



Hematolojik Hastalarda Enfeksiyon Spesifik miRNA profili var mı?

Doç.Dr.Tuba Dal

*Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

Tarihçe

- İnsanlarda >1800 miRNA
- İnsan genomunun sadece %1'i



"When he smiles like that, it means he's found something new to regulate."

İnsanda protein kodlayan genlerin %60'ını düzenlerler

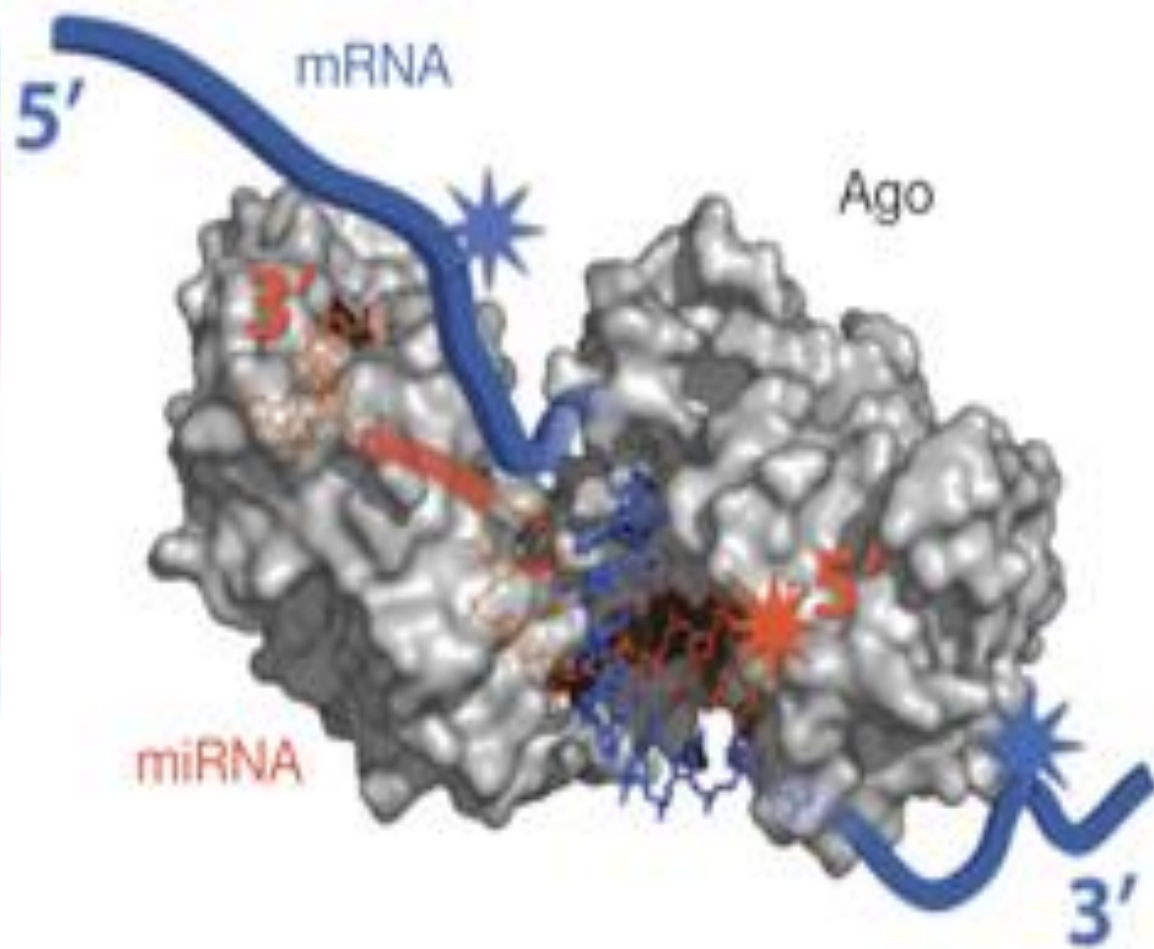
- miRBase: The microRNA Database.
- Benz, F, et al. International Journal of Molecular Sciences 2016;17:1

Genel Özellikler

- 21-23 nükleotid uzunluğunda
- Bir çok hücre tipinde bulunurlar
- Farklı hücrelerden farklı miRNA'lar eksprese edilir

miRNA'lar ne işe yarar?

- mi RNA'lar, hedef mRNA'lara düşük özgüllükte bağlanır → mRNA'ların yıkılması veya protein sentezinin baskılanması → **gen ifadesinin kontrolü**



miRNAs are now considered as master regulators of gene expressions

(Barbato C)



miRNA'lar nasıl işlev görür?

- MiRNA'lar hedef genin mRNA' sının **3'UTR (untranslated region)' si ile baz çiftleşmesi** sonucu → hedef genin ekspresyonunu inhibe ederler
- Böylece bir miRNA yüzlerce farklı mRNA'ya, her mRNA'da farklı miRNA'lara bağlanabilir.....

Anormal miRNA ekspresyonunu

- Yaşlanma
- Hücre ölümü
- Enfeksiyonlar
- İnflamasyon
- Sepsis

miRNA ve kanser

Birçok kanser tipinde miRNA seviyelerinde değişiklikler saptanır

miRNA ve enfeksiyonlar

miRNA'ların enfeksiyonlarla ilişkisi?

Mikroorganizma türlerine özel miRNA profilleri var mı?

Enfeksiyon tanısı ?

Sepsis tanısı ve izlemi ?

Hematolojik hastalıklar ve enfeksiyonlar

Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine

Volume 5, Issue 12, December 2015, Pages 1051–1054



Methods

A total of 124 patients with hematological malignancies (69 male, 55 female) hospitalized in the hematology clinic were included in the study. The study was conducted between January 2010 and December 2010. The data were analyzed retrospectively.

- **Bu hastalarda sepsis prognozunun izlenmesi, sepsis ve enfeksiyonlara bağlı olmayan sistemik inflamatuvar yanıt (SIRS) ayırımında**
- **Organ yetmezliği ve mortaliteye gidişin izlenmesinde önemli**

During the study, 124 hospitalized patients with hematological malignancies were included in the study. A total of 40 patients (32%) had sepsis. The most common hematological malignancies were acute myeloid leukemia, 1 (2.5%), acute lymphoblastic leukemia, 1 (2.5%), and 8 (8%) chronic myeloid leukemia. The most common infections were pneumonia, 38 (15%), sepsis, 14 (34%) mucormycosis, and 4 (10%). The most common organisms were 52% ($n = 20$), while the most common organisms in sepsis patients, 52% ($n = 20$), while the most frequently isolated positive bacteria were methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (10%), while the most frequently isolated

neutropenia is a common problem in patients with hematological malignancies. The identification of the flora and detection of causative agents of infections in each unit can help to decide appropriate empirical therapy. Infection control procedures should be applied for preventing infections and transmissions.

Enfeksiyon

SIRS

Sepsis

Ađır Sepsis



SIRS: Aşağıdakilerden ≥ 2 'nin bulunmasıyla tanımlanan klinik yanıt :

- Ateş $\geq 38^{\circ}\text{C}$ veya $\leq 36^{\circ}\text{C}$
- Kalp hızı ≥ 90 atım/dk
- Solunum hızı ≥ 20 /dk
- Lökosit sayısı $\geq 12,000/\text{mL}$ veya $\leq 4,000/\text{mL}$ veya $> 10\%$ immatur nötrofiller

Sepsis:

Bilinen ya da Şüphelenilen enfeksiyon varlığı

+

İki veya daha fazla SIRS kriteri varlığı

**MikroRNA'lar, sepsis gibi fırtınalı durumun erken tanısında bir belirteç
(biyomarker)
olarak işe yarar mı?**

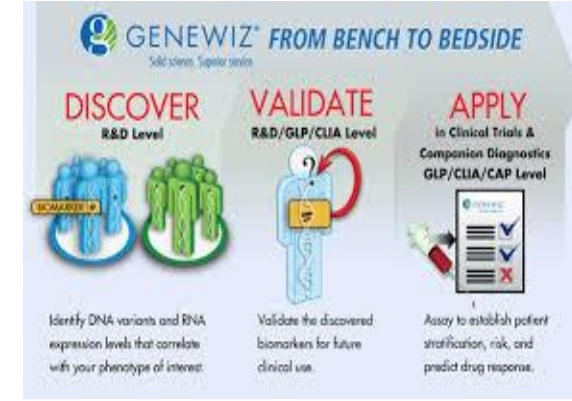
- miRNA'lar kan **dolaşımına** da salınır
- Spektrumları inflamasyon, enfeksiyon, sepsis gibi durumlarda değişir
- **Serumda** plazmaya göre daha iyi miRNA eldesi
- Plazmada plateletlere özel miRNA'ların varlığı dezavantaj

- **Biyomarker (Belirteç)**

- Normal biyolojik ve patolojik proseslerin ve bir tedaviye karşı gelişen farmakolojik cevabın değerlendirilmesi için kullanılan, objektif olarak ölçülebilen ve değerlendirilebilen bir indikatör.....

(The National Institutes of Health)

MikroRNA'lar neden iyi bir belirteçtir?



- mRNA'lara göre daha stabil
- Yüksek ısı, düşük ısı, pH, tekrarlayan dondurma ve çözündürmelerden etkilenmezler
- Dolaşan miRNA'lar çeşitli **RNA-binding proteinleri**, **lipoprotein kompleksleri** veya **mikropartiküllere** inklüzyon nedeniyle korunmakta
- Küçüktürler
- Post-processing modifikasyonlara uğramazlar

Bu nedenlerle birçok araştırmacı miRNA'ların serum bazlı biyomarkerelemlardan daha üstün olduğunu düşünmekte

Sepsis tanısında kullanılan belirteçler



Suspect
SEPSIS



Save Lives

- **CRP (C-reaktif protein)**

Sepsis belirteci olarak kabul edilemez

- **Prokalsitonin**

Sepsis için bir belirteç

Kalsitonin prohormonu

Sağlıklı insanlarda tiroid bezi nöroendokrin hücrelerden salınır

Enfeksiyon varlığında bütün hücrelerden salınır

Bakteriyel enfeksiyonlarda CRP'den üstün

Mortaliteyi belirlemede düşük duyarlılık ve özgüllük

- **SOFA (Sequential Organ Failure Assessment)**

Tedavi belirleyicisi olarak kullanılamaz

- **APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II)**

Tedavi belirleyicisi olarak kullanılamaz

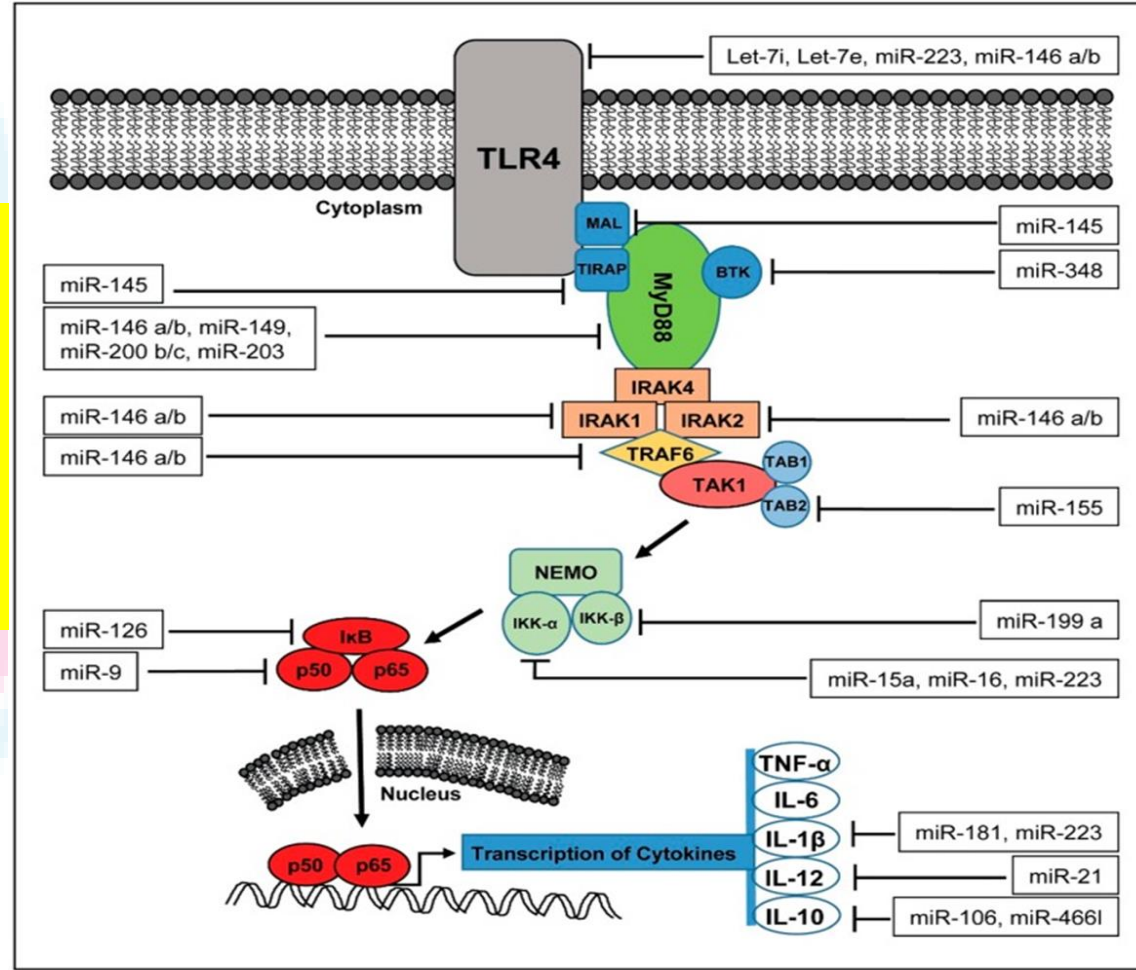
MikroRNA'ların sepsis patofizyolojisinde önemi

- Bazı miRNA'lar direkt olarak **TNF (tümör nekrozis faktör)** yolağını hedef alır → Sepsiste pro-inflamatuar prosesin major düzenleyicisi

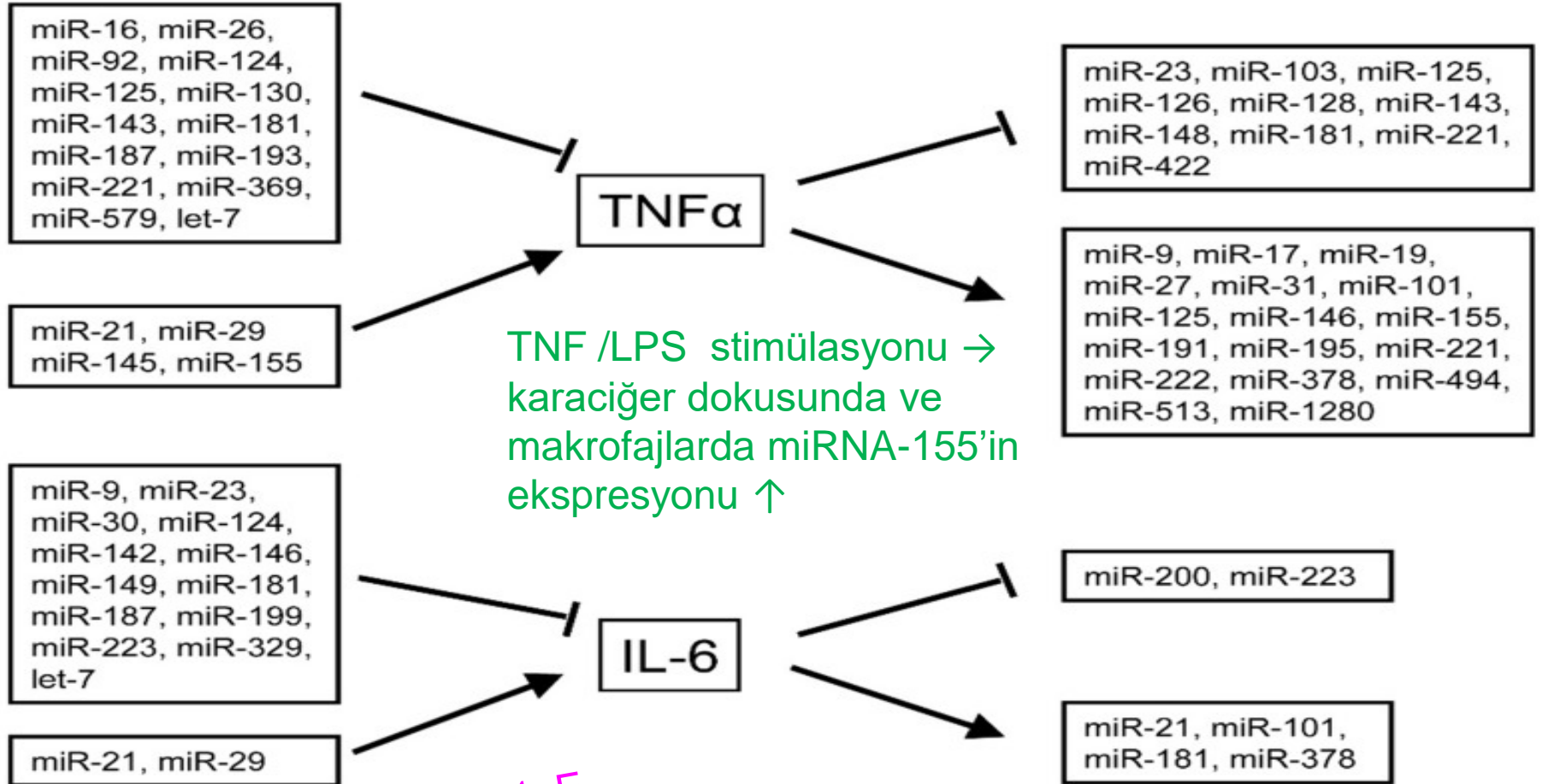
Birçok miRNA TLR4 yolağı ile ilişkili !

TLR4

- Bakteri lipopolisakariti ile aktive olur.
- Sepsis ile en çok ilişkili olan TLR4
- Makrofaj, dentritik hücrelerde



miRNA'lar sepsis ilişkili genlerin ekspresyonunu düzenler (IL6, TNF)



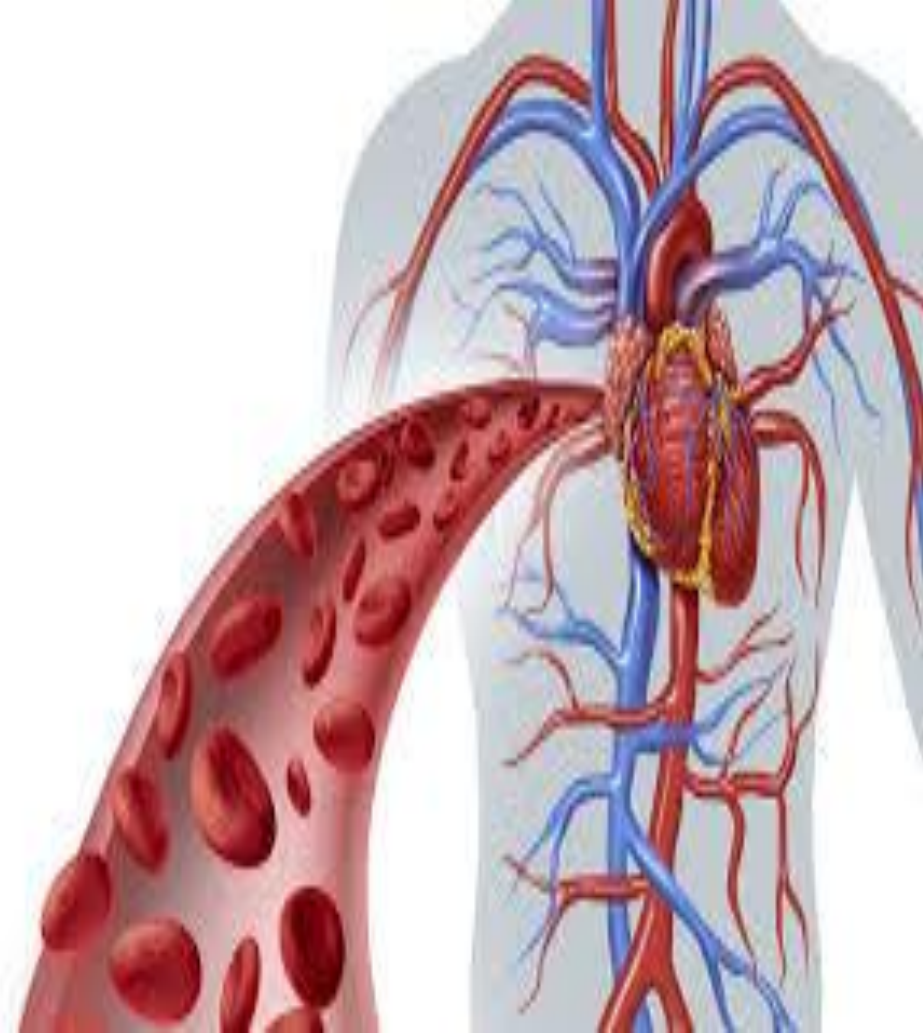
TNF /LPS stimülasyonu → karaciğer dokusunda ve makrofajlarda miRNA-155'in ekspresyonu ↑

miR-23b TNF-a, IL-6, ICAM-1, E-selectin, VCAM-1 ekspresyonunu ↓

→ s Uyarır
—| Ir inhibe eder

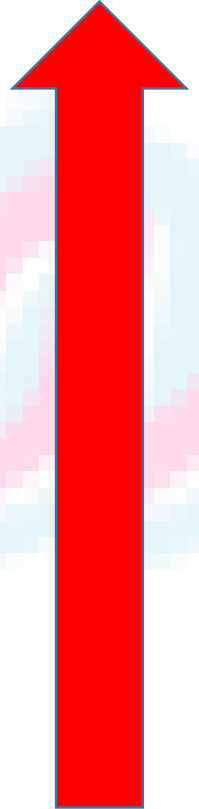
Sepsis ve dolaşımda bulunan miRNA'lar

- Dolaşımda bulunan miRNA'lar arasında miR-25, miR-133a, miR-146, miR-150, and miR-223 → sepsis ile ilişkili



Dolaşımdaki miRNA'lar

- **miR-25**
- Geniş çaplı bir kohort çalışması:
- **miR-25'in sepsisli hastalarda** miR21, 203, 423-5p, 503, 513a-5p'ya göre anlamlı derecede arttığı, CRP ve PCT'ye göre daha iyi bir sepsis belirteci olduğu
- Akut aerobik egzersiz, ozon maruziyetinde de artar



Yao, L, et al.. Int. J. Clin. Exp. Pathol. 2015, 8, 7675–7684.

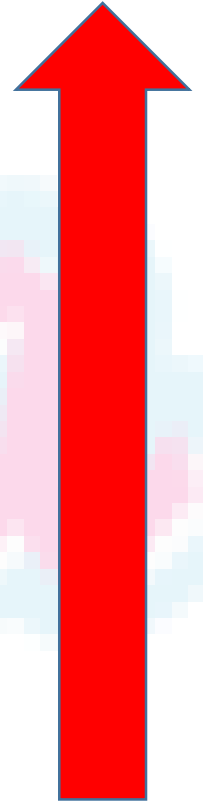
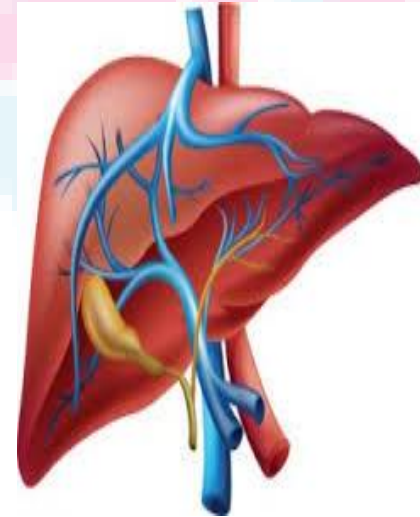
Fry, R.C., et al. Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2014, 306, L1129–L1137.

Nielsen, S., et al. PLoS ONE 2014, 9, e87308.

Dolaşımdaki miRNA'lar

miR122

- Bazı çalışmalar miRNA122'nin sepsiste biyomarker olarak kullanılır???
- Son yıllarda miR-122 ekspresyon düzeylerindeki değişimin **karaciğer hasarı kaynaklı**
- Sepsiste bakteriyel enfeksiyondan ziyade, karaciğer hasarını gösteren bir marker
- Sepsis prognozunun izlenmesinde



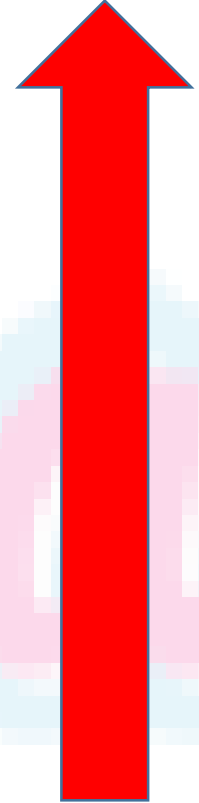
Koberle, V., et al.. Eur. J. Cancer 2013, 49, 3442–3449.

Waidmann, O., et al.. PLoS ONE 2012, 7, e45652.

Roderburg, C et al.. Liver Int. 2015, 35, 1172–1184

Dolaşımdaki miRNA'lar

- **miR133a**
- Sistemik inflamatuvar cevap ve sepsis ile ilişkili
- Rau ve arkadaşları:
- Farelerde yaptığı bir çalışmada, **gram pozitif bakteri infeksiyonlarının** indüksiyonunun mir-133a-1-3p, mir-133a-2-3p, mir-133a-1-5p, mir-133b-3p up regülasyonu...
- Sepsiste bu biyomarkerın yükseldiği gözlenmiş
- Septik hastalıkların tanısında ve izlenmesinde serum bazlı bir biyomarker olarak kullanılabilir !!



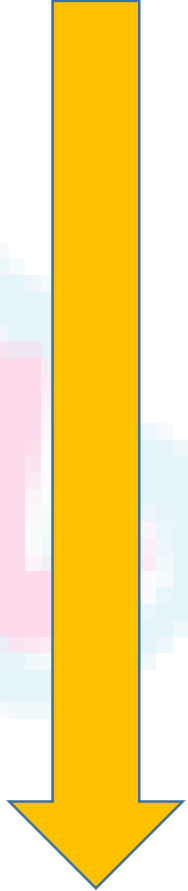
Dolaşımdaki miRNA'lar

miR-150

- **Vasilescu ve ark.**
- Sepsisli hastaların lökositlerinde ve serumlarında miR-150 ↓
- IL18 hedef genlerden biri
- IL18 düzeyleri miR-150 ile negatif korele
- **Azalmış miR-150 düzeyi,** yüksek SOFA skoru ile birlikte sepsisin prognozunun belirlenmesinde kullanılabileceğini öne sürdüler

Ma ve ark.

- **Azalmış miR-150 düzeyi** sepsisle, sağlıklı kontroller ve infeksiyöz olmayan SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome) hastalarına oranla daha ilişkili !!



Ma, Y., et al. PLoS ONE 2013, 8, e75918.

Vasilescu et al. Plos One 2009;4: e7405.

Dolaşımdaki miRNA'lar

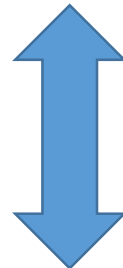
miR-223

Essandoh ve ark.

- miR-223 düzeyi ↓
→sepsiste ciddi inflamasyon ile ve mortalite

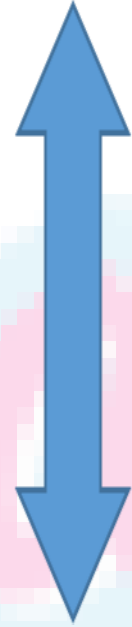
Wang ve ark.

- ↓ miR-223'ün sepsis ile ilişkili
(SIRS ve sağlıklılarına göre daha ↓ düzeylerde)
- İnfeksiyöz ve noninfeksiyöz SIRS ayırımında bir araç olabileceği ??



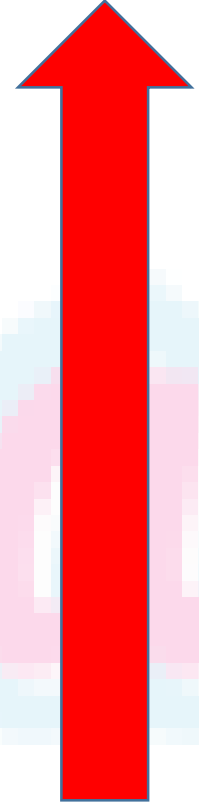
miR-223

- **WU ve ark**
- 166 hasta, kohort çalışmasında
- miR-223'ün sepsiste sağlıklı kontrollere göre upregülasyonu ??
- Yükselmiş miR-223 düzeyleri sepsisin ciddiyetinin bir göstergesi ??
- miR-223 düzeyleri bilinmeyen nedenlerden ve standardizasyondan kaynaklanan farklılardan dolayı değişebilir mi?
- Hepatoselüler karsinom, kronik hepatit B hastalarda miR-223 düzeylerinde farklılıklar → ileri çalışmalara ihtiyaç!!



Dolaşımdaki miRNA'lar

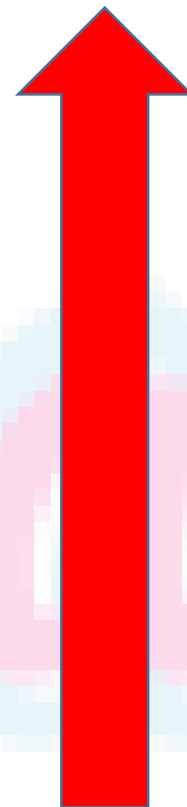
- **miR-297 ve miR-574-p**
- Wang ve ark.
- Genom-wide scan taramaları → bu iki miRNA kritik hastalarda prognostik biyomarker olabilir
- Sepsisin evresi, SOFA skoru ile birlikte → prognozun öngörülmesi



Dolaşımdaki miRNA'lar

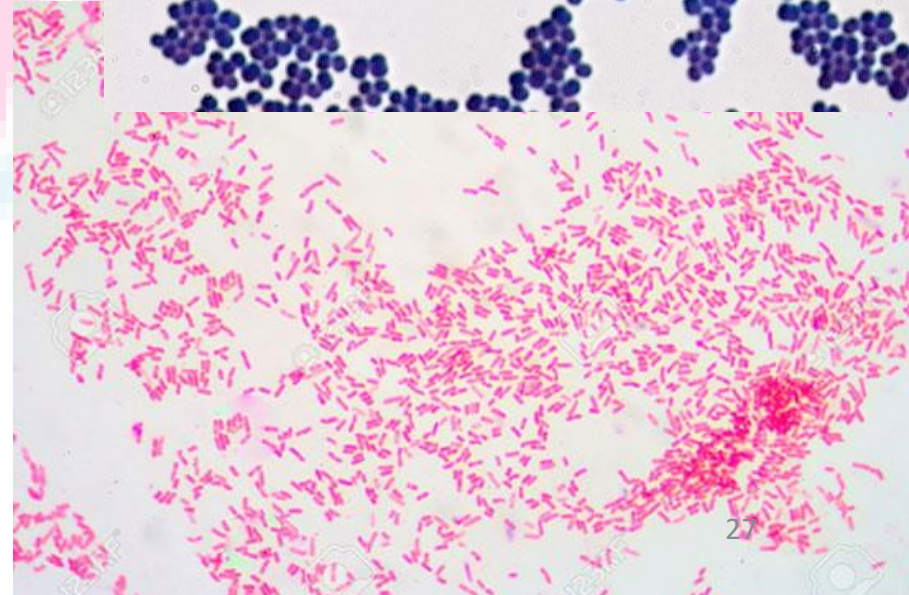
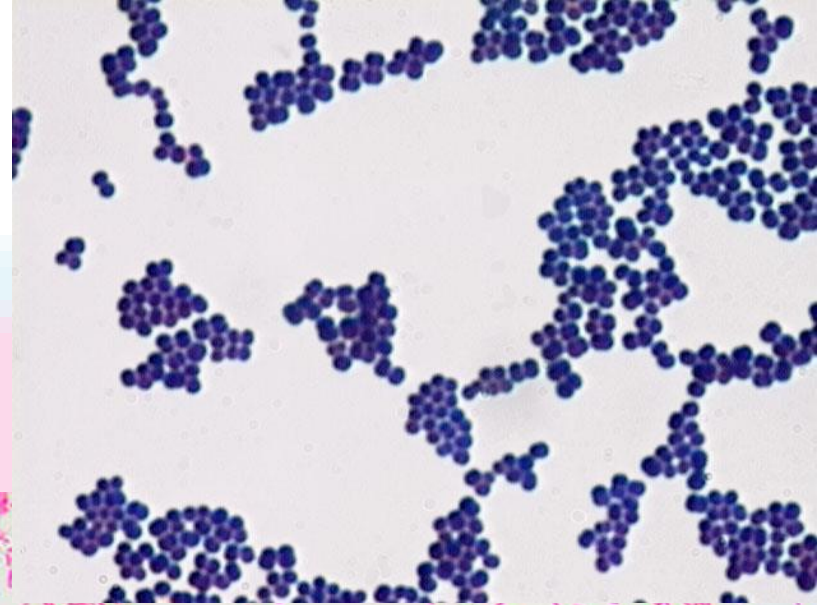
miR-4772

- **Ma ve ark.**
- miR-4772 sepsisli hastalarda ve SIRS'lı hastalarda sağlıklı bireylere oranla anlamlı derecede ↑
- Ancak sepsis ve SIRS grubunda farklılık ∅



Farklı mikroorganizma türlerinde farklı miRNA profilleri gözlemlenebilir mi?

- **Wu ve ark.**
- Yedi miRNA'nın miR133a, miR133b, miR122, miR-205, miR-1899, miR-714 ve miR-291b'nin *S.aureus* enfeksiyonları ve diğer gram pozitif enfeksiyonları
- mi.r-16, miR-17, miR-20a, miR-26a, miR-26b, miR-106a, miR106b, miR-451'in gram negatif bakteri enfeksiyonları



Sonuç

- Çalışmalar, miRNA'ların sepsiste bir biyomarker olarak kullanılabileceği yönünde ...
- Örnek toplamada standardizasyon sağlamada güçlükler
- Verilerin normalizasyonu ve analizi aşamalarında sorunlar
- Farklı sonuçlarNedeni?
- Araştırmaya değer güncel bir konu
- Eğer bu problemler çözülürse miRNA'lar gerek hematolojik hastalarda gerekse diğer hastalarda sepsis ve kritik hastalıkların tanı ve izleminde yeni jenerasyon biyomarkerlar olarak kullanılabilir...
- Belki etkene spesifik belirteçler olarak kullanılabilir?

MikroRNA'lar enfeksiyon ve sepsis tanı ve izleminde bir güneş gibi doğabilir mi??

Bunu zaman gösterecek.....

