



VI. ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRESİ 19-21 NİSAN 2019 – GAZİANTEP NOVOTEL

NF-κB1/p105 ve hedef genleri olan NRF2/KEAP1/p62 yolağı mutasyonlarının Pediatrik ALL patogenezi üzerine olan etkisinin araştırılması

- Yazarlar** : Yrd.Doç.Dr Dilara Fatma Akın-Balı 1 - Yrd.Doç.Dr Sedef Hande Aktaş 2 - Doç.Dr. Teoman Kankılıç 3- Yrd.Doç.Dr Mehtap Eroğlu4
- Kurum** : 1Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Niğde, Türkiye 2 Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi, Eskişehir, Türkiye 3Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, Niğde, Türkiye 4Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji ABD, Niğde, Türkiye

GİRİŞ - AMAÇ

Çevresel kirlenmeler, ağır metaller, ilaçlar, ksenobiyotikler, ultraviyole, radyasyon gibi sayısız kimyasal ve fiziksel faktöre maruz kalmanın kanser riskini büyük ölçüde arttırdığı bilinmektedir. Oksidatif stres, lösemi dâhil tüm kanser türlerinin patogeneziinde gözlenen negatif faktördür. Hücrenin oksidatif strese karşı savunma mekanizması olan sitoprotektif sistemin 2 önemli bileşeni; NF-κB1 kontrolünde Keap1/Nrf2, hücrelerin hayatta kalmasını ve sitotoksik hasarın birikmesini önlemektedirler. Keap1, hücre stres altında olmadığına Nrf2'nin baskılayıcısı konumundadır. Oksidatif strese maruz kaldığında, sitoprotektif genleri aktive etmesi için Nrf2'yi serbest bırakmaktadır. Serbest bırakma kompetitif olarak kendisine p62'nin bağlanmasıyla gerçekleşir. Böylece, serbest Nrf2 nükleusa geçer ve ilgili sitoprotektif genlerin ifadesini sağlar.

Literatürde, Nrf2/Keap1 kompleksindeki fonksiyon bozukluğu, kanser patogeneziyle ilişkilendirilmiştir. Yolaktaki mutasyonlar akciğer, böbrek, karaciğer, pankreas, özofagus gibi birçok tümörde rapor edilmiştir. Nrf2 transkripsiyon faktörü, malign olmayan hücreyi oksidatif stres verici ajanlardan korumak için gerekli enzimlerin transkripsiyonel aktivasyonunu gerçekleştirmesinin yanısıra kontrolsüz olarak aktive olmuş Nrf2'nin kemoterapiye karşı artmış direnç ve tümör hücresinin hayatta kalma süresinin arttığı bilinmektedir. Bu, lösemide yeni tedavi stratejileri geliştirmek için potansiyel bir aday olan Nrf2 mekanizmasının anlaşılmasının gerekliliğini gündeme getirmiştir. Ancak pediatrik ALLde, NF-κB kontrolü Keap1/Nrf2 yolağı/p62 mekanizmasının araştırılması konusunda literatürde çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, NF-κB/Nrf2/Keap1/p62 sinyal yolağı mutasyonların çalışma grubumuzu oluşturan pediatrik ALL patogenezi ve prognoz üzerindeki olası etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.



VI. ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRESİ 19-21 NİSAN 2019 – GAZİANTEP NOVOTEL

METOD

Çalışmaya sitogenetik anomalisi olmayan, klinisyeni doğru-hedefe yönelik tedavi için “araçsız” bırakan 30 pediatrik ALL tanısı almış 1-15 yaş aralığında (ortalama 5,5 yıl) çocuk (19 kız, 11 erkek) dahil edilmiştir. Kan örnekleri EDTA’lı tüplere alınmış ve otomatik izolasyon sistemi kullanılarak DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. DNA örnekleri, genlerin belirlenen ekzonlarına uygun primer çiftleriyle PCR ile çoğaltıldıktan sonra elde edilen ürünlerden DNA dizi analizi yapılmış ve sonuçlar analiz edilmiştir. Tespit edilen mutasyonların olası patojenik özelliğini belirlemek amacıyla PolyPhen-2 programı kullanılmıştır. Tespit edilen mutant amino asitlerin evrimsel korunmuşluk analizleri Gen-Bank veri tabanından alınan farklı türler arasında değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Mutasyon analizi sonucunda 16 (11 nükleotid değişimi, 2 delesyon, 3 insersiyon) değişim tespit edilmiş ve değişimlerin 13’ü daha önce HGMD e-veri tabanında kayıtlı, 5’i ise ilk defa bu çalışmada tanımlanmıştır. Değişimlerin genlere göre dağılımında Keap1 (9) en çok değişim görülen genidir. Keap1’deki 4 değişimin, polyphen-2’le analizi sonucunda skorlamasının 1’e yakın olması nedeniyle patojenik özellikte olduğu tespit edilmiştir. NF-κB ve p62 genlerindeki değişimler (4 değişim) kodlanmayan bölge üzerindedir. Keap1 deki değişimler genin ürünü olan protein için fonksiyonel olan IVR, Kelch ve BTB domainlerindedir ve değişimlerden 5’i somatik mutasyon olarak literatürde belirtilmiştir. Nrf2 geninde tespit edilen c.90 T>C, Keap1 Bağlanma bölgesi olan ETGE motifi üzerinde bulunmaktadır, tespit edilen diğer değişimler kodlanmayan bölge üzerindedir. Hastalığa neden olabilecek 5 mutasyon NF-κB kontrolü Keap1/Nrf2/p62 yolağında 30 hastanın 9’unda (%30) görülmektedir. NCBI e-veri tabanındaki “Homolog Gene-Multiple alignment tool” kullanılarak değişimlerin evrimsel süreç boyunca türler arasında korunmuş olan kritik noktalarda bulunduğu belirlenmiştir.

SONUC

Çalışmamızda pediatrik ALL’de ilk defa tanımlanan potansiyel hastalığa neden olabilecek 5 yeni değişim bildirilmiştir. NF-κB kontrolü Keap1/Nrf2/p62 yolağında saptanan değişimler evrimsel süreçte korunmuş a.asitlerin değişmesine ve genlerin son ürünlerinin yapısal değişimine neden olabilecek niteliktedir. Tedavi-izlem özellikleri arasında bulunan, hastalığın klinik seyrini belirleyen risk sınıflandırılmasına göre yüksek risk grubunda olan 2 hastada literatürde somatik mutasyon olarak belirlenen değişimler saptanmıştır. Bu, NF-κB/Keap1/Nrf2/p62 yolağının lösemi patogenezi için ve yeni tedavi stratejilerinin belirlenebilmesinde aday olabileceğine işaret etmektedir.



VI. ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRESİ 19-21 NİSAN 2019 – GAZİANTEP NOVOTEL

ANAHTAR KELİMELELER

Nrf2/ Keap1 yolu, oksidatif stres, pediatrik Akut Lenfoblastik Lösemi, mutasyon

