073/pnas.042702899.
55. Strissel, P. L., Strick, R., Tomek, R. J., Roe, B. A., Rowley, J. D., and Zeleznik-Le, N. J. (2000) DNA structural properties of AF9 are similar to MLL and could act as recombination hot spots resulting in MLL/AF9 translocations and leukemogenesis, *Hum. Mol. Genet.*, **9**, 1671-1679, doi: 10.1093/hmg/9.11.1671.
56. Cowell, I. G., Sondka, Z., Smith, K., Lee, K. C., Manville, C. M., Sidorczuk-Lesthuruge, M., Rance, H. A., Padgett, K., Jackson, G. H., Adachi, N., and Austin, C. A. (2012) Model for MLL translocations in therapy-related leukemia involving topoisomerase IIβ-mediated DNA strand breaks and gene proximity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 8989-8994, doi: 10.1073/pnas.1204406109.
57. Lomov, N. A., Viushkov, V. S., Ulianov, S. V., Gavrilov, A. A., Alexeyevsky, D. A., Artemov, A. V., Razin, S. V., and Rubtsov, M. A. (2022) Recurrent translocations in topoisomerase inhibitor-related leukemia are determined by the features of DNA breaks rather than by the proximity of the translocating genes, *Int. J. Mol. Sci.*, **23**, 9824, doi: 10.3390/ijms23179824.
58. Rowley, J. D., and Olney, H. J. (2002) International Workshop on the relationship of prior therapy to balanced chromosome aberrations in therapy-related myelodysplastic syndromes and acute leukemia: overview report, *Genes Chromosomes Cancer*, **33**, 331-345, doi: 10.1002/gcc.10040.
59. Pedersen-Bjergaard, J., Andersen, M. K., Andersen, M. T., and Christiansen, D. H. (2008) Genetics of therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia, *Leukemia*, **22**, 240-248, doi: 10.1038/sj.leu.2405078.
60. Imamura, T., Taga, T., Takagi, M., Kawasaki, H., Koh, K., Taki, T., Adachi, S., Manabe, A., and Ishida, Y. (2018) Nationwide survey of therapy-related leukemia in childhood in Japan, *Int. J. Hematol.*, **108**, 91-97, doi: 10.1007/s12185-018-2439-x.
61. Gustafson, S. A., Lin, P., Chen, S. S., Chen, L., Abruzzo, L. V., Luthra, R., Medeiros, L. J., and Wang, S. A. (2009) Therapy-related acute myeloid leukemia with t(8;21) (q22;q22) shares many features with *de novo* acute myeloid leukemia with t(8;21) (q22;q22) but does not have a favorable outcome, *Am. J. Clin. Pathol.*, **131**, 647-655, doi: 10.1309/AJCP5ETHDXO6NCGZ.
62. Slovak, M. L., Bedell, V., Popplewell, L., Arber, D. A., Schoch, C., and Slater, R. (2002) 21q22 balanced chromosome aberrations in therapy-related hematopoietic disorders: report from an international workshop, *Genes Chromosomes Cancer*, **33**, 379-394, doi: 10.1002/gcc.10042.
63. Sood, R., Kamikubo, Y., and Liu, P. (2017) Role of RUNX1 in hematological malignancies, *Blood*, **129**, 2070-2082, doi: 10.1182/blood-2016-10-687830.
64. Tanaka, K., Oshikawa, G., Akiyama, H., Ishida, S., Nagao, T., Yamamoto, M., and Miura, O. (2017) Acute myeloid leukemia with t(3;21)(q26.2;q22) developing following low-dose methotrexate therapy for rheumatoid arthritis and expressing two AML1/MDS1/EVI1 fusion proteins: A case report, *Oncol. Lett.*, **14**, 97-102, doi: 10.3892/ol.2017.6151.
65. Sato, Y., Izumi, T., Kanamori, H., Davis, E. M., Miura, Y., Larson, R. A., Le Beau, M. M., Ozawa, K., and Rowley, J. D. (2002) t(1;3)(p36;p21) is a recurring therapy-related translocation, *Genes Chromosomes Cancer*, **34**, 186-192, doi: 10.1002/gcc.10055.

66. Duhoux, F. P., Ameye, G., Montano-Almendras, C. P., Bahloul, K., Mozziconacci, M. J., Laibe, S., Wlodarska, I., Michaux, L., Talmant, P., Richebourg, S., Lippert, E., Speleman, F., Herens, C., Struski, S., Raynaud, S., Auger, N., Nadal, N., Rack, K., Mugneret, F., Tigaud, I., Lafage, M., Taviaux, S., Roche-Lestienne, C., Latinne, D., Libouton, J. M., Demoulin, J. B., and Poirel, H. A. (2012) PRDM16 (1p36) translocations define a distinct entity of myeloid malignancies with poor prognosis but may also occur in lymphoid malignancies, *Br. J. Haematol.*, **156**, 76-88, doi: 10.1111/j.1365-2141.2011.08918.x.
67. Andersen, M. K., Christiansen, D. H., Jensen, B. A., Ernst, P., Hauge, G., and Pedersen-Bjergaard, J. (2001) Therapy-related acute lymphoblastic leukaemia with MLL rearrangements following DNA topoisomerase II inhibitors, an increasing problem: report on two new cases and review of the literature since 1992, *Br. J. Haematol.*, **114**, 539-543, doi: 10.1046/j.1365-2141.2001.03000.x.
68. Cowell, I. G., and Austin, C. A. (2012) Mechanism of generation of therapy related leukemia in response to anti-topoisomerase II agents, *J. Environ. Res. Public Health*, **9**, 2075-2091, doi: 10.3390/ijerph9062075.
69. Moorman, A. V., Hagemeijer, A., Charrin, C., Rieder, H., and Secker-Walker, L. M. (1998) Clinical profile of 53 patients, *Leukemia*, **12**, 805-810, doi: 10.1038/sj.leu.2401016.
70. Meyer, C., Burmeister, T., Strehl, S., Schneider, B., Hubert, D., Zach, O., Haas, O., Klingebiel, T., Dingermann, T., and Marschalek, R. (2007) Spliced MLL fusions: a novel mechanism to generate functional chimeric MLL-MLLT1 transcripts in t(11;19) (q23;p13.3) leukemia, *Leukemia*, **21**, 588-590, doi: 10.1038/sj.leu.2404542.
71. Lavau, C., Du, C., Thirman, M., and Zeleznik-Le, N. (2000) Chromatin-related properties of CBP fused to MLL generate a myelodysplastic-like syndrome that evolves into myeloid leukemia, *EMBO J.*, **19**, 4655-4664, doi: 10.1093/emboj/19.17.4655.
72. Yoo, B. J., Nam, M. H., Sung, H. J., Lim, C. S., Lee, C. K., Cho, Y. J., Lee, K. N., and Yoon, S. Y. (2011) A case of therapy-related acute lymphoblastic leukemia with t(11;19) (q23;p13.3) and MLL/MLLT1 gene rearrangement, *Korean J. Lab. Med.*, **31**, 13-17, doi: 10.3343/kjlm.2011.31.1.13.
73. Xie, W., Tang, G., Wang, E., Kim, Y., Cloe, A., Shen, Q., Zhou, Y., Garcia-Manero, G., Loghavi, S., Hu, A. Y., Wang, S., Bueso-Ramos, C. E., Kantarjian, H. M., Medeiros, L. J., and Hu, S. (2020) t(11;16) (q23;p13)/KMT2A-CREBBP in hematologic malignancies: presumptive evidence of myelodysplasia or therapy-related neoplasm? *Ann. Hematol.*, **99**, 487-500, doi: 10.1007/s00277-020-03909-7.
74. Soutoglou, E., Dorn, J. F., Sengupta, K., Jasin, M., Nussenzweig, A., Ried, T., Danuser, G., and Misteli, T. (2007) Positional stability of single double-strand breaks in mammalian cells, *Nat. Cell Biol.*, **9**, 675-682, doi: 10.1038/ncb1591.
75. Zhang, Y., McCord, R. P., Ho, Y.-J., Lajoie, B. R., Hildebrand, D. G., Simon, A. C., Becker, M. S., Alt, F. W., and Dekker, J. (2012) Chromosomal translocations are guided by the spatial organization of the genome, *Cell*, **148**, 908-921, doi: 10.1016/j.cell.2012.02.002.
76. Engreitz, J. M., Agarwala, V., and Mirny, L. A. (2012) Three-dimensional genome architecture influences partner selection for chromosomal translocations in human disease, *PLoS One*, **7**, e44196, doi: 10.1371/journal.pone.0044196.
77. Sathitruangsak, C., Righolt, C. H., Klewes, L., Tung Chang, D., Kotb, R., and Mai, S. (2017) Distinct and shared three-dimensional chromosome organization patterns in lymphocytes, monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma, *Int. J. Cancer*, **140**, 400-410, doi: 10.1002/ijc.30461.
78. Falk, M., Lukasova, E., Gabrielova, B., Ondrej, V., and Kozubek, S. (2007) Chromatin dynamics during DSB repair, *Biochim. Biophys. Acta*, **1773**, 1534-1545, doi: 10.1016/j.bbamcr.2007.07.002.
79. Aymard, F., Aguirrebengoa, M., Guillou, E., Javierre, B. M., Bugler, B., Arnould, C., Rocher, V., Iacovoni, J. S., Biernacka, A., Skrzypczak, M., Ginalski, K., Rowicka, M., Fraser, P., and Legube, G. (2017) Genome-wide mapping of long-range contacts unveils clustering of DNA double-strand breaks at damaged active genes, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **24**, 353-361, doi: 10.1038/nsmb.3387.
80. Wang, H., Nakamura, M., Abbott, T. R., Zhao, D., Luo, K., Yu, C., Nguyen, C. M., Lo, A., Daley, T. P., La Russa, M., Liu, Y., and Qi, L. S. (2019) CRISPR-mediated live imaging of genome editing and transcription, *Science*, **365**, 1301-1305, doi: 10.1126/science.aax7852.
81. Ramsden, D. A., and Nussenzweig, A. (2021) Mechanisms driving chromosomal translocations: lost in time and space, *Oncogene*, **40**, 4263-4270, doi: 10.1038/s41388-021-01856-9.
82. Roukos, V., Voss, T. C., Schmidt, C. K., Lee, S., Wangsa, D., and Misteli, T. (2013) Spatial dynamics of chromosome translocations in living cells, *Science*, **341**, 660-664, doi: 10.1126/science.1237150.
83. Kantidze, O. L., and Razin, S. V. (2009) Chromatin loops, illegitimate recombination, and genome evolution, *BioEssays*, **31**, 278-286, doi: 10.1002/bies.200800165.
84. Canela, A., Maman, Y., Huang, S. N., Wutz, G., Tang, W., Zagnoli-Vieira, G., Callen, E., Wong, N., Day, A., Peters, J. M., Caldecott, K. W., Pommier, Y., and Nussenzweig, A. (2019) Topoisomerase II-induced chromosome breakage and translocation is determined by chromosome architecture and transcriptional activity, *Mol. Cell*, **75**, 252-266.e8, doi: 10.1016/j.molcel.2019.04.030.

85. Graham, T. G. W., Walter, J. C., and Loparo, J. J. (2016) Two-stage synapsis of DNA ends during non-homologous end joining, *Mol. Cell*, **61**, 850-858, doi: 10.1016/j.molcel.2016.02.010.
86. Chaplin, A. K., Hardwick, S. W., Stavridi, A. K., Buehl, C. J., Goff, N. J., Ropars, V., Liang, S., De Oliveira, T. M., Chirgadze, D. Y., Meek, K., Charbonnier, J. B., and Blundell, T. L. (2021) Cryo-EM of NHEJ super-complexes provides insights into DNA repair, *Mol. Cell*, **81**, 3400-3409.e3, doi: 10.1016/j.molcel.2021.07.005.
87. DeFazio, L. G., Stansel, R. M., Griffith, J. D., and Chu, G. (2002) Synapsis of DNA ends by DNA-dependent protein kinase, *EMBO J.*, **21**, 3192-3200, doi: 10.1093/emboj/cdf299.
88. Shmakova, A., Lomov, N., Viushkov, V., Tsfasman, T., Kozhevnikova, Y., Sokolova, D., Pokrovsky, V., Syrkina, M., Germini, D., Rubtsov, M., and Vassetzky, Y. (2023) Cell models with inducible oncogenic translocations allow to evaluate the potential of drugs to favor secondary translocations, *Cancer Commun.*, **43**, 154-158, doi: 10.1002/cac2.12370.
89. Krawczyk, P. M., Borovski, T., Stap, J., Cijssouw, T., ten Cate, R., Medema, J. P., Kanaar, R., Franken, N. A. P., and Aten, J. A. (2012) Chromatin mobility is increased at sites of DNA double-strand breaks, *J. Cell Sci.*, **125**, 2127-2133, doi: 10.1242/jcs.089847.
90. Glukhov, S. I., Rubtsov, M. A., Alexeyevsky, D. A., Alexeevski, A. V., Razin, S. V., and Iarovaia, O. V. (2013) The broken MLL gene is frequently located outside the inherent chromosome territory in human lymphoid cells treated with DNA topoisomerase II poison etoposide, *PLoS One*, **8**, e75871, doi: 10.1371/journal.pone.0075871.
91. Nowell, P. C. (1976) The clonal evolution of tumor cell populations, *Science*, **194**, 23-28, doi: 10.1126/science.959840.
92. Miyoshi, H., Shimizu, K., Kozu, T., Maseki, N., Kaneko, Y., and Ohki, M. (1991) (8;21) breakpoints on chromosome 21 in acute myeloid leukemia are clustered within a limited region of a single gene, AML1, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 10431-10434, doi: 10.1073/pnas.88.23.10431.
93. Roulston, D., Espinosa, R., Nucifora, G., Larson, R. A., Le Beau, M. M., and Rowley, J. D. (1998) CBFA2(AML1) Translocations with novel partner chromosomes in myeloid leukemias: association with prior therapy, *Blood*, **92**, 2879-2885, doi: 10.1182/blood.V92.8.2879.
94. Pedersen-Bjergaard, J., and Rowley, J. D. (1994) The balanced and the unbalanced chromosome aberrations of acute myeloid leukemia may develop in different ways and may contribute differently to malignant transformation, *Blood*, **83**, 2780-2786, doi: 10.1182/blood.V83.10.2780.2780.
95. De Braekeleer, E., Ferec, C., and De Braekeleer, M. (2009) RUNX1 translocations in malignant hemopathies, *Anticancer Res.*, **29**, 1031-1038.
96. Tahirov, T. H., and Bushweller, J. (2017) Structure and biophysics of CBFβ/RUNX and its translocation products, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **962**, 21-31, doi: 10.1007/978-981-10-3233-2_2.
97. Lam, K., and Zhang, D.-E. (2012) RUNX1 and RUNX1-ETO: roles in hematopoiesis and leukemogenesis, *Front. Biosci. Landmark Ed.*, **17**, 1120-1139, doi: 10.2741/3977.
98. Ichikawa, M., Yoshimi, A., Nakagawa, M., Nishimoto, N., Watanabe-Okochi, N., and Kurokawa, M. (2013) A role for RUNX1 in hematopoiesis and myeloid leukemia, *Int. J. Hematol.*, **97**, 726-734, doi: 10.1007/s12185-013-1347-3.
99. Chen, M. J., Yokomizo, T., Zeigler, B. M., Dzierzak, E., and Speck, N. A. (2009) Runx1 is required for the endothelial to haematopoietic cell transition but not thereafter, *Nature*, **457**, 887-891, doi: 10.1038/nature07619.
100. Ottersbach, K. (2019) Endothelial-to-haematopoietic transition: An update on the process of making blood, *Biochem. Soc. Trans.*, **47**, 591-601, doi: 10.1042/BST20180320.
101. Wang, Q., Stacy, T., Binder, M., Marin-Padilla, M., Sharpe, A. H., and Speck, N. A. (1996) Disruption of the Cbfa2 gene causes necrosis and hemorrhaging in the central nervous system and blocks definitive hematopoiesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 3444-3449, doi: 10.1073/pnas.93.8.3444.
102. Gowney, J. D., Shigematsu, H., Li, Z., Lee, B. H., Adelsperger, J., Rowan, R., Curley, D. P., Kutok, J. L., Akashi, K., Williams, I. R., Speck, N. A., and Gilliland, D. G. (2005) Loss of Runx1 perturbs adult hematopoiesis and is associated with a myeloproliferative phenotype, *Blood*, **106**, 494-504, doi: 10.1182/blood-2004-08-3280.
103. Ichikawa, M., Goyama, S., Asai, T., Kawazu, M., Nakagawa, M., Takeshita, M., Chiba, S., Ogawa, S., and Kurokawa, M. (2008) AML1/Runx1 negatively regulates quiescent hematopoietic stem cells in adult hematopoiesis, *J. Immunol.*, **180**, 4402-4408, doi: 10.4049/jimmunol.180.7.4402.
104. Tanaka, Y., Joshi, A., Wilson, N. K., Kinston, S., Nishikawa, S., and Göttgens, B. (2012) The transcriptional programme controlled by Runx1 during early embryonic blood development, *Dev. Biol.*, **366**, 404-419, doi: 10.1016/j.ydbio.2012.03.024.
105. Yamagata, T., Maki, K., and Mitani, K. (2005) Runx1/AML1 in normal and abnormal hematopoiesis, *Int. J. Hematol.*, **82**, 1-8, doi: 10.1532/IJH97.05075.
106. Elagib, K. E., Racke, F. K., Mogass, M., Khetawat, R., Delehanty, L. L., and Goldfarb, A. N. (2003) RUNX1 and GATA-1 coexpression and cooperation in megakaryocytic differentiation, *Blood*, **101**, 4333-4341, doi: 10.1182/blood-2002-09-2708.
107. Kim, W. Y., Sieweke, M., Ogawa, E., Wee, H. J., Englmeier, U., Graf, T., and Yoshiaki, I. (1999) Mutual activation of Ets-1 and AML1 DNA binding by direct

- interaction of their autoinhibitory domains, *EMBO J.*, **18**, 1609-1620, doi: 10.1093/emboj/18.6.1609.
108. Zhang, D. E., Hetherington, C. J., Meyers, S., Rhoades, K. L., Larson, C. J., Chen, H. M., Hiebert, S. W., and Tenen, D. G. (1996) CCAAT enhancer-binding protein (C/EBP) and AML1 (CBF alpha2) synergistically activate the macrophage colony-stimulating factor receptor promoter, *Mol. Cell. Biol.*, **16**, 1231-1240, doi: 10.1128/MCB.16.3.1231.
 109. Kitabayashi, I., Yokoyama, A., Shimizu, K., and Ohki, M. (1998) Interaction and functional cooperation of the leukemia-associated factors AML1 and p300 in myeloid cell differentiation, *EMBO J.*, **17**, 2994-3004, doi: 10.1093/emboj/17.11.2994.
 110. Yagi, R., Chen, L. F., Shigesada, K., Murakami, Y., and Ito, Y. (1999) A WW domain-containing Yes-associated protein (YAP) is a novel transcriptional co-activator, *EMBO J.*, **18**, 2551-2562, doi: 10.1093/emboj/18.9.2551.
 111. Segrelles, C., Paramio, J. M., and Lorz, C. (2018) The transcriptional co-activator YAP: A new player in head and neck cancer, *Oral Oncol.*, **86**, 25-32, doi: 10.1016/j.oraloncology.2018.08.020.
 112. Riddell, A., McBride, M., Braun, T., Nicklin, S. A., Cameron, E., Loughrey, C. M., and Martin, T. P. (2020) RUNX1: an emerging therapeutic target for cardiovascular disease, *Cardiovasc. Res.*, **116**, 1410-1423, doi: 10.1093/cvr/cvaa034.
 113. Kellaway, S. G., Coleman, D. J. L., Cockerill, P. N., Raghavan, M., and Bonifer, C. (2022) Molecular basis of hematological disease caused by inherited or acquired RUNX1 mutations, *Exp. Hematol.*, **111**, 1-12, doi: 10.1016/j.exphem.2022.03.009.
 114. Lutterbach, B., Westendorf, J. J., Linggi, B., Isaac, S., Seto, E., and Hiebert, S. W. (2000) A mechanism of repression by acute myeloid leukemia-1, the target of multiple chromosomal translocations in acute leukemia, *J. Biol. Chem.*, **275**, 651-656, doi: 10.1074/jbc.275.1.651.
 115. Imai, Y., Kurokawa, M., Yamaguchi, Y., Izutsu, K., Nitta, E., Mitani, K., Satake, M., Noda, T., Ito, Y., and Hirai, H. (2004) The corepressor mSin3A regulates phosphorylation-induced activation, intranuclear location, and stability of AML1, *Mol. Cell. Biol.*, **24**, 1033-1043, doi: 10.1128/MCB.24.3.1033-1043.2004.
 116. Seo, W., Tanaka, H., Miyamoto, C., Levanon, D., Groner, Y., and Taniuchi, I. (2012) Roles of VWRPY motif-mediated gene repression by Runx proteins during T-cell development, *Immunol. Cell Biol.*, **90**, 827-830, doi: 10.1038/icb.2012.6.
 117. Alkadi, H., McKellar, D., Zhen, T., Karpova, T., Garrett, L. J., Gao, Y., Alsadhan, A. A., Kwon, E. M., Greene, J. J., Ball, D. A., Cheng, L., Sorrell, A. D., and Liu, P. P. (2018) The VWRPY domain is essential for RUNX1 function in hematopoietic progenitor cell maturation and megakaryocyte differentiation, *Blood*, **132** (Supplement 1), 1319, doi: 10.1182/blood-2018-99-113400.
 118. Huret, J. L., Ahmad, M., Arsaban, M., Bernheim, A., Cigna, J., Desangles, F., Guignard, J. C., Jacquemot-Perbal, M. C., Labarussias, M., Leberre, V., Malo, A., Morel-Pair, C., Mossafa, H., Potier, J. C., Texier, G., Vigui, F., Wan-Senon, S. Y. C., Zasadzinski, A., and Dessen, P. (2013) Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology in 2013, *Nucleic Acids Res.*, **41**, D920-D924, doi: 10.1093/nar/gks1082.
 119. Peterson, L. F., and Zhang, D. E. (2004) The 8;21 translocation in leukemogenesis, *Oncogene*, **23**, 4255-4262, doi: 10.1038/sj.onc.1207727.
 120. Davis, J. N., McGhee, L., and Meyers, S. (2003) The ETO (MTG8) gene family, *Gene*, **303**, 1-10, doi: 10.1016/S0378-1119(02)01172-1.
 121. Hiebert, S. W., Reed-Inderbitzin, E. F., Amann, J., Irvin, B., Durst, K., and Linggi, B. (2003) The t(8;21) fusion protein contacts co-repressors and histone deacetylases to repress the transcription of the p14ARF tumor suppressor, *Blood Cells Mol. Dis.*, **30**, 177-183, doi: 10.1016/S1079-9796(03)00021-4.
 122. Hayashi, Y., Harada, Y., and Harada, H. (2022) Myeloid neoplasms and clonal hematopoiesis from the RUNX1 perspective, *Leukemia*, **36**, 1203-1214, doi: 10.1038/s41375-022-01548-7.
 123. Uhlén, M., Fagerberg, L., Hallström, B. M., Lindskog, C., Oksvold, P., Mardinoglu, A., Sivertsson, Å., Kampf, C., Sjöstedt, E., Asplund, A., Olsson, I. M., Edlund, K., Lundberg, E., Navani, S., Szgyarto, C. A. K., Odeberg, J., Djureinovic, D., Takanen, J. O., Hober, S., Alm, T., Edqvist, P. H., Berling, H., Tegel, H., Mulder, J., Rockberg, J., Nilsson, P., Schwenk, J. M., Hamsten, M., Von Feilitzen, K., Forsberg, M., Persson, L., Johansson, F., Zwahlen, M., Von Heijne, G., Nielsen, J., and Pontén, F. (2015) Tissue-based map of the human proteome, *Science*, **347**, 1260419, doi: 10.1126/science.1260419.
 124. Perry, C., Eldor, A., and Soreq, H. (2002) Runx1/AML1 in leukemia: disrupted association with diverse protein partners, *Leuk. Res.*, **26**, 221-228, doi: 10.1016/S0145-2126(01)00128-X.
 125. Gelmetti, V., Zhang, J., Fanelli, M., Minucci, S., Pelicci, P. G., and Lazar, M. A. (1998) Aberrant recruitment of the nuclear receptor corepressor-histone deacetylase complex by the acute myeloid leukemia fusion partner ETO, *Mol. Cell. Biol.*, **18**, 7185-7191, doi: 10.1128/MCB.18.12.7185.
 126. Lutterbach, B., Westendorf, J. J., Linggi, B., Patten, A., Moniwa, M., Davie, J. R., Huynh, K. D., Bardwell, V. J., Lavinsky, R. M., Rosenfeld, M. G., Glass, C., Seto, E., and Hiebert, S. W. (1998) ETO, a target of t(8;21) in acute leukemia, interacts with the N-CoR and mSin3 corepressors, *Mol. Cell. Biol.*, **18**, 7176-7184, doi: 10.1128/MCB.18.12.7176.
 127. Wang, L., Gural, A., Sun, X. J., Zhao, X., Perna, F., Huang, G., Hatlen, M. A., Vu, L., Liu, F., Xu, H., Asai, T., Xu, H., Deblasio, T., Menendez, S., Voza, F., Jiang, Y., Cole, P. A., Zhang, J., Melnick, A.,

- Roeder, R. G., and Nimer, S. D. (2011) The leukemogenicity of AML1-ETO is dependent on site-specific lysine acetylation, *Science*, **333**, 765-769, doi: 10.1126/science.1201662.
128. Otálora-Otálora, B. A., Henríquez, B., López-Kleine, L., and Rojas, A. (2019) RUNX family: oncogenes or tumor suppressors (review), *Oncol. Rep.*, **42**, 3-19, doi: 10.3892/or.2019.7149.
129. Rejeski, K., Duque-Afonso, J., and Lübbert, M. (2021) AML1/ETO and its function as a regulator of gene transcription via epigenetic mechanisms, *Oncogene*, **40**, 5665-5676, doi: 10.1038/s41388-021-01952-w.
130. Ben-Ami, O., Friedman, D., Leshkowitz, D., Goldenberg, D., Orlovsky, K., Pencovich, N., Lotem, J., Tanay, A., and Groner, Y. (2013) Addiction of t(8;21) and inv(16) acute myeloid leukemia to native RUNX1, *Cell Rep.*, **4**, 1131-1143, doi: 10.1016/j.celrep.2013.08.020.
131. Van der Kouwe, E., and Staber, P. B. (2019) RUNX1-ETO: Attacking the epigenome for genomic instable Leukemia, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 350, doi: 10.3390/ijms20020350.
132. Ptasinska, A., Assi, S. A., Mannari, D., James, S. R., Williamson, D., Dunne, J., Hoogenkamp, M., Wu, M., Care, M., McNeill, H., Cauchy, P., Cullen, M., Tooze, R. M., Tenen, D. G., Young, B. D., Cockerill, P. N., Westhead, D. R., Heidenreich, O., and Bonifer, C. (2012) Depletion of RUNX1/ETO in t(8;21) AML cells leads to genome-wide changes in chromatin structure and transcription factor binding, *Leukemia*, **26**, 1829-1841, doi: 10.1038/leu.2012.49.
133. Yuan, Y., Zhou, L., Miyamoto, T., Iwasaki, H., Harakawa, N., Hetherington, C. J., Burel, S. A., Lagasse, E., Weissman, I. L., Akashi, K., and Zhang, D.-E. (2001) AML1-ETO expression is directly involved in the development of acute myeloid leukemia in the presence of additional mutations, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 10398-10403, doi: 10.1073/pnas.171321298.
134. Higuchi, M., O'Brien, D., Kumaravelu, P., Lenny, N., Yeoh, E. J., and Downing, J. R. (2002) Expression of a conditional AML1-ETO oncogene bypasses embryonic lethality and establishes a murine model of human t(8;21) acute myeloid leukemia, *Cancer Cell*, **1**, 63-74, doi: 10.1016/S1535-6108(02)00016-8.
135. Kozu, T., Fukuyama, T., Yamami, T., Akagi, K., and Kaneko, Y. (2005) MYND-less splice variants of AML1-MTG8 (RUNX1=CBFA2T1) are expressed in leukemia with t(8;21), *Genes Chromosomes Cancer*, **43**, 45-53, doi: 10.1002/gcc.20165.
136. Yan, M., Kanbe, E., Peterson, L. F., Boyapati, A., Miao, Y., Wang, Y., Chen, I. M., Chen, Z., Rowley, J. D., Willman, C. L., and Zhang, D. E. (2006) A previously unidentified alternatively spliced isoform of t(8;21) transcript promotes leukemogenesis, *Nat. Med.*, **12**, 945-949, doi: 10.1038/nm1443.
137. Slany, R. K. (2009) The molecular biology of mixed lineage leukemia, *Haematologica*, **94**, 984-993, doi: 10.3324/haematol.2008.002436.
138. Mirro, J., Zipf, T. F., Pui, C. H., Kitchingman, G., Williams, D., Melvin, S., Murphy, S. B., and Stass, S. (1985) Acute mixed lineage leukemia: Clinicopathologic correlations and prognostic significance, *Blood*, **66**, 1115-1123, doi: 10.1182/blood.V66.5.1115.1115.
139. Mirro, J., Kitchingman, G. R., Williams, D. L., Murphy, S. B., Zipf, T. F., and Stass, S. A. (1986) Mixed lineage leukemia: the implications for hematopoietic differentiation, *Blood*, **68**, 597-599, doi: 10.1182/blood.V68.2.597.597.
140. Ziemer-Van Der Poel, S., McCabe, N. R., Gill, H. J., Espinosa, R., Patel, Y., Harden, A., Rubinelli, P., Smith, S. D., Lebeau, M. M., Rowley, I. D., and Diaz, M. O. (1991) Identification of a gene, MLL, that spans the breakpoint in 11q23 translocations associated with human leukemias, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 10735-10739, doi: 10.1073/pnas.88.23.10735.
141. Djabali, M., Selleri, L., Parry, P., Bower, M., Young, B. D., and Evans, G. A. (1992) A trithorax-like gene is interrupted by chromosome 11q23 translocations in acute leukaemias, *Nat. Genet.*, **2**, 113-118, doi: 10.1038/ng1092-113.
142. Marschalek, R. (2011) Mechanisms of leukemogenesis by MLL fusion proteins, *Br. J. Haematol.*, **152**, 141-154, doi: 10.1111/j.1365-2141.2010.08459.x.
143. Super, H. J. G., McCabe, N. R., Thirman, M. J., Larson, R. A., Le Beau, M. M., Pedersen-Bjergaard, J., Philip, P., Diaz, M. O., and Rowley, J. D. (1993) Rearrangements of the MLL gene in therapy-related acute myeloid leukemia in patients previously treated with agents targeting DNA-topoisomerase II, *Blood*, **82**, 3705-3711, doi: 10.1182/blood.V82.12.3705.3705.
144. Felix, C. A. (1998) Secondary leukemias induced by topoisomerase-targeted drugs, *Biochim. Biophys. Acta*, **1400**, 233-255, doi: 10.1016/S0167-4781(98)00139-0.
145. Rao, R. C., and Dou, Y. (2015) Hijacked in cancer: The KMT2 (MLL) family of methyltransferases, *Nat. Rev. Cancer*, **15**, 334-346, doi: 10.1038/nrc3929.
146. Borkhardt, A., Wuchter, C., Viehmann, S., Pils, S., Teigler-Schlegel, A., Stanulla, M., Zimmermann, M., Ludwig, W. D., Janka-Schaub, G., Schrappe, M., and Harbott, J. (2002) Infant acute lymphoblastic leukemia – combined cytogenetic, immunophenotypic and molecular analysis of 77 cases, *Leukemia*, **16**, 1685-1690, doi: 10.1038/sj.leu.2402595.
147. Pieters, R., Schrappe, M., De Lorenzo, P., Hann, I., De Rossi, G., Felice, M., Hovi, L., LeBlanc, T., Szczepanski, T., Ferster, A., Janka, G., Rubnitz, J., Silverman, L., Stary, J., Campbell, M., Li, C. K., Mann, G., Suppiah, R., Biondi, A., Vora, A., and Valsecchi, M. G. (2007) A treatment protocol for infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukaemia (Interfant-99): an observational study and

- a multicentre randomised trial, *Lancet*, **370**, 240-250, doi: 10.1016/S0140-6736(07)61126-X.
148. Creutzig, U., Zimmermann, M., Dworzak, M., Bourquin, J.-P., von Neuhoff, C., Sander, A., Sary, J., and Reinhardt, D. (2012) Additional prognostic impact of specific sites of extramedullary leukemia in pediatric AML with MLL-rearrangements but not in core-binding factor (CBF) AML, *Blood*, **120**, 2621, doi: 10.1182/blood.V120.21.2621.2621.
 149. Marschalek, R. (2016) Systematic classification of mixed-lineage leukemia fusion partners predicts additional cancer pathways, *Ann. Lab. Med.*, **36**, 85-100, doi: 10.3343/alm.2016.36.2.85.
 150. Liu, H., Cheng, E. H. Y., and Hsieh, J. J. D. (2009) MLL fusions: pathways to leukemia, *Cancer Biol. Ther.*, **8**, 1204-1211, doi: 10.4161/cbt.8.13.8924.
 151. Guenther, M. G., Jenner, R. G., Chevalier, B., Nakamura, T., Croce, C. M., Canaani, E., and Young, R. A. (2005) Global and Hox-specific roles for the MLL1 methyltransferase, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 8603-8608, doi: 10.1073/pnas.0503072102.
 152. Ayton, P. M., and Cleary, M. L. (2003) Transformation of myeloid progenitors by MLL oncoproteins is dependent on Hoxa7 and Hoxa9, *Genes Dev.*, **17**, 2298-2307, doi: 10.1101/gad.1111603.
 153. Wang, P., Lin, C., Smith, E. R., Guo, H., Sanderson, B. W., Wu, M., Gogol, M., Alexander, T., Seidel, C., Wiedemann, L. M., Ge, K., Krumlauf, R., and Shilatifard, A. (2009) Global analysis of H3K4 methylation defines MLL family member targets and points to a role for MLL1-mediated H3K4 methylation in the regulation of transcriptional initiation by RNA polymerase II, *Mol. Cell. Biol.*, **29**, 6074-6085, doi: 10.1128/MCB.00924-09.
 154. Artinger, E. L., Mishra, B. P., Zaffuto, K. M., Li, B. E., Chung, E. K. Y., Moore, A. W., Chen, Y., Cheng, C., and Ernst, P. (2013) An MLL-dependent network sustains hematopoiesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 12000-12005, doi: 10.1073/pnas.1301278110.
 155. Yu, B. D., Hess, J. L., Horning, S. E., Brown, G. A. J., and Korsmeyer, S. J. (1995) Altered Hox expression and segmental identity in *Mll*-mutant mice, *Nature*, **378**, 505-508, doi: 10.1038/378505a0.
 156. Yagi, H., Deguchi, K., Aono, A., Tani, Y., Kishimoto, T., and Komori, T. (1998) Growth disturbance in fetal liver hematopoiesis of *Mll*-mutant mice, *Blood*, **92**, 108-117, doi: 10.1182/blood.V92.1.108.413k11_108_117.
 157. Ernst, P., Fisher, J. K., Avery, W., Wade, S., Foy, D., and Korsmeyer, S. J. (2004) Definitive hematopoiesis requires the mixed-lineage leukemia gene, *Dev. Cell*, **6**, 437-443, doi: 10.1016/S1534-5807(04)00061-9.
 158. McMahon, K. A., Hiew, S. Y. L., Hadjur, S., Veiga-Fernandes, H., Menzel, U., Price, A. J., Kioussis, D., Williams, O., and Brady, H. J. M. (2007) *Mll* has a critical role in fetal and adult hematopoietic stem cell self-renewal, *Cell Stem Cell*, **1**, 338-345, doi: 10.1016/j.stem.2007.07.002.
 159. García-Alai, M. M., Allen, M. D., Joerger, A. C., and Bycroft, M. (2010) The structure of the FYR domain of transforming growth factor beta regulator 1, *Protein Sci.*, **19**, 1432-1438, doi: 10.1002/pro.404.
 160. Birke, M., Schreiner, S., García-Cuellar, M.-P., Mahr, K., Titgemeyer, F., and Slany, R. K. (2002) The MT domain of the proto-oncoprotein MLL binds to CpG-containing DNA and discriminates against methylation, *Nucleic Acids Res.*, **30**, 958-965, doi: 10.1093/nar/30.4.958.
 161. Allen, M. D., Grummitt, C. G., Hilcenko, C., Min, S. Y., Tonkin, L. M., Johnson, C. M., Freund, S. M., Bycroft, M., and Warren, A. J. (2006) Solution structure of the nonmethyl-CpG-binding CXXC domain of the leukaemia-associated MLL histone methyltransferase, *EMBO J.*, **25**, 4503-4512, doi: 10.1038/sj.emboj.7601340.
 162. Risner, L. E., Kuntimaddi, A., Lokken, A. A., Achille, N. J., Birch, N. W., Schoenfelt, K., Bushweller, J. H., and Zeleznik-Le, N. J. (2013) Functional specificity of CpG DNA-binding CXXC domains in mixed lineage leukemia, *J. Biol. Chem.*, **288**, 29901-29910, doi: 10.1074/jbc.M113.474858.
 163. Muntean, A. G., Tan, J., Sitwala, K., Huang, Y., Bronstein, J., Connelly, J. A., Basrur, V., Elenitoba-Johnson, K. S. J., and Hess, J. L. (2010) The PAF complex synergizes with MLL fusion proteins at HOX loci to promote leukemogenesis, *Cancer Cell*, **17**, 609-621, doi: 10.1016/j.ccr.2010.04.012.
 164. Wang, Z., Song, J., Milne, T. A., Wang, G. G., Li, H., Allis, C. D., and Patel, D. J. (2010) Pro isomerization in MLL1 PHD3-bromo cassette connects H3K4me readout to Cyp33 and HDAC-mediated repression, *Cell*, **141**, 1183-1194, doi: 10.1016/j.cell.2010.05.016.
 165. Chang, P. Y., Hom, R. A., Musselman, C. A., Zhu, L., Kuo, A., Gozani, O., Kutateladze, T. G., and Cleary, M. L. (2010) Binding of the MLL PHD3 finger to histone H3K4me3 is required for MLL-dependent gene transcription, *J. Mol. Biol.*, **400**, 137-144, doi: 10.1016/j.jmb.2010.05.005.
 166. Roloff, T. C., Ropers, H. H., and Nuber, U. A. (2003) Comparative study of methyl-CpG-binding domain proteins, *BMC Genomics*, **4**, 1, doi: 10.1186/1471-2164-4-1.
 167. Yokoyama, A., and Cleary, M. L. (2008) Menin critically links MLL protein with LEDGF on cancer-associated target genes, *Cancer Cell*, **14**, 36-46, doi: 10.1016/j.ccr.2008.05.003.
 168. Hughes, C. M., Rozenblatt-Rosen, O., Milne, T. A., Copeland, T. D., Levine, S. S., Lee, J. C., Hayes, D. N., Shanmugam, K. S., Bhattacharjee, A., Biondi, C. A., Kay, G. F., Hayward, N. K., Hess, J. L., and Meyer-son, M. (2004) Menin associates with a trithorax family histone methyltransferase complex and with the Hoxc8 locus, *Mol. Cell*, **13**, 587-597, doi: 10.1016/S1097-2765(04)00081-4.

169. Slany, R. K. (2016) The molecular mechanics of mixed lineage leukemia, *Oncogene*, **35**, 5215-5223, doi: 10.1038/onc.2016.30.
170. Del Rizzo, P. A., and Trievel, R. C. (2011) Substrate and product specificities of SET domain methyltransferases, *Epigenetics*, **6**, 1059-1067, doi: 10.4161/epi.6.9.16069.
171. Dou, Y., Milne, T. A., Ruthenburg, A. J., Lee, S., Lee, J. W., Verdine, G. L., Allis, C. D., and Roeder, R. G. (2006) Regulation of MLL1 H3K4 methyltransferase activity by its core components, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **13**, 713-719, doi: 10.1038/nsmb1128.
172. Patel, A., Dharmarajan, V., Vought, V. E., and Cosgrove, M. S. (2009) On the mechanism of multiple lysine methylation by the human mixed lineage leukemia protein-1 (MLL1) core complex, *J. Biol. Chem.*, **284**, 24242-24256, doi: 10.1074/jbc.M109.014498.
173. Li, Y., Han, J., Zhang, Y., Cao, F., Liu, Z., Li, S., Wu, J., Hu, C., Wang, Y., Shuai, J., Chen, J., Cao, L., Li, D., Shi, P., Tian, C., Zhang, J., Dou, Y., Li, G., Chen, Y., and Lei, M. (2016) Structural basis for activity regulation of MLL family methyltransferases, *Nature*, **530**, 447-452, doi: 10.1038/nature16952.
174. Lloyd, N. R., and Wuttke, D. S. (2021) Cyp33 binds AU-rich RNA motifs via an extended interface that competitively disrupts the gene repressive Cyp33-MLL1 interaction *in vitro*, *PLoS One*, **16**, 1-18, doi: 10.1371/journal.pone.0237956.
175. Fair, K., Anderson, M., Bulanova, E., Mi, H., Tropschug, M., and Diaz, M. O. (2001) Protein interactions of the MLL PHD fingers modulate MLL target gene regulation in human cells, *Mol. Cell. Biol.*, **21**, 3589-3597, doi: 10.1128/MCB.21.10.3589-3597.2001.
176. Xia, Z. B., Anderson, M., Diaz, M. O., and Zeleznik-Le, N. J. (2003) MLL repression domain interacts with histone deacetylases, the polycomb group proteins HPC2 and BMI-1, and the corepressor C-terminal-binding protein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 8342-8347, doi: 10.1073/pnas.1436338100.
177. Grow, E. J., and Wysocka, J. (2010) Flipping MLL1's switch one proline at a time, *Cell*, **141**, 1108-1110, doi: 10.1016/j.cell.2010.06.013.
178. Sha, L., Ayoub, A., Cho, U. S., and Dou, Y. (2020) Insights on the regulation of the MLL/SET1 family histone methyltransferases, *Biochim. Biophys. Acta Gene Regul. Mech.*, **1863**, 194561, doi: 10.1016/j.bbagr.2020.194561.
179. Chen, J., Santillan, D. A., Koonce, M., Wei, W., Luo, R., Thirman, M. J., Zeleznik-Le, N. J., and Diaz, M. O. (2008) Loss of MLL PHD finger 3 is necessary for MLL-ENL-induced hematopoietic stem cell immortalization, *Cancer Res.*, **68**, 6199-6207, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6514.
180. Chan, A. K. N., and Chen, C. W. (2019) Rewiring the epigenetic networks in MLL-rearranged leukemias: Epigenetic dysregulation and pharmacological interventions, *Front. Cell Dev. Biol.*, **7**, 1-15, doi: 10.3389/fcell.2019.00081.
181. Han, Q. L., Zhang, X. L., Ren, P. X., Mei, L. H., Lin, W. H., Wang, L., Cao, Y., Li, K., and Bai, F. (2022) Discovery, evaluation and mechanism study of WDR5-targeted small molecular inhibitors for neuroblastoma, *Acta Pharmacol. Sin.*, **44**, 877-887, doi: 10.1038/s41401-022-00999-z.
182. Wright, R. L., and Vaughan, A. T. M. (2014) A systematic description of MLL fusion gene formation, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **91**, 283-291, doi: 10.1016/j.critrevonc.2014.03.004.
183. Ross, M. E., Zhou, X., Song, G., Shurtleff, S. A., Girtman, K., Williams, W. K., Liu, H. C., Mahfouz, R., Raimondi, S. C., Lenny, N., Patel, A., and Downing, J. R. (2003) Classification of pediatric acute lymphoblastic leukemia by gene expression profiling, *Blood*, **102**, 2951-2959, doi: 10.1182/blood-2003-01-0338.
184. Ferrando, A. A., Armstrong, S. A., Neuberg, D. S., Sallan, S. E., Silverman, L. B., Korsmeyer, S. J., and Look, A. T. (2003) Gene expression signatures in MLL-rearranged T-lineage and B-precursor acute leukemias: dominance of HOX dysregulation, *Blood*, **102**, 262-268, doi: 10.1182/blood-2002-10-3221.
185. Lin, C., Smith, E. R., Takahashi, H., Lai, K. C., Martin-Brown, S., Florens, L., Washburn, M. P., Conaway, J. W., Conaway, R. C., and Shilatifard, A. (2010) AFF4, a component of the ELL/P-TEFb elongation complex and a shared subunit of MLL chimeras, can link transcription elongation to leukemia, *Mol. Cell*, **37**, 429-437, doi: 10.1016/j.molcel.2010.01.026.
186. Yokoyama, A., Lin, M., Naresh, A., Kitabayashi, I., and Cleary, M. L. (2010) A higher-order complex containing AF4 and ENL family proteins with P-TEFb facilitates oncogenic and physiologic MLL-dependent transcription, *Cancer Cell*, **17**, 198-212, doi: 10.1016/j.ccr.2009.12.040.
187. Bitoun, E., Oliver, P. L., and Davies, K. E. (2007) The mixed-lineage leukemia fusion partner AF4 stimulates RNA polymerase II transcriptional elongation and mediates coordinated chromatin remodeling, *Hum. Mol. Genet.*, **16**, 92-106, doi: 10.1093/hmg/ddl444.
188. Mueller, D., García-Cuellar, M. P., Bach, C., Buhl, S., Maethner, E., and Slany, R. K. (2009) Misguided transcriptional elongation causes mixed lineage leukemia, *PLoS Biol.*, **7**, e1000249, doi: 10.1371/journal.pbio.1000249.
189. Nguyen, A. T., and Zhang, Y. (2011) The diverse functions of Dot1 and H3K79 methylation, *Genes Dev.*, **25**, 1345-1358, doi: 10.1101/gad.2057811.
190. Godfrey, L., Crump, N. T., Thorne, R., Lau, I. J., Repapi, E., Dimou, D., Smith, A. L., Harman, J. R., Telenius, J. M., Oudelaar, A. M., Downes, D. J., Vyas, P., Hughes, J. R., and Milne, T. A. (2019) DOT1L inhibition reveals a distinct subset of enhancers dependent on H3K79 methylation, *Nat. Commun.*, **10**, 2803, doi: 10.1038/s41467-019-10844-3.
191. Prange, K. H. M., Mandoli, A., Kuznetsova, T., Wang, S. Y., Sotoca, A. M., Marneth, A. E., Van Der

- Reijden, B. A., Stunnenberg, H. G., and Martens, J. H. A. (2017) MLL-AF9 and MLL-AF4 oncofusion proteins bind a distinct enhancer repertoire and target the RUNX1 program in 11q23 acute myeloid leukemia, *Oncogene*, **36**, 3346–3356, doi: 10.1038/onc.2016.488.
192. Marschalek, R. (2020) The reciprocal world of MLL fusions: A personal view, *Biochim. Biophys. Acta Gene Regul. Mech.*, **1863**, 194547, doi: 10.1016/j.bbagr.2020.194547.
193. Gaussmann, A., Wenger, T., Eberle, I., Bursen, A., Bracharz, S., Herr, I., Dingermann, T., and Marschalek, R. (2007) Combined effects of the two reciprocal t(4;11) fusion proteins MLL-AF4 and AF4-MLL confer resistance to apoptosis, cell cycling capacity and growth transformation, *Oncogene*, **26**, 3352–3363, doi: 10.1038/sj.onc.1210125.
194. Eberle, I., Pless, B., Braun, M., Dingermann, T., and Marschalek, R. (2010) Transcriptional properties of human NANOG1 and NANOG2 in acute leukemic cells, *Nucleic Acids Res.*, **38**, 5384–5395, doi: 10.1093/nar/gkq307.
195. Wilhelm, A., and Marschalek, R. (2021) The role of reciprocal fusions in MLL-r acute leukemia: studying the chromosomal translocation t(4;11), *Oncogene*, **40**, 6093–6102, doi: 10.1038/s41388-021-02001-2.
196. Ferrando, A. A., and López-Otín, C. (2017) Clonal evolution in leukemia, *Nat. Med.*, **23**, 1135–1145, doi: 10.1038/nm.4410.
197. Greaves, M., and Maley, C. C. (2012) Clonal evolution in cancer, *Nature*, **481**, 306–313, doi: 10.1038/nature10762.
198. Anoun, S., Lamchahab, M., Qachouh, M., Benchekroun, S., and Quessar, A. (2013) A case of acute myeloid leukemia caused by low dose methotrexate used to treat a rheumatoid arthritis patient, *Iran. J. Blood Cancer*, **5**, 25–28.
199. Maddalo, D., Manchado, E., Concepcion, C. P., Bonetti, C., Vidigal, J. A., Han, Y. C., Ogrodowski, P., Crippa, A., Rekhtman, N., Stanchina, E. De, Lowe, S. W., and Ventura, A. (2014) *In vivo* engineering of oncogenic chromosomal rearrangements with the CRISPR/Cas9 system, *Nature*, **516**, 423–428, doi: 10.1038/nature13902.
200. Torres, R., Martin, M. C., Garcia, A., Cigudosa, J. C., Ramirez, J. C., and Rodriguez-Perales, S. (2014) Engineering human tumour-associated chromosomal translocations with the RNA-guided CRISPR-Cas9 system, *Nat. Commun.*, **5**, 1–8, doi: 10.1038/ncomms4964.
201. Sall, F. B., Shmakova, A., Karpukhina, A., Tsfasman, T., Lomov, N., Canoy, R. J., Boutboul, D., Oksenhendler, E., Toure, A. O., Lipinski, M., Wiels, J., Germini, D., and Vassetzky, Y. (2023) Epstein–Barr virus reactivation induces MYC-IGH spatial proximity and t(8;14) in B cells, *J. Med. Virol.*, **95**, e28633, doi: 10.1002/jmv.28633.

MECHANISMS FOR THE DEVELOPMENT OF THERAPY-RELATED LEUKAEMIA CAUSED BY TOPOISOMERASE INHIBITORS

Review

N. A. Lomov^{1*}, V. S. Viushkov¹, and M. A. Rubtsov^{1,2}

¹ Department of Molecular Biology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, 119234 Moscow, Russia; e-mail: lomov@mail.bio.msu.ru

² Department of Biochemistry, Center for Industrial Technologies and Entrepreneurship I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 119435 Moscow, Russia

Leukemia is a blood cancer that originates in the blood and bone marrow. Therapy-related leukemia is a leukemia associated with prior chemotherapy. Cancer therapy with DNA-topoisomerase II inhibitors is one of the most effective among chemotherapies. However, its side effect can be the development of secondary leukemia, characterized by chromosomal rearrangements involving the *AML1* or *MLL* gene. The set of recurrent translocations in such leukemia differs from the set of chromosomal rearrangements in other neoplasia. We review the factors that drive the translocations upon treatment of cells with DNA-topoisomerase inhibitors. Such factors primarily include the mobility of double-strand DNA ends prior to translocation and the gain of functions of the fusion proteins that are formed in the cell as a result of translocation.

Keywords: leukemia, translocations; fusion proteins, DNA topoisomerase II inhibitors