



# Izražaj cirkulirajućeg mikroRNK u mijelodisplastičnom sindromu

## Circulating microRNA expression in myelodysplastic syndrome

Inga Mandac Rogulj<sup>1,4</sup>, Vitor Milunović<sup>1</sup>, Mirjana Mariana Kardum Paro<sup>2</sup>, Delfa Radić Krišto<sup>1,5</sup>, Gordana Kaić<sup>3</sup>, Slobodanka Ostojčić Kolonić<sup>1,6</sup>✉

<sup>1</sup>Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinička bolnica Merkur, Zagreb

<sup>2</sup>Klinički zavod za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu, Klinička bolnica Merkur, Zagreb

<sup>3</sup>Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, Klinička bolnica Merkur, Zagreb

<sup>4</sup>Zdravstveno veleučilište u Zagrebu, Zagreb

<sup>5</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Osijeku, Osijek

<sup>6</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

### Deskriptori

MIJELODISPLASTIČNI SINDROMI – dijagnoza, genetika, patologija; MikroRNK – genetika, krv; KRVOTVORNE MATIČNE STANICE – patologija; ANALIZA GENSKE EKSPRESIJE; AKUTNA MIJELOIČNA LEUKEMIJA – genetika; BIOMARKERI

### Descriptors

MYELODYSPLASTIC SYNDROMES – diagnosis, genetics, pathology; MicroRNAs – blood, genetics; HEMATOPOIETIC STEM CELLS – pathology; GENE EXPRESSION PROFILING; LEUKEMIA, MYELOID, ACUTE – genetics; BIOMARKERS

**SAŽETAK.** Mijelodisplastični sindrom (MDS) klonski je poremećaj krvotvorne matične stanice karakteriziran neučinkovitom hematopoezom i citopenijom u perifernoj krvi, a u oko trećine bolesnika može doći do progresije poremećaja u akutnu mijeloičnu leukemiju (AML). Dijagnoza MDS-a postavlja se nakon analize periferne krvi i koštane srži, a ovisno o postotku blasta u koštanoj srži, broju citopenija te citogenetičkim abnormalnostima, određuju se prognostički indeksi (engl. *International Prognostic Scoring System* – IPSS, *Revised International Prognostic Scoring System* – IPSS-R, *WHO Prognostic Scoring System* – WPSS). Dosad su provedena brojna istraživanja o molekularnim mehanizmima i epigenetičkim putovima u mijelodisplastičnom sindromu te njihovu prognostičkom i terapijskom značenju, ali je malo studija o važnosti mikroRNK (miRNK) u MDS-u. U posljednjih nekoliko godina objavljeni su brojni rezultati o utjecaju aberantnog izražaja miRNK u malignim poremećajima, pri čemu su se miRNK-i pokazali kao geni koji suprimiraju tumor ili onkogeni. U pojedinim su tumorima miRNK-i prepoznati kao dijagnostički i prognostički parametri te mogući terapijski ciljevi. U ovom radu donosimo pregled dosadašnjih rezultata o ulozi miRNK u MDS-u.

**SUMMARY.** Myelodysplastic syndrome (MDS) is a clonal hematopoietic stem cell disorder characterized by ineffective hematopoiesis and cytopenia in peripheral blood, where about a third of patients may develop acute myeloid leukemia (AML). The diagnosis of MDS requires the analysis of peripheral blood and bone marrow. Depending on the percentage of blasts in the bone marrow, the number of cytopenias and cytogenetic abnormalities, determination of the prognostic indices is possible (IPSS – „International Prognostic Scoring System“, R-IPSS – „Revised International Prognostic Scoring System“, WPSS – „WHO Prognostic Scoring System“). Until today, numerous studies have been conducted on the molecular mechanisms and epigenetic pathways in myelodysplastic syndrome, and their prognostic and therapeutic importance, but there are few studies analyzing the importance of microRNAs (miRNAs) in MDS. In the last few years, there have been numerous results on the impact of aberrant miRNA expression in malignant disorders where the miRNA represent tumor suppressor genes or oncogenes. Several miRNAs have been recognized as diagnostic and prognostic parameters and possible therapeutic targets. In this paper, we present the overview of recent results on the role of miRNA in MDS.

Mijelodisplastični sindrom (MDS) klonski je poremećaj krvotvorne matične stanice karakteriziran neučinkovitom hematopoezom i citopenijom u perifernoj krvi, a u oko trećine bolesnika može doći do progresije poremećaja u akutnu mijeloičnu leukemiju (AML). Dijagnoza MDS-a postavlja se nakon analize periferne krvi i koštane srži, a ovisno o postotku blasta u koštanoj srži, broju citopenija te citogenetičkim abnormalnostima, određuju se prognostički indeksi (IPSS, IPSS-R, WPSS).<sup>1–4</sup>

Prognostičku važnost u MDS-u pokazali su i parametri vezani uz dob bolesnika, komorbiditet, stupanj fibroze koštane srži (> 2), povišenu vrijednost LDH i beta-2-mikroglobulina, serumskog albumina te brojne somatske mutacije. Mijelodisplastični sindrom naj-

češće se pojavljuje kod starijih bolesnika (prosječno 70 godina), dok je oko 10% bolesnika mlađe od 50 godina. Incidencija MDS-a iznosi 4/100.000 osoba, dok se kod starijih od 70 godina dijagnosticira u 40 – 50/100.000 stanovnika.<sup>3,4,10</sup>

Hematopoeza je regulirana složenom mrežom molekularnih mehanizama koji reguliraju diferencijaciju, proliferaciju i apoptozu, a brojne citogenetičke promjene i mutacije gena, aberantna metilacija promotora

### ✉ Adresa za dopisivanje:

Prof. dr. sc. Slobodanka Ostojčić Kolonić, Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KB Merkur, I. Zajca 19, 10000 Zagreb; e-mail: [ostojcic@net.hr](mailto:ostojcic@net.hr)

Primljeno 6. svibnja 2019., prihvaćeno 1. srpnja 2019.

gena koji suprimiraju tumor te utjecaj pojedinih mikroRNK (miRNK) unatrag nekoliko godina zauzima sve veću dijagnostičku i prognostičku važnost.<sup>5–8</sup> MikroRNK iz plazme ili seruma neinvazivan je i brzo dostupan biomarker koji se zasad, kao cirkulirajući, analizira u eksperimentalnim radovima, ali ima velik potencijal da u budućnosti postane dijagnostički ili prognostički parametar.

### Dosadašnja istraživanja

Dosad su provedena mnoga istraživanja o molekularnim mehanizmima i epigenetičkim putovima u mijelodisplastičnom sindromu te njihovu prognostičkom i terapijskom značenju, ali je malo studija o važnosti mikroRNK u MDS-u.

U posljednjih nekoliko godina objavljeni su brojni rezultati o utjecaju aberantnog izražaja miRNK u malignim poremećajima, pri čemu su se miRNK-i pokazali kao geni koji suprimiraju tumor ili onkogeni. U pojedinim su tumorima miRNK-i prepoznati kao dijagnostički i prognostički parametri te mogući terapijski ciljevi.

Cirkulirajući miRNK u dosadašnjim se istraživanjima pokazao pouzdanim biomarkerom. Prema definiciji, idealan biomarker trebao bi biti specifičan, neinvazivno lako mjerljiv, jednostavno uporabljiv u dijagnostici i praćenju, visoke prediktivnosti i osjetljivosti. Većina danas dostupnih biomarkera u plazmi ili serumu niske su specifičnosti i osjetljivosti, jednim dijelom i jer se uglavnom radi o proteinima koje sintetiziraju zdrave i maligne stanice.<sup>9</sup>

miRNK-i maleni su, jednolančani RNK-i približne veličine 22 nukleotida kodirana od različitih gena. Nalaze se u mikrovezikulama (egzosomima) koje otpuštaju tumorske stanice i u kojima cirkuliraju od jedne do druge stanice. miRNK-i se ne prepisuju u proteine, nego reguliraju ekspresiju drugih gena režući ili, češće, smanjujući translaciju njihova glasničkog RNK (mRNK). Identifikacija specifičnih miRNK i praćenje promjena u njihovu izražaju u stanicama ili tkivima važni su pri razumijevanju regulacije gena, i u fiziološkim i u patološkim stanjima. Nekodirajući, maleni miRNK-i reguliraju više od trećine ljudskih gena tako što djeluju na posttranskripcijskoj razini i utječu na izražaj proteina smanjivanjem translacije ili destabiliziranjem ciljanoga glasničkog RNK.<sup>8,10–16</sup>

Oko 50% poznatih gena miRNK smješteno je na fragilnim mjestima koja se dovode u vezu s nastankom tumora. Cirkulirajući i stabilni miRNK-i mogu se naći u različitim tjelesnim tekućinama: plazmi, serumu, slini, cerebrospinalnom likvoru, majčinu mlijeku. Imaju važnu ulogu u brojnim razvojnim procesima koji uključuju metabolizam, apoptozu, stanični rast, diobu matičnih stanica, diferencijaciju miocita i morfogenezu mozga.<sup>9</sup>

Prvi rad koji je povezoao izražaj miRNK u malignim poremećajima bio je upravo iz područja hematologije. Calin i suradnici identificirali su dva miRNK (miR-15a i miR-16) koji su bili smješteni u kromosomskoj regiji 13q14. Ova genomska regija izbrisana je u većini slučajeva B-kronične limfocitne leukemije (B-KLL), a dva navedena miRNK slabijeg su izražaja kod oko 70% nositelja ove delecije.<sup>18</sup>

Cirkulirajući miRNK počeo se proučavati i kao dijagnostički biomarker pa je nekoliko autora analiziralo pojedine miRNK-e u hematološkim poremećajima.

Tako je kod akutne mijeloične leukemije uočen pojačan izražaj miRNK-150 i miRNK-155 u odnosu prema zdravim kontrolnim ispitanicima s osjetljivošću od 91,4% i specifičnošću od 87,5%, a AML se pokazao kao jedan od najboljih modela bolesti za pouzdaniju dijagnostičku vrijednost razine miRNK.

Moussay i suradnici analizirali su izražaj miRNK u grupi bolesnika s KLL-om koji su bili pozitivni i negativni na ZAP-70, a usporedili su ih sa zdravim pojedincima te bolesnicima s multiplim mijelomom i triholeukemijom. U plazmi bolesnika s KLL-om negativnih na ZAP-70 izdvojena je povišena vrijednost miRNK-150 koja je korelirala s agresivnijom prezentacijom bolesti. Snižena razina miRNK-20a i pozitivan izražaj ZAP-70 kod dijagnoze definirali su grupu bolesnika s KLL-om i bržom progresijom bolesti te potrebom za ranijim liječenjem.<sup>20</sup>

Stamatopoulos i suradnici uočili su povišenu razinu miRNK-150 u serumu bolesnika s KLL-om i nepovoljnim citogenetičkim promjenama te pozitivnim CD38. Razvili su kvantitativni PCR-zbroj koji uključuje prognostičke parametre ZAP-70, lipoprotein lipazu (LPL) i miR-29c u bolesnika s KLL-om. Prisutnost lošijih prognostičkih parametara (pojačan izražaj ZAP-70, LPL i niska razina miR-29c) povezani su s lošijim ukupnim preživljenjem. Visoka razina miR-21 uz del17p pokazala se izrazito lošim prognostičkim parametrom ukupnog preživljenja u bolesnika s KLL-om.<sup>21</sup>

miRNK-i su grubo podijeljeni na gene koji suprimiraju tumor i onkogene, a pojedini miRNK može u jednom tumoru biti tumorski supresor, a u drugome onkogen. Svaki tumor ima specifične miRNK-e koji mogu biti različito izraženi. miRNK ima i kritičnu ulogu pri reguliranju razvoja matične stanice i progenitornih stanica u zreli mijeloidnu stanicu, a njegov pojačan ili slabiji izražaj pokazao se važnim u onkogenezi i diferenciranju u pojedinim hematopoetskim odjeljcima.<sup>16,17,19–21</sup>

Pojačan izražaj pojedinih miRNK u AML-u, KML-u (kroničnoj mijeloičnoj leukemiji), NHL-DLBCL-u (ne-Hodgkinovu limfomu, difuznom B-velikostaničnome) te B-KLL-u povezan je s lošijim preživljenjem, slabijim odgovorom na terapiju i višim rizikom od relapsa, iako su pojedini autori pokazali i da snižena

razina pojedinih miRNK može pozitivno korelirati s rizikom od relapsa ili s neuspjehom liječenja. Također je uočeno da izražaj miRNK u pojedinim hematološkim poremećajima može pridonijeti određivanju tijeka bolesti, pa i kad su prognostički parametri povoljni.<sup>22–32</sup>

### Izražaj miRNK u MDS-u

Nekoliko je studija dokazalo povezanost izražaja pojedinih miRNK s podtipovima MDS-a te ostalim dosad poznatim prognostičkim parametrima.

Hussein i suradnici analiziranjem 365 miRNK u 25 bolesnika s MDS-om pokazali su globalno sniženu regulaciju razine miRNK koji su uključeni u normalnu hematopoezu, upozoravajući na sličnost sa slabijim izražajem miRNK u ostalim malignim bolestima.<sup>35</sup>

Izražaji miRNK-10a i miRNK-34a mogu diferencirati MDS nižeg rizika u odnosu prema visokorizičnomu. Tako je profil izražaja miRNK u RAEB-1 (refraktorna anemija s viškom blasta tipa I) bio sličan izražajima kod IPSS-a niskog rizika, dok je profil izražaja miRNK pri MDS-u RAEB-2 (refraktorna anemija s viškom blasta tipa II) pokazao sličnost s onime u bolesnika s AML-om.<sup>34–36</sup>

Jedna od studija koje su pokušale povezati izražaj različitih miRNK s poznatim prognostičkim parametrima uključila je 44 bolesnika s MDS-om i definirala 68 miRNK koji su bili različitog izražaja među bolesnicima s MDS-om visokog rizika i s onime niskog rizika. Izdvojen je miRNK-181b koji je bio pojačano izražen u obje grupe, ali je njegov pojačani izražaj u grupi s MDS-om niskog rizika bio povezan s kraćim preživljenjem.<sup>37</sup>

Pons i suradnici analizirali su 25 uzoraka koštane srži bolesnika s MDS-om i identificirali 12 pojačano ekspimiranih miRNK u koštanoj srži te njih 6 u perifernoj krvi. Većina tih miRNK pripadala je skupini miRNK-17-92 čija je funkcija povezana s deregulacijom proliferacije i antiapoptotičkim mehanizmima, što može objasniti poremećenu proliferaciju hematopoetskih stanica u MDS-u. U daljnjoj analizi 6 miRNK bilo je pojačano izraženo i u uzorcima perifernog krvi, dok su 3 miRNK (miRNK-181a, miRNK-222 i miRNK-155) bila pojačano izražena u MDS-u visokog rizika za razliku od njihove niske ekspresije pri MDS-u niskog rizika. U drugom je istraživanju grupa miRNK-1/miRNK-133a bila pojačano ekspimirana u svim uzorcima.<sup>37</sup>

Dostalova i suradnici identificirali su 13 pojačano izraženih miRNK i njih 9 slabije izraženih. U daljnjoj analizi bolesnici su podijeljeni na RAEB 1, RAEB 2 i AML. Profil RAEB-a 1 bio je sličan zdravim kontrolama, dok je RAEB 2 bio sličan AML-u. Autori su izdvojili dva miRNK: miRNK-10-a i miRNK-34-a. miRNK 10-a bio je povezan s leukemijskom transformacijom u

podtipu RAEB 2, dok je miRNK 34-a bio povezan s alteracijom hematopoeze. Ovo je ujedno prva studija koja je pokazala patogenetski mehanizam miRNK u MDS-u.<sup>38</sup> Erdogan i suradnici analizirali su 44.519 proba miRNK u niskorizičnome MDS-u. Pet miRNK ostalo je znatno u validacijskoj skupini s konstruiranim algoritmom od čak 50 ciljanih gena koji su varirali od transkripcijske regulacije do translacije RNK, pokazujući da malen broj miRNK može ciljati multiple mRNK-e ciljnih gena.<sup>39</sup> Choi i suradnici istraživali su utjecaj učestalih kromosomskih abnormalnosti u MDS-u, trisomije 8 i 1q, na ekspresiju miRNK. Nađene su znatno više razine miRNK-194-5p i miRNK-320a u ovih bolesnika s mogućom prognostičkom implikacijom za miRNK-194-5p. Pons i suradnici identificirali su kod 25 bolesnika s MDS-om pojačanu ekspresiju 12 miRNK u koštanoj srži.<sup>37</sup> Nadalje, 6 tih miRNK bilo je uočeno i u perifernoj krvi.

Sokol i suradnici uspjeli su u 45 bolesnika s MDS-om pronaći profil miRNK koji je uključivao 10 različitih miRNK. Taj je profil mogao razdvojiti bolesnike prema IPSS-u na visokorizične i niskorizične. MiR-181b bio je izraženiji u visokorizičnoj skupini, ali je njegov pojačani izražaj u niskorizičnoj skupini bio povezan s lošijim preživljenjem (3,5 prema 9,3 godine).<sup>43</sup>

Prva studija koja je rabila cirkulirajući miRNK (let 7a i miRNK 16) u plazmi 50 bolesnika s MDS-om pronašla je bimodalnu distribuciju ekspresije ovih biomarkera. Autori su u daljnjoj analizi podijelili bolesnike u dvije skupine s obzirom na razinu izražaja. Visoke razine ovih biomarkera bile su povezane s lošijim ishodom ukupnog preživljenja i preživljenja bez leukemijske transformacije, dok je let 7a u multivarijantnoj analizi bio neovisan čimbenik.<sup>25</sup>

U plazmi 72 bolesnika s MDS-om i normalnim kariogramom u usporedbi s 12 zdravih kontrolnih ispitanika analiziran je izražaj 800 proba humanoga cirkulirajućeg miRNK. Uzorci plazme uzeti su kod novodijagnosticiranih bolesnika prije bilo kakvog liječenja i 6 mjeseci nakon njega. Glavni cilj studije bila je identifikacija mikroRNK u plazmi bolesnika koji mogu biti prognostički biomarkeri ako ne postoje citogenetičke abnormalnosti, a ni ostali rizični čimbenici. Nađen je profil od 7 miRNK (let 7a, miRNK 144, 16, 25, 451, 651 i 655) koji je mogao podijeliti bolesnike s obzirom na ishod u dvije skupine s rizikom od smrti u iznosu od 6,54%. Nadalje, taj je profil mogao predvidjeti ishod s većom točnošću (75%) od samog IPSS-a (50%). Kod bolesnika s MDS-om s diploidnim kariotipom i bez poznatih somatskih mutacija povezanih s MDS-om gotovo da i ne postoje dosad poznati kliničkopatološki i biološki markeri koji bi prognostički stratificirali ovu grupu. Od izdvojenih miRNK, miRNK-144/451 lokus nalazi se na kromosomu 17 te sudjeluje u eritroidnom razvoju i homeostazi. miR-25 poznati je regulator p53 i uključen u „programiranje“ matične stanice.<sup>41</sup>

Studija koja je rabila miRNK kao prognostički čimbenik za liječenje hipometilirajućim agensima, 5-azacitidinom i decitabinom uključivala je 58 bolesnika s primarnim ishodom ukupnog odgovora. Bolesnici su, prema izražaju cirkulirajućeg miRNK 21, podijeljeni u dvije skupine. Skupina s pojačanim izražajem imala je znatno nižu stopu odgovora (41,2%) za razliku od skupine sa slabim izražajem (73,2%), s osjetljivosti od 83,3% i specifičnosti od 45,8% za navedeni biomarker. Nije pokazana bitna razlika u ukupnom preživljenju, no vrijeme bez leukemijske transformacije bilo je znatno dulje u skupini sa slabijim izražajem miR-21 (44,5 prema 14 mjeseci).<sup>42</sup>

Pojačan izražaj miR-126 u bolesnika s MDS-om povezan je s kraćim preživljenjem, većom učestalosti relapsa i pojačanim izražajem onkogeni.<sup>38</sup>

miR-125b ima više ciljnih molekula preko kojih istodobno kontrolira proliferativne i proapoptotске signalne putove, a koji moraju biti usko regulirani u fiziološkim uvjetima. Ako se tijekom karcinogeneze izgube mehanizmi regulacije, dolazi do aktiviranja ili blokiranja onkogenih putova ili putova koji suprimiraju tumor.

Ako je miR-125b slabijeg izražaja, izgubljena je njegova funkcija tumorskog supresora i dolazi do aktiviranja onkogenih putova, zaustavljanja proapoptotске kaskade te maligne transformacije. Ako je miR-125b pojačano izražen zbog kromosomskih translokacija ili transkripcijskih aktivacija, potaknuti su onkogeni signalni putovi koji smanjuju aktivnost p53 ili ostalih apoptotskih mehanizama. Analizom izražaja miRNK u multiplim hematopoetskim subpopulacijama uočeno je da je miR-125b među najviše zastupljenim miRNK u matičnim stanicama i sudjeluje kao regulator hematopoeze na razini matične stanice.<sup>39–41,46</sup>

miR-125a inhibira eritroidnu diferencijaciju u staničnim linijama leukemije i MDS-a, ali utječe i na granulocitno/monocitnu lozu te megakariocitnu lozu.<sup>42–44</sup> Gomez i suradnici pokazali su da razina izražaja miR-125a obrnuto proporcionalno korelira s preživljenjem bolesnika s MDS-om, a slično vrijedi i za cirkulirajuće miR-99b i let-7e.<sup>45</sup>

Pojačan izražaj miR-205-5p može pospješiti razvoj MDS-a potičući stanični rast i inhibirajući izražaj tumorskih supresora kao što je pokazano u radu Jang Sook Jina i suradnika. Autori su analizirali 65 bolesnika s MDS-om i 11 zdravih kontrola, a razine miRNK određivane su u aspiratu koštane srži. Izražaj miRNK 205-5p bio je 12,5 puta jači kod bolesnika s MDS-om u odnosu prema kontroli. U grupi bolesnika s MDS-om razina miRNK-205-5p bila je znatnije povišena pri MDS-u niskog rizika u odnosu prema visokorizičnomu. Stoga autori zaključuju da miRNK-205-5p može biti onkogen u MDS-u niskog rizika.<sup>47</sup>

Navedeni su miRNK-i potencijalni prognostički parametri koji bi se mogli rabiti u kliničkoj praksi s ob-

zirom na to da cirkuliraju stabilni u perifernoj krvi. Zasad još nema rezultata o primjeni antagonista miRNK (antagomiRi), miRNK-mimetika ili „miRNK-spužava“ u MDS-u koji utječu na putove povezane s miRNK vežući se ili blokirajući onkogene miRNK-e.

Dosadašnja dinamička istraživanja miRNK pokušavaju odgovoriti na pitanja koliko njihov izražaj može biti koristan u kliničkoj praksi, ali i kako iskoristiti miRNK u liječenju hematoloških poremećaja kontrolirajući izražaj njihovih ciljnih gena. Inhibiranjem određenih miRNK može doći do redukcije tumorske proliferacije.<sup>48–53</sup>

Prvi mikroRNK biofarmaceutik jest MRX34, trenutno jedini čija se djelotvornost ispituje u onkološkim kliničkim istraživanjima (faza 1).<sup>54</sup>

Područje istraživanja ovih malenih, nekodirajućih miRNK golemo je i raste iz dana u dan donoseći nam nove spoznaje o njihovoj važnosti u patogenezi različitih tumora.

## LITERATURA

1. *Brunning RD, Orazi A, Germing U.* Myelodysplastic syndromes/neoplasms, overview. U: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL i sur. (ur.). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press; 2008.
2. *Ma X, Does M, Raza A, Mayne ST.* Myelodysplastic syndromes: incidence and survival in the United States. *Cancer* 2007;109:1536–42.
3. *Adès L, Itzykson R, Fenaux P.* Myelodysplastic syndromes. *Lancet* 2014;383(9936):2239–52.
4. *Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J i sur.* Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood* 2012;120:2454–65.
5. *Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L i sur.;* Chronic Myeloid Disorders Working Group of the International Cancer Genome Consortium. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. *Blood* 2013;122:3616–27.
6. *Visconte V, Tiu RV, Rogers HJ.* Pathogenesis of myelodysplastic syndromes: an overview of molecular and non-molecular aspects of the disease. *Blood Res* 2014;49:216–27.
7. *Cazzola M, Della Porta MG, Malcovati L.* The genetic basis of myelodysplasia and its clinical relevance. *Blood* 2013;122:4021–34.
8. *Chevillet JR, Lee I, Briggs HA, He Y, Wang K.* Issues and prospects of microRNA-based biomarkers in blood and other body fluids. *Molecules* 2014;19:6080–105.
9. *Faruq O, Vecchione A.* MicroRNA: diagnostic perspective. *Front Med* 2015;2:51.
10. *Bejar R, Steensma DP.* Recent developments in myelodysplastic syndromes. *Blood* 2014;124:2793–803.
11. *Vasilatou D, Papageorgiou SG, Dimitriadis G, Pappa V.* Epigenetic alterations and microRNAs: new players in the pathogenesis of myelodysplastic syndromes. *Epigenetics* 2013;8:561–70.
12. *Acunzo M, Romano G, Wernicke D, Croce CM.* MicroRNA and cancer – A brief overview. *Adv Biol Regul* 2015;57:1–9.
13. *Allegra A, Alonci A, Campo S i sur.* Circulating microRNAs: new biomarkers in diagnosis, prognosis and treatment of cancer. *Int J Oncol* 2012;41(6):1897–912.

14. Issa JP. The myelodysplastic syndrome as a prototypical epigenetic disease. *Blood* 2013;121:3811–7.
15. Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V i sur. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2014;28:241–7.
16. Rhyasen GW, Starczynowski DT. Deregulation of microRNAs in myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 2012;26:13–22.
17. Chen C. MicroRNAs in myelodysplastic syndromes: how much do we know and not know? *Leuk Res* 2013;37:241–2.
18. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M i sur. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:15524–9.
19. Yeh CH, Moles R, Nicot C. Clinical significance of microRNAs in chronic and acute human leukemia. *Mol Cancer* 2016;15(1):37.
20. Moussay E, Wank K, Cho JH i sur. MicroRNA as biomarkers and regulators in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Proc Nat Acad Sci* 2011;108(16):6573–8.
21. Stamatoopoulos B, Van Damme M, Crompot E i sur. Opposite Prognostic Significance of Cellular and Serum Circulating MicroRNA-150 in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. *Mol Med* 2015;21(1):123–33.
22. Di Leva G, Garofalo M, Croce CM. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol* 2014;9:287–314.
23. Macfarlane LA, Murphy PR. MicroRNA: Biogenesis, Function and Role in Cancer. *Curr Genomics* 2010;11(7):537–61.
24. Berindan-Neagoie I, Monroig P, Pasculli B, Calin GA. MicroRNAome genome: a treasure for cancer diagnosis and therapy. *CA Cancer J Clin* 2014;64:311–36.
25. Zuo Z, Calin GA, de Paula HM i sur. Circulating microRNAs let-7a and miR-16 predict progression-free survival and overall survival in patients with myelodysplastic syndrome. *Blood* 2011;118:413–5.
26. Tagawa H. MicroRNA in Malignant Lymphoma. *Adv Exp Med Biol* 2015;889:41–50.
27. Wang Y, Sun D, Wang J, Dou A, Zheng C. Predictive value of microRNAs as novel biomarkers in detection of lymphoma. *Int J Clin Exp Med* 2015;8(8):14479–89.
28. Wang G, Zhao R, Zhao X i sur. MicroRNA-181a enhances the chemotherapeutic sensitivity of chronic myeloid leukemia to imatinib. *Oncol Lett* 2015;10(5):2835–41.
29. Jurkovicova D, Lukackova R, Magyerkova M i sur. MicroRNA expression profiling as supportive diagnostic and therapy prediction tool in chronic myeloid leukemia. *Neoplasma* 2015;62(6):949–58.
30. Rossi M, Tagliaferri P, Tassone P. MicroRNAs in multiple myeloma and related bone disease. *Ann Transl Med* 2015;3(21):334.
31. Zhang J, Xiao X, Liu J. The role of circulating miRNAs in multiple myeloma. *Sci China Life Sci* 2015;58(12):1262–9.
32. Giza DE, Calin GA. MicroRNA and Chronic Lymphocytic Leukemia. *Adv Exp Med Biol* 2015;889:23–40.
33. Hussein K, Theophile K, Büsche G i sur. Aberrant microRNA expression pattern in myelodysplastic bone marrow cells. *Leuk Res* 2010;34:1169–74.
34. Balatti V, Pekarky Y, Croce CM. Role of microRNA in chronic lymphocytic leukemia onset and progression. *J Hematol Oncol* 2015;8:12.
35. Liu L, Chen R, Zhang Y, Fan W, Xiao F, Yan X. Low expression of circulating microRNA-328 is associated with poor prognosis in patients with acute myeloid leukemia. *Diagn Pathol* 2015;10:109.
36. Shibayama Y, Kondo T, Ohya H, Fujisawa S, Teshima T, Iseki K. Upregulation of microRNA-126-5p is associated with drug resistance to cytarabine and poor prognosis in AML patients. *Oncol Rep* 2015;33(5):2176–82.
37. Pons A, Nomdedeu B, Navarro A i sur. Hematopoiesis-related microRNA expression in myelodysplastic syndromes. *Leuk Lymphoma* 2009;50:1854–9.
38. Dostalova Merkerova M, Krejcik Z, Votavova H, Belickova M, Vasikova A, Cermak J. Distinctive microRNA expression profiles in CD34+ bone marrow cells from patients with myelodysplastic syndrome. *Eur J Hum Genet* 2011;19:313–9.
39. Erdogan B, Facey C, Qualtieri J i sur. Diagnostic microRNAs in myelodysplastic syndrome. *Exp Hematol* 2011;39:915–26.
40. Choi JS, Nam MH, Yoon SY, Kang SH. MicroRNA-194-5p could serve as a diagnostic and prognostic biomarker in myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2015;39:763–8.
41. Zuo Z, Maiti S, Hu S i sur. Plasma circulating-microRNA profiles are useful for assessing prognosis in patients with cytogenetically normal myelodysplastic syndromes. *Mod Pathol* 2015;28:373–82.
42. Kim Y, Cheong JW, Kim YK i sur. Serum microRNA-21 as a Potential Biomarker for Response to Hypomethylating Agents in Myelodysplastic Syndromes. *PLoS One* 2014;9(2).
43. Sokol L, Caceres G, Volinia S i sur. Identification of a risk dependent microRNA expression signature in myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 2011;153:24–32.
44. de Leeuw DC, Denkers F, Olthof MC i sur. Attenuation of microRNA-126 expression that drives CD34+38-stem/progenitor cells in acute myeloid leukemia leads to tumor eradication. *Cancer Res* 2014;74(7):2094–105.
45. Liao R, Xu Y, Chen M, Chen X, Zhan X, Sun J. Molecular mechanism of microRNA involvement in genesis of myelodysplastic syndrome and its transformation to acute myeloid leukemia. *Hematology* 2013;18:191–7.
46. Banzhaf-Strathmann J, Edbauer D. Good guy or bad guy: the opposing roles of microRNA 125b in cancer. *J Cell Commun Signal* 2014;12:30.
47. Jang SJ, Choi IS, Park G i sur. MicroRNA-205-5p is upregulated in myelodysplastic syndromes and induces cell proliferation via PTEN suppression. *Leuk Res* 2016;47:172–7.
48. Di Leva G, Garofalo M, Croce CM. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol* 2014;9:287–314.
49. Milunović V, Mandac Rogulj I, Planinc-Peraica A, Bulycheva E, Ostojić Kolonić S. The role of microRNA in myelodysplastic syndromes: beyond DNA methylation and histone modification. *Eur J Haematol* 2016;10:2776.
50. Dostalova Merkerova M, Hrustincova A, Krejcik Z i sur. Microarray profiling defines circulating microRNAs associated with myelodysplastic syndromes. *Neoplasma* 2017;64:571–8.
51. Wen J, Huang Y, Li H i sur. Over-expression of miR-196b-5p is significantly associated with the progression of myelodysplastic syndrome. *Int J Hematol* 2017;105(6):777–83.
52. Setijono SR, Kwon HY, Song SJ. MicroRNA, an Antisense RNA, in Sensing Myeloid Malignancies. *Front Oncol* 2018;7:331.
53. Szymczyk A, Macheta A, Podhorecka M. Abnormal microRNA expression in the course of hematological malignancies. *Cancer Manag Res.* 2018;10:4267–77.
54. Beg MS, Brenner AJ, Sachdev J i sur. Phase I study of MRX34, a liposomal miR-34a mimic, administered twice weekly in patients with advanced solid tumors. *Invest New Drugs* 2017;35(2):180–8.