



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK SAĞLIĞI
VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ÇOCUK HEMATOLOJİ ONKOLOJİ
BİLİMDALI**

ÇOCUKLUK VE YETİŞKİN ÇAĞI AKUT LÖSEMİLERİNDE MİKRO-RNA PANELİ

Uzman. Dr. Barbaros Şahin KARAGÜN

YANDAL UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. A. Bülent ANTMEN

ADANA- 2012



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK SAĞLIĞI
VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ÇOCUK HEMATOLOJİ ONKOLOJİ
BİLİMDALI**

ÇOCUKLUK VE YETİŞKİN ÇAĞI AKUT LÖSEMİLERİNDE MİKRO-RNA PANELİ

Uzman. Dr. Barbaros Şahin KARAGÜN

YANDAL UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. A. Bülent ANTMEN

Bu Tez Türk Hematoloji Derneği Araştırma Fonu Tarafından: 2010.20 No'lu Proje
Olarak Desteklenmiştir.

ADANA- 2012

TEŞEKKÜR

Karanlık, uzun ince, derin uçurumlarla dolu, sonunda umut ışığının bile sönük olduğu, bir yolda hastalarına umut olup, onların ellerinden tutarak, bu zor ve engebeli yollarda onlara umut ışığı olan, yeri geldiği zaman onlarla yatıp onlarla kalkan hayatlarını bu yolda bu hastaları iyileştirmek için feda eden değerli hocalarım Prof. Dr. Yurdanur Kılınç, Prof. Dr. Atilla Tanyeli, Prof. Dr. Bülent Antmen, Doç. Dr. İlgen Şaşmaz, Doç. Dr.İbrahim Bayram'a teşekkür ederim.

Hastalar gibi karanlık uzun ince yolda yürüyen biz asistanlarına, hekimlik mesleğinin tüm inceliklerini, el emeği, göz nuru bir oya gibi işleyip Hipokrat gibi öğreten, bunu sadece ve sadece hastaya fayda sağlamak için kendine amaç edinen, ülkesine gerçekten hekim gibi hekim yetiştiren, benim hayatımda onun tanımakla başlayan, hastaya ve insana bakış açımı değiştiren bizlere en iyiyi, en doğruyu anlatan, bize biz olmayı öğreten, gece gündüz yanımda olup masallardaki kurtarıcı insan olan, 1953'te James D. Watson ve Francis Crick ile başlayıp 2000'li yıllarda mikroRNA ile devam bu inanılmaz hızlı genetik süreçte bu tez konusunu çalışılmasını uygun gören hocam ve abim Prof. Dr. Bülent Antmen'e

Hayatında hasta ve hematolojiden daha değerli bir şey olmadığına inandığım, her şeyi bilim için yapan, aslında Çukurovalı olmasa da çukurova da en çok emeği olan insanlardan bile daha çok emeği olan, içindeki meslek ve çalışma aşkına hayran olduğum, kalbi ve ruhu okyanuslar kadar büyük hocam Prof. Dr. Yurdanur Kılınç'a

Bizimle yürüyen bizimle ağlayıp bizimle sevinen gecesi gündüzü bizimle olan biz asistanlarının ablası sayın hocam Doç. Dr. İlgen Şaşmaz'a

Tezimin çalışılması sırasında bana her konuda yardımcı olan asistan, hemşire ve laborant arkadaşlarıma

Pediyatrik hematoloji-onkoloji serüvenimle başlayan uzun yolculuğumda bana her konuda destek veren elimden tutup yol gösteren asla çalışmaktan bıkmayan engin hoş görülerini hep kendime örnek aldığım ilmin ve bilimin yeryüzündeki bütün silahlardan üstün olduğunu öğreten değerli hocalarım Prof. Dr. Atilla Tanyeli, Doç. Dr. İbrahim Bayram'a

Hematoloji dünyasına katıldığım zaman ilk defa tanıdığım ve daha önce tanımadığıma pişman olduğum amaçları bu ülkede insana ve bilime hizmet etmek ve hizmet edecek insan yetiştirmek olan biz asistanlarını bir anne kartalın yavrularını kanatlarının altına alıp koruyup kolladığı gibi koruyup kollayan Türk Hematoloji Derneği Başkanı ve yönetimine Fenerbahçe sevdalısı değerli hocam Prof. Dr. Muhit Özcan ve Prof. Dr. Mutlu Arat'a

Her zaman arkamda savaşta düşmeyen son bir kale gibi duran, beni benden iyi bilen ve bana benden ileri olan, çıkmaz sokaklarda yol gösterenim olan umut ışığım eşim Dr. Özlem Karagün'e beni hayata bağlayan, varlığı varlığıma renk katan onunla yeniden dünyaya geldiğime inandığım kızım Ecem Yağmur Karagün'e bitmek bilmeyen bir sabırla bizlerin öldürülmeden, dövülmeden, hakaret edilmeden, mürvetini görmek için bekleyen tüm hekim anne baba ve yakınlarına sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

*Dr. Barbaros Şahin KARAGÜN
Alim bir insan öldüğünde ona ağlamayın
asıl onu kayıp eden topluma ağlayın
FARABI*

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	IV
ŞEKİL LİSTESİ.....	VI
KISALTMA LİSTESİ	VII
ÖZET	IX
ABSTRACT.....	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Akut Lösemi	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Tarihçe	3
2.1.3. Epidemiyoloji	4
2.1.4. Etiyoloji.....	5
2.1.5. Patogenez	7
2.1.6. Akut Lösemilerin Sınıflaması	9
2.2. Akut Lenfoblastik Lösemi	10
2.2.1. Morfolojik Sınıflandırma	10
2.2.2. Histokimyasal Boyama	11
2.2.3. İmmünofenotiplendirme	11
2.2.4. Klinik Bulgular	14
2.2.4.1. Mediastinal Bulgular	15
2.2.4.2. Merkezi Sinir Sistemi Bulguları	15
2.2.4.3. Genitoüriner Bulgular	16
2.2.4.4. İskelet Sistemi Bulguları	16
2.2.4.5. Gastrointestinal Sistem Bulguları	17
2.2.4.6. Göz Bulguları	18
2.2.4.7. Kardiopulmoner Bulgular	18
2.2.4.8. Cilt Bulguları	19
2.2.5. Ayırıcı Tanı.....	19
2.2.6. Tedavi	19
2.2.7. Prognostik Faktörler	21
2.2.8. Risk Sınıflaması.....	22
2.3. Akut Miyeloid Lösemi(AML)	23
2.3.1. Klinik Bulgular	24
2.3.2. Tanı ve Sınıflandırma	25
2.3.3. İmmünofenotip	25
2.3.4. Moleküler Genetik	26
2.3.5. Tedavi.....	27
2.3.6. Prognostik Faktörler	28
2.4. Micro-RNA	29
2.4.1. Küçük RNA'ların Sınıflandırılması	30
2.4.2. Mikro RNA'ların Yapısı ve Keşfi	31
2.4.3. MikroRNA'ların Oluşumu	32
2.4.4. MikroRNA'ların Fonksiyonu	35

2.5. MikroRNA ve Kanser	35
2.6. Tümör Süpresör MikroRNA'lar	37
2.7. Onkogenik MikroRNA'lar	38
2.8. microRNA'ların Normal ve Malign Hematopoezdeki Rollerini.....	40
2.8.1. Normal Hematopoezde MikroRNA.....	40
2.8.2. Lenfoid farklılaşmada MikroRNA'lar	42
2.8.3. Granülosit ve Monosit Farklılaşmasında MikroRNA'lar.....	45
2.8.4. Eritroid ve Megakaryositik Farklılaşmada MikroRNA'lar	46
2.9. Akut Lösemide MikroRNA Ekspresyonu.....	47
2.10. Normal Hematopoezden Malign Hematopoeze Geçiş	50
3. GEREÇ VE YÖNTEM	56
3.1. Örneklerin Toplanması	57
3.2. RNA İzolasyonu	57
3.3. cDNA Reaksiyonu	58
3.4. PreAmplifikasyon Reaksiyonu	59
3.5. Real-Time PCR	59
3.6. Assay Karışımı	60
3.7. Sonuçların Analizi.....	61
4. BULGULAR.....	62
5. TARTIŞMA.....	105
6. SONUÇLAR.....	123
KAYNAKLAR	126
ÖZGEÇEMİŞ	139

TABLO LİSTESİ

Tablo No:

Sayfa No:

Tablo 1. Akut lösemilerin ayrımında kullanılan morfolojik ve sitokimyasal özellikler	9
Tablo 2. Akut lenfoblastik lösemilerde FAB sınıflaması	11
Tablo 3. Akut lenfoblastik lösemilerde histobiyokimyasal boyanma özellikleri	11
Tablo 4. ALL’de B lenfosit ve progenitörlerinin işaretleyicileri	13
Tablo 5. ALL’de T lenfosit ve progenitörlerinin işaretleyicileri	13
Tablo 6. ALL’de immüfenotipik alt gruplar	14
Tablo 7. Akut lösemili çocuklarda klinik bulgu ve belirtiler	14
Tablo 8. Akut lösemilerin ayırıcı tanısında düşünülmesi gereken hastalıklar	19
Tablo 9. Akut lenfoblastik lösemi tedavisinde prognostik faktörler	22
Tablo 10. AML gelişimde rol oynayan kalıtsal ve kazanılmış nedenler	24
Tablo 11. AML hastalarında akım sitometrik analiz	26
Tablo 12. AML’de immüfenotipik özellikler	26
Tablo 13. Tedaviye göre risk grupları	27
Tablo 14. AML’de prognostik kriterler	28
Tablo 15. Küçük RNA’ların sınıflandırılması ve özellikleri	32
Tablo 16. Lenfomadaki microRNA paneli	43
Tablo 17. MikroRNA’ların fonksiyonu	48
Tablo 18. Lösemilerde microRNA paneli	49
Tablo 19. MikroRNA ve fonksiyonları	51
Tablo 20. Çocuk hasta ve kontrollerinin yaş ve cinsiyet dağılımları	62
Tablo 21. Çocuk hasta ve kontrol gruplarının laboratuvar bulguları	63
Tablo 22. Çocuk hastaların FAB klasifikasyonu ve hücre tipleri	63
Tablo 23. Çocuk hastaların farklı ortam ve zamanlarda ölçümü yapılan blast yüzde değerleri	64
Tablo 24. Çocuk hastalarda ölçümü yapılan çeşitli ölçümler	65
Tablo 25. Çocuklarda yeni tanı alan hasta –sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 1	65
Tablo 26. Çocuklarda yeni tanı alan hasta– sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 2	66
Tablo 27. Çocuklarda yeni tanı alan hasta – sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 3	67
Tablo 28. Çocuklarda hasta remisyon – sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 1	70
Tablo 29. Çocuklarda hasta remisyon – sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 2	81
Tablo 30. Çocuklarda hasta remisyon – sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 3	72
Tablo 31. Çocuk hastalarda yeni tanı - remisyon anlarındaki micro RNA karşılaştırmaları	74
Tablo 32. Çocuk hastalarda lösemi tipine göre genel özelliklerin karşılaştırılması	76
Tablo 33. Çocuk hastalarda lösemi tipine göre tanı sırasında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması	77
Tablo 34. Çocuk hastalarda hücre tipine göre genel özelliklerin karşılaştırılması	78
Tablo 35. Çocuk hastalarda hücre tipine göre tanı sırasında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması	79
Tablo 36. Çocuk hastalarda cinsiyete göre genel özelliklerin karşılaştırılması	80
Tablo 37. Çocuk hastalarda cinsiyete göre tanı sırasında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması – 1	81
Tablo 38. Çocuk hastalarda cinsiyete göre tanı sırasında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması – 2	82
Tablo 39. Çocuk hastalarda cinsiyete göre remisyon anında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması	82
Tablo 40. Kız hastalarda tanı sırasında ölçülen ve sağlıklı kontrol grubundan elde edilen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması	83

Tablo 41. Erkek hastalarda yeni tanı sırasında ölçülen ve sağlıklı kontrol grubundan elde edilen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması	85
Tablo 42. Kız hastalarda remisyon anında ölçülen ve sağlıklı kontrol grubundan elde edilen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması.....	87
Tablo 43. Erkek hastalarda remisyon anında ölçülen ve sağlıklı kontrol grubundan elde edilen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması	88
Tablo 44. Kız hastalarda yeni tanı sırasında ve remisyon anlarında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması	89
Tablo 45. Erkek hastalarda yeni tanı sırasında ve remisyon anlarında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması	89
Tablo 46. Yetişkin hasta ve kontrollerinin yaş ve cinsiyet dağılımları.....	91
Tablo 47. Yetişkin hasta ve kontrol gruplarının laboratuvar bulguları	92
Tablo 48. Yetişkin hastaların FAB klasifikasyonu ve hücre tipleri.....	92
Tablo 49. Yetişkin hastaların farklı ortamlarda ölçümü yapılan blast yüzde değerleri.....	93
Tablo 50. Yetişkin hastalarda ölçümü yapılan çeşitli ölçümler	93
Tablo 51. Yetişkinlerde hasta tanı sırasında - kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 1	94
Tablo 52. Yetişkinlerde hasta tanı sırasında - kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 2	95
Tablo 53. Yetişkinlerde hasta tanı sırasında - kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 3	95
Tablo 54. Yetişkinlerde remisyon - kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları	97
Tablo 55. Yetişkinlerde hastalarda yeni tanı - remisyon anlarındaki micro RNA karşılaştırmaları.....	99
Tablo 56. Yetişkin hastalarda lösemi tipine göre genel özelliklerin karşılaştırılması.....	101
Tablo 57. Yetişkin hastalarda lösemi tipine göre yeni tanı sırasında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması	102
Tablo 58. Yetişkin hastalarda lösemi tipine göre remisyon anında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması	102
Tablo 59. Lösemi tipi ALL olan yetişkin hastalarda yeni tanı ve remisyon anında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması.....	103
Tablo 60. Lösemi tipi AML olan yetişkin hastalarda yeni tanı ve remisyon anında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması.....	103

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No:

Sayfa No:

Şekil 1. Hematopoez	7
Şekil 2. Akut lösemi oluşumunda olası mekanizmalar	8
Şekil 3. miRNA oluşum basamakları	33
Şekil 4. RISC kompleksi oluşumu	34
Şekil 5. Hematopoezin farklı evrelerinde microRNA oluşumu.	41
Şekil 6. Normal hematopoezin de microRNA oluşumu.	42
Şekil 7. Çocuklarda yeni tanı alan hasta – sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 1	68
Şekil 8. Çocuklarda yeni tanı alan hasta - sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 2	69
Şekil 9. Çocuklarda hasta remisyon – sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 1	72
Şekil 10. Çocuklarda hasta remisyon – sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 2	73
Şekil 11. Çocuk hastalarda yeni tanı - remisyon anlarındaki micro RNA karşılaştırmaları	75
Şekil 12. Kız hastalarda tanı sırasında ölçülen ve sağlıklı kontrol grubundan elde edilen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması	84
Şekil 13. Erkek hastalarda yeni tanı sırasında ölçülen ve sağlıklı kontrol grubundan elde edilen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması	86
Şekil 14. Kız hastalarda remisyon anında ölçülen ve sağlıklı kontrol grubundan elde edilen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması	87
Şekil 15. Erkek hastalarda remisyon anında ölçülen ve sağlıklı kontrol grubundan elde edilen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması	88
Şekil 16. Kız hastalarda yeni tanı sırasında ve remisyon anlarında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması	90
Şekil 17. Erkek hastalarda yeni tanı sırasında ve remisyon anlarında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması	90
Şekil 18. Yetişkinlerde yeni tanı sırasında - kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları	96
Şekil 19. Yetişkinlerde remisyon - kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 1	98
Şekil 20. Yetişkinlerde remisyon - kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 2	98
Şekil 21. Yetişkinlerde hastalarda tanı - remisyon anlarındaki micro RNA karşılaştırmaları	100
Şekil 22. Lösemi tipine göre yetişkin hastalarda yeni tanı ve remisyon anında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması	104

KISALTMALAR LİSTESİ

ALL	: Akut lenfoblastik lösemi
A-NAE	: Alpha Naphthyl Acetate Esterase
AML	: Akut miyeloblastik lösemi
AP	: Asit Fosfataz
ATRA	: All-Trans-Retinoik Asit
bcr-abl	: t(9;22) 18. kromozoma lokalize protoonkogen
B-EST	: Alpha Naphthyl Butyrate sterese
BIC	: B cell Integration Cluster
BK	: Beyazküre
Ca	: Kalsiyum
cDNA	: Complementary DNA
CALLA	: Common ALL antijeni
cAMP	: Siklik AMP
CMP	: Common Myeloid Progenitor
CD	: Cluster of designation
CBF	: Core binding factor
EBV	: Epstein-Barr virus
CEBPA	: Enhancer Binding Protein
CAE	: Choloroacetate Esterase
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dsRNA	: Çift sarmal RNA
FAB	: Fransız, Amerikan, İngiliz
Fe	: Demir
FTL3	: Fms-related tyrosine kinase
Hb	: Hemoglobin
Hct	: Hematokrit
HOX 11	: T-cell lymphoma 3-associated breakpoint
HRG	: Yüksek risk grubu
HSV	: Herpes Simpleks Virus
HTLV-1	: Human T-cell leukemia virus-I
HTLV-II	: Human T-cell leukemia virus-I
KLL	: Kronik Lenfositik Lösemi
MDS	: Myelodysplastik Sendrom
MGP	: Methyl Green Pyronine
MMP	: Matriks Metalloproteaz
MPO	: Miyeloperoksidaz
MRG	: Orta risk grubu
Mrna	: Messenger ribonükleik asit
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
MPP	: Multi Potent Progenitor Cell
NFIA	: Negative Nükleer Faktor IA
NK	: Doğal öldürücü hücreler
NSE	: Nonspesifik Esteraz
ORF	: Open reading frame
PAS	: Periyodik asit –Schiff

PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
Plt	: Platelet
PML	: Promiyelositik lösemi
RARA	: Rretinoik Asit Reseptör Alfa
rasiRNA	: Repeat-Associated siRNA
RISC	: RNA-induced silencing complex (RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksi)
R-ras	: Related RAS viral (r-ras) oncogene homolog
RNA	: Ribonükleik asit
RNAi	: RNA interferansı
RT-PCR	: Real time- Polimeraz zincir reaksiyonu
SBB	: Sudan Black Boyası
scnRNA	: small-scan RNA
smRNA	: small modulatory RNA
SRG	: Standart risk grubu
sRNAs	: Küçük RNA'lar
t	: Translokasyon
tasiRNA	: Endojen trans-acting siRNA
TdT	: Terminal Deoksinükleotid Transferaz
tncRNA	: Tiny Non-Coding RNA
TNF	: Tümör nekrozis faktör

ÖZET

Çocukluk ve Yetişkin Çağı Akut Lösemilerinde MikroRNA Profili

Amaç: MikroRNA'lar, genom üzerinde protein kodlayan intron veya ekzon bölgeleri ve protein kodlamayan bölgelerdeki RNA genlerinden transkripsiyonu sağlanan, fakat proteine translasyonu gerçekleştirilmeyen, fonksiyonel RNA molekülleridir. MikroRNA'lar protein translasyonunun inhibisyonuna ve/veya mRNA'nın yıkımına neden olur. Yapılan çoğu çalışmada bu küçük moleküllerin hematopoezde farklılaşma, çoğalma ve apoptoz gibi çok önemli hücrel olaylarda kritik öneme sahip olduğunu göstermiştir. Akut lösemilerde ki rolü giderek daha fazla araştırmanın konusu olmaktadır. Bizde bu çalışmada, hematolojik malignansilerden tümörlerden biri olan çocukluk ve yetişkin çağı akut lösemilerinde, mikroRNA profillerini belirlemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik Hematoloji ve Pediatrik Onkoloji Bilim Dalları ile Dahiliye Hematoloji Bilim Dallarına Aralık 2010 ile Eylül 2011 tarihleri arasında başvuran ve akut lösemi tanısı alan 49 hasta çalışmaya alındı. Sitomorfolojik, immünohistokimyasal ve akım sitometrik çalışmalar ile ALL tanısı alan çocuk 31 hasta, yetişkin 4 hasta ile AML tanısı alan 6 çocuk hasta ile yetişkin 8 hasta araştırma grubunu oluşturdu. Kontrol grubunu sağlıklı çocuk ve yetişkin 70 (çocuk;47, yetişkin 23) kişi oluşturdu. Hasta gruplarında tanı sırasında ve remisyon dönemlerinde olmak üzere 2 defa kan alınıp plazma örnekleri saklandı. Sağlıklı kontrollerden bir defa kan alınıp plazması ayrıldı. Alınan plazma örnekleri PCR ile mikroRNA analizi yapıldı.

Bulgular: Yeni tanı alan çocuk hasta ile sağlıklı kontrol grupları karşılaştırıldığında; miR20a, miR25, miR92a, miR30c, miR106b, miR203, miR150, miR192, miR302c, miR184, miR218, miR320, miR342-3p, miR223, miR328, miR483-5p, miR376a, miR381, miR451, miR576-3p, miR548a yeni tanı alan hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek ($p<0.05$) bulundu. MiR20b, miR342-3p ve miR548a ölçümleri sağlıklı kontrol grubunda yeni tanı alan hasta grubuna göre yüksek ($p<0.05$) bulundu. Remisyonunda ki çocuk hastalarla sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında; miR769-3p, miR20a, miR92a, miR16, miR27b, miR192, miR320, miR223, miR484, miR451'in remisyon grubunda yüksek ($p<0.05$) bulundu. Yeni tanı alan çocuk hastalarla remisyonunda ki hasta grupları karşılaştırıldığında da miR30c, miR106b, miR25, miR184, miR218, miR302c, miR483-5p yeni tanı alan hasta grubunda daha yüksek ($p<0.05$) idi. Yetişkin yeni tanı alan hastalarla sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında miR328 sağlıklı kontrol grubunda, miR451 ise yeni tanı alan hasta grubunda daha yüksek ($p<0.05$) saptandı.

Sonuç: Gen tedavisi başta olmak üzere yeni tedaviler lösemilerde önemli tedavi değişiklikleri getirebilir. MikroRNA'lar bir ya da birden fazla hedef geni baskılayarak hücrenin gelişim, farklılaşma, çoğalma, ölümü gibi farklı olaylarda rol oynarlar. miRNA genlerinin %50'sinden fazlası kanser ile ilişkilendirilmiş genom üzerinde bulunur.

Yapılan çok sayıda deneysel çalışma; miRNA'ların yeni bir onkogen veya tümör baskılayıcı gen sınıfı oluşturabileceğini göstermiştir. Normal ve patolojik dokular arasında farklı seviyede ifade edilen miRNA'lar tespit edilerek, insan kanserlerinde tanı ve tedavide etkili olabilecek yeni miRNA'lar belirlenebileceği bu çalışma ile gösterilmiştir.

Anahtar Sözcükler: akut lösemi, mikroRNA profili

ABSTRACT

Micro-RNA Profile of Childhood and Adult Acute Leukemia

Aims: Micro-RNAs are functional, non-protein coding RNA molecules and their transcriptions provided by intron or exon regions of the genome and non-protein coding regions of RNA genes. Micro-RNAs inhibit translation of protein and / or cause destruction of mRNA. Most of studies have demonstrated that many of these small molecules have critical importance in many important cellular events such as hematopoiesis, differentiation, proliferation and apoptosis. The role of micro-RNAs in acute leukemia has become the subject of research increasingly. In this study we aimed to identify micro-RNA profiles in the childhood and adult acute leukemia that one of hematologic malignancies.

Materials and Methods: Fourty nine patients who were diagnosed with acute leukemia and admitted to Cukurova University Faculty of Medicine Department of Pediatrics, Pediatric Hematology and Oncology and Hematology Division of the Department of Internal Medicine between December 2010 and September 2011. Blood samples were taken twice in patient groups at diagnosis and during remission and plasma samples were stored. Blood samples were taken once in the healthy group and plasma were separated. The plasma samples were investigated by PCR analysis of micro-RNA. Acute leukemia was diagnosed by **cytomorphological**, immuno histochemical and flow cytometric studies. Thirty five patients who were diagnosed with ALL (31 child, 4 adult), fourteen patients who were diagnosed with AML (6 child, 8 adult) and seventy healthy children and adult (47 child, 23 adult) as a control group were included to study.

Results: Newly diagnosed pediatric patients compared with healthy control groups; miR20a, miR25, miR92a, miR30c, miR106b, miR203, miR150, miR192, miR302c, miR184, miR218, miR320, miR342-3p, miR223, miR328, miR483-5p, miR376a, miR381, miR451, miR576-3p, miR548a levels were increased in newly diagnosed patients according to healthy control groups ($p < 0.05$). The miR20b, miR342-3p and miR548a levels in healthy control group of patients were increased according to newly diagnosed group ($p < 0.05$) Healthy control groups compared with child patients whose in remission; miR769-3p, miR20a, miR92a, miR16, miR27b, miR192, miR320, miR223, miR484, miR451 levels were increased in healthy control groups according to child patients whose in remission. Newly diagnosed pediatric patients compared with patients whose in remission, miR30c, miR106b, miR25, miR184, miR218, miR302c, miR483-5p levels were increased in newly diagnosed pediatric patients more than child patients whose in remission ($p < 0.05$) Newly diagnosed adult patients compared with healthy control groups; miR328 level were increased in healthy control groups, miR451 level were increased in patients with newly diagnosed patients ($p < 0.05$).

Conclusion: A new leukemia treatments includes significant changes especially in gene therapy. Micro-RNAs play a role in different events such as cell growth,

differentiation, proliferation and death by suppressing one or more target gene. More than 50% of miRNA genes are located on the genome which has associated with cancer. A large number of experimental studies show that miRNAs may have generate a new class of oncogenes or tumor suppressor gene. miRNAs are thought to be identified at a different level of expression in normal and pathological tissues can be determined between the miRNAs that are effective diagnosis and treatment of human cancers. We showed the microRNA profiles that may play new roles treatment of acute leukemia in the futures.

Key Words: Acute leukemia, micro-RNA profile

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Lösemiler normal myeloid ya da lenfoid hematopoezin spesifik bir kademesindeki duraklama ve klonal çoğalma sonucu anormal progenitör hücrelerin malign transformasyonu ve kontrolsüz çoğalması ile kendini gösterir. Lösemik hücreler sınırsız sayıda kendini yenileme ve büyüme kapasitesine sahip olup, kemik iliği ve dokuları infiltre etmesi ile karakterizedir. 15 yaş altındaki çocuklarda görülen malin hastalıkların yaklaşık olarak % 23'ünü ALL oluşturur.

ALL yalnız çocukluk çağıının en sık görülen malin hastalığı olması açısından değil tedavide elde edilen başarılar açısından da bu yaş grubunun en önemli malin hastalığıdır. Yaklaşık 200 yıllık geçmişi olduğu bilinen löseminin yıllar içinde patofizyolojisinin daha iyi incelenmesi ile heterojen bir hastalık olduğu anlaşılmış, uygun tedavi yöntemleri geliştirilerek hastalara daha uzun yaşam imkanı sağlanmış ve diğer kanserlerin tedavisi için önemli bir model olmuştur.

Lösemi tedavisinde daha iyi sonuçlar elde etmeye yönelik çabalar ve bu amaca ulaşılabilmesi için öncelikle hastalığın patogenezinde mevcut olan faktörlerin saptanıp bu yönde çalışmalar yapılması gerektiğini göstermiştir. Bu nedenle lösemi patogenezin de saptanan belli mutasyonlar hastalığın nedenlerini anlaşılması, tedavi planının yapılması ve hastalıkla ilişkili prognozunun belirlenebilmesi açısından farklı yollar sunmaktadır.

MikroRNA'lar ise genom üzerinde protein kodlayan intron veya ekzon bölgeleri ve protein kodlamayan bölgelerdeki RNA genlerinden transkripsiyonu sağlanan, fakat proteine translasyonu gerçekleştirilmeyen, fonksiyonel RNA molekülleridir. İnsan genomunda miRNA'ları kodlayan yüksek seviyede korunmuş yüzlerce gen bölgesi keşfedilmiştir. Şu an itibariyle, insan genomunda 1000'in üzerinde mikroRNA tanımlanmıştır.

Olgun mikroRNA'lar hedef genlerin ekspresyonunu azaltarak protein sentezinin düzenlenmesine bir nevi genin işlevlerinin engellenmesine sebep olurlar. MikroRNA'lar kendi nükleotid dizilerine komplementer hedef genleri tanıma özelliğine sahiptir. MikroRNA, RISC ile kompleks oluşturur, baz çiftleşme özelliği ile mRNA'ya bağlanır, sonrasında protein translasyonunun inhibisyonuna ve/veya mRNA'nın yıkımına neden olur.

Hücreler anormal olarak çoğaldıklarında ve apoptoz fonksiyonlarını kaybettiklerinde genellikle kanserleşme özelliği gösterirler. mikroRNA'ların hücre proliferasyonu ve apoptoz gibi birçok biyolojik süreçte etkili anahtar moleküller oldukları bugün bilinmektedir. MikroRNA'lar, hedefledikleri mRNA'nın moleküler yolaklardaki özelliğine göre onkogenik veya tümör süpresör özellik kazanabilirler.

Normal ve malign hematopoesizdeki microRNA ekspresyonları arasındaki ilişkiyi saptamak için giderek artan sayıda çalışma yapılmaya çalışılmaktadır. Ancak eldeki verilerle şu anda hematolojik malignansilerde microRNA'nın direkt rolünü gösteren çok az sayıda çalışma ve veri vardır. Akut lösemilerde mikroRNA'ların rolü giderek daha fazla araştırmanın konusu olmaktadır. Bizde bu çalışmada, hematolojik tümörlerden biri olan çocukluk ve yetişkin çağı akut lösemilerinde, mikroRNA profillerini belirlemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akut Lösemi

2.1.1. Tanım

Leukemia kelimesinden köken alan ve kelime anlamı ‘‘kanda beyazlaşma’’ olarak bilinen lösemi; normal myeloid ya da lenfoid hematopoezin spesifik bir kademesindeki duraklama ve klonal çoğalma sonucu anormal progenitör hücrelerin malign transformasyonu ve kontrolsüz çoğalması ile kendini gösterir. Bu neoplastik hücreler sınırsız sayıda kendini yenileme ve büyüme kapasitesine sahip olup, kemik iliği ve dokuları infiltre etmesi ile karakterize, etyolojisi bilinmeyen ve tedavi edilmediğinde ölümle sonuçlanan tek bir hastalık değil, bir hastalık grubudur. Lösemi tanısı, kemik iliginde % 30 ’dan fazla herhangi bir hücre dizisinden köken almış anormal blastların görülmesi ile konur.¹⁻³

2.1.2. Tarihçe

Löseminin tanımı ilk kez 1827’de *Dameshek* ve *Gunz* tarafından kullanılmıştır. *Velpeau* 1827 yılında ateş, güçsüzlük, karın şişliği olan erişkin bir hastanın otopsisinde dalak ve karaciğerinin çok büyük olduğunu ve kanının kıvamının artmış, adeta lapa gibi olduğunu bildirmiştir. 1845 yılında *Bennet* tarafından ‘‘tüm kan hücrelerinde bir takım değişikliklerle karakterize ve farklı büyüklükte yuvarlak hücrelere asetik asit eklendiğinde nükleusun bir büyük granül ve genellikle de birden fazla granül içeriği’’ şeklinde tanımlanan lösemik blastlar, daha sonra *Virchow* tarafından beyaz küre anlamına gelen ‘‘*leukemia*’’ olarak tanımlanmıştır.⁴⁻⁶

Erllich’in 1877’de boyama yöntemlerini keşfinden sonra löseminin morfolojik özelliklerini tanımlamak mümkün olabilmıştır. 1900 yılında *Naegelli*, lenfoblastların lenfoid hücre dizisine, myeloblastların ise myeloid hücre dizisine ait olduğunu söylemiştir.⁴ 1873’te ilk kan transfüzyonu lösemili bir hastanın tedavisinde kullanılmıştır. Daha sonra Röntgen tarafından X ışınının bulunması lösemi tedavisine büyük katkı sağlamıştır. 1942 *Gilman* nitrojen mustard derivelerinin lenfoid doku üzerindeki etkilerini klinik olarak gözlemlemişler, *Farber* ise folik asit antagonisti aminopterinini kullanmıştır.^{5,6}

Yaklaşık 200 yıllık geçmişi olduğu bilinen löseminin yıllar içinde patofizyolojisinin daha iyi incelenmesi ile heterojen bir hastalık olduğu anlaşılmış, uygun tedavi yöntemleri geliştirilerek hastalara daha uzun yaşam imkanı sağlanmış ve diğer kanserlerin tedavisi için önemli bir model olmuştur.⁴⁻⁷

2.1.3. Epidemiyoloji

Gelişmiş ülkelerde akut lösemilerin % 83'ünü Akut Lenfoblastik Lösemi(ALL), % 17'sini Akut Miyeloblastik Lösemi (AML) oluşturmakta olup, insidanda bölgesel farklılıklar görülebilir. ALL çocukluk çağında en sık görülen malinite olup Amerika Birleşik Devletlerinde 15 yaş altında tanı alan kanserlerin % 23'ünü oluşturduğu bildirilmektedir. Ülkemizde kanser istatistikleri henüz yeterince sağlıklı olmamakla birlikte, ALL sıklık açısından yine birinci sırada yer almakta ve farklı merkezlerde tedavi gören hastaların en az % 27'sini oluşturmaktadır. ALL çocukluk çağı kanserlerinin ¼'ünü, tüm lösemilerinin % 75'ini oluşturur.

ALL'nin frekansı ve yaş dağılımı coğrafik bölgelere göre farklılıklar göstermektedir. Kuzey Amerika, Avustralya, Kuzey ve Batı Avrupa, Japonya, Filipinler ve Singapurda bir milyonda 35-49 hasta görülürken, Orta ve Doğu Avrupada daha nadir görülmektedir. Kuzey Afrika ve Ortadoğu ülkelerinde ALL oldukça nadir görülürken, bu coğrafyada en sık görülen çocukluk çağı hematolojik malign hastalığı Non-Hodgkin Lenfoma(NHL) dır. Amerikada siyah ırkta bu oran bir milyonda 25-28, Hindistan da ve bazı Afrika ülkelerinde ise milyonda 25 olarak bildirilmiştir. Coğrafi dağılıma göre bu oranda farklılıklar görülmektedir.

Bildirilen enyüksek oran milyonda 59.4 ile Costa Rica ve milyonda 50 ile Los Angeles'da yaşayan Hispaniklere ait iken en düşük oran milyonda 11.8 ile Nijerya'dan bildirilmiştir. Görülme sıklığı en fazla 2-5 yaş arasındadır ve daha sonra sıklık giderek azalarak yaşamın üçüncü dekatında yeniden artar. ALL'nin erken çocukluk çağında sık görülmesinin etiyolojik önemi açık değildir. Ancak gebelikteki olaylar ve immün sistemin gelişmesi ile ilişkili olduğuna dair görüşler vardır.⁵⁻⁸

ALL insidansı ırksal farklılıklara bağlı olarak 10 kat değişkenlik gösterebilir. En düşük oran siyah ırkta tespit edilmiştir. Amerika'da ALL değişik etnik gruplar arasında farklı oranlarda görülmektedir. En yüksek görülme oranı Hispanikler, Filipinliler, Çinliler iken en düşük oran Afrika kökenli Amerikalılarda rastlanmaktadır. İnsidans

oranları uluslar arası standartlara göre beyazlarda orta yüksek düzeyde iken, Kızılderililerde daha düşük oranlardadır.

ALL kızlara göre erkeklerde daha yüksek insidans (1/1.2) görülmektedir. Bu yükseklik puberte döneminde ve T hücreli ALL'lilerde (4:1) daha belirgindir. Ancak seks hormonlarının ALL etyolojisinde herhangi bir rolü bugüne kadar saptanmamıştır. ALL'li çocuğun kardeşlerinde ve çift yumurta ikizlerinde genel popülasyona oranla ALL gelişim riski 2-4 kat fazladır. Tek yumurta ikizlerinde bir kardeşte ALL gelişirse diğer kardeşte 5 yıl içinde ALL gelişme riski % 20'dir. Cinsiyet prognoz açısından önemli bir gösterge olup kızlarda ki sürvi oranı daha yüksektir. Çocukluk çağı AML insidansı yeni doğan ve adolesan döneminde ki hafif bir artışın dışında genellikle tüm yaşlarda aynıdır.

Çocukluk çağı lösemilerinde belli yaşlarda görülen zirvenin sosyoekonomik faktörlere bağlı olduğu öne sürülmüştür. (Bu hipoteze göre; sosyoekonomik düzey toplumlarda artıkça fakir topluluklarda az görülen T-ALL sıklığı giderek artmaktadır) Bu çalışmaların çoğunda sosyoekonomik düzey ölçütü olarak hastaların yaşadığı yer alınmıştır. Kullanılan diğer parametreler ise hastaların aylık gelirleri ve eğitim seviyesidir. Yapılan çalışmaların çoğunda birkaç istisna dışında lösemi ve yüksek sosyo ekonomik düzey arasında zayıf ilişki bulunmuştur.⁸

2.1.4. Etiyoloji

Lösemilerin nedeni tam olarak bilinmemesine rağmen multifaktöriyel olduğu kabul edilmektedir. Lösemi oluşumunda etkisi olduğu düşünülen faktörler ve etkileri:

1- İyonize Işımlar: Gebelikte röntgen incelemesi yapılan hamilelerin bebeklerinde lösemi riskinin 1,5-2 kat arttığı görülmüştür. Bu hafif artış bu çocuklarda lösemi gelişme riskinin sadece ışının doğrudan etkisine değil, anneyle ilgili başka olası etkenler olabileceğini düşündürmektedir. Radyoaktif ortamlarda çalışan erkeklerin çocuklarında lösemi geliştiği de bildirilmiştir. Bu bulgular iyonize edici ışınların lösemi gelişmesinde önemli olduğunu göstermektedir Radyasyona maruz kalan kişinin aldığı doz ile lösemi gelişim riski doğru orantılıdır.^{8,9}

26 Nisan 1986'da Rusya Federasyonu'nda bulunan Çernobil Nükleer Santrali patlamıştır. Kaza sonrası radyoaktif saçılım başta Ukrayna, Belarus ve Rusya Federasyonu olmak üzere tüm Kuzey Yarı Küre'yi etkilemiştir. Dünyada bu güne kadar

yaşanan en önemli nükleer kaza Çernobil nükleer santralinde yaşanmıştır. Kaza; ölümlere, sakatlıklara ve hastalıklara neden olmasının yanı sıra çevreye de zarar vermiş, etkilediği coğrafyada canlı yaşamını ve gelecek kuşakları tehdit etmiştir. Radyasyonun uzun süreli etkisi nedeniyle de insana yönelik tehdidi günümüzde de sürmektedir. Çernobil Nükleer Santral kazası sonrası Türkiye'ye de radyoaktif bulaş olmuştur. Ancak bu bulaşın insan sağlığına olan zararı konusunda yeterli veri bulunmamaktadır. Benzer şekil de Japonya'nın Hiroşima ve Nagasaki şehirlerine atılan atom bombaları patlama, ısı, radyasyon gibi etkileri ile, 100 bin üzerinde insanı öldürdü. Sonrasında yarattığı çevre felaketleri ve iyonize ışınların etkileri ile öldürmeye devam etmektedir.

2- Virüsler: Lösemi ile belirli bir enfeksiyon etkeni arasında şimdiye kadar kesinleşmiş herhangi doğrudan bir ilişki saptanamamıştır. *Human T-cell leukemia virus-I* (HTLV-I) kronik lenfositik lösemi ile ilişkili bulunmuştur ancak bu hastalarda löseminin bulaşıcılığı gösterilememiştir. *Lehtinen ve ark.*'lerinin yaptığı 2 ayrı araştırmada; gebeliklerinde *Epstein-Barr virus* (EBV) IgM (+) ve *Mycoplasma pneumoniae* (+) olan hamileler ile bu annelerden doğan çocukların ileride lösemi olması arasında ilişki gösterilmiştir.

Yapılan araştırmalar sonucunda enfeksiyonların doğrudan etkiyle lösemiye neden oldukları ya da lösemi hücrelerinde virusun gen dizisinin varlığı saptanamamıştır. Sonuç olarak; enfeksiyonlar neticesinde bu çocuklardaki immün sistemde varolan bir bozukluk sonucunda ikinci vuruş gerçekleşmekte ve lösemi ortaya çıkmaktadır.^{8,9}

3- Kimyasal Madde ve İlaçlar: Kimyasal maddelerden benzen ve türevleri akut lösemi riskini arttırmaktadır. Alkilleyici ajanlarla tedavi görenlerde AML ve miyelodisplastik sendrom gelişme riski yüksektir. Topoizomeraz II inhibitörleri (Etoposid, etoposin, etoposin türevleri, antrasiklinler) ile tedavi gören ALL'li vakalarda AML gelişme riski yüksektir. Kloramfenikol ve fenilbütazon'da lökomojen olarak tanımlanmaktadır.^{10,11}

4- Genetik ve Konjenital Faktörler: Akut löseminin ortaya çıkmasında genetik faktörlerin önemli bir rolü vardır. Bazı ailelerde bu hastalığın çok sık görüldüğü ve akut lösemililerin kardeşlerinde lösemi sıklığının beklenenden 2-4 kat fazla olduğu bildirilmiştir. 6 yaş altındaki ikizlerden birinde lösemi gelişmişse diğer ikizde hastalığın ortaya çıkma riski % 20 oranındadır. Down Sendromunda da lösemi normal

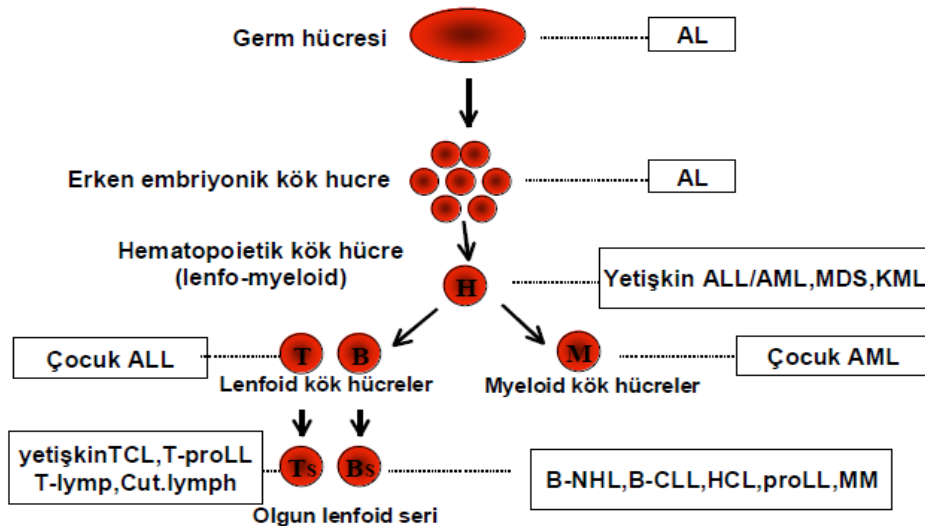
populasyona oranla 20 kat daha siktir. Bazı genetik hastalıklarda hastalığın bir bulgusu ya da sekonder ürünü olarak da akut lösemi ortaya çıkabilmektedir.¹⁰⁻¹²

Nörofibromatosis, konjenital agamaglobulinemi, glutation redüktaz eksikliği, inkontinenti pigmenti, immün yetmezlikler, Rubinstein-Taybi sendromu, Kostman sendromu, Fanconi anemisi, Bloom sendromu, Wilms tümörü, Shwachman-Diamond sendromu, Klinefelter sendromu, Poland anomalisi, Down sendromu (Trizomi 21), Patau sendromu (Trizomi 13), Edward sendromu (Trizomi 18), ailevi kanser sendromları, Kaposi sarkomunda lösemi görülme sıklığının arttığı bildirilmiştir.⁸⁻¹²

2.1.5. Patogenez

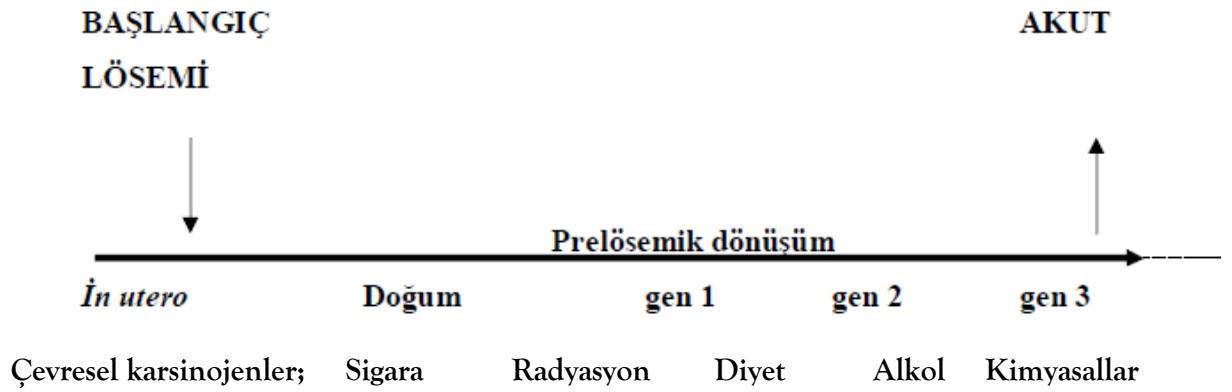
Genetik faktörlerin yanında çevresel faktörler, viral enfeksiyonlar ve immün yetmezlikler de çocukluk çağı lösemilerinde önemli faktörler olarak karşımıza çıkmaktadır. Kanser etiyolojisinde rol oynadığı düşünülen virüsler: Retrovirüsler, EBV (Endemik Burkitt, Nazofarengeal Kanser), HTLV-1 (Erişkin T Hücreli Lösemi), HTLV-II (Saçlı Hücreli Lösemi) virusleridir.^{1-3,12}

Hematopoetik hücrelerin transformasyona uğramasında normal proliferasyonun kontrolündeki bozulmalar, hücre farklılaşmasında görülen blok, apoptotik sinyallere direnç geliştirme ve artmış hücresel yenilenme kabiliyeti gibi mekanizmaların sorumlu olduğu düşünülmektedir. Hematopoezin değişik evrelerinde lösemi gelişimi görülebilir. (Şekil-1)



Şekil 1: Hematopoez. AL; akut lösemi, ALL; akut lenfoblastik lösemi, AML; akut myeloblastik lösemi, MDS; myelodisplastik sendrom, KML; kronik myeloid lösemi, THL; T hücreli lenfoma, NHL; non Hodgkin lenfoma, KLL; kronik lenoblastik lösemi, TproLL;T hücreli prolenfositik lenfoma.

Lösemi patogenezindeki genel egemen teori; tek bir mutasyona uğramış hematopoetik progenitor hücrenin sınırsız yenilenme yeteneği ile malign ve iyi farklılaşmamış hematopoetik prekürsörlerin kontrolsüz çoğalmalarını başlatmasıdır. Myc, TAL1, LYL1, LMO2, HOX 11 gibi onkoproteinlerin artmış ekspresyonu blastik transformasyonda rol alır. Kromozomal translokasyonlar ile birleşmiş genlerin sonucunda aktif kinazların kodlanmasında artış (örn: BCR-ABL füzyonu) bilinen en önemli lösemi oluşum mekanizmasıdır. TEL-AML1, E2A-PBX1 ve MLL gibi füzyon genlerinin oluşumu diğer lösemi oluşum teorileri arasında yer almaktadır. Primer onkojenik olayların tek başına lösemiye tetiklemede yetersiz olduğu normal farklılaşmayı değiştiren ve hematopoetik progenitörlerin ölümsüzlüğe neden olan yaşamını artıran sekonder mutasyonların lösemi başlangıcının tetiklenmesi için gerekli olduğu düşünülmüştür.^{1-5,8,9,12} (Şekil-2)



Şekil-2: Akut Lösemi Oluşumunda Olası Mekanizmalar

Sekonder mutasyonlara bir örnek FLT-3'ün aşırı ekspresyonudur. FLT-3 bir tirozin kinaz reseptörüdür. Hematopoetik hücrelerin normal gelişiminde rol alır. FLT-3 dışında p53, RB ve p130, p107 proteinlerini kodlayan genlerin sekonder mutasyona uğraması diğer önemli örneklerdir. Sonradan lösemi gelişen tek yumurta ikizlerinde yapılan çalışmada t(4:11) MLL/AF4 füzyonunun tek başına lökomogenik olduğu ve lösemiye yol açan diğer mutasyonları kolaylaştırdığı öne sürülmüştür. MLL/AF4 ile birlikte bulunma oranı lösemi için % 100'dür. TEL-AML1 füzyon geni ile lökomogenez birlikteliği oranı % 10'dur. TEL-AML1 füzyon geni sonucunda lösemi gelişmesi için ek postnatal olaylar gerçekleşmelidir. Normal kord kanında % 1 oranında

t(12:21) TEL-AML1 füzyon geni bulunurken bu oran sadece TEL-AML1 füzyon geni bulunan ALL hastalarının insidansından 100 kat daha sıktır. MLL geninin yeniden düzenlenmesi infant lösemilerinde ve anti lösemik ilaç kullanımına sekonder gelişen lösemilerde de görülür.⁸

2.1.6. Akut Lösemilerin Sınıflaması

Lösemik vakaların % 80'inde kromozomal bir anomali saptanır. Son yıllarda çocukluk çağı lösemileri tedavi edilebilir hastalıklar arasında yer almaktadır.¹⁻¹² ALL'li vakalarda beş yıllık sağkalım % 80'e ulaşmıştır. Lösemik hücrelerin karyotipi tanı, prognoz ve tedavi açısından önemlidir. Löseminin doğru şekilde sınıflandırılması hem hastalığın fizyopatolojisinin anlaşılması, hem de tedavinin şekillendirilmesi için şarttır. Çocukluk çağı lösemileri akut ve kronik olarak iki gruba ayrılır. Lösemiler, genelde lenfoid veya hematopoetik hücrelerin, farklılaşma asamasında duraklayıp klonal proliferasyonu olarak tanımlanır(şekil-1). Baskın hücre tipine göre vakaların % 80'i ALL, % 15'i AML, % 3-5'i de kronik myeloid lösemi ve indifferansiye karakterdedir. Hastalığın başladığı yaşa göre doğumu takiben ilk dört haftada ortaya çıkan lösemilere ise konjenital lösemi adı verilir. Akut lösemiler hücrelerin morfolojik, sitokimyasal, immünolojik ve sitogenetik özelliklerine göre öncelikle iki sınıfa ayrılır (Tablo-1).^{1,2,6,7}

1. Akut Lenfoblastik Lösemi
2. Akut Myeloid Lösemi

Tablo-I: Akut Lösemilerin Ayrımında Kullanılan Morfolojik ve Sitokimyasal Özellikler

	ALL	AML
MORFOLOJİK		
<i>Çekirdek/stoplazma oranı</i>	Artmış	Azalmış
<i>Çekirdek kromatini</i>	Düzgün, homojen	Gevşek köpüksü
<i>Çekirdekçik</i>	0-2 adet, belirsiz	2-5 adet, belirgin
<i>Granül</i>	Yok	Var
<i>Auer cisimleri</i>	Yok	Var/yok
<i>Stoplazma rengi</i>	Mavi	Mavi-gri
SİTOKİMYA		
<i>Peryodik asid schiff</i>	+/-	-
<i>Sudan siyahı</i>	-	+
<i>Peroksidaz</i>	-	+
<i>Terminal deoksinukleotidil transferaz(tdt)</i>	+	-

2.2. Akut Lenfoblastik Lösemi

Akut lenfoblastik lösemi lenfoid öncül hücrelerin pek çok farklı gelişim basamaklarının birinde meydana gelen mutasyonlardan kaynaklanan neoplastik bir hastalıktır (şekil-1). Akut lenfoblastik lösemi, akut lösemilerin % 75-80'ini oluşturur. 3-4/100 000 sıklıkla görülmekle birlikte, Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda 2500-3000 çocuk yeni tanı almaktadır. Kemik iliği aspirasyonu ALL tanısı için tercih edilen yöntemdir. Hastaların % 10'nunda tanı sırasında periferik kanda blast görülemeyebileceğinden ve kemik iliği hücrelerinin genetik çalışmalar için periferik kan hücrelerinden daha iyi olmasından ötürü kemik iliği değerlendirilmesi tercih edilen bir yöntemdir.^{1,2,3,8}

2.2.1. Morfolojik Sınıflandırma

French American British (FAB) çalışma grubunun oluşturduğu sınıflandırma genel kabul görmektedir. Bu sınıflandırma ile ışık mikroskopik görüntüler esas alınarak lenfoblastlar 3 gruba ayrılmaktadır.

L1 tipi; ALL'de görülen lenfoblastlar küçük, muntazam çekirdekli, kromatin yapısı yoğun, çekirdekçiği hiç yok veya tek ve küçük, stoplazması çok dar olan hücrelerdir.

L2 tipi; ALL'de hücreler daha büyük ve birbirinden boyut olarak daha farklı çaplardadır ve heterojen görünümündedir. kromatin yapısı daha ince, çekirdeği düzensiz çoğu zaman yarıklanma içeren, çekirdekçiği belirgin ve stoplazması daha geniş lenfoblastlardır.

L3 tipi; ALL'de hücreler belirgin olarak daha büyük ve çekirdekçik belirgindir. Hücrelerin koyu bazofilik ve vakuol içeren stoplazması vardır.

FAB sınıflamasına göre alt grupların özellikleri tablo-2'de verilmiştir. Bu sınıflamaya göre çocukluk çağı ALL'lerinin % 85'i L1, % 14'ü L2 ve % 1'i L3 morfolojisine uymaktadır. Yapılan çalışmalar FAB sınıflamasının prognostik öneminin olduğunu göstermiştir. ALL-L1 alt tipi daha yüksek remisyon ve daha uzun süreli hastalıksız yaşam oranına sahiptir.^{1-3,5,7,8}

Tablo-2: Akut Lenfoblastik Lösemilerde FAB Sınıflaması

Sitoloji	L1-Morfoloji	L2-Morfoloji	L3-Morfoloji
Hücre boyutu	Küçük	Büyük, heterojen	Büyük, homojen
Nükleer kromatin	Homojen	Değişken, heterojen	Noktalı, homojen
Nükleus şekli	Düz konturlu, bazen çentikli	İrregüler, sıklıkla çentikli	Düzgün konturlu, oval yada yuvarlak
Nükleolus	Görülmez veya silik, küçük	>1, sıklıkla belirgin	>1Belirgin, vakuoller
Sitoplazma	Dar	Değişken, sıklıkla büyük	Orta derecede büyük
Bazofilik Sitoplazma	Hafif veya orta, nadiren belirgin	Değişken, bazen koyu	Çok koyu
Sitoplazmik vakuol	Genelde yok	Değişken	Sıklıkla mevcut

2.2.2. Histokimyasal Boyama

Blastik hücrelerin bazı boyaları alıp almama veya az ya da çok almaları da lösemi tipini belirlemek için faydalı bir özelliktir. Miyeloperoksidaz (MPE), Sudan siyahı (SBB), Periyodik-Asid-Schiff (PAS), Asid Fosfataz (AP), Nonspesifik Esteraz (NSE), Terminal Deoksinükleotil Transferaz (TdT), Demir (Fe) boyaları kullanılmaktadır. Bunların farklı kombinasyonlar da pozitif olması (Tablo-3) FAB sınıflamasını desteklemektedir.¹⁻⁵

Tablo-3: Akut Lenfoblastik Lösemilerde Histobiyokimyasal Boyanma Özellikleri

FAB	MPO	SB	AP	CAE	A-NAE	B-EST	PAS	MGP	Fe	TdT
L1	–	-np	+ *	–	+/z	-/z	+/-	+	–	+
L2	–	-np	+ *	–	-/z	-/z	+/-	+	–	+
L3	–	–	+ *	–	–	–	+/-	+	–	–

np: nadir pozitif, *:T-ALL'de unipolar pozitif, z: zayıf, SB: Sudan Black, AP: Acide Phosphatase, CAE: Choloroacetate Esterase, A-NAE: Alpha Naphthyl Acetate Esterase, B-EST: Alpha Naphthyl Butyrate sterase, MGP: Methyl Green Pyronine, MPO: Miyeloperoksidaz, PAS: Periodic Acide Schiff, TdT: Terminal Deoxynucleotidyl Transferas

2.2.3. İmmüfenotiplendirme

1970'li yıllardan sonra lösemilerin sınıflandırılmasında immüfenotipik yöntemlerde kullanılmaya başlanmıştır. Bazı lenfoblastların koyun eritrositleri ile rozet oluşturduğunun ve bu lösemilerin kötü seyrettiğinin saptanması ilk adımı oluşturmuş,

bunu lökositlerin ortak antijeninin (CALLA= Common ALL antijen) saptanması izlemiştir. Sitoplazmik ve yüzey immünglobulinleri ve nihayet 1980’lerde monoklonal antikorların tanımlanmasından sonra blastların kemik iliğinin hangi dizisinden farklılaştıklarını, hangi evresinden köken aldıklarını belirleyen yüzey işaretleyicileri devreye girmiştir.¹⁻¹⁵⁻¹⁷

1985’de “Lökosit Diferansiyasyon Antijenleri Çalışma Grubu” bu antijenlerin FAB alt grubu ile ilişkisini belirlemiştir. Böylece B hücre öncüleri (pre-B, erken pre-B), T hücreli ALL, B hücreli ALL’ler ve AML’nin FAB alt gruplarına göre tanınabilmesi mümkün olmuş, bunun yanısıra bifenotipik, biklonal lösemi tanımları da sınıflamada yerini almıştır.¹⁷

Cluster of Differentiation (CD) adı altında standardize edilen insan lökosit antijenlerinin tiplendirilmeleri ve belirlenmesi için immünoflöresans, immünositokimya ve akım sitometresi gibi yöntemler kullanılmaktadır. Herhangi bir işaretleyici için % 20’nin, CD34’i için % 10’un üzerindeki antijenin gösterilmesi pozitif olarak kabul edilmektedir. Akım sitometresi ile akut lösemilerin immünfenotipik sınıflaması için kullanılan monoklonal antikorlar (tablo-4,5,6) da gösterilmiştir.

ALL; T hücreli, B hücreli, nonT/nonB hücreli olarak üç gruba ayrılmıştır. ALL’lerin % 20’si T hücre, % 1–2’si olgun B hücre orijinlidir. Geriye kalanını oluşturan nonT/non B hücreli olanlarda ise CALLA olarak nitelendirilen CD10 pozitifliği vardır. ALL alt grupları arasında B hücre serisine ait prekürsörlerin farklı prognostik özellikleri mevcuttur. Matür B hücreli ALL, daha erken B hücre alt gruplarına göre daha kötü prognoza sahiptir. B prekürsörlü ALL’lerde CALLA antijeninin (+) olduğu durumda daha iyi prognoz gözlenmektedir. T hücreli ALL klinik özelliklerinin yanı sıra immünoyolojik olarak da farklılıklar gösterir.^{1,18,19}

Monoklonal antikorlar ve moleküler genotipik çalışmalar ile bazı lösemik hücrelerin birden daha fazla hematopoetik seriye ait özellikler gösterdiği saptanmıştır. *Bifenotipik* ya da *Mikst Lineage* lösemi olarak isimlendirilen bu lösemi tipinde lenfoid ve miyeloid yüzey antijenleri aynı lösemik hücre üzerinde görülebilmektedir. Farklı çalışmalarda miyeloid yüzey antijen pozitifliği % 7 ile % 25 arasında değişiklik göstermektedir.^{1,5,8,17}

Tablo-4: ALL’de B Lenfosit ve Progenitörlerinin İşaretleyicileri

	Erken Pre-B	Pre-B	İmmatür B	Matür B
cIg				
sIg				
HLA-DR				
CD19				
CD24				
CD10				
CD20				
CD21				
CD22	Sitoplazmik			
CD23				
CD34				
TdT				

Tablo-5: ALL’de T Lenfosit ve Progenitörlerinin İşaretleyicileri

	Lenfoid kök H	Erken T	mid-timik T	Matür T
CD1				
CD2				
CD3				
CD4				
CD8				
CD7				
TdT				

Tablo-6: ALL’de İmmüfenotipik Alt Gruplar

Alt Grup	Antijenik tanım	Çocuklardaki Sıklık (%)
Öncül B hücreli ALL	CD19+ CD22+ CD79A+cIg± sIgM-	-
Pre-Pre B	CD10-	5
Erken Pre-B	CD10+	63
Pre B	CD10± cIg+	16
B hücreli	CD19+ CD22+ CD79a+ cIg+ sIgμ+ sIg κ + veya sIg	15
T serisi	CD7+ cCD3+	-
Thücreli	CD2+ CD1± CD4± CD8± HLA DR- Tdt±	12
Erken Thücreli	CD2- CD1- CD4- CD8- HLA DR± Tdt+	1

cCD3:sitoplazmik CD3 sIg: yüzey Ig cIg: sitoplazmik Ig Tdt: terminal deoksinnukleotidil transferaz

2.2.4. Klinik Bulguları

ALL’nin klinik başvuru tablosu lenfoblast infiltrasyonu sonucu oluşan kemik iliği yetersizliği ve ekstremiteler organ infiltrasyonunun derecesine bağlıdır. Çocuk ALL hastalarının 2/3’ü tanı sırasında hastalık semptomlarını son dört hafta içinde gösterirler ancak tanısı sırasında hasta ve hasta yakınlarından geriye dönük birkaç aylık öyküde alınabilir. İlk semptomlar genellikle nonspesifik olup letarji, düzelmeyen yorgunluk hissi, kemik ağrısı ve iştah kaybıdır. Lenfoblastların kemik iliğini istilası ve normal hematopoezi bozması ile daha spesifik bulgular olan anemi, kanama ve enfeksiyonlar ortaya çıkar. İmmün yetersizliğe bağlı bulgular daha nadirdir. Çocukluk çağı ALL’sinin bulgu ve belirtileri Tablo 1’de sıralanmıştır.^{1,20,21}

Tablo-7: Akut Lösemili Çocuklarda Klinik Bulgu ve Belirtiler

Anemi bulguları	Letarji, yorgunluk, hızlı tükenme, iştahsızlık Laboratuvar: normokrom normositer anemi
Enfeksiyon bulguları	Ateş, öksürük, kusma, oral alamama Laboratuvar : azalmış mutlak nötrofil sayısı
Kanamaya eğilim bulguları	Purpura, peteşi, ekimoz, hematoma Laboratuvar: trombositopeni, nadiren koagülopati
Organ tutulumu bulguları	Kemik ve eklem ağrıları, hepatosplenomegali, yaygın LAP Mediastineal kitle ve buna bağlı Süperior Vena Kava Sendromu
Sistemik hastalık bulguları	Gece terlemesi, nedeni bilinmeyen ateş, kilo kaybı

Hikaye ve klinik bulgularla lösemiden şüphelenildiğinde kan sayımı ve kan yaymasının mikroskopik incelenmesi ile çoğu olgu hızlı tanı alsada normal kan sayımı ve normal mikroskopik inceleme hastanın tanısını ekarte ettirmez. ALL asemptomatik

bir çocukta gelişimi güzel bir şekilde yapılan kan sayımı ile ya da hayatı tehdit eden kanama, enfeksiyon veya T-hücreli ALL örneğindeki gibi hiperlökositozlu çocuklarda görülen solunum sıkıntısı ile başvurabilir. Lenfadenopati sıklıkla mevcuttur ve lökosit yüksekliği ile uyumludur.

Çocukların % 30-60'ında tanı sırasında belirgin hepatomegali ve/veya splenomegali mevcuttur. Hepatomegali ayrıca yüksek lökosit sayımı ile birliktedir. ALL primer olarak kemik iliği ve kan hastalığı olduğu halde diğer tüm organlar lösemik blast hücreleri ile infiltre olabilirler. Bu infiltrasyonlar lenfadenopati ve hepatosplenomegali gibi klinik olarak belirgin olabilir. Ancak bazı organ infiltrasyonları gizli olup sadece histolojik ya da sitolojik yada tanısal görüntüleme ile saptanabilirler.^{1,3,5,20,21}

2.2.4.1 Mediastinal Bulgular

Anteriyör mediastinal kitle, sıklıkla timus içinde olup, diğer immunolojik subtiplerde nadir görülürken, T-ALL'li çocukların 2/3'ünde mevcuttur. Lösemik plevral efüzyon T-ALL hastalarının bir kısmında mediastinal kitleye eşlik etmektedir. Bu durum Superior vena kava sendromu ve ciddi solunum sıkıntısı gelişimine sebep olarak, tıbbi acil bir durumu oluşturur. İndüksiyon kemoterapisi sırasında da bu hastalarda tümör lizis sendromu gelişebilir.^{1,19,20,22}

2.2.4.2 Merkezi Sinir Sistemi Bulguları

Merkezi sinir sistem (MSS) lösemisi; serebrospinal sıvıda (BOS) lenfoblastların mevcudiyeti olup, hastalığın immunolojik subtipine bağlı olarak yeni tanı alan çocukların % 1,5-10'unda saptanmaktadır. MSS lösemisi kısmen az görülen matur B-hücre ve T-hücre ALL subtipleri ile lökositoz görülen olgularda daha sıktır. MSS lösemisi görülen çocuklarda tanı sırasında dikkatli bir fizik muayenede sıklıkla ense sertliği olmadan artmış kafa içi basınç bulguları (basağrısı, kusma, papilödem ve letarji) görülür ayrıca kranyal sinir tutulumu sıklıkla III, IV, VI ve VII kranyal sinirlerin tutulumu şeklindedir.^{1,20,22,23}

Aşırı kilo artışı ve davranış bozuklukları da tanı sırasında hipotalamik tutulum bulgularını gösterir.²³ Lösemik hücreler, MSS'ne sıklıkla hematojen ve nadiren de kafa kemikleri iliğinden direk olarak köprü venler aracılığı ile ulaşırlar. İlerleyici MSS lösemisinde blastik hücreler derin araknoidin ardından, pia/glial membranlar aracılığı

ile beyin parankimini infiltre ederler. MSS lösemili çocukların çoğunda blast varlığına bağlı tanı sırasında pleositoz görülür. Blastlar sitosantrifuj veya *May-Grunwald-Giemsa* boyama ile saptanabilirler.^{20-24,25}

2.2.4.3 Genitoüriner Bulgular

Genital organ (testis) tutulumu; hastasının başvuru sırasında dikkatli palpasyon ya da ultrasonografi (USG) ile nadiren saptanabilir. Ancak testis biyopsilerinde % 25'lere varan oranlarda lösemik blastlar saptanmıştır. Lökosit sayısı $> 25000/\text{mm}^3$ olan hastalarda gizli testis tutulumu daha fazla görülmektedir. Klinik testis relapsı ise genellikle ağrısız ve tek taraflıdır. Bazı erkeklerde intraabdominal lenf nodu tutulumu görülmüştür. Tek taraflı testis tutulumu görülen vakaların diğer testis biyopsilerinde de gizli tutulum saptanmıştır. Ancak yoğun ve çoklu ilaç tedavi rejimleri, metotreksat kullanımı gizli testis relapsını anlamlı derecede azaltmıştır. Bu nedenle önceden var olan tedaviye başlamadan yapılan ve önerilen bilateral testis biyopsisi artık önerilmemektedir.^{1,8}

Günümüz tedavileri (*St Jude, MRC/NRC* protokolleri) klinik olarak gizli testis tutulumlarında radyoterapi önermeyip sadece tüm kemoterapi yoğunluğunda bir artış önermektedirler. Renal infiltrasyon oligüriye neden olup asemptomatik seyredebilir. USG ya da bilgisayarlı tomografi ile böbreklerin büyük olduğu tanı anında saptanabilir. Bir BFM çalışmasında renal infiltrasyon %18 oranında izlenmiş, yalnız rasburicase (*rekombinant urat oksidaz enzimi*) kullanımı ile bu vakalarda dializ ihtiyacı azalmıştır.^{1-3,25}

2.2.4.4 İskelet Sistemi Bulguları

Hastaların % 20-30'u özellikle alt ekstremitelerde olan topallama veya yürümeyi reddetmeye yol açan ciddi ağrı ile kliniğe başvururlar. Bu hastalar sıklıkla prekursor B-ALL'dir. Normal kan sayımı ya da periferik kanda azalmış ya da saptanamayan lenfoblastlar ile başvurdıklarından tanı gecikebilmektedir. % 20 kadar ALL'li çocuk metafizlerde transvers radyolüsen çizgiler, subperiostal yeni kemik oluşumu ya da osteolitik lezyonlar, diffüz demineralizasyon ve vertebral kollaps gibi spesifik olmayan kemik radyografik değişiklikleri ile başvururlar. Patolojik kırıklar ve vertebral kollaps ciddi osteopeniye (lösemik osteopati) sekonder olabilir. Özellikle kalça ve dizde osteonekroz ciddi kemik ağrısına neden olabilir. Bunun yanı sıra patolojik kırık ve

vertebral kollaps hastaların aldığı tedavi de başta steroid olmak üzere antilösemik tedavinin bir komplikasyonu olarak görülebilir.^{1,25-28}

2.2.4.5 Gastrointestinal Sistem Bulguları

Akut lösemili çocuklarda spesifik ağız boşluğu problemleri siktir. *Candida albicans* infeksiyonları tanı anında ve çoklu kemoterapi esnasında sık rastlanan bir durumdur. Lösemi tedavisinin yanı sıra antifungal tedaviler ve düzenli ağız bakımı gibi destek tedavileri tedavinin önemli bir kısmını oluşturur. Ağız içinde peteşi ve dişeti kanamaları ciddi trombositopenisi olan olgularda sık görülür. Ciddi nötropeni varlığında mukozal ülserasyon, fungal ve özellikle *Streptococcus viridans* türü bakteriyel infeksiyonlara rastlanır. *Herpes Simpleks Virusunun*(HSV) neden olduğu viral infeksiyonlar nötropenik çocuklarda önemli problemlere sebep olabilir.^{1-5,24}

Candida ya da HSV özefajiti retrosternal ağrı ile karakterize olur ancak nötropenik çocuklarda, profilaksi amacıyla flukanazol kullanımı sonucu daha az görülmektedir. Lösemi hastalarında en sık gastrointestinal bulgu gaitada gizli ya da belirgin kanın varlığı olup bu bulgu; trombositopeni, yaygın damar içi pıhtılaşma (YDİP), lösemik hücre infiltrasyon ve infeksiyonlara (örn. *candida*) bağlı görülebilir.^{1,15,25}

Matur B-hücreli ALL'li çocuk hastalarda sıklıkla sağ alt kadranda masif intraabdominal lenf nodu infiltrasyonları mevcuttur. Yoğun kemoterapiye bağlı ciddi nötropeni sırasında sağ alt kadranda ağrısı, hassasiyet, abdominal distansiyon, kusma ve sepsisin oluşturduğu karakteristik sendrom (nötropenik tiflit ya da nekrotizan enterokolit) görülebilir.^{1,29}

USG sağ alt kadranda barsak duvarında belirgin kalınlaşmayı gösterebilir. Steroid tedavisine bağlı oluşan mide veya duodenum peptik ülserleri ALL'li çocuklarda daha az oranda görülmektedir. Ciddi GİS kanaması ya da nekrotizan pankreatit özellikle L-asparaginaz tedavisi alan ALL'li çocuk hastalarda nadir görülmekle birlikte tanı konması ve tedavisi zordur. Amilaz çoğunlukla yükselmeyebilir, bu dönemde lipaz düzeyi tanıya yardımcı olur. Tedavi olarak barsak istirahati, intravenöz sıvı ve geniş spektrumlu antibiyotikler uygulanmalıdır.³⁰

Cerrahi nadiren endike olup, perforasyon ve periferik abse oluştuğunda kaçınılmazdır. Bilirubin seviyesi yüksekliği ile beraber ya da tek başına karaciğer

fonksiyonlarında bozulma; karaciğerin lösemik blastlar ile infiltrasyonu, L-asparaginaz, metotreksat ya da purin analoglarının oluşturduğu kemoterapiye bağlı hepatotoksisite ya da viral hepatitlerden özellikle hepatit B ve C virus enfeksiyonları nedeniyle görülebilir. 30-33

2.2.4.6. Göz Bulguları

Gizli göz tutulumu, dikkatli şekilde oftalmolojik değerlendirmesi yapılan yeni tanı alan ALL hastaların yaklaşık üçte birinde saptanmıştır. Genel olarak gözün tüm tabakaları tutulabilir. Trombositopeniye bağlı olarak retinal kanamalar AML’li hastalarda daha fazla olmak üzere görülebilir. Bu kanamalar hiperlökositoz/lökostaz sendromunda ki çocuklarda intrakranyal kanamaya öncülük edebilir. Belirgin lösemik göz tutulumu tanı esnasında nadir olup bu durum genellikle relaps ile sıklıkla ilişkilidir.

Lösemik göz tutulumu olan hastaların yaklaşık yarısı belirgin MSS relapsı göstermektedirler. Okulomotor felç ve papil ödemi meningeal löseminin relaps anında önemli bulgularıdır. MSS, göz ve testis tutulumlarında günümüz yoğun çoklu kemoterapi rejimleri ile belirgin gerileme kaydedilmiştir. 34-36

2.2.4.7. Kardiopulmoner Bulgular

Lösemik kalp ya da akciğer tutulumu nadirdir. Ancak bu tutulumlar ALL’li hastalarda hayatı tehdit edici problemlere yol açar. Perikardial lösemik efuzyon ekokardiografik inceleme ile T-ALL hastası çocukların 1/3’ünde saptanmıştır ve sıklıkla lösemik plevral efuzyon ve mediastinal kitle ile beraberdir. Hayatı tehdit edici hiperlökositoz/lokostaz yüksek beyaz küreli hastalarda parankimde infiltrasyon ve akciğerde staz nedeniyle ciddi respiratuvar distrese neden olabilmektedir. Hayat kurtarıcı acil önlemler içerisinde yoğun kemoterapi ve destek tedavisi ile lökoferez ve kan değişimine ihtiyaç kalmayabilir. 37,38

Yoğun kemoterapi esnasında lösemili çocuklarda pulmoner komplikasyonlar genellikle infeksiyöz kökenlidir. Bakteriyel ve fungal enfeksiyonlar, lösemik tutulum ve kanamanın ayırıcı tanısı akciğerin yüksek çözünürlüklü BT’si (YÇBT) gibi görüntüleme yöntemleri ile yapmak mümkündür. Lösemili çocuklarda ciddi akut kardiyomiyopati, sepsis ve tümör lizis sendromundaki metabolik bozukluklar esnasında görülür. Geç kardiyomiyopati ise antrasiklinler ile yoğun kemoterapi sonrasında görülür. 39

2.2.4.8. Cilt Bulguları

Cilt bulguları, ALL tanılı hastalarda akut monositik lösemilere göre oldukça nadir görülür. Ancak trombositopeni sonrası peteşi ve bu ciltaltı kanamalar sonucunda kanamaların olduğu yerlerde lenfoblastlar çoğalabilir ve purpura benzeri cilt tutulumu bulguları gösterebilirler.^{1,2}

2.2.5. Ayırıcı Tanı

ALL'nin başlangıç bulguları çocukluk çağında görülen bir çok hastalığı ilk planda düşündürülebilir (Tablo-8). Klinik ve laboratuvar bulguların yeterli olmadığı şüpheli durumlarda kemik iliği aspirasyonu ve biyopsisi genellikle tanıya kesinlik kazandırır.¹⁻⁷

Tablo-8: Akut Lösemilerin Ayırıcı Tanısında Düşünülmesi Gereken Hastalıklar

Malign olmayan hastalıklar	Malign hastalıklar
❖ Juvenil romatoid artrit ❖ Enfeksiyöz mononükleoz ❖ Idiopatik trombositopenik purpura ❖ Pertusis, parapertusis ❖ Aplastik anemi ❖ Kala azar	❖ Nöroblastom ❖ Ewing sarkomu ❖ Retinoblastom ❖ Rabdomiyosarkom

2.2.6 Tedavi

Tedavinin amacı; lösemik hücreleri ortadan kaldırmak ve normal hematopoezin devamını sağlamaktır. ALL heterojen bir hastalık olduğundan, tedavi risk gruplarına göre planlanır. Kemoterapinin (KT) yoğunluğu ve süresi prospektif, randomize klinik çalışmalar ve prognostik faktörlerin ışığı altında belirlenir. ALL için artık günümüzde modern tedavi rejimleri olarak remisyon indüksiyonu, santral sinir sistemi tutulumu tedavisi, konsolidasyon tedavisi ve idame tedavisi olmak üzere dört ana bölümden oluşmaktadır.^{1,4-7}

1-Remisyon-indüksiyonu: Remisyon, tanım olarak hastada, lösemiye ait herhangi bir bulgunun ya da kanıtının fizik muayene ve standart laboratuvar değerlendirmeleri ile ortadan kalkmasıdır. Kısacası, % 5'in altında blast elde etmek ve normal hematopoezi sağlamak için yoğun tedavi ile hastalığı remisyona sokmaktır. Bunların da ötesinde,

kemik iliği aspirasyon (KİA) incelemesinde standart sitokimyasal boyamalar ile blastik hücrelerin ortadan kalktığına gösterilmesi gerekmektedir.

Klinik olarak lösemik yükün azaltılarak hematolojik olarak saptanamayacak düzeye indirilmesi şarttır. Klinik olarak ALL tanısı alan bir hastada yaklaşık 10^{12} lösemik hücre bulunur. ALL’de tam bir remisyon sağlanabilmesi için kemoterapi ile tüm lösemik hücre sayısının %90’nın yok edilmesi gerekmektedir. Tedavide genel olarak glukokortikoidler, vinkristin ve L-asparaginaz ile birlikte antrasiklinler kullanılır. Destek tedavisi ve yoğun kemoterapiyle çocukların % 97-99’unda tam remisyon elde edilir

İndüksiyon sonucunda remisyon elde edilemeyen ya da geç remisyon sağlanan hastaların relaps ihtimalinin yüksek ve yaşam sürelerinin kısa olduğu bilinmektedir. Remisyon- indüksiyon kemoterapisine verilen yanıt ve total lösemik hücre yükünün azaltılması tedavinin başarısı açısından önemli faktörlerdir. İndüksiyon tedavisi sonrasında görünür bir remisyon sağlanmış olsa da sitomorfoloji, biyokimyasal, hücre kültürü, sitogenetik analiz, akımsitometrik ve moleküler biyolojik yaklaşımlar ile bu hastalarda reziduel gizli bir lösemik hücre yükü mevcuttur. Bu nedenle relapsları engellemede hem lösemik progresyonu önlemek, hem de lösemik sitoreduksiyonu devam ettirmek ve ilaçlara dirençli hücresel klonların ortaya çıkmasını engellemek amacıyla bir post indüksiyon tedavisi verilmelidir.^{1,4-7,19}

2-Konsolidasyon: Konsolidasyon tedavisi remisyon-indüksiyonundan sonra verilen yoğunlaştırılmış tedavi olarak nitelendirilir Remisyonun sonrası kalabilecek rezistans lösemik (1×10^{10} lösemik hücre) klonların yok edilmesi amacıyla uygulanır. Bu tedavide kullanılan yüksek doz metotreksat ile kemik iliği, testis, MSS relaps riskinin azaldığı gösterilmiştir. Genellikle remisyonun sağlanmasında kullanılan ilaçlarla birlikte Epipodofilotoksin, Sitozin arabinozid ve Tioguanin de kullanılır.. Yüksek risk grubuna dâhil olan T hücreli lösemiler yoğun konsolidasyon tedavisi olarak L-asparaginaz ve doksorubusin uygulanması ile tedavi başarısını daha iyi düzeylere getirebilmektedir.^{1,4-7,19}

3-İntensifikasyon: MSS koruyucu tedavi, sistemik olarak verilen kemoterapotik ilaçların kan-beyin bariyerini aşamaması ve BOS’da tedavi konsantrasyona ulaşamaması nedeniyle verilir. Tanı anında BOS sitolojisinde blastik hücreler saptanmasa da meninksler etrafında blastik hücreler mevcuttur. İntrakraniyal ve yüksek doz sistemik ilaç uygulamaları, kranyospinal radyoterapi (RT) veya kombine terapiler

MSS lösemisi insidansını % 50'lerden % 10'lara kadar azaltmış olmakla birlikte, uygulanan tedavi yöntemlerinin erken ve geç yan etkileri göz önüne alınırsa, hala optimal MSS profilaksisinin nasıl sağlanacağı bilinmemektedir.^{1,4-7,19}

4-Remisyonun idamesi: İdame tedavisinde genel prensip; tedaviye 2-2,5 yıl boyunca risk gruplarına uygun olacak şekilde devam edilmesidir. Metotreksat, vinkristin, prednizolon, 6-merkaptopürin kullanılarak hala vücutta kalması muhtemel blastların yok edilmesi temel hedef olarak alınır. Yüksek risk grubundaki hastaların idame tedavisinde ise 6- merkaptopurin, prednisolon, metotreksat, vinkristin yanı sıra primidin analogu olan sitarabin ve epipodofilotoksinler dönüşümlü olarak kullanılmaktadır. İlaçların oral olarak alındıklarında biyoyararlanımları ve ailenin tedaviye uyumu da remisyonu etkileyen önemli faktörlerdendir. İdame kemoterapisinin süresi birçok merkezde yaklaşık 2-3 yıl arasında değişmektedir. Optimal tedavi süresi kızlarla erkekler arasında da farklılık göstermektedir. Kızlarda 1,5 yıllık bir tedavinin yeterli olduğu saptanırken, erkeklerde relaps oranı kızlara göre daha yüksek olduğundan tedavi bazı yerlerde total olarak 5 yıla kadar uzatılmaktadır.^{1,4-7,19}

2.2.7. Prognostik Faktörler

Akut lenfoblastik lösemide birçok klinik ve laboratuvar özellik prognostik değer taşımakta ve tekrarlama olasılığına, dolayısı ile remisyon sürelerine yansımaktadır. Prognostik ölçütlerin incelenmesi hastalığın biyolojisinin tanınmasının yanı sıra, risk gruplarının belirlenerek bunlara uygun yoğunlukta ve nitelikte tedavi yaklaşımlarının seçilmesi açısından önem taşır. Ancak değişik araştırma gruplarınca, benzer prognostik faktörler üzerinde durulsa da, bunların risk sınıflamasında kullanımı farklı olabilmekte ve ayrıca uygulanan tedaviye göre de bazı faktörlerin önemi değişebilmektedir. Bir dönem çok önem taşıyan bazı prognostik faktörler tedavinin yoğunlaşması ile geri planda kalmış ve tedavi en önemli prognostik ölçüt haline gelmiştir.

Çocukluk çağı ALL'sinde prognostik faktörler; başvuru sırasındaki lökosit sayısı, tanıdaki yaş, cinsiyet, ırk, organomegali varlığı ve lenfadenopatinin derecesi, mediastinal kitle, tanı sırasında hemoglobin seviyesi, trombosit sayısı, FAB morfolojisi, sitogenetik, immünofenotipik alt grup, miyeloid seri antijen pozitifliği şeklinde sıralanmaktadır (Tablo-9). Serum immünooglobulin seviyeleri, MSS tutulumunun varlığı, nütrisyonel durum, HLA tipleri, lenfoblastların taşıdığı

glukokortikoid reseptör düzeyi ve remisyona girme süresi de diğer prognostik faktörler arasındadır.^{1-8,19}

Prognozun genel olarak kızlarda erkeklere göre daha iyi olduğu bilinmektedir. Bu nedenle bazı protokollerde erkeklere daha yoğun veya daha uzun tedavi verilebilmektedir. Erkeklerdeki olumsuz prognozun nedeni olarak testis nüksleri ve ileri yaş, T-immünolojisi ve lökosit sayısı gibi yüksek risk faktörlerinin daha sık olması gösterilmiştir.⁴⁰

Bunlara rağmen erkeklerde prognozun niye daha kötü olduğu tam olarak açıklanamamıştır. Çünkü yüksek doz metotreksat kullanımı ile testis nükslerinin azaltılması ve T-hücreli lösemide başarının artması gibi tedavideki gelişmeler 1990'lı yıllarda cinsiyetin prognostik önemini hala ortadan kaldıramamıştır.^{41,42}

Günümüzde en kötü prognozun, 1 yaş altında olduğu konusunda birleşilmekte, hastalığın bu yaş grubunda yüksek blast yükü, t(4;11) pozitifliği ve CD10 negatifliği gibi belli biyolojik özellikler taşıdığı görülmektedir. Uzun süreli olaysız yaşam oranı en fazla (EFS) % 50 olarak bildirildiği için, bu yaş grubuna özgü yoğun protokoller geliştirilmiştir. On yaş üzeri grupta da prognoz kötü olup, BCR/ABL füzyonu ve tanıda lökositoz gibi bazı olumsuz faktörler sıktır. Bazı çalışmalarda nütrisyonel durumun önemli bir prognostik faktör olduğu bildirilmiştir. Malnütrisyonlu çocukların kemoterapiyi daha zor tolere ettiği ve daha az dozda alabildiği de belirtilmektedir.⁴³⁻⁴⁹

Tablo-9: Akut Lenfoblastik Lösemi Tedavisinde Prognostik Faktörler

Etken faktör	İyi prognoz	Kötü prognoz
1. yaş	>1den<6	<1 yaş
2. Beyaz Küre(*10 ⁹ /L)	<20	>100
3. ilk 7 gün prednisolon tedavisine yanıt	İyi yanıt*	Yavaş yanıt*
4. ilk indüksiyon tedavisine(14. gün kemik iliği) yanıt	M1-ilik**	M2, M3- ilik**
5.Kromozom sayısı	>50	<45
6. DNA indeksi	>1.16	<1.16
7. Kromozomal translokasyonlar	t(12;21)	t(9;22), t(4;11)
8. 5 yıl olaysız yaşam olasılığı	>% 80	% 10-60

* Blast sayısı 1 hafta sonra < 1 * 10⁹/L olması iyi yanıtı gösterir.

** M1 ilik, < % 5 blast ve tam rejenerasyon gösteren hematopoez; M2 ilik, >% 5 den <% 25 blast ve/veya tam olmayan hematopoez rejenerasyonu; M3 ilik, >% 25 blast içeren kemik iliği.

2.2.8. Risk Sınıflaması

ALL'li hastalarda, kullanılan ALL-BFM 2000 protokolüne göre standart, orta ve yüksek risk gruplarına ayrılır.

A- Standart Risk Grubu (SRG): Hastalar aşağıdaki 6 ölçütün tümüne birden uymalıdır:

1. 7 günlük prednizolon tedavisinden sonraki 8. günde periferik kanda lösemik hücre sayısı $<1000/\text{mm}^3$ (=PRED-GR)
2. lökosit sayısı $< 20.000/\text{mm}^3$ ve $1 \leq \text{yaş} < 6$
3. 33. günde tam remisyon
4. t(9;22) (BCR/ABL rekombinasyonu) yok
5. t(4;11) (MLL/AF4 rekombinasyonu) yok
6. T- immünolojisi göstermeyecek

B- Orta Risk Grubu (MRG): Hastalar aşağıdaki tüm kriterlere birden uymalıdır:

1. 7 günlük prednizolon tedavisinden sonraki 8. günde periferik kanda lösemik hücre sayısı $< 1000/\text{mm}^3$ (=PRED-GR)
2. 33. günde tam remisyon
3. t(9;22) (BCR/ABL rekombinasyonu) yok
4. t(4;11) (MLL/AF4 rekombinasyonu) yok
5. Ayrıca aşağıdaki kriterlerden en az biri var ise;
 - Lökosit sayısı $\geq 20,000/\text{mm}^3$
 - Yaş < 1
 - Yaş ≥ 6
 - T-ALL

C- Yüksek Risk Grubu (HRG): Aşağıdaki kriterlerden biri olması yeterli:

1. Tedavinin 8. gününde periferik kanda lösemik hücre sayısı $\geq 1000/\text{mm}^3$
2. 33. günde tam remisyon elde edilmemesi (Kİ, kemik, mediasten)
3. t(9;22) (BCR/ABL rekombinasyonu) var
4. t(4;11) (MLL/AF4 rekombinasyonu) var ^{1-5,21}

2.3. Akut Miyeloid Lösemi (AML)

Çocukluk çağı lösemilerinin % 15-20'si AML'dir. Yıllık AML görülme insidansı milyonda 11'dir ve en çok 2 yaş altı çocuklarda görülür. Yenidoğan lösemileri içinde AML, ALL'ye göre daha fazladır. Çocukluk çağı boyunca insidansı değişmez, ancak erken çocukluk ve geç adolesan dönemde sıklığı hafifçe artar, cinsiyet farkı gözlenmez.

AML tedavisinde yoğun tedavi rejimleri ile hastaların % 80’den fazlası remisyona girmekte ve yaklaşık yarısında uzun süreli hastalıksız yaşam sağlanmaktadır. AML’nin nedeni tam olarak bilinmese de, gelişiminde çeşitli konjenital (Down sendromu, Fankoni anemisi, Kostmann sendromu, Bloom sendromu, Diamond-Blackfan anemisi) veya kazanılmış risk faktörlerinin yer aldığı bilinmektedir. AML, miyelodisplastik sendromlar ve miyeloproliferatif hastalıklara sekonder olabilir (Tablo-10). İyonize radyasyona maruz kalma veya kemoterapi ajanlarına bağlı olarak da sekonder AML gelişebilir. Nitrojen mustard, Siklofosamid, Ifosfamid, Klorambusil, Melfalan, Etoposid sekonder AML gelişimi ile ilişkili kemoterapötik ilaçlardır.^{1,4-7,19,50}

2.3.1. Klinik Bulgular

Birçok klinik ve fiziksel özellik yönünden AML, ALL ile büyük benzerlik gösterir. ALL gibi non spesifik bulgu ve semptomlara ek olarak, kemik iliği yetersizliği sonucu anemi, trombositopeni ve nötropeniye bağlı semptom ve bulgular gözlenir. En sık yakınmalar ateş, solukluk, iştahsızlık, zayıflama ve kanamadır. Özellikle AML-M3’de malign hücrelerden salınan, koagülasyon sistemini aktive eden prokoagülan maddeler nedeniyle Yaygın damar içi pıhtılaşma kliniği gelişebilir.

Testis tutulumu ve atralji ALL’de görülenden daha az olmasına karşılık, tanı anındaki MSS tutulumu (% 5-15) ALL’ye göre daha sıktır. AML’li çocuklarda en sık ekstrapredüller tutulum deri, dişeti, MSS, baş ve boyun bölgesinde olmaktadır. İki yaşın altındaki vakaların çoğu AML-M4 veya AML-M5 tipidir. Diş eti hipertrofisi tüm tiplerde görülebilmesine rağmen sıklıkla AML M4-M5’e özgüdür.^{1,6-9}

Tablo-10: AML Gelişimde Rol Oynayan Kalıtsal ve Kazanılmış Nedenler.

Hereditör nedenler	Çevresel faktörler	Diğerleri
1. İyonize radyasyon 2. Kemoterapötik ajanlar ❖ Topoizomeraz-II ❖ İnhibitörleri ❖ Alkilleyici ajanlar ❖ Epipodofilotoksinler 3. Organik çözücüler 4. Nitrozüre	1. Down sendromu 2. Fanconi anemisi 3. Kostman sendromu 4. Diamond-Blackfan anemisi 5. Nörofibromatozis-tipI 6. Ataksi telenjektazi 7. Bloom sendromu 8. Ailesel monosomi 7 sendromu 9. Klinefelter sendromu	1. İrk 2. Aplastik anemi 3. Myelodisplastik sendrom 4. Paroksizmal nokturnal hemoglobinüri

2.3.2. Tanı ve Sınıflandırma

WHO sınıflamasına göre AML için Kemik iliği aspirasyonunda (KİA) % 20'den fazla blastik hücre saptanması gereklidir. Ayrıca t(8;21)(q22;q22), inv(16)(p13q22), t(16;16)(p13;q22), t(15;17)(q22;q12) klonal sitogenetik anormallikler varlığında blast oranına bakılmaksızın AML tanısı düşünülebilir(3). Morfolojik görünüm, sitokimyasal boyama özellikleri, immunfenotiplendirme, sitogenetik analizler lösemilerin farklı tiplerini sınıflandırmak için kullanılmaktadır. AML, FAB sınıflamasına göre sekiz tipe ayrılır. ^{1-4,8,9}

AML FAB Sınıflaması

- Tip M0-Minimal farklılaşma gösteren akut miyeloblastik lösemi
- Tip M1-Matürasyon olmayan miyeloblastik lösemi
- Tip M2-Matürasyon olan miyeloblastik lösemi
- Tip M3-Akut promiyelositik lösemi (APML)
- Tip M3V-Akut varyant promiyelositer lösemi (mikrogranüler)
- Tip M4-Miyelomonositik lösemi
- Tip M4Eo-Akut eozinofilik miyelomonositer lösemi
- Tip M5a-Akut monoblastik lösemi
- Tip M5b-Akut monositer lösemi
- Tip M6-Eritrolösemi (Diguglielmo Hastalığı)
- Tip M7-Megakaryositik lösemi

AML-M7 de blast morfolojisi, 1-3 nükleolusu bulunan, granül içerebilen, sitoplazmasında tomurcuklanmalar olan morfolojik özellikler gösterir. Miyelofibroze rastlanabilir. Sıklıkla Trizomi 21'li çocuklarda görülür. CD41, CD42, CD61 pozitif olup, CD13 ve CD33'de pozitif saptanabilir. Elektron mikroskop incelenmesinde trombosit peroksidaz görülebilir. FAB M5 ve M7 erken çocukluk yaşlarında daha sıktır. Daha büyük çocuklarda ise M0, M1, M2, M3 görülür. ^{1-8,19}

2.3.3. İmmünfenotip

AML tanısında hücre yüzey antijenlerine karşı geliştirilen monoklonal antikorlar alt grup belirlemede yararlıdır. ^{1,7,8}

Tablo-11: AML Hastalarında Akım Sitometrik Analiz ^{7,8}

FAB	HLA-DR	CD11b	CD13	CD14	CD15	CD33	CD34	CD117	Glikoforin	CD41	CD42	CD61
M1/M2	+				+	+	+	+				
M3/M3V		+	+		+	+	+	+				
M4/M5	+	+	+	+	+	+	+	-/+				
M6	+		+			+	+	-/+	+			
M7	+		+			+	+	-/+		+	+	+
M0			+			+	+	+				

Tablo-12: AML de İmmunfenotipik Özellikler. ^{7,8}

FAB tipi	İmmunfenotip	Notlar
M0	FSC, SSC düşük (lenfoblast gibi) 34+, DR+, 13+, 33+, MPO+/-, 7±, CD4±	7+ ve 34+ prognozda olumsuz
M1	SSC(granülarite), M0 dan fazla 13+,33+,DR+,34 daha az, MPO+, 15c, 4±	19+,34+,(56+), t(8;21) lehine
M2	Maturasyon artmış, daha az blast, 45 SSC dağılımında blastlar 34 daha az, 15+, 13+, 33+, DR+	
M3	SSC artmış,45 zayıf, DR-, 13 zayıf, 2±, 11a, 18zayıf,9+, 8-, 34-/+ , 117+	Kuvvetli 13 retinoik sendrom lehine 56+ s form(bcr3 lehine)
M4, M5	Benzer özellikleri var M4 de blast daha çok, FSC-SSC M0/M1 dan fazla, monositik komponent+, 33+, >13+, DR+, 14+, 15+, 34+, M5: 33+, 13-, 34-, zayıf 7+, monositlerde 4+	2+ M4Eo lehine, spesifik olmayan Ig bağlanması (↑FcR nedeniyle), CD14 spesifik ama sensitif değil
M6	Nadir, DR+, 34+, 13±, 33±, 45-/zayıf, 235a++	Beklenenden az tanınıyor, Erken eritroid işaretlerin kaybı,
M7	61+, 41+,33±, Trombosit adezyonuna bağlı yalancı+ dikkat!!	Tanı için immünfenotipleme ve elektron mikroskobu(trombosit peroksidaz için) gerekir, morfoloji tanısal olmayabilir

Sayılar CD no ifade etmektedir (ör:33=CD33),DR=HLA-DR, +:pozitif, -: negatif, ±:değişken,MPO: miyeloperoksidaz

2.3.4. Moleküler Genetik

1. AML'li hastaların % 15'inde t(8;21)(q22q22) olup, FAB M2 sınıfına girer. AML1-ETO füzyon geni olarak adlandırılır.

2. AML'li hastaların % 15'inde inv(16) ve t(16;16) görülür. Kemik iliğinde anormal eozinofillere ve miyelomonositik farklılaşmaya neden olur. CBFB-MYH11 kimerik proteini saptanır.

3. Akut promiyelositik lösemiler, retinoik asit reseptör α geni (17q21 de RAR α geni) ve PML geni (15q21) dengeli translokasyon ile oluşur.

Bu moleküler anormalliklerin klinik önemi vardır. APL, trans-retinoik asit ile RAR α reseptörü bağlanarak tedavi edilebilir.

AML1-ETO veya CBFB-MYH11 saptanması durumunda yüksek doz sitozin arabinozid tedavisi sonrası yüksek oranda uzun dönem remisyon görülür. Tirozin kinaz

reseptörü mutasyonları (FLT-3, ITD) pediatrik AML hastalarında daha kötü bir seyir gösterir.^{1,2,4-7,13,19}

2.3.5. Tedavi

Tedavide amaç; minimum toksisite ile yaşam boyu remisyonu sağlamaktır. Sitozin arabinozid ve antrasiklinlerle başlangıçta hedeflenen tam remisyona % 80 vakada ulaşılır, fakat uzun süreli sağkalım % 30-50 arasındadır. Remisyon sağlandıktan sonra tedaviye KT ile veya kemik iliği nakli ile devam edilir. AML tedavisinde uygulanan intensifikasyon ve indüksiyon kemoterapisi sonrası hastalarda sepsis ve fungal enfeksiyon riski artmıştır. Buna bağlı olarak bu hasta grubunun ateşli nötropenik dönemlerinde en kısa sürede geniş spektrumlu antibiyotik ve antifungal tedavi başlamak gerekir. Yeni tanı almış AML hastaları indüksiyon kemoterapisi boyunca yatırılarak hastanede takip edilmelidir.

Birçok yazar, ailede HLA uygun donör varlığında, AML-M3 ve Down sendromlu hastalar hariç AML'li tüm hastalara allojenik kemik iliği naklini ilk remisyondan sonra önermektedir. Uygun donör yoksa hastalara yoğun kemoterapi uygulanmalıdır.

AML-M3'lü hastalarda All-Trans-Retinoik Asit (ATRA) ile remisyon sağlanabilir. Ancak ATRA tek başına kullanıldığında direnç gelişebilir, idame tedavide kullanılması önerilmez. Aynı zamana beyin omurilik sıvısına da geçmediğinden santral sinir sistemi tutulumunda da etkisizdir. Refrakter veya rekürren akut miyeloblastik lösemi tedavisi zordur. Yüksek doz kemoterapi ile remisyon sağlansa da tekrar relaps riski yüksektir. Ayrıca tedaviye göre de risk grupları sıralanabilir (Tablo-11).¹⁻⁸

Tablo-13: Tedaviye Göre Risk Grupları¹⁻⁸

Tedaviye göre risk grupları	
Düşük risk: 6 yıllık EFS % 80	1. FAB M1 (Auer çubukçukları var) 2. FAB M2 (BK < 20.000) 3. FAB M3 (Akut promyelositik lösemi) 4. FAB M4 Eo (Kİ'de eozinofil % 3 veya daha fazla) 5. FAB M6
Yüksek risk: 6 yıllık EFS % 45 ve altında	1. FAB M1 (Auer çubukçukları yok) 2. FAB M2 (BK > 20.000) 3. FAB M4 (Kİ' de eozinofil % 3'den az) 4. FAB M7

2.3.6. Prognostik Faktörler

Akut myeloid lösemi (AML) fenotipik olduğu kadar, genotipik olarak da heterojenite gösteren kompleks bir hastalıktır. 100'den fazla sitogenetik aberasyon ve çeşitli genlerdeki mutasyonlar bu hastalıkta tanımlanmıştır. Örneğin AML'de t(8;21) translokasyonu yada inv(16) varlığı iyi prognozlu hastaları tanımlarken, t(9;22) translokasyonu varlığı kötü gidişli hastalıkla birlikte dir.^{1,50,51}

Ailevi AML çeşitli klinik sendromların bir bulgusu olarak ortaya çıkabilmekle beraber, AML olgularının çoğu hematopoetik progenitör hücrede olan sporadik mutasyonlar sonucu gelişmektedir. Kromozomal translokasyonlarda yer alan genlerin klonlanması ile AML gelişiminde rolü olan genlerin tanımlanması sağlanmıştır. Bunlar arasında CBF (core binding factor, RARA (retinoik asit reseptör alfa), HOX gen ailesi, MLL proteini ve bazı transkripsiyon aktivatörleri, CBP, MOZ, TIF2 bulunmaktadır. Bunların yanı sıra olguların yüksek bir bölümünde çeşitli genlerdeki nokta mutasyonları bu sürece katkıda bulunmaktadır. Bunlar arasında FLT3 ve KIT gibi tirozin kinaz reseptörü genlerindeki ya da RAS gen ailesindeki aktive edici mutasyonlar sayılabilir. Ayrıca, çeşitli hematopoetik transkripsiyon faktörlerinin, AML1, CEBPalfa, GATA1 gibi, fonksiyonlarını bozucu nokta mutasyonları da AML etyolojisinde sayılması gereken genetik değişimlerden dir. AML'deki prognostik kriterler tablo-12'de gösterilmiştir.^{1,50-53}

Tablo-14: AML'de Prognostik Kriterler^{1-8,50,51}

FAKTÖR	Standart risk grubu	Yüksek risk grubu
1. Yaş	>2	<2
2. Enfeksiyon	Yok	Var
3. Beyaz küre	<25.000	>100.000
4. Serum LDH	Normal	Yüksek
5. Ekstramedüller hastalık	Yok	Var
6. SSS tutulumu	Yok	Var
7. Auer cisimciği	Var	Yok
8. Eozonofil	Var	Yok
9. FAB Alt tip	M1,M2,M3,M4 Eo	Diğer alt tipler
10. 15. gün kemik iliğinde %blast	< %5	> %5 (M3 hariç)
11. Sitogenetik	t(8;21),t(15;17),Inv(16)	Diğer sitogenetik bulgular

2.4. Micro-RNA

Wingard'ın, tütün bitkisinde gözlemlediği bir enfeksiyonu “*Journal of Agriculture Research*” dergisinde tanımladığı 1928 yılında henüz genetik materyalin özü belirlenmemiştir.⁵⁴ Makalesinde bitkinin üst yapraklarında gözlenen enfeksiyonun alt yapraklara direnç kazandırdığını söylemiş ve bu durumun ancak bu enfekte yapraklardan aşağıya bilgi aktaran bir madde sayesinde olabileceği fikrini yürütmüştü. Bitkilerdeki bazı renk pigmentlerinin ifadesinde gözlenen bu olgu, transpozon adı verilen bazı hareketli genetik elemanların hem kendilerini hem de homolog kromozom odağını susturmaları olarak tanımlanır. Mantarlarda da gözlenen bu durum kalıp DNA'dan üretilen mRNA ürününün baskılanması şeklinde nitelendirilmektedir.^{54,55}

Posttranskripsiyonel gen susturumu; mRNA molekülünün diziye özgü yıkıma uğraması ya da translasyona girememesiyle oluşur. Bu sırada mRNA'nın köken aldığı genin transkripsiyon hızı veya şeklinde bir değişiklik olmamakta, sentezlenmiş olan mRNA'ya küçük ve kodlamayan bir RNA zincirinin bağlanması sonucu protein ifadesi baskılanmaktadır. *RNA interferansı (RNAi)* olarak adlandırılan bu olay mayalardan memelilere kadar tüm ökaryotlarda gözlenmektedir.^{54,57}

Oligonükleotid kullanımı ile gen ürünlerinin düzenlenmesi fikri ilk olarak antisens/sens yaklaşımı ile başlamıştır. Antisens oligonükleotidler 15-25 baz uzunluğunda yapay DNA zincirleri olup hedef DNA veya RNA'ya *Watson-Crick* baz eşleşmesi kurallarına göre bağlanmak üzere tasarlanmışlardır. Canlıya geçişlerinde etkilerini kalıcı olarak gösteren bu oligonükleotidlerin uygulanmasıyla bugüne kadar birçok genin işlevi çözülmüştür. RNAi ise, yapay antisens oligonükleotid uygulamalarına zıt olarak doğada var olan bir durumdur ve adından da anlaşılacağı gibi susturumda görev yapan molekül DNA değil RNA'dır.⁵⁸

RNAi'nin doğal işlevinin, genomu, virüsler ve transpozonlar gibi konak hücre içerisinde etkinleştiklerinde, belirli RNA veya çift zincirli RNA oluşturan hareketli genetik bileşenlerden korumak olduğu düşünülmektedir. Bugünkü bilgilerimizin ışığında, 80 yıl önce *Wingard*'ın gözlemlerinden elde ettiği çıkarımların ne kadar öncü ve gerçekçi olduğunu kavrayabilecek durumdayız. Onun bu gözlemleri ise, *Andrew Fire* ve *Craig Mello*'ya RNAi konusunda yaptıkları çalışmalar ile Nobel ödülü almışlardır.

54,56-58

RNAi mekanizması daha önce de belirtildiği gibi mayalardan memelilere kadar tüm ökaryotlarda bulunmaktadır ve hepsinde de küçük RNA'lar (sRNAs) ve benzer hücre bileşenlerinin katılımıyla oluşur. Küçük RNA'lar (sRNAs), çift sarmal RNA'lardan (dsRNA) oluşan 19-28 nükleotid (nt) uzunluğunda, kodlama yapmayan ve henüz fonksiyonları net olarak bilinmeyen RNA'lardır. Bazılarının, mRNA'ların bir parçası ya da genomun intergenik alanlarından olduğu düşünülmektedir. En önemli görevleri gen susturulmasında (RNAi) rol oynamalarıdır. Küçük RNA'ların ortaya çıkması, RNA interferans (RNAi), co-supresyon, post-transkripsiyonel düzenlenme gibi kavramların ortaya çıkmasını sağlamıştır. RNAi, küçük RNA molekülleri kullanılarak hücrenin belirli, örneğin zararlı bir proteini kodlayan, bir genin susturulmasını sağlayan ve tetikleme yoluyla çalışan bir mekanizmadır.^{59,60}

RNAi, dsRNA'yı kullanarak gen ekspresyonunu susturmaktadır. Bu susturma mekanizması ilk olarak daha koyu renkte petunya çiçeği elde etmek isterken beyaz-mor alacalı ve beyaz renkte çiçeklerin elde edilmesiyle fark edilmiştir.^{59,61,62} Birçok organizmada RNAi, parazitik genetik elemanları kontrol etme görevini de üstlenmiştir. RNAi yolağındaki genlerde mutasyonu olan bitkilerde virus enfeksiyonlarına karşı azalmış immün yanıt saptanmıştır.^{59,61-64} Bitkileri enfekte eden viruslerin % 95'i RNA virusudur.^{59,65} RNAi yolağındaki genlerde mutasyonu olan kurtlarda transpozonları susturma işlevi defektif olarak yapılabilmektedir.^{59,66,67} *Caenorhabditis elegans*'ta yapılan çalışmalarda transpozon susturma işleminin post transkripsiyonel bir olay olduğu tespit edilmiştir.^{59,68}

Çalışılan organizmalarda, RNAi mekanizmasının sitoplazmaya sınırlı bir yolak olduğu tespit edilse de gen ekspresyonunun susturulması olayının kurtların nükleusunda da fonksiyon görebileceği düşünülmektedir. Son çalışmalar memelilerde de gen susturulması olayında RNAi'nin rol oynadığını göstermektedir. Ancak bu mekanizma birtakım sorunları da beraberinde getirmektedir. Özellikle siRNA'ların hücre içine gönderilmesi efektif bir biçimde olamamaktadır.^{59,69-72}

2.4.1. Küçük RNA'ların Sınıflandırılması

İyi tanımlanmış iki tane küçük RNA tipi bulunmaktadır; *MicroRNA* (*miRNA*)'lar ve *short interfering RNA* (*siRNA*)'lar. miRNA ve siRNA'lar biyokimyasal ve fonksiyonel olarak ayırt edilemediklerinden orijinlerine göre ayrılırlar (Tablo.ccc).

miRNA'lar dsRNA'ların hairpin (saç tokası) şekilli prekürsörlerinden elde edilirken, siRNA'lar uzun dsRNA'lardan oluşur.

İlk keşfedilen küçük RNA miRNA'dır. siRNA'ların çeşitli alt grupları da bulunmaktadır. Bunlar; endojen trans-acting siRNA (tasiRNA), repeat-associated siRNA (rasiRNA) ve small-scanner RNA (scnRNA)'lardır. Ayrıca biogenez mekanizmaları henüz aydınlanmamış siRNA tipleri de bulunmaktadır [tiny non-coding RNA (tncRNA) ve small modulatory RNA (smRNA)].

miRNA'lar yaklaşık olarak 18-24 nükleotid uzunluğunda tek iplikçikli bir RNA molekül çeşididir. Drosha ve Dicer ile hairpin prekürsörlerinin iki aşamalı ayrılması sonucu oluşur. Translasyonel represyon ve mRNA parçalanması mekanizmalarını kullanarak hücre farklılaşması ve gelişimde rol oynamaktadır. Dolayısıyla mikroRNA'lar gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynarlar. tasiRNA'ların biyolojik fonksiyonları bilinmemekte, rasiRNA'ların ise histon ya da DNA modifikasyonunu kullanarak transpozonların ve tekrarlayıcı genlerin susturulmasında rol oynadıkları bilinmektedir. scnRNA'lar da genomun yeniden düzenlenmesinde rol oynarlar. Diğer alt gruplardan tcnRNA'ların görevleri bilinmemekte ancak smRNA'ların transkripsiyonel transaktivasyonu kullanarak nöronal farklılaşmayı sağladıkları bilinmektedir.⁷³

2.4.2. Mikro RNA'ların Yapısı ve Keşfi

Kısacası mikroRNA'lar, genom üzerinde protein kodlayan intron veya ekzon bölgeleri ve protein kodlamayan bölgelerdeki RNA genlerinden transkripsiyonu sağlanan, fakat proteine translasyonu gerçekleştirilmeyen, fonksiyonel RNA molekülleridir. MikroRNA oluşum sırasında öncelikle Pri-miRNA olarak adlandırılan primer transkriptler işlenerek, pre-miRNA adlı kısa sap-ilmik yapılarına, sonra da fonksiyonel miRNA'ya dönüşürler. İnsan genomunda miRNA'ları kodlayan yüksek seviyede korunmuş yüzlerce gen bölgesi keşfedilmiştir. Şu an itibariyle, insan genomunda 1000'in üzerinde mikroRNA tanımlanmıştır.^{74,75}

İlk mikroRNA, Lee ve çalışma arkadaşları tarafından 1993 yılında Victor Ambros laboratuvarında keşfedilmiş olup, mikroRNA terimi 2001 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır.^{76,77} Lee ve arkadaşları 1993 yılında yuvarlak solucan olan *Caenorhabditis elegans*'i gen içeriği bakımından taramışlar, lin-4 olarak adlandırdıkları genin hiçbir

protein kodlamamasına karşın 22 nükleotid uzunluğunda küçük bir RNA transkribe ettiğini rapor etmişlerdir.⁷⁴⁻⁷⁶

2000 yılında *Reinhart* ve arkadaşları *C.elegans*'da 22 nükleotid uzunluğunda, let-7 olarak adlandırılan, canlının gelişim zamanlamasını düzenleyen farklı bir mikroRNA keşfetmişlerdir.⁷⁸ Let-7'nin insanları da içine alan türler arasında da korunmuş olduğu keşfedilmiş olup, bu durum let-7 nin önemli bir biyolojik fonksiyona sahip olduğunu göstermiştir.⁷⁹ Daha sonraki yıllarda let-4 ve let-7'ye benzeyen birçok küçük RNA molekülü, hemen hemen bütün çok hücreli organizmalarda keşfedilmiş ve miRNA'lar olarak isimlendirilmiştir.^{74,80}

Tablo-15: Küçük RNA'ların Sınıflandırılması ve Özellikleri⁷³

Sınıflama	Alt sınıflama	Uzunluk (bç:baz çifti)	Biyogenez	Etki mekanizmaları	Biyolojik fonksiyonları
mikro RNA (mi RNA)		19-25	Hairpin öncüllerinin Dhrosa ve Dicer tarafından iki aşamalı olarak bölünmesi	Translasyonel baskılama Mrna bölünmesi	Gelişim ve hücre farklılaşmasında rol oynar
Short RNA (si RNA)	Endojen trans-acting RNA(tasi RNA) Repeat associated RNA(rasi RNA) small scan RNA	21-22 24-26 28	Uzun endojen dsRNA ların Dicer Tekrarlayan sekanslardan ayrılan uzun dsRNA ların bölünmesi Uzun dsRNA ların Dicer yardımı ile bölünmesi	mRNA bölünmesi histon ve/veya DNA modifikasyonu DNA eliminasyonuna neden olan histon metilasyonu	Bilinmiyor Transpozonların, tekrarlayan genlerin ve viruslerin susturulması Konjugasyon sırasında genomun tekrar düzenlenmesi
Küçük kodlama yapmayan RNA lar Small modulatory RNA		20 20	Dicer ile belirlenmemiş prekürsörlerden Bilinmiyor	Bilinmiyor Transkripsiyonel transaktivasyon	Bilinmiyor

2.4.3. MikroRNA'ların Oluşumu

MikroRNA'lar, birbirini izleyen üç basamaklı işlem süreci sonucunda meydana gelir. İlk basamakta miRNA genlerinden primer miRNA (primiRNA)'ların transkripsiyonu gerçekleşir. İkinci basamakta primiRNA'lar prekürsör miRNA (pre-

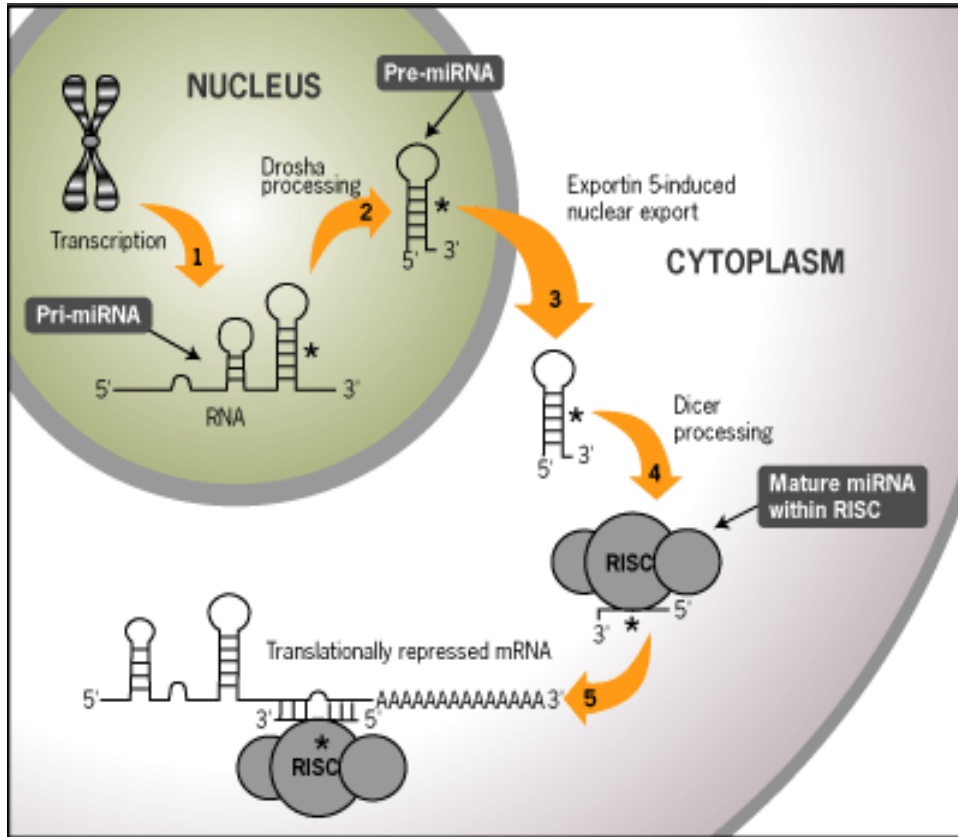
miRNA)'lara nükleus içinde dönüştürülür. Üçüncü ve son basamakta olgun miRNA'ların sitoplazma içinde oluşumu gerçekleşir.^{74,81}

MikroRNA'lar, primer transkript (pri-miRNA) olarak RNA polimeraz II enzimi tarafından genomik DNA'dan sentezlenir. *Pri-miRNA* (500-3000 baz), "cap" ve "poli A" kuyruğuna sahip sap-ilmik yapısındadır (Şekil-3). Çekirdekte pri-miRNA, *RNAaz III* enzim ailesinin bir endonükleazi olan *Drosha* ve kofaktörü *Pasha*(veya *DGCR8*), tarafından yaklaşık olarak 70 nükleotid uzunluğunda olan *pre-miRNA*'ya dönüştürülür.

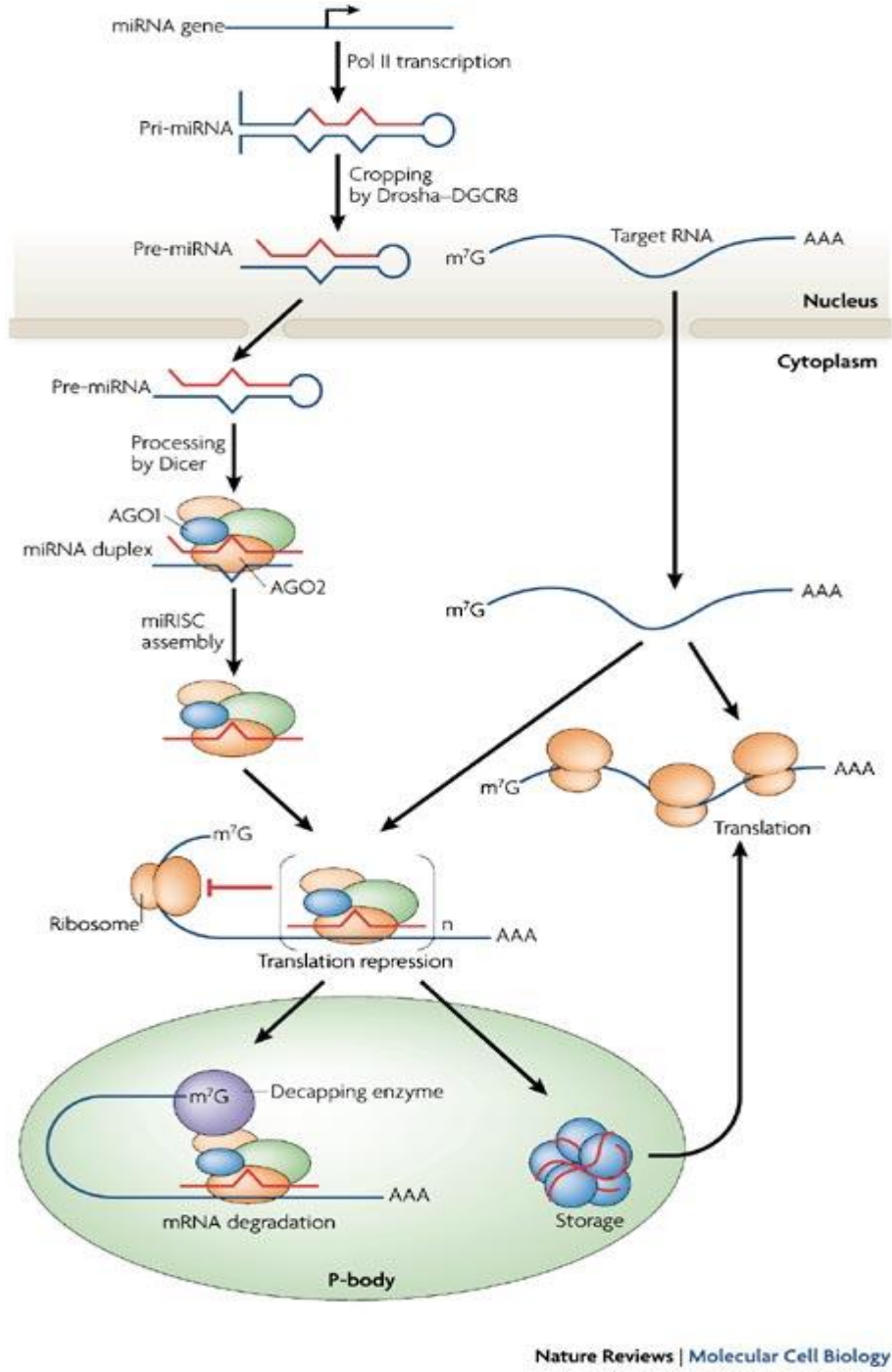
⁸² Bir nükleaz olan *Drosha* ile çift iplikli RNA bağlayıcı bir protein olan *Pasha*'nin oluşturduğu komplekse mikro işlemci kompleksi (*Microprocessor complex*) adı verilir.⁸³

Pre-miRNA molekülü bir nükleer taşıma reseptörü olan *Exportin 5* ve nükleer bir protein olan *RAN-GTP*'ye bağımlı şekilde sitoplazmaya taşınır. Sonrasında, *pre-miRNA*'lar sitoplazmada *RNAaz III* enzim ailesinden *Dicer* adlı *endonükleaz* ile kesilerek 18-24 nükleotid uzunluğunda çift zincirli miRNA: *miRNA dupleksine* çevrilir.

84,85



Şekil-3: miRNA Oluşum Basamakları.⁸³



Sekil-4: RISC kompleksi oluşumu.⁸⁷

Dicer, aynı zamanda RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksi (*RNA-induced silencing complex; RISC*) oluşumunu başlatır (Şekil-4). *Dicer*, *pre-miRNA*'nin sap- ilmiğini kestikten sonra, miRNA: miRNA dubleksinden sadece biri *RISC* kompleksine

dahil olur. RISC kompleksinin içinde yer alan bir RNAz olan *argonaute'un* etkisiyle bu iki iplikten 5' ucu daha kararlı olanı seçilip komplekse dahil edilir. Bu iplik kılavuz iplik (*guide strand*) olarak adlandırılır. Diğer iplik, anti-kılavuz veya yolcu iplik olarak adlandırılır, RISC kompleksinin substratı olarak sindirilir. MikroRNA'lar, aktif RISC kompleksine entegre olduktan sonra, ya *argonaute* proteinleri yardımıyla mRNA'nin yıkımına ya da protein translasyonunun baskılanmasına neden olurlar.⁸⁴⁻⁸⁷

2.4.4. MikroRNA'ların Fonksiyonu

Olgun mikroRNA'lar hedef genlerin ekspresyonunu azaltarak protein sentezinin düzenlenmesine bir nevi genin işlevlerinin engellenmesine sebep olurlar. MikroRNA'lar kendi nükleotid dizilerine komplementer hedef genleri tanıma özelliğine sahiptir. MikroRNA, RISC ile kompleks oluşturur, baz çiftleşme özelliği ile mRNA'ya bağlanır, sonrasında protein translasyonunun inhibisyonuna ve/veya mRNA'nın yıkımına neden olur.^{74,75}

MikroRNA, hedef mRNA'nın 3' ucundaki translasyona uğramayan bölgeye (*untranslated region-UTR*) veya hedef mRNA'nın *ORF* (*open reading frame*) bölgesine bağlanır (Sekil-4). Bağlanma pozisyonu mikroRNA kompleksinin mRNA'ya nasıl komplementer olduğuna bağlıdır. 3' UTR bölgesine bağlanma kusurlu, tam olmayan, eksik komplementerliği ihtiva eder ve translasyonun baskılanması ile sonuçlanır.

ORF bölgesi içine bağlanma ise kusursuz, tam komplementerliği gösterir ve *Argonaute2(Ago2)* tarafından mRNA'nın yıkımı ile sonuçlanır. Ayrıca, mikroRNA'ların her birinin birden fazla mRNA'nın ekspresyonunu düzenleyebildiği ve mRNA'ların her birinin de birden fazla mikroRNA tarafından hedeflenebildiği görülmektedir.^{88,89}

2.5. MikroRNA ve Kanser

Hücreler anormal olarak çoğaldıklarında ve apoptoz fonksiyonlarını kaybettiklerinde genellikle kanserleşme özelliği gösterirler. mikroRNA'ların hücre proliferasyonu ve apoptoz gibi birçok biyolojik süreçte etkili anahtar moleküller oldukları bugün bilinmektedir. Kanserleşme sürecine mikroRNA'ların katkıda bulunduğu ilk kanıtı, *Calin* ve arkadaşlarının 2001 yılında Kronik Lenfositik Lösemili (KLL) hastalarda yaptıkları moleküler çalışmayla ortaya konulmuştur.

Gelişmiş ülkelerde özellikle Batı toplumunda en sık görülen yetişkin lösemi formu olan KLL hastalarının yaklaşık % 50'sinde 13q14 bölgesi delesyona uğramaktadır. Detaylı delesyon analizleri sonucunda bu bölgede yalnızca mir-15-a ve mir-16-1 genlerinin bulunduğu tespit edildi. Daha sonra KLL hastalarının % 68'inde bu miRNAların ekspresyonlarının azaldığı ya da olmadığı ortaya konmuştur.

Kanser ve normal doku arasındaki ekspresyon farklılıklarının belirlenmesi, miRNA'ların kanser patogeneziindeki rollerini güçlendirmiştir. *Calin* ve arkadaşları, 245 insan ve fare miRNA probu içeren miRNA mikroarray çalışmasıyla mir-15a ve mir-16-1'in ekspresyon düzeylerinin B hücreli KLL hastalarında belirgin şekilde azaldığını rapor etmişlerdir. miRNA ekspresyon profilinin, KLL hastalarının klinik ve biyolojik davranışıyla ilişkili olduğunu göstermişlerdir.⁹⁰

Calin ve arkadaşları, 2004 yılında yayınladıkları diğer bir çalışmada, insan miRNA genlerinin kanser ile ilişkisini araştırmak için, 186 adet miRNA geninin DNA üzerindeki pozisyonunu haritalandırmışlardır. Bu genlerin kromozomal pozisyonları, daha önceden rapor edilen belirli kanser türlerinin gelişimi ile ilişkili olduğu bilinen genetik değişiklikler ile karşılaştırılmıştır. miRNA genlerinin çoğunlukla, heterozigozitenin kaybolduğu bölgeler olan kırılma kısımlara yerleşik olduğu gösterilmiştir. Bu kırılma kısımlar amplifikasyonun minimal olduğu bölgeler veya genel kromozomal kırılma noktası bölgeleridir. Bu moleküler lezyonlar sonucu oluşan genetik hasar spesifik kanserlere neden olmaktadır.^{74,91,92}

2003 yılında *Michael* ve arkadaşları, ilk olarak insanlardaki solid organ tümörlerini (kolonik ve rektal adeno karsinomlar) normal dokular ile karşılaştırıldığında ekspresyon seviyeleri değişmiş olan miRNA'ları rapor ettiler. Daha sonraki yıllarda değişikliğe uğramış miRNA seviyeleri meme kanserinde, *Burkitt's* lenfomada, malign beyin tümörlerinde, tiroid kanserinde, akciğer kanserinde, prostat kanserinde ve hepatosellüler karsinomada keşfedilmiştir.⁹³⁻¹⁰⁰

MikroRNA'lar, hedefledikleri mRNA'nın moleküler yollardaki özelliğine göre onkogenik veya tümör süpresör özellik kazanabilirler. Normal dokularda, miRNA'ların bazılarının protoonkogenlerin translasyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir. Fonksiyonları bir onkogenin ekspresyonunu kontrol etmek olan bu miRNA'lar "*tümör süpresör miRNA'lar*"(*TS-mir*) olarak ifade edilmektedir. Dolayısıyla tümör baskılayıcı

miRNA'ların ekspresyonunun azalması onkogenin ekspresyonunun artmasına ve tümör oluşumuna sebep olur.

Bunun tersi olarak, "onko-mir" olarak ifade edilen bazı miRNA'ların kanserin gelişimini arttırdığı görülmektedir. Bu miRNA'lar bir tümör süpresörün baskılanmasını sağlarlar. mikroRNA'lar, onkogen ve tümör süpresör mRNA'ların her ikisini de potansiyel hedef olarak görebilir. Bu yüzden, belirli bir miRNA'nın gerçek fonksiyonu ya TS-mir'in veya onko-mir'in hücrel içeriğine bağlıdır.^{100,101}

2.6. Tümör Süpresör mikroRNA'lar

mikroRNA'ların kanserleşme sürecine etkisi ilk olarak 2001 yılında miR-15a ve miR16-1'in keşfedilmesi ile rapor edilmiş olup, bu mikroRNA'ların etki mekanizması ise 2005 yılında *Cimmino* ve arkadaşlarının yayınladıkları çalışma ile ortaya konmuştur.^{90,101,102}

Bu iki miRNA'nın ekspresyon seviyelerinin KLL (Kronik Lenfositik Lösemi) hücrelerinde, anti-apoptotik B hücreli lenfoma proteini olan Bcl-2'nin üretimi ile ters ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Böylelikle *Cimmino* ve arkadaşları miR-15a ve miR16-1'in tümör süpresör aktiviteye sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Bu iki miRNA'nın düşük seviyelerinin (tümör süpresör fonksiyon kaybı) yüksek seviyede Bcl-2 proteini ile ilişkili olduğu dolayısıyla anormal hücre büyümesini gerçekleştirdiği yüksek seviyelerinin (normal tümör süpresör aktivite) ise apoptoz ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Normal seviyelerinin kontrolsüz hücre büyümesini engellediği rapor edilen miR-15a ve miR16-1'in böylelikle tümör süpresör aktiviteleri belirlenmiş oldu.^{74,102}

Tümör süpresör özellik gösteren diğer bir miRNA, let-7 ailesinin üyeleridir (let-7b, let-7c, let-7d, let-7f ve let-7g). Kanserli hastaların akciğer dokusu, normal akciğer dokusu ile karşılaştırıldığında çoğunlukla düşük let-7 seviyeleri gözlenmiştir. Bir akciğer kanseri hücre kültürü modelindeki let-7 seviyeleri, normal hastaların akciğer dokusundaki let-7 seviyelerinden daha yukarılara çıkarıldığı zaman, kanser hücrelerinin büyümesinin önemli derece de azaldığı bildirilmiştir.⁹⁸

Johnson ve arkadaşları, 2005 yılında let-7'nin insanlarda bulunan önemli bir onkogen olan *RAS*'in aktivitesini kontrol ettiğini buldular. Yapılan bu çalışmada, düşük seviyelerde let-7 ihtiva eden akciğer tümör dokuları, önemli derecede artmış RAS protein seviyelerine sahiptir. RAS onkogeninin mRNA dizisi, let-7'nin bu mRNA'ya

bağlanmasını ve dolayısıyla proteine translasyonunu engellemesini sağlayan let-7'ye komplementer bağlanma bölgeleri içermektedir. let-7'nin düşük seviyeleri, RAS geninin kontrolsüz bir şekilde fonksiyon göstermesine imkan tanımaktaydı.

Sonuç olarak let-7 ailesinin üyelerinin, RAS onkogenin mRNA'sını hedefleyen bir tümör süpresör fonksiyona sahip olduğu tespit edilmiş oldu. Son yapılan çalışmalarda, let-7 mikroRNA ailesinin üyelerinin çok iyi tanımlanmış onkogenler olan HMGA230 ve c-Myc31'nin mRNA'larını da inhibe ettikleri rapor edilmiştir.¹⁰³

Üç adet izoformu bulunan miR-29(miR-29a, miR-29b, miR-29c), tümör süpresör karakter sergileyen mikroRNA'lar arasındadır. Mir-29 ailesinin üyelerinin kronik lenfositik lösemi (KLL), akciğer kanseri, invaziv meme kanseri, akut miyeloid lösemi (AML) ve kolanjiyokarsinom hücrelerini baskılayıcı olarak aktivite gösterdiği yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur.¹⁰³⁻¹¹⁰

MikroRNA-143'ün birçok histolojik tümör türlerinde, anormal büyümeyi baskıladığı görülmüştür. B-hücreli kanserler, meme, serviks, kolorektal, mesane ve hipofiz tümörlerinde, miR-143'ün tümör süpresör olarak görev yaptığı rapor edilmiştir. Serviks kanserinde miR-143'ün hücre proliferasyonunu baskıladığı, kolorektal kanser hücrelerinde ise KRAS (viral onkogen) ve KRAS'ın aşağı sinyal yolunu doğrudan inhibe ettiği gösterilmiştir.¹¹⁰⁻¹¹⁵

2.7. Onkogenik miRNA'lar

Tümör süpresör miRNA'ların tersine, onkogenik miRNA'lar çoğunlukla kanser türlerinde kontrolsüz büyümeyi arttırıcı ve/veya anti-apoptotik yönde fonksiyon gösterirler. İlk olarak keşfedilen onkogenik miRNA'lardan bir tanesi, protein kodlamayan gen olan *BIC(B cell Integration Cluster)* ile beraber eksprese edilen miR-155'tir. mir-155'in hedef mRNA'sı tam olarak belirlenememiş olmakla birlikte, ekspresyonunun tavukta lösemi ve lenfoma oluşumunu artırdığı gösterilmiştir.¹¹⁶

Yakın zamanda yapılan çalışmalarda, miR-155'in B hücreli lenfoma, meme, pankreas, akciğer ve Hodgkin lenfoma gibi kanserlerde yüksek ekspresyon sergilediği gösterilmiştir.^{107,108,117-119} Bir onkogen gibi fonksiyon gösterdiği tespit edilen diğer bir mikroRNA, miR-21'dir. mir-21'in AML, KLL ve Glioblastoma gibi hematolojik malignitelerde ve solid tümörlerde, pankreas, prostat, mide, kolon, akciğer, meme ve

karaciğer kanseri gibi birçok kanser türünde yüksek seviyede ekspresyonu saptanmıştır.
106,109,120-122

Mir-21, transkripsiyonel olarak Stat3 tarafından IL-6 sinyal yolağında aktif duruma geçmektedir. Mir-21, invazyon ve metastaz olaylarında çok iyi karakterize edilmiştir. Mir-21, hücre hareketini ve invazyonu, tümör süpresör bir protein olan PTEN'in mRNA'sini hedefleyerek teşvik etmektedir. PTEN, birkaç MMP (*Matriks Metalloproteaz*)' proteininin ekspresyonunu engelleyerek dolayısıyla hücre invazyonunu azaltarak tümör süpresör bir etki göstermektedir. Son zamanlarda, kolorektal kanserlerde mir-21'in, PDCD4'ü baskıladığı, bunun da invazyon ve metastaza yol açtığı belirlenmiştir.¹²³⁻¹²⁵

Mir-17-92 gen kümesi, insan genomunda kromozomun 13q31.3 yerleşiktir. Bu gen kümesi altı adet miRNA (miR-17, miR-18a, miR-19a, miR-20a, miR-19b-1, miR-92-1) kodlamaktadır. Mir-17-92 gen kümesi, onkogenik olduğu gösterilen ilk miRNA'yi kodlayan bir bölgedir. c-Myc onkogeninin fazla ekspresyonunun gerçekleştiği transgenik farelerde miR17-19 gen kümesinin yüksek seviyede ekspresyona neden olarak B hücreli lenfomanın gelişimini artırdığı belirlenmiştir.¹²⁶

Bu gen kümesinin, akciğer gelişiminde, bağışıklık ve hematopoeitik sistemlerin düzenlenmesinde anahtar rol oynayan bir bölge olmasına bağlı olarak, miR-17-92 gen kümesinin üyelerinin çok çeşitli solid organ tümörlerinde, hematolojik malignansilerde, meme, kolon, akciğer, pankreas, prostat, mide ve lenfomaları da içine alan kanser türlerinde yüksek seviyede ekspresyonu gerçekleşmektedir.¹²⁷

Ekspresyon sonucu oluşan miRNA'lar, proliferasyonu teşvik ederek, apoptoz inhibisyonunu sağlayarak ve tümör anjiyogenezini tetikleyerek kanser gelişimine katkıda bulunmaktadır. Mir-17-92 gen kümesinin kanser gelişimine katkısının iki mekanizma ile gerçekleştiği düşünülmektedir. Bunlardan bir tanesi birkaç lenfoma ve kanser türünde görülen 13q31 lokusunun amplifikasyonu, diğer mekanizma ise miR-17-92 gen kümesinden kodlanan pri-miRNA'nin transkripsiyonel aktivasyonudur. Onkogenik transkripsiyon faktörü olan c-Myc, miR-17-92 gen kümesinin upstream bölgesine bağlanarak bu genin ekspresyonunu aktive etmektedir.¹²⁸

Ayrıca E2F ailesinin üyelerinin (E2F1,2 ve 3)'de miR-17-92 gen kümesini aktive ettiği gösterilmiştir. E2F1,2 ve 3 bu gen kümesinin aktivasyonunu sağlamakla birlikte, bu kümedeki miR-17 ve miR-20a tarafından gerçekleşen baskılamanın hedefi

durumundadır. Bununla birlikte, aktivasyon ve baskılama seviyeleri, miRNA ve E2F ailesi üyelerinin bireysel çiftleri arasındaki değişkenliğe bağlıdır.^{129,130}

2.8. Mikrorna'ların Normal ve Malign Hematopoezdeki Roller

MikroRNA terimi ilk kullanıldığı günden beri normal ve malign hematopoezde mikroRNA'ların rolünü anlamak için büyük çalışmalar yapılmış ve sonucunda önemli gelişme kaydedilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bu küçük moleküllerin hematopoezde farklılaşma, çoğalma ve apoptoz (programlı hücre ölümü) gibi çok önemli hücresel olaylarda kritik öneme sahip olduğu gösterilmiştir.^{130,131}

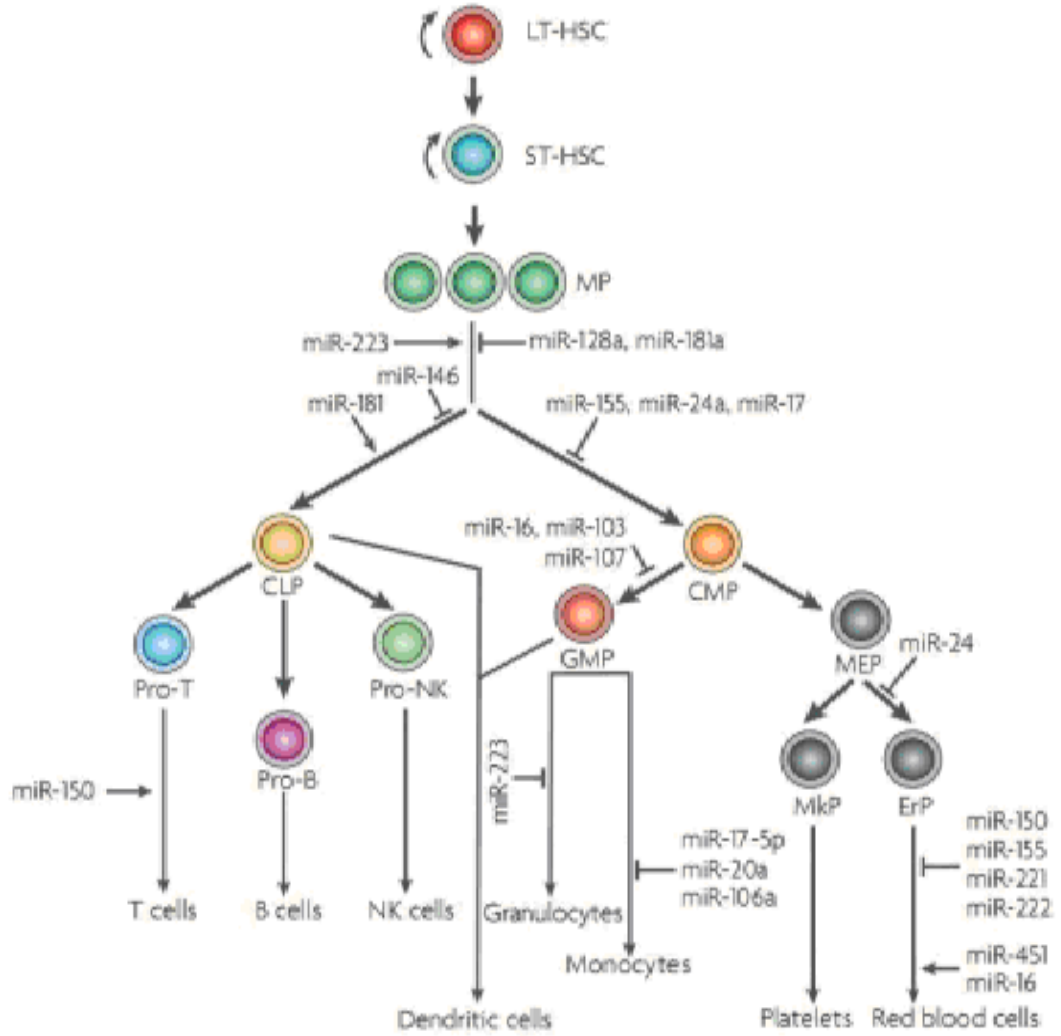
Normal hematopoezde mikroRNA'lar hemen her basamakta hematopoetik farklılaşmayı düzenleyerek son derece önemli rol oynarlar. Bu nedenle mikroRNA'ların anormal ekspresyonu hematolojik malignansiler dahil pek çok hastalıkla yakından ilişkilidir. mikroRNA'lar mekanizmaları tam açıklanamasa da onkogen ve tümör supresör olarak davranabilir. Yine de, tümör oluşumundaki rollerini anlayabilmek için bazı ipuçları mevcuttur. Daha önce belirtildiği üzere, mikroRNA'lar hedef transcriptin ekspresyonunu down-regüle ederek veya degradasyonunu artırarak hedef mRNA tarafından kodlanan protein miktarını azaltır. Onkojenik mikroRNA'lar, tümör supresör proteinleri hedefler, bu proteinleri elimine ederek, hücre proliferasyonunu artırır, böylelikle hücre ölümü inhibe olur. Tümör supresör mikroRNA'lar ise onkoprotein kodlayan mRNA'ları hedefleyerek etki gösterirler. mikroRNA'ların düzeyi düşüncü, hücre yaşam süresini uzatan ve proliferasyonu arttıran onkoproteinlerin artmasına neden olur.^{130,132}

MikroRNA'ların tümör oluşumuna direk olarak da katkıda bulunduğuna dair kanıtlar vardır. Örneğin, mir-155 genini fazla eksprese eden transjenik farelerde, B hücreli malignensi gelişmiştir, daha önce bahsedilen mikroRNA'nın fazla eksprese edilmesi tümör oluşumu için yeterlidir. Bu veriler göstermektedir ki mikroRNA'lar onkogeneze rolü olan komplike yolların aydınlatılmasını sağlayacaktır.¹³³

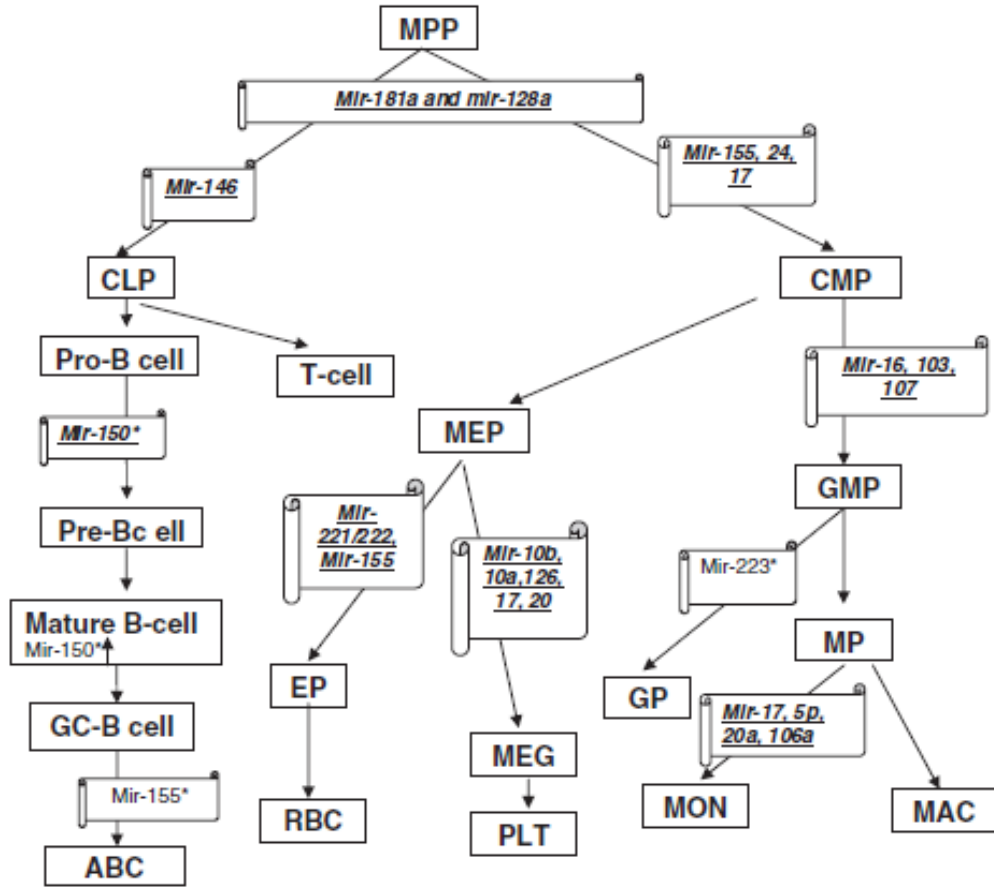
2.8.1. Normal Hematopoezde mikroRNA

Normal hematopoezde mikroRNA ekspresyonu, pek çok araştırmacı grup tarafından kemirgen ve insan hematopoetik dokularında çalışılmıştır. Bu kodlama yapmayan RNA'lar hematopoezin hemen her basamağında (şekil-ccc) önemli rollere

sahiptir. Yine de, insan ve fare hematopoetik hücrelerinde microRNA ekspresyonunda pek çok farklılıklar vardır. Sonuçlar değerlendirilirken bu durum göz önüne alınmalıdır.(şekil-5) ¹³⁰⁻¹³³



Şekil-5: Hematopoezin Farklı Evrelerinde MicroRNA Oluşumu. ¹³⁰



Şekil-6: Normal Hematopoezin de MicroRNA Oluşumu. Koyu renkliler down regülasyonu gösterir farelerde yapılmış çalışmalarda. MPP, multipotent progenitor cell; CLP, common lymphoid progenitor; GC-B cell, germinal center B-cell; ABC, activated B-cell like; CMP, common myeloid progenitor; MEP, megakaryocyte–erythrocyte progenitor; GMP, granulocyte–macrophage progenitor; DN, double negative; DP, double positive; EP, erythroid precursor; MEG, megakaryocyte precursor; RBC, red blood cells; PTLs, platelets; MP, monocyte–macrophage precursor; MON, monocytes; MAC, macrophage; GP, granulocyte progenitor; MPm monocytic progenitor. ¹³⁰

2.8.2. Lenfoid Farklılaşmada mikroRNA’lar

MikroRNA’lar ve hematopoez arasındaki ilişkiyi gösteren ilk çalışma 2004’te yayınlanmıştır. Bu çalışmada; kemirgen kemik iliğinden 150 microRNA klonlanmış, 3 microRNA’nın (mir-181, mir-223 ve mir-142) özellikle hematopoetik hücrelerde eksprese olduğu bulunmuştur. Mir-181 özellikle kemirgen kemik iliğinde B lenfoid hücrelerinde yüksek oranda eksprese olmaktadır. *İn vivo* ve *in vitro* olarak Mir-181 hematopoetik kök hücrelerden ektopik fazla ekspresyonu B-dizisi lenfositlerin sayısında artışa neden olmuştur. Ayrıca mir-223, ve mir-142 miyeloid seri hücrelerinde yüksek

oranda eksprese olmaktadır. Bunun yanı sıra mir-223, mir-142 nin ektopik aşırı ekspresyonu B lenfosit ve miyeloid hücreden daha çok T lenfosit oranlarında artışa neden olacaktır.(135) Ramkinsson ve ark tarafından yapılan çalışmada; mir-142, mir-181, mir-223, mir-155'in ekspresyon profillerini İnsan ve fare hematopoetik hücrelerinde farklı olarak bulmuşlardır. Bu yüzden, farelerde yapılan çalışmalardan insanlarla ilgili çıkarımlar yaparken dikkatli olunmalıdır.^{130,134}

Mir-150 hematopoez de önemli bir microRNA'dır. Özellikle dinlenme halindeki T ve B hücrelerinden daha az oranda da progenitor hücrelerde eksprese olur. Kemirgen hematopoetik dokusunda B ve T hücre maturasyonunda yapımı artarken immatür T hücrelerinin Th1 ve Th2 hücrelerine ileri farklılaşması sürecinde yapımı baskılanarak azalır.¹³⁶

Hematopoetik kök hücre öncüllerinde Mir-150'nin ektopik ekspresyonu; dolaşımdaki, dalaktaki ve lenf nodlarındaki olgun B hücre sayısını azaltırken, T hücre veya myeloid hücreler üzerine etkisi daha azdır. İleri araştırmalar sonucu B hücre maturasyonu sırasında mir-150'nin pro-B hücrenin pre-B hücreye dönüşümünü bloke ettiği kanıtlanmıştır.¹³⁷

Tablo-16: Lenfomalardaki microRNA paneli.^{93,126,130}

LENFOMALAR				
	Micro-RNA	Durum	Fonksiyon	Hedef
Hodgkin Lenfoma	Mir-155 Let-7a Mir-9	UR UR UR	OG OG OG	PU.1 PRDM1/BLIMP-1 PRDM1/BLIMP-1
Diffuse Large B-cell Lenfoma (DLBCL)	Mir-155 Mir-15a Mir-21 Mir-221 Mir-17-92	UR in ABC DR UR in ABC UR in ABC UR	OG TSG OG OG OG	PU.1, SHIP.1 BCL-2 BCL-2 E2F-1
Mantle Cell Lenfoma	Mir-17-92 Mir-16-1	UR Binding site deleted	OG TSG	E2F-1 CCND1

ABC, activated B-cell like; AML, acute myeloid leukemia; APL, acute promyelocytic leukemia; ALL, acute lymphoblastic leukemia; DLBCL, diffuse large B-cell lymphoma; HL, Hodgkin lymphoma; MM, multiple myeloma; MCL, mantle cell lymphoma; UR, up-regulated; DR, down-regulated; OG, oncogenes; TSG, tumor suppressor gene; CCND1, cyclin D1; TCI-1, S-cell leukemia/lymphoma 1.

Bu; microRNA'nın ektopik ekspresyonunun nasıl matür B hücrelerin sayısını azalttığını açıklamaktadır. Ayrıca mir-150'nin Transgenic (TG) ve Knockout (KO) fare modellerinde pro-B hücrelerinde apoptoza neden olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte mir-150 lenfosit gelişimini kontrol eden bir transkripsiyon faktörü olan c-MYB'yi hedeflediği bulunmuştur.

Sonuç olarak daha önce belirtildiği gibi mir-150 progenitor hücrelerden değil, matür B hücrelerinden eksprese olur. C-MYB ise yüksek oranda lenfosit progenitörlerinden eksprese olurken matür hücrelerde ise down-regüle olur. *İn vivo* olarak yapılan bu çalışma ekspresyon paternleri arasındaki ilginç ilişkiyi göstermiştir. Gerçekten de mir-150, direk olarak C-MYB'yi mRNA'sına bağlanarak down-regüle eder ve sonuç olarak doz-bağımlı olarak protein ekspresyonunu kontrol eder.^{130,137-138}

Lenfoid diferansiasyonunda bir başka önemli microRNA ise mir-155'tir. İlk kez Kuş leucosis virüsde integrasyonda sık görülen bölge olarak tanımlanan B hücre integrasyon kümesi (BIC) nin bir ürünüdür. Mir-155'in yüksek düzeyleri aktive B hücreleri ve T hücreleri ile aktive monositlerde görülür.¹³⁹⁻¹⁴⁰ Mir-155'in fonksiyonu TG ve KO farelerinde çalışılmıştır. Buna ek olarak mir-155'i yüksek düzeyde eksprese eden TG faresinin dalağında ve kemik iliğinde prelösemik pre-B hücre proliferasyonu görülmüş ve bunu takiben B-lenfosit kökenli malignensi gelişimi görülmüştür.¹³³ İki farklı grup mir-155'in B ve T hücrelerindeki farklılaşmada rolünü araştırmak için mir-155'i KO farelerini üretmiştir. Farklı çalışma grupları Mir-155'in germinal merkez reaksiyonunu ve sitokin üretimini etkileyerek T-helper farklılaşmasını regüle ettiğini; ayrıca bic/mir-155'in hem lenfosit hem dendritik hücrelerin fonksiyonunu etkileyerek yetersiz immün cevaba neden olduğunu bulmuştur.^{141,142}

Son olarak, yapılan çalışmalarda insan kemik iliği ve periferik kan kök hücrelerinde eksprese olan 33 microRNA bulunmuştur. Yazarlar bu verileri mRNA-mRNA interaksiyon veri tabanında (*Transcriptome İnteraksiyon Veritabanı*) HSPC mRNA ekspresyon verileri ve mRNA-mRNA hedef tahmini ile kombine etmek için biyoinformatik teknikleri kullanmışlardır. Daha sonra hematopoezi kontrol için bir microRNA modeli oluşturulmuştur. Bu modele göre, mir-181 ve mir-128 tüm hematopoetik serilerde farklılaşmayı inhibe eder, mir-146 ise multipotent progenitör hücrenin genel lenfoid progenitora farklılaşmasını inhibe eder.¹⁴³

2.8.3. Granülosit ve Monosit Farklılaşmasında MicroRNA'lar:

Mir-223, myeloid farklılaşmada önemli rol oynayan bir microRNA'dır. Akut promyelositik lösemide hücrelerde (AML-M3) myeloid farklılaşma çalışılmış ve mir-223'ün trans kripsiyon faktörleri ile (*Negative Nüklear Factor 1A (NFIA)* ve *CCAAT/enhancer binding protein(CEBPA)*) ilişkili olarak farelerde granülopoezi artırdığı bulunmuştur. Her iki transkripsiyon faktörü de mir-223'ün promoter bölgesine bağlanabilmektedir. Mir-223 ekspresyonunu NFIA down-regüle ederken, CEBPA up-regüle eder. AML-M3'de retinoik asit tedavisi ile NFIA'nın yerini CEBPA alır, granülositik farklılaşma artar ve mir-223 upregüle olur. İlginç olarak mir-223 NFIA translasyonunu inhibe eder bunun sonucunda negatif feedback'e neden olarak granülositik farklılaşmaya yardımcı olur.

Ayrıca yeni yapılan iki çalışmada daha önceki sonuçlar desteklenmemektedir. İlk çalışmada, mir-223'ün myeloid ekspresyonu PU.1 ve C/EBP transkripsiyon faktörlerinin birlikte etki ettiği 5'proksimal cis-regülatuvar elemanı tarafından özelleştirilebildiği bulunmuştur. AML-M3 hücre modelinde çalışılarak retinoik asitin AML-M3 hücrelerinde farklılaşmayı artırdığı, PU.1'i baskıladığı ve mir-223'te down regülasyon yaptığı bulunmuştur.^{144,145}

Ayrıca mir-223'in progenitör proliferasyonunu, granülosit diferansiasyonunu ve farelerde KO'nun aktivasyonunu azalttığını bulmuştur. Ek olarak, mir-223'ün myeloid progenitör proliferasyonunu artıran, transkripsiyon faktörü Mef2c'yi hedefleyerek, Mef2c'nin genetik ablasyonu ile progenitör ekspansiyonunu suprese edip farelerde nötrofilik fenotipi düzelttiği saptandı. Sonuç olarak mir-223 ekspresyonunu regüle eden mekanizmaları aydınlatmak için daha fazla çalışma yapılmalıdır.¹⁴⁶

Mir-17-5p, mir-20a ve mir-106'nın monositik farklılaşma ve matürasyondaki rolüde araştırılmıştır. Promotor M-CSFR transkripsiyon (M-CSF receptor) M-CSFR, transkripsiyonunu artıran akut myeloid lösemi 1 (AML-1) transkripsiyon faktörü, m-RNA düzeyinde değil de protein düzeyinde up-regüle olurken tek seri monositik kültür hücrelerinde bu microRNA'lar downregüle olmuştur. Mir 17-5-p, mir-20a ve mir-106a ile transfeksiyon AML-1 protein ekspresyonunda tersi sonuçlara neden olur. Blast proliferasyonu artar, monositik farklılaşma ve matürasyon azalır. İleri araştırmalar bu

microRNA'ların AML-1'i hedeflediğini göstermiştir. Ayrıca AML-1 microRNA 17-5p-92 kümesine ve 106a-92 kümesine promotordan bağlanarak, negatif feedback ile mir-17-5p-20a-106a ekspresyonunu inhibe eder. Bu da monositopoezin, dolaşımdaki mir-17-5p, mir-20a ve mir-106a tarafından kontrol edildiğini gösterir.¹⁴⁷

Sonuç olarak; Mir 155, mir-24a ve mir-17'nin; multi potent kök hücrenin (multi potent progenitor cell(MPP))' nin genel miyeloid progenitöre (common myeloid progenitor(CMP)) farklılaşmasını inhibe eder. Mir 16, mir-103 ve mir-107 ise genel miyeloid progenitörün(CMP) granülositik-makrofaj progenitor hücreye dönüşümünü inhibe eder.¹⁴³

2.8.4. Eritroid ve Megakaryositik Farklılaşmada mikroRNA'lar

Eritroid ve Megakaryositik farklılaşmada mikroRNA'ların rolüne dair çalışmalar oldukça dikkat çekicidir. Mir-221 ve mir-222, eritroid farklılaşma ve matürasyonda down-regüle olur. Bu her iki microRNA'ların 5' kısmındaki ilk sekiz nükleotid aynıdır. Bu da mir-221 ve mir-222'nin aynı hedefe(KIT) bağlanabileceği gösterir. KIT hematopoetik hücrelerin çoğalmasının kontrol edildiği anahtar reseptördür. Böylelikle mir-221 ve mir-222'nin down regülasyonu muhtemelen, KIT üzerindeki blokajı kaldırarak eritroblastlarda çoğalmaya neden olur.¹⁴⁸ Ayrıca mir-155 hem eritroid hem myeloid koloni oluşumunu azaltır.¹⁴³

Normal ve polisitemia vera hastalarında eritropoezde microRNA ekspresyonunun üzerinde yapılan çalışmalar ile 12 farklı microRNA periferik kan mononükleer hücrelerden kantitatif PCR ile çoğaltılarak elde edilmiştir. Normal eritropoez sırasında, mir-150, mir-221 ve mir-222 progresif olarak down-regüle olmuştur. Mir-451 (eritroid spesifik) ve mir-16 (retikülositlerde) ise upregüle olmuştur. Mir-339 ve mir-38 ise bifazik patern göstermiştir.¹⁴⁹

Mir-155'in myeloid ve eritroid farklılaşmayı inhibe ettiği gösterilmiştir.(143) Multipotent progenitor hücreler transplante edilen farelerde, mir-155'i aşırı eksprese eden eritroid/megakaryositik seri oranının azaldığı bir myeloproliferatif bozukluk görülür.¹⁵⁰

Ayrıca GATA-1 transkripsiyon faktörünün, mir-144 ve mir-451'i kodlayan tek pri-microRNA'nın (mir-144, mir-451) in vivo transkripsiyonunu aktive edildiği

gösterilmiştir. Mir-451 den arındırılmış zebra balığı embriyolarında ki oluşan eritroid prekürsörlerin matür kırmızı kan hücrelerine gelişimi bozulmuştur. Ancak bu veriye dayanarak mir-144'ün baskılandığında mir-451'in eritropoezde spesifik bir role sahip olduğunu söylemek doğru olmaz.¹⁵¹

Son dönemde, mir-223'ün de eritroid farklılaşmada rolü olduğu gösterilmiştir. Eritroid serideki progenitor ve prekürsör hücrelerde down-regülasyon yapması eritroid maturasyonda gerekli gözükmemektedir. Mir-223'ün ekspresyon seviyeleri LIM (LMO2, RBNT2; hematopoetik farklılaşma kritik rol oynayan) seviyeleri ile ters orantılıdır. İleri araştırmalar, mir-223'ün 3'-UTR 'sine bağlanarak LMO2 proteinini downregüle ettiğini ve eritroid hücrelerin farklılaşma ve maturasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir.¹⁵²

MicroRNA'lar megakaryositik olgunlaşmada da önemli görünmektedir. CD34+ hematopoetik progenitorlardan farklılaşmış megakaryositlerde in vitro mikroRNA ekspresyon profilini çalışmış ve 20 microRNA'nın (mir-10a, mir-126, mir-106, mir-10b, mir-17, mir-20) downregüle olduğu gösterilmiştir. Mir-130a'nın da Gp-IIb promoter'ını aktive ederek, platelet fizyolojisinde önemli role sahip transkripsiyon faktörü MAFB'yi hedeflediği, mir-10a'nın ise megakaryopoezde direk olarak HOXA1'i hedeflediği saptanmıştır. Bu iki gen megakaryopoezde fazla eksprese olur, bu da mikroRNA'Ların downregüle olmasının bu genlerin ekspresyonunu artırdığını gösterir.¹⁵³

Bunun yanı sıra lösemik hücrelerde megakaryopoezi kontrol eden yollar üzerinde çalışmıştır. PZLF transkripsiyon faktörü mir-146 transkripsiyonunu suprese eder, böylece SDF-1 reseptörü CXCR4'ü aktive eder.¹⁵⁴

Son olarak, transkripsiyon faktörü RUNX1 (AML-1 proteini olarak da bilinir) erken hematopoezde upregüle olur ve mir-27a'yı upregüle eder. Megakaryositik seri diferansiasyonunda mir-27a feedback halkası oluşturarak RUNX1'i negatif olarak regüle eder.¹⁵⁵

2.9. Akut Lösemide MikroRNA Ekspresyonu

Akut lösemide mikroRNA'nın rolü giderek daha fazla araştırmanın konusu olmaktadır. Yapılan farklı çalışmalardan birinde, normal karyotipli 30 AML hastasının mikroRNA ekspresyonu analiz edildiğinde mir-181a seviyeleri (daha önce bahsedildiği

üzere tüm insan hemopoetik hücre dizilerinde farklılaşmanın potansiyel inhibitörü), AML M4 ve M5 ile karşılaştırıldığında, AML M1 ve M2’de artmış olarak saptanmıştır. ¹⁴³ Mir-181a’nın artmış ekspresyonu AML’de lösemik süreçle ilişkisini göstermektedir. Bunun yanı sıra mir-10a, mir-10b ve mir-196a-1 ise HOX gen ekspresyonu ile yakın ilişkili bulunmuştur. ¹⁵⁶

Farklılaşma ajanı all-trans retinoik asit (ATRA) ile tedavi edilen AML-M3 hücre dizilerinde let-7 ailesinden mir-223, mir-342, mir-107 gibi birkaç tümör supresör mikroRNA’da upregülasyon göstermiştir. ATRA tedavisinden sonra mir-181 down regüle olmaktadır. ¹⁵⁷

Tablo-17: MikroRNA’ların Fonksiyonu. ¹³⁰

Micro-RNA	Micro RNA’nın Fonksiyonu
mir-150	❖ B ve T lenfositlerin farklılaşmasını kontrol eder ❖ Matur B ve T lenfositlerden eksprese edilir ❖ Pro-B lenfositlerin Pre-B lenfositlere dönüşünde blok oluşturur. ❖ C-MYB down regüle olur.
mir-155	❖ B ve T lenfositlerin farklılaşmasını kontrol eder ❖ Germinal merkez reaksiyonunu kontrol eder ❖ Aktive T lenfositlerde düzeyi artar ❖ Eritroid, miyeloid ve megakaryositik farklılaşma azalır
mir-221 ve mir-222	❖ C-KIT hedef alarak eritroid farklılaşmada blok oluşturur.
mir-181a	❖ İnsan progenitör hücrelerinin farklılaşmasında blok oluşturur. ❖ B ve T lenfositlerin farklılaşması ❖ B lenfositlerden murin oluşumunda artar
mir-223	❖ Miyeloid hücrelerin gelişimde düzeyi artar ❖ Granülopoezde up regüle olur ❖ Eritropoezde down regüle olur
mir-10a, mir-126, mir106, mir-10b, mir-17, mir-20	❖ Megakaryositik seride azalır
mir-146	❖ Lenfoid farklılaşmasını blok oluşturur. ❖ Murine Th1 hücrelerinde düzeyi artar

AML’li hastalarda Mir-26a, mir-26b ve mir-29b ekspresyon düzeyleri CD34+ hücrelerle normal kemik iliği hücrelerinde orta düzeyde artış gösteriyor iken Mir23-b, mir-34a ve mir221/mir-222 kümesinde ekspresyon düzeylerinde hastalar ile kontrol vakalar arasında belirgin farklılık saptanmıştır. Mir-23b haricindekilerin hepsi AML hastalarında normal kemik iliği hücreleri ve CD34+ hücrelerde upregüle olmuştur. mir221/mir-222 kümesinin yüksek ekspresyonu, hücre siklusunu inhibe eden ve tümör süpresör olan CDKN1B ekspresyonunu inhibe ederek pek çok kanser hücresinin büyümesini indükler. Ayrıca sekonder olarak KIT ekspresyonunu etkiler. Son olarak, mir-181a ekspresyonu FAB sınıflamasına göre M4 ve M5’te FAB M1 ve M2’ye göre azalmış olarak saptanmıştır.¹⁵⁶

Tablo-18: Lösemilerde microRNA Paneli.¹³⁰

LÖSEMİLER				
	Micro-RNA	Durum	Fonksiyon	Hedef
AML	Mir-181a	M1 ve M2de UR M4 ve M5de DR	OG/TSG	TCL-1
AML-M3 (APL)	Mir-151, 16-1 Mir 181b	UR	TSG	BCL-2
ALL	Mir-17-92 Mir-128b Mir-204	UR UR UR	OG	BIM
KLL	Mir-15a Mir-16-1 Mir -29b Mir-181b Mir-155	DR DR Kötü pronoz KLL’de DR Kötü pronoz KLL’de DR UR	TSG TSG TSG TSG OG	BCL-2 BCL-2 TCL-1 TCL-1
KML	Mir-203 Mir-17-92	DR DR	TSG OG	ABL-1
MM	Mir-15a,16	DR	TSG	

AML, acute myeloid leukemia; APL, acute promyelocytic leukemia; ALL, acute lymphoblastic leukemia; CLL, chronic lymphocytic leukemia; CML, chronic myeloid leukemia; DLBCL, diffuse large B-cell lymphoma; HL, Hodgkin lymphoma; MM, multiple myeloma; MCL, mantle cell lymphoma; UR, up-regulated; DR, down-regulated; OG, oncogenes; TSG, tumor suppressor gene; CCND1, cyclin D1; TCI-1, S-cell leukemia/lymphoma 1.

Son olarak, geniş çapta genomik mikroRNA ekspresyonu profil dizisi çalışılmış ve AML ve ALL’de farklı eksprese olan 27 mikroRNA tanımlamıştır. Aralarında, mir-128a ve mir-128b belirgin olarak aşırı eksprese olur, let-7b ve mir-223 ise AML ile karşılaştırıldığında ALL’de downregüle olarak saptanmıştır. Ayrıca mir-128’in ALL’de

aşırı ekspresyonu promotor hipermetilasyonu ile ilişkili olup genomik lokusunun amplifikasyonu ile ilişkisi yoktur.

2.10. Normal Hematopoezden Malign Hematopoeze Geçiş

Normal ve malign hematopoesizdeki microRNA ekspresyonları arasındaki ilişkiyi saptamak için giderek artan sayıda çalışma yapılmaya çalışılmaktadır. Ancak eldeki verilerle şu anda hematolojik malignansilerde microRNA'nın direkt rolünü gösteren çok az sayıda çalışma ve veri vardır. Bunu birinci nedeni microRNA'ların çok sayıda farklı hedeflerinin olmasının yanı sıra microRNA'ların eşlik ettiği çok fazla sayıda komplike ve biri biri ile örtüşen yolların olmasıdır. Ayrıca çalışmaların çoğunda hematolojik malignansilerde onkogenesize eşlik eden tek microRNA saptanma girişimi, çok sayıda ve anormal microRNA varlığı nedeniyle karışık hale gelmektedir. Ancak normal ve malign hematopoesizdeki microRNA rolü hakkında fikir yürütmemizi sağlayan bazı kuvvetli veriler bulunmaktadır.¹³³ Örneğin mir-155 GC (germinal center) Reaksiyonunu düzenler ve transgenik farelerde B hücreli malignansilerle birliktedir. Gerçekten de DLBCL (ABC) Tipi, CLL, HL, ve Primer Mediasteneal B Hücreli Lenfomada mir -155 artışı, bu microRNA'nın lenfomagenesiz de anahtar rol oynadığını göstermektedir.^{130,143,147,150}

Mir-155 miyelopoesizinde düzenleyicisidir. Çünkü mir-155 miyeloid ve eritroid farklılaşmayı bloke eder ve Trans genik farelerde mir-155'in anormal ekspresyonu miyeloproliferatif hastalık ile sonuçlanıp, eritroid/megakaryositik seride azalmaya neden olur.

Sonuç olarak mir-155 çeşitli yollarda rol oynayarak anormal ekspresyonunun hem miyeloid hemde lenfoid malignansilere eşlik eder. Mir-15a/16-1 tümör supresör ajan olarak kabul edilir. KLL vakalarının büyük çoğunluğunda azalır veya yok olur. Ayrıca mir-181 sıçan B-lenfoid hücrelerinde fazlaca eksprese olur. Mir-181'in progenitor hücrelerde ektopik ekspresyonu B hücre oranında artışa neden olur sonuç olarak hematopetik serilerde farklılaşmayı inhibe ettiği düşünülmektedir. Gerçekten de mir-181 ailesi üyeleri AML ile yakın ilişkilidir. Çünkü mir-181 AML-M1, AML-M2 normal karyotiplerde up regüle olurken yüksek riskli AML'de downregüle dir.

Mir-181 ailesinin diğer üyesi mir-181b kötü prognozlu KLL de down regüledir. Yine de mir-181 fonksiyonlarının tanımlanması gerekmektedir. Çok ilginç ekspresyon

paterni olan diğer microRNA'da mir-223'dir. Miyeloid farklılaşmaya karıştığı gerçeğine rağmen erişkin T hücre lösemi hastalarında up regüle olduğu bulunmuştur.¹³³ Ancak insan T hücre lösemi virus tip-1 (HTLV-1) hücre serilerinde down regüledir. İlaveten t(8;21) taşıyan AML blastik hücrelerinde AML-1/ETO füzyon proteinini direkt olarak mir-223 hedefler ve miktarını azaltır.^{130,159,160}

Sonuç olarak MYC'yi aşırı eksprese eden trans genik farelerde lenfoma genesizi indükleyen mir-17-92'nin DLBCL ve MCL gibi B hücreli malignensilerde aşırı eksprese edildiği saptanmıştır. Bu da mir-17-92'nin B hücreli malignensilerde rol oynadığını göstermektedir. Mir-17-92 nin E2F-1'den başka diğer bir hedefi de proapoptotik protein (BİM) dir. ALL'de mir-17-92 nin anormal ekspresyonu BİM'in down regülasyonu ile sonuçlanır. B hücre progenitörlerinin sağ kalımını artırır. Bu yüzden mir-17-92 kümesinin anormal ekspresyonu çeşitli hematolojik malignensilere eşlik eder. Ancak mir-17-92 nin rol aldığı gerçek yolların aydınlığa kavuşturulması gerekmektedir.¹⁶¹

Tablo 19 : MikroRNA fonksiyonları ve hastalıklarla ilişkisi

MicroRNA tipi	İlişkili hastalıklar	Etki	İlgili gen
1- miR27b	İnsan glioma tümörlerinde Squamos hücreli tümörlerde Aterosklerozlu hastalarda Küçük hücreli akciğer kanserinde Lösemi (eritrolösemi başta olmak üzere) Kolorektal kanser Osteoartrit Servikal kanserlerde Hipertrofik kardiyomiyopati Miyeloproliferatif hastalıklar	DR ? UR UR ? DR DR UR UR	<u>CYP1B1</u> , <u>NOTCH1</u> , <u>C0153875</u>
2- miR29c	Hepatit B virüsü ile ilişkili hepatoselüler karsinomada İleri evre endometriozis Özefagus squamos hücreli kanserinde Kutanöz melanom KLL'li hastalarda Nazofarengeal karsinomalarda	UR DR UR DR DR DR DR	<u>COL1A1</u> <u>DNMT3B</u> <u>COL1A2</u> <u>SPARC</u> <u>LAMC1</u> <u>COL4A1</u>
3- miR302a	Nöroepitelyal tümörler(Retinoblastom) Prostat karsinomu Nöroendokrin tümörler Testiküler neoplazmlar (seminom) Germinoma Teratom Gonadoblastom Akut lösemiler Embriyonel karsinomlar	UR UR DR DR UR UR UR UR UR DR	<u>TAC1</u>

MicroRNA tipi	İlişkili hastalıklar	Etki	İlgili gen
4- miR302c	İnsan embriyonik kök hücrelerinde Akciğer endodermal progenitör hücrelerinde Over kanserleri	UR DR DR	?
5- miR30c	Zebra balıklarının embriyonik gelişiminde Parapsoriasis Pankreatik karsinoma Mesane kanseri Glomeruloskleroz	UR UR UR UR UR	<u>Tretinoin</u> , <u>C0019204</u>
6- miR320	Normal ve malign hematopoetik hücrelerce Nöronal hücre	UR DR	
7- miR34a	Nöroblastom Myopati Dermatomyosit Medulloblastom	? DR DR UR	<u>BCL2</u> , <u>CCND1</u> , <u>NO</u> <u>TCH1</u> , <u>BIRC</u> <u>3</u> , <u>JAG1</u>
8- miR328	Göğüs kanseri Kolorektel kanserler Primer bilier siroz Lenfoma Lösemiler Alzheimer hastalığı	? DR DR ? DR DR	<u>ABCG2</u> , <u>CD44</u> , <u>BACE1</u>
9- miR3423	Farelerde İpek böceğinde İşlevi ?	?	?
10- miR3623p	Servikal kanserler Embriyonik kök hücre Mezenkimal kök hücre	UR DR DR	?
11- miR363	Fare embriyosu overinde Akciğer epitelial hücrelerinde		
12- miR367A	<u>Lösemiler</u> <u>Testisin malign germ hücreli tümörleri</u> Epitelial over kanserleri Akciğer karsinomu Orak hücreli anemi ağırlı krizi	? ? UR DR UR	<u>MIR373</u> <u>MIR145</u> <u>MIR140</u> <u>MIR200C</u> <u>MIR133B</u>
13- miR374b	Servikal kanser	UR	?
14- miR376a	İntra epitelial kolanjiokarsinom Müsküler distrofi Over kanseri Pankreatik karsinom Akut lösemiler	UR ? UR UR DR	
15- miR381	Myopati Malign over neoplazmları Psikoz	UR ? ?	<u>C0220773</u> RTL-1
16- Mir208	Kalbin kontraktıl proteinlerinin düzenlenmesinden sorumludur.	?	α -MHC

MicroRNA tipi	İlişkili hastalıklar	Etki	İlgili gen
17- Mir20a	Nöronların ve miyelinin dejenerasyonuna PPAR γ , Bambi and Crim1'i hedef alarak Osteoblast farklılaşmasında rol oynamaktadır. Retinoblastom Kolonorektal adenokarsinom Prostat kanserinde Multiple skleroz	? DR DR UR UR	
18- Mir20b	Mir-20b downregülasyonu endotelial PAS domain 1 (EPAS1) overekspresyonuna yol açar. Böylece insan mezenkimal kök hücrelerinde fenotipi belirler. Göğüs kanserinde Servikal kanserde	DR UR	HIF-1 alpha, STAT3
19- Mir21	Mide kanseri Kolon kanserinde Göğüs kanserinde Mide kanserinde	UR DR UR DR	
20- Mir212	Retinoblastom Pankreas kanseri Mide kanseri Alkolik karaciğer hastalığında ince barsak hücrelerinde	UR UR DR UR	
21- Mir 218	Servikal intraepitelial neoplazi Glioma Nazofarinks kanserlerinin invazyonunda Oral kanserlerde Mesane kanserleri	DR DR DR DR DR	
22- Mir223	Akut böbrek rejeksiyonu Özefagus kanserleri Hepatoselüler kanser Hepatitli olgular SIRS(Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu) Lösemi (AML) Normal hemotopoezde Romatoid artrit	UR DR UR UR UR DR UR ? UR	
23- Mir24	Küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde Tonsillerin skuamöz hücreli kanserleri Şizofreni İnsan ebriyonik böbrek hücrelerinde	DR UR ? ?	
24-Mir25	Kolanjiyokarsinom Over kanserinde Özofagus skuamöz hücreli karsinomu	UR ? UR	TRAIL BİM
25- Mir484	Servikal kanser Meme kanseri	UR ?	
26-Mir548a	Tiroid kanseri	UR	LRP1B
27-Mir92a	Lenfoma Meme kanseri Akciğer kanseri Tümör anjiogenezi	UR UR UR UR	

MicroRNA tipi	İlişkili hastalıklar	Etki	İlgili gen
28-U6snRNA	Serviks kanserinde Posttranslasyonel modifikasyonda rolü var	? ?	<u>Prp24</u> ve <u>LSms</u> proteinleri ile ilişkili
29- Mir 106b	Multiple skleroz Multiple miyelom Prostat kanseri	DR UR DR	CDKN1A/P21 BCL2L1/Bi m
30- Mir126	Malign mezotelyoma Gastrik kanserde Özofagus skuamöz hücreli karsinomu Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri Meme kanseri	DR ? UR ? ?	
31- Mir146a	Miyokard infarktüsü Kronik diyabet gelişimi Hepatoselüler kanser gelişimi Nörodejenerasyon	UR UR ? UR	
32-Mir146b	Akciğer kanseri Papiller tiroid kanseri Göğüs kanseri Glioma T hücre gelişimi, fizyolojisi ve leukomogenesis	UR UR UR DR DR ?	
33- Mir150	Sepsis Lenfoma T Hücre gelişiminde Adenomatöz kraniofarenjiom Pankreas kanseri KML MDS	DR DR ? UR UR DR UR	PI3K-AKT NOTCH3
34- Mir 16	Mide kanseri Multiple miyelom Anaplastik lenfoma Hepatoma	UR DR DR DR	
35- Mir194	Endometriyum kanseri Multiple miyelom Kolorektal kanser gelişimi	DR DR DR	
36- Mir 19b	K562 hücre hattı çoğalmasının baskılanması saptanmıştır Meme kanseri Akciğer kanseri Lenfoma	? ? ? ? ?	
37- Mir203	Kolorektal kanser Prostat kanseri Mesane kanseri	DR DR DR	
38- Mir451	Mide kanseri Akciğer kanseri T-ALL	UR DR DR	Notch-1 indüksiyonu
39- Mir17	Hodgking lenfoma Retinoblastom Pankreas kanseri Renal hücreli karsinoma	UR UR UR UR	P21

MicroRNA tipi	İlişkili hastalıklar	Etki	İlgili gen
40- Mir184	Keratokonus Tonsillerin squamoz hücreli kanserleri	DR UR	
41- Mir191	Hepatoselüler kanser Ailesel over kanseri Tip-1 diabet Servikal kanser	UR ? DR ?	
42- Mir192	Akciğer kanseri Mide kanseri Multiple miyelom SLE	DR UR DR DR	ALCAM
43- Mir483-5	Kolon kanseri Meme kanseri Akciğer kanseri Wilms tümörü	UR/DR UR/DR UR UR	
44- Mir576-3p	Melanoma Over kanseri	DR UR	
45- Mir769-3p	?		

UR(upregule), DR(downregule)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik Hematoloji ve Pediatrik Onkoloji Bilim Dalları ile Dahiliye Hematoloji Bilim Dallarına Aralık 2010 ile Eylül 2011 tarihleri arasında başvuran akut lösemi tanısı alan 49 hasta çalışmaya alındı. Sitomorfolojik, immünohistokimyasal ve akım sitometrik çalışmalar ile ALL tanısı alan çocuk 31 hasta, yetişkin 4 hasta ile çocuk AML tanısı alan 6 hasta ile yetişkin 8 hasta için çocuk ve yetişkin kontrol grubu sağlıklı çocuk ve yetişkin olarak 70 (çocuk;47 , yetişkin 23) hasta ile çalışmaya dahil edildi.

Tanı için kemik iliği aspirasyon ve biyopsileri ile alınan örneklerden yapılan incelemelerle morfolojik alt gruplar FAB sınıflamasına göre yapıldı. İmmünfenotiplendirme, akımsitometrisi kullanılarak yapıldı. Lenfosit yüzey antijenlerine yönelik monoklonal antikorlar ile yüzey markırlarına bakıldı. Bu işlem için hastalardan 2 ml. kemik iliği aspirasyon örneği EDTA içeren tüplere alınıp, örnekler akım sitometri (BD FACS Calibur) cihazından geçirilerek blastik hücre popülasyonu içerisindeki yüzde oranları tespit edildi. CD2, CD3, CD19, CD7, CD10, CD13, CD22, CD33, CD34, HLA DR, intrastoplazmik MPO, CD117 ve Anti TdT ile blastların immünofenotiplendirmesi yapıldı.

ALL ve AML tanılı hastalar, FAB klasifikasyonuna göre ve immünfenotipleme göre alt gruplara ayrıldı. ALL'ler immünofenotipik olarak CALLA (+) Pre B-ALL, CALLA (+) erken pre- B-ALL, Matür B-ALL, ve T-ALL alt gruplarına ayrıldı. İmmünofenotiplendirme çalışmalarında CD yüzey markırı antijenlerinde % 30'un üzerinde olanlar pozitif olarak değerlendirildi.

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Genel Çocuk Polikliniğine kontrol amaçlı başvuran, fizik muayenesi normal saptanan ve Çukurova Üniversitesi Genel Dahiliye polikliniğine kontrol amacı ile başvuran tam kan sayımı ile hematolojik olarak normal bulunan 47 çocuk ve 23 yetişkin kişi kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi.

Hastalar Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Hematoloji ve Pediatrik Onkoloji Bilim Dalları ile Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahiliye Hematoloji Bilim Dalları tarafından takip edildi ve tedavileri yapıldı. Çocuk ALL tanılı hastalara

BFM TR-ALL 2000 kemoterapi protokolleri risk gruplarına göre uygulanırken AML tanılı hastalara AML-BFM 2000 protokolü uygulandı.

3.1. Örneklerin Toplanması

Hastalardan 5 mL tam kan K3EDTA lı tüpler içerisine alınacaktır. Tüpler en çok 1 saat içerisinde, oda sıcaklığında, 3.000 x g de, 20 dakika süre ile santrifüj edilecek ve 400 µl plazma örneği ayrılarak RNA izolasyonu yapılana kadar -80°C de saklanacaktır.

3.2. RNA İzolasyonu

RNA izolasyonu için miRvana Paris (Ambion, Austin, TX, USA) RNA izolasyon kiti kullanılacaktır.

1. 400 µl plazma üzerine eşit hacimde (400 µl) 2XDenaturing solüsyonu eklenir, tüpler buz içerisinde 5 dakika bekletildikten sonra eşit hacimde (800 µl) Acid-Phenol:Chloroform eklenir ve 1 dakika vortex ile karıştırılır.
2. Tüp mikro santrifüj de 5 dakika süre ile maksimum hızda ($\geq 10.000 \times g$) santrifüj edilir.
3. Süpernatant dikkatlice temiz bir tüpe aktarılır ve hacmi belirlenip not edilir.
4. Süpernatant üzerine süpernatant hacminin 1.25 ile çarpılması sonucu ortaya çıkan hacim kadar (Örn. 500 µl süpernatant için 625 µl %100 Etanol) oda sıcaklığında %100 Etanol eklenir ve karıştırılır.
5. Karışımdan 700 µl mikro santrifüj tüpü içerisine yerleştirilmiş filtre tüpü üzerine pipetlenir. Filtre tüpü mikro santrifüjde 10.000 x g de 30 saniye santrifüj edilir. Mikro santrifüj tüpünde biriken sıvı dökülür ve filtre tüpü tekrar mikro santrifüj tüpüne yerleştirilir.
6. Kalan süpernatant-alkol karışımı bitene kadar 5 nolu adım tekrarlanır.
7. Filtre tüpü üzerine Wash Solution 1 den 700 µl pipetlenir ve 10.000 x g de 30 saniye santrifüj edilir. Mikro santrifüj tüpünde biriken sıvı dökülür ve filtre tüpü tekrar mikro santrifüj tüpüne yerleştirilir.

8. Filtre tüpü üzerine Wash Solution 2/3 den 500 µl pipetlenir ve 10.000 x g de 30 saniye santrifüj edilir. Mikro santrifüj tüpünde biriken sıvı dökülür ve filtre tüpü tekrar mikro santrifüj tüpüne yerleştirilir.
9. 8 nolu adım bir kez daha tekrarlanır. Mikro santrifüj tüpünde biriken sıvı dökülür ve filtre tüpü tekrar mikro santrifüj tüpüne yerleştirilir.
10. Filtre tüpü üzerine hiç bir şey eklenmeden 10.000 x g de 2 dakika santrifüj edilir. Filtre tüpü temiz bir mikro santrifüj tüpüne yerleştirilir. Filtre tüpü üzerine 50 µl 95°C ye ısıtılmış DNase, RNase free sudan eklenir. Bir dakika tüpün kapağı açık olarak bekledikten sonra tüp kapatılıp 10.000 x g de 1 dakika santrifüj edilir.
11. Santrifüj sonunda mikro santrifüj tüpünde biriken sıvı pipetle alınıp filtre tüpü üzerine tekrar pipetlenir ve tekrar 10.000 x g de 1 dakika santrifüj edilir (bu adım ile RNA konsantre hale getirilmektedir).
12. Filtre tüpü atılır mikro santrifüj tüpünde toplanmış olan RNA dır ve miRNA larıda içermektedir.

3.3. cDNA Reaksiyonu

cDNA reaksiyonu için miScript Reverse Transcription Kit (Qiagen, Germantown, MD, USA) kullanılacaktır.

1. Aşağıdaki karışım hazırlanır

	1 Örnek İçin	95 Örnek İçin
5Xreaction Buffer	2.0 µl	230.0 µl
miScript Reverse Transcription Enzyme	0.5 µl	57.5 µl
Toplam	2.5 µl	287.5 µl

2. Yukarıdaki karışımdan 96'lık plate kuyularına 2.5 µl konulduktan sonra her tüpe 7.5 µl RNA eklenir ve her RNA örneği eklendiğinde pipet ile karıştırılır.
3. Plate bir seal ile iyice kaplandıktan sonra üstten ısıtma özelliği olan bir thermal cycler da 37°C de 60 dakika ve 95°C de 5 dakika tutulur. Daha sonra elde edilen bu cDNA örnekleri -20°C de saklanır.

3.4. PreAmplifikasyon Reaksiyonu

PreAmplifikasyon için PreAmplification master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) ve Human miScript Assay 96 Set (Qiagen, Germantown, MD, USA) kullanılacaktır. Kısaca; Human miScript Assay 96 Set içerisindeki 10 adet 96'lık plate 12 µl Low EDTA TE Buffer ile sulandırılır. Her bir primerden 0.1 µl alınarak tek bir resarvuar içerisinde birbirleri ile karıştırılarak Primer Pool hazırlanır. Daha sonra aşağıdaki karışım hazırlanır.

	1 Örnek İçin	95 Örnek İçin
2 x PreAmplification Master Mix	5.00µl	600.0 µl
Universal Primer	1.25 µl	150.0 µl
Primer Pool	1.25 µl	150.0 µl
Toplam	7.5 µl	900.0 µl

1. 96'lık plate kuyularına 2.5 µl cDNA konulduktan sonra her tüpe 7.5 µl yukarıdaki karışımdan eklenir ve pipet ile karıştırılır.
2. Plate bir seal ile iyice kaplandıktan sonra üstten ısıtma özelliği olan bir thermal cyclers da aşağıdaki program çalıştırılır.

95°C 600 sn. PreAmplifikasyon sonunda PreAmp cDNA ları
1:5 kez Low EDTA TE buffer ile (40 µl) ile
sulandırılır.

94°C } 15 sn.
55°C } 30 sn. 14 cycles
72°C 240 sn.

∞ 4°C

3.5. Real-Time PCR

Örnek ve Master Mik Karışımı Hazırlanması

1. Enjektörler içerisindeki Control Fluid ile Dynamic Array 96.96 ları yüklenir.

2. Dynamic Array 96.96 *IFC Controller*'a yerleştirip Prime edilir.
3. Aşağıdaki karışım hazırlanır.

	95 Örnek + 1 Negatif Kontrol İçin
Power SybrGreen Master Mix, 2x	402.50 µl
SG Sample Loading Reagent	40.25 µl
AmpliTaq Gold	32.20 µl
TOTAL	474.95 µl

4. 1:5 dilüe edilmiş preamplifiye cDNAlardan 2.87 µl alarak temiz bir 96 lık plate e konulur.
5. Temiz bir 8 li strip tüp alıp (0.2 ml) her bir kuyucuğuna 55 µl yukarıdaki karışımdan pipetlenir. Daha sonra 8 kanallı pipet ile bu karışımdan 4.13 µl alarak plate içerisindeki dilüe preamplifiye cDNA lar üzerine pipetlenir. Her pipetlemede 5-6 kez pipet ile karışım ve örnekler karıştırılır. Pipet ucunu atmadan aynı yerden 4.13 µl alarak dikkatlice Dynamic Array 96.96 da SAMPLE şeklinde işaretli bölüme pipetlenir. Bu işleme tüm örnekler bitene kadar devam edilir.

3.6. Assay Karışımı

1. Aşağıdaki karışım hazırlanır.

	95 Örnek + 1 Negatif Kontrol İçin
Assay Loading Reagent	402.50 µl
Universal Primer	201.25 µl
TOTAL	603.75 µl

1. Bir adet miScript Assay Plate'i (#1 assay plate ile #10 assay plate arasından herhangi biri) derin dondurucudan çıkarılır. Oda sıcaklığında 30 dakika kadar erimeye bırakılır. Temiz bir 96 lık plate e 1.75 µl her bir primerden pipetlenir.

2. Temiz bir 8 li strip tüp alıp (0.2 ml) her bir kuyucuğuna 72 µl yukarıdaki karışımdan pipetlenir. Daha sonra 8 kanallı pipet ile bu karışımdan 5.25 µl alarak plate içerisindeki primerlerin üzerine pipetlenir. Her pipetlemede 5-6 kez pipet ile karışım ve primerler homojen bir şekilde karıştırılır. Pipet ucunu atmadan aynı yerden 5.25 µl alarak dikkatlice Dynamic Array 96.96 da ASSAY şeklinde işaretli bölüme pipetlenir. Bu işleme tüm primerler bitene kadar devam edilir.
3. Daha sonra Dynamic Array IFC Controller a yerleştirilerek chip Load edilir.
4. Load işlemi bitiminde Dynamic Array BioMark System e yerleştirilerek aşağıdaki PCR protokolü çalıştırılır.

95°C	600 sn.
94°C	} 15 sn. 30 sn.30 döngü
55°C	
70°C	120 sn.

3.7. Sonuçların Analizi

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 19.0 paket programı kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümler ise ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde ortanca ve minimum - maksimum) olarak özetlendi. Gruplar arasında kategorik ölçümler Ki kare testi kullanılarak karşılaştırıldı. Gruplar arasında sayısal ölçümlerin karşılaştırılmasında varsayımların sağlanması durumunda bağımsız gruplarda T testi, varsayımların sağlanmaması durumunda ise Mann Whitney U testi kullanıldı. Tedavi anında ölçülen ve remisyon anında tekrar ölçülen ölçümlerdeki değişimi incelemeye varsayımların sağlanması durumunda bağımlı gruplarda T testi, varsayımların sağlanmaması durumunda Wilcoxon signed rank testi kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı.

4. BULGULAR

4.1. Çocuk Yeni Tanı Alan Hasta ve Sağlıklı Kontrol Gruplarında Genel Durum

Çalışmaya alınan lösemi tanısı almış 37 çocuk hasta grubu olarak ve bu çocuklara benzer yaş ve cinsiyette seçilen 47 sağlıklı çocuk kontrol grubu olarak alınmıştır. Hastaların yaş ortalaması $6,3\pm4,3$ yaş ve kontrol grubunun yaş ortalaması $6,3\pm3,1$ yaş olarak belirlenmiş ve istatistiksel olarak hasta ve kontrol gruplarının yaşları benzer bulunmuştur ($p=0,964$). Hasta grubuna 13 kız (%35) ve 24 erkek (%65) hasta alınırken, kontrol grubuna 24 kız (%51) ve 23 erkek (%49) kontrol alınmıştır. Hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet dağılımı istatistiksel olarak benzer bulunmuştur ($p=0,141$).

Tablo 20. Çocuk hasta ve kontrollerinin yaş ve cinsiyet dağılımları

Ölçümler	Gruplar		P
	Hasta	Kontrol	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
Cinsiyet			
Kız	13 (%35)	24 (%51)	0,144
Erkek	24 (%65)	23 (%49)	
Yaş (Yıl)	$6,3\pm4,3$ 5 (1,5-16)	$6,3\pm3,1$ 5 (2-14)	0,964

Çocukların laboratuvar sonuçları incelendiğinde tüm ölçümlerde hasta ve kontrol gruplarının ölçümleri arasında, beklendiği üzere, istatistiksel farklılıklar gözlenmiştir.

Tablo 21. Çocuk hasta ve kontrol gruplarının laboratuvar bulguları

Ölçümler	Gruplar		P
	Hasta	Kontrol	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
Hemoglobin	8,2±2,3 8 (3-13,2)	9,6±1,4 9,7 (7,2-12,5)	0,001
Hemotokrit	23,9±6,6 22 (11-41)	29,2±4,7 30 (21-38)	<0,001
Trombosit	123093,5±147127,6 59000 (7960-543000)	309617±89506,5 314000 (178000-482000)	<0,001
Beyaz küre	47574±99802,7 13700 (787-557600)	6675,1±2249,1 6200 (3540-12300)	0,006

Çalışmaya alınan çocuk hastaların 30'u (%81) ALL ve 7'si (%19) AML tanılı çocuklardır. ALL alt tipleri yönünden de 18 (%60) hasta L1, 8 (%27) hasta L2 ve 4 (%13) hasta L3 alt tipine sahiptir. Hastaların 22'si (%59) pre-B hücreli iken, 7'si (%19) T hücreli ve 8 (%22) hasta da miyeloblast hücre tiplidir.

Tablo 22. Çocuk hastaların FAB klasifikasyonu ve hücre tipleri

Ölçümler	Özet Ölçüt
FAB klasifikasyonu	
ALL	30 (%81)
AML	7 (%19)
FAB klasifikasyonu	
L1	18 (%60)
L2	8 (%27)
L3	4 (%13)
Hücre tipi	
T hücreli	7 (%19)
pre-B hücreli	22 (%59)
Miyeloblast	8 (%22)

Çocuk hastaların periferik yaymadaki blast yüzde ortalaması $64\pm33,1$ iken, kemik iliği aspirasyonundaki blast yüzde ortalaması $79,5\pm23,9$ ve 8. Gün periferik yayma ile bakılan blast yüzde ortalaması da $2109,4\pm3324$ olarak elde edilmiştir. 15. Gün kemik iliği yaymaları ile bakılan blast yüzdesi ise 16 hastada 0 olarak ve 12 hastada 1 olarak elde edilirken 33. Gün kemik iliği yaymasında remisyonda olmayan bir hasta olduğu görülmüştür.

Tablo 23. Çocuk hastaların farklı ortam ve zamanlarda ölçümü yapılan blast yüzde değerleri

Ölçümler	Özet Ölçüt
Periferik yaymadaki blast yüzdesi	$64\pm33,1$ 64 (4-100)
Kemik iliği aspirasyonundaki blast yüzdesi	$79,5\pm23,9$ 92 (25-99)
8.gün blast yüzdesi	$2109,4\pm3324$ 927 (16-16110)
15.gün blast yüzdesi remisyonda olan remisyonda olmayan	16 (%57) 12 (%43)
33.gün blast yüzdesi remisyonda olan remisyonda olmayan	27 (%96) 1 (%4)

Çalışmadaki çocuk hastalar üzerinde yapılan diğer bazı ölçümlerde aşağıdaki tabloda sunulmuştur. Hastaların boy ortalaması $111\pm29,2$ cm, vücut ağırlığı $22,9\pm17,4$ kg, karaciğer boyutu $3,2\pm2,8$ cm ve dalak boyutu $3,4\pm3,1$ cm olarak elde edilmiştir. Ayrıca hastalarda ölçülen LDH değeri ortalaması $761,8\pm533$ ve Ürik asit değeri ortalaması da $5,8\pm2,4$ olarak elde edilmiştir.

Tablo 24. Çocuk hastalarda ölçümü yapılan çeşitli ölçümler

Ölçümler	Özet Ölçüt
Boy (cm)	111±29,2 108 (62-177)
Kilo (Kg)	22,9±17,4 18 (4-79)
Karaciğer boyutu	3,2±2,8 3 (0-12)
Dalak boyutu	3,4±3,1 3 (0-12)
LDH	761,8±533 609 (210-2298)
Ürik asit	5,8±2,4 5,5 (2,5-12)

4.2. Çocuk Yeni Tanı Alan Hasta – Sağlıklı Kontrol Gruplarının Micro RNA Ölçümlerinin Karşılaştırılması

Çocuk hasta ve kontrol gruplarında ölçümü yapılan micro RNA ölçümlerinde ölçüm sonucu elde edilen çocuk sayısı 10'nun üzerinde olan micro RNA değerlerinin karşılaştırması ile ilgili sonuçlar aşağıdaki tablolarda sunulmuştur.

Tablo 25. Çocuklarda yeni tanı alan hasta –sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 1

Ölçümler	Gruplar		P
	Hasta	Kontrol	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR7693p	28,7±2,5 28,5 (25,8-33,5)	30,9±4,2 29,7 (23,8-38,3)	0,133
miR19b	24,1±4,4 24,5 (16,5-30,9)	23,1±5,6 21,6 (16,4-38,4)	0,495
miR20a	29,9±5,2 29 (22,6-35)	20,7±4,4 20,5 (14,7-38,4)	<0,001
miR29c	31,5±6,5 27,4 (26,3-39)	26,8±3,9 26,7 (21,2-36,1)	0,185
miR20b	28,8±4,4 27,6 (24,8-34,9)	35,8±4,1 37,9 (24,9-38,9)	0,002
miR194	26,5±6 25 (20-34,5)	26,6±5,3 26 (19-38,8)	0,958

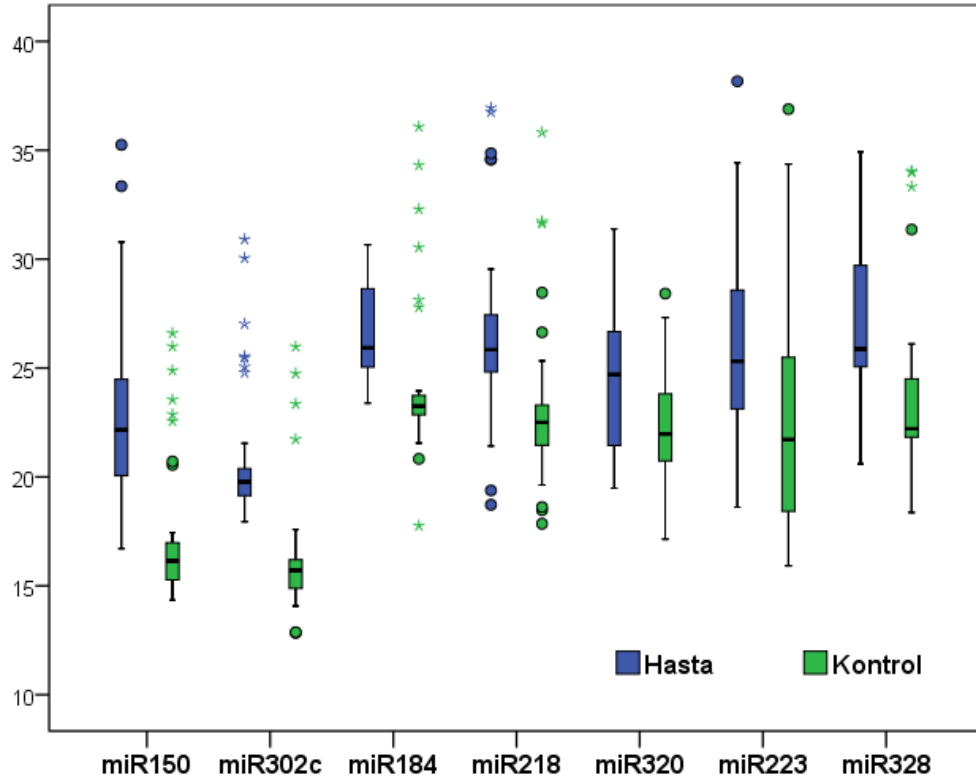
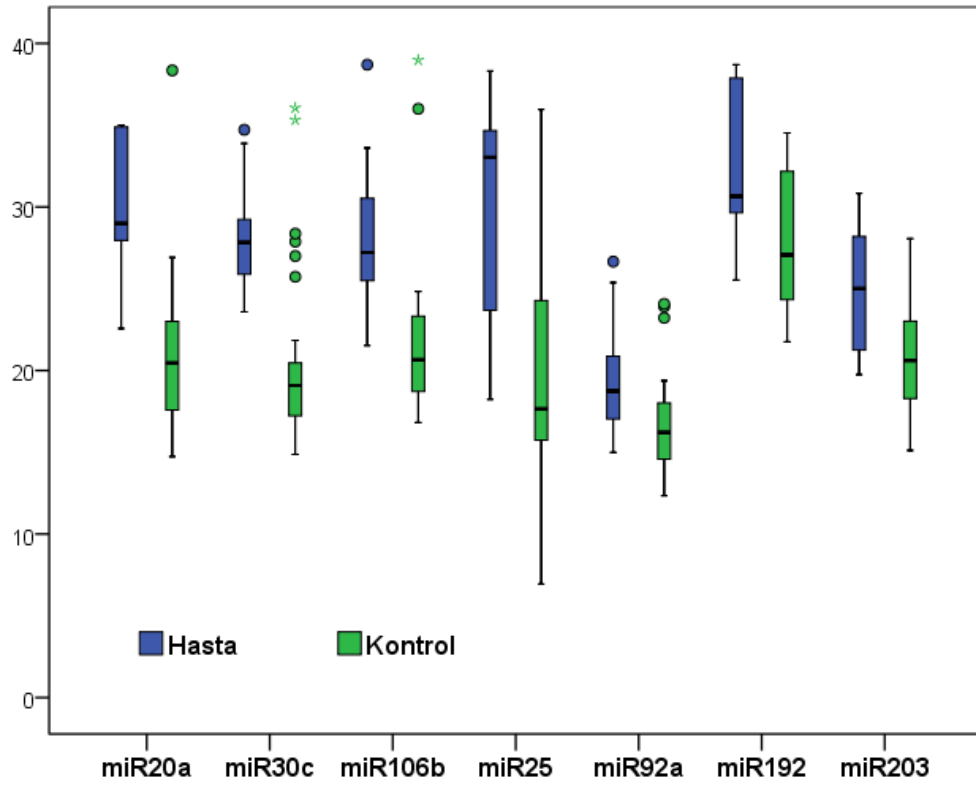
Tablo 26. Çocuklarda yeni tanı alan hasta– sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 2

Ölçümler	Gruplar		P
	Hasta	Kontrol	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR24	21,1±2,4 20,6 (17,7-25,4)	20,2±2,6 20,2 (16-25,1)	0,235
miR34a	20,5±7,3 17 (13-36,1)	24,2±9 22,6 (13,9-38,6)	0,307
miR25	29,3±6,4 33 (18,2-38,3)	19,2±5,4 17,7 (7-36)	<0,001
miR146b	25,9±1,5 26,2 (23,7-27,9)	23,9±2,1 24,3 (20,9-27,3)	0,055
U6snRNA	25,9±1,7 25,9 (22,2-29,5)	26,9±5 24,9 (20,6-38,9)	0,293
miR92a	19,7±3,6 18,7 (15-26,7)	16,5±2,8 16,2 (12,3-24,1)	0,002
miR16	27,3±3,7 27,2 (20,2-34,5)	25,1±4,2 24,5 (19,6-38,4)	0,068
miR27b	33±2,7 33,6 (27,8-35,7)	27,9±8,8 25,8 (18,1-38,8)	0,076
miR126	25,3±1,5 25,2 (22-28,6)	25±2,7 25,1 (19,7-30)	0,599
miR17	24,4±4,3 23 (20,7-32,8)	23,7±2,5 24,6 (20,2-26,8)	0,75
miR21	28,1±2,7 27,2 (25,5-33,1)	33±7,1 38,3 (22,6-38,8)	0,122
miR30c	28±2,6 27,8 (23,6-34,7)	20,1±4,7 19,1 (14,9-36,1)	<0,001
miR106b	27,8±3,8 27,2 (21,5-38,7)	21,5±4,3 20,7 (16,8-39)	<0,001
miR146a	24±3,2 23,4 (19,7-31,9)	24,6±1,9 24,5 (21-28,2)	0,551

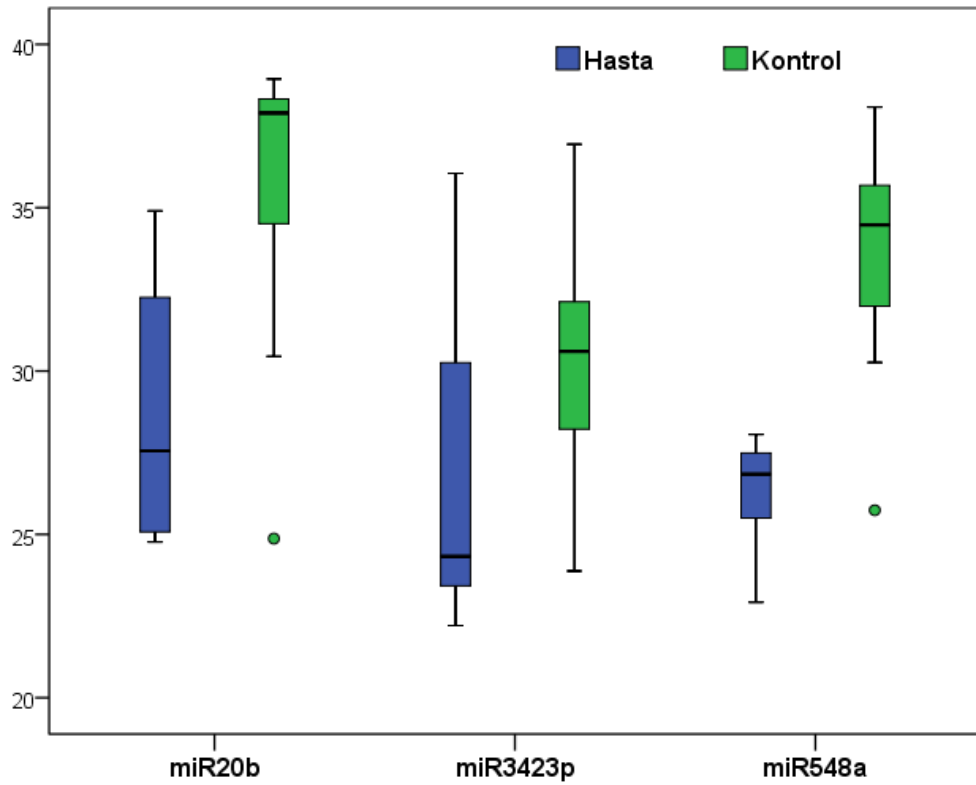
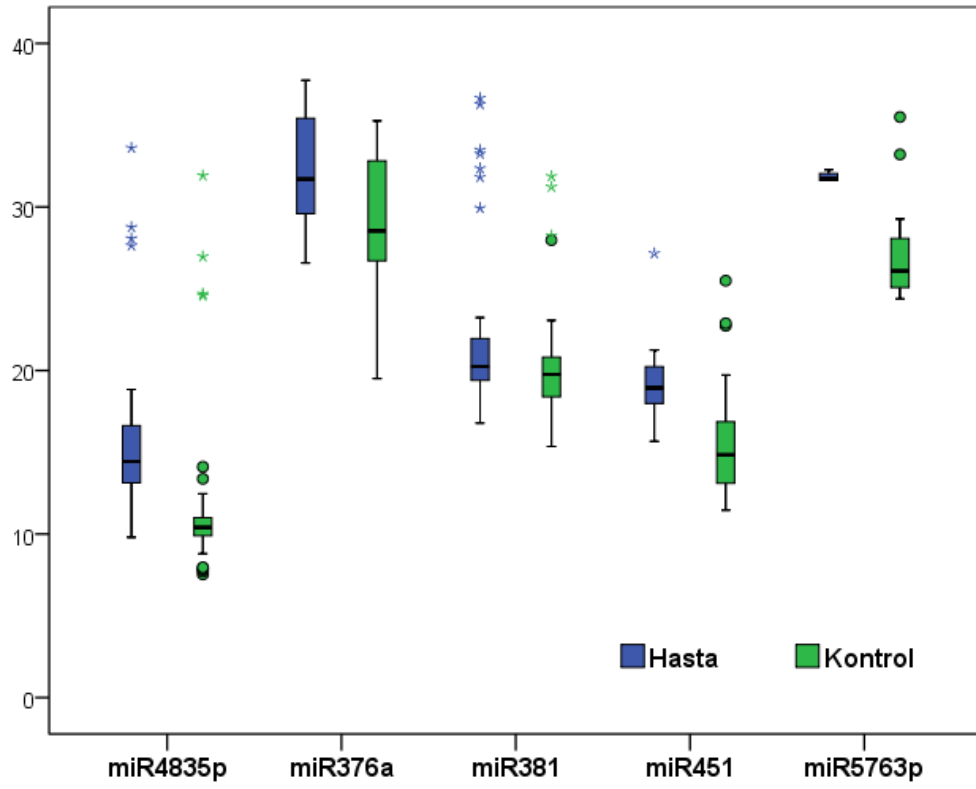
Micro RNA değerleri yönünden istatistiksel farklılık saptanan ölçümlerin çoğunda hasta grubunun daha yüksek micro RNA değeri varken, miR20b, miR3423p ve miR548a ölçümlerinde kontrol grubunun ölçümleri hasta grubunun ölçümlerinden yüksek bulunmuştur.

Tablo 27. Çocuklarda yeni tanı alan hasta – sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 3

Ölçümler	Gruplar		P
	Hasta	Kontrol	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR192	32,8±5,3 30,6 (25,5-38,7)	27,7±4,3 27,1 (21,8-34,5)	0,018
miR203	25±3,8 25 (19,8-30,8)	20,9±4 20,6 (15,1-28,1)	0,043
miR150	22,8±4,7 22,2 (16,7-35,2)	17,2±3,2 16,1 (14,4-26,6)	<0,001
miR302c	21±3,3 19,8 (17,9-30,9)	16,2±2,8 15,7 (12,8-26)	<0,001
miR184	26,6±2,2 25,9 (23,4-30,7)	24,2±3,6 23,2 (17,8-36,1)	<0,001
miR218	26,7±4,5 25,8 (18,7-37)	23±3,4 22,5 (17,8-35,8)	<0,001
miR320	24,6±3,6 24,7 (19,5-31,4)	22,4±2,6 22 (17,1-28,4)	0,013
miR3423p	26,7±4,4 24,3 (22,2-36)	30,7±3,2 30,6 (23,9-36,9)	0,012
miR223	26,2±5,1 25,3 (18,6-38,2)	22,5±5 21,7 (15,9-36,9)	0,006
miR191	26,8±2 26,7 (24,2-30,3)	27,3±4,8 25,7 (20,6-36,5)	0,692
miR328	27,3±3,7 25,9 (20,6-34,9)	24,2±4,8 22,2 (18,4-34)	0,003
miR4835p	15,9±5,2 14,4 (9,8-33,6)	11,9±5,2 10,4 (7,5-31,9)	0,001
miR484	25,3±4,1 25,6 (19,1-31)	23,7±2,7 23,8 (18,5-29,9)	0,219
miR376a	32,4±3,8 31,7 (26,6-37,7)	28,6±4,6 28,5 (19,5-35,3)	0,03
miR381	22,6±5,7 20,2 (16,8-36,7)	20,3±3,5 19,8 (15,4-31,9)	0,050
miR451	19,4±3,4 18,9 (15,7-27,2)	15,6±3,3 14,8 (11,5-25,5)	0,004
miR5763p	31,8±0,3 31,7 (31,6-32,3)	26,9±2,7 26,1 (24,4-35,5)	0,001
miR548a	26,3±1,9 26,8 (22,9-28,1)	33,5±3,3 34,5 (25,7-38,1)	<0,001



Şekil 7. Çocuklarda yeni tanı alan hasta – sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 1



Şekil 8. Çocuklarda yeni tanı alan hasta - sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 2

4.3. Çocuk Hasta Remisyon – Sağlıklı Kontrol Gruplarının Micro RNA Ölçümlerinin Karşılaştırılması

Çocuklarda tedavi sırasındaki ölçümlerine benzer olarak hastaların remisyon anındaki ölçümleri ile kontrol grubunda, ölçümü yapılan micro RNA ölçümlerinde ölçüm sonucu elde edilen çocuk sayısı 10'nun üzerinde olan micro RNA değerlerinin karşılaştırması ile ilgili sonuçlar aşağıdaki tablolarda sunulmuştur. Tedavi sırasındaki yapılan ölçümlerdeki karşılaştırmalardan farklı olarak daha az micro RNA değerinde iki grup arasında istatistiksel olarak önemli farklılık bulunmuştur.

Tablo 28. Çocuklarda hasta remisyon – sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 1

Ölçümler	Gruplar		P
	Remisyon	Kontrol	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR7693p	35,2±4,5 37,8 (27,4-38,5)	30,9±4,2 29,7 (23,8-38,3)	0,038
miR19b	29,9±8,1 28,1 (22,9-38,7)	23,1±5,6 21,6 (16,4-38,4)	0,055
miR20a	29,7±7,3 27,1 (19,4-38,9)	20,7±4,4 20,5 (14,7-38,4)	0,001
miR29c	29,3±3,6 28,6 (26,5-38,8)	26,8±3,9 26,7 (21,2-36,1)	0,069
miR20b	33,8±7,2 33,8 (28,7-38,9)	35,8±4,1 37,9 (24,9-38,9)	0,56
miR194	26,4±1,4 26,6 (24-28,5)	26,6±5,3 26 (19-38,8)	0,781
miR21	36,2±3,2 37,1 (31,8-38,9)	33±7,1 38,3 (22,6-38,8)	0,332
miR30c	20,2±2,5 19,4 (18-26,5)	20,1±4,7 19,1 (14,9-36,1)	0,347
miR106b	23,5±2,7 23,2 (20,1-29,4)	21,5±4,3 20,7 (16,8-39)	0,127
miR146a	29,2±4,1 28,4 (25,7-34,1)	24,6±1,9 24,5 (21-28,2)	0,107
miR24	22,1±2,4 21,4 (20,1-25,5)	20,2±2,6 20,2 (16-25,1)	0,183
miR34a	27,5±12,2 28,2 (14,9-38,7)	24,2±9 22,6 (13,9-38,6)	0,601
miR25	21,8±7,1 21,2 (5,8-37)	19,2±5,4 17,7 (7-36)	0,173
miR146b	16,4±13,7 16,4 (6,7-26,1)	23,9±2,1 24,3 (20,9-27,3)	0,583

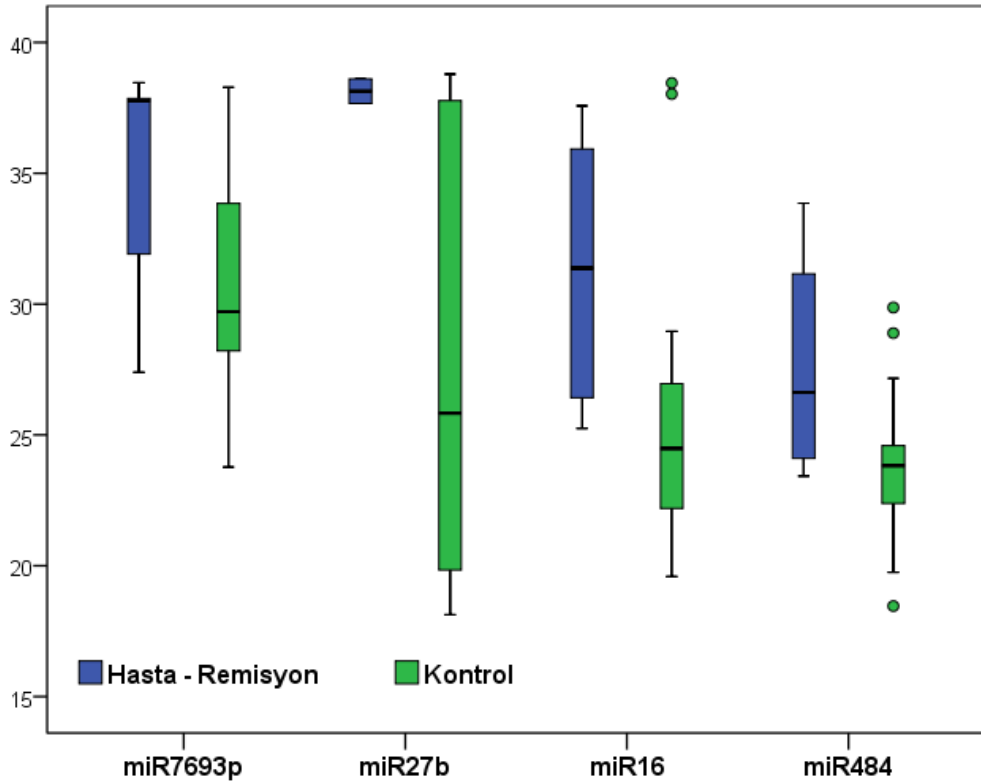
Tablo 29. Çocuklarda hasta remisyon – sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 2

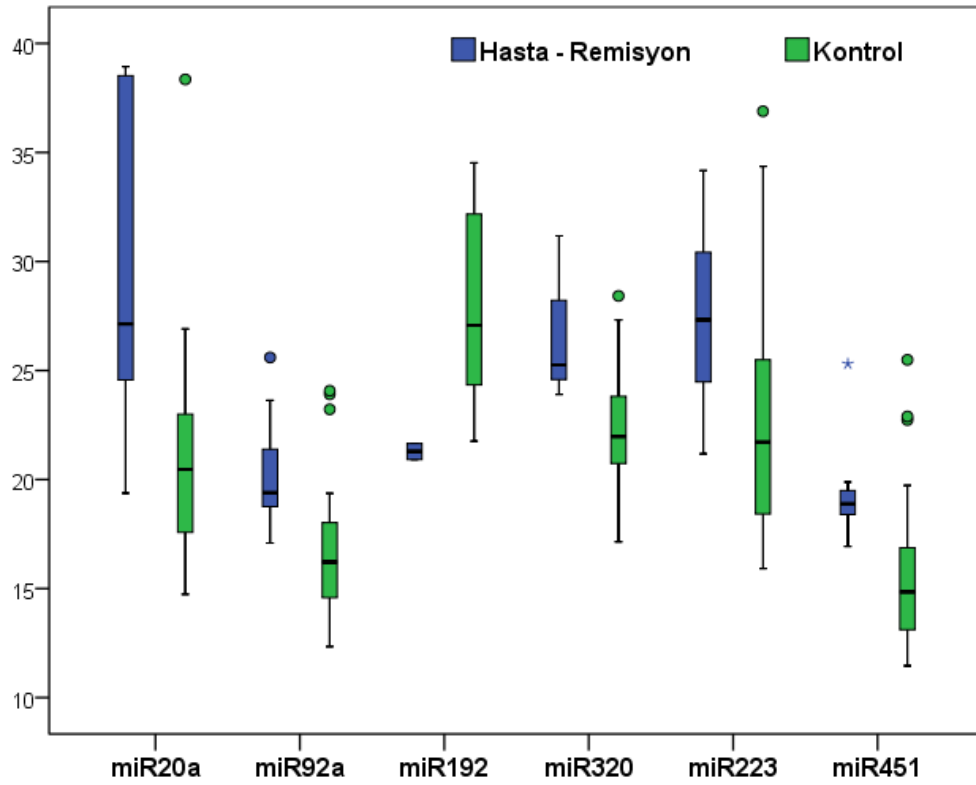
Ölçümler	Gruplar		P
	Remisyon	Kontrol	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
U6snRNA	27,2±5,9 25,3 (20,9-38,9)	26,9±5 24,9 (20,6-38,9)	0,810
miR92a	20,3±2,6 19,4 (17,1-25,6)	16,5±2,8 16,2 (12,3-24,1)	<0,001
miR16	31,3±4,9 31,4 (25,2-37,6)	25,1±4,2 24,5 (19,6-38,4)	<0,001
miR27b	38,1±0,7 38,1 (37,7-38,6)	27,9±8,8 25,8 (18,1-38,8)	0,001
miR126	25,3±2,4 25,2 (22,8-28,1)	25±2,7 25,1 (19,7-30)	0,792
miR192	21,3±0,5 21,3 (20,9-21,7)	27,7±4,3 27,1 (21,8-34,5)	<0,001
miR302c	17±5,6 15,5 (14,1-34,6)	16,2±2,8 15,7 (12,8-26)	0,832
miR184	22,7±0,5 22,8 (22,1-23,4)	24,2±3,6 23,2 (17,8-36,1)	0,060
miR218	23±3,9 22,1 (18,2-34,9)	23±3,4 22,5 (17,8-35,8)	0,581
miR320	26,8±3,9 25,3 (23,9-31,2)	22,4±2,6 22 (17,1-28,4)	0,01
miR3423p	31,6±3 31,7 (27,2-34,8)	30,7±3,2 30,6 (23,9-36,9)	0,531

Tedavi sırasındaki elde edilen ölçümlerden farklı olarak miR7693p, miR16, miR27b ve miR484 micro RNA ölçümleri hasta grubunun remisyon anındaki ölçümlerinde kontrol grubundan yüksek bulunmuştur. Ayrıca tedavi sırasında elde edilen ölçümlere benzer olarak, miR20a, miR92a, miR192, miR320, miR223 ve miR451 micro RNA ölçümleri remisyon anında da hasta grubunda kontrol grubundan hala yüksek olduğu saptanmıştır.

Tablo 30. Çocuklarda hasta remisyon – sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 3

Ölçümler	Gruplar		P
	Remisyon	Kontrol	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR223	27,4±4 27,3 (21,2-34,2)	22,5±5 21,7 (15,9-36,9)	0,003
miR191	22,5±5,7 22,5 (18,5-26,6)	27,3±4,8 25,7 (20,6-36,5)	0,193
miR328	24,9±2,9 24,1 (23-30)	24,2±4,8 22,2 (18,4-34)	0,083
miR4835p	11,5±6 9,6 (7,8-30,2)	11,9±5,2 10,4 (7,5-31,9)	0,061
miR484	27,6±4,7 26,6 (23,4-33,9)	23,7±2,7 23,8 (18,5-29,9)	0,025
miR376a	31,1±4,5 31,8 (23,6-38,4)	28,6±4,6 28,5 (19,5-35,3)	0,111
miR381	20,9±3,7 20 (18-32,9)	20,3±3,5 19,8 (15,4-31,9)	0,281
miR451	19,5±2,5 18,9 (16,9-25,3)	15,6±3,3 14,8 (11,5-25,5)	0,004

**Şekil 9. Çocuklarda hasta remisyon – sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 1**



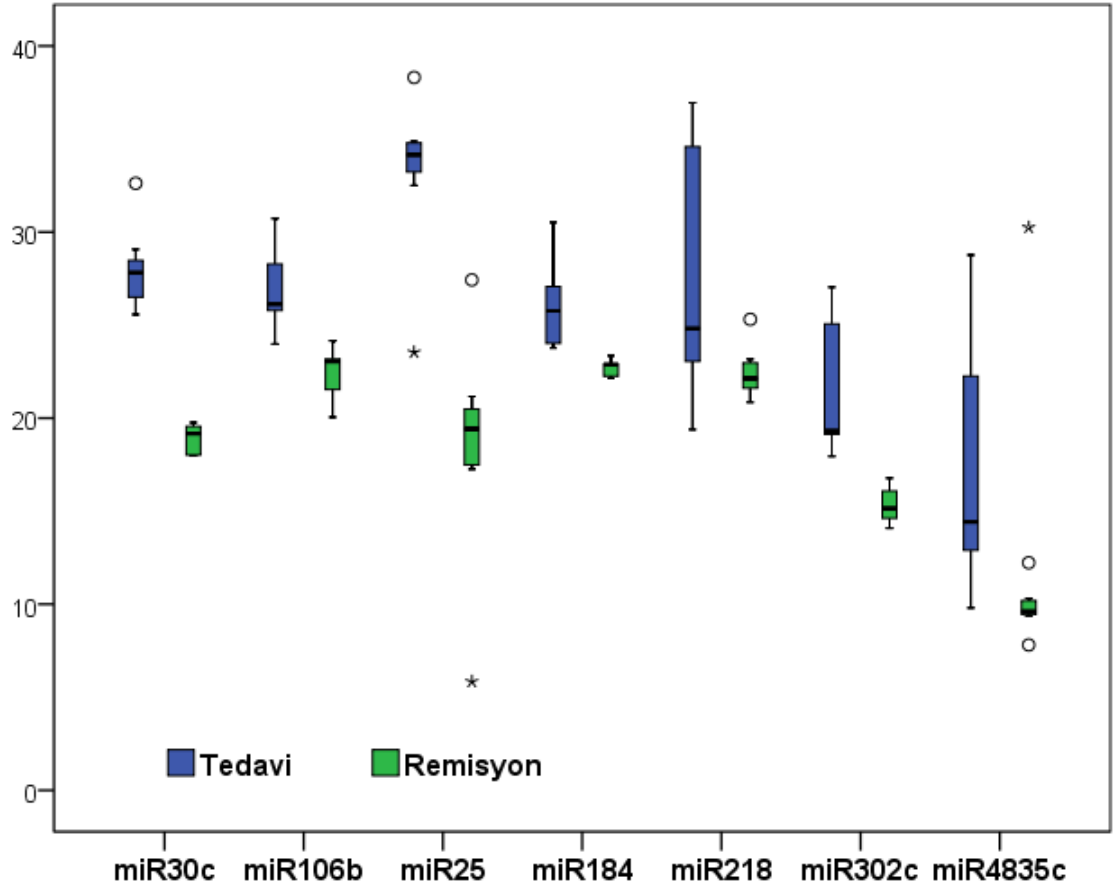
Şekil 10. Çocuklarda hasta remisyon – sağlıklı kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 2

4.4. Çocuk Hastaların Yeni Tanı ve Remisyon Anındaki Micro RNA Ölçümlerinin Karşılaştırılması

Çocuk hastaların tanı sırasındaki ve remisyon anındaki ölçümleri karşılaştırılmak istendiğinde, ölçümü yapılan micro RNA ölçümlerinde ölçüm sonucu elde edilen çocuk sayısı 5'in üzerinde olan micro RNA değerlerinin karşılaştırması ile ilgili sonuçlar aşağıdaki tabloda sunulmuştur. Bu ölçümlerin hepsinde remisyon anında tanı sırasındaki ölçüme göre düşüş görülmüştür. Bu düşüşlerden istatistiksel olarak anlamlı olan ölçümler aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 16. Çocuk hastalarda yeni tanı - remisyon anlarındaki micro RNA karşılaştırmaları

Ölçümler	N	Gruplar		P
		Hasta	Remisyon	
		Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR30c	9	28,7±3,1 27,8 (25,6-34,7)	19,7±26 19,4 (18-26,5)	<0,001
miR106b	7	27±2,6 26,1 (24-30,7)	22,4±1,4 23,1 (20,1-24,2)	0,007
miR25	7	33,2±4,6 34,2 (23,5-38,3)	18,4±6,5 19,4 (5,8-27,4)	0,003
U6snRNA	7	26,3±2,3 26,3 (22,2-29,5)	28,7±7,5 27,3 (20,9-38,9)	0,457
miR184	5	26,2±2,8 25,8 (23,8-30,5)	22,7±0,5 22,9 (22,1-23,4)	0,045
miR218	10	27±6,2 24,8 (19,4-37)	22,4±1,3 22,1 (20,8-25,3)	0,022
miR223	5	29,4±6,6 28,7 (21,9-38,2)	27,9±2,8 27,2 (24,9-32,2)	0,628
miR212	6	31±4,3 30,7 (26,6-38,1)	28,2±4,1 29,6 (23-32,6)	0,217
miR302c	10	21,1±3,4 19,3 (17,9-27)	15,3±0,9 15,1 (14,1-16,8)	0,005
miR4835p	12	17,2±7 14,4 (9,8-28,8)	11,5±6 9,6 (7,8-30,3)	0,028
miR381	13	25,8±7,9 22 (16,8-36,7)	20,9±3,7 20,1 (18-32,9)	0,064



Şekil 11. Çocuk hastalarda yeni tanı - remisyon anlarındaki micro RNA karşılaştırmaları

4.5. Çocuk Hastalarda Lösemi Tipine Göre Yapılan Karşılaştırmalar

Çocuk hastalarda lösemi tipi ALL olan 30 çocuk ile lösemi tipi AML olan 7 çocuktan elde edilen ölçümlerden hareketle yapılan karşılaştırmalar aşağıdaki tablolarda sunulmuştur. Yapılan karşılaştırmalarda sadece kemik iliği aspirasyonundaki blast yüzdesi değeri AML grubunda ALL grubuna göre daha düşük çıkmıştır.

Tablo 32. Çocuk hastalarda lösemi tipine göre genel özelliklerin karşılaştırılması

Ölçümler	FAB klasifikasyonu		P
	ALL	AML	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
Yaş (Yıl)	5,8±3,5 5 (1,5-16)	8,4±6,5 10 (1,5-16)	0,582
Cinsiyet			
Kız	10 (%33)	3 (%43)	0,635
Erkek	20 (%67)	4 (%57)	
Boy (cm)	108,1±24,2 107 (62-173)	123,1±45,6 130 (62-177)	0,226
Kilo (Kg)	20,5±13 17,5 (7,6-79)	33,3±29,1 26,2 (4-77)	0,556
Hemoglobin	8,1±2,3 7,6 (3-13)	8,8±2,5 8 (6,4-13,2)	0,471
Hemotokrit	23,5±6,6 22 (11-41)	25,6±6,5 25 (18-35)	0,45
Trombosit	132155,3±159622,2 52000 (7960-543000)	84257,1±67521,3 73000 (15000-219000)	0,955
Beyaz küre	51507,9±109626,5 16405 (787-557600)	30714,3±35604,5 9940 (6620-104000)	0,865
Periferik yaymadaki blast yüzdesi	64,7±34,8 70 (4-100)	61,1±27 60 (20-98)	0,582
Kemik iliği aspirasyonundaki blast yüzdesi	83,8±20,3 94 (30-99)	61,3±30,9 50 (25-95)	0,040
Karaciğer boyutu	3,5±2,8 3 (0-12)	1,9±2,4 1 (0-7)	0,100
Dalak boyutu	3,7±2,8 3,5 (0-10)	2,1±4,5 0 (0-12)	0,071
8.gün yaymadaki blast yüzdesi	2109,4±3324 927 (16-16110)	0±0 0 (0-0)	UD*
LDH	752,8±482,2 678,5 (211-2298)	800,4±760,6 410 (210-2248)	0,531
Ürik asit	5,9±2,7 5,8 (2,5-12)	5,5±0,9 5 (4,4-7)	0,705

* UD: Uygun Değil

Lösemi tipine göre ALL ve AML olarak sınıflandırılan çocuk hastalarda tedavi sırasında ve remisyon anında elde edilen micro RNA ölçümlerinden, ölçüm değeri elde edilen hasta sayısı 5 ve üzerinde olan micro RNA ölçümü sadece tedavi sırasındaki ölçümlerde elde edilmiştir. Remisyon anındaki ölçümlerde, micro RNA değeri olan hasta sayısı 5 ve üzeri olan hiçbir ölçüme rastlanmamıştır. Tedavi sırasında elde edilen

ölçümlerden de iki lösemi tipi arasında micro RNA değeri yönünden bir istatistiksel farklılık saptanamamıştır.

Tablo 33. Çocuk hastalarda lösemi tipine göre tanı sırasında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

Ölçümler	FAB klasifikasyonu		P
	ALL	AML	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR30c	28,1±2,8 27,8 (23,6-34,7)	27,8±2 27,9 (25,6-31,2)	0,819
U6snRNA	25,9±1,9 26 (22,2-29,5)	25,9±1,3 25,4 (24,5-27,4)	0,981
miR150	22,3±4,4 22 (16,7-33,4)	25,1±6 23,4 (20,2-35,2)	0,246
miR363	25,8±4,1 25,1 (19,3-35,5)	27,9±6,7 24,7 (21,9-38,3)	0,473
miR302a	26±4,3 25,1 (18,4-37,8)	27,4±5,5 28 (19,9-34,6)	0,508
miR302c	20,7±2,9 19,8 (17,9-30)	21,9±4,6 19,5 (19,1-30,9)	0,416
miR184	26,4±1,8 25,9 (23,7-29,6)	27,9±3,4 29,4 (23,4-30,7)	0,336
miR218	26,5±4,7 25,9 (18,7-37)	27,6±3,8 25,8 (24,7-34,6)	0,613
miR328	27±3,6 25,9 (20,6-34,9)	28,7±4,3 27,4 (24,1-34,1)	0,34
miR4835p	15,8±5,3 14,5 (9,8-33,6)	16,4±5,2 14,4 (12,8-27,6)	0,81
miR381	22,4±5,7 20,2 (16,8-36,7)	23,1±6,5 20,5 (19,7-36,3)	0,802

4.6. Çocuk Hastalarda Hücre Tipine Göre Yapılan Karşılaştırmalar

Çocuk hastalarda hücre tipi T-hücreli olan 7 çocuk, pre-B hücreli olan 22 çocuk ve miyeloblast olan 8 çocukta elde edilen ölçümlerden hareketle yapılan karşılaştırmalar aşağıdaki tablolarda sunulmuştur.

Tablo 34. Çocuk hastalarda hücre tipine göre genel özelliklerin karşılaştırılması

Ölçümler	Hücre tipi			P
	T hücreli	pre-B hücreli	Miyeloblast	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
Yaş (Yıl)	5±2,1 5 (2-8)	5,9±3,9 5,1 (1,5-16)	8,5±6 9,6 (1,5-16)	0,643
Cinsiyet				
Kız	2 (%29)	8 (%36)	3 (%38)	0,92
Erkek	5 (%71)	14 (%64)	5 (%62)	
Boy (cm)	108,1±14,5 105 (88-129)	107,2±27 107 (62-173)	123,8±42,2 129 (62-177)	0,386
Kilo (Kg)	17,2±5,2 15 (10-24)	21,4±14,9 17,5 (7,6-79)	32,2±27,1 25,1 (4-77)	0,640
Hemoglobin	10,6±1,9 11 (8,2-13)	7,3±1,8 7 (3-12)	8,5±2,5 7,5 (6,4-13,2)	0,002
Hemotokrit	30,3±6,9 30 (22-41)	21,5±5,2 21 (11-38)	24,8±6,5 23 (18-35)	0,005
Trombosit	284000±233030 205000 (37000-543000)	87620,9±97866,6 47050 (7960-392000)	79850±63743,3 66000 (15000-219000)	0,053
Beyaz küre	150510±201003,6 53600 (7070-557600)	22076,7±27917,6 11300 (787-110600)	27622,5±34103,6 9700 (5980-104000)	0,060
Periferik yaymadaki blast yüzdesi	68,9±44,3 100 (4-100)	64,6±32,6 65 (8-100)	58±26,5 58 (20-98)	0,444
Kemik iliği aspirasyonundaki blast yüzdesi	74,6±27,7 90 (30-99)	89±13,2 94,5 (60-99)	57,9±30,2 45 (25-95)	0,023
Karaciğer boyutu	3,6±2,1 4 (0-7)	3,5±3,1 3 (0-12)	1,9±2,2 1,5 (0-7)	0,198
Dalak boyutu	3,9±2,5 5 (0-7)	3,7±2,9 3,5 (0-10)	2,1±4,2 0 (0-12)	0,155
8.gün blast yüzdesi	4090±5523,3 1332 (850-16110)	1449,2±1983,3 740 (16-9216)	0±0 0 (0-0)	0,030
LDH	892,4±701,9 760 (228-2298)	718±412,8 678,5 (211-1640)	767,9±710,1 475 (210-2248)	0,677
Ürik asit	6,3±3,2 6 (3-12)	5,9±2,5 5,8 (3-12)	5,1±1,3 5 (2,5-7)	0,635

Yapılan karşılaştırmalarda hücre tipi T hücreli olan çocuklarda hemoglobin, hemotokrit ve 8. Gün blast yüzdesi değerleri hücre tipi pre-B hücreli olan çocukların değerlerinden yüksek çıkmıştır. Ayrıca hücre tipi pre-B hücreli olan çocukların kemik iliği aspirasyonundaki blast yüzdesi değeri hücre tipi miyeloblast olan çocukların değerinden yüksek çıkmıştır.

Hücre tipine göre sınıflandırılan çocuk hastalarda tanı sırasında ve remisyon anında elde edilen micro RNA ölçümlerinden, ölçüm değeri elde edilen hasta sayısı 5 ve üzerinde olan micro RNA ölçümü sadece tanı sırasındaki ölçümlerde elde edilmiştir. Tanı sırasında elde edilen ölçümlerden de hücre tipleri arasında micro RNA değeri yönünden bir istatistiksel farklılık saptanamamıştır.

Tablo 35. Çocuk hastalarda hücre tipine göre tanı sırasında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

Ölçümler	Hücre tipi			P
	T hücreli	pre-B hücreli	Miyeloblast	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR30c	27,8±3,2 27,4 (24,2-32,6)	28,1±2,8 27,8 (23,6-34,7)	27,8±2 27,9 (25,6-31,2)	0.957
miR363	25,1±5,2 25,1 (19,3-33,4)	25,9±3,9 25,2 (19,7-35,5)	27,9±6,7 24,7 (21,9-38,3)	0.561
miR302a	23,7±2,2 25 (20,2-25,5)	26,7±4,6 25,3 (18,4-37,8)	27,4±5,5 28 (19,9-34,6)	0.362
miR302c	21,2±3,2 20,1 (17,9-25,5)	20,3±2,6 19,7 (18,1-30)	22,5±4,6 19,7 (19,1-30,9)	0.266
miR184	26,3±2,4 25 (23,7-29,5)	26,4±1,7 25,9 (24-29,6)	27,9±3,4 29,4 (23,4-30,7)	0.331
miR218	26,5±6,1 24,6 (21,4-37)	26,6±4,5 25,9 (18,7-36,8)	27,6±3,8 25,8 (24,7-34,6)	0.881
miR4835p	18,3±9,1 15,1 (9,8-33,6)	14,5±2,1 14,4 (10-18,8)	17,8±6,4 15,5 (12,8-28,1)	0.122
miR381	25,7±8,2 23,2 (16,8-36,7)	20,8±3,6 20 (16,8-31,8)	24,6±7,1 21,1 (19,7-36,3)	0.085
miR208	19±4,8 16 (14,8-24,3)	15,9±1 15,6 (14,6-17,5)	17,7±4,9 15,3 (13,6-23,7)	0.170

4.7. Çocuk Hastalarda Cinsiyete Göre Yapılan Karşılaştırmalar

Çocuk hastalarda cinsiyeti kız olan 13 çocuk ve erkek olan 24 çocuktan elde edilen ölçümlerden hareketle yapılan karşılaştırmalar aşağıdaki tablolarda sunulmuştur.

Tablo 36. Çocuk hastalarda cinsiyete göre genel özelliklerin karşılaştırılması

Ölçümler	Cinsiyet		P
	Kız	Erkek	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
Yaş (Yıl)	5,8±4,4 4 (1,5-16)	6,5±4,2 5,1 (1,5-16)	0,633
Boy (cm)	108,2±28,6 106 (62-169)	112,5±30 109 (62-177)	0,672
Kilo (Kg)	21,7±16,7 16,8 (4-70)	23,6±18,1 19 (7,6-79)	0,718
Hemoglobin	8±1,9 8 (5,4-12)	8,3±2,5 7,5 (3-13,2)	0,765
Hemotokrit	24,7±6,4 22 (17-41)	23,4±6,7 21,5 (11-38)	0,558
Trombosit	140646,2±178544,7 49000 (17000-537000)	113585,8±130310,9 72600 (7960-543000)	0,600
Beyaz küre	17850,5±22603,9 9460 (787-81600)	63674,2±120640,2 24000 (1100-557600)	0,083
Periferik yaymadaki blast yüzdesi	41,7±28,9 50 (4-100)	76,1±29,2 90 (8-100)	0,002
Kemik iliği aspirasyonundaki blast yüzdesi	77,7±27 94 (30-99)	80,5±22,6 90 (25-99)	0,838
Karaciğer boyutu	2,6±3,3 2 (0-12)	3,5±2,5 3,5 (0-8)	0,362
Dalak boyutu	2,1±2,9 2 (0-10)	4,1±3,1 4,5 (0-12)	0,057
8.gün blast yüzdesi	815,3±613,8 665 (248-2300)	2828,3±3977 1086 (16-16110)	0,049
LDH	543,8±304,2 413 (211-1210)	879,9±595,8 698,5 (210-2298)	0,029
Ürik asit	4,8±1,8 4 (3-9)	6,4±2,6 6 (2,5-12)	0,056

Yapılan karşılaştırmalar sonucunda erkek çocuk hastaların periferik yaymadaki blast yüzdesi, 8. Gün blast yüzdesi ve LDH değerleri kız çocuk hastaların değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek bulunmuştur.

Tablo 37. Çocuk hastalarda cinsiyete göre tanı sırasında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması – 1

Ölçümler	Cinsiyet		P
	Kız	Erkek	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR30c	26,6±1,4 27,1 (24,4-28,5)	28,7±2,9 27,9 (23,6-34,7)	0,033
miR106b	28,7±4,8 29,1 (22,4-38,7)	27,3±3 26,8 (21,5-33,6)	0,368
miR146a	23,4±3,7 22,1 (19,7-29)	24,3±3,1 23,5 (20,7-31,9)	0,598
miR24	21,7±2,8 22 (17,7-24,7)	20,9±2,3 20 (18,2-25,4)	0,519
miR34a	19,7±7,1 17 (13-33,6)	21,2±8 16,6 (15,2-36,1)	0,711
miR25	30,4±5,3 33,2 (23,5-34,6)	28,8±7 29,6 (18,2-38,3)	0,625
U6snRNA	26±1,1 25,9 (24,5-27,2)	25,9±1,9 26 (22,2-29,5)	0,893
miR92a	19,9±3,7 19,4 (16,2-26,7)	19,5±3,7 18,6 (15-25,4)	0,847
miR16	27,6±3,8 26,7 (22,5-34,5)	27,1±3,8 27,9 (20,2-31,2)	0,798
miR126	25,7±2,4 25,8 (22-28,6)	25±0,3 25 (24,6-25,4)	0,540
miR203	24,7±2,5 25 (21,2-28,2)	25,2±5,2 25 (19,8-30,8)	0,843
miR150	23,9±5,4 22,9 (16,7-35,2)	22,2±4,3 21,7 (16,9-33,4)	0,371
miR363	26,8±5,6 25,1 (19,3-38,3)	25,8±4,1 25,2 (19,7-35,5)	0,571
miR367_A	32,2±4,4 32 (25,8-38,2)	31,1±3,6 30 (25,9-38,9)	0,481
miR302a	26,7±5,3 27,2 (18,4-34,6)	26,2±4,2 25,2 (19,9-37,8)	0,785
miR302c	19,8±2 19,4 (17,9-25,5)	21,6±3,7 19,8 (18,1-30,9)	0,070
miR184	26,1±2,2 25,9 (23,4-30,7)	26,9±2,2 26 (23,8-30,5)	0,346

Tanı sırasında ve remisyon anında yapılan ölçümler sonucunda, yeterli sayıda ölçümü sahip olan micro RNA ölçümlerinin cinsiyete göre karşılaştırılması ile tanı sırasında ölçülen miR30c ölçümünün erkek hastalarda kız hastalara göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

Tablo 38. Çocuk hastalarda cinsiyete göre tanı sırasında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması – 2

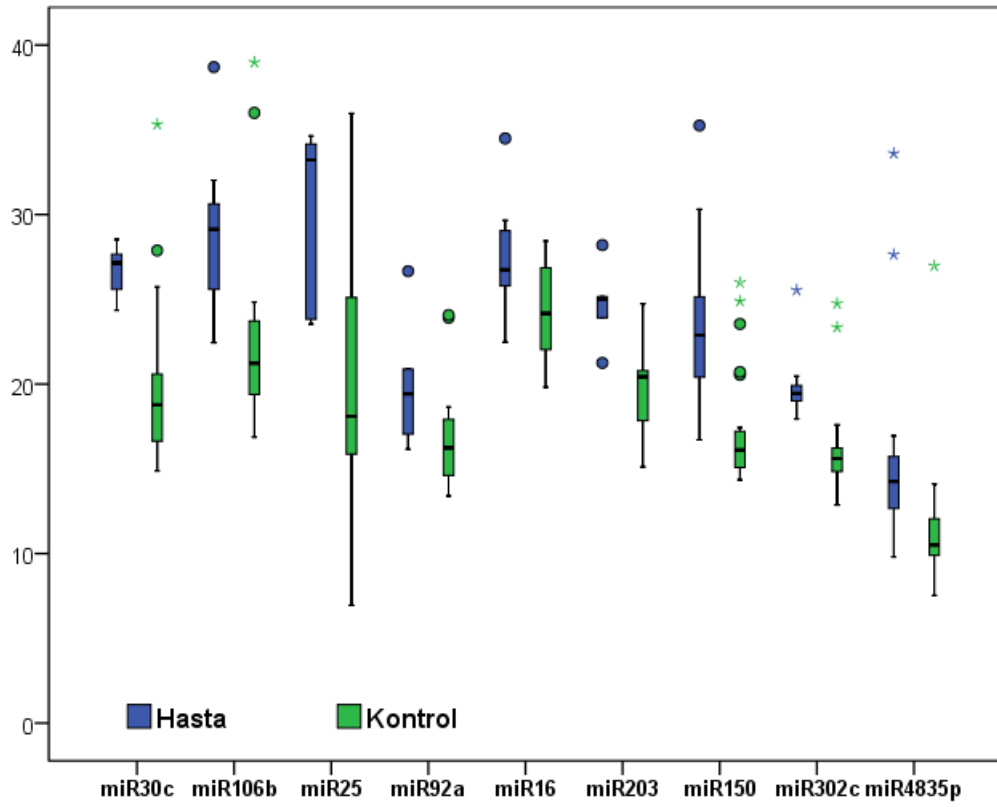
Ölçümler	Cinsiyet		P
	Kız	Erkek	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR218	26,7±6 25,7 (18,7-36,8)	26,8±3,5 25,9 (22,9-37)	0,970
miR320	25,1±4,5 24,4 (19,5-31,4)	24,4±3,3 24,7 (19,5-30,2)	0,710
miR223	27,2±5,3 27 (18,6-34,4)	25,7±5 24 (20-38,2)	0,516
miR328	28,3±5 28,6 (20,6-34,9)	26,6±2,5 25,9 (23,5-32,4)	0,311
miR4835p	15,9±7 14,2 (9,8-33,6)	16±4,2 14,9 (11,8-28,8)	0,970
miR374b	20,6±4,7 19,8 (16,5-27,7)	23±2,9 23,5 (19,3-28)	0,225
miR381	22,1±6,6 19,9 (16,8-36,7)	22,8±5,4 20,6 (17,8-33,5)	0,705
miR208	17,3±3,7 16 (13,7-24,3)	16,7±3,1 15,6 (13,6-24,2)	0,682

Tablo 39. Çocuk hastalarda cinsiyete göre remisyon anında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

Ölçümler	Cinsiyet		P
	Kız	Erkek	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR20a	29,6±6 26,7 (24,7-38,9)	29,9±8,6 27,6 (19,4-38,9)	0,95
miR194	26,7±1,7 26,3 (24,3-28,5)	26,1±1,2 26,7 (24-27,2)	0,542
miR30c	20,2±2,6 19,4 (18-24,7)	20,2±2,7 19,6 (18-26,5)	0,959
miR106b	23,8±2,9 23,7 (20,1-28,1)	23,2±2,8 23,1 (20,2-29,4)	0,724
miR25	21,7±10,5 21,4 (5,8-37)	21,8±3 21,2 (17,7-26,5)	0,991
U6snRNA	24,6±1,7 24,4 (22,8-27,3)	28,4±6,8 25,6 (20,9-38,9)	0,106
miR3623p	18,9±6 16,6 (15-29,6)	17,3±3,2 16,2 (15,2-25,1)	0,542
miR218	24,5±5,9 22,1 (20,9-34,9)	22±2,1 21,9 (18,2-25,3)	0,276
miR376a	32,9±3,7 32,3 (28,1-38,4)	29,8±4,8 31,2 (23,6-37,1)	0,267
miR381	22,5±5,8 19,8 (19,6-32,9)	20±1,2 20,1 (18-21,8)	0,397

Tablo 40. Kız hastalarda tanı sırasında ölçülen ve sağlıklı kontrol grubundan elde edilen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

Ölçümler	Cinsiyet = Kız		P
	Hasta	Kontrol	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR30c	26,6±1,4 27,1 (24,4-28,5)	19,7±4,7 18,8 (14,9-35,3)	<0,001
miR106b	28,7±4,8 29,1 (22,4-38,7)	22,4±5,4 21,2 (16,9-39)	0,003
miR146a	23,4±3,7 22,1 (19,7-29)	24,2±2 24,5 (21-28,2)	0,527
miR24	21,7±2,8 22 (17,7-24,7)	20,3±2,4 20,4 (16-24)	0,263
miR34a	19,7±7,1 17 (13-33,6)	24,6±10,2 22,6 (14,6-38,6)	0,369
miR25	30,4±5,3 33,2 (23,5-34,6)	19,8±6,4 18,1 (7-36)	0,001
U6snRNA	26±1,1 25,9 (24,5-27,2)	25,5±2,9 24,7 (20,6-33,6)	0,732
miR92a	19,9±3,7 19,4 (16,2-26,7)	16,7±3 16,2 (13,4-24,1)	0,046
miR16	27,6±3,8 26,7 (22,5-34,5)	24,5±2,7 24,2 (19,8-28,4)	0,028
miR126	25,7±2,4 25,8 (22-28,6)	24,8±2,7 25,3 (19,7-28,8)	0,518
miR203	24,7±2,5 25 (21,2-28,2)	19,8±3,6 20,4 (15,1-24,7)	0,036
miR150	23,9±5,4 22,9 (16,7-35,2)	17,3±3,4 16,1 (14,4-26)	<0,001
miR302c	19,8±2 19,4 (17,9-25,5)	16,2±2,9 15,6 (12,9-24,8)	0,001
miR184	26,1±2,2 25,9 (23,4-30,7)	24,8±4,1 23,1 (20,8-36,1)	0,318
miR218	26,7±6 25,7 (18,7-36,8)	23,4±3,9 22,6 (18,5-35,8)	0,057
miR320	25,1±4,5 24,4 (19,5-31,4)	22,9±2,5 22,4 (19,9-28,4)	0,159
miR223	27,2±5,3 27 (18,6-34,4)	22,7±5,2 21,1 (16,6-36,9)	0,05
miR328	28,3±5 28,6 (20,6-34,9)	24,3±5,1 22,4 (19,4-34)	0,081
miR4835p	15,9±7 14,2 (9,8-33,6)	11,4±3,9 10,5 (7,5-27)	0,021
miR381	22,1±6,6 19,9 (16,8-36,7)	20,4±3,6 19,9 (15,4-31,9)	0,345

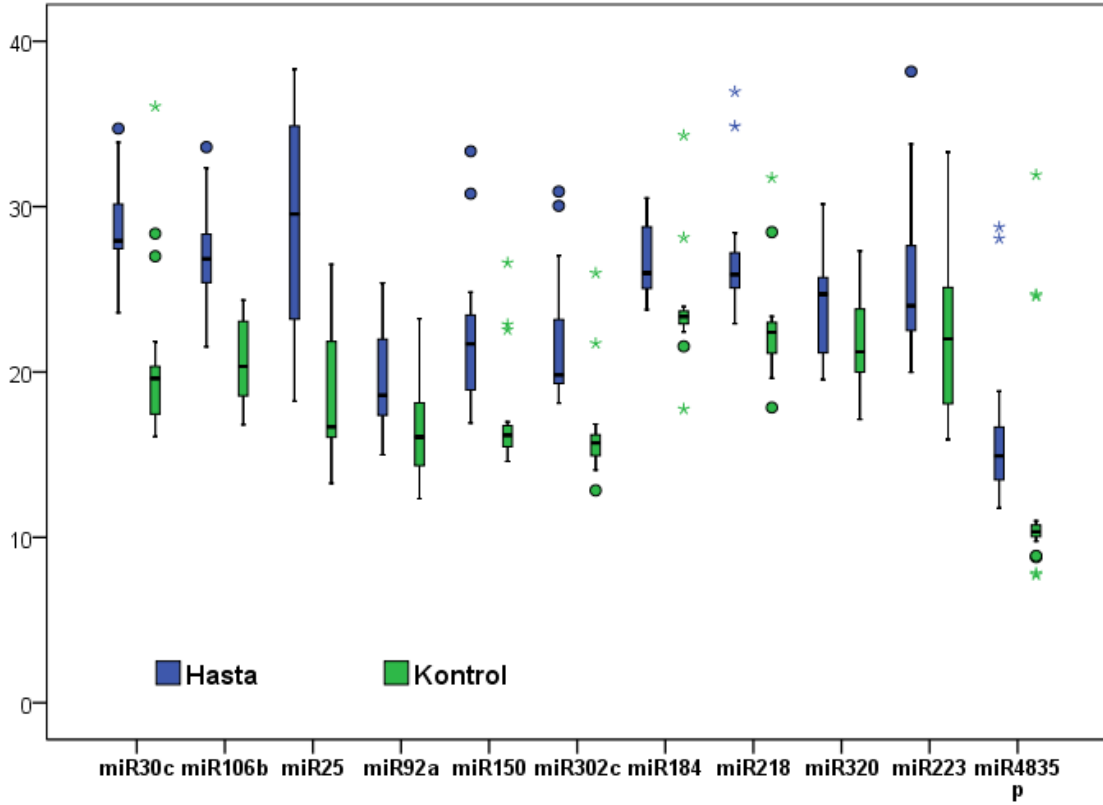


Şekil 12. Kız hastalarda tanı sırasında ölçülen ve sağlıklı kontrol grubundan elde edilen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

Kız çocuklarda hasta grubunda tanı sırasında ölçülen ve ölçüm sayısı yeterli olan micro RNA ölçümleri ile kız çocuklardan oluşan kontrol grubundan elde edilen ölçümler ile karşılaştırıldığında; miR30c, miR106b, miR25, miR92a, miR16, miR203, miR150, miR302c ve miR4835p micro RNA ölçümlerinin kız hastalarda kontrol grubundaki kız çocuklarının değerlerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

Tablo 41. Erkek hastalarda yeni tanı sırasında ölçülen ve sağlıklı kontrol grubundan elde edilen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

Ölçümler	Cinsiyet = Erkek		P
	Hasta	Kontrol	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR30c	28,7±2,9 27,9 (23,6-34,7)	20,5±4,7 19,6 (16,1-36,1)	<0,001
miR106b	27,3±3 26,8 (21,5-33,6)	20,6±2,4 20,3 (16,8-24,4)	<0,001
miR146a	24,3±3,1 23,5 (20,7-31,9)	24,8±1,9 24,5 (21,5-27,3)	0,601
miR24	20,9±2,3 20 (18,2-25,4)	20,2±2,8 20,1 (16,2-25,1)	0,503
miR34a	21,2±8 16,6 (15,2-36,1)	23,7±9,3 23,2 (13,9-34,6)	0,648
miR25	28,8±7 29,6 (18,2-38,3)	18,5±4,3 16,7 (13,3-26,5)	<0,001
U6snRNA	25,9±1,9 26 (22,2-29,5)	28,2±6,1 24,9 (22,2-38,9)	0,157
miR92a	19,5±3,7 18,6 (15-25,4)	16,3±2,7 16,1 (12,3-23,2)	0,02
miR16	27,1±3,8 27,9 (20,2-31,2)	25,8±5,3 24,8 (19,6-38,4)	0,482
miR126	25±0,3 25 (24,6-25,4)	25,1±2,8 25,1 (21,3-30)	0,917
miR203	25,2±5,2 25 (19,8-30,8)	22,7±4,8 21,3 (18,7-28,1)	0,518
miR150	22,2±4,3 21,7 (16,9-33,4)	17±3,1 16,2 (14,6-26,6)	<0,001
miR302c	21,6±3,7 19,8 (18,1-30,9)	16,2±2,8 15,7 (12,8-26)	<0,001
miR184	26,9±2,2 26 (23,8-30,5)	23,8±3,1 23,4 (17,8-34,3)	0,001
miR218	26,8±3,5 25,9 (22,9-37)	22,6±2,8 22,4 (17,8-31,7)	<0,001
miR320	24,4±3,3 24,7 (19,5-30,2)	21,9±2,6 21,2 (17,1-27,3)	0,029
miR223	25,7±5 24 (20-38,2)	22,1±4,9 22 (15,9-33,3)	0,045
miR328	26,6±2,5 25,9 (23,5-32,4)	24,2±4,9 22,2 (18,4-34)	0,172
miR4835p	16±4,2 14,9 (11,8-28,8)	12,4±6,3 10,3 (7,7-31,9)	0,03
miR381	22,8±5,4 20,6 (17,8-33,5)	20,1±3,4 19,6 (16,8-31,2)	0,053



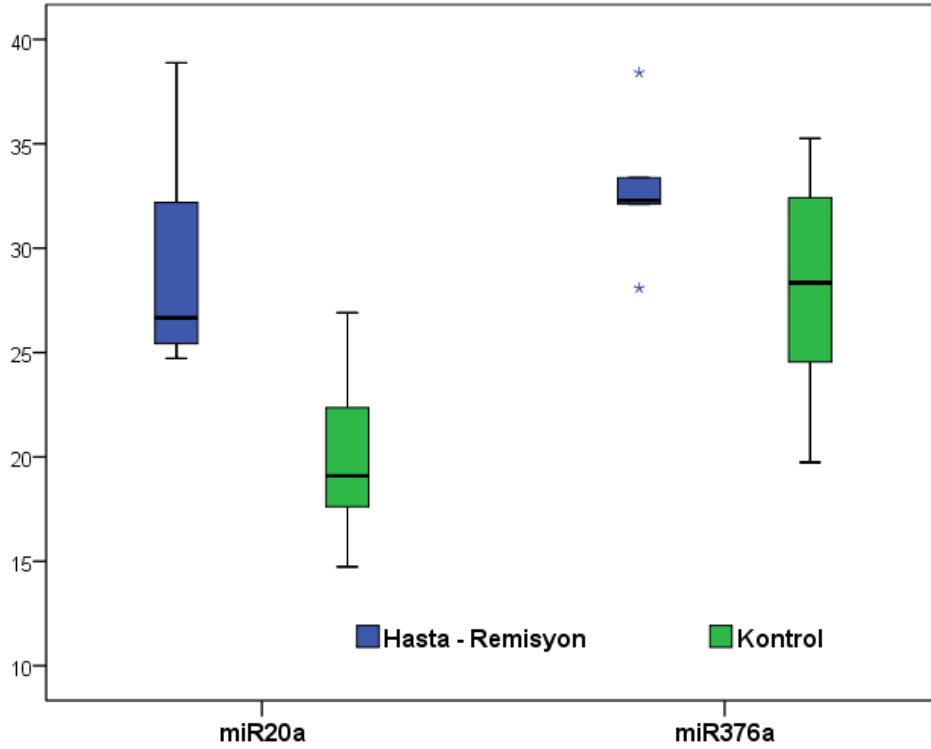
Şekil 13. Erkek hastalarda yeni tanı sırasında ölçülen ve sağlıklı kontrol grubundan elde edilen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

Erkek çocuklarda hasta grubunda tanı sırasında ölçülen ve ölçüm sayısı yeterli olan micro RNA ölçümleri ile erkek çocuklardan oluşan kontrol grubundan elde edilen ölçümler ile karşılaştırıldığında; miR30c, miR106b, miR25, miR92a, miR150, miR302c, miR184, miR218, miR320, miR223 ve miR4835p micro RNA ölçümlerinin erkek hastalarda kontrol grubundaki erkek çocuklarının değerlerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

Kız ve erkek çocuklarda ayrı ayrı olarak hasta grubunda remisyon anında elde edilen ölçümlerle kontrol grubunda elde edilen ölçümler karşılaştırıldığında, kız hastalarda miR20a ve miR376a ölçümleri, erkek hastalarda ise miR20a ve miR106b ölçümleri kontrol grubunun değerlerinden yüksek bulunmuştur.

Tablo 42. Kız hastalarda remisyon anında ölçülen ve sağlıklı kontrol grubundan elde edilen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

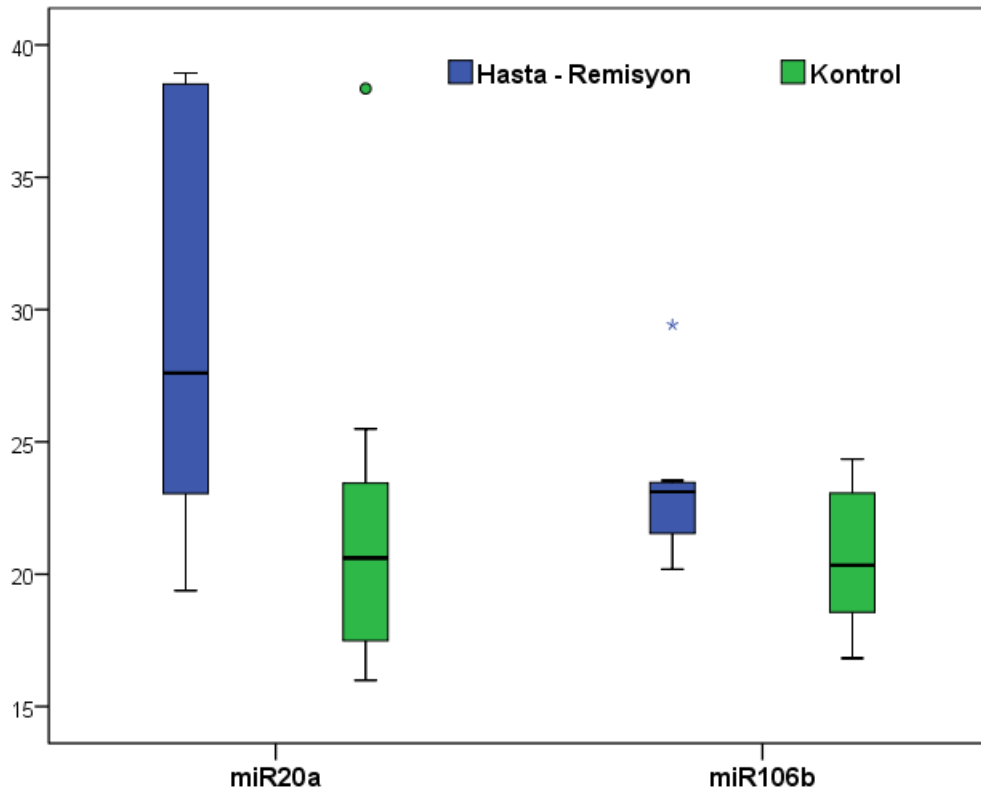
Ölçümler	Cinsiyet = Kız		P
	Remisyon	Kontrol	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR20a	29,6±6 26,7 (24,7-38,9)	20,2±3,3 19,1 (14,7-26,9)	<0,001
miR194	26,7±1,7 26,3 (24,3-28,5)	27,9±5,7 26,6 (20,8-38,8)	0,648
miR30c	20,2±2,6 19,4 (18-24,7)	19,7±4,7 18,8 (14,9-35,3)	0,809
miR106b	23,8±2,9 23,7 (20,1-28,1)	22,4±5,4 21,2 (16,9-39)	0,568
miR25	21,7±10,5 21,4 (5,8-37)	19,8±6,4 18,1 (7-36)	0,573
U6snRNA	24,6±1,7 24,4 (22,8-27,3)	25,5±2,9 24,7 (20,6-33,6)	0,517
miR218	24,5±5,9 22,1 (20,9-34,9)	23,4±3,9 22,6 (18,5-35,8)	0,584
miR376a	32,9±3,7 32,3 (28,1-38,4)	27,8±5 28,3 (19,7-35,3)	0,049
miR381	22,5±5,8 19,8 (19,6-32,9)	20,4±3,6 19,9 (15,4-31,9)	0,322



Şekil 14. Kız hastalarda remisyon anında ölçülen ve sağlıklı kontrol grubundan elde edilen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

Tablo 43. Erkek hastalarda remisyon anında ölçülen ve sağlıklı kontrol grubundan elde edilen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

Ölçümler	Cinsiyet = Erkek		P
	Remisyon	Kontrol	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR20a	29,9±8,6 27,6 (19,4-38,9)	21,3±5,3 20,6 (16-38,4)	0,040
miR194	26,1±1,2 26,7 (24-27,2)	25,4±4,7 25,2 (19-38,4)	0,561
miR30c	20,2±2,7 19,6 (18-26,5)	20,5±4,7 19,6 (16,1-36,1)	0,858
miR106b	23,2±2,8 23,1 (20,2-29,4)	20,6±2,4 20,3 (16,8-24,4)	0,017
miR25	21,8±3 21,2 (17,7-26,5)	18,5±4,3 16,7 (13,3-26,5)	0,077
U6snRNA	28,4±6,8 25,6 (20,9-38,9)	28,2±6,1 24,9 (22,2-38,9)	0,922
miR218	22±2,1 21,9 (18,2-25,3)	22,6±2,8 22,4 (17,8-31,7)	0,587
miR376a	29,8±4,8 31,2 (23,6-37,1)	29,4±4,2 29,8 (19,5-34,8)	0,839
miR381	20±1,2 20,1 (18-21,8)	20,1±3,4 19,6 (16,8-31,2)	0,909



Şekil 15. Erkek hastalarda remisyon anında ölçülen ve sağlıklı kontrol grubundan elde edilen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

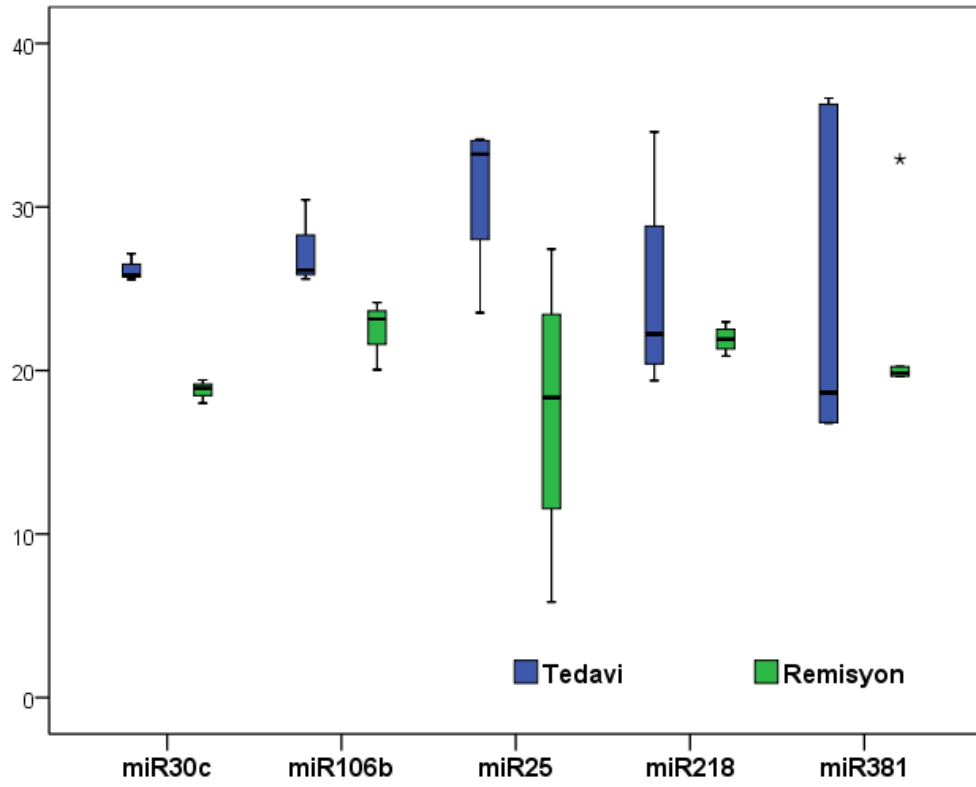
Kız ve erkek çocuklarda ayrı ayrı olarak hasta grubunda tanı ve remisyon anlarında elde edilen ölçümlerin karşılaştırılması sonucunda, kız hastalarda miR30c ölçümünün, erkek hastalarda ise miR30c, miR25, miR218 ve miR381 ölçümlerinin tanı sırasındaki değerlerinin remisyon anındaki değerlerinden daha yüksek olduğu görülmüştür.

Tablo 44. Kız hastalarda yeni tanı sırasında ve remisyon anlarında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

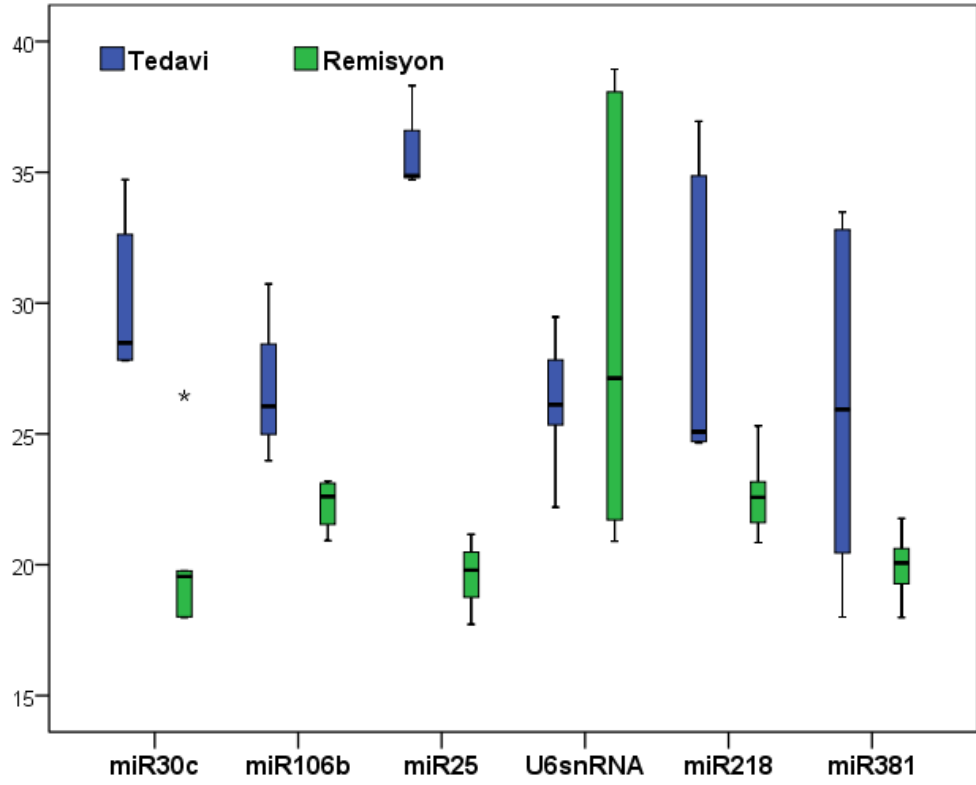
Ölçümler	Cinsiyet = Kız		P
	Hasta	Remisyon	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR30c	26,2±0,8 25,9 (25,6-27,1)	18,8±0,7 18,9 (18-19,4)	0,014
miR106b	27,4±2,7 26,1 (25,6-30,4)	22,5±2,1 23,2 (20,1-24,2)	0,058
miR25	31±5,1 33,2 (23,5-34,2)	17,5±8,9 18,3 (5,8-27,4)	0,084
miR218	24,6±6,8 22,2 (19,4-34,6)	21,9±0,9 21,9 (20,9-23)	0,439
miR381	25±10,5 18,7 (16,8-36,7)	22,5±5,9 19,8 (19,6-32,9)	0,528

Tablo 45. Erkek hastalarda yeni tanı sırasında ve remisyon anlarında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

Ölçümler	Cinsiyet = Erkek		P
	Hasta	Remisyon	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR30c	30±3 28,5 (27,8-34,7)	20,2±3,2 19,6 (18-26,5)	<0,001
miR106b	26,7±2,9 26,1 (24-30,7)	22,3±1 22,6 (20,9-23,2)	0,106
miR25	36±2 34,9 (34,7-38,3)	19,6±1,7 19,8 (17,7-21,2)	0,016
U6snRNA	26,2±2,5 26,1 (22,2-29,5)	29±8,1 27,1 (20,9-38,9)	0,468
miR218	28,6±5,7 25,1 (24,7-37)	22,7±1,6 22,6 (20,8-25,3)	0,029
miR381	26,2±6,6 25,9 (18-33,5)	20±1,2 20,1 (18-21,8)	0,037



Şekil 16. Kız hastalarda yeni tanı sırasında ve remisyon anlarında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması



Şekil 17. Erkek hastalarda yeni tanı sırasında ve remisyon anlarında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

4.8. Yetişkin Hasta ve Kontrol Gruplarında Genel Durum

Çalışmaya alınan lösemi tanısı almış 12 yetişkin hasta grubu olarak ve bu yetişkinlere benzer yaş ve cinsiyette seçilen 23 sağlıklı yetişkin kontrol grubu olarak alınmıştır. Hastaların yaş ortalaması $52,9 \pm 11,5$ yaş ve kontrol grubunun yaş ortalaması $52,8 \pm 10,3$ yaş olarak belirlenmiş ve istatistiksel olarak hasta ve kontrol gruplarının yaşları benzer bulunmuştur ($p=0,981$). Hasta grubuna 3 kadın (%25) ve 9 erkek (%75) hasta alınırken, kontrol grubuna 12 kadın (%52) ve 11 erkek (%48) kontrol alınmıştır. Hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet dağılımı istatistiksel olarak benzer bulunmuştur ($p=0,123$).

Tablo 46. Yetişkin hasta ve kontrollerinin yaş ve cinsiyet dağılımları

Ölçümler	Gruplar		P
	Hasta	Kontrol	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
Cinsiyet			
Kadın	3 (%25)	12 (%52)	0,123
Erkek	9 (%75)	11 (%48)	
Yaş (Yıl)	$52,9 \pm 11,5$ 54,5 (31-70)	$52,8 \pm 10,3$ 52 (39-78)	0,981

Yetişkin hastaların laboratuvar sonuçları incelendiğinde tüm ölçümlerde hasta ve kontrol gruplarının ölçümleri arasında, beklendiği üzere, istatistiksel farklılıklar gözlenmiştir. Beyaz küre değerinde gruplar arasında rakamsal farklılık olmasına rağmen, bu farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulacak yeterli örneklem büyüklüğü olmaması nedeniyle, p değeri anlamlı olarak elde edilememiştir.

Tablo 47. Yetişkin hasta ve kontrol gruplarının laboratuvar bulguları

Ölçümler	Gruplar		P
	Hasta	Kontrol	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
Hemoglobin	7,9±1,5 8 (5-11)	13,3±1 13,5 (10,8-14,5)	<0,001
Hemotokrit	23,4±4 22,6 (16-30)	42,4±5,3 42 (34-50)	<0,001
Trombosit	56366,7±45676,7 37450 (10000-150000)	312478,3±91766,9 250000 (210000-520000)	<0,001
Beyaz küre	20120,1±38486,7 10800 (1200-140000)	6667±1354,2 6500 (4700-9200)	0,251

Çalışmaya alınan yetişkin hastaların 4'ü (%33) ALL ve 8'si (%67) AML tanılı hastalardır. ALL alt tipleri yönünden de 2 (%50) hasta L1 ve 2 (%50) hasta L3 alt tipine sahiptir. Hastaların 2'si (%17) pre-B hücreli iken, 2'si (%17) T hücreli ve 8 (%66) hasta da miyeloblast hücre tiplidir.

Tablo 48. Yetişkin hastaların FAB klasifikasyonu ve hücre tipleri

Ölçümler	Özet Ölçüt
FAB klasifikasyonu	
ALL	4 (%33)
AML	8 (%67)
FAB klasifikasyonu	
L1	2 (%50)
L3	2 (%50)
Hücre tipi	
T hücreli	2 (%17)
pre-B hücreli	2 (%17)
Miyeloblast	8 (%66)

Yetişkin hastaların periferik yaymadaki blast yüzde ortalaması $68\pm27,5$ iken, kemik iliği aspirasyonundaki blast yüzde ortalaması $74,2\pm13,8$ olarak elde edilmiştir.

Tablo 49. Yetişkin hastaların farklı ortamlarda ölçümü yapılan blast yüzde değerleri

Ölçümler	Özet Ölçüt
Periferik yaymadaki blast yüzdesi	$68\pm27,5$ 80 (20-100)
Kemik iliği aspirasyonundaki blast yüzdesi	$74,2\pm13,8$ 80 (40-90)

Çalışmadaki yetişkin hastalar üzerinde yapılan diğer bazı ölçümlerde aşağıdaki tabloda sunulmuştur. Hastaların boy ortalaması $166,3\pm4,6$ cm, vücut ağırlığı $73\pm5,8$ kg, karaciğer boyutu $6\pm3,8$ cm ve dalak boyutu $7,5\pm5,3$ cm olarak elde edilmiştir. Ayrıca hastalarda ölçülen LDH değeri ortalaması $632,9\pm337,7$ ve Ürik asit değeri ortalaması da $15,3\pm24,9$ olarak elde edilmiştir.

Tablo 50. Yetişkin hastalarda ölçümü yapılan çeşitli ölçümler

Ölçümler	Özet Ölçüt
Boy (cm)	$166,3\pm4,6$ 166 (158-174)
Kilo (Kg)	$73\pm5,8$ 71,5 (64-82)
Karaciğer boyutu	$6\pm3,8$ 5 (2-15)
Dalak boyutu	$7,5\pm5,3$ 6,5 (2-20)
LDH	$632,9\pm337,7$ 577 (180-1280)
Ürik asit	$15,3\pm24,9$ 4,5 (3-72)

4.9. Yetişkin Hasta Yeni Tanı Sırasında – Sağlıklı Kontrol Gruplarının Micro RNA Ölçümlerinin Karşılaştırılması

Yetişkin hasta tanı sırasında ve kontrol gruplarında ölçümü yapılan micro RNA ölçümlerinde ölçüm sonucu elde edilen hasta sayısı 5'in üzerinde olan micro RNA değerlerinin karşılaştırması ile ilgili sonuçlar aşağıdaki tablolarda sunulmuştur.

Tablo 51. Yetişkinlerde hasta tanı sırasında - kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 1

Ölçümler	Gruplar		P
	Hasta	Kontrol	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR19b	22,3±3,6 21,4 (16-27,2)	23,2±2,6 22,7 (18,8-26,7)	0,496
miR194	26,4±6,5 25,3 (20,3-34,7)	29,1±4,4 30,2 (23-34,6)	0,415
miR30c	26,6±4,3 27,1 (20,6-34,8)	28,6±4,6 27,4 (22-37,3)	0,233
miR106b	26,5±3,8 26,1 (22,2-34,2)	26,4±2,6 26,3 (21,5-31,6)	0,932
miR24	20,3±3 19,8 (16,3-25,5)	23±2,7 23,7 (18-27,4)	0,095
miR34a	16,5±3,1 15,5 (14,2-23,5)	17,5±7,5 15,2 (12,1-34)	0,75
miR25	22±2,2 21,2 (19,9-24,4)	24,8±5,3 24 (18,2-36)	0,278
miR92a	18,3±2,2 18,9 (15,8-21,5)	21,3±5,8 19,6 (16,5-34,3)	0,214
miR16	26,7±2,3 26,6 (23,7-30,8)	25,4±2,3 25,1 (22,6-30,1)	0,267
miR150	22±5,1 19,6 (15,8-32,6)	22,7±3,3 22,8 (15,9-30,3)	0,652

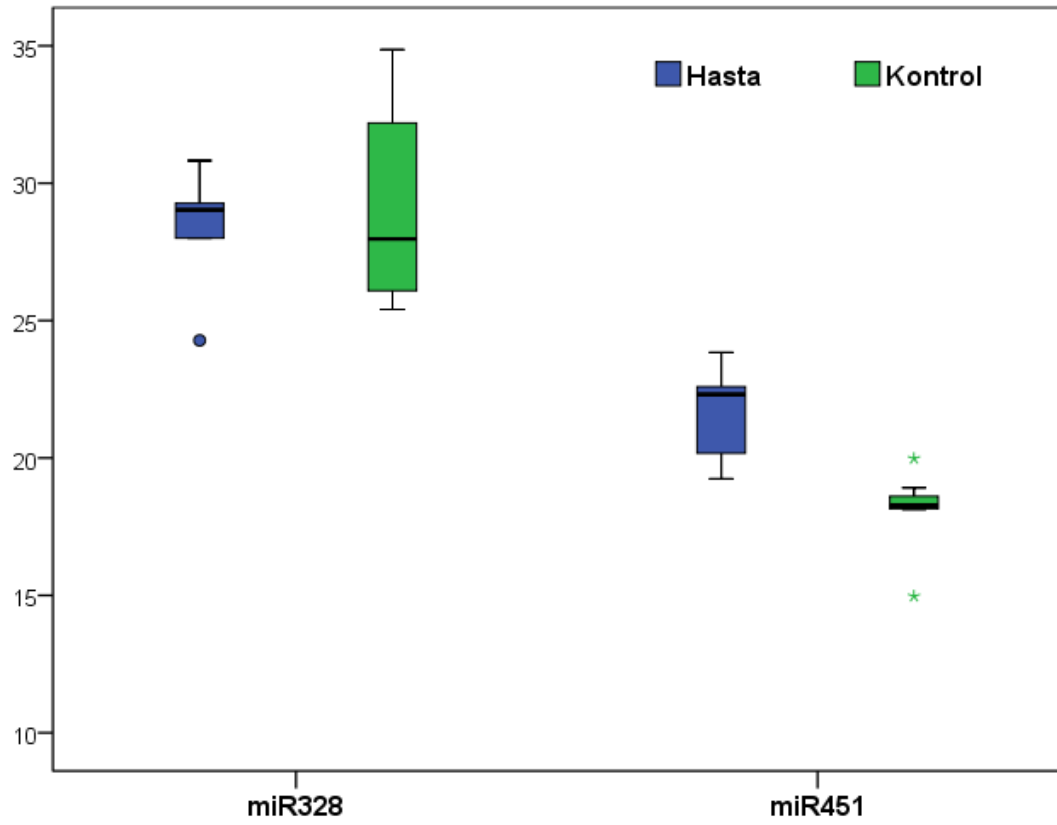
Tablo 52. Yetişkinlerde hasta tanı sırasında - kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 2

Ölçümler	Gruplar		P
	Hasta	Kontrol	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR363	32,3±4,1 34,5 (25,2-37,2)	29,2±6,7 25,5 (21,8-38,9)	0,238
miR367_A	32,2±2,8 31 (30,4-37,6)	32,5±4,3 30,6 (25,3-38,9)	0,886
miR302a	31,1±5,1 30,6 (24,7-38,8)	28,7±6,4 28,8 (19,2-38,6)	0,375
miR302c	20±2,8 19,8 (15,3-27,3)	19,9±2,6 19,1 (15,9-25,5)	0,911
miR184	26,5±2,8 25,5 (22,5-31,3)	28,3±2,8 29,9 (22,8-31,7)	0,089
miR218	26,3±2,6 25,8 (22,5-29,8)	27,2±5,4 25,3 (21-38,8)	0,659
miR223	27,3±5,2 27,2 (19,1-38,6)	24,6±4,3 23,6 (17,3-31)	0,186
miR328	27,8±2,3 28,3 (24,3-30,8)	30,5±3,3 30,6 (25,4-35,1)	0,036
miR4835p	16,3±4,9 14,9 (11,9-30,4)	14,6±2,5 14,5 (10,2-19,6)	0,187

Micro RNA değerleri yönünden istatistiksel farklılık saptanan miR328 ölçümünde kontrol grubu hasta grubundan daha yüksek değer elde ederken, miR451 ölçümünde ise hasta grubunun ölçümleri kontrol grubunun ölçümlerinden daha yüksek bulunmuştur.

Tablo 53. Yetişkinlerde hasta tanı sırasında - kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 3

Ölçümler	Gruplar		P
	Hasta	Kontrol	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR381	22,2±5,4 20,4 (17,9-33,4)	21,9±4,3 20,2 (16,4-31,8)	0,877
miR451	21,6±1,9 22,3 (19,2-23,8)	18±2 18,3 (14,3-20,8)	0,004
miR5763p	30,4±0,3 30,4 (30,2-30,6)	31,1±3,4 30,8 (26,8-37,9)	0,789
miR208	15,5±2,7 15 (13,1-22,7)	14,7±1,9 15,2 (11,2-17,3)	0,404



Şekil 18. Yetişkinlerde yeni tanı sırasında - kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları

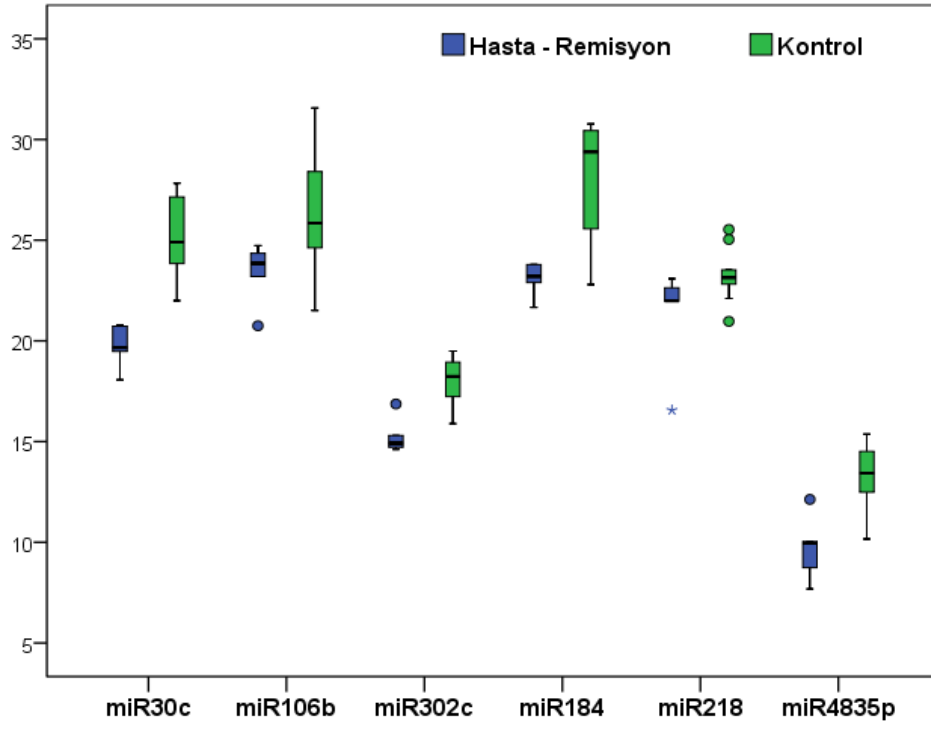
4.10. Yetişkin Remisyon – Kontrol Gruplarının Micro RNA Ölçümlerinin Karşılaştırılması

Yetişkinlerde tedavi sırasındaki ölçümlerine benzer olarak hastaların remisyon anındaki ölçümleri ile kontrol grubunda, ölçümü yapılan micro RNA ölçümlerinde ölçüm sonucu elde edilen hasta sayısı 5'in üzerinde olan micro RNA değerlerinin karşılaştırması ile ilgili sonuçlar aşağıdaki tablolarda sunulmuştur. Tedavi sırasındaki yapılan ölçümlerdeki karşılaştırmalardan farklı olarak daha çok micro RNA değerinde iki grup arasında istatistiksel olarak önemli farklılık bulunmuştur.

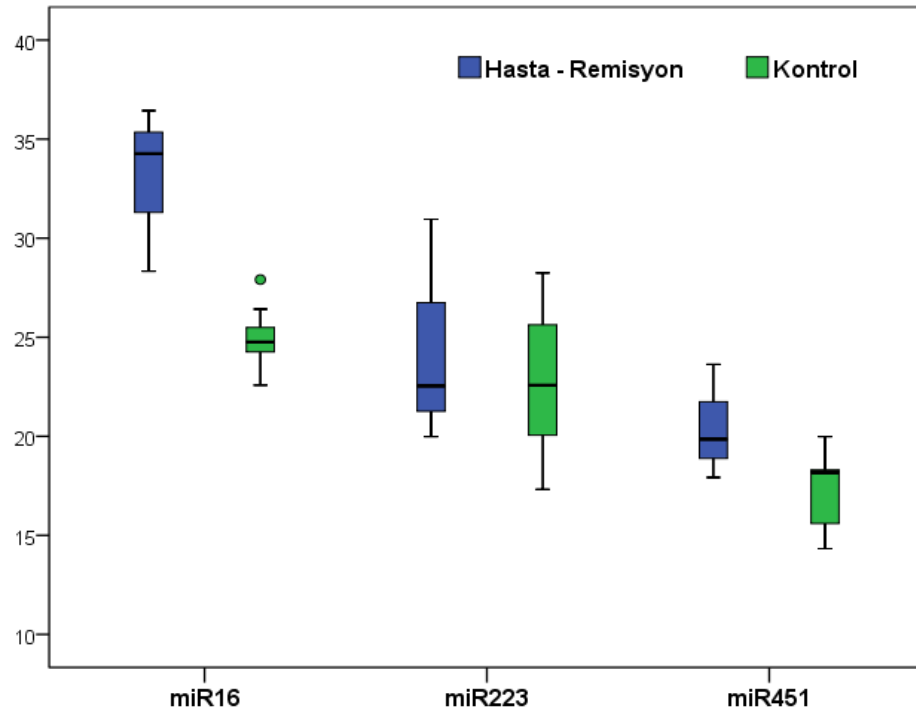
Tablo 54. Yetişkinlerde remisyon - kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları

Ölçümler	Gruplar		P
	Remisyon	Kontrol	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR194	29,2±4,2 28,1 (25,4-39)	29,1±4,4 30,2 (23-34,6)	0,96
miR30c	20,4±2,6 19,7 (18,1-28,5)	28,6±4,6 27,4 (22-37,3)	<0,001
miR106b	23,6±1,3 24 (20,8-25)	26,4±2,6 26,3 (21,5-31,6)	0,003
miR24	22,5±3,3 20,9 (20,7-27,4)	23±2,7 23,7 (18-27,4)	0,765
miR25	24,8±4,1 24,8 (19,4-33,7)	24,8±5,3 24 (18,2-36)	0,984
miR92a	22,8±5,8 21,3 (18,4-37,6)	21,3±5,8 19,6 (16,5-34,3)	0,557
miR16	33,4±3,2 34,4 (28,3-36,4)	25,4±2,3 25,1 (22,6-30,1)	<0,001
miR302c	15,9±2,7 15,3 (12,3-22,8)	19,9±2,6 19,1 (15,9-25,5)	<0,001
miR184	24,3±2,9 23,8 (21,7-30,7)	28,3±2,8 29,9 (22,8-31,7)	0,004
miR218	23,1±3,5 22,5 (16,6-31,9)	27,2±5,4 25,3 (21-38,8)	0,013
miR223	28,7±4,5 30,4 (20-34,1)	24,6±4,3 23,6 (17,3-31)	0,04
miR328	28,1±4,8 25,8 (23-34,7)	30,5±3,3 30,6 (25,4-35,1)	0,232
miR4835p	10,7±3,4 10,1 (7,5-20,8)	14,6±2,5 14,5 (10,2-19,6)	0,001
miR376a	28,8±4,2 26,8 (25,6-36,2)	31,2±4,2 31,3 (23,5-37,9)	0,25
miR381	20±2,8 19 (17,4-27,7)	21,9±4,3 20,2 (16,4-31,8)	0,16
miR451	20,2±2 19,8 (17,9-23,6)	18±2 18,3 (14,3-20,8)	0,039
miR5763p	33,6±1,7 32,7 (31,7-36,8)	31,1±3,4 30,8 (26,8-37,9)	0,083
miR212	28,4±6 28,3 (21,4-38,4)	29,8±5 30,1 (24,2-38,8)	0,637

Hastaların remisyon anındaki ölçümleri ile kontrol grubunun değerleri karşılaştırıldığında, miR30c, miR106b, miR302c, miR184, miR218 ve miR4835p ölçümlerinde kontrol grubunun, miR16, miR223 ve miR451 ölçümlerindeyse hasta grubunun micro RNA değerinin daha yüksek olduğu görülmüştür.



Şekil 19. Yetişkinlerde remisyon - kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 1



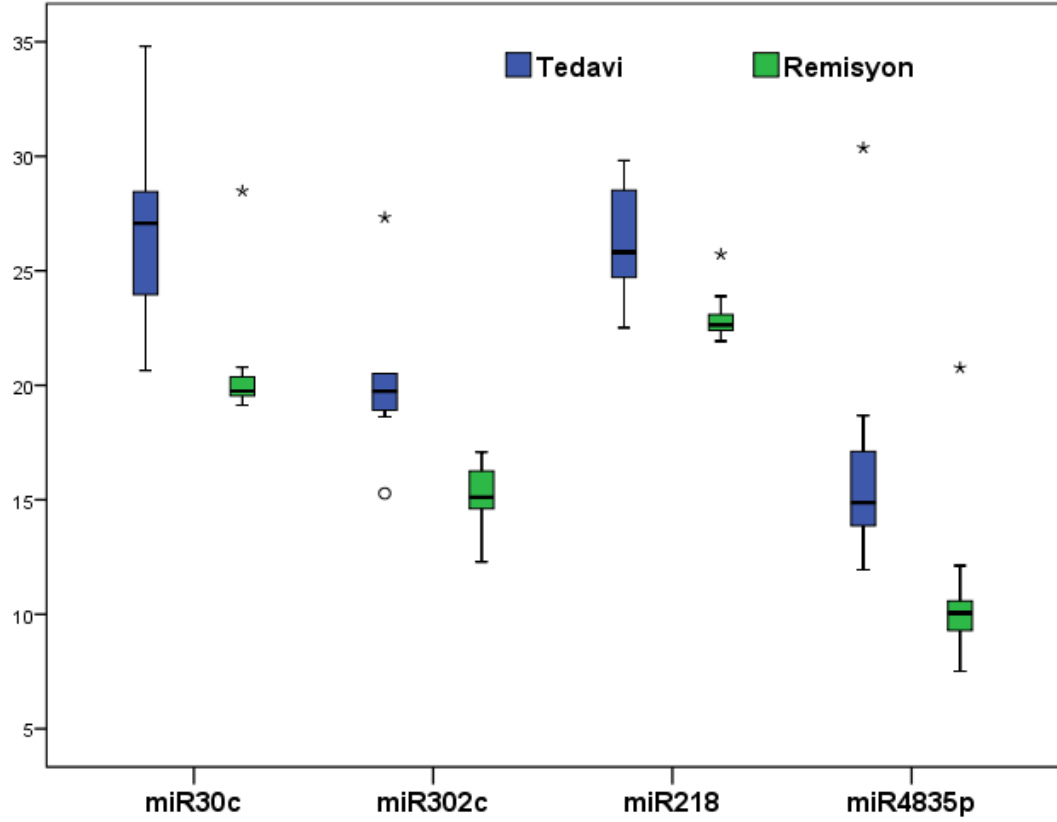
Şekil 20. Yetişkinlerde remisyon - kontrol grubu micro RNA karşılaştırmaları – 2

4.11. Yetişkin Hastaların Tanı ve Remisyon Anındaki Micro RNA Ölçümlerinin Karşılaştırılması

Yetişkin hastaların tedavi sırasındaki ve remisyon anındaki ölçümleri karşılaştırılmak istendiğinde, ölçümü yapılan micro RNA ölçümlerinde ölçüm sonucu elde edilen hasta sayısı 5'in üzerinde olan micro RNA değerlerinin karşılaştırması ile ilgili sonuçlar aşağıdaki tabloda sunulmuştur. Bu ölçümlerden miR30c, miR302c, miR218 ve miR4835p ölçümlerinde remisyon anında tedavi sırasındaki ölçüme göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş görülmüştür.

Tablo 55. Yetişkinlerde hastalarda yeni tanı - remisyon anlarındaki micro RNA karşılaştırmaları

Ölçümler	Gruplar		P
	Hasta	Remisyon	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR30c	26,6±4,3 27,1 (20,7-34,8)	20,6±2,7 19,8 (19,1-28,5)	<0,001
miR106b	26,5±3,8 26,1 (22,2-34,3)	23,6±1,4 23,9 (20,8-25)	0,062
miR25	22±2,2 21,2 (19,9-24,4)	23,2±2,3 24 (19,4-25,6)	0,498
miR92a	17,9±2,5 16,9 (15,8-21,5)	23,6±7,9 20,6 (18,4-37,5)	0,242
miR302c	20±3 19,7 (15,3-27,3)	15,2±1,4 15,1 (12,3-17,1)	0,001
miR184	26,9±3,2 25,5 (22,5-31,3)	24,3±2,9 23,8 (21,7-30,7)	0,158
miR218	26,3±2,6 25,8 (22,5-29,8)	23±1,2 22,6 (21,9-25,7)	0,007
miR223	27,4±5,9 27,1 (19,1-38,6)	28±4,9 29 (20-34,1)	0,789
miR4835p	16,3±4,9 14,9 (11,9-30,4)	10,7±3,4 10,1 (7,5-20,8)	0,007
miR381	22,2±5,4 20,4 (17,9-33,4)	20±2,8 19 (17,4-27,7)	0,103



Şekil 21. Yetişkinlerde hastalarda tanı - remisyon anlarındaki micro RNA karşılaştırmaları

4.12. Yetişkin Hastalarda Lösemi Tipine Göre Yapılan Karşılaştırmalar

Yetişkin hastalarda lösemi tipi ALL olan 4 hasta ile lösemi tipi AML olan 8 hastadan elde edilen ölçümlerden hareketle yapılan karşılaştırmalar aşağıdaki tablolarda sunulmuştur. Yapılan karşılaştırmalarda AML grubunun ALL grubundan daha genç olduğu görülmüştür.

Tablo 56. Yetişkin hastalarda lösemi tipine göre genel özelliklerin karşılaştırılması

Ölçümler	FAB klasifikasyonu		P
	ALL	AML	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
Yaş (Yıl)	62,2±6,8 61,5 (56-70)	48,2±10,7 48,5 (31-64)	0,04
Cinsiyet			
Kız	2 (%50)	1 (%12)	0,157
Erkek	2 (%50)	7 (%88)	
Boy (cm)	164,5±2,6 164 (162-168)	167,2±5,2 168 (158-174)	0,349
Kilo (Kg)	73,8±7,4 73 (67-82)	72,6±5,4 71,5 (64-80)	0,77
Hemoglobin	7,8±0,9 7,7 (7-9)	7,9±1,7 8 (5-11)	0,979
Hemotokrit	24,1±4,1 22,6 (21-30)	23,1±4,2 23 (16-30)	0,715
Trombosit	71900±61313,7 58300 (21000-150000)	48600±38217,7 37450 (10000-120000)	0,431
Beyaz küre	9025±7829,2 8800 (1200-17300)	25667,6±46860 10800 (1500-140000)	0,506
Periferik yaymadaki blast yüzdesi	66,5±26 65 (40-96)	68,8±30 80 (20-100)	0,901
Kemik iliği aspirasyonundaki blast yüzdesi	80±8,2 80 (70-90)	71,2±15,5 75 (40-90)	0,323
Karaciğer boyutu	8,8±4,9 8 (4-15)	4,6±2,4 4,5 (2-10)	0,073
Dalak boyutu	11,2±5,9 8,5 (8-20)	5,6±4,2 4,5 (2-15)	0,084
LDH	445,5±73,3 463 (342-514)	726,6±383,1 780 (180-1280)	0,186
Ürik asit	6,4±1,7 6,8 (4-8)	4,4±1,4 4 (3-7,2)	0,053

Lösemi tipine göre ALL ve AML olarak sınıflandırılan hastalarda tedavi sırasında ve remisyon anında elde edilen micro RNA ölçümlerinden, ölçüm değeri elde edilen hasta sayısı 4 ve üzerinde olan micro RNA ölçümleri belirlenmiş ve lösemi tiplerine göre karşılaştırılmıştır. Karşılaştırmalar sonucunda iki lösemi tipi arasında micro RNA değeri yönünden bir istatistiksel farklılık saptanamamıştır.

Tablo 57. Yetişkin hastalarda lösemi tipine göre yeni tanı sırasında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

Ölçümler	FAB klasifikasyonu		P
	ALL	AML	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR30c	27,7±2,5 27,1 (25,4-31,4)	25,9±5,1 25,9 (20,6-34,8)	0,531
miR106b	27,8±2,1 27,6 (25,9-30,2)	25,7±4,5 24,5 (22,2-34,2)	0,406
miR367_A	31±0,6 31 (30,4-31,8)	33,1±3,5 31,1 (30,4-37,6)	0,292
miR302c	18,9±2,4 19,9 (15,3-20,5)	20,6±3 19,6 (18,6-27,3)	0,35
miR184	26,4±3 25,4 (24-30,8)	26,6±2,8 25,5 (22,5-31,3)	0,924
miR223	29,7±6,2 27,8 (24,6-38,6)	25,8±4,2 26,5 (19,1-30,4)	0,262
miR328	28,6±2,1 28,8 (25,8-30,8)	27,3±2,5 27,3 (24,3-30,6)	0,423
miR4835p	15,4±3 15,4 (12,2-18,7)	16,7±5,7 14,9 (11,9-30,4)	0,694
miR381	20,6±2 20,8 (18,3-22,5)	23±6,5 20,4 (17,9-33,4)	0,499
miR208	14,8±1,5 14,7 (13,1-16,6)	16±3,4 15 (13,3-22,7)	0,525

Tablo 58. Yetişkin hastalarda lösemi tipine göre remisyon anında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

Ölçümler	FAB klasifikasyonu		P
	ALL	AML	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR30c	19,9±0,7 19,9 (19,1-20,7)	20,7±3,2 19,6 (18,1-28,5)	0,66
miR106b	23,8±1,4 24,3 (21,7-24,7)	23,6±1,4 23,8 (20,8-25)	0,81
miR25	22,7±3,7 22,6 (19,4-26,3)	25,8±4,1 25,3 (20,2-33,7)	0,234
miR218	21,7±3,8 22,2 (16,6-25,7)	23,8±3,3 22,7 (22-31,9)	0,326
miR4835p	8,9±1,5 8,8 (7,5-10,4)	11,6±3,8 10,2 (8,7-20,8)	0,205
miR381	18,9±1,9 18,2 (17,4-21,7)	20,5±3,1 19,4 (18,1-27,7)	0,384
miR5763p	33,8±2,5 33,2 (31,7-36,8)	33,4±1,2 32,7 (32,4-34,8)	0,781
miR212	28,4±7,2 26,4 (22,4-38,4)	28,4±5,6 28,6 (21,4-35)	0,998

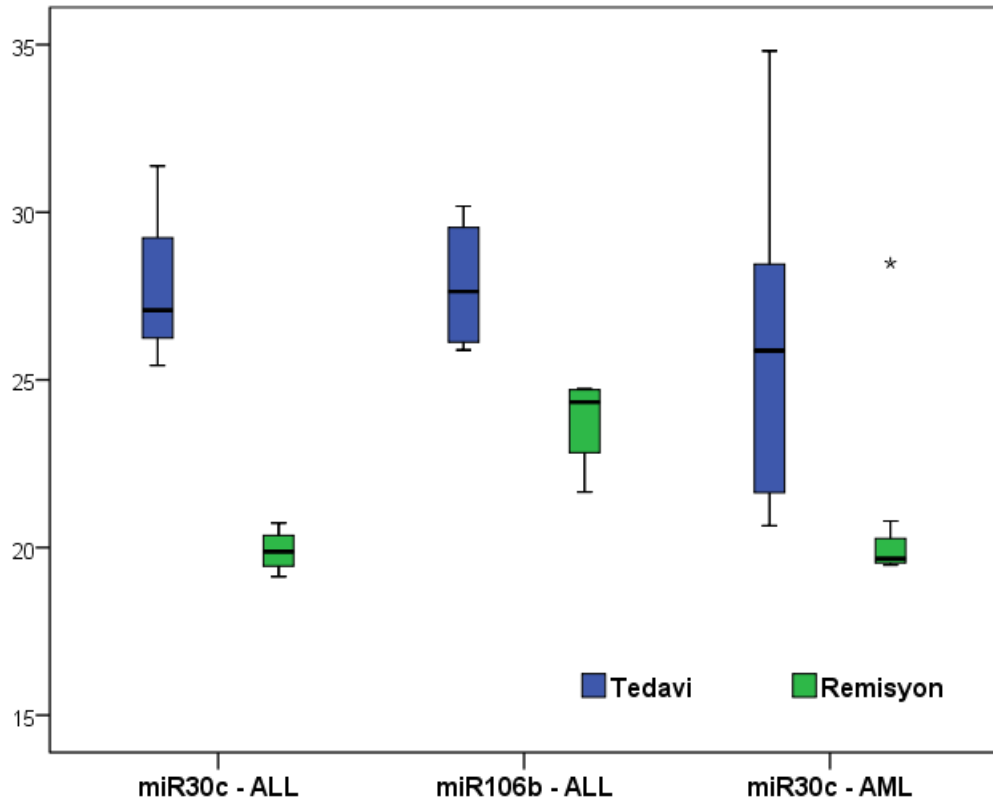
Lösemi tiplerine göre tedavi anında ve remisyon anında ölçülen micro RNA ölçümlerinde ölçüm sayısı 4 ve üzerinde olan ölçümler için karşılaştırmalar yapıldığında, ALL hastalarında miR30c ve miR106b ölçümlerinde remisyon anında bir düşüş gözlenirken, AML hastalarında sadece miR30c ölçümünde remisyon anında bir düşüş gözlenmiştir.

Tablo 59. Lösemi tipi ALL olan yetişkin hastalarda yeni tanı ve remisyon anında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

Ölçümler	FAB = ALL		P
	Hasta	Remisyon	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR30c	27,7±2,6 27,1 (25,4-31,4)	19,9±0,7 19,9 (19,1-20,7)	0,014
miR106b	27,8±2,1 27,6 (25,9-30,2)	23,8±1,4 24,3 (21,7-24,7)	0,018
miR381	20,6±2 20,8 (18,3-22,5)	18,9±1,9 18,2 (17,4-21,7)	0,241

Tablo 60. Lösemi tipi AML olan yetişkin hastalarda yeni tanı ve remisyon anında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

Ölçümler	FAB = AML		P
	Hasta	Remisyon	
	Özet Ölçüt	Özet Ölçüt	
miR30c	25,9±5,1 25,9 (20,7-34,8)	21±3,3 19,7 (19,5-28,5)	0,06
miR106b	25,7±4,6 24,5 (22,2-34,3)	23,4±1,4 23,8 (20,8-25)	0,373
miR381	23±6,5 20,4 (17,9-33,4)	20,5±3,1 19,4 (18,1-27,7)	0,216



Şekil 22. Lösemi tipine göre yetişkin hastalarda yeni tanı ve remisyon anında ölçülen micro RNA ölçümlerinin karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Hemapoetik sistemi oluşturan hücrelerdeki anormal proliferasyon ile karakterize bir kanser tipi olan löseminin nedenleri henüz tam olarak aydınlatılamamış olmakla beraber sitogenetik ve moleküler tekniklerdeki yeni gelişmelerle saptanan bazı nedenlerin (genetik yatkınlık, radyasyon, benzen ve türevleri, böcek ilaçları gibi kimyasal maddeler, bazı kalıtsal hastalıklar ve bir takım viral hastalıklar) lösemiye yol açtıkları çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.

Çocukluk ve yetişkin çağı akut lösemilerinde prognostik önem taşıyan bir çok faktör bulunmaktadır. Bunlardan en karakteristik olanlar; yaş, cinsiyet, başvuru sırasında beyaz küre sayısı, hastadaki sitogenetik değişikliklerdir. Bu faktörlerin prognostik önemi farklı çalışmalarda gösterilmiş, hastaları risk grubuna göre ayırırken bu kriterlerin kullanılması genel kabul görmüştür. Akut lösemiler mevcut olan tüm konvansiyonel kemoterapi rejimleri ile tedavideki başarı oranları 1960'lerden bu yana düzenli olarak artmaktadır. Mortalite ve morbidite azalmaktadır. Beş yıllık hastalıksız sağ kalım çocuklarda %80 iken, bu oran yetişkinlerde %40-50'ye varmaktadır. Tam iyileşme amacıyla yapılan hematopoetik kök hücre transplantasyonu ile hastalıksız sağ kalım oranları daha da artırılmıştır.¹⁶²⁻¹⁶⁴

Bunun yanı sıra gen tedavisi başta olmak üzere yeni tedavi çalışmaları lösemilerdeki izlenecek yol haritasında tedavi basamaklarında farklı yenilikleri içermektedir. Bu yeniliklerden bir tanesi küçük, protein kodlamayan MikroRNA'lar (miRNA'lar) yani RNA molekülleridir. Bu moleküller bir ya da birden fazla hedef geni baskılayarak hücrenin gelişim, farklılaşma, çoğalma, ölümü gibi farklı olaylarda rol oynarlar. miRNA'lar protein kodlayan genlerin eksonik ve intronik bölgelerinde ve genler arası bölgelerde bulunabilirler. miRNA genlerinin %50'sinden fazlası kanser ile ilişkilendirilmiş genom üzerindeki bölgelerde veya kırılğan bölgelerde bulunur; bu durum da miRNA'ların neoplazi patogenezinde önemli rolleri olduğuna işaret eder.

Yapılan çok sayıda deneysel çalışma; miRNA'ların yeni bir onkogen veya tümör baskılayıcı gen sınıfı oluşturabileceğini göstermiştir. Normal ve patolojik dokular arasında farklı seviyede ifade edilen miRNA'lar tespit edilerek, insan kanserlerinde etkili olan miRNA'lar belirlenebileceği düşünülmektedir. Bazı miRNA'lar epigenetik mekanizmalarla kontrol edilirken, bazıları da doğrudan veya dolaylı olarak epigenetik

mekanizmada rol oynayan faktörleri hedef alırlar. miRNA'ların hedeflerinin belirlenmesinde en sık kullanılan programlar PicTar, Target-ScanS ve miRanda'dır.¹⁶⁵ miRNA'ların işlevsel önemlerinin tam olarak anlaşılabilmesi ve tanı veya tedavi amaçlı kullanımlarının gerçekleştirilmesi için hedeflerine nasıl bağlandıklarının ve gen ifadesini farklı seviyelerde nasıl düzenlediklerinin belirlenmesi gerekmektedir.

Bunun için yapılmış çok sayıda çalışma mevcut olmakla birlikte daha büyük hasta gruplarını içine alan çalışmalara gereksinim duyulmaktadır. Bizim çalışmamızda aynı microRNA'lar açısından ölçüm sonucu elde edilen yeni tanı almış hasta çocuklarla sağlıklı kontrol hastaları karşılaştırdığımızda miR20a, miR20b, miR25, miR92a miR30c, miR106b, miR150, miR302c, miR184, miR218 miR320, miR3423p, miR223, miR328, miR4835p, miR376a, miR381, miR451, miR5763p, miR548a değerleri açısından yeni tanı almış hasta ve sağlıklı kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulduk.

miR20b, miR3423p, miR548a değerleri açısından yeni tanı almış hasta grubu ile karşılaştırıldığında sağlıklı kontrol grubunda daha yüksek bulundu. Bu yükseklik yeni tanı alan hastalarda bu microRNA değerlerinin düşük olduğunu gösterdi. Yeni tanı almış hasta grubunda ki sonuçlarla remisyona girmiş hastalar karşılaştırıldığında da miR30c, miR106b, miR25, miR184 miR218, miR302c, miR4835 değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulduk. Yeni tanı almış hastalar ile karşılaştırıldığında da remisyonadaki hasta grubunda bu microRNA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalış saptandı.

Cocco arkadaşları tarafından çocukluk çağı ALL hastalarında yapılan çalışmada da miR128a, miR128b, miR222, miR142, miR125b, miR7, miR198, miR633, miR126, miR345, miR3423p, miR551a, miR33, miR215, miR369-5p, miR496, miR518, miR599, miR10a, miR134, miR214, miR484, miR572 miR580, miR624, miR627, miR223, let-7b, miR98, miR551, miR99a miR100, miR125b, miR383, miR302c, miR184, miR218 miR320, miR3423p, miR223, miR328, let-7c değerlerinde artış saptanırken, miR339, miR373, miR451 değerlerinde düşüklük saptandı. Bizim çalışmamızda olduğu gibi bu çalışmada da tedavi grubuna göre kontrol grubunda miR451 değerinde düşüklük saptandı. miR451'in Cocco arkadaşlarının çalışmasında B-hücre disregülasyonu ve B hücreli KLL ile ilişkili olduğu şeklinde yorumlanmıştır.¹⁶⁶

Wang Y ve arkadaşları yaptıkları yetişkin lösemili hastaları içeren çalışmada 16 farklı mikroRNA türü bakılmışlar ve bu hastalarda sağ kalımları araştırmışlardır. Başta miR29c, miR20a, miR25, miR150, miR223'ün bizim hastalarda olduğu gibi tanı anında yüksek daha sonra düşük düzeyleri saptanmış bunuda sağ kalımla ilişkilendirmişlerdir. Ancak bizim yeni tanı hasta grubumuzda miR146a ve miR29c'de hasta grubuna göre anlamlı bir azalış saptanmadı.¹⁶⁷ Bu sonuç pediatrik lösemili hastalar açısından bir farklılık olarak yorumlanabilir.

Kluiver ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da miR223 normal hematopez de özellikle miyeloid hücre popülasyonu ile ilgili olduğu saptanırken aşırı ekspresyonu AML ile ilişkili bulunmuştur.¹⁶⁸

Fan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada miR20a'yı over kanserlerinde yüksek bulurken, tedavi sonrası mikroRNA düzeylerinde düşüklük saptamışlardır. Bizim çalışmamızda da miR20a yeni tanı almış hasta grubunda sağlıklı kontrol gruplarına göre yüksek iken remisyona girmiş hasta grubu ile sağlıklı kontrol grupları arasında da anlamlı bir fark saptandı. Bu farklılık her iki cinsiyet içinde ayrı ayrı geçerli idi.¹⁶⁹

Penta ve arkadaşları miR20a için prostat kanseri ve benin prostat hipertrofi'li (BPH) olgularda yaptıkları çalışmada kontrol grubuna göre her iki grupta miR20a ekspresyonunu anlamlı olarak farklı bulmuşlar ancak yükseklik saptanan gruplar arasında anlamlı bir fark saptamamışlardır.¹⁷⁰ MiR20a ve miR17-5p, miR18a, miR19a, miR19b, miR92a gibi farklı mikroRNA'lar tarafından oluşturulan miR17-92a Polisistronik mikroRNA kümesi olarak adlandırılan mikroRNA'lar B hücreli lenfomalarda, meme kanseri akciğer kanseri ve tümör anjiogenesizin de yüksek düzeyde saptanmıştır. MiR17-92a kümesi B hücre yaşam süresinin uzamasında, T hücre proliferasyonunun artışında, monosit farklılaşmasının azalmasında son derece önemlidir.¹⁷¹ Bunun yanı sıra miR20a ve miR20b RB/E2F aracılığıyla yapılan transkripsiyonel regülasyon rolü ile yetişkin KML hastalarında yüksek oranda saptanmıştır.¹⁷² Ancak literatür taramasında miR20a ve miR20b ile ilişkili akut lösemilerde bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bizim çalışmamızda yeni tanı almış hasta grubunda miR20a sağlıklı kontrol grubun göre yüksek saptanırken, benzer şekilde miR20a remisyona girmiş hasta grubunda da sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu. Remisyonadaki

erkek ve kızlar ayrı ayrı sağlıklı kontrol grubu kız ve erkekler ile karşılaştırıldığında da remisyona girmiş hasta grubunda ki erkek ve kızlarda yüksek saptandı.

Yeni tanı alan hasta grubu sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında miR92a anlamlı yüksek bulunurken benzer ilişki remisyona girmiş hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında da saptanmıştır. Ayrıca miR92a yeni tanı almış kız ve erkekler kontrol grubundaki kız ve erkeklerle kıyaslandığında da yeni tanı alan kız ve erkeklerde anlamlı yüksek bulunmuştur. Diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı.

miR20a ve miR92a'nın sağlıklı kontrol gruplarına göre yeni tanı almış ve remisyona girmiş hasta gruplarında yüksek saptanması tıpkı BPH, lenfoma, prostat, meme, akciğer kanserli olgular da olduğu gibi miR20a ve miR92a'nın yüksekliğini akla getirmektedir. Kontrol grubunda miR20b'nin yeni tanı almış olgulara göre yüksek saptanmasının nedeni ile ilişkili bir yayın bulunamadı. Sonuçta tümör anjiogenesizinde de rolü olduğu bilinen miR20a ve miR92a'nın sağlıklı kontrol gruplarına göre yüksek saptanması akut lösemiler içinde yeni bir tedavi ve tanı markırı olarak kullanılabilir olacağını düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda miR20a ya benzer şekilde cinsiyetler arasındaki anlamlı farklılık için ise literatürde bir veri bulunamamıştır.

MiR25 açısından bakıldığında bizim çalışmamızda yeni tanı alan hasta grubu ile remisyona girmiş hastalar ve remisyona girmiş hasta grupları ile sağlıklı kontrol grupları arasında anlamlı farka rastlandı ancak cinsiyet farklılıklarının miR25 açısından önemi olmadığı görüldü . Literatürde miR25 ve lösemi arasında ilişki bulunamadı. Ancak yetişkin çağı büyük B-hücreli lenfomaların da miR25 ekspresyonu önemli ölçüde yüksek saptanmış ve hastaların tanı, tedavi ve takip değerlendirilmelerinde yapılacak çok sayıda çalışma ile kullanılabileceği ileri sürülmüştür.¹⁷³

Bizim çalışmamızda da gruplar arasındaki bu anlamlı farklılık löseminin tanısı, tedavisi ve takibinde yol gösterici önemli bir markır olabilir. Yeni tanı alan ve remisyona girmiş hasta grubundaki bu yüksek değerler hastaların uzun dönem takiplerinde hastalığın prognozu ile ilişkisinin ortaya çıkarılması, relaps risklerinin bulunabilmesi, belki de minimal residüel hastalık(MRD) açısından önemli bir öngörüdür. Ancak çok daha fazla sayıda çalışmaya gereksinim vardır.

MiR30c'nin antitümör aktiviteye sahip doğal öldürücü hücreler (Natural killer(NK)) üzerinde hücrenin aktive olmasını sağlayan hücre reseptörlerini TNF-alfa

ile birlikte uyarıp HMBOX1genini hedefleyerek hepatoma hücrelerine karşı NK hücrelerinin sitotoksik etkisini artırdığı gösterilmiştir.¹⁷⁴ Bu bulgu miR30c'nin tümör süpresör etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca miR30c insan adiposit doku farklılaşmasında insan multipotent adipoz kök hücrelerinde adipoz sırasında miR30c'nin ekspresyonunun arttığı saptanmış ve miR30c'nin aşırı ekspresyonu trigliserid akümülyasyonuna ve adiposit işaretleyici gen indüksiyonuna sebep olduğu görülmüştür.¹⁷⁵

MiR30c yeni tanı alan hasta grubu ile kontrol grubu ve yeni tanı alan hastalarla remisyona girmiş hastaların karşılaştırılmalarında yeni tanı alan olgularda anlamlı yükseklik saptandı. Bu farklılık yeni tanı alan erkek çocuk grubunda daha anlamlı idi. Yeni tanı alan kız ve erkekler ayrı ayrı kontrol grubundaki kız ve erkekler ile karşılaştırıldığında da miR30c yeni tanı hasta grupların da anlamlı yüksekti. Benzer farklılık yeni alan kız ve erkekler remisyondaki kız ve erkekler karşılaştırıldığında da saptandı. Yetişkin yaş grubunda remisyondaki olgular kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kontrol grubunda, yeni tanı almış hastalarla remisyondaki olgular karşılaştırıldığında ise yeni tanı alan olgularda yüksek saptandı. Bu farklılık yetişkin lösemileri ALL ve AML olarak ayrıldığında da devam etti. Tümör süpresör etkiye sahip olduğu literatürde bilinen miR30c'nin kontrol grupları ile karşılaştırıldığında yeni tanı ve remisyondaki hasta gruplarında düşük olması gerekirken bizim çalışmamızda çocuk yaş grubunda yüksek ancak yetişkin yaş grubunda düşük saptandı. Yetişkin gruptaki bu farklılık literatür ile daha uyumlu idi. MiR 30c ile lösemi arasında ve yukarıdaki farklılıkları açıklayacak çalışmaya rastlanmadı.

Multipl sklerozlu hastalar sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldıklarında hasta grubunda miR106b düşük bulundu. Multipl skleroz (MS) merkezi sinir sistemi bileşenlerinin karşı gelişen kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Regülatör T hücreleri otoimmün olayda anahtar rol oynarlar. Bozulmuş T hücre fonksiyonuna oto agresif T hücre klonlarının genişlemesi sebep olmaktadır. Yapılan son dönem çalışmalarda mikroRNA'ların oto immün hastalıkların oluşumunda immün hücrelerin fonksiyonlarının kaybında rolleri olduğu araştırılmış. miR-106b'nin önce CDKN1A/p21 ve BCL2L11/Bim üzerindeki etkisi ile TGF- β sinyalizasyon yolunun modüle ettiği TGF-B ise T regülatör hücrelerin farklılaşması ve olgunlaşmasında rol oynadığı

saptanmış. Sonuç olarak miR106b'nin TGF-β'nin biyolojik fonksiyonları ile MS hastalarında immünite de önemli rol oynadığı saptanmıştır.¹⁷⁶

Sampath ve arkadaşları KLL'li hastalarda miR106b ile birlikte miR34a'yı kontrol grubuna göre düşük saptadımışlardır. Bu düşük düzeyi apoptoz inhibisyonu ile ilişkilendirip anti tümör etkisinden söz etmişlerdir.¹⁷⁷

AML tanısı almış 122 hastayı içeren bir başka çalışmada da sağlıklı kontrollere göre yeni tanı alan hastalarda miR106b düzeyleri düşük saptanmıştır.¹⁷⁸ Multiple myelomlu hasta popülasyonunu içine alan farklı bir çalışmada ise sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında hasta grubunda miR106b daha fazla eksprese edildiği bildirilmiştir.¹⁷⁹ Yetişkin grupta prostat kanserli hastaların dahil edildiği çalışmada bir solid organ tümöründe miR106b ile birlikte miR106a ve miR-17-92 kümesinin tanı anında hastalarda düşük olduğu bildirilmiştir.¹⁸⁰

Bizim çalışmamızda da yeni tanı alan hasta grubu ile remisyondaki hastagrubu ve yeni tanı alan hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında yeni tanı alan hasta grubunda anlamlı yükseklik saptandı. Benzer farklılık yeni tanı kız ile kontrol grubundaki kız ve yeni tanı erkek olgularla kontrol grubundaki erkek olguların karşılaştırılmalarında da saptandı. Ancak cinsiyet açısından kız ve erkek yeni tanı alan olgularla remisyondaki olguların karşılaştırıldığında fark saptanamadı. Yetişkin yaş grubunda remisyondaki olgular kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kontrol grubunda yüksek saptandı.

Sonuç olarak miR106b lösemili hastaların tanı ve remisyon dönemlerinde sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında multiple myelom ve solid organ tümörü olan prostat kanserlerinde olduğu gibi yüksek olduğu bulundu. Bizde literatür ile uyumlu olarak miR106b'nin malignite ile yakın ilişkili olduğunu söyleyebiliriz.

SLE'li hastaları içeren bir çalışmada serumda kontrol grubuna göre miR192 ile birlikte miR200a, miR200b, miR200c, miR429, miR205 ve idrarda miR192 ile birlikte miR200a, miR200c, miR141, miR429 değerleri kontrol grubuna göre düşük olduğu bildirilmiştir.¹⁸¹ Mide kanserli hastalarda da miR192 ve miR215 kontrol grubuna göre yüksek saptanmıştır. Bunun nedeni olarak apoptozla ilişkisinin yanı sıra hücre büyümesi ve migrasyonunda etkisi olduğu ileri sürülmüştür.¹⁸² Yetişkin yaş grubunda yeni tanı alan multiple myeloma'lı hastalarda ise miR192, 194, and 215 düşük olduğu bildirilmiştir.¹⁸³

Akciğer kanseri dokusunu içeren bir çalışmada sağlam alandaki doku ile kıyaslandığında miR192 nin hücre apoptosizni indükleyip, hücre proliferasyonu inhibe eden bir role sahip olduğu ve bu etkisini retinoblastom-1 geni aracılığıyla yaptığı ancak akciğer kanserli dokuda ise düzeyinin normal dokuya göre düşük olduğu böylelikle miR192 nin tümör süpresör bir etkiye sahip olduğu ileri sürülmüştür.¹⁸⁴ MiR192 aynı zamanda insan nöronal hücre serileri ile de ilişkili bulunmuştur.¹⁸⁵ Ancak nöronal sistemin tümöral ve hastalıkları ile ilgili miR192 ile yapılan bir çalışma literatür de bulunamamıştır.

Bizim çalışma grubumuzda miR192 yeni tanı alan hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı ölçüde yeni tanı alan hastalarda yüksek saptanırken, remisyondaki hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında, sağlıklı kontrol grubunda da anlamlı yükseklik saptandı. Yeni tanı alan hastalarla remisyona girmiş hasta grupları arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Sağlıklı kontrol gruplarındaki bu yükseklik ya da remisyondaki hasta grubundaki bu düşük değerin neye bağlı olduğu anlaşılamadı. Literatürde tümör süpresör olarak bilinen miR192'nin bizim çalışmamız da yeni tanı alan ve remisyona girmiş hasta gruplarında sağlıklı kontrollerle ile kıyaslandığında düşük olması gerekirken yüksek saptanması literatür ile uyumlu olmayan bir bulguydu. Remisyon grubunda düşük saptanan miR192'nin kemoterapi etkisi ile hücresel düzeyde meydana gelen değişikliğe bağlı olabileceği düşünüldü. Fakat bunu açıklayacak literatür bulunamadı.

MiR203 ile ilgili yapılan çalışmalarda tümör süpresör etkisinin olduğu saptanmıştır. MiR203 p53 mutant kolorektal kanserli hastalarda apoptozisi indükleyip hücre proliferasyonunu engelleyerek tümör süpresör etkisi ile kolorektal kanserli hastalarda düşük düzeyde bulunduğu bildirilmiştir.¹⁸⁶

Benzer bir çalışmada kolo rektal kanserli olgularda tümör dokusunda miR203 düşük düzeyde saptanırken aynı zamanda tümör boyutu ve tümörün invazyon derecesi ile de anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Farklı bir çalışmada ise mide kanserli olgularda kanserli dokuda miR203 düzeyi düşük olması gerekirken yüksek düzeyde saptanmış bu düzey miR203'ün tümör süpresör etkisi için akılda soru işareti oluşturmuştur. Ayrıca miR203 ile tümörün boyutu, makroskopik tipi ve tümör invazyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bu farklılık da tümörün hücresel tipine bağlanmıştır.¹⁸⁷

miR203 ayrıca prostat kanserli hastalarda normal prostat dokusu ile karşılaştırıldığında tümör süpresör etki ile uyumlu olarak kanserli dokuda daha düşük bulunmuştur. Aynı olguların metastatik prostat kanser dokusunda normal prostatik epitelyum hücrelerine göre miR203 düşük olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak miR 203 prostat kanserinde, yeni bir potansiyel prognostik faktör ve teropatik hedef olabileceği söylenmiştir.¹⁸⁸

Fakat miR203 ayrıca insan embriyonik kök hücrelerinin erken evredeki farklılaşmasın da diğer 4 mikroRNA (miR200a, miR200b, miR205 and miR429) ile birlikte yüksek düzeyde saptanmıştır.¹⁸⁹ miR203'ün mesane kanseri hücre serilerinde ki düzeyinin normal dokularla karşılaştırılmasında düşük olduğu bulunmuştur. Mesane kanserli hücrelerde anti tümör etkisini DNA metilasyonunu sağlayarak yaptığı gösterilmiştir.¹⁹⁰

Bizim hasta grubumuzda ise miR203 yeni tanı alan hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek düzeyde bulundu. Cinsiyet göre bakıldığında yeni tanı alan kız hastalarla sağlıklı kontrol grubundaki kızlar arasında anlamlı fark varken, erkekler arasında bu fark saptanamadı. Bu sonuç miR203 değeri açısından kız çocuklarında daha anlamlı yüksekliğin olduğunu gösterdi.

Tümör süpresör etkili olduğu düşünülen miR203 bizim çalışmamızda özellikle de kız hasta grubunda yüksek bulundu. Bu yüksekliğin nedenini açıklaya bilmek için daha ileri çalışmalara gereksinim olduğunu düşünüyoruz. Embriyonik kök hücrelerin erken evre farklılaşmasında miR203 yüksek düzeyde saptanması kemik iliği kök hücrelerinde de lösemiye bağlı yeni tanı alan hasta grubunda miR203 yüksek değerinin nedeni olabilir. Böyle bir durumda lösemilerin tanısında ve prognoz da önemli bir prognostik markır olabileceği söylenebilir. Yinde de bu konuda da daha çok sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

MiR150 ise diğer (miR146, miR155, miR132) mikroRNA'lar la birlikte bakteriyel sepsisli hastalarda benzer yaş grubunda ki sağlıklı popülasyonla karşılaştırıldığında düşük bulunmuştur. Sepsis patogenezinde ve endotoksin toleransında miR150'nin diğer mikroRNA'larla (miR146, miR155, miR132) birlikte önemli olduğu sonucuna varılmıştır.¹⁹¹

Aynı zamanda miR 150'nin c-Myb gen ekspresyonu yolu ile trombopoetin oluşumunu modüle ettiği, aşırı miR150 ekspresyonunun trombopoetin oluşumunu

azaltarak etki gösterdiği saptanmıştır.¹⁹² Ayrıca miR150 phosphoinositide 3-kinase (PI3K)-AKT yolu aracılığıyla malign lenfomalı hastalarda tümör süpresör etkiye sahip olduğu saptanmış. Bu hastalarda miR150 düşük düzeyde eksprese edildiği bulunmuştur.¹⁹³ MiR150 aynı zamanda T hücre serilerinin gelişmesinde NOTCH3'ü hedefleyerek gelişim basamaklarında önemli rol oynadığı saptanmıştır.¹⁹⁴

Çalışmamızda miR150 yeni tanı alan hastalar sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında yeni tanı alan hasta grubunda yüksek, kız-erkek yeni tanı hastalar ile kız-erkek sağlıklı kontrol grubunun kendi aralarında karşılaştırılmasında kız-erkek yeni tanı alan hastalarda miR 150 sağlıklı kontrol grubundaki kız ve erkeklere göre yüksek olduğu saptandı. Sonuç olarak miR150 yeni tanı alan lösemili hastalarda yüksek saptandı. Bu bulgu literatür de olmayan ilk defa tanımlanan bir bulguydu.

Tümör süpresör etkisi olduğu bilinen ve bu etki daha çok solid organ tümörlerinde yapılan çalışmalarda gösterilen miR150, çalışmamızda literatür ile uyumlu olmayan şekilde yüksek bulundu. Bu yüksek düzeyin miR150'nin trombopoetin oluşumunu azaltarak hastalarımızdaki trombositopeniyi açıklayabileceğini düşünmekteyiz. Ancak miR150'nin kesin fonksiyonunu açıklamak için daha çok sayıda daha çalışmaya ihtiyaç olduğunda belirtmeliyiz.

MiR302c dahil miR130b, miR302a, miR302b, miR302d, miR512-3p and miR515-3p insan epitelial hücrelerinde p21(Waf1/Cip1) ve Ras(G12V) genleri regülasyonuna bağlı olarak yüksek düzeyde eksprese edildiği saptanmıştır.¹⁹⁵ Meme kanserli ve östrojen reseptörü-alfa düşük saptanan hastalarda, reseptörlerin uyarılmasında rolü olan 5 farklı mikroRNA (miR302c, miR18a, miR18b, miR193b, miR206) düşük düzeyde saptanmış ve östrojen reseptör sinyalinin regülasyonun da bu mikroRNA'ların önemli rolleri olduğu görüşüne varılmıştır.¹⁹⁶

Bizim çalışma grubumuzda yeni tanı alan hastalar sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığı zaman yeni tanı hasta grubunda yüksek, yeni tanı alan kız-erkeklerle kontrol grubundaki kız-erkeklerin kendi aralarında karşılaştırılmasında yeni tanı kız-erkek grubunda miR302c yine kontrol grubundaki kız ve erkeklere göre yüksek saptandı.

Yetişkin yaş grubunda remisyondaki hastalarla sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında sağlıklı kontrol grubunda yüksek saptandı. Yeni tanı alan yetişkin hastalarla remisyona giren yetişkin hastalar karşılaştırıldığında çocuk yaş grubundan

farklı olarak yeni tanı alan yetişkin hastalarda miR302c yüksek bulundu. Bu bulgu bizim çocuk yaş grubundaki bulgularla uyumlu değildi. Çocuk ve yetişkin yaş grupları arasındaki bu farkın sebebi saptanamadı. Literatürde bu konuyu açıklayacak bir çalışmaya rastlanmadı. Ancak p21(Waf1/Cip1) ve Ras(G12V) genleri regülasyonun da rolü olduğu bilinen miR302c'nin lösemi gelişimi ile yakın ilişki içinde olabileceğini düşünmekteyiz.

MiR 184 kataraktlı ailesel keratokonuslu hastalarda düşük düzeyde saptanırken miR205 yüksek düzeyde saptanmıştır.¹⁹⁷ Umbrikal kord kanında CD4 T hücre serilerinde miR184'ün NFAT1 (nuclear factor of activated T cells-1) ekspresyonu ile regülasyonu kontrol ettiği saptanmıştır.¹⁹⁸

MiR 184 bizim çalışmamızda grubumuzda yeni tanı alan hastalarla sağlıklı kontrol ve remisyondaki hasta grupları karşılaştırıldığında yeni tanı alan hasta grubunda yüksek saptandı. Aynı zamanda yeni tanı erkek olgular kontrol grubundaki erkek olgularla karşılaştırıldığında yeni tanı alan erkek hastalarda miR184 yine kontrol grubundaki erkeklere göre yüksek bulundu. Ancak kızlar arasında böyle bir fark yoktu. Yetişkin yaş grubunda ise remisyona giren hastalar sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında kontrol grubunda yüksek saptandı.

miR218 ile miR-let7c, miR100 ileri evre ve metastazlı prostat kanserli hastalarda yüksek saptanmıştır.¹⁹⁹ Mide kanserli hastalarda araştırılan miR218 kanserli dokularda normal dokulara göre daha düşük düzeylerde olduğu saptanmıştır. miR218'in hücre proliferasyonu, apoptosiz, hücre siklusunda ve hücrel invazyonda rolü olabileceği düşünülmüş. MiR218 in mide kanserinde tümör süpresör etkisi olabileceği bildirilmiştir.²⁰⁰ miR218 İnsan papavilloma virus (HPV) kaynaklı servikal intraepitelial neoplazili (CIN) kadınlarda düşük bulunmuştur. Bu düşük miR218 düzeyi ile HPV arasında anlamlı bir ilişki bildirilmiştir.²⁰¹ Squamöz hücreli akciğer kanserlerinde de miR218 düşük düzeyde saptanmış özellikle bu öykü sigara içenlerde daha anlamlı saptanmıştır.²⁰²

İleri evre ve metastatik prostat kanserinde yüksek düzeyde saptanan miR218, mide kanseri, servikal intraepitelial neoplazi (CIN) ve squamöz hücreli akciğer kanserinde düşük düzeyde saptanmış olması değişik tümör türü ve evrelerinde farklı sonuçların ortaya çıkabileceğini göstermekte ve miR218'in tümör süpresör etkisini tartışılır hale getirmektedir.

Bizim çalışma grubumuzda miR218 yeni tanı alan hastalarla sağlıklı kontroller ve remisyona girmiş hastalar karşılaştırıldığında yeni tanı alan hasta grubunda yüksek saptandı. Ayrıca yeni tanı kız-erkek olgular kontrol grubundaki kız-erkeklerle kendi aralarında cinsiyet farklılıkları açısından karşılaştırıldığı zaman yeni tanı erkek olgularda miR218 yine kontrol grubundaki erkeklere göre yüksek saptandı. Yeni tanı alan erkek olgular ile remisyondaki erkek olgular karşılaştırıldığında yeni tanı alan erkek olgularda miR218 yüksek saptandı. Ancak kızlar arasında böyle bir fark bulunamadı.

Yetişkin yaş grubunda miR218 remisyondaki hasta grubu ile sağlıklı kontroller karşılaştırıldığında kontrol grubunda yüksek saptandı. Yeni tanı alan yetişkin hastalar, remisyona girmiş hastalarla karşılaştırıldığında çocuk yaş grubundakine benzer şekilde yeni tanı alan hasta grubunda yüksek bulundu. İleri evre ve metastazlı prostat kanserli hastalardaki gibi yüksek değerler bizim çocuk lösemili hasta grupları için miR218'in önemli bir tanı ve tedavi markırı olabileceğini düşündürmekle birlikte bu konuda da daha fazla çalışmaya gereksinim vardır.

Stromal fibroblastlarda PTEN (Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10) ekspresyonu epiteliyal meme tümörü oluşumunu engeller. Ancak bunun alta yatan mekanizması bilinmemektedir. MiR320 PTEN kontrolü aracılığıyla kanser gelişimine engel olduğu saptanmış ve meme kanserli olgularda düşük düzeyde saptanan miR320'nin tümör süpresör aktiviteye sahip olduğu düşünülmüştür.^{203, 204}

Bizim çalışma grubumuzda miR320 yeni tanı alan hastalar sağlıklı kontrollerle ve remisyonda ki hastalar sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında, yeni tanı alan ve remisyondaki hasta gruplarında, kontrol gruplarına göre yüksek saptandı. Ayrıca yeni tanı kız-erkek olgularla kontrol gruplarındaki kız-erkek olguların kendi aralarında karşılaştırılmasında yeni tanı alan erkek olgularda miR320 yine kontrol grubundaki erkeklere göre yüksek saptandı. Ancak kızlar arasında böyle bir fark yoktu. Yeni tanı alan erkek olgularla remisyondaki erkek olgular karşılaştırıldığında da anlamlı fark bulunamadı. Sonuç olarak bizim çalışmamızda Lösemik hastalardaki bu yüksek değer literatür de lösemi ile ilgili saptanan miR320 için ilk anlamlı bulgulardan biri olabilir.

MiR342-3p ile birlikte miR24, miR26a, miR103, miR130b, miR181a, miR574-5p değerleri ağır preeklentik hamile kadınların plazmalarında sağlıklı kontrollere göre yüksek saptanmıştır. Bu mikroRNA'ların TGF-beta ve mitogen-activated protein kinase

yolları aracılığıyla şiddetli preekelemsi de rol oynadığı ve preeklempsinin erken tanısında önemli bir yol gösterici olduğu bildirilmiştir.²⁰⁵ miR342-3p içine alan bir başka çalışmada özefagus kanserli hastalar tedaviden (cisplatin ve 5-fluorouracil) önce ve 24-72 saat sonra karşılaştırıldığında tedavi sonrası süre ve ilaç etkileri açısından miR342-3p dahil miR199a-5p, miR302f, miR320a, miR425, miR455-3p, miR486-3p, miR519c-5p, miR548d-5p, miR617, miR758, miR766, miR1286'da anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.²⁰⁶ Ayrıca idiyopatik prion hastalığı ve glioblastomalı hastalarda miR342-3p yüksek düzeyde bildirilmiştir.^{207,208} KLL'li hastalarda da miR342-3p ile birlikte miR34a, miR155 yüksek saptanırken miR103, miR181a ve miR181b düşük saptanmıştır.²⁰⁸ Multiple miyelom'lu hastalarda da yüksek düzeyde bildirilmiştir.²¹⁰

Bizim çalışma grubumuzda miR342-3p yeni tanı alan hastalar sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında yeni tanı alan olgularda kontrol grubuna göre düşük saptandı. Diğer gruplar arasında fark bulunamadı. Çalışmamızdaki lösemik hastalardaki beklenen yüksek değere karşı saptanan bu düşük değer literatürde miR342-3p ile ilgili yapılan çalışmalarla uyumlu değildi. Düşük miR-342-3p düzeyi belki de çocuk yaş grubunda tümör süpresör etkiye sahip bir mikroRNA olabileceğini düşündürmektedir. Bunun içinde daha çok sayıda çalışmaya gerek vardır.

MiR223 böbrek nakli yapılmış ve nakil sonrası ilk 1 ay içinde gelişen akut rejeksiyonlu olgularda kontrol grubuna göre yüksek saptanmış ve akut rejeksiyonun bir göstergesi olabileceği bildirilmiştir.²¹¹ MiR 223 aynı zamanda özefagus kanserlerinde ki rolü (invasyon-migrasyon) üzerine yapılan çalışma ile kanserli olgularda düşük düzeyde olduğu ve bunun özefagial tümörler için miR223 açısından antitümör aktivitesine sahip olduğu söylenmiştir.²¹² Ayrıca hepatoselüler kanserli ve kronik hepatitli olgular sağlıklı kontroller karşılaştırıldığında miR21, miR122, ve miR223 sağlıklı kontrollerden daha yüksek saptanırken bu yükseklik hastalardaki hepatik hasara bağlanmış ve doku hasarının erken bulgusu olabileceği bildirilmiştir.²¹³ Ayrıca miR223 ve miR146a sistemik inflamauvar yanıt sendromlu (systemic inflammatory response syndrome (SIRS)) hastalarda sağlıklı kontrollere göre daha düşük saptanmış septik hastalarda yeni bir tanı markırı olabileceği bildirilmiştir.²¹⁴

Chiaretti ve arkadaşları yaptıkları çalışmada AML'li hastalarla, T hücreli ALL hastalarını karşılaştırdıklarında AML hasta grubunda miR223 daha yüksek bulunmuş ve akut lösemili hastalarda bir biyolojik markır olabileceği söylenmiştir. miR223 ile

miR142 hemopoetik sisteme spesifik iki mikroRNA olarak bildirilmiştir.²¹⁵ Özellikle miR223 miyeloid hücre serileri ile yakın ilişkili bulunmuştur.²¹⁶ Normal hematopoezde de eritrosit farklılaşmasında LMO2(eritrosit farklılaşma proteini) aracılığıyla miR223'ün önemli rolü olduğu saptanmıştır.²¹⁷

Çocukluk yaş grubunu içine alan başka bir çalışmada miR223 ile miR15-16 kümesinin miyeloid bir markır olmasına rağmen tedavi sırasında kortikosteroidlere bağlı hücre apoptosizini ve hücre siklusundaki arresti artırdığı ve miR15-16 kümesinin inhibisyonu ile kortikosteroid sensitivitesinin azaldığı saptanmıştır. Sonuçta bu kompleks değişikliklerin anti lösemik yeni tedavi rejimlerinin belirlenmesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmüştür.²¹⁸ MiR223 aynı zamanda otoimmün bir hastalık olan romatoid artrit gibi sistemik bir hastalıkta hastaların T lenfositlerinde sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında daha yüksek saptanmıştır. Bunun sonucun da miR223 T lenfositlere biyolojik fonksiyonları ve etkilerinin araştırılması için çok sayıda araştırmaya ihtiyaç olduğu söylenmiştir.²¹⁹ Bir başka çalışmada AML'li olgularla karşılaştırıldığın da ALL'li olgularda miR223 değeri düşük saptanmıştır.²²⁰

Bizim çalışma grubumuzda yeni tanı alan hastalarla sağlıklı kontroller, remisyona girmiş hastalarla sağlıklı kontroller karşılaştırıldığında yeni tanı alan ve remisyonundaki olgularda kontrol gruplarına göre yüksek saptandı. Ancak yeni tanı alan olgularla remisyonundaki olgular arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Ayrıca yeni tanı kız-erkek olgularla kontrol grubundaki kız-erkek olguların kendi aralarında karşılaştırılmasında yeni tanı alan erkek olgularda miR223 kontrol grubundaki erkeklere göre yeni tanı alan erkek olgularda yüksek saptandı. Ancak kızlar arasında böyle bir fark yoktu. Diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı.

Yetişkin yaş grubunda remisyona girmiş hastalarla sağlıklı kontroller karşılaştırıldığı zaman remisyonundaki olgularda yüksek saptandı. Bu sonuçlar literatür de daha önce bildirilen çalışmalarla uyumlu idi. Hasta grubundaki yüksek değerler miR223'ün steroide bağlı apoptozis artışı ve hücre siklusu arresti yoluyla sağ kalımları artırabileceğini düşündürmektedir.

Küçük hücreli olmayan akciğer kanserli vakalar beyin metastazı olan ve olmayan olarak iki gruba ayrılıp karşılaştırıldığında, beyin metastazı olan grupta olmayan gruba göre miR328 daha yüksek oranda bulunmuştur. Bu yükseklik miR328'in

hücre migrasyonu ile ilişkisi olduğunu düşündürmüştü ama bunu açıklamak için daha çok sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir.²²¹

Ayrıca atrial fibrilasyonda miR328 L-tipi kalsiyum kanallarının genleri aracılığıyla elektiriksel aktiviteye ters katkı sağladığı saptanmış. Buna bağlı olarak miR328'ün atrial fibrilasyonda yeni bir tedavi potansiyeli sağlayabileceği söylenmiştir.²²² MiR328 aynı zamanda KML hastalarının blastik kriz evresinde düşük olarak saptanması mikroRNA'nın translasyonel regülasyonun da hnRNP, E2F aracılığıyla rol oynadığını göstermiştir.

Bizim çalışma grubumuzda miR328 yeni tanı alan hastalarla sağlıklı kontroller karşılaştırıldığında yeni tanı alan hasta grubunda yüksek saptandı. Yetişkin yaş grubunda yeni tanı alan hastalar sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında kontrol grubunda yüksek saptandı. Diğer gruplar arasında anlamlı fark yoktu.

miR483-5p ve insülin benzeri büyüme faktörü (insulin-like growth factor 2 (IGF2)) endojen anjiyogenesiz için bir büyüme faktörü inhibitörü olarak etki göstermektedir. Bu konu özellikle iskemik kalp hastalıkları olan hastalarda yeni tedavi stratejilerinin belirlenebilmesi için önemli bir etken olduğu bildirilmiştir.²²⁴ miR483-5q genetik olarak IGF2 lokusunun içerisinde yer alır. miR483-3p alt tipi wilms tümörlü hastaların %100'ne yakın oranında yüksek seviyede saptanmıştır. Ayrıca kolon, meme, ve akciğer kanserli hastaların yaklaşık %30'da yüksek düzeydedir. Antiapoptotik onkogen gibi hareket ederek insanlarda farklı kanser türlerinin ortaya çıkmasında rolü olacağı düşünülen miR483-5p, anti kanser tedavisi için de önemli yeni bir hedef olduğu bildirilmiştir.²²⁵

Bizim çalışma grubumuzda yeni tanı alan hastalarla sağlıklı kontroller ve yeni tanı hastalarla ile remisyondaki hastalar karşılaştırıldığında yeni tanı alan lösemik hastalarda miR483-5p yüksek bulundu. Ayrıca yeni tanı kız-erkek hastalar ile kontrol grubundaki kız-erkek hastalar kendi aralarında karşılaştırılmasında kız-erkek yeni tanı grubunda miR483-5q kontrol grubundaki kız ve erkeklere göre yeni tanı alan grupta yüksek saptandı. Diğer gruplar arasında anlamlı fark yoktu.

Yetişkin yaş grubunda yeni tanı alan hastalar remisyonadaki hastalar karşılaştırıldığında da yeni tanı alan grupta remisyonadaki hastalara göre miR483-5p yüksek bulundu. Ayrıca yeni tanı alan hastalar sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında kontrol grubunda yüksek saptandı. Yeni tanı almış çocuk olgulardaki yükseklik literatür

de ki wilms tümörü başta olmak üzere kolon, meme, akciğer kanserli olgulardaki bulgularla uyumluydu. Bu uyum miR483-5q nin antiapoptotik yani onkogen etkisini doğrulamaktır. Yinede bu konuda daha çok sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

MiR376a cyclin-dependent kinase 2 (CDK2) ve Argonaute 2 (Ago2)'yi hedefleyerek insan eritropoezinin erken evrelerinin regülasyonuna katkıda bulunduğu saptanmış, eritroit ve megakaryositik seri progenitörlerinden köken alan K562 hücrelerinde ve farklı lösemi tipleri arasındaki serilerde de miR376a rastlanmıştır. MiR376a ekspresyona zorlandığı zaman ya da CDK2 veya Ago2 susturulduğu zaman K562 hücrelerindeki eritroit farklılaşmanın inhibe olduğu ve hematopoetik progenitör hücrelerin eritroit koloni geliştirme kapasitesinin önemli bir göstergesi olduğu bulunmuştur. Eritroit indüksiyon artarken miR376a düşük tespit edilmiştir. CDK2'nin ise miR376a inhibisyonuna bağlı serbest kaldığı saptanmıştır. Böylelikle istirahat halindeki progenitör hücrelerin eritroit farklılaşmaya doğru geçişini kolaylaştırdığı, miR376a ile Ago2 arasında işlevsel bir bağlantı olduğu, insan hematopoezinin her alanında yeni rolleri olduğu gösterilmiştir.²²⁶

Bizim çalışma grubumuzda yeni tanı alan hastalarla sağlıklı kontroller karşılaştırıldığında miR376a yeni tanı alan hastalarda yüksek saptandı. Ayrıca yeni tanı alan kız-erkek olgularla kontrol grubundaki kız-erkek olgular kendi aralarında karşılaştırılmasında kız yeni tanı hasta grubunda miR376a kontrol grubundaki kızlara göre yeni tanı alanlarda yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında anlamlı fark yoktu. Yüksek saptanan miR376a düzeyi hasta popülasyonumuz da ki azalmış eritroit kapasite ile ilişkili olabilir. Literatürde ise bu konuda yeterli çalışmaya rastlanmamıştır.

Mide kanserli hastalarda başta miR451 olmak üzere miR199a-3p ve miR195'in ekspresyonları araştırıldığında iyi ve kötü prognoza sahip hastalarda farklı düzeylerde eksprese edildikleri ve özellikle kötü prognozlu hastalarda daha yüksek seviyelerde olduğu bulunmuş, sonuç olarak miR451 in mide kanserinde önemli bir prognostik faktör olduğu bildirilmiştir.²²⁷ MiR451 küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde yüksek saptanmış ancak hastanın evrelemesi, kötü prognozu ve lenf nodu metastazı ile negatif ilişkili olduğu saptanmıştır. MiR451'in aşırı ekspresyonu küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde tümörün invazyon yeteneğini, tümörün migrasyonunu ve hücre siklusunu inhibe ettiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak yüksek düzeylerdeki miR451

düzeyleri küçük hücreli olmayan akciğer kanseri gelişimi ile ilişkili olabileceği söylenmiştir.²²⁸

MiR451'in ayrıca KML hastalarında azalmış seviyesi ve BCR-ABL tyrosine kinase gen ilişkisi bildirilmiştir.²²⁹ MiR 451, miR709 farelerdeki T-ALL de NOTCH1 onkogenesizini güçlü bir şekilde inhibe ederek güçlü bir tümör süpresör etki göstermektedir. NOTCH1 mutasyonuna bağlı ortaya çıkan insan T-ALL olgularında miR451 MYC ekspresyonunu etkilemektedir.²³⁰

Çalışma grubumuzda miR451 yeni tanı alan hastalarla sağlıklı kontroller, remisyondaki hastalarla sağlıklı kontroller karşılaştırıldığında yeni tanı alan ve remisyona giren hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek saptandı. Ancak yeni tanı alan hastalarla remisyondaki hasta grupları arasında fark bulunamadı.

Yetişkin yaş grubunda yeni tanı alan hastalar sağlıklı kontrol grubu, remisyona girmiş hastalarda sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında miR451 yeni tanı alan ve remisyona girmiş hastalarda çocukluk yaş grubundakine benzer şekilde sağlıklı kontrollere göre yüksek saptandı. Diğer gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.

Yetişkin yaş grubunda remisyona girmiş hastalar sağlıklı kontrol grupları ile karşılaştırıldığında da çocuk yaş grubundakine benzer şekilde remisyona girmiş hasta grubunda miR451 yüksek saptandı. Literatürde ki çalışmalar gözden geçirildiğinde solid organ tümörlerinde yüksek düzeyde saptanan miR451'in Hematolojik malignansiler de (KML) düşük saptanması ilginçti. Bizim yeni tanı alan ve remisyonda olan hasta gruplarımızda sağlıklı kontrol gruplarına göre yüksek saptanan düzeyi açıklayacak bir neden yoktu.

miR16 ve miR15 ise BCL-2'yi (antiapoptotic B cell lymphoma 2 protein) hedefleyip apoptozisi indükleyerek etki gösterdiği saptanmıştır. Bu sonuç KLL hastalardaki düşük değerlerle ilişkili bulunmuştur. miR16 ve miR15'in ekspresyonu BCL-2 ekspresyonu ile ters ilişkili olduğu bu mikroRNA'ların (miR16 ve miR15) BCL-2 yi negatif yönde etkileyerek tümör oluşumunu azalttığı ve tümör süpresör etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.²³¹

Çalışma grubumuzda remisyondaki hasta grubu ile sağlıklı kontroller, karşılaştırıldığında miR16 remisyondaki hasta grubunda sağlıklı kontrollere göre daha yüksek saptandı. Ancak yeni tanı alan hastalarla remisyonda olan hastalar arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Ayrıca yeni tanı alan kız-erkek olgular kontrol grubundaki

kız-erkek olgularla cinsiyet farklılığı açısından kendi aralarında karşılaştırılmasında kız çocuklarında yeni tanı alan hasta grubunda miR16 yine sağlıklı kız olgulara göre yüksek saptandı.

Yetişkin yaş grubunda miR16 remisyona girmiş hastalarla sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında miR16 remisyona girmiş hastalarda yüksek saptandı. Diğer gruplar arasında anlamlı fark yoktu. Antitümör etkili olduğu literatür çalışmalarıyla bildirilen miR16'nın bizim çalışmamızda sağlıklı kontrollere göre remisyonda ki çocuk yaş grubunda ve yeni tanı alan kız çocuklarında sağlıklı kontrol grubundaki kız çocuklarına göre yüksek saptanmasını açıklayacak bir bilgi yoktu. Benzer şekilde yetişinde de remisyonda olan hasta grubunda yükseklik saptandı.

Aterosklerotik kalp hastalıklarında sklerotik doku örnekleri ile normal doku örnekleri karşılaştırıldığında sklerotik doku örneklerinde miR27b ile birlikte miR21, miR130a, miR-let-7f ve miR210 önemli derecede artış gösterirken miR221 ve miR222 düzeyleri önemli ölçüde düşük saptanmıştır. Aterosklerotik hastaların serum örnekleri normal kişilerle karşılaştırıldığında miR27b ile birlikte miR130a ve miR210 düzeylerinin yüksek olduğu bunun sonucunda miR27b ve miR130a'nın aterosklerozla yakın ilişkili olduğu tespit edilmiştir.²³²

Chen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da glioma ve glial hücrelerde miR27b'nin düşük düzeyde olduğu saptanmıştır. Düşük düzeydeki bu miR27b'nin glioma hücrelerinin invazyonunun inhibisyonu, apoptosiz indüksiyonu ve hücre büyümesinin tetiklenmesinin inhibisyonunu yaparak etki gösterdiği bildirilmiştir. Sonuç olarak insanlarda miR27b kritik bir faktör olduğu, insanlarda glioma gelişiminde rolü olduğu ve antimümör etkisi olduğu düşünülmüştür.²³³ Ayrıca insanlarda miR27b matriks metalloproteinaz-13 enzimini (matrix metalloproteinase-13) düzenleyen bir role sahip olduğu, düşük miR27b düzeylerinin interlökin-1 beta aktivasyonuna sebep olarak insan osteoartriti ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.²³⁴

Çalışma grubumuzda miR27b remisyonadaki hastalar sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında remisyonadaki hastalarda sağlıklı kontrollere göre yüksek saptandı. Ancak yeni tanı alan hastalarla remisyona giren hastalar arasında miR27b açısından anlamlı bir fark yoktu. Diğer gruplar arasında da anlamlı fark bulunamadı. Remisyon grubumuzdaki hastalarda kontrol grubuna göre yüksekliğin sebebi için daha ileri düzeyde çalışma ve istatistiksel analiz yapılması gerekliliğini düşündürdü.

1953'te James D. Watson ve Francis Crick tarafından DNA'nın bugün kabul görmüş yapısının saptanması ile başlayan genetik yapı artık bir bilim haline gelmiş ve çok hızlı bir şekilde ilerlemektedir. Günümüzde çoğu hastalığın artık genetik yapısı saptanmış insanoğlunun gen haritası tanımlanmıştır. Giderek gelişen bilim dünyası, ilgili genlerin veya bu gen yapı ürünlerinin tespiti ile hastalıkların erken tanısı ve tedavisinde rol oynadığını gösterir hale gelmiştir. Ayrıca bazı hastalıkların gen tedavisi yoluyla tedavi edilebilir olduğu gösterilmiştir. 2000'li yıllarda saptanan mikroRNA'lar ise bu gelişim sürecinin önemli bir boyutudur. Bazı mikroRNA'lar hastalıkların erken tanısı, tedavisi, prognozu hakkında bilim dünyasına önemli yol gösterici bir markır olabilecektir. Ancak bu konuda daha çok sayıda ve geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Gen tedavisi başta olmak üzere yeni tedaviler lösemilerde önemli tedavi değişiklikleri getirebilir. MikroRNA'lar bir ya da birden fazla hedef geni baskılayarak hücrenin gelişim, farklılaşma, çoğalma, ölümü gibi farklı olaylarda rol oynarlar. miRNA genlerinin %50'sinden fazlası kanser ile ilişkilendirilmiş genom üzerinde bulunur.

Yapılan çok sayıda deneysel çalışma; miRNA'ların yeni bir onkogen veya tümör baskılayıcı gen sınıfı oluşturabileceğini göstermiştir. Normal ve patolojik dokular arasında farklı seviyede ifade edilen miRNA'lar tespit edilerek, insan kanserlerinde tanı ve tedavide etkili olabilecek yeni miRNA'lar belirlenebileceği bu çalışma ile gösterilmiştir.

6. SONUÇLAR

1- Çocuk hastaların yaş ortalaması $6,3\pm 4,3$ yaş ve kontrol grubunun yaş ortalaması $6,3\pm 3,1$ yaş olarak belirlenmiş ve istatistiksel olarak hasta ve kontrol gruplarının yaşları benzerdi ($p=0,964$).

2- Çocuk hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet dağılımı istatistiksel olarak benzer bulunmadı ($p=0,141$).

3- ALL'li hasta grubu ile remisyon ve kontrol grubu karşılaştırıldığında hasta grubunda Hb, trombosit değerlerinin beklendiği gibi anlamlı şekilde düşük ($p<0,001$), lökosit değerlerinin anlamlı şekilde yüksek ($p<0,05$) olduğu saptandı.

4- AML'li hasta grubu ile remisyon ve kontrol grubu karşılaştırıldığında hasta grubunda Hb, trombosit değerlerinin beklendiği gibi anlamlı şekilde düşük ($p<0,001$), lökosit değerlerinin anlamlı şekilde yüksek ($p<0,05$) olduğu saptandı.

5- MiR20b, miR3423p ve miR548a ölçümlerinde kontrol grubunun ölçümleri hasta grubunun ölçümlerinden yüksekti

6- MiR7693p, miR16, miR27b ve miR484 microRNA ölçümleri hasta grubunun remisyon anındaki ölçümlerinde kontrol grubundan yüksek bulundu.

7- MiR20a, miR92a, miR192, miR320, miR223 ve miR451 micro RNA ölçümleri remisyon anında da hasta grubunda kontrol grubundan yüksek olduğu saptandı.

8- Tanı sırasında ölçülen miR30c ölçümünün erkek hastalarda kız hastalara göre daha yüksek olduğu görüldü.

9- MiR30c, miR106b, miR25, miR92a, miR16, miR203, miR150, miR302c ve miR4835p microRNA ölçümlerinin kız hastalarda kontrol grubundaki kız çocuklarının değerlerine göre daha yüksek olduğu saptandı.

10- MiR30c, miR106b, miR25, miR92a, miR150, miR302c, miR184, miR218, miR320, miR223 ve miR4835p microRNA ölçümlerinin erkek hastalarda kontrol grubundaki erkek çocuklarının değerlerine göre daha yüksek olduğu görüldü.

11- Hasta grubunda remisyon anında elde edilen ölçümlerle kontrol grubunda elde edilen ölçümler karşılaştırıldığında, kız hastalarda miR20a ve miR376a ölçümleri yüksek bulundu.

12- Hasta grubunda remisyon anında elde edilen ölçümlerle kontrol grubunda elde edilen ölçümler karşılaştırıldığında; erkek hastalarda ise miR20a ve miR106b ölçümleri kontrol grubunun değerlerinden yüksek bulundu.

13- Hasta grubunda tanı ve remisyon anlarında elde edilen ölçümlerin karşılaştırılması sonucunda, kız hastalarda miR30c ölçümü tanı sırasındaki değerlerinin remisyon anındaki değerlerinden daha yüksek olduğu saptandı.

14- Erkek hastalarda ise miR30c, miR25, miR218 ve miR381 ölçümlerinin tanı sırasındaki değerlerinin remisyon anındaki değerlerinden daha yüksek olduğu saptandı.

15- Yetişkin hastaların yaş ortalaması $52,9 \pm 11,5$ yaş ve kontrol grubunun yaş ortalaması $52,8 \pm 10,3$ yaş olarak belirlenmiş ve istatistiksel olarak hasta ve kontrol gruplarının yaşları benzer bulunmuştur ($p=0,981$).

16- Yetişkin hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet dağılımı istatistiksel olarak benzer bulundu ($p=0,123$).

17- MiR328 ölçümünde, kontrol grubu yetişkin hasta grubundan daha yüksek değer saptandı.

18- MiR451 yetişkin hasta grubunda kontrol grubunun ölçümlerinden daha yüksek bulundu.

19- Yetişkin hastaların remisyon anındaki ölçümleri ile kontrol grubunun değerleri karşılaştırıldığında; miR30c, miR106b, miR302c, miR184, miR218 ve miR4835p ölçümlerinde kontrol grubunun değerleri daha yüksekti.

20- Yetişkin hastaların remisyon anındaki ölçümleri ile kontrol grubunun değerleri karşılaştırıldığında; miR16, miR223 ve miR451 ölçümlerindeyse hasta grubunun microRNA değerinin kontrol grubundan daha yüksek olduğu bulundu.

21- Yetişkin hastaların tedavi sırasındaki ve remisyon anındaki ölçümleri karşılaştırılmak istendiğinde miR30c, miR302c, miR218 ve miR4835p ölçümlerinde

remisyon anında tedavi sırasındaki ölçüme göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş saptandı.

22- Yetişkin hasta grubunda iki lösemi tipi arasında microRNA değeri yönünden bir istatistiksel farklılık saptanmadı.($p>0.005$)

23- Yetişkin ALL hastalarında miR30c ve miR106b ölçümlerinde remisyon anında bir düşüş gözlemlendi

24- Yetişkin AML hastalarında sadece miR30c ölçümünde remisyon anında bir düşüş gözlemlendi.

KAYNAKLAR

1. **Lanzkowsky P.** *Manuel Pediatric of Hematology and Onkology* 5th Ed., San Diego: Academic pres., **2011**:518-565
2. **Levis B, Sallan SE.** Acute lymphoblastic leukemia. In: Oski FA, Nathan DG Eds. *Onkology of Infancy and Childhood*, Philadelphia: Saunders Co, **2009**: 297-331.
3. **Margolin JF, Steuber CP, Poplack DG.** Acute lymphoblastic leukemia. In: Pizzo PA, Poplack DG, Eds. *Principles and Practice of Pediatric Oncology*, 4th Ed. Philadelphia: Lippincott, **2002**: 489-544.
4. **Crist WM, Smithson WA.** The leukemias. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (eds), *Nelson Textbook of Pediatrics* 17th Ed. Philadelphia: WB Saunders, **2002**: 487;1694-1698.
5. **Leslie S. Kean, Robert J. Arceci and William G. Woods.** Acute myeloid leukemia. Robert J. Arceci, Ian M. Hann, Owen P. *Smith Pediatric Hematology*, 3th Ed., by Blackwell Publishing Ltd. **2006**: 360-383
6. **Niemeyer CM, Sallan SE.** Acute lymphoblastic leukemia. In: Nathan DG, Orkin SH (eds), Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. Philadelphia: WB Saunders, **1998**: 1245-85.
7. **Owen P. Smith and Ian M. Hann.** Clinical features and therapy of lymphoblastic leukemia. Robert J. Arceci, Ian M. Hann, Owen P. *Smith Pediatric Hematology*, 3th Ed., by Blackwell Publishing Ltd **2006**: 450-481.
8. **Silverman BL, Sallan SE.** Acute lymphoblastic leukemia. In: Nathan DG, Orkin SH, Ginsburg D, Look TA, Eds. Hematology of infancy and childhood, 6th Ed., Philadelphia: WB Saunders Co, **2003**:1135-1166.
9. **Couto E, Chen B, Hemminki K.** Association of childhood acute lymphoblastic leukemia with cancers in family members. *Br J Cancer* **2005**;93:1307-1309.
10. **Pui CH.** Genetics findings in childhood acute lymphoblastic leukemia: prognostic and therapeutic implications. *Trends in Onco- Hematology* **1996**: 4: 72-74.
11. **Rooney DH, Czepulkowski B, Gibbons B.** Human Cytogenetics, Malignancy and Acquired Abnormalities. *The Practical Approach Series, Oxford University Press*, **2001**.
12. **Deviren A.** Hematolog Olmayanlar İçin Hematolojik Maliniteler. *Sempozyum Dizisi*. **2005**: 75-81.
13. **Kirsh IR.** Molecular biology of leukemias. *Peadiatr Clin North Am*. **1988**: 35(49): 693-727.
14. **Dieter H, Gökbuğet N, Ottmann O, Pui CH.** Akut lymphoblastic Leukemia. *Amer Soc. Hematol edu. book*, New York. **2002**:162-189.
15. **Ribeiro RC, Pui CH.** Prognostic factors in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Pathol*. **1993**;7:121-42.
16. **Pui CH, Evans WE.** Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* **1998**:339:605-15
17. **Dick FR.** Diagnostic concurrence in the subclassification of adult acute leukemia using FAB criteria. *Canser* **1982**; 49:916-920
18. **Kinney MC, Lukens JN.** Clasification and differentiation of acute leukemias. In Lee GR, Foerster J. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 6th Ed., Wiliams and Wilkins comp. **1999**:2209-2224

19. **Weinstein HJ, Tarbell NJ.** Leukemias and lymphomas of childhood. In: Devita VT, Rosenberg SA, *Cancer Principles & Practice of Oncology* 6th Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, **2001**;2235-56.
20. **Kebriaei P, Anastasi J, Larson AR.** Acute lymphoblastic leukemia: diagnosis and classification. *Best Practice&Res Clin Haematol*; **2003**;597-621.
21. **Dordelmann M, Schrappe M, Reiter A, Zimmermann M, Graf N, Schott G, Lampert F.** Down's syndrome in childhood acute lymphoblastic leukemia: clinical characteristics and treatment outcome in four consecutive BFM trials. Berlin–Frankfurt–Munster Group. *Leukemia* **1998**;12:645–51.
22. **Mainzer R, Taybi H.** Thymic enlargement and pleural effusion: an unusual roentgenographic complex in childhood leukemia. *Am J Roentgenol* **1971**;112:35–9.
23. **Greydanus DE, Burgert O, Gilchrist GS.** Hypothalamic syndrome in children with acute lymphocytic leukemia. *MayoClin Proc* **1978**;53:217–22.
24. **Gunther R, Chelstrom LM, Tuel-Ahlgren L, Simon J, Myers DE, Uckun FM.** Biotherapy for xenografted human central nervous system leukemia in mice with severe combined immunodeficiency using B43 (anti-CD19)-pokeweed antiviral protein immunotoxin. *Blood* **1995**;85:2537–45.
25. **Schrappe M, Beck J, Brandeis WE, Feickert HJ, Gadner H, Graf N, Havers W, Henze G, Jobke A, Kornhuber B.** Treatment of acute lymphoblastic leukemia in young age: results of multicenter study ALL-BFM 81. *Klin Paediatr* **1987**;199:133–8.
26. **Hughes RG.** Major bone lesions in acute lymphoblastic leukemia. *Med Pediatr Oncol* **1982**;10:67–70.
27. **Kushner DC, Weinstein HJ, Kirkpatrick JA.** The radiologic diagnosis of leukemia and lymphoma in children. *Semin Oncol* **1980**;15:316–34.
28. **Murphy RG, Greenberg ML.** Osteonecrosis in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* **1990**;65:1717–21.
29. **Katz JA, Milton L, Wagner MI, Gresik MV, Mahoney DH Jr, Fernbach D.** Typhlitis: an 18-year experience and postmortem review. *Cancer* **1990**;65:1041–7.
30. **Weetman RM, Baehner RL.** Latent onset of clinical pancreatitis in children receiving Lasparaginase therapy. *Cancer* **1974**;34:780–5.
31. **Shamberger RC, Weinstein HJ, Delorey MJ, Lavery RH.** The medical and surgical management of typhlitis in children with acute nonlymphocytic (myelogenous) leukemia. *Cancer* **1986**;57:603–9.
32. **Boddie AWJ, Bines SD.** Management of acute rectal problems in leukemic patients. *J Surg Oncol* **1986**;33:53–6.
33. **Arico M, Maggiore G, Silini E Bono, F, Vigano C.** Hepatitis C virus infection in children treated for acute lymphoblastic leukemia. *Blood* **1994**;84:2919–22.
34. **Schachat A, Markowitz JA.** Ophthalmic manifestations of leukemia. *Arch Ophthalmol* **1989**;107:697–700.
35. **Lo Curto M, D'Angelo P, Lumia F, Provenzano G, Zingone A.** Leukemic ophthalmopathy: a report of 21 pediatric cases. *Med Pediatr Oncol* **1994**;23:813.

36. **Leonardy NJ, Rupani M, Dent G, Klintworth GK.** Analysis of 135 autopsy eyes for ocular involvement in leukemia. *Am J Ophthalmol* **1990**;109:436–44
37. **Lichtman M, Rowe J.** Hyperleukocytic leukemias: rheological, clinical and therapeutic considerations. *Blood* **1982**;60:279–83.
38. **Strauss RA, Gloster ES, McCallister JA, Jimenez JF, Neuberg RW, Berry DH.** Acute cytoreduction techniques in the treatment of hyperleukocytosis associated with childhood hematologic malignancies. *Med Pediatr Oncol* **1985**;13:346–51.
39. **Lipshultz SE, Colan SD, Gelber RD, Perez-Atayde AR, Sallan SE, Sanders SP.** Late cardiac effects of doxorubicin therapy for acute lymphoblastic leukemia in childhood. *N Engl J Med* **1991**;324:808–15.
40. **Miller DR, Leikin SL, Albo VC.** Three versus five years of maintenance therapy are equivalent in childhood acute lymphoblastic leukemia: A report from the Childrens Cancer Study Group. *J Clin Oncol* **1989**; 7: 316-325.
41. **Pui CH, Dahl G, Bowman WP.** Elective testicular biopsy during chemotherapy for childhood leukemia is of no clinical value. *Lancet* **1985**; 2: 410-412.
42. **Chessells JM, Bailey C, Richards SM.** The Medical Research Council Working Party on Childhood Leukemia. Intensification of treatment and survival of all children with lymphoblastic leukemia: results of UK Medical Research Council trial UKALL X. *Lancet* **1995**;345:143-148.
43. **Chen CS, Sorenson PHB, Domer PH.** Molecular rearrangements on chromosome 11q23 predominate in infant acute lymphoblastic leukemia and are associated with specific biologic variables and poor outcome. *Blood* **1993**; 81: 2386-2393
44. **Crist W, Pullen J, Boyett J.** Clinical and biologic features predict a poor prognosis in acute lymphoid leukemias in infants: A Pediatric Oncology Group Study. *Blood* **1986**;67:135-140.
45. **Chessells JM, Harrison CJ, Kempinski H.** MRC Childhood Leukemia working party. Clinical features, cytogenetics and outcome in acute lymphoblastic and myeloid leukemia of infancy: report from MRC Childhood Leukemia working party. *Leukemia* **2002**;16:776-84.
46. **Schrapppe M, Reiter A, Ludwig WD.** Improved outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia despite reduced use of anthracyclines and cranial radiotherapy: results of trial ALL-BFM90. *Blood* **2000**;95:3310-22
47. **Crist W, Pullen J, Boyett J.** Acute lymphoblastic leukemia in adolescents: clinical and biologic features predict a poor prognosis – A Pediatric Oncology Group study. *J Clin Oncol* **1988**; 6: 34-43.
48. **Reilly Y, Odame I, McColl JH.** Does weight for height have prognostic significance in children with acute lymphoblastic leukemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol* **1994**; **16**: 225-230.
49. **Viana MB, Murao M, Ramos G.** Malnutrition as a prognostic factor in lymphoblastic leukemia: a multivariate analysis. *Arch Dis child* **1994**;71:304-310.
50. **Pui CH.** Childhood and adolescent Lymphoid and Myeloid Leukemia. *Amer Soc Haematol, Philadelphia.* **2004**;118-145.
51. **Kersey JH.** Fifty years of studies of the biology and therapy of childhood leukemia. *Blood*, **1997**;90:4243-4251.
52. **Volm MD, Tallman MS.** Developments in the treatment of acute leukemia in adults. *Curr Opin Oncol*, **1995**;7:28-35.

53. **Huntly B.** *Pathobiology of acute myeloid leukemia* in *Hematology: Basic principles and practice*. Philadelphia. Elsevier Inc **2005**;1057-1070.
54. **Wingard SA.** Hosts and symptoms of ring spot, a virus disease of plants. *J Agric Res* **1928**; 37:127.
55. **Bodur E, Demirpençe E.** Kodlanmayan RNA'lar ve gen susturulması. *Hacettepe Tıp Dergisi* **2010**;41:82-89.
56. **Tuschl T.** RNA interference and small interfering RNAs. *Chembiochem* **2001**; 2:239-45.
57. **Dykxhoorn DM, Novina CD, Sharp PA.** Killing the messenger: short RNAs that silence gene expression. *Nat Rev Mol Cell Biol* **2003**;4:457-67.
58. **Achenbach TV, Brunner B, Heermeier K.** Oligonucleotide-based knockdown technologies: antisense versus RNA interference. *Chembiochem* **2003**;4:928-35.
59. **Pehlivan S, Durmaz B, Aykut A.** Küçük RNA'ların etki mekanizması ve önemi. *Arşiv* **2006**;15:30.
60. **Fire A.** Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* **1998**;391:806–811.
61. **Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R.** Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible cosuppression of homologous genes in trans. *Plant Cell* **1990**;2:279–289.
62. **Van der Krol AR.** Flavonoid genes in petunia: addition of a limited number of gene copies may lead to a suppression of gene expression. *Plant Cell* **1990**;2:291–299.
63. **Dalmay T.** SDE3 encodes an RNA helicase required for post-transcriptional gene silencing in *Arabidopsis*. *Embo J.* **2001**; 20:2069–2078.
64. **Mourrain P.** *Arabidopsis* SGS2 and SGS3 genes are required for posttranscriptional gene silencing and natural virus resistance. *Cell* **2000**; 101: 533–542.
65. **Waterhouse PM, Wang MB, Lough T.** Gene silencing as an adaptive defence against viruses. *Nature* **2001**; 411: 834–842.
66. **Tabara H, et al.** The rde-1 gene, RNA interference, and transposon silencing in *C. elegans*. *Cell* **1999**; 99:123–132.
67. **Ketting RF.** Mut-7 of *C. elegans*, required for transposon silencing and RNA interference, is a homolog of Werner syndrome helicase and RNaseD. *Cell* **1999**; 99:133–141.
68. **Sijen T, Plasterk RH.** Transposon silencing in the *Caenorhabditis elegans* germ line by natural RNAi. *Nature* **2003**; 426:310–314.
69. **Zeng Y, Cullen BR.** RNA interference in human cells is restricted to the cytoplasm. *RNA* **2002**; 8:855–860.
70. **Hammond SM.** Argonaute2, a link between genetic and biochemical analyses of RNAi. *Science* **2001**; 293:1146–1150.
71. **Kawasaki H, Taira K.** Induction of DNA methylation and gene silencing by short interfering RNAs in human cells. *Nature* **2004**; 431: 211–217.
72. **Morris KV.** Small interfering RNA-induced transcriptional gene silencing in human cells. *Science* **2004**; 305:1289–1292.
73. **Narry KV.** Small RNAs: Classification, Biogenesis, and Function, *Mol. Cells* **2005**; 19:1-15.

74. Saydam F, Değirmenci İ, Güneş HV. Mikro RNA'lar ve kanser. *Dicle Medical Journal* **2011**;38(1):113-120.
75. Shenouda SK, Alahari SK. MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor. *Cancer Metastasis Rev.* **2009**;28:369-378.
76. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* **1993**; 75: 843-854.
77. Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science* **2001**; 294: 797-799.
78. Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* **2000**;403, 901-906.
79. Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F. Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature* **2000**;408:86-89.
80. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* **2001**;294:853-858.
81. Kwak PB, Iwasaki S, Tomari Y. The microRNA pathway and cancer. *Cancer Sci* **2010**; 101: 2309-2315.
82. Lee Y, Ahn C, Han J. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* **2003**; 425:415-419.
83. Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* **2006**;6:259-269.
84. Lund E, Guttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science* **2004**; 303:95-98.
85. Zhang H, Kolb FA, Brondani V, Billy E, Filipowicz W. Human Dicer preferentially cleaves dsRNAs at their termini without a requirement for ATP. *Embo J.* **2002**; 21:5875-5885.
86. Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature* **2001**; 409:363-366.
87. Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell* **2005**;123:631-640.
88. Sun W, Li YSJ, Huang HD, Shyy JYJ, Chien S. microRNA: A Master Regulator of Cellular Processes for Bioengineering Systems. *Annu Rev Biomed Eng* **2010**;12:1-27
89. Pillai RS. MicroRNA function: multiple mechanisms for a tiny RNA. *RNA* **2005**;11:1753-1761.
90. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M. Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* **2002**; 99:15524-15529.
91. Wijnhoven BP, Michael MZ, Watson DI. MicroRNAs and cancer. *Br J Surg* **2007**; 94: 23-30.
92. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* **2004**;101:2999-3004.
93. Michael MZ, O'Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res* **2003**;1: 882-891.

94. **Le Quesne J, Caldas C.** Micro-RNAs and breast cancer. *Molecular Oncology* **2010**; 4: 230-241.
95. **Metzler M, Wilda M, Busch K, Viehmann S, Borkhardt A.** High expression of precursor microRNA-155/BIC RNA in children with Burkitt lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer* **2004**; 39: 167-169.
96. **Chan JA, Krichevsky AM, Kosik KS.** MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. *Cancer Res* **2005**; 65: 6029-6033.
97. **He H, Jazdzewski K, Li W.** The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* **2005**; 102: 19075-19080.
98. **Sevli S, Uzumcu A, Solak M.** The function microRNAs, small potent molecules in human prostate cancer. *Prostate Cancer P D* **2010**;13: 208-217.
99. **Hayashita Y, Osada H, Tatematsu Y.** A polycistronic microRNA cluster, miR-17-92, is overexpressed in human lung cancers and enhances cell proliferation. *Cancer Res* **2005**; 65: 9628-9632.
100. **Murakami Y, Yasuda T, Saigo K.** Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in hepatocellular carcinoma and non-tumorous tissues. *Oncogene* **2006**; 25: 2537-2545.
101. **Cowland JB, Hother C, Gronbaek K.** MicroRNAs and cancer. *APMIS* **2007**; 115:1090 -1106.
102. **Cimmino A, Calin GA, Fabbri M.** miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci USA* **2005**;102:13944-13949.
103. **Johnson SM, Grosshans H, Shingara J.** RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell* **2005**;120: 635-647.
104. **Lee YS, Dutta A.** The tumor suppressor microRNA let-7 represses the HMGA2 oncogene. *Genes Dev* **2007**; 21:1025-1030.
105. **Sampson VB, Rong NH, Han J.** MicroRNA let-7a down-regulates MYC and reverts MYC induced growth in Burkitt lymphoma cells. *Cancer Res* **2007**; 67:9762-9770.
106. **Calin GA, Ferracin M, Cimmino A.** A microRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* **2005**; 353:1793-801
107. **Lin PY, Yu SL, Yang PC.** MicroRNA in lung cancer. *Brit J Cancer* **2010**;103:1144-1148.
108. **Iorio MV, Ferracin M, Liu CG.** MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res* **2005**; 65:7065-7070.
109. **Garzon R, Volinia S, Liu CG.** MicroRNA signatures associated with cytogenetics and prognosis in acute myeloid leukemia. *Blood* **2008**;111:3183-3189.
110. **Mott JL, Kobayashi S, Bronk SF.** Mir-29 regulates Mcl-1 protein expression and apoptosis. *Oncogene* **2007**; 26:6133-140.
111. **Bruchova H, Merkerova M, Prchal JT.** Aberrant expression of microRNA in polycythemia vera. *Haematologica* **2008**; 93:1009-1016.
112. **Lui WO, Pourmand N, Patterson BK, Fire A.** Patterns of known and novel small RNAs in human cervical cancer. *Cancer Res* **2007**;67:6031-6043.
113. **Slaby O, Svoboda M, Fabian P.** Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer. *Oncology* **2008**; 72:397-402.

114. **Lin T, Dong W, Huang J.** MicroRNA-143 as a tumor suppressor for bladder cancer. *J Urol* **2009**;181:1372-1380.
115. **Amaral FC, Torres N, Saggioro F.** MicroRNAs differentially expressed in ACTH-secreting pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* **2009**;94:320-323.
116. **Tam W, Ben-Yehuda D, Hayward WS.** BIC, a novel gene activated by proviral insertions in avian leukosis virus-induced lymphomas, is likely to function through its noncoding RNA. *Mol Cell Biol* **1997**;17:1490-1502.
117. **Eis PS, Tam W, Sun L.** Accumulation of miR-155 and BIC RNA in human B cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci USA* **2005**;102:3627-3632.
118. **Kluiver J, Poppema S, de Jong D.** BIC and miR-155 are highly expressed in Hodgkin, primary mediastinal and diffuse large B cell lymphomas. *J Pathol* **2005**;207:243-49.
119. **Gironella M, Seux M, Xie MJ.** Tumor protein 53-induced nuclear protein 1 expression is repressed by miR-155, and its restoration inhibits pancreatic tumor development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2007**;104:16170-16175.
120. **Ciafre SA, Galardi S, Mangiola A.** Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma. *Biochem Biophys Res Commun* **2005**; 334:1351-1358.
121. **Volinia S, Calin G, Liu CG.** A microRNA expression signature in human solid tumors defines cancer targets. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**;103:2257-2261.
122. **Meng F, Henson RH, Wehbe-Janek H.** MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology* **2007**;133:647-658.
123. **Loffler D, Brocke-Heidrich K, Pfeifer G.** Interleukin-6 dependent survival of multiple myeloma cells involves the Stat3-mediated induction of microRNA-21 through a highly conserved enhancer. *Blood* **2007**;110:1330-1333.
124. **Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, Ghoshal K, Jacob ST, Patel T.** MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology* **2007**;133:647-658.
125. **Frankel LB, Christoffersen NR, Jacobsen A.** Programmed cell death 4 (PDCD4) is an important functional target of the microRNA miR-21 in breast cancer cells. *J Biol Chem* **2008**; 283:1026-1033
126. **He L, Thomson JM, Hemann MT.** A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature* **2005**; 435:828-833.
127. **Mendell JT.** miRiad roles for the miR-17-92 cluster in development and disease. *Cell* **2008**;133:217-222.
128. **O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI, Dang CV, Mendell JT.** c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature* **2005**; 435:839-843.
129. **Lee YS, Dutta A.** MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol* **2009**; 4:199-227
130. **Vaslatou D, Papageorgiou S, Pappa V.** The role of microRNAs in normal and malignant hematopoiesis. *European journal of haematology* **2009**; 84:1-16
131. **Lee RC, Ambros V.** An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science* **2001**; 294:862- 4.

132. **Waldman SA, Terzic A.** A study of microRNAs in silico and in vivo: diagnostic and therapeutic applications in cancer. *FEBS J* **2009**; 276:2157–64.
133. **Costinean S, Zanesi N, Pekarsky Y, Tili E, Volinia S, Heerema N, Croce CM.** Pre-B cell proliferation and lymphoblastic leukemia/high-grade lymphoma in E(mu)-miR155 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* **2006**; 103:7024–9.
134. **Ramkinssoon SH, Mainwaring LA, Ogasawara Y, Keyvanfar K, Philip McCoy J Jr, Sloand EM, Kajigaya S, Young NS.** Hematopoietic-specific microRNA expression in human cells. *Leuk Res* **2005**; 30:643–7.
135. **Chen C, Li L, Lodish HF, Bartel DP.** MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science* **2004**; 303:83–6.
136. **Monticelli S, Ansel KM, Xiao C.** MicroRNA profiling of the murine hematopoietic system. *Genome Biol* **2005**; 6:71.
137. **Zhou B, Wang S, Mayr C, Bartel DP, Lodish HF.** miR-150, a microRNA expressed in mature B and T cells, blocks early B cell development when expressed prematurely. *Proc Natl Acad Sci USA* **2007**;104:7080–5.
138. **Xiao C, Calado DP, Galler G, Thai TH, Patterson HC, Wang J, Rajewsky N, Bender TP, Rajewsky K.** MiR-150 controls B cell differentiation by targeting the transcription factor c-Myb. *Cell* **2007**;131:146–59.
139. **Tam W, Ben-Yehuda D, Hayward WS.** BIC, a novel gene activated by proviral insertions in avian leukemia virus-induced lymphomas, is likely to function through its noncoding RNA. *Mol Cell Biol* **1997**;17:1490–502.
140. **Fabbri M, Croce CM, Calin GA.** MicroRNAs in the ontogeny of leukemias and lymphomas. *Leuk Lymphoma* **2009**; 50:160–70.
141. **Thai TH, Calado DP, Casola S.** Regulation of the germinal center response by microRNA-155. *Science* **2007**; 316:604–8.
142. **Rodriguez A, Vigorito E, Clare S.** Requirement of bic / microRNA-155 for normal immune function. *Science* **2007**; 316:608–11.
143. **Georgantas RW III, Hildreth R, Morisot S, Alder J, Liu CG, Heimfeld S, Calin GA, Croce CM, Civin CI.** CD34+ hematopoietic stem-progenitor cell microRNA expression and function: a circuit diagram of differentiation control. *Proc Natl Acad Sci USA* **2007**;104:2750–5.
144. **Fazi F, Rosa A, Fatica A, Gelmetti V, De Marchis ML, Nervi C, Bozzoni I.** A minicircuitry comprised of micro-RNA-223 and transcription factors NFI-A and C/EBPalpha regulates human granulopoiesis. *Cell* **2005**;123:819–31.
145. **Fukao T, Fukuda Y, Kiga K, Sharif J, Hino K, Enomoto Y, Kawamura A, Nakamura K, Takeuchi T, Tanabe M.** An evolutionarily conserved mechanism for microRNA-223 expression revealed by microRNA gene profiling. *Cell* **2007**;129:617–31.
146. **Johnnidis JB, Harris MH, Wheeler RT, Stehling-Sun S, Lam MH, Kirak O, Brummelkamp TR, Fleming MD, Camargo FD.** Regulation of progenitor cell proliferation and granulocyte function by microRNA-223. *Nature* **2008**; 451:1125–9.
147. **Fontana L, Pelosi E, Greco P, Racanicchi S, Testa U, Liuzzi F, Croce CM, Brunetti E, Grignani F, Peschle C.** MicroRNAs 17-5p-20a-106a control monocytopoiesis through AML1 targeting and M-CSF receptor upregulation. *Nat Cell Biol* **2007**; 9:775–87.

148. Felli N, Fontana L, Pelosi E. MicroRNAs 221 and 222 inhibit normal erythropoiesis and erythroleukemic cell growth via kit receptor down-modulation. *Proc Natl Acad Sci USA* **2005**;102:18081–6.
149. Bruchova H, Yoon D, Agarwal AM, Mendell J, Prchal JT. Regulated expression of microRNAs in normal and polycythemia vera erythropoiesis. *Exp Hematol* **2007**;35: 1657–67.
150. O'Connell RM, Rao DS, Chaudhuri AA, Boldin MP, Taganov KD, Nicoll J, Paquette RL, Baltimore D. Sustained expression of microRNA-155 in hematopoietic stem cells causes a myeloproliferative disorder. *J Exp Med* **2008**; 205:585–94.
151. Dore LC, Amigo JD, Dos Santos CO. A GATA-1- regulated microRNA locus essential for erythropoiesis. *Proc Natl Acad Sci USA* **2008**;105:3333–8.
152. Felli N, Pedini F, Romania P. MicroRNA 223-dependent expression of LMO2 regulates normal erythropoiesis. *Haematologica* **2009**;94:479–86.
153. Garzon R, Pichiorri F, Palumbo T. MicroRNA fingerprints during human megakaryocytopoiesis. *Proc Natl Acad Sci USA* **2006**;103:5078–83.
154. Labbaye C, Spinello I, Quaranta MT. A three-step pathway comprising PLZF/ miR-146a /CXCR4 controls megakaryopoiesis. *Nat Cell Biol* **2008**;10:788–801.
155. Ben-Ami O, Pencovich N, Lotem J, Levanon D, Groner Y. A regulatory interplay between miR-27a and Runx1 during megakaryopoiesis. *Proc Natl Acad Sci USA* **2009**; 106:238–43.
156. Debernardi S, Skoulakis S, Molloy G, Chaplin T, Dixon-McIver A, Young BD. MicroRNA miR-181a correlates with morphological sub-class of acute myeloid leukaemia and the expression of its target genes in global genome-wide analysis. *Leukemia* **2007**; 21:912–6.
157. Garzon R, Pichiorri F, Palumbo T. MicroRNA gene expression during retinoic acid-induced differentiation of human acute promyelocytic leukemia. *Oncogene* **2007**; 26:4148–57.
158. Mi S, Lu J, Sun M. MicroRNA expression signatures accurately discriminate acute lymphoblastic leukemia from acute myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* **2007**;104:19971–6.
159. Bellon M, Lepelletier Y, Hermine O, Nicot C. Deregulation of microRNA involved in hematopoiesis and the immune response in HTLV-I adult T-cell leukemia. *Blood* **2009**;113:4914–7.
160. Fazi F, Racanicchi S, Zardo G. Epigenetic silencing of the myelopoiesis regulator microRNA-223 by the AML1/ETO oncoprotein. *Cancer Cell* **2007**;12:457–66.
161. Ventura A, Young AG, Winslow MM. Targeted deletion reveals essential and overlapping functions of the miR-17 through 92 family of miRNA clusters. *Cell* **2008**;132:875–86.
162. Rubnitz je, Pui CH. Recent advances in the treatment and understanding of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Treat Rev* **2003**;29:31-44
163. Ma SK, Wan TS. Cytogenetics and molecular genetics of childhood leukemia. *Hematol Oncol* **1999**;17:91-105
164. Suk WA, Muray K, Avakian MD. Environmantel hazards to children's health in the modern world . *Mutat Res* **2003**;544:235-242
165. Tunalı NE, Tiryakioğlu NO. Kanserde Mikro RNA'nın rolü. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* **2010**;30(5):1690-700

166. **Cocco C, Airoidi I.** Cytokines and microRNA in pediatric B-acute lymphoblastic leukemia. *Cytokine Growth Factor Rev.* **2011**;641;8
167. **Wang Y, Li Z.** MicroRNAs expression signatures are associated with lineage and survival in acute leukemia. *Blood cells, Molecules and Disease.* **2010**; 44;191-197
168. **Kluiver J, Kroesen BJ.** The role of microRNAs in normal and hematopoietic malignancies. *Leukemia* **2006**; 20;1931-1936
169. **Fan X, Liu Y, Jiang J.** miR-20a promotes proliferation and invasion by targeting APP in human ovarian cancer cells. *Acta Biochim Biophys Sin* **2010**; 42 318-324
170. **Pesta M, Klecka J, Kulda V.** Importance of miR-20a Expression in Prostate Cancer Tissue. *Anticancer Res* December **2010**;30 (12); 5271-5446.
171. **Bonauer A, Dimmeler S.** The microRNA-17~92 cluster. *Cell Cycle* **2009**; 23; 3866-3873
172. **Satoh J, Tabunoki H.** Comprehensive analysis of human microRNA target Networks. *Bio Data mining* **2011**; 4;17
173. **Chigrinova E, Mian M, Shen Y, Greiner TC.** Integrated profiling of diffuse large B-cell lymphoma with 7q gain. *Br J Haematol.* **2011**;153(4):499-503.
174. **Gong J, Liu R, Zhuang R.** miR-30c-1 promotes natural killer cell cytotoxicity against human hepatoma cells by targeting the transcription factor HMBOX1. *Japanese Cancer Association* **2012**
175. **Karbiener M, Neuhold C, Opriessnig P.** MicroRNA-30c promotes human adipocyte differentiation and co-represses PAI-1 and ALK2. *RNA Biol.* **2011**;1;8(5).
176. **De Santis G, Ferracin M, Biondani A, Caniatti L, Rosaria Tola M.** Altered miRNA expression in T regulatory cells in course of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* **2010**;14;226(1-2):165-71.
177. **Sampath D, Calin GA, Puduvalli VK.** Specific activation of microRNA106b enables the p73 response in chronic lymphocytic leukemia by targeting the ubiquitin ligase, Itch for degradation. *Blood.* **2009**;113: 3744-3753.
178. **Garzon R, Volinia S, Liu CG.** MicroRNA signatures associated with cytogenetics and prognosis in acute myeloid leukemia. *Blood.* **2008**;15;111(6):3183-9.
179. **Pichiorri F, Suh SS, Ladetto M, Kuehl M, Palumbo T, Drandi D, Taccioli C, Zanesi N, Alder H, Hagan JP.** MicroRNAs regulate critical genes associated with multiple myeloma pathogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **2008**; 2;105(35):12885-90
180. **Dhar S, Hicks C, Levenson AS.** Resveratrol and prostate cancer: promising role for microRNAs. *Mol Nutr Food Res.* **2011**; 55(8):1219-29.
181. **Wang G, Tam LS, Li EK, Kwan BC, Chow KM.** Serum and urinary free microRNA level in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* **2011**; 20(5);493-500.
182. **Jin Z, Selaru FM, Cheng Y, Kan T, Agarwal R, Mori Y, Olaru AV, Yang J.** MicroRNA-192 and -215 are upregulated in human gastric cancer in vivo and suppress ALCAM expression in vitro. *Oncogene.* **2011**; 31; 30(13):1577-85.
183. **Pichiorri F, Suh SS, Rocci A, De Luca L, Taccioli C, Santhanam R.** Downregulation of p53-inducible microRNAs 192, 194, and 215 impairs the p53/MDM2 autoregulatory loop in multiple myeloma development. *Cancer Cell.* **2010**; 19; 367-81.

184. Feng S, Cong S, Zhang X, Bao X, Wang W, Li H, Wang Z, Wang G. MicroRNA-192 targeting retinoblastoma 1 inhibits cell proliferation and induces cell apoptosis in lung cancer cells. *Nucleic Acids Res.* **2011**; 39(15);6669-78.
185. Dostie J, Mourelatos Z, Sharma A, Dreyfuss G. Numerous microRNPs in neuronal cells containing novel microRNAs. *RNA* **2003**; **9**;180–186
186. Li J, Chen Y, Zhao J, Kong F, Zhang Y. miR-203 reverses chemoresistance in p53-mutated colon cancer cells through downregulation of Akt2 expression. *Cancer Lett.* **2011**;1;304(1):52-9.
187. Chiang Y, Song Y, Wang Z, Chen Y. Aberrant expression of miR-203 and its clinical significance in gastric and colorectal cancers. *J Gastrointest Surg.* **2011**;15(1);63-70.
188. Viticchiè G, Lena AM, Latina A. MiR-203 controls proliferation, migration and invasive potential of prostate cancer cell lines. *Cell Cycle.* **2011**; 10(7):1121-31.
189. Nissan X, Denis JA, Saidani M. miR-203 modulates epithelial differentiation of human embryonic stem cells towards epidermal stratification. *Dev Biol.* **2011**; 15;506-15
190. Saini S, Arora S, Majid S, Shahryari V, Chen Y, Deng G, Yamamura S, Dahiya R. Curcumin modulates microRNA-203-mediated regulation of the Src-Akt axis in bladder cancer. *Cancer Prev Res (Phila).* **2011**;4(10);1698-709.
191. Gîză DE, Vasilescu C. MicroRNA's role in sepsis and endotoxin tolerance. More players on the stage. *Chirurgia (Bucur).* **2010**;105(5);625-30.
192. Barroga CF, Pham H, Kaushansky K. Thrombopoietin regulates c-Myb expression by modulating micro RNA 150 expression. *Exp Hematol.* **2008**;36(12);1585-92.
193. Watanabe A, Tagawa H, Yamashita J, Teshima K, Nara M, Iwamoto K, Kume M, Kameoka Y, Takahashi N, Nakagawa T, Shimizu N, Sawada K. The role of microRNA-150 as a tumor suppressor in malignant lymphoma. *Leukemia.* **2011**;25(8);1324-34.
194. Ghisi M, Corradin A, Basso K, Frasson C, Serafin V, Mukherjee S. Modulation of microRNA expression in human T-cell development: targeting of NOTCH3 by miR-150. *Blood.* **2011**;117(26);7053-62.
195. Borgdorff V, Lleonart ME, Bishop CL, Fessart D, Bergin AH. Multiple microRNAs rescue from Ras-induced senescence by inhibiting p21(Waf1/Cip1). *Oncogene.* **2010**; 15;29(15):2262-71.
196. Leivonen SK, Mäkelä R, Ostling P, Kohonen P, Haapa-Paananen S, Kleivi K, Enerly E. Protein lysate microarray analysis to identify microRNAs regulating estrogen receptor signaling in breast cancer cell lines. *Oncogene.* **2009**; 5;28(44):3926-36.
197. Hughes AE, Bradley DT, Campbell M. Mutation altering the miR-184 seed region causes familial keratoconus with cataract. *Am J Hum Genet.* 2011 Nov 11;89(5):628-33. Epub 2011 Oct 11.
198. Weitzel RP, Lesniewski ML, Haviernik P. microRNA 184 regulates expression of NFAT1 in umbilical cord blood CD4+ T cells. *Blood.* **2009**; 25;113(26):6648-57.
199. Leite KR, Sousa-Canavez JM, Reis ST, Tomiyama AH. Change in expression of miR-let7c, miR-100, and miR-218 from high grade localized prostate cancer to metastasis. *Urol Oncol.* **2011**;29(3);265-9.
200. Gao CP, Zhang ZY, Cai GH, Liu WZ, Xiao SD, Lu H. Reduced expression of miR-218 and its significance in gastric cancer. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* **2010**;32(4);249-52.

201. Li Y, Liu J, Yuan C, Cui B, Zou X, Qiao Y. High-risk human papillomavirus reduces the expression of microRNA-218 in women with cervical intraepithelial neoplasia. *J Int Med Res.* **2010**;38(5):1730-6.
202. Davidson MR, Larsen JE, Yang IA, Hayward NK, Clarke BE, Duhig EE, Passmore LH, Bowman RV, Fong KM. MicroRNA-218 is deleted and downregulated in lung squamous cell carcinoma. *PLoS One.* **2010**; 3;5(9):e12560.
203. Bronisz A, Godlewski J. Reprogramming of the tumour microenvironment by stromal PTEN-regulated miR-320. *Nat Cell Biol.* **2011**;18;14(2):159-67.
204. Khew-Goodall Y, Goodall GJ. Stromal miR-320 keeps an oncogenic secretome in check. *Nat Cell Biol.* **2012**;2;14(2):124-5.
205. Wu L, Zhou H, Lin H, Qi J, Zhu C, Gao Z, Wang H. Circulating microRNAs are elevated in plasma from severe pre-eclamptic pregnancies. *Reproduction.* **2011**;20;317-323.
206. Hummel R, Wang T, Watson DI, Michael MZ. Chemotherapy-induced modification of microRNA expression in esophageal cancer. *Oncol Rep.* **2011**; 26(4):1011-7.
207. Montag J, Hitt R, Opitz L, Schulz-Schaeffer WJ, Hunsmann G, Motzkus D. Upregulation of miRNA hsa-miR-342-3p in experimental and idiopathic prion disease. *Mol Neurodegener.* **2009**;27;4:36.
208. Roth P, Wischhusen J, Hoppold C, Chandran PA, Hofer S, Eisele G. A specific miRNA signature in the peripheral blood of glioblastoma patients. *J Neurochem.* **2011**;118(3):449-57.
209. Li S, Moffett HF, Lu J, Werner L. MicroRNA expression profiling identifies activated B cell status in chronic lymphocytic leukemia cells. *PLoS One.* **2011**; 8;6(3):e16956.
210. Ronchetti D, Lionetti M, Mosca L, Agnelli L, Andronache A, Fabris S, Deliliers GL, Neri A. An integrative genomic approach reveals coordinated expression of intronic miR-335, miR-342, and miR-561 with deregulated host genes in multiple myeloma. *BMC Med Genomics.* **2008**;13;1:37.
211. Liu XY, Xu J. The role of miR-223 in the acute rejection after kidney transplantation. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi.* **2011**;27(10):1121-3.
212. Li S, Li Z, Guo F, Qin X, Liu B, Lei Z, Song Z, Sun L, Zhang HT, You J, Zhou Q. miR-223 regulates migration and invasion by targeting Artemin in human esophageal carcinoma. *J Biomed Sci.* **2011**; 31;18:24.
213. Xu J, Wu C, Che X, Wang L, Yu D, Zhang T, Huang L, Li H, Tan W, Wang C, Lin D. Circulating microRNAs, miR-21, miR-122, and miR-223, in patients with hepatocellular carcinoma or chronic hepatitis. *Mol Carcinog.* **2011**;50(2):136-42.
214. Wang JF, Yu ML, Yu G, Bian JJ, Deng XM, Wan XJ, Zhu KM. Serum miR-146a and miR-223 as potential new biomarkers for sepsis. *Biochem Biophys Res Commun.* **2010**; 26;394(1):184-8.
215. Chiaretti S, Messina M, Tavarolo S, Zardo G, Elia L, Vitale A. Gene expression profiling identifies a subset of adult T-cell acute lymphoblastic leukemia with myeloid-like gene features and over-expression of miR-223. *Haematologica.* **2010**;95(7):1114-21.
216. Sun W, Shen W, Yang S, Hu F. miR-223 and miR-142 attenuate hematopoietic cell proliferation, and miR-223 positively regulates miR-142 through LMO2 isoforms and CEBP- β . *Cell Res.* **2010**;20(10):1158-69.
217. Felli N, Pedini F, Romania P, Biffoni M, Morsilli O, Castelli G, Santoro S, Chicarella S, Sorrentino A, Peschle C, Marziali G. MicroRNA 223-dependent expression of LMO2 regulates normal erythropoiesis. *Haematologica.* **2009**; 94(4):479-86.

218. **Rainer J, Ploner C, Jesacher S.** Glucocorticoid-regulated microRNAs and miRtrons in acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. **2009**;23(4);746-52.
219. **Fulci V, Scappucci G, Sebastiani GD, Giannitti C, Franceschini D, Meloni F, Colombo T, Citarella F, Barnaba V, Minisola G, Galeazzi M, Macino G.** miR-223 is overexpressed in T-lymphocytes of patients affected by rheumatoid arthritis. *Hum Immunol*. **2010**;71(2);206-11.
220. **Mi S, Lu J, Sun M, Li Z, Zhang H, Neilly MB.** MicroRNA expression signatures accurately discriminate acute lymphoblastic leukemia from acute myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **2007**;11;104(50);19971-6.
221. **Arora S, Ranade AR, Tran NL.** MicroRNA-328 is associated with (non-small) cell lung cancer (NSCLC) brain metastasis and mediates NSCLC migration. *Int J Cancer*. **2011** Dec 1;129(11):2621-31.
222. **Lu Y, Zhang Y, Wang N, Pan Z, Gao X, Zhang F, Zhang Y, Shan H, Luo X, Bai Y, Sun L, Song W, Xu C, Wang Z, Yang B.** MicroRNA-328 contributes to adverse electrical remodeling in atrial fibrillation. *Circulation*. **2010**; 7;122(23);2378-87.
223. **Eiring AM, Harb JG, Neviani P, Garton C, Oaks JJ, Spizzo R.** miR-328 functions as an RNA decoy to modulate hnRNP E2 regulation of mRNA translation in leukemic blasts. *Cell*. **2010**; 5;140(5):652-65.
224. **Qiao Y, Ma N, Wang X, Hui Y, Li F, Xiang Y, Zhou J, Zou C, Jin J, Lv G, Jin H, Gao X.** MiR-483-5p controls angiogenesis in vitro and targets serum response factor. *FEBS Lett*. **2011**; 3;585(19):3095-100.
225. **Veronese A, Lupini L, Consiglio J, Visone R, Ferracin M, Fornari F.** Oncogenic role of miR-483-3p at the IGF2/483 locus. *Cancer Res*. **2010**; 15;70(8):3140-9.
226. **Wang F, Yu J, Yang GH.** Regulation of erythroid differentiation by miR-376a and its targets. *Cell Res*. **2011**;21(8);1196-209.
227. **Brenner B, Hoshen MB, Purim O, David MB, Ashkenazi K.** MicroRNAs as a potential prognostic factor in gastric cancer. *World J Gastroenterol*. **2011**; 21;17(35):3976-85.
228. **Wang XC, Tian LL, Jiang XY, Wang YY, Li DG, She Y.** The expression and function of miRNA-451 in non-small cell lung cancer. *Cancer Lett*. **2011**; 8;311(2);203-9.
229. **Lopotová T, Záčková M, Klamová H, Moravcová J.** MicroRNA-451 in chronic myeloid leukemia: miR-451-BCR-ABL regulatory loop . *Leuk Res*. **2011**; 35(7):974-7.
230. **Li X, Sanda T, Look AT, Novina CD, von Boehmer H.** Repression of tumor suppressor miR-451 is essential for NOTCH1-induced oncogenesis in T-ALL. *J Exp Med*. **2011**; 11;208(4):663-75.
231. **Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, Iorio MV, Ferracin M.** miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **2005**; 27;102(39);13944-9.
232. **Li T, Cao H, Zhuang J, Wan J.** Identification of miR-130a, miR-27b and miR-210 as serum biomarkers for atherosclerosis obliterans. *Clin Chim Acta*. **2011**;14;412(1-2);66-70.
233. **Chen L, Li H, Han L, Zhang K, Wang G, Wang Y.** Expression and function of miR-27b in human glioma. *Oncol Rep*. **2011**; 26(6);1617-21.
234. **Akhtar N, Rasheed Z, Ramamurthy S.** MicroRNA-27b regulates the expression of matrix metalloproteinase 13 in human osteoarthritis chondrocytes. *Arthritis Rheum*. **2010**; 62(5);1361-71.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Barbaros Şahin KARAGÜN

Doğum Tarihi ve Yeri : 15.07.1974/Gaziantep

Medeni durumu : Evli

Adres : Mithat paşa Mh. Alparslan Rürkeş Bul. Sağlam Apt. Kat4/8 seyhan ADANA

Telefon : 0322-4571871

Cep Tlf: 05062345145

Fax : 0322-3386906

E.mail : barbaroskaragun@hotmail.com

Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi

Uzmanlık Eğitimi: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD.

Yan Dal Eğitimi: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD. Pediatrik Hematoloji-Onkoloji BD. devam etmektedir.

Görev Yerleri :

- 1-Hasanbeyli/OSMANİYE
- 2-Ağrı Asker Hastanesi/AĞRI
- 3-Hassa Devlet Hastanesi /ANTAKYA

Dernek Üyelikleri :

- 1-Türk Hematoloji Derneği
- 2- Milli Pediatri Derneği
- 3- Türk Pediatri Derneği
- 4- Çukurova Diyabetliler Derneği
- 5- Çukurova Neonatoloji Derneği
- 6- Türk Pediatrik Hematoloji Derneği
- 7- Pediatri Uzmanlık Akademisi Derneği

Yabancı Dil(ler) : İngilizce