



ARAŞTIRMA / RESEARCH

Çocukluk çağı akut myeloid lösemilerinde lamin protein gen ekspresyonu

Lamin protein gene expression in childhood acute myeloid leukemias

Ayşe Özkan¹, İbrahim Bayram¹, Gülay Sezgin¹, Can Acıpayam¹, Serhan Küpeli¹, Atıla Tanyeli¹

¹Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Onkoloji Bilim Dalı ve Pediatrik Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi, Adana, Turkey

Cukurova Medical Journal 2018;43 (Suppl 1):100-107

Abstract

Purpose: The aim of this study is to evaluate the prognostic value and expression pattern of lamin A/C, lamin B1 and B2 in childhood acute myeloid leukemias, which are thought to be related with cell proliferation and apoptosis.

Materials and Methods: Twenty-five patients diagnosed with acute myeloid leukemia (AML) and 35 control cases were included in the study. Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) method was used to detect lamin A/C, lamin B1 and lamin B2 protein gene expression at the time of the diagnosis and at the end of the induction treatment.

Results: At the time of the diagnosis, lamin B1 protein gene expression was lower in AML patients when compared to the control group. When lamin protein expression levels at the time of diagnosis and after induction therapy were compared, the lamin A/C and B2 protein gene expressions were lower after the administration of induction chemotherapy. AML patients with hepatomegaly when compared to patients without hepatomegaly, had only increased lamin A/C protein gene expression. Patients with splenomegaly had both increased lamin A/C and lamin B2 protein gene expressions when compared to the patients without splenomegaly.

Conclusion: In childhood acute myeloid leukemias, lamin B1 protein gene expression could be used as a diagnostic marker, while decrease in the lamin A/C and B2 protein gene expressions after induction could be used as a marker for response to therapy.

Key words: Acute myeloid leukemia, childhood, lamin proteins.

Öz

Amaç: Bu çalışmanın amacı çocukluk çağı akut myeloid lösemilerinde (AML) hücre çoğalması ve apoptozis ile ilgili yollarla bağlantılı olduğu düşünülen lamin A/C, lamin B1 ve lamin B2 proteinlerinin gen ekspresyon durumunun saptanması ve prognoz ile olan ilişkilerinin değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: AML tanısı alan 25 olgu ve 35 kontrol olgu çalışmaya alındı. Tanı anında ve indüksiyon tedavisi bitiminde lamin A/C, lamin B1 ve lamin B2 protein gen ekspresyonları Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi ile çalışıldı.

Bulgular: AML hastalarında, tanı anında bakılan lamin B1 protein gen ekspresyonu kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük bulundu. İndüksiyon tedavisi sonrası bakılan lamin A/C ve B2 protein gen ekspresyonu, tanı anına göre anlamlı olarak düşük saptandı. Lamin B1'de istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanmadı. Hepatomegalisi olan AML hastalarında, hepatomegalisi olmayanlara göre lamin A/C, splenomegalisi olan AML hastalarında, splenomegalisi olmayanlara göre hem lamin A/C, hem de lamin B2 protein gen ekspresyonu artmış bulundu.

Sonuç: Çocukluk çağı akut myeloid lösemilerinde, lamin B1 protein gen ekspresyonu, tanısal bir belirteç olarak, indüksiyon tedavisi sonrasında lamin A/C ve B2'nin azalması ise tedaviye alınan yanıtın bir göstergesi olarak kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Akut myeloid lösemi, çocukluk çağı, lamin proteinleri.

GİRİŞ

Akut myeloid lösemi; miyeloid, monositik, eritroid ve megakaryositik hücre serilerinin kemik iliği prekürsörlerinin klonal proliferasyonu sonrasında ortaya çıkan heterojen dağılımlı malign hastalık grubudur. Lösemik hücreler mitoz ile sınırsız bölünme ve çoğalma özelliği gösterirler¹. İnsan hücresindeki deoksiribo nükleik asit (DNA) materyali çekirdek denilen, zarfla çevrili bir organel içinde bulunmaktadır². Nükleer lamina, çekirdek iç zarı ile kromatin arasında yer alan yaklaşık 30-100 nanometre kalınlığında fibröz ağ şeklinde bir yapıdır. Nükleer lamina, hücre çekirdeğinin iç zarı altında çekirdeğe mekanik destek sağlamanın yanı sıra, DNA replikasyonu ve hücre bölünmesi gibi önemli hücrel olayları da düzenler. Nükleer lamina, ara filamentlerden ve membran ilişkili proteinlerden oluşmaktadır.

Laminler, hücre zarının nükleoplazmik tarafını kuşatan tip V ara filamentlerdir. İnsan somatik hücrelerinde lamin proteinlerini kodlayan 3 gen olduğu bilinmektedir. A tipi laminler (lamin A ve C), LMNA geninin ürünüdür. B tipi lamiler ise LMNB1 (lamin B1) ve LMNB2 (lamin B2) genleri tarafından kodlanmıştır⁴⁻⁶. Lamin proteinleri, nükleer mimari, gen ekspresyonunun kontrolü, apoptozis, kromatin organizasyonu ve ayırımı gibi tümör progresyonunda yer alan hücrel olaylarda rol oynamaktadır⁷. Laminler, genellikle, tümörde lokalize olan veya anormal eksprese edilen çok fonksiyonlu proteinlerdir⁸.

Laminlerin bir kanser belirteci olarak; kanserin tanısının konulmasında, özelliklerinin değerlendirilmesinde ve hastanın yaşam süresinin tahmin edilmesinde kullanımı ile ilgili çalışmalar vardır⁷. Lamin protein ekspresyonu ve kanser ilişkisi ile ilgili çalışmalar daha çok solid tümörlerde yapılmıştır⁸. Lösemilerde yapılmış çalışmalar çok azdır. Bu çalışmada, lamin protein gen ekspresyonunun çocukluk çağı akut myeloid lösemilerinde durumunun saptanmasını ve varsa prognoz ile ilişkisini araştırmayı amaçlanmıştır

GEREÇ VE YÖNTEM

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik Onkoloji Bilim Dalına Ocak 2008 ile Mart 2014 tarihleri arasında başvuran ve akut myeloid lösemi tanısı alan

ve tedavi edilen 29 hasta mevcut idi. Bu hastalardan yeterli ribo nükleik asiti (RNA'sı) izole edilebilen 25'inde lamin protein gen ekspresyonları çalışılabilmektedir.

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Genel Çocuk Polikliniğine kontrol amacıyla başvuran, fizik muayenesi normal saptanan ve tam kan sayımı ve periferik yayma ile hematolojik olarak normal bulunan 35 çocuk, kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan, 11.10.2013 tarih ve 16 karar numarasıyla etik kurul onayı alındı. Hastaların ve kontrollerin yasal vasilerinden sözlü ve yazılı bilgilendirilmiş onam alındı.

Uygulama

Lösemi hastalarına tanısal amaçlı kemik iliği aspirasyonu yapıldı ve morfolojik alt gruplar French-British-American (FAB) sınıflamasına göre belirlendi. Aynı zamanda immünofenotiplendirme için akan hücre ölçer çalışması ile lenfosit yüzey antijenlerine yönelik monoklonal antikorlar ile yüzey belirteçlerine bakıldı. Bu işlem için hastalardan alınan 2 mililitre kemik iliği aspirasyon örneği, etilendiamin tetra asetik asit (EDTA) içeren tüplere alınıp, örnekler akan hücre ölçer (BD FACS Calibur) cihazından geçirilerek blastik hücre topluluğu içerisindeki hücrelerin yüzde oranları tespit edildi ve hücrelerin immünofenotiplendirmesi yapıldı. İmmünofenotiplendirme çalışmalarında CD (cluster of differentiation) yüzey belirteçlerinde % 20'nin üzerinde olanlar pozitif olarak değerlendirildi.

Trombosit sayısının 150,000/mm³'den düşük olması trombositopeni olarak⁹, lökosit sayısının 0 yaş grubuna göre -2 standart sapmadan (-2SD) daha düşük olması lökopeni olarak ve hemoglobin değerinin 0 yaş ve cinsiyet için -2SD'den daha düşük olması anemi olarak tanımlandı¹⁰.

Çalışmaya dahil edilen tüm olgulardan, tanı sırasında EDTA'lı tüpe alınan 3 mililitrelik kan örneğinden standart yöntemlerle hücre ayırma işlemi gerçekleştirildi. Hücrelerden RNA elde edildi. İzole edilen RNA örnekleri, çalışmanın yapılacağı güne kadar -85 °C'de derin dondurucu içinde saklandı. Daha sonra bu RNA'lar komplementer deoksiribo nükleik asite (cDNA'ya) çevrilip -20 °C'de muhafaza edildi. Hastaların ve kontrollerin periferik kan örneklerinde lamin A/C, B1, B2 proteinleri mRNA

(haberci ribo nükleik asit) ekspresyonu RT-PCR yöntemi kullanılarak tespit edildi. Çalışma Light Cycler (Roche Applied Science) ile gerçekleştirildi.

Housekeeping Genler ve Target Genler dizayna uygun dalga boyunda LC 480 Software üzerinden "Advanced Relative Quantification" hesaplamaları ile analiz edildi.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizlerin tümü SPSS v22,0 (statical package for social sciences) paket programında yapıldı. Olguların verilerinin değerlendirilmesinde korelasyon için

Pearson korelasyon testi, yaşam analizi için de, Kaplan-Meier testleri uygulandı. Ayrıca, grupların karşılaştırılmasında ANOVA testi (tek yönlü varyans analizi, one way) ve Mann Whitney U testleri de kullanıldı. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Ocak 2008 ile Mart 2014 tarihleri arasında AML tanısı alan ve yeterli RNA'sı izole edilebilen 25 olgunun FAB sınıflandırması Tablo 1'de verilmiştir. Kontrol sayısı 35'dir.

Tablo 1. FAB sınıflamasına göre AML hastalarının immünolojik sınıflandırması

	n	%
AML-M0	2	8
AML-M1	3	12
AML-M2	1	4
AML-M3	0	0
AML-M4	10	40
AML-M5	3	12
AML-M6	1	4
AML-M7	2	8
AML Miks Lineage	3	12
Toplam AML	25	100

Tablo 2. AML hastalarının tanı anı, tedavi sonrası ve kontrol grubunun lamin protein ekspresyon sonuçları

ort±SD (aralık) [medyan]	AML tanı anı (n:25)	AML tedavi sonrası (n:12)	Kontrol grubu (n:35)	P ^a	P ^b	P ^c
Lamin A/C	8.23±10.14 (0.12-40.50) [2.64]	0.35±0.26 (0.11-1.00) [0.28]	2.42±1.51 (0.70-6.02) [1.82]	0.0001	0.251	0.0001
Lamin B1	1.74±1.10 (0.33-4.59) [1.51]	1.38±1.05 (0.44-4.17) [1.1]	3.28±2.30 (0.00-9.78) [2.46]	0.249	0.002	0.002
Lamin B2	12.07±22.05 (0.06-97.68) [4.08]	1.65±2.32 (0.33-8.40) [0.72]	5.16±4.32 (0.84-18.77) [4.0]	0.007	0.887	0.0001

P^a:İlk tanı-indüksiyon tedavisi sonrası, P^b:İlk tanı-kontrol grubu, P^c:Kontrol grubu-indüksiyon tedavisi sonrası

AML hastalarının 16'sı erkek (%64), 9'u kız (%36) olup, erkek/kız oranı 1.78'dir. Kontrol grubunun 22'si erkek (%62.9), 13'ü (37.1) kız olup erkek/kız oranı 1.69'dur. AML hastalarının yaşı 122±54.4 (12-193) ve kontrol grubunun yaşı 84.74±60.57 (12-204) ay olup, kontrol grubu, cinsiyet ve yaş olarak AML hasta grubu ile benzerdi. AML hastalarının ortalama takip süresi 22.6±19.3 (2-73) aydır.

AML hastaları, idarubusin+ARA-C temelli tedavi protokolü ile tedavi edildiler¹¹. 25 olgunun ilk remisyona induksiyon kemoterapisi sonrasında

23'ünde (%92) remisyona sağlanmış, 2'sinde (%8) remisyona sağlanamamıştır.

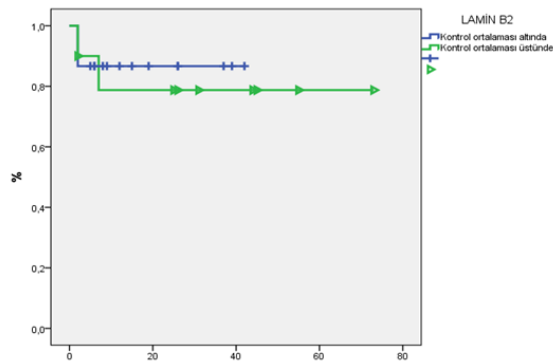
AML tanısı alan bir hastada tedaviye uyum kötü idi. AML M4 tanılı bu hastada sistemik relaps gelişmiş ve hasta takip ve tedaviye getirilmemiştir. AML M4 tanılı başka bir hasta sistemik relaps ve santral sinir sistemi relapsı gelişmesi sonucunda eksitus olmuştur. AML M0 tanılı bir hastada ise sistemik relaps gelişmiştir ve hastaya kök hücre nakli yapılmıştır, hasta sağ ve remisyondadır. AML induksiyon kemoterapisi sonrasında 12 hastanın tekrar lamin

proteinlerinin ekspresyonu çalışılabilmiştir (Tablo 2). AML hastalarında, tanı anında bakılan lamin B1 protein gen ekspresyonu ortalama değeri 1.74 ± 1.10 ; kontrol hastalarının lamin B1 protein gen ekspresyonu ortalama değeri 3.28 ± 2.30 bulunmuş olup, aralarındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.002$) (Tablo 2). AML hastalarında, tanı anında bakılan lamin A/C protein gen ekspresyonu ortalama değeri kontrol grubuna

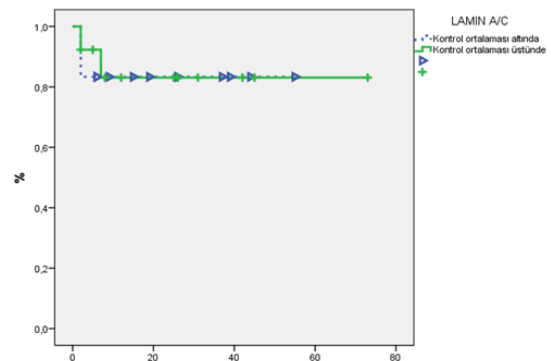
göre yüksektir, ancak; istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.251$). İndüksiyon kemoterapisi sonrası lamin A/C ve B2 protein gen ekspresyon düzeyleri sırasıyla 0.35 ± 0.26 (0.11-1.00) ve 1.65 ± 2.32 (0.33-8.40) olup, bu değerler tanı anında ölçülen düzeylere göre (sırasıyla 8.23 ± 10.14 (0.12-40.50) ve 12.07 ± 22.05 (0.06-97.68)) anlamlı olarak düşüktür (sırasıyla $p=0.0001$ ve 0.007).

Tablo 3. AML hastalarının özellikleri ile lamin protein gen ekspresyon sonuçlarının karşılaştırılması

(ort±SD)	n	Tanı anı Lamin A/C	Tanı anı Lamin B1	Tanı anı Lamin B2
Cinsiyet				
Kız	9	6.03 ± 8.52	1.57 ± 1.29	5.35 ± 5.93
Erkek	16	9.46 ± 11.0	1.83 ± 1.00	15.84 ± 26.7
P		0.42	0.57	0.26
Lökopeni				
Lökopeni var	6	9.92 ± 15.58	1.45 ± 0.37	5.32 ± 5.19
Lökopeni yok	19	7.69 ± 8.27	1.83 ± 1.24	14.20 ± 24.9
P		0.64	0.47	0.40
Trombositopeni				
Trombositopeni var	18	7.83 ± 10.87	1.99 ± 1.11	13.62 ± 24.8
Trombositopeni yok	7	9.24 ± 8.65	1.09 ± 0.79	8.07 ± 12.74
P		0.76	0.065	0.58
Hepatomegali				
Hepatomegali var	11	13.24 ± 12.7	2.10 ± 1.30	20.85 ± 31.2
Hepatomegali yok	14	4.29 ± 5.25	1.45 ± 0.84	5.16 ± 5.56
P		0.025	0.14	0.77
Splenomegali				
Splenomegali var	9	14.62 ± 13.5	2.22 ± 1.41	25.82 ± 32.7
Splenomegali yok	16	4.63 ± 5.30	1.47 ± 0.81	4.33 ± 5.44
P		0.015	0.101	0.016
Lenfadenopati				
Lenfadenopati var	8	9.27 ± 13.65	1.56 ± 1.12	5.40 ± 4.76
Lenfadenopati yok	17	7.74 ± 8.47	1.83 ± 1.11	15.20 ± 26.2
P		0.733	0.582	0.310



Şekil 1: AML hastalarında Lamin B2 protein gen ekspresyonunun genel sağ kalıma etkisi (ay)



Şekil 2: AML hastalarında Lamin A/C protein gen ekspresyonunun genel sağ kalıma etkisi (ay)

Lamin B1 düzeyleri ise tanı anında 1.74 ± 1.10 (0.33-4.56) ölçülmüş olup indüksiyon kemoterapisi sonrasında 1.38 ± 1.05 (0.44-4.17) olarak bulunmuştur ve iki ölçüm arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.249$). Ayrıca, bu azalma kontrol grubunun ortalamasının altına düşmekte olup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma dikkati çekmektedir ($p=0.002$) (Tablo 2).

Tanı anında lamin protein gen ekspresyon düzeyleri ile yaş, hematokrit, hemoglobin, beyaz küre, trombosit, üre, kreatinin, SGOT, laktik dehidrogenaz, ürik asit, alkalin fosfataz düzeyleri ve CD yüzey belirteçleri arasında Pearson korelasyon testi yapıldı. Lamin A/C ve B1 protein gen ekspresyon düzeyleri ile bu parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı olan bir korelasyon saptanmadı. Lamin B2 protein gen ekspresyon düzeyi ile CD7 ve CD20 yüzey belirteçleri arasında pozitif korelasyon olduğu saptandı (sırasıyla $p=0.001$, $r=0.661$ ve $p=0.001$ $r=0.850$).

AML hastalarının özellikleri ile lamin proteinlerinin gen ekspresyon sonuçlarının karşılaştırılması Tablo 3'de gösterilmiştir. Hepatomegalisi olan AML hastalarında lamin A/C protein gen ekspresyonu, hepatomegalisi olmayan AML hastalarına göre belirgin olarak yüksekti ($p=0.025$). Splenomegalisi olan hastalarda ise hem lamin A/C, hem de lamin B2 protein gen ekspresyonu, splenomegalisi olmayan hastalara göre belirgin olarak yüksekti (sırasıyla $p=0.015$ ve $p=0.016$). İndüksiyon tedavisi sonrasında hastalar cinsiyete göre ve lökopeni, trombositopeni, hepatomegali, splenomegali, lenfadenopati olan ve olmayan diye gruplara ayrıldığında, ilgili gruplarda lamin protein gen ekspresyonlarına bakılan 6'dan az sayıda AML olgusu olduğu için istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır.

Lamin A/C, B1, B2 proteinlerinin her birinin gen ekspresyonları, kontrol grubu ortalamasına göre düşük ve yüksek olmak üzere 2 gruba ayrıldı ve her birinin genel sağ kalıma etkisi araştırıldı. Lamin A/C proteini gen ekspresyonu kontrol ortalamasının altında olan 12 olgu, kontrol ortalamasının üstünde olan 13 olgu vardı. Lamin B2 proteini için bu sayı sırasıyla 15 ve 12 olgu, lamin B1 proteini için sırasıyla 28 ve 2 olgudur (Lamin B1 protein ekspresyonunu değerlendirmek için, kontrol grubunun ortalamasından yüksek olan hastaların sayısı istatistiksel değerlendirme yapabilmek için yeterli olmadığından (2 olgu) Kaplan-Meier genel sağ

kalım analizi yapılamamıştır). AML hastalarında lamin B2 protein gen ekspresyonu, kontrol grubunun ortalamasından düşük olanların genel sağ kalım sonuçları daha iyiydi, ancak; sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Lamin B2 protein gen ekspresyonu kontrol grubuna göre düşük olan AML hastalarında 3 ve 5 yıllık sağ kalım % 87, lamin B2 protein gen ekspresyonu düşük olan AML hastalarında 3 ve 5 yıllık sağ kalım %80'dir (Şekil 1). AML hastalarında, kontrol grubunun ortalaması ile karşılaştırıldığında lamin A/C protein gen ekspresyonlarının genel sağ kalıma etkisi istatistiksel olarak anlamlı değildi (Şekil 2).

TARTIŞMA

Lösemi biyolojisinin anlaşılması, elde edilen bilgi birikimi ile yeni geliştirilen tedavi stratejileri, allojenik kök hücre nakli ve destekleyici tedaviler sonucunda ölümcül seyirli bu hastalık grubunun doğal seyri değiştirilebilmiştir. Son yayınlarda, gelişmiş ülkelerde özellikle AML için genel sağ kalım oranlarının %65-70'lerin üzerine çıkarılabildiği belirtilmiştir¹². Çalışmamızdaki AML hastalarının 5 yıllık genel sağ kalım oranı %80 ile literatürle uyumlu idi.

Sitogenetik ve moleküler özelliklerin temelinde yapılacak olan prognostik faktörlerin belirlenmesi ile hastalığın seyri öngörülebilir ve buna yönelik tedavisi planlanabilir. Özellikle yüksek risk grubundaki hastalara uygun ve doğru zamanda yapılacak allojenik kök hücre nakli ile hastalığın sağ kalım oranlarında artış sağlanabilir. Bazen iyi prognostik faktörlerin bulunduğu hastalarda da relaps görülebilmektedir¹³.

Lamin protein gen ekspresyonlarının bazı kanserlerde anormal düzenlenmesi, bunların faydalı bir belirteç olarak kullanılmasını sağlamaktadır. Şu ana kadar yapılan çok sayıda çalışmada malign hücrelerde ve dokularda lamin proteinlerinin ekspresyonundaki farklılıklar incelenerek, laminler ile kanser alt tipleri arasındaki ilişki açıklanmaya çalışılmıştır¹⁴.

Çalışmamızda, AML hastalarında, tanı anında bakılan lamin B1 protein gen ekspresyonu, kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük bulunmuştur. AML hastalarında, tanı anında bakılan lamin A/C ve lamin B2 protein gen ekspresyonu ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı değildir. İndüksiyon tedavisi sonrası bakılan lamin B1 protein gen ekspresyon seviyeleri benzerken, lamin A/C ve

B2'de tedavi sonrasında tanı anına göre istatistiksel olarak anlamlı düşme görülmektedir.

Genel olarak A tipi laminlere 'statinler' denilmiş ve A tipi laminler hücre ve dokuların çoğalma göstermeyen ve farklılaşmamış durumu ile ilişkilendirilmiştir¹⁴ ancak, A tipi laminlerin, çok çeşitli kanser tiplerinde, kanserin alt tipi, agresifliği, çoğalma kapasitesi ve farklılaşma derecesine bağlı olarak farklı ekspresyon durumları sergileyebileceği de belirtilmiştir¹⁵. Skvortsov ve arkadaşları, lamin A'nın, prostat kanserlerinin derecelendirmesinde ve prognozunun belirlenmesinde yardımcı bir belirteç olduğunu bildirmişlerdir¹⁶. Buna ek olarak Willis ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, kolorektal kanser dokularında A tipi laminlerin, seviyesinin artışı, kanser ilişkili mortalitede iki kat artış ile ilişkili bulunmuştur¹⁷. Bizim çalışmamızda da AML hastalarımızda tanı anında, yani proliferen olan malign hücrelerin fazla olduğu dönemde lamin A/C protein ekspresyonu yüksek iken, indüksiyon tedavisi sonrasında, proliferen olan malign hücrelerin azalması ile lamin A/C protein ekspresyonunda anlamlı derecede düşme saptanmıştır. Bu durumu tedaviye yanıt olarak da değerlendirilebiliriz.

Literatür incelendiğinde özefagus, serviks ve uterusun skuamöz ve adenokarsinomlarında, meme kanserleri ve bronşial karsinomlarda hem lamin B1 hem de lamin A/C ekspresyonları azalmış olarak saptanmıştır¹⁸. Sözü edilen kanserlerde, özellikle, lamin B1 ekspresyonunun azalmış olması, bizim çalışmamızla benzerdir. Hepatik ve pankreatik kanserlerde ise özellikle, lamin B1 ekspresyon paternleri farklıdır. Hepatoselüler karsinomlarda, lamin B1 ekspresyonunun artışı, tümörün boyutu, evresi ve nodül sayısı ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca, plazma lamin B1 seviyesinin artışının, hepatoselüler karsinomun erken evrede saptanmasında, bir belirteç olarak kullanılabileceği de gösterilmiştir¹⁹. Marshall ve arkadaşları ise yaptıkları bir çalışmada, lamin B1 ekspresyon artışının kolorektal kanserler için faydalı bir klinik belirteç olabileceğini göstermiştir²⁰.

Li ve arkadaşları, pankreas kanserli hastalarda yaptığı bir çalışmada, lamin B1'in aşırı ekspresyon edilmesinin, bu hastalarda, düşük dereceli farklılaşma, uzak metastaz ve kötü prognoz ile direkt ilişkili olduğunu bulmuştur. Betulinik asit tedavisi ile lamin B1 ekspresyonunun baskılanması sonucunda, pankreas kanserli hücrelerde proliferasyon, invazyon ve tümörojenik kapasitede azalma sağlanabilmiştir²¹.

Lamin A/C, lamin B1 ve lamin B reseptörü mRNA

ekspresyonu 115 meme kanserli dokuda ve 30 kanserli olmayan meme dokusunda çalışılmıştır ve lamin A/C ekspresyonunun yüksek olmasının, erken klinik evre ve iyi prognoz ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Lamin B1'in yüksek ekspresyonu kötü prognoz ile, lamin B reseptörünün yüksek ekspresyonu ise tümör derecesi ve Nottingham prognostik indeksi ile direkt ilişkili bulunmuştur²².

Jansen ve arkadaşları, nodüler sklerozan Hodgkin lenfoma ve reaktif lenf nodularındaki lamin protein ekspresyonlarını dokuda değerlendirmişlerdir. Lamin A pozitif hücrelerin proliferatif özellikte olmadığı, özellikle lamin B2 ekspresyon düşüklüğünün nodüler sklerozan Hodgkin lenfoma ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir²³. Aglero ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise lamin A/C geninin inaktive edilmesi ile diffüz büyük B hücreli lenfomalarda prognoz daha kötü olduğu gösterilmiştir²⁴.

Kaufmann, lamin A/C'nin myeloid lösemilerde ekspresyon edildiğini göstermiştir. Lamin A/C ekspresyonunun tanı ve prognoz ile olan ilişkisini bulamamıştır²⁵. Klymenko ve arkadaşları tarafından, kronik lenfositik lösemili ve folliküler lenfomalı hastalarda yapılan bir çalışmada, lamin B1 ekspresyon seviyelerinin düşük olmasının hastaların olaysız yaşam ve genel sağ kalımlarıyla doğru orantılı olduğu gösterilmiştir²⁶.

Çalışmamızda, AML hastalarının özellikleri ile lamin protein gen ekspresyonları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, tanı anında hepatomegalisi olan hastalarda hepatomegalisi olmayanlara göre lamin A/C, splenomegalisi olanlarda splenomegalisi olmayanlara göre hem lamin A/C hem de lamin B2 protein gen ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış bulundu (Tablo 3).

Lamin A/C, B1, B2 proteinlerinin her birinin ekspresyonları, kontrol grubu ortalamasına göre düşük ve yüksek olmak üzere 2 gruba ayrıldı ve her birinin genel sağ kalıma etkisi araştırıldı. Lamin A/C, B1 ve B2 proteinlerinin gen ekspresyonlarının genel sağ kalım üzerine istatistiksel anlamlı bir etkisi olduğu gösterilemedi.

Sonuç olarak, çocukluk çağı AML hastalarında lamin proteinlerinin gen ekspresyonlarını değerlendirdiğimizde; tanı anında lamin A/C ve B2 ortalama düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmasına rağmen, istatistiksel bir farklılık saptanamadı. Bunun aksine, tanı anında lamin B1 protein gen ekspresyon düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüklük saptandı. Ayrıca

hepatomegali ve splenomegalisi olan hastalarda lamin A/C anlamlı olarak yüksek saptanırken, splenomegalisi olan hastalarda ek olarak lamin B2 düzeyinin de anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı. Bu durum büyük ihtimalle tümör yükü ile ilişkiliydi. İndüksiyon tedavisi sonrasında ise lamin A/C ve B2'nin anlamlı olarak azaldığı görüldü. Tanı anına göre indüksiyon tedavisi sonrasında, lamin A/C'nin ve B2'nin düşmesi, proliferen olan kanser hücrelerin azalmasıyla tedaviye alınan yanıtın bir göstergesi olarak yorumlanabilir.

Literatür incelendiğinde lamin protein ekspresyonları daha çok solid tümörlerde çalışılmıştır. Hematolojik malignitelerde yapılan bir çalışma olan Kaufmann'ın çalışması erişkin myeloid lösemili hastalarda yapılmış, ancak, sadece lamin A/C'nin ekspresyonu olduğu gösterilmiş ve bu durumun tanı ve prognoz ile olan ilişkisi gösterilememiştir²⁵. Klymenko ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma ise yine erişkin kronik lenfositik lösemili ve folliküler lenfomalı hastalarda yapılmış ve düşük lamin B1 ekspresyon seviyelerinin hastaların olumsuz yaşam ve genel sağ kalımlarıyla doğru orantılı olduğu gösterilmiştir²⁶.

Sonuç olarak, çocukluk çağı akut myeloid lösemilerinde lamin B1 protein gen ekspresyonunun düşük olması tanısal bir belirteç olarak, indüksiyon tedavisi sonrasında lamin A/C ve B2'nin anlamlı olarak azalması ise tedaviye alınan yanıtın bir göstergesi olarak kullanılabilir. Çalışmamız, çocukluk çağında akut myeloid lösemilerinde lamin proteinlerinin tanı ve prognoz ile ilişkisine yönelik yapılan literatürdeki ilk çalışma olup, daha kapsamlı, birden fazla merkezin yapacağı çok vakalı çalışmalar ile bu sonuçların daha da netleşeceğini ve lamin proteinlerinin tanı ve prognoz ile olan ilişkisinin ortaya çıkarılacağını düşünmekteyiz.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü'nün Bilimsel Araştırma Projeleri komisyonunun (BAP) TF2013LTP34 (ID715) nolu proje desteği ile yapılmıştır.

KAYNAKLAR

- Arceci RJ, Meshinchi S. Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes. In: Pizzo PA and Poplack DG, Eds. Principles and Practice of Pediatric Oncology, 7th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer. 2016:498-544.
- Lodish H, Berk A, Kaiser CA, Krieger M, Scott MP, Bretscher A et al. Yaşam Hücrelerle Başlar. (Çeviri Eds Geçkil H, Özmen M, Yeşilada Ö.) Moleküler Hücre Biyolojisi. 6. Baskıdan çeviri. Ankara, Palme Yayıncılık. 2011:1-30.
- Goldman RD, Goldman AE, Shumaker DK. Nuclear lamins: building blocks of nuclear structure and function. Novartis Found Sym. 2005;264:3-16.
- Lin F, Worman HJ. Structural organization of the human gene encoding nuclear lamin A and nuclear lamin C. J Biol Chem. 1993;268:16321-6.
- Machiels BM, Zorenc AH, Endert JM, Kuijpers HJ, Van GJ, Ramaekers FC et al. An alternative splicing product of the lamin A/C gene lacks exon 10. J Biol Chem. 1996;271:9249-53.
- Lin F, Worman HJ. Structural organization of the humangene (LMNB1) encoding nuclear lamin B1. Genomics, 1995;27:230-6.
- Foster CR, Przyborski SA, Wilson RG, Hutchison CJ. Lamins as cancer biomarkers. Biochem Soc Trans. 2010;38:297-300.
- Dittmer T, Mitseli T. The lamin protein family. Genome Biology. 2011;12:222.
- Cheng CK, Chan J, Cembrowsky GS, Van Assendelft OW. Complete blood count reference interval diagrams derived from NHANES III: stratification by age, sex and race. Lab Hematol. 2004;10:42-53.
- Lanzkowsky P (ed.). Manuel of Pediatric Hematology and Oncology. 6th ed. New York, Churchill Livingstone Inc. 2016;709-28.
- Bayram I, Erbey F, Kömür M, Tanyeli A. Total parenteral nutrition and decreased dose idarubicin based treatment of acute myeloid leukemia during childhood. Eur J Gen Med. 2010;7:282-7.
- Gamis AS, Alonzo TA, Perentesis JP, Meshinchi S. Children's Oncology Group's 2013 blueprint for research acute myeloid leukemia. Pediatr Blood Cancer. 2013;60:964.
- McKenney AH, Cleary ML, Arber DA. Pathology and Molecular Diagnosis of Leukemias and Lymphomas. In: Pizzo PA, Poplack DG, Eds. Principles and Practice of Pediatric Oncology, 7th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer. 2016:113-30.
- Broers JL, Ramaekers FC. The role of the nuclear lamina in cancer and apoptosis. Adv Exp Med Biol. 2014;773:27-48.
- Tilli CM, Ramaekers FC, Broers JL, Hutchison CJ, Neumann HA. Lamin expression in normal human skin, actinic keratosis, squamous cell carcinoma and basal cell carcinoma. Br J Dermatol. 2003;148:102-9.
- Skvortsov S, Schafer G, Stasyk T, Fuchsberger C, Bonn GK, Bartsch G et al. Proteomics profiling of microdissected low- and high-grade prostate tumors identifies lamin a as a discriminatory biomarker. J Proteome Res. 2011;10:259-68.
- Willis ND, Cox TR, Rahman-Casans SF, Smits K, Przyborski SA, van den Brandt P et al. Lamin A/C is

- a risk biomarker in colorectal cancer. *PLoS One*. 2008;3:2988.
18. Sakthivel M, Sehgal P. A novel role of lamins from genetic disease to cancer biomarkers. *Oncology reviews*. 2016;10:309
 19. Sun S, Xu MZ, Poon RT, Day PJ, Luk JM. Circulating Lamin B1 (LMNB1) biomarker detects early stages of liver cancer in patients. *J Proteome Res*. 2010;9:70-8.
 20. Marshall KW, Mohr S, Khettabi FE, Nossova N, Chao S, Bao W et al. A blood-based biomarker panel for stratifying current risk for colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2010;126:1177-86.
 21. Li L, Du Y, Kong X, Li Z, Cui J et al. Lamin B1 is novel therapeutic target of betulinic acid in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*. 2013;19:4651-61.
 22. Wazir U, Ahmed MH, Bridger JM, Harvey A, Jiang WG, Sharma AK et al. The clinicopathological significance of lamin A/C, lamin B1 and lamin B receptor mRNA expression in human breast cancer. *Cell Mol Biol Let*. 2013;18:595-611.
 23. Jansen MP, Machiels BM, Hopman AH, Broers JL, Bot FJ, Arends JW et al. Comparison of A and B-type lamin expression in reactive lymph nodes and nodular sclerosing Hodgkin's disease. *Histopathology*. 1997;31:304-312.
 24. Aglero R, Setien F, Espada J, Artiga MJ, Rodriguez M, Perez-Rosado A et al. Inactivation of the lamin A/C gene by CpG island promoter hypermethylation in hematologic malignancies, and its association with poor survival in nodal diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2005;23:3940-7.
 25. Kaufmann SH. Expression of Nuclear Envelope Lamins A and C in Human Myeloid Leukemias. *Cancer Research*. 1992;52:2847-53.
 26. Klymenko T, Bloehdorn J, Bahlo J, Robrecht S, Akyzhanova G, Cox K et al. Lamin B1 regulates somatic mutations and progression of B-cell malignancies. *Leukemia*. 2018;32:364-75.