

**ZMIANY EKSPRESJI miRNA U DZIECI Z OSTRĄ
BIAŁACZKĄ LIMFOBLASTYCZNĄ – ZNACZENIE
W PATOGENEZIE CHOROBY, ZWIĄZEK ZE
STERYDOTERAPIĄ ORAZ NOWE MOŻLIWOŚCI
DIAGNOSTYCZNO-TERAPEUTYCZNE.
PRZEGLĄD LITERATURY**

CHANGES OF miRNA EXPRESSION IN CHILDHOOD ACUTE
LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA – SIGNIFICANCE IN THE PATHOGENESIS
OF THE DISEASE, RELATION TO STEROID THERAPY AND NEW
DIAGNOSTIC-THERAPEUTIC POSSIBILITIES.
REVIEW OF THE LITERATURE

Aneta NOWICKA¹, Katarzyna DERWICH²

¹ Studenckie Koło Naukowe Onkologii i Hematologii Dziecięcej Uniwersytetu
Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

² Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatricznej II Katedry
Pediatrii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Streszczenie: W świecie nauki małe, niekodujące, regulatorowe cząsteczki – miRNA należą od kilkunastu lat do jednych z najbardziej aktualnych tematów badań. Zagadnienia związane ze zmianą ekspresji miRNA oraz ich znaczeniem zarówno w zakresie fizjologii, jak i w przebiegu różnych chorób tworzą wciąż szerokie pole do sprawdzenia, co może wiązać się z dostarczeniem w przyszłości nowych możliwości diagnostyczno-terapeutycznych. Wśród wielu dziedzin medycyny, onkologia zdaje się być szczególnie pożądanym obszarem do tego typu badań z uwagi na prężny postęp w zakresie tworzenia leków immunomodulujących oraz ukierunkowanych molekularnie, gdzie rola miRNA może odgrywać kluczowe znaczenie. Bieżący przegląd literatury dostarcza coraz to nowych informacji na temat miRNA w onkoematologii, a płynące z nich wnioski dotyczą zarówno badań obserwacyjnych, jak i efektów eksperymentalnych prób manipulacji tym nowopoznanym mechanizmem sterowania metabolizmem komórki. Ostra białaczka limfoblastyczna (ang. *Acute Lymphoblastic Leukemia*, ALL) to jeden z najczęstszych nowotworów wieku dziecięcego, który pomimo znacznego postępu w zakresie diagnostyczno-terapeutycznym, wciąż wiąże się z problemami niemożliwymi do rozwiązania w oparciu o aktualny stan wiedzy i dostępne

możliwości. Należą do nich późna diagnoza z próbą zrozumienia mechanizmów powstania ALL, nieprecyzyjna stratyfikacja chorych pod względem czynników ryzyka i związane z tym niedostosowanie intensywności leczenia, oporność na standardowe leczenie, nawrót choroby, zajęcie ośrodkowego układu nerwowego (OUN), nieprecyzyjne określenie rokowania, czułe metody monitorowania efektywności leczenia, a także skutki uboczne terapii zarówno wczesne, jak i odległe. Każdy z tych aspektów wpływa nadal niekorzystnie na umieralność chorych, ale stanowi jednocześnie wyzwanie naukowe i wyznacza cele, na których należało by się skupić. Jednym z zagadnień, które również wymaga szczegółowej uwagi jest wpływ glikokortykosteroidów (ang. *Glucocorticosteroids*, GC) na zmianę ekspresji miRNA, możliwy do zbadania po zastosowaniu 7-dniowej indukcyjnej steroidoterapii, stanowiącej obowiązkowy element standardowego protokołu leczniczego ALL. Wnioski otrzymane z obserwacji pozwoliłyby na zgłębienie wiedzy na temat mechanizmu działania GC oraz znalazłyby zastosowanie w diagnostyce, określeniu rokowania oraz leczeniu chorych z ALL.

Słowa kluczowe: miRNA, ALL, glikokortykosteroidy, steroidooporność, rokowanie

Summary: In the world of science small, non-coding, regulatory molecules – miRNAs have been, for several years, one of the most up-to-date research topics. Issues related to changes in miRNA expression and their significance in both physiology and the course of various diseases still constitutes a wide research field, which may involve providing new diagnostic and therapeutic possibilities. Among many fields of medicine, oncology seems to be a particularly desirable area for this type of research due to the rapid progress in the creation of immunomodulatory and molecular-targeted drugs, where miRNA can play a key role. The current review of the literature provides more and more information on miRNAs in oncohaematology, and the conclusions drawn from it concern both observational studies and the effects of experimental attempts to manipulate this new mechanism of cell metabolism control. Acute lymphoblastic leukemia, the most common childhood neoplasm, still causes problems impossible to solve on the basis of the current state of knowledge. These include a late diagnosis with an attempt to understand the mechanisms of ALL formation, imprecise stratification of patients in terms of risk factors and related inadequacy of treatment intensity, resistance to standard treatment, disease relapse, central nervous system infiltration, imprecise prognosis, sensitive methods of monitoring the treatment effectiveness, side effects of the therapy, both early and late. Each of these aspects continue to adversely affect the mortality of patients and constitute challenge for research. One of the important issues is the impact of glucocorticosteroids on altering the expression of miRNA, possible to verify after the application of 7-day steroid induction, which is a mandatory part of the standard ALL treatment protocol. Conclusions obtained from the observations would allow deepening the knowledge on the mechanism of glucocorticosteroids actions and could be used in the diagnosis, prognosis and treatment of patients with ALL.

Keywords: miRNA, ALL, glucocorticosteroids, steroid resistance, prognosis

OSTRA BIAŁACZKA LIMFOBLASTYCZNA U DZIECI

EPIDEMIOLOGIA I ROKOWANIE

ALL jest najczęstszym nowotworem wieku dziecięcego (około 25% w grupie do 14 roku życia) [17]. Od 1975 r. zapadalność na ALL wzrasta, a niepowodzenia jej leczenia wciąż pozostają wiodącą przyczyną zgonów w onkologii dziecięcej

[20, 41]. Jeszcze pół wieku temu diagnoza ALL wiązała się z dramatycznym rokowaniem, a wieloletnie remisje uzyskiwano u nie więcej niż 10-20% chorych pediatrycznych [15]. Obecnie, dzięki wypracowaniu precyzyjnych algorytmów postępowania terapeutycznego, opartych na doświadczeniu i długoterminowych badaniach obserwacyjnych, wskaźnik całkowitego przeżycia 5-letniego wynosi blisko 90% [46]. Podział chorych, oparty na kryteriach klinicznych, cechach biologicznych komórek nowotworowych oraz odpowiedzi na leczenie pozwolił na zastosowanie protokołów terapeutycznych dostosowanych pod względem intensywności do określonych grup ryzyka. Postęp w dziedzinie genetyki i immunologii sprawił, że aktualnie poza łatwymi do określenia czynnikami ryzyka wznowy, jak wiek pacjenta czy początkowa liczba krwinek białych, można zdefiniować naturę komórek rozrostu na poziomie cytogenetycznym oraz molekularnym [36]. Jest to szczególnie ważne osiągnięcie, ponieważ zmiany genetyczne należą do podstawowych przyczyn powstania nowotworu. Różnice w ich zakresie stanowią obecnie jedno z najważniejszych kryteriów oceny rokowania chorego. Pomimo kompleksowego i złożonego podejścia do ALL, skutki uboczne leczenia, nawroty choroby, chemiooporność oraz zajęcie OUN to problemy, które wciąż wymagają wprowadzenia kolejnych zmian w protokołach leczniczych i skrupulatniejszej stratyfikacji chorych pod względem czynników ryzyka. Od kiedy uzyskano *plateau* w zakresie efektywności leczenia na wysokim poziomie 80-90%, coraz większą uwagę zaczęto przywiązywać do jakości życia chorych zarówno w trakcie, jak i po leczeniu. Stosowanie intensywnej, skojarzonej wielolekowej chemioterapii wiąże się z ryzykiem wystąpienia licznych wczesnych i odległych działań niepożądanych. Dlatego aktualne wysiłki badaczy są ukierunkowane na redukcję ilości i intensywności stosowanej terapii przy zachowaniu jej maksymalnej skuteczności. Wiąże się to z koniecznością poszukiwania alternatywnych metod terapeutycznych m.in. nowych leków tzw. nacelowanych na naprawę/zniesienie konkretnych błędów odpowiedzialnych za zapoczątkowanie i podtrzymanie choroby.

ETIOLOGIA ALL

W etiologii białaczek brane jest pod uwagę wiele czynników, jednak wspólnym efektem ich działania jest powstawanie mutacji, która prowadzi do klonalnego rozrostu limfoidalnych komórek prekursorowych linii T lub B. Dysfunkcja naturalnych mechanizmów naprawczych i regulujących cykl komórkowy sprawia, że proces namnażania limfoblastów uwalnia się spod ich kontroli, co z czasem manifestuje się klinicznie. Detekcja określonych defektów na poziomie molekularnym/cytogenetycznym jest aktualnie wpisana w podstawowy algorytm diagnostyczny i warunkuje dalsze leczenie. Stosunkowo nowym zagadnieniem

jest zmieniona ekspresja regulatorowych krótkołańcuchowych cząstek miRNA u pacjentów z nowotworem, których rola i zróżnicowany poziom nie są jeszcze zdefiniowane jednoznacznie, ale zdają się odgrywać istotną rolę w patogenezie choroby [16].

LECZENIE – ZAŁOŻENIA OGÓLNE

Obecnie podstawą leczenia nowotworów układu krwiotwórczego jest poliche-mioterapia, której zadaniem jest całkowite zniszczenie klonu komórek nowotwo-rowych poprzez nieswoiste mechanizmy działania i przy jednoczesnym uszkodze-niu komórek zdrowych. Algorytm postępowania składa się ze ściśle określonych etapów i obejmuje: indukcję remisji, profilaktykę ośrodkowego układu nerwowe-go (OUN), konsolidację, reindukcję oraz leczenie podtrzymujące. Różnice w do-borze poziomu intensywności chemioterapii oraz leczenia wzmacniającego efekt przeciwbiałaczkowy (radioterapia OUN, allogeniczne przeszczepienie komórek krwiotwórczych) są podyktowane występowaniem u chorego czynników ryzyka, które określane są zarówno na początku, jak i na dalszych etapach leczenia. Jed-nym z nich jest ocena odpowiedzi na wstępną kortykosteroidoterapię. Pierwszy etap, faza indukcji remisji, zapoczątkowany jest 7-dniowym cyklem steroidote-rapii: prednizon 60 mg/m² /d, PO/IV, w 3 dawkach oraz jedną dawką metotreksatu podanego dokanałowo w pierwszym dniu prefazy cyto redukcyjnej celem profi-laktyki zajęcia OUN. Steroidowrażliwość organizmu oceniana jest na podstawie całkowitej bezwzględnej liczby blastów (ang. *Absolute Blast Count*, ABC) we krwi obwodowej w 8 dniu w rozmazie krwi obwodowej. Pacjenci z ABC <1,000/μL są wrażliwi na GC (ang. *Prednisone-Good Responders*, PGR). Poziom bla-stów ≥1,000 blasts/μL oznacza oporność na GC (ang. *Prednisone-Poor Respon-ders*, PPR) i jest prognostykiem gorszej odpowiedzi na leczenie, który obli-guje zastosowania protokołu ustalonego dla grupy wysokiego ryzyka.

GC – ROLA W LECZENIU ALL I MECHANIZM DZIAŁANIA

Podstawowym narzędziem terapeutycznym stosowanym w onkologii hemato-logicznej jest bardzo złożona chemioterapia, w skład której wchodzi wiele leków od cytostatyków, poprzez hormony, aż do niejednorodnej i najaktywniej ewolu-ującej grupy immunomodulatorów. GC należą do jednych z pierwszych, które zo-stały wykorzystane w tej dziedzinie i pomimo istniejącej od wielu lat tendencji do tworzenia leków o wąsko ukierunkowanym mechanizmie działania, nieswoiste wpływy GC zdają się nadal odgrywać niezastąpioną rolę w protokołach terapeutycznych. Początkowe próby leczenia rozrostów hematologicznych u dzieci GC

w monoterapii pozwalały na uzyskanie aż 50% remisji, które były jednak krótkotrwałe i wiązały się z rozwinęciem steroidooporności przy nawrocie [29]. Obecnie steroidoterapia jest zalecanym postępowaniem zarówno na początku leczenia, w fazie konsolidacji i reindukcji, jak i podczas nawrotu choroby czy oporności, gdzie wykorzystuje się większe ich dawki. Dotychczasowe eksperymentalne badania na komórkach układu limfatycznego oraz nowotworowych limfoblastach ludzkich potwierdziły ich szczególną wrażliwość na supresyjne działanie GC [29]. Wśród mechanizmów, które odgrywają kluczową rolę w preferencyjnej liście patologicznie rozregulowanych komórek układu odpornościowego wymienia się programowaną śmierć komórek oraz apoptozę, podczas gdy w warunkach fizjologicznych przeważa zjawisko sekwestracji [40]. Większość efektów działania hormonów sterydowych jest możliwa dzięki tworzeniu przez nie kompleksów z wewnątrzkomórkowymi receptorami, które po migracji do jądra, wiążą się z miejscami docelowymi na DNA (ang. *Glucocorticoid-Responsive Elements*, GREs) i wpływają modulująco na ekspresję genów odpowiedzialnych za metabolizm komórek. Pomimo powszechnej obecności receptorów sterydowych w organizmie, ich wrażliwość różni się w zależności od tkanki i jest regulowana przez wiele czynników między innymi oddziaływaniem miRNA na poziom ekspresji receptorów sterydowych [11]. Niektóre z efektów działania GC zachodzą szybciej niż można by to wyjaśnić zmianą na poziomie ekspresji DNA, dlatego zaproponowano istnienie tzw. niegenomowych mechanizmów, jak: nieswoiste oddziaływanie GC błoną komórkową; niegenomowe efekty wywoływane przez cytosolowy GR czy swoiste wiązanie się GC do znajdującego się w błonie receptora [44]. W warunkach fizjologicznych GC są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu, który automatycznie reguluje swoją wrażliwość na ich działanie, a ich wyeliminowanie wiąże się ze śmiercią komórki. Z drugiej strony patologiczny nadmiar GC jest odpowiedzialny za wystąpienie zespołu Cushinga, którego jednym z głównych objawów jest supresja odpowiedzi immunologicznej. Obserwacja ta znalazła odzwierciedlenie w leczniczym zastosowaniu GC. Obecnie odgrywają one nieprzecenioną rolę w bardzo wielu schorzeniach związanych z nadaktywnością układu immunologicznego, niejednokrotnie stanowiąc pierwszorzęutowy i podstawowy sposób postępowania. Wśród leków przeciwnowotworowych, hormony jako jedyne działają zgodnie z ideą „naśladowania” naturalnych, wrodzonych mechanizmów obrony przed szkodliwym działaniem czynników zewnętrznych, co wpisuje się w ich fundamentalną rolę w regulacji homeostazy organizmu i jego przetrwaniu w zmieniających się warunkach. O ile syntetyczne terapeutyki, działając w określonych punktach metabolizmu, hamują proliferację komórek zarówno nowotworowych jak i zdrowych, tak GC cechuje szczególnie silne oddziaływanie na klony zmutowanych limfoblastów i ma ono zarówno charakter cytoredukcyjny, jak i modulujący. Pomimo wielu skutków ubocznych, zastosowanie polichemioterapii w dużych dawkach pozwala na uży-

skanie spektakularnych efektów w zmniejszeniu liczby blastów, przez co stanowi podstawę wszystkich protokołów leczenia. Nadal jednak jest to leczenie o charakterze „objawowym” – zniszczenie nadmiernie proliferującego klonu komórek, z pominięciem istoty patogenetycznej choroby, którą stanowi błąd na poziomie genu. Genomowe i pozagenomowe działanie GC nie ogranicza się do jednego miejsca w procesie nowotworzenia. Jest ono bardzo złożone i prawdopodobnie jeszcze mało poznane, dlatego odtworzenie go w pełnym wymiarze w warunkach *in situ* jest na obecnym poziomie wiedzy niemożliwe. Poprzez aplikowanie substancji egzogennych, człowiek wciąż próbuje wpływać na przebieg fizjologicznych i patologicznych procesów w organizmie. Natomiast podanie GC oznacza całkowite zdanie się na efekt działania mechanizmów naturalnie wykształconych w procesie ewolucji, które zdają się być nadal niezastąpione. W obliczu narastającej lekooporności i wciąż zwiększającej się zapadalności na nowotwory być może należałoby wrócić „do korzeni” i ponownie skupić się nad mechanizmami walki, które są wynikiem długoterminowego dostosowania się organizmu do zmian otoczenia. Stąd dokładne zrozumienie sposobów działania GC, między innymi poprzez system miRNA, może dać szansę na stworzenie ekwiwalentnych metod leczenia z pominięciem tych elementów, które odpowiadają za kliniczne skutki uboczne.

miRNA

INFORMACJE OGÓLNE

Od kiedy po raz pierwszy w 1993 odkryto cząsteczki miRNA u nicienia *Caenorhabditis elegans* badania nad ich ekspresją w organizmach roślinnych, zwierzęcych i ludzkich zyskały zasięg ogólnowiatowy i stanowią obecnie jeden z wiodących problemów rozważań naukowych [48]. Te endogenne, jednoniciowe, niekodujące cząsteczki o długości 21-23 nukleotydów biorą udział w funkcjonowaniu i rozwoju organizmu poprzez regulację ekspresji genów na poziomie potranskrypcyjnym. Udało się zidentyfikować około 2600 dojrzałych miRNA, z których każde może oddziaływać na setki genów, co pozwala na regulację blisko 60% mRNA kodującego białka [14]. Szacuje się, że geny kodujące miRNA zajmują 1-5% informacji genetycznej [5]. Co ważne, miRNA nie ulegają translacji. Pierwotny transkrypt (pri-microRNA) jest przekształcany w strukturę spinki do włosów (pre-microRNA), a następnie w funkcjonalne miRNA. Przyłączenie do regionu 3' nieulegającego translacji (3'UTR) docelowego mRNA stanowi istotę ich działania i prowadzi do wyciszenia genów na drodze degradacji lub zahamowania translacji transkryptu [3]. Ten rodzaj interferencji z mRNA znajduje swoje odzwierciedlenie w koordynowaniu takich procesów jak cykl komórkowy, apoptoza czy wreszcie onkogeneza [22]. Od dawna wiadomo, że zaburzona synte-

za białek regulatorowych/czynnościowych może być przyczyną nieprawidłowego metabolizmu komórki i klinicznie prowadzić do powstania choroby. Stąd zmiany ilościowe miRNA, które obserwuje się w nowotworach, mogą w dużej mierze odpowiadać za nadmierne namnażanie komórek czy zaburzenia ich funkcji. Analizy pokazują, że choć profile zmienionych miRNA są odmienne w przypadku poszczególnych nowotworów, można w nich wskazać pewne wspólne tendencje, świadczące o istnieniu miRNA o charakterze szczególnie „onkogennym” [2]. Na podstawie dotychczasowych badań z pewnością da się stwierdzić, że odchylenia ilościowe miRNA w przypadku nowotworów hematologicznych są ich nieodłączną cechą [16], ale powiązanie tych zmian z patomechanizmem powstania i przebiegiem choroby pozostaje nadal niezrozumiałe. Fluktuacje ilości komórkowego miRNA znajdują odzwierciedlenie we krwi chorych, co można stosunkowo łatwo zbadać przy pomocy dostępnych metod laboratoryjnych. Udowodniono wysoką stabilność miRNA w surowicy i ich oporność na działanie endogennych rybonukleaz [30]. Fakt ten mógłby zostać wykorzystany w diagnostyce, określeniu rokowania czy wreszcie leczeniu białaczek, lecz wymaga to wyjaśnienia znaczenia i usystematyzowania zidentyfikowanych różnic.

miRNA W ALL

W odniesieniu do ALL, zagadnienie miRNA obejmuje następujące problemy badawcze:

1. rodzaje miRNA, których ekspresja ulega zmianie w ALL – możliwość wykorzystania ich profilu w diagnostyce choroby;
2. zidentyfikowanie odmienności o istotnym znaczeniu patogenetycznym oraz analiza ich zmian w przebiegu leczenia GC – potencjalne wykorzystanie tych obserwacji w terapii poprzez modulowanie ekspresji miRNA/ich docelowych mRNA;
3. znaczenie rokownicze określonych deregulacji miRNA i ich zmian dla przebiegu choroby – wskazanie nowych możliwości w początkowej stratyfikacji chorych pod względem ryzyka;
4. związek określonych deregulacji miRNA z odpowiedzią na leczenie – wskazanie potencjalnych możliwości terapeutycznych dla przełamania oporności;
5. monitorowanie zmian ilościowych miRNA w przebiegu leczenia jako sposób oceny skuteczności zastosowanej terapii i czynnik warunkujący jej dalszy kierunek.

1. Ze względu na bardzo istotny odsetek ALL wśród nowotworów dziecięcych, stanowi ona jedną z najszerzej badanych białaczek pod względem ekspresji miRNA. Do tej pory wykryto wiele miRNA, które ulegają zmianom w ALL (tabela 1), jednak wyniki analiz nie są wystarczająco jednoznaczne i pełne, by można było wyznaczyć wiarygodny profil ekspresji miRNA swoisty dla tego nowotworu. W dużej mierze jest to wynikiem heterogennego charakteru biologicznego rozrostów białaczkowych u różnych pacjentów, określanym wspólnym mianem ALL, co nie zawsze jest

uwzględniane w podsumowaniu wyników badań. Stworzenie w pełni użytecznych narzędzi diagnostyczno-terapeutycznych wymaga odniesienia uzyskanych rezultatów do podtypów białaczki, najlepiej przy wykorzystaniu wspólnych, randomizowanych i wiarygodnych metod detekcji.

TABELA 1. Zmiany ekspresji miRNA w ALL
TABLE 1. Changes in miRNA expression in ALL

WNIOSEK	DATA	ŹRÓDŁO
Podwyższenie poziomu miR-19b, miR-20a, miR-26a miR-92 oraz obniżenie miR-223 w T-ALL (badania na liniach komórkowych)	2011	[28]
Obniżenie poziomu miR-196b w T-ALL jako efekt mutacji w genie c-myc	2011	[6]
Podwyższony poziom miR-128b, miR-204, miR-218, miR-331, miR-181b-1, miR-17-92 w ALL	2007	[51]
MiRNA-451 oraz miRNA-709 mogą odgrywać rolę supresorową w T-ALL (model zwierzęcy)	2011	[25]
miR-18a – zmniejszona ekspresja w ALL u dzieci	2017	[31]
Obniżony poziom miR-181a u dzieci z ALL	2017	[32]
Sekwencjonowanie small RNA u pacjentów z T-ALL oraz zdrowych dawców, ujawniło znaczne odmienności w ekspresji miRNA oraz różnice w profilu ekspresji wewnątrz grupy badanej w zależności od podtypu białaczki	2017	[47]
Obniżony poziom miR-100, miR-196b i let-7e oraz podwyższony miR-128a i miR-181b u dzieci z ALL	2012	[12]
Ekspresja miR-196a i miR-196b wiąże się z niedojrzałym fenotypem T-ALL	2011	[10]
Podwyższony poziom miR-128a, miR-128b, miR-213, miR-210, miR-130b, miR-146a i miR-34a w ALL	2009	[52]
Zmiany w profilu ekspresji miRNA są zależne od podtypu ostrej białaczki, a nie od stanu dojrzałości komórek nowotworowych	2009	[39]
Podwyższony poziom miR-708 u pacjentów z nawrotem oraz wysoki poziom miR-223 i miR-27a podczas remisji	2011	[18]
Zmiany ekspresji miRNA-100, miRNA-196a oraz miRNA-146a mają znaczenie patogenetyczne w onkogenezie ALL u dzieci	2016	[45]

2. Jak wspomniano wyżej, GC należą do podstawowych leków stosowanych w leczeniu białaczek. Istotnym jest fakt, że w przypadku ALL, monoterapia prednizonem jest indukującym postępowaniem terapeutycznym, zastosowanym wobec pierwotnie „dziewiczej”, zmienionej jedynie w wyniku mechanizmów onkogennych, komórki nowotworowej. Ma to ogromne znaczenie w ocenie wpływu GC na zmiany w metabolizmie klonów białaczkowych, których wykładnikiem jest redukcja ich liczby w 8 dniu cytoredukcji. Wśród wielu sugerowanych mechanizmów działania GC, kwestia regulacji ekspresji miRNA nie została dotychczas oceniona.

TABELA 2. Zmiana ekspresji miRNA pod wpływem GC

TABLE 2. Change in miRNA expression under the influence of GC

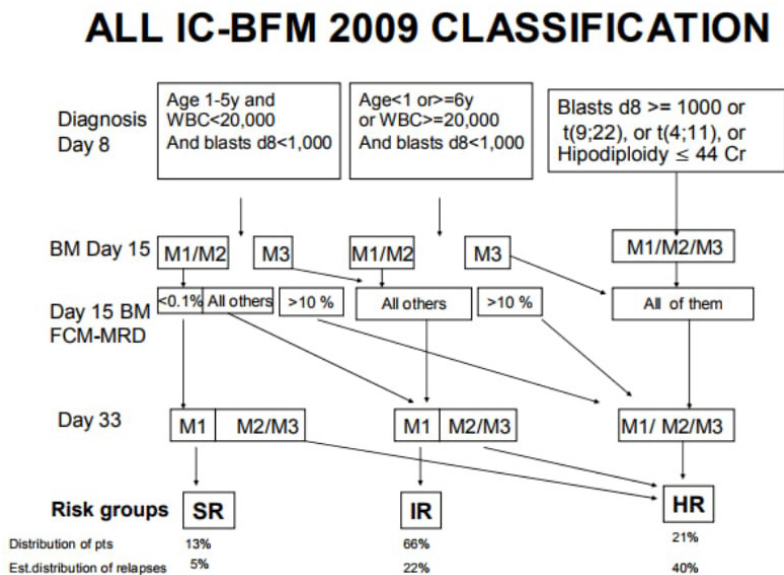
WNIOSEK	DATA	ŹRÓDŁO
Obniżenie ekspresji wszystkich miRNA; spadek miRNA17 w indukowanej deksametazonem śmierci komórek ALL	2012	[19]
GC stymulują ekspresję miRNA-29c w komórkach mięśni gładkich naczyń na drodze 3 mechanizmów: transkrypcyjnym, epigenetycznym i poprzez receptory	2017	[9]
Poprzez oddziaływanie na receptory α i β estrogeny oraz ligandy receptorów estrogenowych takie jak tamoksyfen i substancje zaburzające gospodarkę hormonalną (ang. <i>Endocrine Disrupting Chemicals</i> , EDCs) regulują ekspresję miRNA	2015	[23]
Poziom miR-212, miRNA-183, miRNA-182, miRNA-132, miRNA-370, miRNA-377, miRNA-96 zwiększył się, natomiast miR-125b, miRNA-200b, miR-122, miRNA-466b, miR-138, miRNA-214, miRNA-503 i miRNA27 zmalał pod wpływem 17α -E ₂ ; miRNA-183 – wzrosło, zaś miRNA-200b, miR-122, miR-19a, miRNA-466b oraz miRNA27 zmalało po podaniu deksametazonu (model zwierzęcy – nadnercze szczura)	2013	[21]
Estrogeny i androgeny regulują ekspresję miRNA na różnych etapach ich biosyntezy; jednocześnie w mechanizmie pętli zwrotnej miRNA wpływają na obecność receptorów warunkując wrażliwość komórek docelowych na działanie hormonów	2014	[13]
Zwiększenie poziomu miR-29c, miR-10; Spadek poziomu miR-34a, miR-181c, miR-20a, miR-15a pod wpływem GC anabolicznych (model zwierzęcy)	2011	[4]
Monoterapia GC podwyższa poziom miR-223 oraz związanych z indukowaną apoptozą miR-15/16 zarówno w modelach komórkowych, jak i u pacjentów z ALL	2009	[38]
MiRNA-44 i miRNA-166 mogą mieć udział w indukowanej GC apoptozie limfocytów (model zwierzęcy)	2013	[43]

Autor wnioskuję, że na podstawie wiedzy o genomowym oddziaływaniu GC oraz wpływie miRNA na losy komórek, należałoby spodziewać się istnienia związku między tymi dwoma narzędziami regulacji cyklu komórkowego. Charakter zmian ekspresji profilu miRNA zaobserwowany po 7-dniowej aplikacji GC może wyjaśnić mechanizm, w jaki naturalny system ochrony człowieka próbuje zniwelować skutki patologicznych zjawisk i ochronić go przed ich dalszym wpływem. Tego typu spostrzeżenia pozwoliłyby na zidentyfikowanie tych zmian ekspresji miRNA, które mają istotne znaczenie patologiczne oraz wyznaczyłyby konkretne punkty, na których należało by się skupić podejmując próby naśladowania działania GC. Teoretycznie może zostać to osiągnięte poprzez: 1. substytucyjne podanie miRNA, których ekspresja uległa zwiększeniu po skutecznej 7-dniowej terapii GC; 2. znie-

sienie działania/degradację cząsteczek miRNA, których stężenie uległo redukcji po tym czasie; 3. określenie mRNA docelowych dla tych miRNA, w celu wyciszenia/wzmocnienia translacji odpowiednich białek na poziomie mRNA. Jak do tej pory wystarczająco wiarygodne badania nad tego typu wpływami nie zostały przeprowadzone na szerszą skalę (tabela 2).

TABELA 3. Stratyfikacja pacjentów do grup ryzyka wg protokołu ALL IC-BFM 2009

TABLE 3. Stratification of patients into risk groups according to the IC-BFM ALL 2009 protocol



ALL IC-BFM 2009 – protokół leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci obowiązujący od 2009 roku nadal; BFM = (Berlin, Frankfurt, Munster) grupa badawcza;

BM – ang. *Bone Marrow*, szpik kostny; M – status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię: M1 – <5% blastów, M2 ≥5%, <25% blastów, M3 ≥25% blastów; HR – ang. *High Risk*, wysokie ryzyko, IR – ang. *Intermediate Risk*, pośrednie ryzyko, SR – ang. *Standard Risk*, niskie ryzyko;

3. Stratyfikacja chorych pod względem ryzyka oraz zastosowanie na tej podstawie leczenia o adekwatnej intensywności stanowi fundamentalny zamysł aktualnie stosowanych protokołów terapeutycznych ustalonych dla ALL. Określenie kryteriów tej stratyfikacji jest wynikiem wieloletnich obserwacji, które w wyniku aktywnego prowadzenia badań i stałego przyływu nowych informacji, wciąż ulegają modyfikacjom. Efektem tych zintegrowanych działań ma być możliwie najdokładniejsze sklasyfikowanie pacjentów w celu maksymalnego zredukowania działań niepożądanych terapii przy zachowaniu jak najwyższej skuteczności.

W porównaniu do wielu czynników o udokumentowanym znaczeniu rokowniczym jak np. wiek pacjenta podczas zachorowania, liczba krwinek białych czy poziom choroby resztkowej (ang. *Minimal Residual Disease*, MRD) (tabela 3) [8], związek między pierwotną ekspresją miRNA przez komórki nowotworowe i przebiegiem choroby jest aktualnie na etapie intensywnych badań. Istnieją doniesienia o istnieniu korelacji między nadekspresją niektórych miRNA jak miRNA-92a czy miRNA-24 i gorszą prognozą, [34, 35], jak również korzystniejszego rokowania dla chorych z wyjściowo zwiększonym poziomem miR-128b [33] (tabela 4).

TABELA 4. Znaczenie rokownicze zmian ekspresji miRNA w ALL

TABLE 4. Prognostic significance of changes in the expression of miRNAs in ALL

WNIOSEK	DATA	ŹRÓDŁO
Nadekspresja miR-92a wiąże się z gorszym rokowaniem u chorych z ALL	2010	[34]
W grupie pacjentów z ALL z nadekspresją miRNA-24 stwierdzono zwiększone ryzyko nawrotu i krótszy okres przeżycia	2015	[35]
Niska ekspresja miR-139 wiąże się z gorszą prognozą w T-ALL	2017	[37]
Niska ekspresja miR-128 u dzieci z ALL z delecją IKZF1, która jest niezależnym negatywnym czynnikiem prognostycznym	2017	[24]
Podwyższony poziom miR-7, miR-216 i miR-100 oraz niska ekspresja miR-486, miR-191, miR-150, miR-487 i miR-342 wiąże się z nawrotem choroby; Podwyższenie: miR-7, miR-198 i miR-663 oraz obniżenie: miR-126, miR-222, miR-551a i miR-345 koreluje z wczesnym zajęciem OUN u chorych z ALL	2009	[52]
Obniżenie ekspresji miR-124a w B-ALL jest niezależnym negatywnym czynnikiem prognostycznym	2009	[1]

4. O ile GC poprzez wpływ na ekspresję miRNA mogą oddziaływać na losy komórek nowotworowych, tak i odwrotnie – zróżnicowana ekspresja miRNA może mieć znaczenie we wrażliwości nowotworowych limfoblastów na działanie GC [11]. Pierwotna oporność limfoblastów wiąże się ze złym rokowaniem i ta grupa pacjentów, która ją prezentuje, stanowi prawdziwe wyzwanie terapeutyczne. Zauważono, że niektóre miRNA jak miRNA-18a, miRNA-532, miRNA 218, miRNA-625, miRNA-193a, miRNA-638, miRNA-550 i miRNA-633 mogą mieć znaczenie prognostyczne w różnicowaniu PGR od PPR [49]. Eksperymentalne próby manipulacji poziomem miRNA-17 (inhibicja) pozwoliły uzyskać większą efektywność deksametazonu w zjawisku indukowanej śmierci komórek, przyczyniając się w pewnym stopniu do zrozumienia niektórych zależności układu miRNA-steroidy i wyznaczając kierunek w poszukiwaniu nowych metod terapii [19] (tabela 5).

TABELA 5. Związek zmian ekspresji miRNA ze sterydoopornością
TABLE 5. Relations between miRNA expression changes and steroid resistance

WNIOSEK	DATA	ŹRÓDŁO
MiRNA-18a, miRNA-532, miRNA 218, miRNA-625, miRNA-193a, miRNA-638, miRNA-550 i miRNA-633 mogą mieć znaczenie prognostyczne w różnicowaniu PGR od PPR	2011	[49]
MiRNA-124 wiąże się z opornością na GC	2017	[26]
Poziom miR-142-3p jest podwyższony w T-ALL i ma związek z obniżeniem ekspresji glikokortykoidowego receptora α ($GR\alpha$) i opornością na GC	2012	[27]
Analiza profilu ekspresji 8 miRNA: miR-18a, miR-532, miR-218, miR-625, miR-193a, miR-638, miR-550, i miR-633 pozwala zróżnicować pacjentów pod względem oporności na GC (dzieci z ALL)	2009	[52]
Podwyższony poziom miRNA-182 wiąże się ze sterydoopornością poprzez regulację FOXO3A	2012	[50]
Zwiększona ekspresja miR-708 u pacjentów dobrze odpowiadających na leczenie GC oraz niski poziom miR-708 u sterydoopornych	2011	[18]

Opierając się o dotychczasowo uzyskane wyniki można podjąć próbę określenia oporności nowotworu na działanie GC na co najmniej dwa sposoby: 1. wykazanie braku zmian w ekspresji nieprawidłowych miRNA po 7-dniowej sterydoterapii w klonach opornych w porównaniu do zmian w grupie rozrostów wrażliwych; 2. pierwotna detekcja miRNA o potwierdzonym na podstawie empirii supresyjnym wpływie na szlaki działania/receptory dla GC, których stężenie pozostaje niezmiennie niezależne od przyjmowania leków. Jak na razie są to jednak jedynie hipotezy, których potwierdzenie wymaga dalszych badań.

5. Poziom MRD badany metodą cytogenetyczną albo molekularną (zakres czułości od 10^{-4} do 10^{-6}) stanowi obecnie standard w monitorowaniu odpowiedzi nowotworu na leczenie [8]. Pomimo uzyskania bardzo wysokiej czułości w technikach detekcji pozostałych komórek nowotworowych wciąż dąży się do jej zwiększenia, a sposobem na to może okazać się badanie wysoce stabilnych małych cząstek miRNA we krwi. Próbowano wykorzystać je w monitorowaniu ostrej białaczki szpikowej (ang. acute myeloid leukemia, AML) [42]. Z uwagi na duże znaczenie korelacji między MRD a rokowaniem chorego, określenie MRD przy wykorzystaniu miRNA, mogłoby stanowić duży przełom diagnostyczny i przełożyć się na wybór adekwatnego postępowania leczniczego. Jednak ze względu na zmienność ekspresji miRNA na różnych etapach choroby, zdefiniowanie ściśle określonych kryteriów może okazać się trudne lub wręcz niemożliwe [7].

PODSUMOWANIE

Zmiany ekspresji miRNA są jedną z cech nieprawidłowego funkcjonowania komórki, co udało się potwierdzić zarówno na modelach zwierzęcych, liniach komórkowych, jak i w badaniach klinicznych. Wykryte różnice mogą stanowić diagnostyczny wykładnik zaburzeń na poziomie genomowym, będących efektem powstałych wcześniej błędów, jak również mieć udział sprawczy w patogenezie choroby i warunkować jej dalszy przebieg. Obserwacje te dotyczą wielu obszarów medycyny, a onkologia zdaje się być szczególnie prężnie badaną dziedziną w tym zakresie. Do tej pory odkryto wiele miRNA, których ekspresja ulega zmianie w przebiegu ALL, jednak heterogenna natura tego rozrostu hematologicznego utrudnia jednoznaczne zdefiniowanie profilu miRNA, który mógłby być wykorzystany we wczesnej diagnostyce. Wydaje się, że aby rozwiązać ten problem należało by odnieść otrzymane obserwacje do podtypu i stadium rozwoju białaczki u danego pacjenta. Wielokrotne oznaczenia fluktuacji ekspresji miRNA mogłyby dostarczyć nowych możliwości w monitorowaniu stanu pacjenta i jego odpowiedzi na leczenie. Jednak biorąc pod uwagę aktualny stan wiedzy, wprowadzenie tej metody wymaga jeszcze zgłębienia bardzo wielu zagadnień związanych z naturą miRNA w zakresie fizjologii i choroby, a następnie wieloosrodkowych badań klinicznych porównujących czułość i swoistość proponowanego sposobu monitorowania do wykorzystywanych dotychczas badań. Zauważono, że pewne miRNA łączą się z wyleczalnością, nawrotowością i umieralnością pacjentów. Niektóre z nich powiązane z konkretnymi cechami klinicznymi jak zajęcie OUN, wczesny nawrót, współwystępowanie określonych zaburzeń genetycznych, natomiast inne korelowały z całkowitym wynikiem leczenia niezależnie od innych czynników. Spostrzeżenia te mogą zostać uwzględnione w kolejnych aktualizacjach wytycznych stratyfikacji chorych pod względem ryzyka oraz ułatwić określenie rokowania chorych z ALL. Odpowiedź na leczenie, oceniana przez pomiar liczby blastów we krwi po wstępnej sterydoterapii, stanowi jedno z obowiązujących kryteriów podziału pacjentów na grupy ryzyka. Sterydooporność jest poważnym problemem terapeutycznym i wymaga zastosowania obciążającej chemioterapii, która wiąże się z długoterminowymi skutkami ubocznymi. Również ta kwestia została poddana analizie pod kątem miRNA, co pozwoliło zdefiniować pewne zmiany o znaczeniu prognostycznym co do odpowiedzi na leczenie. W większości tych analiz podjęto również próby wytłumaczenia powiązań patofizjologicznych zmian ekspresji miRNA z mechanizmami steroidalności. Ten obszar badań dostarcza wiele nowych możliwości i celów terapeutycznych, które są na razie w fazie badań na modelach komórkowych i zwierzęcych. Niektóre z nich

przynoszą oczekiwane rezultaty i dają szansę na wdrożenie uzyskanych wniosków w praktykę kliniczną w przyszłości. Zagadnienie wpływu GC na zmianę ekspresji miRNA wydaje się być mało przebadane, natomiast w odniesieniu do ALL udaje się odnaleźć zaledwie kilka wzmianek. Skuteczność GC w leczeniu rozrostów hematologicznych od wielu lat jest niepodważalnym faktem. Mechanizmy działania tych leków wciąż pozostają jednak nie do końca poznane, a odkrycie nowego narzędzia regulacji cyklu komórkowego jakim jest miRNA, otwiera kolejny obszar do badań nad działaniem GC. Dokładne poznanie tych zależności mogłoby nakierować uwagę badaczy na możliwość nowego sposobu leczenia poprzez naśladowanie naturalnych mechanizmów obrony, wypracowanych przez organizm w toku ewolucji. Substytucyjne zastosowanie lub wyciszenie miRNA bądź manipulacje na ich docelowym mRNA to potencjalne sposoby na wykorzystanie uzyskanych w toku badań wniosków. Biorąc pod uwagę szybkość postępu w zakresie immunologii, genetyki oraz możliwości metodologicznych, którego świadkami jesteśmy aktualnie, praktyczne przeniesienie wiadomości o miRNA do różnych dziedzin medycyny zdaje się być zaledwie kwestią czasu.

LITERATURA

- [1] AGIRRE X, VILAS-ZORNOZA A, JIMENEZ-VELASCO A, MARTIN-SUBERO JI, CORDEU L, ET AL. Epigenetic silencing of the tumor suppressor microRNA hsa-miR-124a regulates CDK6 expression and confers a poor prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res.* 2009; 69: 4443-4453.
- [2] BANDYOPADHYAY S, MITRA R, MAULIK U, ZHANG MO. Development of the human cancer mikroRNA network. *Silence* 2010; 1: 6.
- [3] BARTEL DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297.
- [4] BECKER CH, RIEDMAIER I, REITER M, TICHOPAD A, PFAFFL MW, MEYER HHD. Changes in the miRNA profile under the influence of anabolic steroids in bovine liver. *Analyst* 2011; 136(6):1204-9.
- [5] BEREZIKOV E, GURYEV V, VAN DE BELT J, WIENHOLDS E, PLASTERK R, CUPPEN E. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes. *Cell* 2004; 120: 21-24.
- [6] BHATIA S, KAUL D, VARMA N. Functional genomics of tumor suppressor miR-196b in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Mol. Cell. Biochem.* 2011; 346: 103-116.
- [7] BRASE JC, WUTTING D, KUNER R, SÜLTMANN H. Serum microRNAs as non-invasive biomarkers for cancer. *Mol. Cancer* 2010; 9: 306.
- [8] CAMPBELL M, CASTILLO L, RICCHERI C, JANIC D, JAZBEC J, ET AL. ALL IC-BFM 2009: A randomized trial of the I-BFM-SG for the management of childhood non-B acute lymphoblastic leukemia. Final Version of Therapy Protocol from 14 August 2009.
- [9] CHUANG TD, KHORRAM O. Glucocorticoids regulate MiR-29c levels in vascular smooth muscle cells through transcriptional and epigenetic mechanisms. *Elsevier* 2017; 186: 87-91.
- [10] COSKUN E, VON DER HEIDE EK, SCHLEE C, ET AL. The role of microRNA-196a and microRNA-196b as ERG regulators in acute myeloid leukemia and acute T-lymphoblastic leukemia. *Leuk Res.* 2011; 35(2): 208-213.
- [11] DE KLOET ER, FITZSIMONS CP, DATSON NA, MEIJER OC, VREUGDENHIL E. Glucocorticoid signaling and stress-related limbic susceptibility pathway: about receptors, transcription machinery and microRNA. *Brain Res* 2009; 1293: 129-141.

- [12] DE OLIVEIRA JC, SCRIDELI CA, BRASCESCO MS, MORALES AG, PEZUK JA, QUEIROZ RDE P, ET AL. Differential miRNA expression in childhood acute lymphoblastic leukemia and association with clinical and biological features. *Leuk Res.* 2012; 36: 293-298.
- [13] FLETCHER CE, DART DA, BEVAN CHL. Interplay between steroid signalling and microRNAs: implications for hormone-dependent cancers. *Endocr Relat Cancer* 2014; 21(5): 409-29.
- [14] FRIEDMAN RC, FARH KK, BURGE CB, BARTEL DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res.* 2009; 19(1):92-105.
- [15] GEORGE P, HERNANDEZ K, HUSTU O, BORELLA L, HOLTON C, PINKEL. A study of „total therapy” of acute lymphocytic leukemia in children. *DJ Pediatr* 1968; 72(3): 399-408.
- [16] GREUDA A, BUDZYŃSKI M, FILIP AA. Biogeneza cząsteczek mikroRNA oraz ich znaczenie w powstawaniu i przebiegu wybranych zaburzeń hematologicznych. *Postepy Hig Med Dosw (online)* 2013; 67: 174-185.
- [17] GURNEY JG, SEVERSON RK, DAVIS S, ROBISON LL. Incidence of cancer in children in the United States. Sex-, race-, and 1-year age-specific rates by histologic type. *Cancer* 1995; 75(8): 2186-95.
- [18] HAN BW, FENG DD, LI ZG, LUO XQ, ZHANG H, ET AL. A set of miRNAs that involve in the pathways of drug resistance and leukemic stem-cell differentiation is associated with the risk of relapse and glucocorticoid response in childhood ALL. *Hum Mol Genet.* 2011; 20(24): 4903-4915.
- [19] HARADA M, POKROVSKAJA-TAMM K, SÖDERHÄLL S, HEYMAN M, GRANDER D, CORCORAN M. Involvement of miR17 pathway in glucocorticoid-induced cell death in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2012; 53(10): 2041-50.
- [20] HOWLADER N, NOONE AM, KRAPCHO M, MILLER D, BISHOP K, ALTEKRUSE SF, KOSARY CL, YU M, RUHL J, TATALOVICH Z, MARIOTTO A, LEWIS DR, CHEN HS, FEUER EJ, CRONIN KA (EDS). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2013, National Cancer Institute. Bethesda, MD, https://seer.cancer.gov/csr/1975_2013/, based on November 2015 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2016.
- [21] HU Z, SHEN WJ, CORTEZ J, TANG X, LIU LF, KRAEMER FB, AZHAR S. Hormonal Regulation of MicroRNA Expression in Steroid Producing Cells of the Ovary, Testis and Adrenal Gland. *PLoS One* 2013; 8(10): e78040.
- [22] IZZOTTI A, CALIN GA, ARRIGO P, STEELE VE, CROCE CM, DE FLORA S. Downregulation of microRNA expression in the lungs of rats exposed to cigarette smoke. *FASEB J* 2009; 23: 806-812.
- [23] KLINGE CM. miRNAs regulated by estrogens, tamoxifen, and endocrine disruptors and their downstream gene targets. *Mol Cell Endocrinol.* 2015; 418(Pt3): 273-97.
- [24] KRZANOWSKI J, MADZIO J, PASTORCZAK A, TRACZ A, BRAUN M, ET AL. Selected miRNA levels are associated with IKZF1 microdeletions in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Oncol Lett.* 2017; 14(3): 3853-3861.
- [25] LI X, SANDA T, LOOK T, NOVINA CD, VON BOEHMER H. Re-expression of tumor suppressor miR-451 is essential for NOTCH1-induced oncogenesis in T-ALL. *J. Exp. Med.* 2011; 208: 663-675.
- [26] LIANG YN, TANG YL, KE ZY, CHEN YQ, LUO XQ, ZHANG H, HUANG LB. MiR-124 contributes to glucocorticoid resistance in acute lymphoblastic leukemia by promoting proliferation, inhibiting apoptosis and targeting the glucocorticoid receptor. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2017; 172: 62-68.
- [27] LV M, ZHANG X, JIA H, LI D, ZHANG B, ET AL. An oncogenic role of miR-142-3p in human T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) by targeting glucocorticoid receptor- α and cAMP/PKA pathways. *Leukemia* 2012; 26(4):769-77.
- [28] MAVRAKIS KJ, VAN DER MEULEN J, WOLFE AL, LIU X, METS E, ET AL. A cooperative microRNA-tumor suppressor gene network in acute T-cell lymphoblastic leukemia (T-ALL). *Nat. Genet.* 2011; 43: 673-678.
- [29] MCKAY LI, CIDLOWSKI JA. Corticosteroids in the Treatment of Neoplasms. In: Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, et al., editors. *Holland-Frei Cancer Medicine*. 6th edition. Hamilton (ON): BC Decker 2003. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK13383/>.

- [30] MITCHELL PS, PARKIN RK, KROH EM, FRITZ BR, WYMAN SK, ET AL. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2008; 105: 10513-10518.
- [31] MOSAKHANI N, MISSIRY ME, VAKKILA E, KNUUTILA S, VAKKILA J. Low Expression of miR-18a as a Characteristic of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology* 2017; 39(8): 585-588.
- [32] NABHAN M, LOUKA ML, KHAIRY E, TASH F, ALI-LABIB R, EL-HABASHY S. MicroRNA-181a and its target Smad 7 as potential biomarkers for tracking child acute lymphoblastic leukemia. *Gene* 2017; 628: 253-258.
- [33] NEMES K, CSÓKA M, NAGY N, MÁRK Á, VÁRADI Z, ET AL. Expression of certain leukemia/lymphoma related microRNAs and its correlation with prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pathol Oncol Res.* 2015; 21(3): 597-604.
- [34] OHYASHIKI JH, UMEZU T, KOBAYASHI C, HAMAMURA RS, TANAKA M, KURODA M, OHYASHIKI K. Impact on cell to plasma ratio of miR-92a in patients with acute leukemia: in vivo assessment of cell to plasma ratio of miR-92a. *BMC Res Notes* 2010; 3: 347.
- [35] ORGANISTA-NAVA J, GÓMEZ-GÓMEZ Y, ILLADES-AGUIAR B, DEL CARMEN ALARCÓN-ROMERO L, SAAVEDRA-HERRERA MV, ET AL. High miR-24 expression is associated with risk of relapse and poor survival in acute leukemia. *Oncol Rep.* 2015; 33(4): 1639-49.
- [36] PETERS JM, ANSARI MQ, ARCH PATHOL. Multiparameter flow cytometry in the diagnosis and management of acute leukemia. *Lab Med* 2011; 135(1): 44-54.
- [37] QIN L, DENG HY, CHEN SJ, WEI W, ZHANG YT. miR-139 acts as a tumor suppressor in T-cell acute lymphoblastic leukemia by targeting CX chemokine receptor 4. *Am J Transl Res.* 2017; 9(9): 4059-4070.
- [38] RAINER J, PLONER C, JESACHER S, PLONER A, EDUARDOFF M, ET AL. Glucocorticoid-regulated microRNAs and mirtrons in acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2009; 23: 746-752.
- [39] SCHOTTE D, CHAU JCK, SYLVESTER G, LIU G, CHEN C, ET AL. Identification of new microRNA genes and aberrant microRNA profiles in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2009; 23(2): 313-322.
- [40] SCHWARTZMAN RA, CIDLOWSKI JA. Glucocorticoid-induced apoptosis of lymphoid cells. *Int Arch Allergy Immunol* 1994; 105: 347-54.
- [41] SHAH A, COLEMAN MP. Increasing incidence of childhood leukaemia: a controversy re-examined. *Br J Cancer* 2007; 97: 1009-12.
- [42] SHIVAROV V, STOIMENOV A, SPASSOV B, ANGELOVA S, NIAGOLOV M, IVANOVA M. Patient-specific microRNA expression profiles as a marker for minimal residual disease in acute myeloid leukemia. *Hematology* 2014; 19(1): 18-2.
- [43] SMITH LK, TANDON A, SHAH RR, MAV D, SCOLTOCK AB, CIDLOWSKI JA, WANG Z. Deep Sequencing Identification of Novel Glucocorticoid-Responsive miRNAs in Apoptotic Primary Lymphocytes. *PLoS One* 2013; 8(10): e78316.
- [44] STAHN C, LÖWENBERG M, HOMMES DW, BUTTGEREIT F. Molecular mechanisms of glucocorticoid action and selective glucocorticoid receptor agonists. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2007; 275: 71-78.
- [45] SWELLAM M, EL-KHAZRAGY N. Clinical impact of circulating microRNAs as blood-based marker in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Tumor Biology* 2016; 37(8): 10571-10576.
- [46] VIKRAMJIT S KANWAR. Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Medscape*. September 5, 2017; <http://emedicine.medscape.com/article/990113-overview>.
- [47] WALLAERT A, VAN LOOKE W, HERNANDEZ L, TAGHON T, SPELEMAN F, VAN VLIERBERGHECORRESPONDING P. Comprehensive miRNA expression profiling in human T-cell acute lymphoblastic leukemia by small RNA-sequencing. *Sci Rep.* 2017; 7: 7901.
- [48] WIGHTMAN B, HA I, RUVKUN G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene lin-14 by lin-4 mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell.* 1993; 75(5): 855-62.

- [49] XU L, LIANG YN, LUO XQ, LIU XD, GUO HX, ET AL. Association of miRNAs expression profiles with prognosis and relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi* 2011; 32(3): 178-81.
- [50] YANG A, MA J, WU M, QIN W, ZHAO B, SHI Y, JIN Y, XIE Y. Aberrant microRNA-182 expression is associated with glucocorticoid resistance in lymphoblastic malignancies. *Leuk Lymphoma* 2012; 53(12): 2465-73.
- [51] ZANETTE DL, RIVADAVIA F, MOLFETTA GA, BARBUZANO FG, PROTO-SIQUEIRA R, ET AL. miRNA expression profiles in chronic lymphocytic and acute lymphocytic leukemia. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2007; 40: 1435-1440.
- [52] ZHANG H, LUO X-Q, ZHANG P, HUANG L-B, ZHENG Y-S, ET AL. MicroRNA Patterns Associated with Clinical Prognostic Parameters and CNS Relapse Prediction in Pediatric Acute Leukemia. *PLoS ONE* 2009; 4(11): e7826.

Redaktor prowadzący – Michał Nowicki

Otrzymano: 10.12.17

Przyjęto: 30.12.17

Aneta Nowicka

ul. Kochanowskiego 8/9, 78-550 Czaplinek

tel.: 794589127

e-mail: Aneta1123@autograf.pl

