SUMMARY

Chronic myeloid leukemia (CML) represents 15% of adult leukemias. Imatinib Mesylate (IM) is the gold standard treatment for new cases of CML. Treatment with IM resulted in improvement of the majority of cases.

Despite the success achieved by IM in the treatment of the disease, a considerable percentage (about 25%) of cases may develop resistance to the drug. Sensitive and specific early predictors of IM resistance in CML patients have not been established to date.

The aim of the present work was to study the possible value of microRNA 451 (miR-451) in CML as an early predictor for IM resistance in Egyptian patients.

In order to achieve this goal, 60 subjects were included in the study and were divided into four groups; Group I included 15 chronic phase (newly diagnosed) adult CML patients group II included 15 IM responder CML patients. The study also included 15 IM resistant CML patients (Group III) and 15 healthy subjects as controls (Group IV).

All CML patients were subjected to:

- Thorough clinical evaluation focusing on symptoms and signs of CML.
- Real time PCR was performed to detect BCR ABL gene mutation in CML patients.

All Subjects were subjected to the following investigations:

- Routine laboratory investigations including:
    1. Complete blood count (CBC).
    2. Liver function tests including serum alanine aminotransferase (ALT) and serum aspartate aminotransferase (AST).
    3. Kidney function tests.

- Measurement of leucocytic level of micro-RNA 451 using qPCR.

Statistical analysis of the studied parameters showed the following results:

- There was a significant decrease in the median miR-451 in group I compared with groups II, III, and the control group IV. Also, there was a significant increase in the median miR-451 in group II compared with group III and the control group IV. However, group III showed a significant increase in the median miR-451 in comparison with the control group IV.

- In the comparison between the studied groups according to miR-451 expression, down-regulation of miR-451 was shown in leucocytes of 12, 4 and 5 patients in groups I, II and III respectively while it was up-regulated in 3, 11 and 10 patients in groups I, II and III respectively.

- Regarding the relation between miR-451 and BCR-ABL % in group I, a significant relation was shown at diagnosis while no significant relation was shown on follow up. On the other hand, in group II and group III the relation between miR-451 and BCR-

ABL % was significant on follow up while no significant relation was shown at diagnosis.

- Statistical correlations between miR-451 and other studied parameters in patients of the different groups showed a significant positive correlation between miR-451 and platelet count and a significant negative correlation with BCR-ABL% at diagnosis in the (newly diagnosed cases) group I. In (IM responder cases) group II a significant negative correlation between miR-451 with BCR-ABL% on follow up was shown. However, (IM resistant cases) group III showed no significant correlations between miR-451 and any of the studied parameters.

- The Receiver-Operating Characteristic (ROC) curve analysis applied to assess the performance of miR-451 as a prognostic marker for CML revealed that at the cut-off value of 2.51 the sensitivity of miR-451 in detecting CML has been estimated to be 42.11% while its specificity has been shown to be 80.77%.

Obeikandl.com

CONCLUSION

1. MicroRNA 451 (miR-451) expression was significantly decreased in newly diagnosed chronic myeloid leukemia (CML) patients as compared to healthy subjects.

2. MicroRNA 451expression was significantly increased in Imatinib Mesylate (IM) responder CML patients compared with IM resistant CML, newly diagnosed CML patients and healthy controls.

3. At the cut-off value of 2.51 the sensitivity of miR-451in detecting CML has been estimated to be 42.11% while its specificity has been shown to be 80.77%. Therefore, it could be used as a useful additional follow up marker for the response to IM and as a promising prognostic biomarker for CML.

Obeikandl.com

RECOMMENDATIONS

The present results underlined the following;

1. The need for further studies to be carried out on a larger number of patients and covering cases of chronic myeloid leukemia (CML) in the different stages of the disease.

2. Longer follow up period on the patients in future studies is recommended in order to study the possibility of the clinical utility of microRNA 451 (miR-451) as a simple, relatively non-costy and noninvasive biomarker complementing or replacing the currently-used ones and to verify its prognostic impact in CML.

obeikandl.com

REFRENCES

1. Chattopadhyay K, Kar B. An investigation of Ph (1) chromosome in Chronic Myeloid Leukemia patients with different treatment modalities and hematological features. Indian J Hum Genet 2012; 18(2):229-32.

2. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics 2013. CA Cancer J Clin 2013; 63:11-30.

3. Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, O'Brien S, Kurzrock R, Kantarjian HM. The biology of chronic myeloid leukemia. N Engl J Med 1999; 341:164-72.

4. Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, Kantarjian HM. Chronic myelogenous leukemia: biology and therapy. Ann Intern Med 1999; 131 (3): 207–19.

5. Hehlmann R, Hochhaus A, Baccarani M. Chronic myeloid leukemia. Lancet 2007; 370 (9584): 342–50.

6. Wang JYJ. Abl tyrosine kinase in signal transduction and cell-cycle regulation. CurrOpin Genet Dev 1993; 3:35-43.

7. Gale RP, Grosveld G, Canaani E, Goldman JM. Chronic myelogenous leukemia: biology and therapy. Leukemia 1993; 7:653-8.

8. Sawyers CL. The bcr-abl gene in chronic myelogenous leukemia. Cancer Surv 1992; 15:37-51.

9. Chung S-W, Daniel R, Wong BY, Wong PM. The ABL genes in normal and abnormal cell development. Crit Rev Oncog 1996; 7:33-48.

10. McWhirter JR, Galasso DL, Wang JY. A coiled-coil oligomerization domain of Bcr is essential for the transforming function of Bcr-Abloncoproteins. Mol Cell Biol 1993; 13:7587-95.

11. Reuter GW, Fu H, Cripe LD, Collier RJ, Pendergast AM. Association of the protein kinases c-Bcr and Bcr-Abl with proteins of the 14-3-3 family. Science 1994; 7:129-33.

12. Pendergast AM, Muller AJ, Havlik MH, Maru Y, Witte ON. BCR sequences essential for transformation by the BCR-ABL oncogene bind to the ABL SH2 regulatory domain in a non-phosphotyrosine-dependent manner. Cell 1991; 66:161-71.

13. Puil L, Liu J, Gish G, Mbamalu G, Bowtell D, Pelicci PG, et al. Bcr-Abloncoproteins bind directly to activators of the Rassignalling pathway. EMBO J 1994; 13:764-73.

14. Sawyers CL, McLaughlin J, Witte ON. Genetic requirement for Ras in the transformation of fibroblasts and hematopoietic cells by the Bcr-Abl oncogene. J Exp Med 1995; 181:307-13.

obeikandl.com

15. Raitano AB, Halpern JR, Hambuch TM, Sawyers CL. The Bcr-Abl oncogene activates Jun kinase and requires Jun for transformation. Proc Natl Acad Sci U S A 1995; 92:11746-50.

16. Afar DE, Goga A, McLaughlin J, Witte ON, Sawyers CL. Differential complementation of Bcr-Abl point mutations with c-Myc. Science 1994; 264:424-6.

17. Sawyers CL. Chronic myeloid leukemia. N Engl J Med 1999; 340:1330 –40.

18. Tefferi A. Classification, diagnosis and management of myeloproliferative disorders in the JAK2V617F era. Hematology Program 2006; 240–5.

19. Savage DG, Szydlo RM, Goldman JM. Clinical features at diagnosis in 430 patients with chronic myeloid leukemia seen at a referral centre over a 16-year period. Br J Haematol 1997; (1): 111–6.

20. Tefferi A, Thiele J, Orazi A, Kvasnicka HM, Barbui T, Hanson CA, et al. Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. Blood 2007; 110 (4): 1092–7.

21. Baccarani M, Cortes J, Pane F, Niederwieser D, Saglio G, Apperley J, et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European Leukemia Net. J Clin Oncol 2009; 27(35):6041-51.

22. Sokal JE, Cox EB, Baccarani M, Tura S, Gomez GA, Robertson JE, et al. Prognostic discrimination in "good-risk" chronic granulocytic leukemia. Blood 1984; 63:789-99.

23. Hasford J, Pfirrmann M, Hehlmann R, Allan NC, Baccarani M, Kluin-Nelemans JC, et al. A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon alfa. Writing Committee for the Collaborative CML Prognostic Factors Project Group. J Natl Cancer Inst 1998; 90:850-58.

24. An X, Tiwari AK, Sun Y, Ding PR, Ashby CR Jr, Chen ZS. BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors in the treatment of Philadelphia chromosome positive chronic myeloid leukemia: a review. Leuk Res 2010; 34(10):1255-68.

25. DeAngelo DJ, Ritz J. Imatinib therapy for patients with chronic myelogenous leukemia: are patients living longer? Clin Cancer Res 2004; 10:1-3.

26. Quintás-Cardama A, Kantarjian H, Cortes J. Flying under the radar: the new wave of BCR-ABL inhibitors. Nat Rev Drug Discov. 2007; 6(10):834-48.

27. Apperley JF. Part I: mechanisms of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia. Lancet Oncol 2007, 8:1018-29.

28. Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, Gathmann I, Kantarjian H, Gattermann N, et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. N Engl J Med 2006; 355:2408-17.

obeikandl.com

29. O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, Gathmann I, Baccarani M, Cervantes F, et al. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. N Engl J Med 2003; 348:994-1004.

30. Nair V, Sharma A, Kotwal J, Bhikshapathy M, Mishra DK, Das S, et al. Monitoring of response to therapy with imatinib mesylate in Chronic Myeloid Leukemia in chronic phase (CML-CP). Med J Armed Forces India. 2014; 70(4):315-20.

31. Enériz ESJ, Román-Gómez J, Jiménez-Velasco A, Garate L, Maritn V, Coredu L, et al. MicroRNA expression profiling in imatinib-resistant chronic myeloid leukemia patients without clinically significant ABLI-mutations. Mol Cancer 2009; 8:69-72.

32. Enériz ESJ, Román-Gómez J, Cordeu L, Ballestar E, Gárate L, Andreu EJ, et al. BCR-ABL1-induced expression of HSPA8 promotes cell survival in chronic myeloid leukaemia. Flying under the radar: the new wave of BCR-ABL inhibitors. Br J Haematol 2008; 142(4):571-82.

33. Davis-Dusenbery BN, Hata A. MicroRNA in Cancer: The Involvement of Aberrant MicroRNA Biogenesis Regulatory Pathways. Genes Cancer 2010; 1(11):1100-14.

34. 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(5):843-54.

35. Lim LP, Lau NC, Garrett-Engele P, Grimson A, Schelter JM, Castle J, et al. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. Nature 2005; 433(7027):769-73.

36. Rosenfeld N, Aharonov R, Meiri E, Rosenwald S, Spector Y, Zepeniuk M, et al. MicroRNAs accurately identify cancer tissue origin. Nat Biotechnol 2008; 26: 462–9.

37. Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. Nat Rev Cancer 2006; 6:259–69.

38. Cui Q, Yu Z, Purisima EO, Wang E. Principles of microRNA regulation of a human cellular signaling network. Mol Syst Biol 2006; 2:46.

39. Cui Q, Yu Z, Pan Y, Purisima EO, Wang E. MicroRNAs preferentially target the genes with high transcriptional regulation complexity. Biochem Biophys Res Commun 2007; 352: 733–38.

40. Li M, Li J, Ding X, He M, Cheng SY. MicroRNA and cancer. AAPS J 2010; 12(3):309-17.

41. Cai X, Hagedorn CH, Cullen BR. Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs. RNA 2004; 10(12):1957-66.

42. Gregory RI, Shiekhattar R. MicroRNA biogenesis and cancer. Cancer Res 2005; 65(9):3509-12.

43. Gregory RI, Chendrimada TP, Shiekhattar R. MicroRNA biogenesis: isolation and characterization of the microprocessor complex. Methods Mol. Biol 2006; 342:33–47.

44. Kim VN, Han J, Siomi MC. Biogenesis of small RNAs in animals. Nat Rev Mol Cell Biol. 2009; 10:126-39.

45. Berezikov E, Chung WJ, Willis J, Cuppen E, Lai EC. Mammalian mirtron genes. Mol Cell. 2007; 28(2):328-36.

46. Murchison EP, Hannon GJ. miRNAs on the move: miRNA biogenesis and the RNAi machinery. Curr Opin Cell Biol 2004; 16(3):223-9.

47. Lund E, Dahlberg JE. Substrate selectivity of exportin 5 and Dicer in the biogenesis of microRNAs. Cold Spring HarbSymp Quant Biol 2006; 71:59-66.

48. Schwarz DS, Hutvágner G, Du T, Xu Z, Aronin N, Zamore PD. Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex. Cell 2003; 115(2):199-208.

49. Gangaraju VK, Lin H. MicroRNAs: key regulators of stem cells. Nat Rev Mol Cell Biol 2009; 10:116-25.

50. Flynt AS, Lai EC. Biological principles of microRNA-mediated regulation: shared themes amid diversity. Nat Rev Genet 2008; 9:831-42.

51. Schwarz DS, Zamore PD. Why do miRNAs live in the miRNP?. Genes Dev 2002; 16 (9): 1025–31.

52. Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. Cell 2005; 123 (4): 631–40.

53. Preall JB, He Z, Gorra JM, Sontheimer EJ. Short interfering RNA strand selection is independent of dsRNA processing polarity during RNAi in Drosophila. Curr Biol 2006; 16 (5): 530–5.

54. Siomi H, Siomi MC. On the road to reading the RNA-interference code. Nature 2009; 457 (7228): 396–404.

55. Okamura K, Chung WJ, Lai EC. The long and short of inverted repeat genes in animals: microRNAs, mirtrons and hairpin RNAs. Cell Cycle 2008; 7 (18): 2840–5.

56. Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? Nat Rev Genet 2008; 9:102-14.

57. Selbach M, Schwanhäusser B, Thierfelder N, Fang Z, Khanin R, Rajewsky N. Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs. Nature 2008; 455:58-63.

58. Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. Nucleic Acids Res 2014; 42:D68-73.

Omikanda.com

59. Garzon R, Calin GA, Croce CM. MicroRNAs in cancer. Annu Rev Med. 2009; 60:167–79.

60. Lu M, Zhang Q, Deng M, Miao J, Guo Y, Gao W, et al. An Analysis of Human MicroRNA and Disease Associations PLoS One 2008; 3(10):3420.

61. Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. Cancer Sci 2010; 101 (10):2087– 92.

62. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, et al. Human micro RNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. Proct Natl Acad Sci USA 2004; 101: 2999-3004.

63. Jansson MD, Lund AH. MicroRNA and cancer. Mol Oncol. 2012; 6(6):590-610.

64. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. Proc Natl Acad Sci USA 2002; 99:15524–9.

65. Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, Tomida S, Osada H, Endoh H et al. Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. Cancer Res 2004; 64:3753–6.

66. Iorio MV, Casalini P, Tagliabue E, Menard S, Croce CM. MicroRNA profiling as a tool to understand prognosis, therapy response and resistance in breast cancer. Eur J Cancer 2008; 44:2753–9.

67. Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, Veronese A, Spizzo R, Sabbioni S, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. Cancer Res 2005; 65:7065-70.

68. Chan JA, Krichevsky AM, Kosik KS. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. Cancer Res 2005; 65:6029–33.

69. Murakami Y, Yasuda T, Saigo K, Urashima T, Toyoda H, Okanoue T, et al. Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in hepatocellular carcinoma and non-tumorous tissues. Oncogene 2006; 25:2537–45.

70. Roldo C, Missiaglia E, Hagan JP, Falconi M, Capelli P, Bersani S, et al. MicroRNA expression abnormalities in pancreatic endocrine and acinar tumors are associated with distinctive pathologic features and clinical behavior. J Clin Oncol 2006; 24:4677–84.

71. He H, Jazdzewski K, Li W, Liyanarachchi S, Nagy R, Volinia S, et al. The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma. Proc Natl Acad Sci USA 2005; 102:19075–80.

72. Voorhoeve PM, le Sage C, Schrier M, Gillis AJ, Stoop H, Nagel R, et al. A genetic screen implicates miRNA-372 and miRNA-373 as oncogenes in testicular germ cell tumors. Cell 2006; 124:1169–81.

openkanaz.com

73. Li T, Li D, Sha JJ, Sun P, Huang YR. MicroRNA-21 directly targets MARCKS and promotes apoptosis resistance and invasion in prostate cancer cells. Biochem Biophys Res Commun 2009; 383: 280–5.

74. Veerla S, Lindgren D, Kvist A, Frigyesi A, Staaf J, Persson H, et al. MiRNA expression in urothelial carcinomas: important roles of miR-10a, miR-222, miR-125b, miR-7 and miR-452 for tumor stage and metastasis, and frequent homozygous losses of miR-31.Int J Cancer 2009;124: 2236–42.

75. Segura MF, Hanniford D, Menendez S, Reavie L, Zou X, Alvarez-Diaz S, et al. Aberrant miR-182 expression promotes melanoma metastasis by repressing FOXO3 and microphthalmia associated transcription factor. Proc Natl Acad Sci USA 2009; 106:1814–9.

76. Sengupta S, den Boon JA, Chen IH, Newton MA, Stanhope SA, Cheng YJ, et al. MicroRNA 29c is down regulated in nasopharyngeal carcinomas, up-regulating mRNAs encoding extracellular matrix proteins. Proc Natl Acad Sci USA 2008; 105: 5874–8.

77. Cummins JM, He Y, Leary RJ, Pagliarini R, Diaz LA Jr, Sjoblom T, et al. The colorectal microRNAome. Proc Natl Acad Sci USA 2006; 103:3687 – 92.

78. Agirre X, Jiménez-Velasco A, San José-Enériz E, Garate L, Bandrés E, cordeu L, et al. Down-regulation of hsa-miR-10a in chronic myeloid leukemia CD34+ cells increases USF2-mediated cell growth. Mol Cancer Res 2008; 6(12):1830-40.

79. Garzon R, Pichiorri F, Palumbo T, Visentini M, Aqeilan R, Cimmino A, et al. MicroRNA gene expression during retinoic acid-induced differentiation of human acute promyelocytic leukemia. Oncogene 2007; 26:4148 – 57.

80. Calin GA, Ferracin M, Cimmino A, Di Leva G, Shimizu M, Wojcik SE, et al. A microRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med 2005; 353:1793 – 801.

81. Zanette DL, Rivadavia F, Molfetta GA, Barbuzano FG, Proto-SiqueiraR,Silva WA, Jr.miRNA expression profiles in chronic lymphocytic and acute lymphocytic leukemia. Braz J Med Biol Res 2007;40:1435 – 40.

82. Ramkissoon SH, Mainwaring LA, Ogasawara Y, Keyvanfar K, McCoy JP Jr, Sloand EM, et al. Hematopoietic specific microRNA expression in human cells. Leuk Res 2006; 30:643 –7.

83. 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 – 9.

84. Olson P, Lu J, Zhang H, Shai A, Chun MG, Wang Y, et al. MicroRNA dynamics in the stages of tumorigenesis correlate with hallmark capabilities of cancer. Genes Dev 2009; 23(18):2152-65.

obeikandi.com

85. Iorio MV, Croce CM. MicroRNA dysregulation in cancer: diagnostics, monitoring and therapeutics. A comprehensive review EMBO. Mol Med 2012; 4(3):143-59.

86. Kong YW, Ferland-McCollough D, Jackson TJ, Bushell M. microRNAs in cancer management. Lancet Oncol 2012; 13(6):249-58.

87. Ferracin M, Pedriali M, Veronese A, Zagatti B, Gafà R, Magri E, et al. MicroRNA profiling for the identification of cancers with unknown primary tissue-of-origin. J Pathol 2011; 225(1):43-53.

88. Hanke M, Hoefig K, Merz H, Feller AC, Kausch I, Jocham D, et al. Robust methodology to study urine microRNA as tumor marker: microRNA-126 and microRNA-182 are related to urinary bladder cancer. Urol Oncol 2010; 28(6):655-61.

89. Lawrie C.H, Gal S., Dunlop H.M, Pushkaran B, Liggins A.P, Pulford K, et al. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. Br J Haematol 2008; 141(5):672-5.

90. Link A, Balaguer F, Shen Y, Nagasaka T, Lozano JJ, Boland CR, et al. Fecal MicroRNAs as novel biomarkers for colon cancer screening Cancer. Epidemiol Biomarkers Prev 2010;19(7):1766-74.

91. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. ProcNatlAcadSci U S A. 2008; 105(30):10513-8.

92. Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. Cell Res. 2008; 18(10):997-1006.

93. Resnick K.E, Alder H, Hagan J.P, Richardson D.L, Croce C.M , Cohn D.E.The detection of differentially expressed microRNAs from the serum of ovarian cancer patients using a novel real-time PCR platform. Gynecol Oncol 2009; 112(1):55-9.

94. Ng EK, Chong WW , Jin H, Lam EK, Shin VY, Yu J, et al. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening. Gut 2009; 58(10):1375-81.

95. Feng G., Li G., Gentil-Perret A., Tostain J., Genin C. Elevated serum-circulating RNA in patients with conventional renal cell cancer. Anticancer Res 2008; 28:321-26.

96. Skog J, Wurdinger T, van Rijn S, Meijer DH, Gainche L, Sena-Esteves M, et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. Nat Cell Biol 2008; 10, 1470-76.

97. Venturini L, Battmer K, Castoldi M, Schultheis B, Hochhaus A, Muckenthaler MU, et al. Expression of the miR-17- 92 polycistron in chronic myeloid leukemia (CML) CD34+ cells. Blood 2007; 109:4399-405.

98. Bueno MJ, de Castro IP, de Cedrón MG, Santos J, Calin GA, Cigudosa JC, et al. Genetic and epigenetic silencing of microRNA-203 enhances ABL1 and BCR-ABL1 oncogene expression. Cancer Cell 200; 13:496-506.

99. Albano F, Anelli L, Zagaria A, Liso V, Rocchi M, Specchia G. MIRN199B downregulation in chronic myeloid leukaemia is associated with deletions on der(9). BJ Haemat 2009; 144:271-73.

100. Machová Poláková K, Lopotová T, Klamová H, Burda P, Trněný M, Stopka T, et al. Expression patterns of microRNAs associated with CML phases and their disease related targets. Mol Cancer 2011; 18(10):41.

101. Flamant S, Richie W, Guilhot J, Hols J, Bonnet ML, Chomel JC, et al. Micro-RNA response to imatinib mesylate in patients with chronic myeloid leukemia. Haematologica 2010; 95:1325-33.

102. Altuvia Y, Landgraf P, Lithwick G, Elefant N, Pfeffer S, Aravin A, et al. Clustering and conservation patterns of human microRNAs. Nucleic Acids Res 2005; 33:2697–706.

103. Dore LC, Amigo JD, Dos Santos CO, Zhang Z, Gai X, Tobias JW, et al.A GATA-1-regulated microRNA locus essential for erythropoiesis. Proc Natl Acad Sci USA 2008; 105: 3333.

104. Babiarz JE, Ruby JG, Wang Y, Bartel DP, Blelloch R. Mouse ES cells express endogenous shRNAs, siRNAs, and other Microprocessor independent, Dicer-dependent small RNAs. Genes Dev 2008; 22: 2773–85.

105. Okamura K, Hagen JW, Duan H, Tyler DM, Lai EC. The mirtron pathway generates microRNA-class regulatory RNAs in Drosophila. Cell 2007; 130:89–100.

106. Ruby JG, Jan CH, Bartel DP. Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. Nature 2007; 448:83–6.

107. Nelson PT, De Planell-Saguer M, Lamprinaki S, Kiriakidou M, Zhang P, O'Doherty U, et al. A novel monoclonal antibody against human Argonaute proteins reveals unexpected characteristics of miRNAs in human blood cells. RNA 2007; 13:1787–92.

108. Siolas D, Lerner C, Burchard J, Ge W, Linsley PS, Paddison PJ, et al. Synthetic shRNAs as potent RNAi triggers. Nat Biotechnol 2005; 23:227–31.

109. Yang JS, Maurin T, Robine N, Rasmussen KD, Jeffrey KL, Chandwani R, et al. Conserved vertebrate mir-451 provides a platform for Dicer independent, Ago2-mediated microRNA biogenesis. Proc Natl Acad Sci USA 2010; 107:15163–8.

110. Cifuentes D, Xue H, Taylor DW, Patnode H, Mishima Y, Cheloufi S, et al. A novel miRNA processing pathway independent of Dicer requires Argonaute2 catalytic activity. Science 2010; 328:1694–8.

111. Cheloufi S, Dos Santos CO, Chong MM, Hannon GJ. A dicer-independent miRNA biogenesis pathway that requires Ago catalysis. Nature 2010; 465:584–9.

opetkanal.com

112. Pan X, Wang R, Wang ZX. The Potential Role of miR-451 in Cancer Diagnosis, Prognosis, and Therapy. Mol Cancer Ther 2013; 12(7):1153-62.

113. 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.

114. Redova M, Poprach A, Nekvindova J, Iliev R, Radova L, Lakomy R, et al. Circulating miR-378 and miR-451 in serum are potential biomarkers for renal cell carcinoma. J Transl Med 2012; 10:55.

115. Ju X, Li D, Shi Q, Hou H, Sun N, Shen B. Differential microRNA expression in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. Pediatr Hematol Oncol 2009; 26:1–10.

116. Nan Y,Han L, Zhang A,WangG, Jia Z, Yang Y, et al. miRNA-451 plays a role as tumor suppressor in human glioma cells. Brain Res 2010; 1359:14–21.

117. Wang R, Wang ZX, Yang JS, Pan X, De W, Chen LB. MicroRNA-451 functions as a tumor suppressor in human non-small cell lung cancer by targeting ras-related protein 14 (RAB14). Oncogene 2011; 30:2644–58.

118. Bian HB, Pan X, Yang JS, Wang ZX, De W. Upregulation of microRNA- 451 increases cisplatin sensitivity of non-small cell lung cancer cell line (A549). J ExpClin Cancer Res 2011; 30:20.

119. Liu L, Wang S, Chen R, Wu Y, Zhang B, Huang S, et al. Myc induced miR-144/451 contributes to the acquired imatinib resistance in chronic myelogenous leukemia cell K562. Biochem Biophys Res Commun 2012; 425:368–73.

120. Bandres E, Bitarte N, Arias F, Agorreta J, Fortes P, Agirre X, et al. microRNA-451 regulates macrophage migration inhibitory factor production and proliferation of gastrointestinal cancer cells. Clin Cancer Res 2009; 15:2281–90.

121. Bitarte N, Bandres E, Boni V, Zarate R, Rodriguez J, Gonzalez-Huarriz M, et al. MicroRNA-451 is involved in the self-renewal, tumorigenicity, and chemoresistance of colorectal cancer stem cells. Stem Cells 2011; 29:1661–71.

122. Jones KB, Salah Z, Del Mare S, Galasso M, Gaudio E, Nuovo GJ, et al. miRNA signatures associate with pathogenesis and progression of osteosarcoma. Cancer Res 2012; 72:1865–77.

123. Godlewski J, Bronisz A, Nowicki MO, Chiocca EA, Lawler S. micro- RNA-451: a conditional switch controlling glioma cell proliferation and migration. Cell Cycle 2010; 9:2742–8.

124. Godlewski J, Nowicki MO, Bronisz A, Nuovo G, Palatini J, De Lay M, et al. MicroRNA-451 regulates LKB1/AMPK signaling and allows adaptation to metabolic stress in glioma cells. Mol Cell 2010; 37: 620–32.

125. Yu SL, Chen HY, Chang GC, Chen CY, Chen HW, Singh S, et al. MicroRNA signature predicts survival and relapse in lung cancer. Cancer Cell 2008; 13:48–57.

obeikandi.com

126. Budhu A, Jia HL, Forgues M, Liu CG, Goldstein D, Lam A, et al. Identification of metastasis-related microRNAs in hepatocellular carcinoma. Hepatology 2008; 47:897–907.

127. Guo Y, Chen Z, Zhang L, Zhou F, Shi S, Feng X, et al. Distinctive microRNA profiles relating to patient survival in esophageal squamous cell carcinoma. Cancer Res 2008; 68:26–33.

128. 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.

129. Scholl V, Hassan R, Zalcberg IR. miRNA 451: A putative predictor marker of Imatinib therapy response in chronic myeloid leukemia. Leuk Res. 2012; 36(1):119-21.

130. Ganzel C, Becker J, Mintz PD, Lazarus HM, Rowe JM. Hyperleukocytosis, leukostasis and leukapheresis: practice management. Blood Rev 2012; 26(3):117-22.

131. Rulcová J, Zmeková V, Zemanová Z, Klamová H, Moravcová J. The effect oftotal-ABL, GUS and B2M control genes on BCR-ABL monitoring by realtime RT-PCR. Leuk Res 2007; 31:483-491.

132. Bain BJ, Lewis SM, Bates I. Basic haematological techniques. In: Lewis SM, Bain BJ, Bates I (eds). Dacie and Lewis practical haematology. 10thed. Churchill Livingstone Elsevier; 2006. p. 25-59.

133. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am J ClinPathol 1957; 28(1):56-63.

134. Edmund L, David J. Kidney function tests. In: Carl AB, Edward R, David E (eds). Tietz Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 4thed. New Delhi: Elsevier; 2006. p.797-808.

135. Livak KJ1, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta XT}$ Method. Methods. 2001; 25(4):402-8.

136. Kirkpatrick LA, Feeney BC (eds). A simple guide to IBM SPSS statistics for version 20.0. Student ed. Belmont, Calif: Wadsworth, Cengage Learning; 2013. p. 115.

137. Leslie E, Geoffrey J, James M (eds). Statistical analysis. In: Interpretation and uses of medical statistics. 4thed. Oxford: Scientific Publications; 1991. p. 411-6.

138. Machova Polakova K, Koblihova J, Stopka T. Role of epigenetics in chronic myeloid leukemia. Curr Hematol Malig Rep 2013; 8(1):28-36.

139. Xiong Q, Yang Y, Wang H, Li J, Wang S, Li Y et al. Characterization of miRNomes in acute and chronic myeloid leukemia cell lines. Genomics Proteomics Bioinformatics 2014; 12(2):79-91.

140. Zhu H, Wu H, Liu X, Evans BR, Medina DJ, Liu CG, et al. Role of MicroRNA miR-27a and miR-451 in the regulation of MDR1/P-glycoprotein expression in human cancer cells. Biochem Pharmacol 2008; 76(5):582-8.

141. Gurney H, Wong M, Balleine RL, Rivory LP, McLachlan AJ, Hoskins JM, et al. Imatinib deposition and ABCB1 (MDR1, Pglycoprotein) genotype. Clin Pharmacol Ther 2007; 82(1): 33–40.

142. Sailaja K, Surekha D, Rao DN, Raghunadharao D, Vishnupriya S. Association of MDR1 gene polymorphism (G2677T) with chronic myeloid leukemia. Biol Med 2010; 2 (4):17–21.

143. Hooten NN, Abdelmohsen K, Gorospe M, Ejiogu N, Zonderman AB, Evans MK. microRNA expression patterns reveal differential expression of target genes with age. PLOS(One) 2010; 5(5):e10724.

144. Iraci N, Valli E, Gherardi S, et al. Suppression of BCR-ABL expression in CML by a panel of miRNAs. Blood 2009; 114(2):351.

145. Polakova KM, Lopotova T, Klamova H, et al. Differential expression of miRNAs during the course of chronic myeloid leukemia. Blood 2008; 112(11):395–6.

opelkandl.com

openaccess.com

الملخص العربي

يشكل سرطان الدم النقويي المزمن نسبة 15% من حالات الإصابة بأبيضاض الدم بمختلف الفئات العمرية، ويتم تشخيص 1-1.5 حالة لكل 100,000 شخص سنويا. متوسط عمر الإصابة للمريض ما بيين 40-60 عام.

الاختلال الصبغي الذي يؤدي إلى نشوء هذا المرض هو عبارة اضطراب وراثي خلوي متمثل بازفاء بين الصبغين 9 و 22 مما يؤدي إلى نشوء صبغ يطلق عليه اسم صبغ فيلادلفيا يؤدي ذلك إلى اتحاد جيني بين الجين بي سي ار الموجود على صبغ 22 والجين ايه بي ال الموجود على صبغ 9 لإنتاج بروتين حجمه 210 كيلو دالتون. المهمة الرئيسية للجين المسرطن ايه بي ال هي فسفرة بقايا التايروسين للبروتينات، أي بمعنى آخر أن هذا البروتين يعمل عمل إنزيم تايروسين كاينيز.

خلال عام 2000-2001 تم الإعلان عن اكتشاف عقار جديد يدعى إماتينيب. يعمل هذا الدواء كمثبط للتايروسين كاينيز الموجود في الإتحاد الجيني بي سي ار- ايه بي ال لمنع فسفرة أو نقل إشارة للجزيئات الأخرى إلا انه من المبكر أن نقول أن هذا العقار فعلا يقضي على المرض نهائيا لأن الفحوص الجزيئية للحامض النووي في حالات المرضى الذين استجابوا للعلاج والذين اختفت لديهم مظاهر المرض واختفى لديهم صبغ فيلادلفيا أظهرت أن الاختلال الجيني لا يزال موجودا في معظم الحالات.

ميكرو الحمض النووي الريبي هو جزيء مسؤول عن ضبط التعبير الجيني، ينشأ في النواة عن طريق عملية النسخ الأنزيمي للجينات المسؤولة عن إنتاجه، يحتوي الجينوم البشري على المئات من هذة الجينات، يعمل ميكرو الحمض النووي الريبي عن طريق اتصالة بمرسال ميكرو الحمض النووي الريبي للجين الذي يضبطة مما يؤدي إلى كبت وتقليل عملية الترجمة لمرسال الحمض الريبي النووي.

يهدف هذا البحث الى دراسة قيمة ميكرو الحمض النووي الريبي 451 في سرطان الدم النقوي المزمن باعتباره مؤشرا مبكرا للاستجابة للإيماتينب.

من أجل تحقيق هذه الأهداف شملت الدراسة 60 شخصا تم تقسيمهم إلى 4 مجموعات؛ المجموعة الأولى تكونت من 15 حالة (تم تشخيصها حديثا) في المرحلة المزمنة من المرض. المجموعة الثانية شملت 15 حالة مستجيبة للايماتنيب. المجموعة الثالثة اشتملت على 15 حالة غير مستجيبة للايماتنيب. المجموعة الرابعة 15 شخصا من المتطوعين البالغين الأصحاء و أجريت الفحوصات المخبرية التالية بعد الاختيار المناسب للمرضى و المتطوعين:

١. الفحوص المختبرية الروتينية بما في ذلك تعداد الدم الكامل و اختبارات وظائف الكبد و الكلى.
٢. قياس مستوى ميكرو الحمض النووي الريبي 451 باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل ذو الوقت الحقيقي.
٣. تعرض المرضى لفحص تفاعل البلمرة المتسلسل ذو الوقت الحقيقي للكشف عن الطفرة جينية بي سي ار- ايه بي ال.

أظهرت الدراسة الإحصائية النتائج التالية:

١. انخفاض ملحوظ في متوسط مستوى ميكرو الحمض النووي الريبي 451 في المجموعة الأولى بالمقارنة بالمجموعات الاخرى. أيضا، كانت هناك زيادة كبيرة في متوسط مستوى ميكرو الحمض النووي الريبي 451 في المجموعة الثانية بالمقارنة بالمجموعة الثالثة والمجموعة الربعة. وقد أظهرت المجموعة الثالثة زيادة ذات دلالة إحصائية في مستوى مستوى ميكرو الحمض النووي الريبي 451 مقارنة مع مجموعة الرابعة.
٢. فيما يتعلق بالعلاقة بين مستوى ميكرو الحمض النووي الريبي 451 والطفرة جينية بي سي ار- ايه بي ال في المجموعة الأولى، تبين وجود علاقة ذات دلالة إحصائية بين مستوى ميكرو الحمض النووي الريبي 451 و الطفرة جينية بي سي ار- ايه بي ال عند التشخيص في حين، تبين عدم وجود علاقة ذات دلالة إحصائية مع الطفرة جينية بي سي ار- ايه بي ال عند المتابعة. من ناحية أخرى، كانت العلاقة بين مستوى ميكرو الحمض النووي الريبي 451 ذات دلالة إحصائية مع الطفرة جينية بي سي ار- ايه بي ال عند المتابعة في المجموعة الثانية والمجموعة الثالثة. في حين، تبين عدم وجود علاقة ذات دلالة إحصائية مع الطفرة جينية بي سي ار- ايه بي ال عند التشخيص. ومع ذلك، كانت العلاقة بين ميكرو الحمض النووي الريبي 451 ذات دلالة

إحصائية مع كل من الطفرة جينية بي سي ار- ايه بي ال في الحالات جميعها (45 مريضا) عند التشخيص و الطفرة جينية بي سي ار- ايه بي ال عند المتابعة.

٣. وأظهرت الدراسة الإحصائية وجود علاقة إيجابية ذات دلالة إحصائية بين ميكرو الحمض النووي الريبي 451 وعدد الصفائح الدموية ووجود ارتباط سلبي ملحوظ احصائيا مع الطفرة جينية بي سي ار- ايه بي ال عند التشخيص في المجموعة الاولى (الحالات التي تم تشخيصها حديثا). اما في المجموعة الثانية (الحالات المستجيبة للايمتنيب) قد تبين وجود ارتباط سلبي ملحوظ احصائيا بين ميكرو الحمض النووي الريبي 451 مع الطفرة جينية بي سي ار- ايه بي ال عند المتابعة. ومع ذلك، لم تضهر المجموعة الثالثة (الحالات غير المستجيبة للايمتنيب) أي فرق ملحوظ احصائيا بين ميكرو الحمض النووي الريبي 451 وأي من والمعلمات الأخرى المدروسة.

٤. عند تحليل منحنى روك فإن حساسية ميكرو الحمض النووي الريبي 451 للتنبؤ بالمرض فى المرضى الغير مستجيبي للعلاج بالاليماتنيب كانت 42.11٪ في حين كانت خصوصيته %80.77.

الاستنتاجات:

ميكرو الحمض النووي الريبي جزيء مسؤول عن ضبط التعبير الجيني و يعتبر ذو قيمة تشخيصية من أجل رصد التغيرات الجزيئية في الأورام و ذو قيمة علاجية من خلال المساعدة في التشخيص المبكر و اختيار أفضل علاج ممكن لمرضى السرطان. في هذه الدراسة القينا الضوء على قيمة ميكرو الحمض النووي الريبي 451 في سرطان الدم النقوي المزمن باعتباره مؤشرا مبكرا للاستجابة للإيماتينب و قد وجد انخفاض ملحوظ احصائيا في متوسط مستوى ميكرو الحمض النووي الريبي 451 في المرضى حديثو التشخيص بالمقارنة مع الاشخاص الاصحاء .و كان هناك ازديادا ملحوظ احصائيا في متوسط مستوى ميكرو الحمض النووي الريبي 451 لدى الحالات المستجيبة للايماتنيب بالمقارنة مع الحالات غير المستجيبة للايماتنيب. كما ان حساسية ميكرو الحمض النووي الريبي 451 للتنبؤ بالمرض فى المرضى الغير مستجيبي للعلاج بالاليماتنيب كانت 42.11٪ في حين كانت خصوصيته %80.77.

التوصيات:

أكدت النتائج الحالية ما يلي؛

١. الحاجة لمزيد من الدراسات التي يتعين الاضطلاع بها على عدد أكبر من المرضى و الحالات التي تغطي سرطان الدم النقوي المزمن في مراحله المختلفة.

٢. ان تكون فترة المتابعة للمرضى في الدراسات المستقبلية أطول ويوصى لدراسة إمكانية المنفعة من ميكرو الحمض النووي الريبي 451 كأداة تشخيصية بسيطة و غير مكلفة نسبيا لمتابعة مدى الاستجابة للعلاج بالاليماتنيب في سرطان الدم النقوي المزمن.

جامعة الإسكندرية
كلية الطب
قسم الكيمياء الطبية الحيوية

القيمة التنبؤية لمايكرو الحمض النووي الريبي 451 على نتائج العلاج بالايماتينيب عند مرضى سرطان الدم النقوي المزمن

رسالة مقدمة

لقسم الكيمياء الطبية الحيوية ـ كلية الطب ـ جامعة الإسكندرية
ضمن متطلبات درجة

الماجستير

فى

العلوم الطبية الأساسية- الكيمياء الحيوية الطبية

مــــن

نهال عادل احمد خليل
بكالوريوس الطب والجراحة،
كلية الطب، جامعة الإسكندرية

[2015]

obeikandl.com

جامعة الإسكندرية

كلية الطب

قسم الكيمياء الطبية الحيوية

القيمة التنبوئية لمايكرو الحمض النووي الريبي 451 على نتائج العلاج بالايماتينيب عند مرضى سرطان الدم النقوي المزمن

رسالة مقدمة من

نهال عادل احمد خليل

للحصول على درجة

الماجستير

فى

العلوم الطبية الأساسية- الكيمياء الحيوية الطبية

لجنة المناقشة والحكم على الرسالة	التوقيع
أ.د/ أ.د/ محمد عباس زيدان أستاذ الكيمياء الطبية الحيوية قسم الكيمياء الطبية الحيوية كلية الطب جامعة الإسكندرية	....
أ.د/ فيروز السيد محمد علي أستاذ الكيمياء الطبية الحيوية قسم الكيمياء الطبية الحيوية كلية الطب جامعة الإسكندرية	....
أ.د/ محمود عبد العزيز عبد الرحمن أستاذ الكيمياء الطبية الحيوية قسم الكيمياء الطبية الحيوية كلية الطب جامعة المنيا	....
أ.د/ أمل فؤاد كتات أستاذ الكيمياء الطبية الحيوية قسم الكيمياء الطبية الحيوية كلية الطب جامعة الإسكندرية	

التاريخ / /

obeikandi.com

لجنة الإشراف	موافقون
أ.د/ أمل فؤاد كتات	....
أستاذ الكيمياء الطبية الحيوية قسم الكيمياء الطبية الحيوية كلية الطب جامعة الإسكندرية	
أ.د/ فيروز السيد محمد علي	....
أستاذ الكيمياء الطبية الحيوية قسم الكيمياء الطبية الحيوية كلية الطب جامعة الإسكندرية	
أ.د/ نهلة عبد المنعم حامد	....
أستاذ الأمراض الباطنة قسم الأمراض الباطنة كلية الطب جامعة الإسكندرية	
د/ حازم فرج مناع	....
مدرس الكيمياء الطبية الحيوية قسم الكيمياء الطبية الحيوية كلية الطب جامعة الإسكندرية	

obeikandl.com