

## مناظرة مستويات التعبير الجيني لجزء الرنا الأصغري miR-155 لدى عينة من مرضى ابيضاض دم نقوي حاد سوريين

الدكتور مجد الجمالي\*

الدكتور غسان عزيز\*\*

راما صارم\*\*\*

(تاريخ الإيداع 22 / 9 / 2015. قُبِلَ للنشر في 29 / 10 / 2015)

### □ ملخص □

تتتمي جزيئات الرنا الأصغري microRNAs إلى واحدة من أهم الآليات الجزيئية التنظيمية المعقدة التي تسيطر على عملية التكون الدموي، والتي يرتبط الاضطراب في مستوياتها بفقدان التوازن الذي ينجم عنه حدوث الأورام الدموية بما فيها الابيضاضات، فشكّلت بذلك محوراً أساسياً للبحث عن واسمات حيوية غير باضعة تُستخدم في التشخيص والتنبؤ بالإندار وترشيد القرار العلاجي.

هدفت دراستنا، الأولى من نوعها في سورية، إلى مناظرة مستويات جزء الرنا الأصغري (miRNA-155) بالنسبة للجين الشاهدة (RNU6-2) لدى عينة من مرضى ابيضاض دم نقوي حاد حديثي التشخيص وغير معالجين راجعوا مشافي دمشق، ومقارنتها مع مجموعة من الأصحاء، وذلك بتطبيق تفاعل البوليميراز التسلسلي اللحظي بالناسخة العكسية QRT-PCR، وحساب التغير في مستويات الرنا الأصغري بتطبيق طريقة  $2^{-\Delta Ct}$  لمقارنتها بين مجموعتي المرضى والأصحاء.

كان من أهم نتائج هذه الدراسة ترافق المستويات المنخفضة والمرتفعة جداً للـ miR-155 مع الإنذار السيء للمرضى موضعاً بفشل الوصول إلى حالة الهدأة الكاملة ونسبة الوفيات العالية. كما ترافقت المستويات المرتفعة مع النمط M4، وذلك على الرغم من وجود تباين كبير في مستويات miR-155 بين المرضى. ونأمل أن تؤسس هذه الدراسة الأولية لسلسلة بحثية متكاملة تتناول الأهمية التطبيقية لجزيئات الرنا الأصغري الواعدة في التشخيص والإنذار وخاصة المعالجة الفردانية التي تُعنى بالتعامل مع المرضى كحالة خاصة من حيث التشخيص والمعالجة.

**الكلمات المفتاحية:** جزيئات الرنا الأصغري miRNA، miRNA 155 (miR-155)، ابيضاض الدم النقوي الحاد AML، جزء رنا أصغري ورمي OncomiR، واسم حيوي Biomarker

\* مدرس - قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة - كلية الصيدلة - جامعة دمشق - سورية

\*\* أستاذ مساعد - قسم أمراض الدم - كلية الطب - جامعة دمشق - سورية

\*\*\* طالبة دراسات عليا (ماجستير) - قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة - كلية الصيدلة - جامعة دمشق - سورية

## Monitoring miR155 gene expression levels in a sample of Syrian Acute Myeloid Leukemia (AML) Patients

Dr. Majd Aljamali\*  
Dr. Ghassan Aziz\*\*  
Rama Sarem\*\*\*

(Received 22 / 9 / 2015. Accepted 29 / 10 / 2015)

### □ ABSTRACT □

Gene regulation by microRNAs (miRNAs) is one of the most important regulatory networks which control normal hematopoiesis. Disturbances in miRNAs levels lead to proliferation diseases including leukemogenesis. MicroRNAs is a major topic of many cancer researches performed to discover noninvasive biomarkers used for diagnosis, prognosis, and optimization of clinical decision.

This study, the first to be performed in Syria, aimed at monitoring miR-155 levels compared to a normalizer gene RNU6-2 by quantitative reverse transcriptase -PCR (qRT-PCR) in a sample of newly diagnosed untreated AML patients at several hospitals in Damascus in comparison with healthy controls. Changes in miR-155 gene expression levels were calculated in patients and controls using the  $2^{-\Delta Ct}$  method.

The most important finding was the association of low and very high miR-155 levels with poor prognosis reflected in failure to accomplish complete remission and high mortality. In addition, high miR-155 levels were associated with M4 AML subtype, although with large variance among patients. We hope our preliminary study pave the road for many future research studies related to the applicability of microRNAs in supporting diagnosis, predicting prognosis, and enhancing the personalized therapies which deal with patients as individual cases.

**Keywords:** MicroRNA, microRNA-155 (miR-155). Acute Myeloid Leukemia, OncomiR, Biomarker.

---

\* Assistant Professor, Biochemistry and Microbiology Department, Faculty of Pharmacy, Damascus University, Damascus, Syria.

\*\* Associate Professor, Hematological Diseases Department, Faculty of Medicine, Damascus University, Damascus, Syria.

\*\*\* Postgraduate Student, Biochemistry and Microbiology Department, Faculty of Pharmacy, Damascus University, Damascus, Syria.

## مقدمة

يعد ابيضاض الدم النقوي الحاد (Acute Myeloid Leukemia (AML) من الأورام الأكثر شيوعاً لدى البالغين، ويتصف بفطرتكاثر الخلايا السليفة النقوية مؤدياً إلى تراكم الأرومات في نقي العظم [1]، حيث يعتبر وجود التوازن بين التجدد الذاتي والتمايز ضرورياً للمحافظة على عملية التكون الدموي بدءاً من الخلايا الجذعية. وتسيطر على هذا التوازن العديد من الآليات الجزيئية منها جزيئات الرنا الأصغري microRNAs [2]، والتي تقوم بضبط دقيق لعملية التكون الدموي بسبيلها للمفاوي والنقوي [3]، حيث تلعب دوراً هاماً في صيانة maintenance الخلايا الجذعية المكونة للدم، وتجدد الخلايا الذاتي، والتمايز للمفاوي والنقوي، والتكاثر ودورة الخلية، والاستماتة [7].

تُعرّف جزيئات الرنا الأصغري بأنها جزيئات رنا صغيرة وحيدة الطاق بطول يقارب 22 نكليوتيداً تلعب دوراً هاماً في عملية تنظيم التعبير الجيني في مرحلة ما بعد الانتساخ Post-transcriptional Modification [4]، حيث ترتبط بالنهاية 3' غير المشفرة (Non-coding 3' UTR) لجزيء الرنا المرسل الهدف وذلك بتسلسلها الواقع بين النكليوتيدات (2-8) في النهاية 5' والمسمى بالتسلسل الأساسي seed sequence [5]. تنظّم جزيئات الرنا الأصغري التعبير عما يزيد عن (50 - 60%) من الجينات المشفرة للبروتينات [3]، وتبدأ عملية الاصطناع الحيوي في النواة حيث يقوم أنزيم بوليميراز الرنا 3 RNA Polymerase بانتساخ جزيء رنا أصغري أولي Pri-miRNA يخضع لعملية شطر بتوسط أنزيم DROSHA (أنزيم ريبونوكلياز من النمط الثالث RNase 3) ليتحول إلى سليف الرنا الأصغري Pre-miRNA، وهو جزيء بطول 70 نكليوتيداً يتميز ببنية عروة- جذع Stem-Loop، والذي ينتقل من النواة إلى السيتوبلاسما بتوسط إنزيم إكسپورتين 5 (Exportin 5). يخضع الرنا الأصغري السليف لعملية شطر أخرى بأنزيم Dicer (وهو كذلك إنزيم ريبونوكلياز 3) إلى مركب رنا صغير مضاعف بطول يقارب 22 نكليوتيداً. يندمج أحد جزيئي/طاقّي الـ miRNA ضمن المعقد المثبّط المحرّض بالرنا RNA Induced Silencing Complex (RISC) ويتوجه لجزيء الرنا المرسل mRNA الهدف حيث يقوم بكبح ترجمة الرنا المرسل، وبالتالي خفض التعبير عن الجين الهدف [7] [5].

تصنّف جزيئات الرنا الأصغري إلى جينات ورمية أو كابحة للورم تبعاً للرنا المرسل الهدف. فإذا استهدف جزيء الرنا الأصغري رنا مرسل يتبع لجين كابحة للورم Tumor Suppressor Gene فإنه يقوم بدور مولّد للورم ويسمى عندئذٍ بالرنا الأصغري الورمي OncomiR، أما إذا كان الرنا المرسل الهدف لجين م ولدة للورم Oncogene فيقوم الرنا الأصغري بدور كابح للورم. وقد بينت العديد من الدراسات التي أجريت في السنوات الأخيرة ترافق بعض السرطانات مع ارتفاع في مستويات بعض جزيئات الرنا الأصغري الورمية وانخفاض الجزيئات الكابحة للورم [11].

يعدّ جزيء miR-155 رنا أصغري ورمي oncomiR وينجم عن انتساخ الجين MIR155HG الواقعة على الصبغي 21 في الموقع 21q21.3 ضمن إكسون نسخة رنا طويلة وغير مشفرة ومذيّلة بعديد الأدينين Polyadenylated تدعى عنقود الخلية البائية المدمج (BIC) B-cell integration cluster. وقد بيّنت دراسات عدّة أنّ جزيء miR-155 هو الأكثر وفرةً وصلّةً بتمايز السلالات المكونة للدم وبخباثاتها من بين جزيئات الرنا الأصغري الأخرى المعبر عنها في الخلايا المكونة للدم [8]، حيث يقوم بتحريض آليات التسرطن في الخلايا وذلك بتثبيط الجينات الكابحة للورم، وترافق مع الارتفاع في مستويات بعض الجينات التي ترتبط شذوذاتها بابيضاض الدم النقوي الحاد منها GCSF , MYB [8].

## أهمية البحث وأهدافه:

مما سبق فقد هدفت دراستنا لمقايسة مستويات التعبير عن جزء الرنا الأصغري miR-155 لدى عينة من مرضى ابيضاض دم نقوي حاد AML سوريين وربطها بالعديد من المعالم الحيوية الخاصة بالمرض وذلك بغية الوصول إلى مقايسة سريعة غير باضعة وذات قيمة تنبؤية للمرض ومساهمة في متابعة حالة المريض. وبالأخذ بعين الاعتبار الانتشار المرتفع لابيضاض الدم النقوي الحاد لدى البالغين، والمقترن بإنذار سيء ونسبة وفيات عالية، فقد أصبح من الضروري البحث في الآليات الجينية الكامنة وراء تنشؤ المرض وتطوره.

## طرائق البحث ومواده:

### العينات والمرضى

حصلت الدراسة على موافقة لجنة الأخلاقيات في كلية الصيدلة، جامعة دمشق، وشملت 38 فرداً (28 مريضاً و10 أفراد أصحاء ظاهرياً) من الذكور والإناث البالغين، تراوحت أعمارهم بين 14 و 83 عاماً. سُجّلت البيانات في بطاقات استبيان خاصة متضمنة معلومات العمر والجنس وتعداد الدم الكامل بالإضافة لتفاصيل المرضى التي تشمل نمط المرض وتعداد الأرومات في نقي العظم عند التشخيص، إضافة لمتابعة الحالة لتقصي الوصول إلى حالة الهدأة الكاملة (CR) والبقيا الكلية (OS) لدى بعض المرضى. وتم الحصول على عينات المرضى من المراجعين لمستشفيات جامعة دمشق بعد الحصول على الموافقة المستنيرة خلال الفترة الواقعة بين تشرين الثاني/ 2013 و تموز/ 2015 ووزّع أفراد الدراسة إلى مجموعة مرضى ابيضاض الدم النقوي الحاد المشخصين حديثاً غير المعالجين والتي بلغت 28 مريضاً ( 14 ذكر + 14 أنثى) متوسط أعمارهم (45.67 ± 19.07) عاماً، والمجموعة الشاهدة شملت 10 أصحاء ظاهرياً ( 4 ذكر + 6 أنثى) وبلغ متوسط أعمارهم (29.5 ± 5.95) عاماً.

سُحِبَت عينات الدم (2.5 ml) ضمن أنابيب EDTA لكل من المرضى والأصحاء وفُصِّلَت طبقة الخلايا وحيدة النوى (MNCs) Mono Nuclear Cells الحاوية على الأرومات بالتنقيط المعتمد على الكثافة باستخدام مادة الـ Ficoll من شركة GE Healthcare Bio-sciences AB، وحُفِظَت الخلايا MNCs بالدرجة  $-80^{\circ}\text{C}$  بإضافة  $100\ \mu\text{l}$  من RNA later من شركة Qiagen الألمانية.

استخلص الرنا الأصغري وتفاعل الـ qRT-PCR استُخْلِص الرنا الكلي باستخدام كاشف TRIZOI (TRI Reagent®) من شركة SIGMA الأمريكية ومن ثم حُضِرَ الدنا المتمم (cDNA) Complementary DNA لجزء الرنا الأصغري miR-155 والجين الشاهد باستخدام عتيدة miScript II RT Kit حسب تعليمات الشركة المصنعة Qiagen، وضُخِّمَ هذا التسلسل باستخدام عتيدة miScript SYBR Green PCR Kit الحاوية على المرئسات النوعية لكل من الرنا الأصغري miR-155 و RNU6-2 وفق برنامج التضخيم المرفق من شركة QIAGEN الألمانية. طُبِّقَ تفاعل بوليميراز الدنا التسلسلي اللحظي Q-PCR باستخدام جهاز Spartan X12 من شركة NEMKO الكندية حيث جرى تطبيق البرنامج الحراري التالي:  $95^{\circ}\text{C}$  لمدة 15 دقيقة، 40 دورة من الخطوات الثلاث التالية: تمسخ Denaturation الدنا بدرجة حرارة  $94^{\circ}\text{C}$  لمدة 15 ثانية، ثم الالتحام Annealing مع المرئسة بدرجة حرارة  $55^{\circ}\text{C}$  لمدة 30 ثانية، ثم الإطالة Extension بدرجة حرارة  $70^{\circ}\text{C}$  لمدة 30 ثانية. حُدِّدَت الدورة العتبية (Threshold Cycle (Ct) لكل من الجين الهدف

(miRNA-155) والجين الشاهدة (RNU6-2) لمجموعتي المرضى والأصحاء (الشكل 1 a)، ومن ثم أجري الرحلان الكهربائي على هلامة الأغاروز (2%) لنواتج التضخيم (الشكل 1 b).  
الدراسة الإحصائية

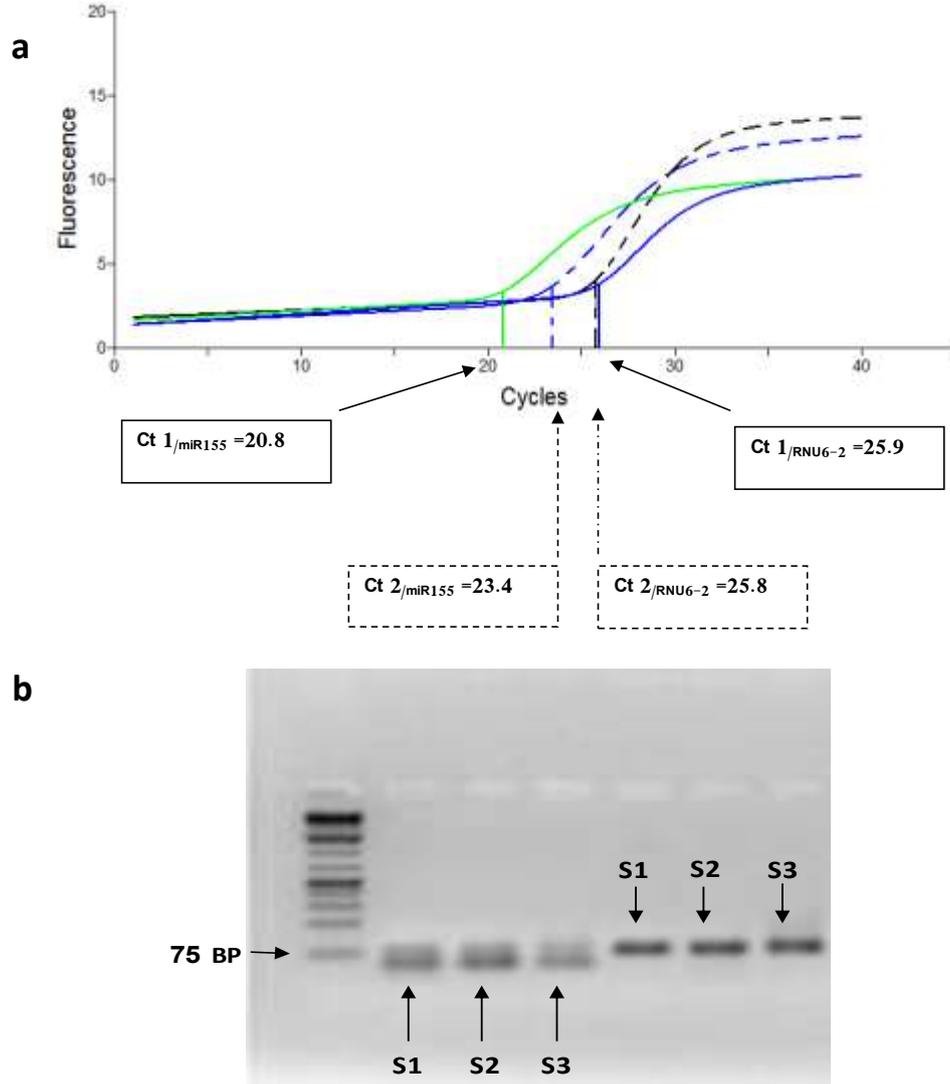
استخدمت طريقة ( $2^{-\Delta Ct}$ ) للتعبير عن مستويات التعبير الجيني ودراسة التغيرات المضاعفة Fold Changes لجين miR-155 بالنسبة للجين الشاهدة RNU6-2 حسب التالي:

$$\left( \begin{array}{l} \text{التغيرات المضاعفة} = 2^{-\Delta Ct} \\ \Delta Ct = Ct_{GOI} - Ct_{norm} \\ \text{GOI : Gene of Interest ( الجين المدروسة miR-155 )} \\ \text{Norm : normalize ( الجين الشاهدة RNU6-2 )} \end{array} \right)$$

وتمت مقارنة هذه المستويات بين المرضى والأصحاء ودراسة ارتباطها مع الجنس والعمر ونمط تصنيف الـ FAB والهدأة الكلية CR والبقيا الكلية OS، وكذلك دراسة ارتباطها بتعداد الكريات البيض ونسبة الأرومات في نقي العظم.

وتمت الدراسة الإحصائية باستخدام برنامج IBM SPSS Statistics 20 و Excel 2007، وطُبق اختبار

Mann-Whitney U لمقارنة مستويات التعبير بين المرضى والأصحاء، وكذلك بين الذكور والإناث وبين من هم أصغر وأكبر من 60 عاماً، ومع البقيا الكلية. كما طبق اختبار Kruskal – Wallis H لمقارنة مستويات التعبير بين أنماط المرض المختلفة، ودراسة علاقة النسبة المئوية للنمط M4 بين مجموعات المرضى. كذلك استخدم معامل ارتباط Spearman لدراسة الارتباط مع نسبة الأرومات وتعداد الكريات البيض، وطبق اختبار Fisher لدراسة علاقة مستويات التعبير مع الهدأة الكلية.

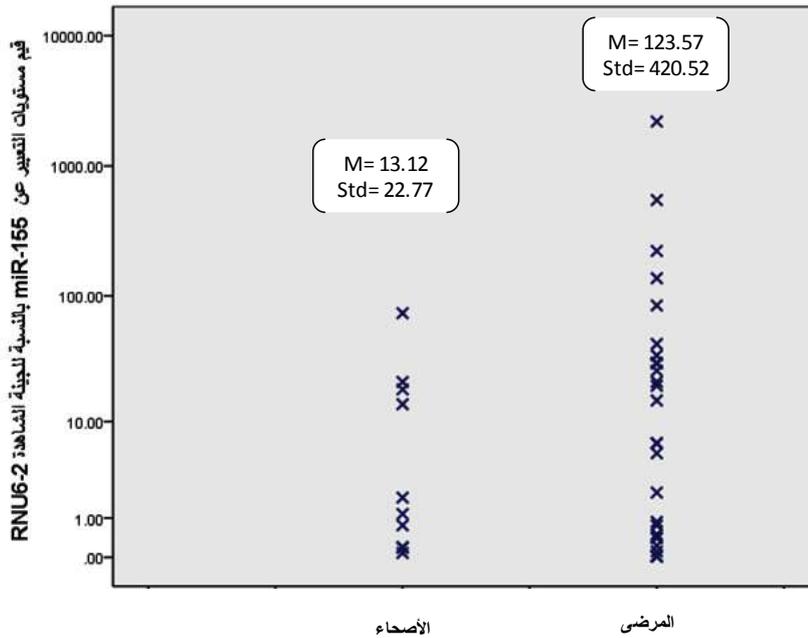


الشكل (1) : (a) منحني يوضح الدورة العتبة Ct التي تعكس تركيز كل من miRNA-155 والجين الشاهدة RNU6-2 في عيّنتين مرضيتين (S1,S2). (b) الرحلان الكهربائي لعينتين مرضيتين (S1,S2) وعينة طبيعية (S3) لجين miR-155 والجين الشاهدة RNU6-2 على الترتيب باستخدام دنا عياري  $1\text{kb}^+$  Ladder، حيث تظهر عصابات الرنا الأصغري لكل من miR-155 و الجين الشاهدة بوزن جزئي يقارب 75 شفع نكليوتيدي.

## النتائج والمناقشة

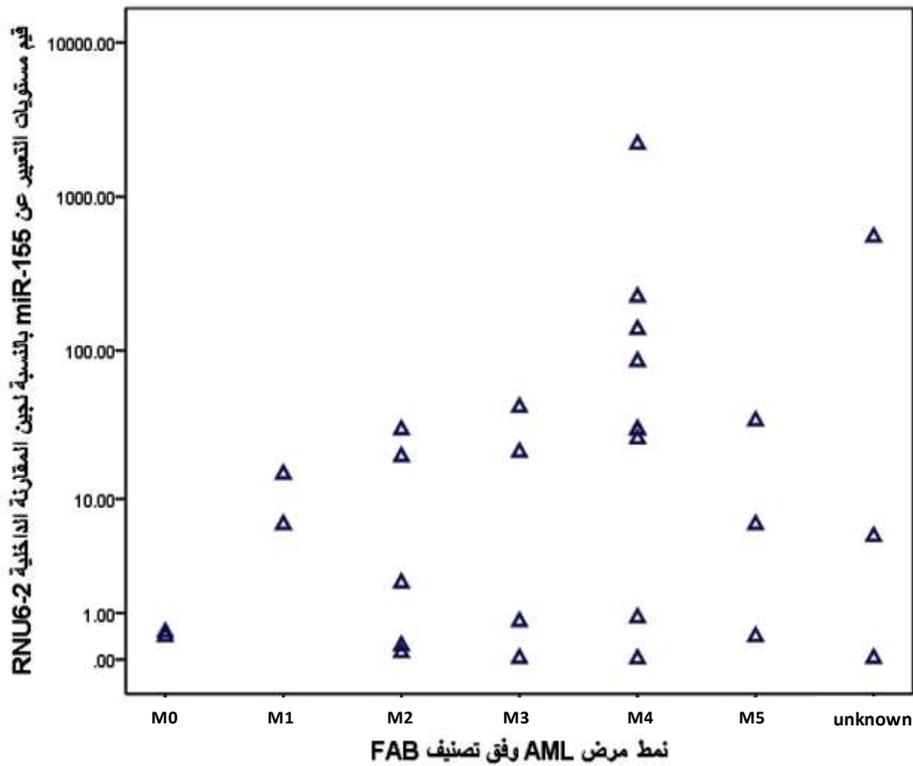
طُبِّقَ تفاعل البوليميراز التسلسلي اللحظي بالناسخة العكسية qRT-PCR على العينات المرضية والسليمة لكل من جين miR-155 والجين الشاهدة RNU6-2. وبيّن الشكل (1 a) الاختلافات في الدورة العتبة بين عينتين مرضيتين لجين miR-155 على الرغم من عدم وجود اختلاف في التعبير عن الجين الشاهدة في كلتا العينتين، مما يعكس اختلافاً حقيقياً في مستويات التعبير الجيني للرنا الأصغري miR-155. وعند ترحيل نواتج التضخيم لعينتين مرضيتين وعينة طبيعية (الشكل 1 b) تبين أيضاً وجود فوارق في شدة فلورة العصابات الناتجة عن تضخيم miR-155 بين العينات الثلاث على الرغم من التقارب الظاهري بين فلورة عصابات الجين الشاهدة، حيث ظهرت عصابات بطول يتراوح بين (70-80) شفع نكليوتيدي لكل من الرنا الأصغري miR-155 والجين الشاهدة RNU6-2.

تم حساب مستويات التعبير باستخدام الطريقة ( $2^{-\Delta Ct}$ )، والتي تأخذ بعين الاعتبار اختلاف الدورات العتبة لجين miR-155 مقارنة بالجين الشاهدة لكل عينة على حدة، وتراوحت مستويات التعبير عن جزيء miR-155 ما بين (0.01 - 2195) ضعفاً لدى المرضى نسبة للجين الشاهدة، بمتوسط حسابي (123.57) وانحراف معياري كبير (420.52)، ولدى الأصحاء ما بين (0.08 - 73.52) بمتوسط حسابي (13.12) وانحراف معياري (22.77) (الشكل 2). وبذلك، يرتفع مستوى التعبير عن miR-155 لدى المرضى نسبة إلى الأصحاء بما يقارب 9.5 ضعفاً. مع ذلك، ولدى تطبيق اختبار Mann-Whitney U لمقارنة المستويات لدى المرضى بالنسبة للأصحاء لم نجد فرقاً يعتد به إحصائياً ( $P=0.3$ ). وكانت عدة دراسات حديثة قد أظهرت ارتفاعاً في مستويات التعبير عن miR-155 لدى المرضى بفارق يعتد به إحصائياً منها دراسة Rayan .M O'Conelle وزملائه في الولايات المتحدة الأمريكية [9] التي وصل فيها الفارق إلى 4.5 ضعفاً، حيث اقترح دور هامّ لـ miR-155 كجزيء ورمي يساهم في نشوء وتطور مرض AML بتنشيطه العديد من الجينات الكابحة للورم. ويمكن أن نعزو عدم ظهور فارق جوهري بين المرضى والأصحاء في دراستنا لصغر حجم العينة وللانحراف المعياري الكبير الظاهر بين المرضى، علماً أن أساليب المعالجة الحديثة تتجه نحو المعالجات الفردانية Personalized Therapies التي لا تعوّل كثيراً على الفارق بين متوسطات مستويات التعبير لدى المرضى والأصحاء، إنما على القيم المتطرفة، سواءً المنخفضة أم المرتفعة، في مستويات التعبير الجيني لجزيئات الرنا الأصغري [10].



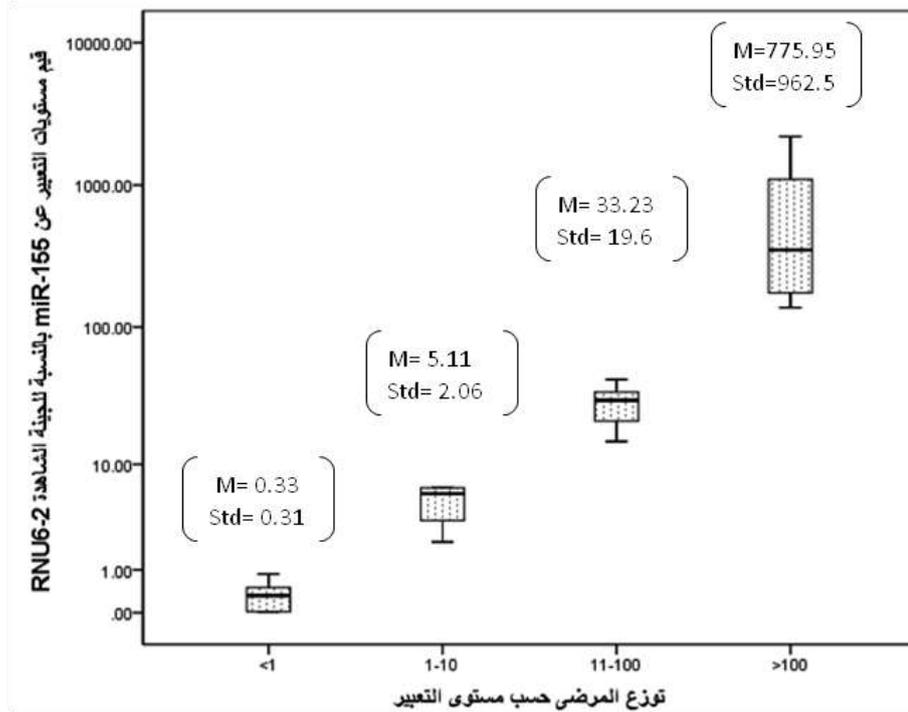
الشكل (2) : اختلاف مستويات التعبير عن miR-155 بين المرضى والأصحاء بالنسبة للجين الشاهدة RNU6-2

وقُسم المرضى وفق نمط AML حسب تصنيف French – American – British (FAB) إلى الأنماط M0 (n= 2)، M1 (n= 2)، M2 (n= 5)، M3 (n= 4)، M4 (n= 9)، M5 (n= 3)، وغير محدد النمط (n= 3)، ودُرست مستويات التعبير الجيني عن miR-155 لكل مجموعة على حدة (الشكل 3). ولدى تطبيق اختبار Kruskal Wallis H - لمقارنة مستويات التعبير الجيني مع النمط لم نجد فرقاً يعتد به إحصائياً بين الأنماط المختلفة ( $P=0.5$ )، كذلك لم نجد فرقاً يعتد به إحصائياً بين كل نمطين على حدة بتطبيق اختبار Mann-Whitney U.



الشكل (3): توزيع قيم مستويات التعبير الجيني ل miR-155 وفق أنماط AML

إضافةً لذلك، فقد تم تقسيم المرضى وفق اختلاف مستويات التعبير عن miR-155 باعتماد طريقة  $2^{-\Delta Ct}$  إلى أربع مجموعات: تتضمن الأولى مرضى ذوي مستويات تعبير  $(1 < 2^{-\Delta Ct})$ ، وتراوح مستوى التعبير لدى مرضى المجموعة الثانية ما بين (1-10)، والمجموعة الثالثة ما بين (11-100)، بينما فاق مستوى التعبير لدى مرضى المجموعة الرابعة  $(2^{-\Delta Ct} > 100)$  (الشكل 4).



الشكل (4): اختلاف مستوى التعبير لجين miR-155 بالنسبة للجين الشاهدة RNU6-2 بين المرضى مبيئاً بالمتوسط الحسابي (M) والانحراف المعياري (STD) لكل مجموعة.

كما درست الصفات الحيوية لهؤلاء المرضى بعد توزيعهم على هذه المجموعات (الجدول 1)، حيث لوحظ أن جميع المرضى في المجموعة الرابعة ذات مستوى التعبير الأعلى كانوا من النمط M4 (3/3 من المرضى مع مريض رابع غير محدد النمط)، بينما اختلفت النسبة المئوية لتوزع هذا النمط بين المجموعات بفارق يعد به إحصائياً بتطبيق اختبار Spearman ودراسة ارتباط نسبة توزع المرضى من النمط M4 في المجموعات الأربعة ( $r=0.8, P<0.01$ ). ويتفق ذلك مع دراسة M. O'Conelle, Rayan وزملائه في الولايات المتحدة الأمريكية (9) حيث اقترح أن زيادة مستويات التعبير عن miR-155 تؤدي إلى زيادة نسبة الوحيدات المميزة للنمط M4. من جهة أخرى، لم نجد فارقاً يعد به إحصائياً في مستويات التعبير بين الذكور والإناث ( $P=0.9$ )، وكذلك بين من هم أصغر وأكبر من 60 عاماً ( $P=0.8$ ) بتطبيق اختبار Mann-Whitney U، كما لم نجد أية علاقة ارتباط مع تعداد الكريات البيض ( $r=0.08, P=0.7$ ) أو مع زيادة نسبة الأرومات في نقي العظم ( $r=-0.162, P=0.6$ ).

ومن اللافت للنظر، وكما بيّن الجدول 1، أن نسبة المرضى الذين لم يصلوا للهدأة الكاملة CR بلغت 75% في كل من مجموعتي المرضى ذوي مستويات التعبير الأدنى والمستويات الأعلى. ويمكن تفسير ذلك في المجموعة الأولى ( $2^{-\Delta Ct} < 1$ ) بأن جزيء الرنا الأصغري يلعب دوراً حيوياً هاماً في تحريض عمليتي التمايز والاستموات كما أشارت لذلك دراسة حديثة [7]، لذا قد يؤدي انخفاض مستوياته إلى تثبط تمايز وزيادة تكاثر الخلايا السليفة للورم وبالتالي فقدان الوصول إلى حالة الهدأة. من جهة أخرى، فإن ارتفاع مستويات miR-155 إلى تراكيز أعلى بكثير من التراكيز الطبيعية، كما هو الحال في المجموعة الرابعة ( $2^{-\Delta Ct} > 100$ ) قد يؤدي إلى اضطراب في الآليات الجزيئية التي يتحكم بها الـ miR-155 ويفعل دوره بكمب ترجمة الرنا المرسل لجيناته الهدف الكابحة للورم، مؤدياً بالتالي إلى فقدان الوصول إلى الهدأة. وهكذا، تشير نتائجنا أن القيم الحدية المنخفضة والمرتفعة جداً من الـ miR-155 قد تتوافق

مع تأخر الوصول إلى الهدأة الكاملة لدى مرضى الـ AML [9]. ونشير هنا أن نسبة وفيات المرضى، والتي تعكس البقيا الكلية OS، كانت أيضاً الأعلى في كلتا المجموعتين الحديتين من مستويات الـ miR-155، مما قد يدعم تأثير مستوياته المنخفضة والمرتفعة جداً في تعزيز القدرة التكاثرية للخلايا لدى مرضى AML (الجدول 1) وعدم الاستجابة إلى بروتوكولات المعالجة المعتمدة.

| الجدول (1) الصفات السريرية لعينة المرضى وفق توزيعهم حسب مستويات التعبير عن miR-155 بالنسبة للجينة الشاهدة RNU6-2 |                            |            |             |             |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|------------|-------------|-------------|
| الصفة                                                                                                            | مستويات التعبير عن miR-155 |            |             |             |
|                                                                                                                  | >100                       | 11-100     | 1-10        | <1          |
|                                                                                                                  | (n= 4)                     | (n= 10)    | (n=4)       | (n=10)      |
|                                                                                                                  | M=775.95                   | M= 33.23   | M= 5.11     | M=0.33      |
|                                                                                                                  | Std= 962.5                 | Std= 19.6  | Std= 2.06   | Std=0.31    |
| الجنس                                                                                                            | 2/2                        | 4/6        | 3/1         | 5/5         |
| العمر                                                                                                            | 1/3                        | 2/8        | 1/3         | 2/8         |
| الهدأة                                                                                                           | 3/1                        | 2/2        | 2/1         | 6/2         |
| الوفيات                                                                                                          | (4/2) %50                  | (10/1) %10 | (4/1) %25   | (10/5) %50  |
| التصنيف (FAB) *                                                                                                  | M0 (0%)                    | M0 (0%)    | M0 (0%)     | M0 (22%)    |
|                                                                                                                  | M1 (0%)                    | M1 (10%)   | M1 (33%)    | M1 (0%)     |
|                                                                                                                  | M2 (0%)                    | M2 (20%)   | M2 (33%)    | M2 (22%)    |
|                                                                                                                  | M3 (0%)                    | M3(20%)    | M3 (0%)     | M3 (22%)    |
|                                                                                                                  | M4 (100%)                  | M4 (40%)   | M4 (0%)     | M4 (22%)    |
|                                                                                                                  | M5 (0%)                    | M5 (10%)   | M5 (33%)    | M5 (11%)    |
| نسبة البيض                                                                                                       | M= 126.13                  | M= 29.04   | M= 110.43   | M= 98.35    |
|                                                                                                                  | Std= 99.02                 | Std= 27.33 | Std= 113.23 | Std= 107.88 |
| نسبة الأرومات                                                                                                    | M= 0.64                    | M= 0.64    | M= 0.8      | M= 0.7      |
|                                                                                                                  | Std= 0                     | Std= 0.29  | Std= 0.14   | Std= 0.36   |

\* - تصنيف المرضى باستخدام FAB/ French-American-British

M0: ابيضاض دم نقوي حاد غير متميز، M1: ابيضاض دم نقوي حاد بتمايز أدنى، M2: ابيضاض دم نقوي حاد مترافق بنضج، M3: ابيضاض السلائف النقية (APL)، M4: ابيضاض وحيد نقوي حاد، M5: ابيضاض وحيد حاد -

### الاستنتاجات والتوصيات:

تؤسس دراستنا الأولية للتقانات الضرورية لعزل وقياس التعبير الجيني لجزئيات الرنا الأصغري في سورية بوصفها واسمات واعدة غير باضعة لتشخيص السرطانات والتنبؤ بإنذار وسيرورة المرض. وقد بيّنت نتائج هذه الدراسة تغيّراً كبيراً في مستويات التعبير الجيني لجزء الرنا الأصغري miR-155 بين مرضى AML مشخصين حديثاً قبل

تلقينهم للمعالجات المعتمدة. مع ذلك، فإن الارتفاع الكبير في مستويات miR-155 لدى بعض المرضى قد يشير إلى الخلل في واحدة من أهم آليات تنظيم التعبير الجيني ما بعد الانتساخ وإلى دوره كجزيء ورمي يساهم في نشوء التسرطن.

إضافةً لذلك، فإن ترافق الانذار السيء للمرضى، مقاساً بعدم الوصول إلى الهدأة ونسبة الوفيات المرتفعة، مع انخفاض مستوى miR-155 قد يشير إلى الدور الحيوي الهام الذي يلعبه هذا الجزيء في تحريض تمايز واستموات الخلايا في الحالة الطبيعية. زيادة على ذلك، أشارت دراستنا إلى ترافق هام للمستويات المرتفعة لـ miR-155 مع النمط M4، وهو ما توافق مع دراسات أخرى أجريت حديثاً، مما يوحي بمقايضة مستويات miR-155 لدى مرضى هذا النمط والقيام بدراسات معمّقة أخرى لمستوياته لدى شريحة أوسع من مرضى AML السوريين.

### المراجع:

1. SHAH, NM ; BOWLES, KM ; RUSHWORTH, SA ; MACEWAN, DJ. *Understanding the role for miRNA in human leukemia*. RNA&Disease England Vol.2, 2015, 1-7.
2. KHALAJ, M; TAVAKKOLI, M; STRANAHAN, AW; PARK, CY. *Pathogenic microRNA's in myeloid malignancies*. Frontiers in Genetics U. S. A. Vol.5, 2014, 7-8.
3. SCHOTTE, D; PIETERS, R; BOER, ML DEN. *MicroRNAs in acute leukemia: from biological players to clinical contributors*. Leukemia. Vol. 26, 2011, 1-3.
4. WIESER, R; SCHEIDELER, M; HACKL, H; ENGELMANN, M; SCHNECKENLEITHNER, C; HIDEN, K. et al. *microRNAs in acute myeloid leukemia: expression patterns, correlations with genetic and clinical parameters, and prognostic significance*. Genes Chromosomes Cancer Austria. Vol. 49, 2009, 193-195.
5. YUAN, Y; KASAR, S; UNDERBAYEV, C; PRAKASH, S; RAVECHE, E. *MicroRNAs in Acute Myeloid Leukemia and Other Blood Disorders*. Leukemia Research and Treatment U. S. A. Vol. 2012, 2012, 1-4.
7. PALMA, C; Al SHEIKHA, D; LIM ,TK; BRYANT, A; Vu, TT; JAYASWAL, V. et al. *MicroRNA-155 as an inducer of apoptosis and cell differentiation in Acute Myeloid Leukaemia*. Molecular Cancer Australia. Vol. 13, 2014, 1-3.
8. ZHANG, H; GOUDEVA, L; Immenschuh, S; Schambach, A; Skokowa, J. *miR-155 Is Associated with the Leukemogenic Potential of the Class IV Granulocyte Colony-Stimulating Factor Receptor in CD34 + Progenitor Cells*. Molecular Medicine Germany. Vol 20, N° 1, 2015, 736-739.
9. O'CONNELL, RM; RAO, DS; CHAUDHURI, A ; BOLDIN, MP; TAGNOV, KD; NICOLL, J. et al. *Sustained expression of microRNA-155 in hematopoietic stem cells causes a myeloproliferative disorder*. J Exp Med U. S. A. Vol. 205, N° 3, 2008, 585-592.
10. LIN, T; LIPE, B. *Towards personalized medicine in acute myeloid leukemia*. Future Medicine U. S. A. Vol. 10, N° 6, 2013, 531-533.
11. PRICE, C; CHEN, J. *MicroRNAs in cancer biology and therapy: Current status and perspectives*. Genes&Diseases. U. S. A. Vol.1,N°1, 2014, 53-58.