

HDAC2, HDAC4, HDAC5, HDAC7, HDAC8, HDAC9 Gen İfade Seviyelerinin Çocukluk Çağı Akut Lösemilerinde Prognoz İle İlişkisi

HDAC2, HDAC4, HDAC5, HDAC7, HDAC8, HDAC9 Gene Expression Levels Associated with Prognosis in Childhood Acute Leukemia

* Dilara Fatma AKIN BALI
** Ahmet Emin KÜREKÇİ
*** Mehmet Nejat AKAR

* Niğde Ömer Halisdemir
Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji, Niğde

** Lössante Çocuk ve Yetişkin
Hastanesi, Ankara

*** TOBB-ETU Hastanesi,
Ankara

Öz

Amaç: Histon deasetilazların değişmiş ifadesi hematolojik maligniteler için kanser tedavisinde hedef olabilecek niteliktedir. HDAC mutasyonları ve anormal ifade seviyeleri çeşitli kanser tiplerinde ve özellikle hematolojik malignitelerde sıklıkla görülmekte olduğu, çocukluk çağı lösemi örneklerinde HDAC2, HDAC3, HDAC6, HDAC7 ve HDAC8 gen ifadelerinin sağlıklı çocuk kemik iliği örneklerine göre önemli derece yüksek olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada, farklı çocukluk çağı lösemilerinde farklı HDAC genlerinin ifade seviyelerinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. **Gereç ve Yöntem:** Çalışmamızda 6 HDAC geninin gen ifade profili çocukluk çağı akut lösemisi tanısı almış 13 bireye ait kemik iliği örneklerinde tedavi öncesi ve sonrasında kantitatif Real Time PCR yöntemi kullanılması ve referans gen ile karşılaştırılması ile gerçekleştirilmiştir. **Bulgular:** Çalışmamız sonucunda çocukluk çağı lösemi örneklerinde HDAC genleri ifade seviyelerinin birbirine göre farklılık gösterdiği gözlenmiştir. Çalışmamızda; tedavi öncesinde, kontrol örneklerinin ifadenme seviyelerine göre; HDAC2 ve HDAC9 ifadenme seviyelerinin düşük, HDAC 4 ve HDAC 8 eşit seviyede ve son olarak HDAC 5 ve HDAC7 yüksek olduğu belirlenmiştir. Tedavi sonrasında ise, kontrol örneklerinin ifadenme seviyelerine göre; HDAC2 ve HDAC9 ifadenme seviyelerinin düşük, HDAC 4 ve HDAC 8 yükseldiği ve HDAC 5 ve HDAC7'nin ise düştüğü tespit edilmiştir. **Sonuçlar:** Tümör gelişiminde rol oynayan genlerin ve/veya yolları kontrol eden HDAC gen seviyelerinin artması, tedavi sonrasında ise bu ifadenme seviyelerinin sağlıklı örneklerin seviyesine eşit olması, HDAC genlerinin kanser patogenezi ile direkt ilişkide olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler : Histondeasetilaz, lösemi, gen ifadesi, epigenetik mekanizma

Abstract

Objective: HDAC have been frequently observed in several types of cancers, including haematological malignancies. Altered expression of HDACs and mutations are common feature in several human malignancies and may represent an interesting target for cancer treatment, including haematological malignancies. HDAC2, HDAC3, HDAC6, HDAC7 and HDAC8 gene expressions in childhood leukemia cases were reported to be significantly higher than in healthy pediatric bone marrow samples. This study aims evaluating the gene expressions of HDACs in different types of childhood leukemia. **Material and Methods:** In our study, identification and comparison with reference

Yazışma Adresi:

Dilara Fatma Akın
Niğde Ömer Halisdemir
Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,
Niğde Türkiye
Telefon: +905363026816.
E-mail: dilarafatmaakin@gmail.com

gene of 6 HDAC genes were performed at before and after treatment in 13 patients with acute childhood leukemia samples using quantitative Real-Time PCR Results: As a result of our study, it was observed that expression levels of HDAC genes in childhood leukemia were different according to each other. In our study; according to the level of expression of patients samples to control samples before treatment; HDAC2 and HDAC9 expression levels are low, HDAC 4 and HDAC 8 are equal, and finally HDAC 5 and HDAC7 are high. After treatment, according to the expression levels of patients samples to control samples; It has been found that HDAC2 and HDAC9 rendering levels are low, HDAC 4 and HDAC 8 are rising, and HDAC 5 and HDAC 7 are falling. **Conclusions:** The elevation of HDAC gene levels controlling genes and / or pathways involved in tumor development and the equivalence of these expression levels to that of healthy specimens after treatment suggests that HDAC genes may be directly related to cancer pathogenesis.

Keywords: Histone deacetylases, leukemia, gene expression, epigenetic mechanism

Giriş

Kanser patogenezi genetik değişikliklere ek olarak, epigenetik mekanizmalar ile de ilişkilidir. DNA metilasyon ve histon modifikasyonu iki önemli epigenetik mekanizmadır. Histon modifikasyon mekanizmaları arasında bugüne kadar en iyi çalışılmış olan histon asetilasyonu, kromatin yapısının ve transkripsiyonel aktivitenin düzenlenmesinde rol almaktadır. Bu mekanizma histon asetiltransferaz (HAT) ve Histondeasetilaz (HDAC) enzimleri ile katalize edilmektedir. Homolojilerine göre 4 farklı grupta bulunan HDAC enzimleri genelde büyük stabil multi-subüniteli kompleksler olarak bulunurlar ve diğer hücre içi moleküllerle etkileşirler. İnsanda deasetilaz aktivitesi olduğu bilinen 18 enzim mevcuttur ve 4 grup içerisinde sınıflanmışlardır. Sınıf I HDAC (HDAC 1,2,3 ve 8), Sınıf II (HDAC 4,5, 6, 7, 9 ve 10) ve Sınıf IV HDAC (HDAC11) çinko bağımlı enzimatik mekanizmaya sahiptirler. Sınıf III ise SIR olarak bilinirler (Sirt 1,2,3,4,5 ve7) NAD bağımlıdır ve bu 4 sınıf içerisinde homolojilerine göre yer almaktadırlar (1-3). Sınıf I HDAC enzimatik aktiviteleri çok yüksek ve hücre sağ kalımı ve çoğalmasında rol oynadığı bildirilmektedir. Ayrıca bu sınıftaki enzimlerin DNA'ya bağlanan proteinlerle kompleks yaparak promotörleri etkilemeleri nedeni ile gene özgül etki gösterebildikleri bildirilmiştir. Sınıf II

HDAC dağılımlarının dokuya özgül olması ve çeşitli hücrel sinyallere göre çekirdek ve sitoplazma arasında gidip gelmeleri, hücrel gelişim ve farklılaşmada değişik görevleri olduğunu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Sınıf III olarak bilinen SIR sınıfı üyelerinin primer substratlarının histonlar olmadığı rapor edilmiş ve sınıf IV grup içerisinde tek bir enzim yer almaktadır. HDAC11, beyin, kalp, böbrek, kas ve testislerde varlığı bilinmekle birlikte fonksiyonu tam olarak açıklanamamıştır (2-6).

Tümör gelişimi ile ilgili olan genlerin aktivasyonu ve/veya inaktivasyonundan sorumlu olan HDAC genlerinde, meydana gelen mutasyonlar ve değişmiş ifadenin seviyesi; hücre döngüsü, farklılaşma, apoptoz, adezyon, hücrel göç, anjiogenez yolak ve mekanizmalarının değişimine yol açmaktadır. HDAC mutasyonları ve anormal ifade seviyeleri çeşitli kanser tiplerinde ve hematolojik malignitelerde sıklıkla görülmekte olduğu, çocukluk çağı ALL kemik iliği örneklerinde HDAC2, HDAC 4, HDAC3, HDAC6, HDAC7 ve HDAC8 gen ifadelerinin sağlıklı çocuk kemik iliği örneklerine göre önemli derece yüksek olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (4-6).

Lösemi tipleri arasında bireysel lezyonların sıklığı ve yapısının önemli derece farklılık gösterdiği gözlemlenmiştir. Akut Lösemilerde normal lenfoid/miyeloid olgunlaşma sürecinin 3 te 2'sinde genetik değişimler nedeniyle bozulduğu bilinmektedir. Fakat bu genetik anomaliler lösemilerin biyolojik temelini ve tedaviye verilen cevaptaki farklılıkların ya da herhangi bir genetik anomali taşımayan bireylerin neden lösemi olduğunun açıklanmasında yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle yapılan gen ifade profillemesi yaygın olarak transkriptom düzeyinde lösemik hücrenin anomalisini karakterize ederek, tanı ve teşhiste bunların bir araç olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır (7,8). Yapılan çalışmalar neticesinde, lösemilerin patogenezinin anlaşılmasını sağlayabilecek olan; tümör baskılayıcılarda, onkogenlerde, lenfosit seri gelişiminde ya da apoptoz kontrolünden sorumlu olan genlerde tanımlanmamış genetik değişimler ve önemli olan hücrel yolaklar belirlenmeye çalışılmaktadır (7-10). Aynı zamanda kişiye özel ilaç tedavi protokollerinin geliştirilmesi ve en önemlisi de hastalığın prognoz seyrinin iyileştirilmesi sağlanabilecek prognostik faktörler belirlenmeye çalışılmıştır, ancak epigenetik değişimlerin lösemilerde prognostik bir biyobelirteç olabilirliği ile ilgili uluslararası literatürde az sayıda çalışma mevcut iken ve ulusal literatürde ise herhangi bir çalışma yoktur.

Çalışmamız çocukluk çağı lösemilerinde HDAC gen ifadenmesinin prognostik biyobelirteç olma özelliklerinin araştırılması amaçlandığı ön çalışmadır.

Bu çalışmadaki amacımız; HDAC genlerinden, literatürde daha önce farklı çocukluk çağı lösemi gruplarında etkisi olduğu rapor edilen Sınıf I ve II ailesinden HDAC 2,8,4,5,7,9' un gen ifadenme seviyelerinin, çocukluk çağı akut lösemisinde yeni tanı ve remisyon durumunda olan örneklerin karşılaştırılması ile kemoterapinin HDAC gen ifadesi üzerine olan etkisinin ortaya konabilmesini ve prognostik biyo-belirteç olma özelliklerinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem

Çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 11.06.2012 tarihli, 10–310–12 karar numarası ile kabul edildi. Çalışmaya katılmayı kabul eden bireylerin yasal vâsilerinden çalışmaya katıldıklarına dair onam formları alındı. Çalışma grubumuzu tedavi gören akut lösemi tanısı almış 1–15 yaş arasında 13 hasta ve aynı yaş grubundan 3 sağlıklı çocuk (kontrol grubu) oluşturdu. Hasta grubu sonuçları kendi içerisinde her hastanın tedavi öncesi ve sonrası örneklerinin HDAC gen ifade seviyelerinin referans gen ile karşılaştırılması ile elde edilmiştir. Sağlıklı çocuk kontrol grubu örnekleri sadece hasta grubu örneklerinin sonuçlarını normalize etmek amacı ile çalışmaya dâhil edilmiştir. Hasta grubunu oluşturan bireylerin demografik ve tanısal özellikleri Tablo-1 de verilmiştir. Çalışma grubunun klinik tanıyı doğrulamak amacı ile gerçekleştirilen genetik anomali testleri Lösante Çocuk ve Yetişkin Hastanesi'nde gerçekleştirilmiştir.

HDAC 2,4,5,7,8 ve 9 gen ifade analizi için hasta ve kontrol grubundan Paxgene Blood toplama tüpüne tedavi öncesinde ve tedavi sonrasında (remisyon) alınan kemik iliği örneklerinden RNA izolasyonu Paxgene Blood RNA izolasyon kiti (PreAnalytix, QIAGEN, Almanya) kiti kullanılarak yapıldı. Elde edilen RNA örneklerinin saflığının ve konsantrasyonlarının belirlenmesi için spektrofotometre (Nanodrop ND-1000) kullanılarak ölçüm yapılmıştır. A260/A280 oranının 1,8-2,2 aralığında olması RNA'nın saf olduğunu göstermektedir. İzole edilen RNA örneklerinden c-DNA sentezi için başlangıç miktarı 500 ng olarak belirlenmesi nedeni ile örnek konsantrasyonuna uygun miktarda RNA eklendikten sonra son hacim 10 µl'ye dH₂O ile tamamlanmıştır. c-DNA'lar Read Assay kiti (Roche, Almanya) ve uygun Taqman Prop -primer

çifti ve protokol kullanılarak Kantitatif eşzamanlı Real Time (qRT-PCR) tekniği Light Cyclers 480 II cihazı (Roche, Almanya) ve Basic Relative Quantifikasyonu yöntemi ile gen ifade seviyeleri analiz edilmiştir. Referans genler her dokuda eşit miktarda gen ifadesinin olduğu bilinen hücresel yaşam fonksiyonlarından sorumlu genler arasından seçilmektedir. Referans gen olarak kan dokusunda stabil ifade gösterdiği bildirilmiş olan GAPDH (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase) geni kullanılmıştır. Tablo 2 de qRT-PCR için kullanılan primer çiftleri verilmiştir.

Bulgular

Çalışmamızda 6 farklı HDAC 2,4,5,7,8 ve 9 geninin ifade seviyelerine tanı (tedavi başı) ve tedavi sonrası aşamalarda bakılarak ifade profillerinin karşılaştırılması yapılmıştır. Çalışmada çocukluk çağı lösemi örneklerinde HDAC gen ifade seviyelerinin birbirine göre farklılık gösterdiği gözlenmiştir.

AML tanısı almış 4 hastada 10,11,12 ve 13 numaralı HDAC4 tedavi öncesi ifade seviyesine göre tedavi sonrası yükseldiği belirlenmiştir. HDAC4 tedavi sonrasında yüksek olan 12 numaralı hasta, 9 yaşında erkek 2011 yılında Akut Miyeloid Lösemi (AML) tanısı aldı, idame tedavisi sırasında moleküler nüks gelişti, nüks tedavisi sırasında eksitus olduğu kaydedilmiştir (Şekil 1a). HDAC8 için ise AML tanısı almış hasta 11 de tedavi öncesi ifade seviyesi tespit edilirken, tedavi sonrası bu ifadenin oldukça azaldığı gözlenmiştir (Şekil 1b).

HDAC2 öncesinde yüksek olan 9 numaralı hasta, 6 yaşında kız Prekürsör B hücreli ALL 2010 da tanı aldı. MLL t(4;11) gen ifadesi %95 pozitif bulundu, şuanda idame tedavisi bittiği rapor edilmiştir. Yine HDAC7 ifadesi de Prekürsör B-ALL hastalarda, tedavi öncesi son derece yüksek iken tedavi ile düştüğü ama sağlıklı kontrol örneklerinin düzeyine inemediği grafikten görülmektedir. HDAC2 tedavi sonrası ve HDAC8 tedavi öncesinde yüksek olan 8 numaralı hasta 5 yaşında erkek 2011 yılında Pre-B hücreli ALL, sitogenetik bulguları normal ve idame tedavisinde olduğu kaydedilmiştir. HDAC8 tedavi öncesi yüksek olan diğer 7 numaralı hasta, 6 yaşında Erkek Prekürsör B hücreli ALL (My+) 2010'da tanı aldı, tanıya yapılan Kemik iliği örneğinde FISH ile t(12:21) % 100 pozitif ve idame tedavisi tamamlandığı kaydedilmiştir (Şekil 1b, Şekil 2a).

Tablo 1 Çalışma grubu demografik ve tanısal özellikleri

No	Cinsiyet	Tanı Yaşı	Tanı	Genetik Anomali
1	E	1y	ALL	tri 4,10,14,17,21 pozitif
2	K	3y	ALL	Normal Karyotip (46,XX)
3	E	3y	ALL	Normal Karyotip, (46,XY)
4	K	2y	CALLA+ALL	Normal Karyotip (46,XX), t(9;22) pozitif
5	E	13y	My+ Pre B hücreli ALL	t(9;22). 2HKHN- 2 kez KI +SSS nüksü
6	K	16y	Pre B-ALL	Relaps, Kimerizim, t(9;22) pozitif + SSS nüksü- 2 HKHN -2 KI
7	E	6y	my+Pre-B-ALL	Normal Karyotip, (46,XY), t(12:21) pozitif
8	E	5y	Pre B-ALL	Normal Karyotip (46,XY), t(9;22) pozitif
9	K	6y	Pre B-ALL	Normal Karyotip (46,XX), t(4:11) pozitif
10	K	8y	AML-M3	t(15:17) pozitif
11	E	6y	AML-M3-APL	t(15:17) pozitif
12	E	9y	AML	ex t(9;22), t(8:21) pozitif – moleküler nüks
13	E	7y	AML	Normal Karyotip (46,XY)
14	K1	4y	Sağlıklı Çocuk	-
15	K2	5y	Sağlıklı Çocuk	-
16	K3	7y	Sağlıklı Çocuk	-

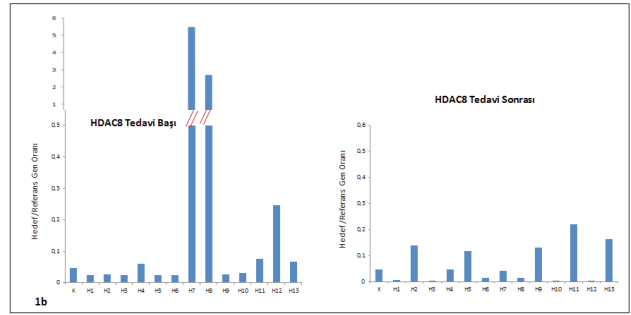
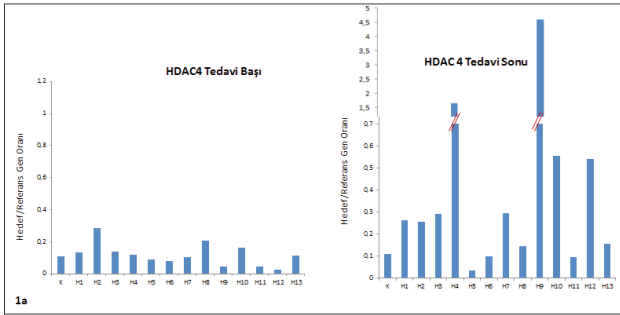
Tablo 2 qRT-PCR için kullanılan primer çiftleri

No	Gen	Primer Sense	Primer Antisense	Ürün Boyutu
1	HDAC2	ACGCCAAGATCAGCGACTTT	GGGTGCGTACCACTTGAGC	104 bç
2	HDAC4	GCTTTCGTATAAGCCCTCACAA	GCGGAATTGGTGATGATTTCGATG	118 bç
3	HDAC5	CATCAGCCCGATGTACCAGC	CCTCGTTGTTGCTCTCGGT	188 bç
4	HDAC7	ACTACACCGAGGAAATGGGCT	CCCACAATGCCAGTTAAGAAGA	133 bç
5	HDAC8	TCTGGGGAGTATGTTGCAGAA	AGACATGGTTGGGTGGATAACC	130 bç
6	HDAC9	AAAGCATCCAACGGAGTGGAA	GCCCTGTCTGTCGTAGAGG	221 bç
7	GAPDH	CAGATTGGCTACCCAACCTGTT	GGAAGGTGTAATCCGTCTCCAC	97 bç

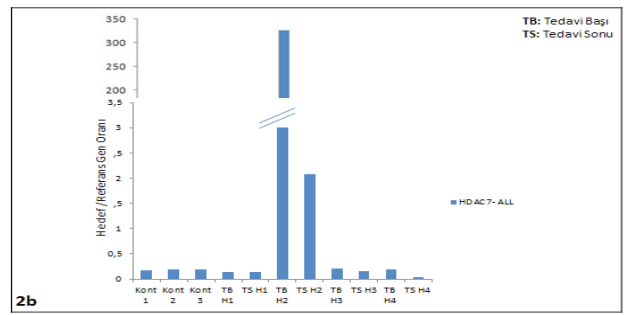
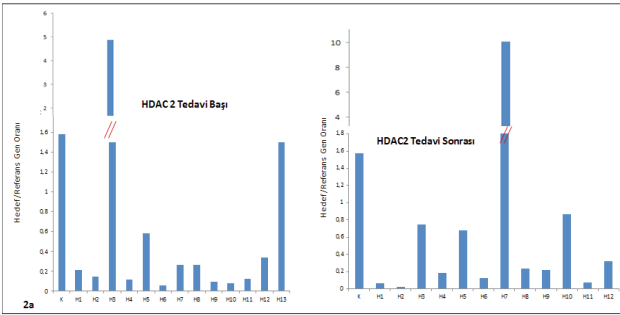
HDAC7, kontrol ve hasta örnekleri tedavi başı-sonunda birbiri ile benzer sonuçlarına göstermiştir. Sadece bir hastada tedavi başı ve sonu gen ifade seviyesi değeri yüksek bulunmuştur. 5 numaralı hasta My+Pre-kürsör B hücreli ALL tanılıdır ve bu hastanın tanındaki Kemik iliği örneğinde t(9;22) pozitifliği kaydedilmiştir. Bu hastada 2 Kez Hematopoetik Kök Hücre Nakli uygulanmış ve 2 kez Kemik iliği+Santral Sinir Sistemi nüksü gelişmiştir (Şekil 2b). HDAC 9 ifade seviyesinin

ise kontrol grubuna göre düşük olduğu ve sadece 2 numaralı hastada tedavi sonrasında yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 2c).

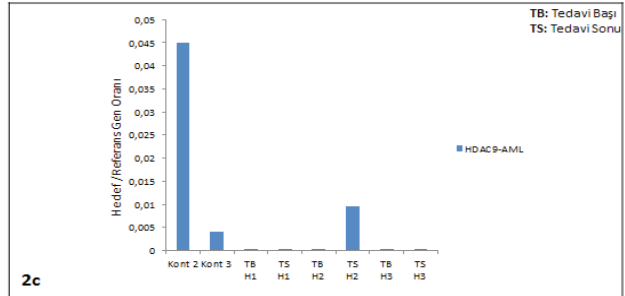
HDAC5 in tedavi başında tedavi sonuna göre B-ALL hastalarında yüksek olduğu, tedavi sonucunda ise bu miktarın kontrol seviyesine indiği Şekil 3a'da izlenmektedir.

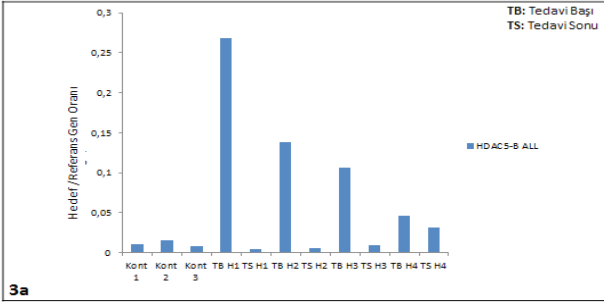


Şekil 1a-b. HDAC gen ifadelerinin çocukluk çağı akut lösemili hasta örneklerinde tedavi başı, tedavi sonu ve kontrol örnekleri ile karşılaştırmalı analizi



Şekil 2a-c. HDAC gen ifadelerinin çocukluk çağı akut lösemili hasta örneklerinde tedavi başı, tedavi sonu ve kontrol örnekleri ile karşılaştırmalı analizi





Şekil 3a: HDAC gen ifadelerinin çocukluk çağı akut lösemili hasta örneklerinde tedavi başı, tedavi sonu ve kontrol örnekleri ile karşılaştırmalı analizi

Tartışma

Kanser hücrelerinde histon asetilasyon seviyelerinin düşük olduğu, dolayısıyla HDAC ifadesinin, sağlıklı hücre ve dokulara göre daha yüksek olduğu bilinmektedir (3,11). Tümör baskılayıcı genlerin transkripsiyonlarının engellenmesi sonucu tümör başlaması ve gelişiminde etkili olduğu bildirilmiştir. Birçok kanser HAT ve HDAC aktiviteleri arasındaki dengenin bozulması ile meydana gelen moleküler değişimler görülmekte olduğu bildirilmiştir. HDAC enzimleri farklılaşma, apoptoz ve hücre döngüsünde etkili olan genleri koruyarak proonkogenik etki göstermekte olduğu rapor edilmiştir. Hematolojik maligniteler ile yapılan çalışmalarda özellikle lenfomalarda ve AML'de HDAC aktivitesinin kanser gelişiminde ve ilerlemesinde önemli rolü olduğu belirlenmiştir fakat ALL'li hasta grupları ile yapılan çok az sayıda çalışma mevcuttur (3, 12, 13).

Bu çalışmada çocukluk çağı akut lösemilerinde ilk tanı, kemoterapi öncesi ve remisyon kemoterapi sonrası hasta kemik iliği örnekleri HDAC gen ifadeleri karşılaştırıldı. Her ne kadar çeşitli literatürde HDAC gen ifadesinin değiştiği ile ilgili önemli kanıtlar olsa da HDAC'nin kanser gelişiminde ve prognozunda çok az sayıda çalışma mevcuttur. Literatürde çalışma grubunu çocukluk çağı lösemilerinin oluşturduğu, tedavi öncesi ve tedavi sonrası örneklerin karşılaştırıldığı çalışma mevcut değildir.

Moreno ve ark yaptıkları çalışmada, pediatrik B-hücreli Akut Lenfoblastik Lösemi (B-ALL) de HDAC7 ve HDAC9'un gen ifade seviyesinin normal kemik iliği örneklerine göre karşılaştırıldığında yüksek olduğu ve kötü prognoz ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir (3). Yaptığımız çalışmada da tedavi başında HDAC5 ifadesinin yüksek olduğu, tedavi ile de bu miktarın azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca HDAC7 ifadesinin de Prekürsör B-ALL hastada, tedavi öncesi oldukça yüksek iken

tedavi ile düştüğü ama sağlıklı kontrol örneklerinin düzeyine inmediği grafikten görülmektedir. Özellikle aynı hastada 2 kez Kemik iliği transplantasyonuna rağmen nöks gözlenmiştir. Bu durum kemoterapi tedavisi ile HDAC7 ifadesinin düştüğünü ve HDAC7'nin kötü prognoz ile ilişkilendirildiği çalışmalar mevcuttur.

HDAC9 ifadesine bakıldığında kontrollerde yüksek iken Akut Miyeloid Lösemili (AML) hastalarda tedavi başında çok düşük olduğu ve tedavi sonrasında da yükselmediği görülmüştür. HDAC 9 sınıf II HDAC'lar arasındadır ve doku spesifik paterne sahiptir, sağlıklı dokularda özellikle kemik iliğinde düşük seviyede ifadelendiği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. HDAC 9 aşırı ifadesinin kanser gelişim mekanizması ile ilişkili olduğu özellikle hematopoez için önemli rolü olduğu rapor edilmiştir (1). Bu durum HDAC9'un AML için belirteç olabilmek için güvenilir bir aday olmadığını göstermektedir. iyi yanıt alınmadığı yolunda yorumlanabilir. Bu sonuçlardan yola çıkılarak ayrıca B-ALL'li hastalarda HDAC5 ve Prekürsör B-ALL'li hastalarda HDAC7'nin prognoz tespitinde iyi bir belirteç olarak kullanılabileceğini de düşündürebilir. Tedavi sonrası alınan iyi klinik yanıtın yanı sıra HDAC5 ifadesinde de azalma görülmüştür. Çalışmamızın sonucunu özetlediğimizde; tedavi öncesinde, kontrol örneklerinin ifadelendirme seviyelerine göre; HDAC2 ve HDAC9 ifadelendirme seviyelerinin düşük, HDAC 4 ve HDAC 8 eşit seviyede ve son olarak HDAC 5 ve HDAC7 yüksek olduğu belirlenmiştir. Tedavi sonrasında ise, kontrol örneklerinin ifadelendirme seviyelerine göre; HDAC2 ve HDAC9 ifadelendirme seviyelerinin düşük, HDAC4 ve HDAC8 yükseldiği ve HDAC 5 ve HDAC7 nin ise düştüğü tespit edilmiştir. Witt ve ark yapmış oldukları çalışmada, HDAC7 ve HDAC9 ifade düzeyi B-hücre serili lösemide yüksek bulunmuş ve kötü prognoz ve 5 yıllık sağ kalım süresinin düşüklüğü ile ilişkilendirilmiştir (1, 3,11-13,16).

HDAC inhibisyonunun hematolojik malignitelerde özellikle lenfoma, kronik lenfoblastik lösemi ve AML'de önemli etkileri olduğu gösterilmiştir. HDAC inhibitörlerin bu tür hastalıklarda kullanılan önemli terapötik hedefler olduğu yapılan in vitro çalışmalarda bildirilmiştir (14,15).

Literatürde çocukluk çağı lösemilerinde özellikle ALL'de HDAC aktivitesini ortaya koyan çok az sayıda mevcuttur. Bu çalışma ile literatürde lösemi üzerine etkisi olduğu belirtilen Sınıf I ve Sınıf II ailesi HDAC genlerinin ifade seviyeleri ortaya konulmuş ve özellikle tedavi süresince HDAC ifadesinin değişimi belirlenmiş ve gen ifadelerinin prognostik biyobelirteç olma özelliği ortaya konulmaya çalışılmıştır. Kemoterapinin kanser patogenezinde rol oynayan genlerin deasetile olmasını sağlayabileceğini düşündürmektedir. Tümör gelişiminde rol oynayan genlerin ve/veya yolları kontrol eden HDAC gen seviyelerinin artması, tedavi sonrasında ise bu ifadenin seviyelerinin kontrol örnekleri ile aynı veya düşük seviyede olması, HDAC genlerinin kanser patogenezi ile direkt ilişkide olabileceğini düşündürmektedir.

Kaynaklar

1. Verdin E, Dequiedt F, Kasler HG. Class II histone deacetylases: versatile regulators. *Trends in Genetics* 2003; 19: 286–293.
2. Melnick A, Licht JD. Histone deacetylases as therapeutic targets in hematologic malignancies. *Curr Opin Hematol* 2002;9(4):322-32.
3. Moreno DA, Scrideli CA, Cortez MA, de Paula Queiroz R, Valera ET, da Silva Silveira V, et al. Differential expression of HDAC3, HDAC7 and HDAC9 is associated with prognosis and survival in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 2010;150(6):665-73.
4. Klimek VM, Firicanis S, Maslak P, Guernah I, Baum M, Wu N, Panageas K, et al. Tolerability, pharmacodynamics, and pharmacokinetics studies of depsipeptide (romidepsin) in patients with acute myelogenous leukemia or advanced myelodysplastic syndromes. *Clinical Cancer Research* 2008; 14; 826–832.
5. Altucci L, Minucci S. Epigenetic therapies in hematological malignancies: searching for true targets. *European Journal of Cancer* 2009;45;1137–1145.
6. Cress WD, Seto E. Histone deacetylases, transcriptional control, and cancer. *Journal of Cellular Physiology* 2000; 184; 1–16.
7. Mullighan CG, Downing JR. Genome-wide profiling

of genetic alterations in acute lymphoblastic leukemia: recent insights and future directions. *Leukemia* 2009;23(7):1209-18.

8. Roberts KG, Mullighan CG. Genomics in acute lymphoblastic leukaemia: insights and treatment implications. *Nature reviews Clinical oncology* 2015; 12(6):344-57.

9. Kuiper RP, Schoenmakers EF, van Reijmersdal SV, et al. High-resolution genomic profiling of childhood ALL reveals novel recurrent genetic lesions affecting pathways involved in lymphocyte differentiation and cell cycle progression. *Leukemia* 2007;21(6):1258-66.

10. Apak H. Çocukluk çağı lösemileri. *Türk Pediatri Arşivi*. 2006;41:189-96.

11. Kim DH, Kim M, Kwon HJ. Histone deacetylase in carcinogenesis and its inhibitors as anti-cancer agents. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology* 2003; 36; 110–119.

12. Witt O, Deubzer HE, Milde T, Oehme I. HDAC family: what are the cancer relevant targets? *Cancer Letters* 2009; 277; 8–21.

13. Lam YM, Chan YF, Chan LC, Ng RK. Histone deacetylase inhibitors induce leukemia gene expression in cord blood hematopoietic stem cells expanded ex vivo. *Int J Hematol* 2017; 105(1):37-43.

14. Marks P, Rifkind RA, Richon VM, Breslow R, Miller T, Kelly WK. Histone deacetylases and cancer: causes and therapies. *Nature Reviews Cancer* 2001; 1;194–202.

15. Bradbury CA, Khanim FL, Hayden R, Bunce CM, White DA, Drayson MT, Craddock C, Turner BM. Histone deacetylases in acute myeloid leukaemia show a distinctive pattern of expression that changes selectively in response to deacetylase inhibitors. *Leukemia* 2005; 19: 1751–1759.

16. Bernstein BE, Meissner A, Lander ES. The mammalian epigenome. *Cell* 2007; 128; 669–681.