

TLR4 ve NOD2 Polimorfizmlerinin Çocukluk Çağı Akut Lenfoblastik Lösemi ile İlişkisi

Association of the TLR4 and NOD2 Polymorphisms with Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia

Bahadır BATAR¹ , Tuba MUTLU¹ , Nihal ÖZDEMİR² , Tiraje CELKAN² , Mehmet GÜVEN¹ 

¹İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Onkoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZ

Amaç: İmmün aktivasyon kansere karşı immün cevapta kritik bir rol oynamaktadır. Akut lenfoblastik lösemi (ALL) gelişimi ile ilişkili çeşitli genetik faktörler iyi tanımlanmasına rağmen, immünojenik genlerin ALL patogenezindeki rolü tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Toll-like receptor (TLR) ve nucleotide binding oligomerization domain containing protein 2 (NOD2) reseptörleri immün cevabın başlamasında merkezi rol oynarlar. Biz çalışmamızda TLR4 Asp299Gly, TLR4 Thr399Ile, NOD2 Arg702Trp, NOD2 Gly908Arg ve NOD2 Leu1007fsinsC polimorfizmleri ile çocukluk çağı ALL riski arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Yöntemler: TLR4 ve NOD2 polimorfizmlerine ait genotip dağılımları çocukluk çağı 102 ALL hastasında ve benzer yaş ve cinsiyette 110 sağlıklı bireyde Real-time polimeraz zincir reaksiyonu (Real-time PZR) yöntemi kullanılarak belirlendi.

Bulgular: TLR4 Asp299Gly, TLR4 Thr399Ile, NOD2 Arg702Trp, NOD2 Gly908Arg ve NOD2 Leu1007fsinsC polimorfizmleri için çalışma gruplarının genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptamadık ($p>0,05$). Fakat, C-G haplotipi (rs2066844-rs2066845) ve ALL riski arasında negatif yönde sınırdan anlamlılık bulduk ($p=0,055$).

Sonuç: Bu çalışma sonuçları TLR4 ve NOD2 polimorfizmlerinin ALL riski ile ilişkili olmadığını göstermektedir. Bu sonuçların daha büyük sayıdaki vaka-kontrol çalışmaları ile doğrulanması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Çocukluk çağı ALL, NOD2, polimorfizm, TLR4

ABSTRACT

Objective: Immune activation plays a critical role in the immune response against cancer. Although several genetic factors are established with regard to the development of acute lymphoblastic leukemia (ALL), the role of immunogenic genes in ALL pathogenesis remains elusive. Toll-like receptor (TLR) and nucleotide-binding oligomerization domain containing protein 2 (NOD2) receptors are essential in immune response. The aim of the study was to investigate the association between TLR4 Asp299Gly, TLR4 Thr399Ile, NOD2 Arg702Trp, NOD2 Gly908Arg, and NOD2 Leu1007fsinsC polymorphisms and the risk of childhood ALL.

Methods: Genotype distributions of TLR and NOD2 polymorphisms were determined by real-time polymerase chain reaction in 102 ALL patients and 110 sex- and age-matched healthy individuals.

Results: We found no significant differences between the ALL and control groups in terms of TLR4 Asp299Gly, TLR4 Thr399Ile, NOD2 Arg702Trp, NOD2 Gly908Arg, and NOD2 Leu1007fsinsC polymorphisms ($p>0,05$). However, we found markedly negative correlation between the C-G haplotype (rs2066844-rs2066845) and the risk of ALL ($p=0,055$).

Conclusion: The results showed that the TLR and NOD2 polymorphisms were not associated with the risk of ALL. However, these results need to be confirmed by further, larger case-control studies.

Keywords: Childhood ALL, NOD2, polymorphism, TLR4

Giriş

Ülkemizde kanser sıklığı 0-19 yaş arası çocuklarda yüz binde 4-5 arasında değişmektedir (1). Çocukluk çağında ortaya çıkan kanserler, tipleri, prognozları ve yaşam süreleriyle yetişkin tip kanserlerden ayrılırlar. Epitelyal kanserler yetişkinlerde daha sık görülürken, akut lösemiler çocuklarda daha sık görülür (2). Lösemi, öncü lenfoid ve miyeloid hücrelerin kontrolsüz çoğalması sonucu ortaya çıkan bir hastalıktır. Çocukluk çağı akut lösemileri en sık rastlanılan maligniteler olup çocukluk çağı malign hastalıklarının %25-30'unu oluştururlar (3).

Akut lenfoblastik lösemi (ALL) en yaygın pediatrik kanser tipi olup, çocuklarda hastalık ilişkili ölümlerin başlıca nedenidir (4). Genetik yatkınlık, yaş, cinsiyet, ırk, belli kimyasallara ve radyasyona maruziyet ALL ile ilişkili olası risk faktörlerdir (5).

Cite this article as: Batar B, Mutlu T, Özdemir N, Celkan T, Güven M. Association of the TLR4 and NOD2 Polymorphisms with Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Bezmalem Science* 2018; 6: 119-25.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Bahadır BATAR, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye E-mail: bahadirbatar@gmail.com

©Telif Hakkı 2018 Bezmalem Vakıf Üniversitesi - Makale metnine www.bezmalemscience.org web sayfasından ulaşılabilir.
©Copyright 2018 by Bezmalem Vakıf University - Available online at www.bezmalemscience.org

Geliş Tarihi / Received : 16.01.2017
Kabul Tarihi / Accepted: 17.04.2017

Anöploidi, kromozomal yeniden düzenlemeler ve nokta mutasyonları gibi çeşitli somatik genetik değişiklikler, çocukluk çağı ALL'de gözlemlenen genetik bozukluklardır (6). Bu genetik değişiklikler kan hücrelerinin normal çoğalma kontrolünü, farklılaşmalarını bozarak, ölüm sinyallerine dirençlerini arttırarak lösemi gelişimine neden olurlar (7). Genetik bozuklukların ALL patogenezi ile ilişkisi iyi bilinmesine rağmen, ALL gelişiminde rol oynayan moleküler mekanizmalar henüz tam olarak açığa kavuşmamıştır.

İmmün sistem ile ilişkili hücrelerin reseptörlerdeki ekspresyon veya sinyalizasyon bozuklukları, azalmış immün cevaba ve artmış enflamasyonlara yol açarak karsinogenez, hematopoietik malignite de dahil olmak üzere, ile ilişkili süreçleri başlatabilir (8, 9). Hematolojik malignitelerin patogenezi ile kronik inflamasyon, immün yetmezlik, otoimmünite ve enfeksiyonlar arasındaki ilişkiler iyi bilinmektedir (5). Bununla beraber, immünojenik genlerin ALL gelişimindeki rolü ile ilişkili veriler yetersizdir.

İmmün yanıt, immün sistem hücrelerinin PRR (Patojen-Tanıyıcı Reseptörler) olarak adlandırılan transmembran veya intrasitoplazmik reseptörlerinin patojenlerin PAMP (Patojen-ilişkili Moleküler Patern) ile etkileşmesine bağlı olarak başlar. Bu etkileşim enflamatuvar ve immün cevapları modüle eder (10). PAMP'lar ile PRR'lerin etkileşimi, immün yanıtı başlatıcı hücrelerin aktivasyonuna yol açar ve adaptiv immün yanıtın kontrolü ile ilgili araçların yapımı gerçekleşir (11, 12).

PRR'lerin en önemli tipleri, Toll-benzeri reseptörler (TLR) ile nükleotid bağlayan oligomerizasyon domain içeren protein 2 (NOD2) reseptörleridir. İnsanlarda toplam 10 farklı tip TLR eksprese edilir. TLR'ler hematopoietik kök ve öncül hücrelerde yaygın olarak eksprese edilmektedir (9). En fazla çalışılan TLR'lerden biri TLR4'dür. TLR4 geninde birçok polimorfizm tanımlanmıştır. Bu polimorfizmlerden Asp299Gly (rs4986790) ve Thr399Ile (rs4986791) en fazla çalışılan ve hastalıklarla ilişkisi tespit edilen iki polimorfizmdir (13).

NOD2 proteinleri ise hücre içi patojenlerin reseptörleri olarak fonksiyon görmelerinin yanında NFκB'nin aktivasyonunun regülasyonu üzerinden nonspesifik immün yanıtı katılırlar (14, 15). NOD2 proteini, caspase recruitment domain-containing protein 15 (CARD15) olarakta isimlendirilir. NOD2/CARD15 geni içinde üç yaygın varyasyon tespit edilmiştir İki amino asit değişimine yol açarken [Ekzon 4'te Arg702Trp (rs2066844) ve Ekzon 8'de Gly908Arg (rs2066845)], diğeri ise ekzon 11'de bir sitozin nükleotidinin girmesiyle oluşan insersiyon [1007fsinsC (rs2066847)] polimorfizmdir (16).

Gerek TLR4 ve NOD2'nin immün yanıtın başlatılmasında etkili rol oynamaları, gerekse de immün yanıtın lösemi gelişimindeki olası etkisi göz önünde bulundurulduğunda, TLR4 ve NOD2'deki polimorfizmlerin ALL gelişiminde önemli faktörler arasında olabileceğini göstermektedir. Bu nedenlerden dolayı çalışmamızın amacı, bu polimorfizmlerin ALL riski ile ilişkisini araştırmaktır.

Yöntemler

Hasta ve kontrol grubunun oluşturulması

Çalışma grubu ALL tanısı almış 102 hastadan ve aynı dönemde rastgele seçilmiş daha önce kanser hikayesi olmayan 110 sağlıklı çocuktan oluşturuldu. ALL tanısı konvansiyonel sitokimyasal ve yüzey markür analizleri sonrasında French-British-American (FBA) sınıflaması yapılarak konuldu. Hasta ve kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından anlamlı bir fark olmamasına dikkat edildi ($p>0,05$). ALL grubu 60 erkek ve 42 kızdan (yaş; $5,8\pm 3,9$ yıl), kontrol grubu ise 59 erkek ve 51 kızdan (yaş; $7,2\pm 4,8$ yıl) oluşturuldu.

Çalışmaya dahil edilen her bir çocuktan ve/veya ailesinden çalışma ile ilgili olarak bilgilendirilmiş olur alındı. Araştırma çalışmamız için yerel etik komite onayı alındı.

Genotipleme çalışması için deneklerden toplam 2 mL EDTA'lı kan alındı. Genomik DNA, kit kullanılarak ve üretici firmasının önerileri doğrultusunda izole edildi (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany).

TLR4 Asp299Gly ve Thr399Ile genotiplemesi

TLR4 genotiplemesi, Asp299Gly ve Thr399Ile varyantları için Lightcycler (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) spesifik hibridizasyon problemleri kullanılarak tanımlandı (17). PCR reaksiyonu ve melting curve 20 µL'lik bir son hacimde LightCycler kapillerlerde (Roche Diagnostics) gerçekleştirildi. PCR reaksiyonuna 50-100 ng genomik DNA, her bir primerden 0,5 µM, her bir hibridizasyon probundan 0,1 µM, 2 µL LightCycler DNA Master hibridizasyon Prob (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany) ve 3 mM MgCl₂ eklendi.

TLR4 primerleri: 5'-GTTTAGAAGTCCATCGTTTG-3' (forward) 5'-TAAGCCCAAGAAGTTTGAA-3' (reverse)

Asp299Gly için hibridizasyon probu: CTACCTCGATGATATTATTGACTT-fluorescein LC Red640-AATTGTTTGACAAATGTTTCTTCATTTTCC

Thr399Ile için hibridizasyon probu: CTTGAGTTTCAAAGGTTGCTGTTCTCAAAG-fluorescein LC Red705-ATTTTGGGACAACCAGCCTAAAGTAT

NOD2 Arg702Trp, Gly908Arg ve Leu1007fsinsC genotiplemesi

NOD2/ CARD15 genotiplemesi, Arg702Trp, Gly908Arg ve Leu1007fsinsC varyantları için Lightcycler (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) spesifik hibridizasyon problemleri kullanılarak tanımlandı (18). PCR reaksiyonu ve melting curve 20 µL'lik bir son hacimde LightCycler kapillerlerde (Roche Diagnostics) gerçekleştirildi. PCR reaksiyonuna 50-100 ng genomik DNA, her bir primerden 0,5 µM, her bir hibridizasyon probundan 0,1 µM, 2 µL LightCycler DNA Master hibridizasyon Prob (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany) ve 3 mM MgCl₂ eklendi.

Arg702Trp primer: Forward: AGCCGCACAACCTTCA-GATCAC Reverse: GCGGGCACAGGCCTGGC

Prob: Anchor: Cy5.5-
GTCTGGCACTCAGCCAGCAGGCCCC-Pho Sensor:
GCGCCAGAGCAGGGCCTTCTCA-Fluorescein

Gly908Arg primer: Forward: ACACATATCAGGTACT-CACTGACACT Reverse: TTACCTGAGCCACCTCAAGC

Prob: Anchor: Cy5.5-
CTGAAAAGGCCAAAAGAGTCAACAGAC-Pho Sensor:
CCACTCTGTTGCGCCAGAA-Fluorescein

Leu1007fsinsC primer: Forward:
TCTTCTTTTCCAGGTTGTCCAA Reverse: TGAGGTT-
CGGAGAGCTAAAACAG

Prob: Anchor: Cy5.5-
CCATCCTGGAAGTCTGGTAAGGCC-Pho Sensor:
AGGCCCTTGAAAGGAATGAC-Fluorescein

İstatistiksel analiz

Çalışmada elde edilen sayısal değişkenler ortalama \pm standart sapma, kategorik değişkenler ise sayısal değer ve yüzde ile ifade edildi. Gruplar arasındaki yaş farkının istatistiksel analizi Student t testi ile yapıldı. Kategorik değişkenler arasındaki farklılık

Tablo 1. ALL ve kontrol gruplarında TLR4 ve NOD2 genotip dağılımları

Genotip/Allel	ALL n (%)	Kontrol n (%)	P	OR (%95 CI)
TLR4 299				
Asp/Asp	96 (94)	103 (94)	Ref.	
Asp/Gly	6 (6)	7 (6)	0,88	1,08 (0,31-3,80)
Gly/Gly	0 (0)	0 (0)		
Asp allel sıklığı	0,97	0,96		
Gly allel sıklığı	0,03	0,04	0,50	
TLR4 399				
Thr/Thr	94 (92)	102 (93)	Ref.	
Thr/Ile	8 (8)	8 (7)	0,92	0,92 (0,30-2,83)
Ile/Ile	0	0		
Thr allel sıklığı	0,96	0,96		
Ile allel sıklığı	0,04	0,04	0,50	
NOD2 Arg702Trp				
Arg/Arg	99 (97)	110 (100)	Ref.	
Arg/Trp	3 (3)	0	0,11	
Trp/Trp	0	0		
Arg allel sıklığı	0,99	1,00		
Trp allel sıklığı	0,01	0,00	0,50	
NOD2 Gly908Arg				
Gly/Gly	102 (100)	110 (100)	Ref.	
Gly/Arg	0	0	0,48	
Arg/Arg	0	0		
Gly allel sıklığı	1,00	1,00		
Arg allel sıklığı	0,00	0,00	0,50	
NOD2 Lue1007fsinsC				
Leu/Leu	102 (100)	108 (98)	Ref.	
Leu/fsinsC	0	2 (2)	0,27	
fsinsC/fsinsC	0	0		
Leu allel sıklığı	1,00	0,99		
fsinsC allel sıklığı	0,00	0,01	0,50	

Ref: referans; OR: olasılık oranı; CI: güven aralığı

Tablo 2. ALL hastalarında TLR4 ve NOD2 genotip dağılımlarına göre klinik özellikler

Genotip	>10 gün FN			Ağır mukozit			Ağır enfeksiyon		
	+	-	p	+	-	p	+	-	p
TLR4 299									
Asp/Asp	10	86	Ref.	6	90	Ref.	13	83	Ref.
Asp/Gly + Gly/Gly	0	6	1,00	0	6	1,00	2	4	0,21
TLR4 399									
Thr/Thr	10	84	Ref.	6	88	Ref.	15	79	Ref.
Thr/Ile + Ile/Ile	0	8	0,59	0	8	1,00	0	8	0,60
NOD2 Arg702Trp									
Arg/Arg	10	89	Ref.	6	93	Ref.	15	84	Ref.
Arg/Trp + Trp/Trp	0	3	1,00	0	3	1,00	0	3	1,00
NOD2 Gly908Arg									
Gly/Gly	10	92	Ref.	6	96	Ref.	15	87	Ref.
Gly/Arg + Arg/Arg	0	0	1,00	0	0	1,00	0	0	1,00
NOD2 Lue1007fsinsC									
Leu/Leu	10	92	Ref.	6	96	Ref.	15	87	Ref.
Leu/fsinsC + fsinsC/fsinsC	0	0	1,00	0	0	1,00	0	0	1,00

Ref: referans; FN: febril nötropeni

Tablo 3. ALL ve kontrol gruplarında rs2066844, rs2066845 rs4986790 ve rs4986791 polimorfizmlerine ait haplotip sıklıkları

Haplotip	Sıklık	Vaka: Kontrol oranları	Ki-kare	P
Blok 1				
rs2066844-rs2066845				
C-G	0,99	0,98:1,00	3,685	0,055
Blok 2				
rs4986790-rs4986791				
A-C	0,962	0,966:0,957	0,199	0,656
G-T	0,031	0,029:0,032	0,026	0,871

Pearson's ki-kare testi ve Fisher's exact test ile değerlendirildi. Çalışmadaki istatistiksel analizler için SPSS (IBM Statistical Package for Social Sciences; Armonk, NY, ABD) windows 20 programı kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık p<0,05 düzeyinde değerlendirildi. TLR4 ve NOD2 polimorfizmleri için haplotip sıklığı analizi ve bağlantı eşitsizliği Haploview 4.2 programı kullanılarak gerçekleştirildi.

Bulgular

Hasta ve kontrol gruplarında TLR4 ve NOD2 polimorfizmlerine ait genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg eşitliğinde olduğu gözlemlendi (p>0,05). TLR4 Asp299Gly/Thr399Ile ve NOD2 Arg702Trp/Gly908Arg/Leu1007fsinsC polimorfizmlerine göre ALL ve kontrol grupları arasında genotip dağılımı açısından herhangi bir anlamlı fark tespit edilmedi (p>0,05) (Tablo 1). Ayrıca, TLR4 ve NOD2 polimorfizmlerine ait genotip dağılımları ile ALL hastalarındaki klinik bulgular (>10

gün febril nötropeni, ağır mukozit ve ağır enfeksiyon) arasında herhangi bir anlamlı ilişki saptamadık (Tablo 2).

Tablo 3 ALL hastalarında ve sağlıklı kontrollerde TLR4 ve NOD2 polimorfizmlerine ait haplotip sıklıklarını göstermektedir. Blok 1'deki C-G haplotipi (rs2066844-rs2066845) ve ALL riski arasında negatif yönde sınırda anlamlılık saptandı (p=0,055) (Tablo 3). Blok 2'deki A-C ve G-T haplotipleri (rs4986790-rs4986791) ile ALL arasında ise herhangi bir anlamlı fark saptanmadı (p=0,656 ve p=0,871, sırasıyla) (Tablo 3). Ayrıca, rs4986790-rs4986791 hemen hemen tam bir bağlantı eşitsizliğindeydi (D'=1,0 ve r²=0,79).

Tartışma

Normal hematopoietik hücrelerin farklılaşması TLR'lerin uyarılması ile bağlantılıdır. Özellikle, normal hematopoietik hücrelerde TLR2 veya TLR4 sinyalizasyonu hematopoietik kök hücre farklılaşmasını düzenler. TLR aktivasyonu immün

sistemi düzenleyici özelliklerinden bağımsız olarak anti-lösemi etkilere sahiptir (19). TLR'lerin immün yanıtındaki rolleri kanser tedavisi için halen araştırılmaktadır. Bununla birlikte, immünmodulasyon yoluyla, sitotoksik T hücre yanıtlarının aktivasyonu gibi, anti-kanser etkileri ilerletmek için çeşitli TLR agonistleri geliştirilmektedir (20-22). Ayrıca, lipopolisakkarit (LPS) gibi bakteriyel ürünler üzerinden TLR aktivasyonuna bağlı sitokin uyarımının antitümör etkileri ilerlettiği gösterilmiştir (22).

Kronik enfeksiyonlar ile bazı lösemi ve lenfoma tiplerinin gelişimi arasında güçlü bir ilişki vardır (23). İlginç bir şekilde, çeşitli hematolojik maligniteler için enfeksiyon ve immünojenik reseptör ekspresyon paternleri arasında bir ilişkinin olduğu bildirilmiştir, fakat ekspresyon paternleri çeşitlidir ve her bir hematolojik malignite için henüz tam olarak bilinmemektedir (23). Bu reseptör aktivasyonları hematolojik kanser alttiplerindeki spesifik bozukluklardan dolayı farklı mekanizmaları uyararak yada tümör mikroçevresindeki değişikliklere göre farklı etkilere yol açarlar (23). Bu bilgiler ışığında, enfeksiyöz ajanlar ve immün cevap arasındaki etkileşime başlıca aracılık eden TLR4 ve NOD2 reseptörlerinin hematolojik malign transformasyonda önemli rol oynaması muhtemel olduğu düşünülebilir.

Önceki çalışmaların büyük çoğunluğunda multipl miyeloma ve kronik lenfositik lösemi üzerine odaklanılmıştır, fakat son yıllarda TLR'lerin akut lösemiler üzerine olası rolü ilgi çekmektedir. Çeşitli TLR geni varyantlarının enflamatuar hastalıkların yanı sıra kansere yatkınlık ile de ilişkili olabildiği bildirilmiştir (24-27). Biz çalışmamızda, *TLR4 Asp299Gly* (rs4986790) ve *TLR4 Thr399Ile* (rs4986791) polimorfizmleri ile çocukluk çağı ALL riski arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık. Çalışma sonuçlarımız, bu polimorfizmler ile ALL riski arasında herhangi bir anlamlı ilişki olmadığını göstermektedir ($p>0,05$). *TLR4* gen polimorfizmleri ile çeşitli hematolojik kanserler arasındaki ilişkiyi inceleyen sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bizim bulgularımız ile uyumlu olarak *TLR4* polimorfizmlerine ait allel sıklıklarının ve genotip dağılımlarının akut lösemi hastaları ve sağlıklı kontroller arasında anlamlı farklılıklar göstermediği saptanmıştır (28). Diğer bir çalışmada, Nieters ve ark. (29) *TLR4 Asp299Gly* varyantının mukoza ilişkili lenfoid doku (MALT) lenfoma (OR=2,76; %95 CI=1,12-6,81) ve Hodgkin's lenfoma (OR=1,80; %95 CI=0,99-3,26) riski ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, bu araştırma grubu *TLR4 299G* alleli sıklığının MALT lenfoma (%13), T-hücreli non-Hodgkin's lenfoma (NHL) (%9,1) ve Hodgkin's lenfoma vakalarında (%9) kontrollere (%5,3) göre daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (29). Bu bulgulara ek olarak, *TLR2 -16933T>A* varyantının (A alleli) 2,8 kat artmış foliküler lenfoma riski ($p=0,003$) ve azalmış kronik lenfositik lösemi riski ($p=0,03$; OR=0,61, %95 CI=0,38-0,95) ile ilişkili olduğu saptanmıştır (29). Lenfoma alttiplerinde aynı varyant için gözlenen bu çelişkili sonuçlar lenfoma alttiplerinin moleküler patogeneziindeki ve etyolojisiindeki farklılıklardan kaynaklanabilir (30).

Çocukluk çağı kanserlerinde kemoterapiye ikincil gelişen nöroropeniye bağlı enfeksiyonlar önemli onkolojik acillerdir (31, 32). Enfeksiyon ajanlarına immün cevapta TLR'nin önemi iyi bilinmektedir, bundan dolayı çeşitli çalışmalarda TLR4 reseptör gen polimorfizmlerinin hematolojik kanserlerde nöroropeni enfeksiyonlar riski üzerine olan etkileri de araştırılmıştır. Bizim önceki çalışma sonuçlarımız, *TLR4 Asp299Gly* ve *TLR4 Thr399Ile* polimorfizmlerinin Burkitt lenfoma (BL) hastalarında febril nötropeni (FN) gelişimi ile anlamlı derecede ilişkili olmadığını ortaya koymaktadır (33). Bizim bulgularımızdan farklı olarak, Pehlivan ve ark. (28) akut lösemi hastalarında *TLR4* polimorfizmlerinin FN'nin genetik etyopatogeneziinde rol oynayabileceğini saptamışlardır.

NOD2 polimorfizmleri fonksiyonel olarak iyi karakterize edilmiş immün sistem ile ilişkili gen polimorfizmleridir. NOD2 reseptör gen polimorfizmleri çeşitli kanser tiplerinde risk artışında önemli rol oynayabilir. NOD2 polimorfizmlerinin kanser ile olası ilişkisi bu reseptörlerin immün cevap yeteneğindeki değişikliklere dayanmaktadır (34). NOD2 polimorfizmleri ile hematolojik kanserler arasındaki ilişkilerin incelendiği çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bizim bulgularımız NOD2 polimorfizmlerinin ALL riski ile anlamlı düzeyde ilişkili olmadığını göstermektedir. NOD2 polimorfizmlerinin non-Hodgkin's lenfoma riski üzerine etkisinin araştırıldığı iki farklı çalışmada, NOD2 Lue1007fsnsC (rs2066847) varyant homozigot genotip ile non-Hodgkin's lenfoma riski arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır (35, 36). Diğer bir çalışmada, Rosenstiel ve ark. (37) NOD2 rs2066844 polimorfizmi T alleli taşıyıcılarının MALT lenfoma riskine sahip olduklarını bulmuşlardır. Ancak, farklı bir çalışma bu polimorfizm ile MALT lenfoma riski arasındaki ilişkiyi doğrulamamıştır (38). Sonuçlardaki bu tutarsızlıklar etnik farklılıklardan, çevresel faktörlerden ve örneklem büyüklüğünden kaynaklanabilir.

Sonuç

Çalışmamızda TLR ve NOD2 polimorfizmlerinin çocukluk çağı ALL ile ilişkili olmadığını saptadık. C-G haplotipi (rs2066844-rs2066845) ve ALL riski arasında negatif yönde sınırdan anlamlılık bulduk. Bu araştırmadaki örnek sayısının az olması çalışmanın sınırlayıcı faktörü olduğundan dolayı, daha büyük vaka-kontrol gruplarında yapılacak çalışmalar ile bu veriler doğrulanmalıdır.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nden (Tarih: 20.07.2009, Sayı: 22493) alınmıştır.

Hasta Onamı: Yazılı hasta onamı bu çalışmaya katılan hastalardan ve hastaların ailelerinden alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir – B.B., T.C., M.G.; Tasarım – B.B., T.C., M.G.; Denetleme – B.B., N.Ö., T.C., M.G.; Malzemeler – N.Ö., T.C.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi – B.B., T.M., N.Ö.; Analiz

ve/veya Yorum – B.B., T.M., T.C., N.Ö., M.G.; Literatür Taraması – B.B., T.M., N.Ö., T.C., M.G.; Yazıyı Yazan – B.B., M.G.; Eleştirel İnceleme – N.Ö., T.C., M.G.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was received for this study from the ethics committee of İstanbul University Cerrahpaşa School of Medicine (Date: 20.07.2009, No: 22493).

Informed Consent: Written informed consent was obtained from patients and patients' parents who participated in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept – B.B., T.C., M.G.; Design – B.B., T.C., M.G.; Supervision – B.B., N.Ö., T.C., M.G.; Materials – N.Ö., T.C.; Data Collection and/or Processing – B.B., T.M., N.Ö.; Analysis and/or Interpretation – B.B., T.M., T.C., N.Ö., M.G.; Literature Search – B.B., T.M., N.Ö., T.C., M.G.; Writing Manuscript – B.B., M.G.; Critical Review – N.Ö., T.C., M.G.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

Kaynaklar

1. Kutluk T. Çocukluk çağı kanserlerinin epidemiyolojisi. *Klinik Gelişim* 2007; 20: 5-12.
2. Çavdar AO. Çocukluk çağı kanserleri. Erişim Linki: <http://www.tuba.gov.tr>
3. Yıldız İ. Çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemileri. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2009; 5: 9-16.
4. Ouimet M, Drouin S, Lajoie M, Caron M, St-Onge P, Gioia R, et al. A childhood acute lymphoblastic leukemia-specific lncRNA implicated in prednisolone resistance, cell proliferation, and migration. *Oncotarget* 2017; 8: 7477-88. [CrossRef]
5. Bizjak M, Selmi C, Praprotnik S, Bruck O, Perricone C, Ehrenfeld M et al. Silicone implants and lymphoma: The role of inflammation. *J Autoimmun* 2015; 65: 64-73. [CrossRef]
6. Hunger SP, Mullighan CG. Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. *N Engl J Med* 2015; 373: 1541-52. [CrossRef]
7. Pui CH, Relling MV, Downing JR. Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2004; 350: 1535-48. [CrossRef]
8. Nguyen AH, Berim IG, Agrawal DK. Chronic inflammation and cancer: emerging roles of triggering receptors expressed on myeloid cells. *Expert Rev Clin Immunol* 2015; 11: 849-57. [CrossRef]
9. Monlisch DA, Bhatt ST, Schuettelpelz LG. The Role of Toll-Like Receptors in Hematopoietic Malignancies. *Front Immunol* 2016; 7: 390. [CrossRef]
10. Akira S, Hemmi H. Recognition of pathogen associated molecular patterns by TLR family. *Immunol Lett* 2003; 85: 85-95. [CrossRef]
11. Gordon S. Pattern recognition receptors: doubling up for the innate immune response. *Cell* 2002; 111: 927-30. [CrossRef]
12. Brown GD, Gordon S. Fungal beta-glucans and mammalian immunity. *Immunity* 2003; 19: 311-5. [CrossRef]
13. Ferwerda B, McCall MB, Verheijen K, Kullberg BJ, van der Ven AJ, Van der Meer JW, et al. Functional consequences of toll-like receptor 4 polymorphisms. *Mol Med* 2008; 14: 346-52. [CrossRef]
14. Franchi L, Park JH, Shaw MH, Marina-Garcia N, Chen G, Kim YG, et al. Intracellular NOD-like receptors in innate immunity, infection and disease. *Cell Microbiol* 2008; 10: 1-8.
15. Philpott DJ, Yamaoka S, Israël A, Sansonetti PJ. Invasive *Shigella flexneri* activates NF-kappa B through a lipopolysaccharide-dependent innate intracellular response and leads to IL-8 expression in epithelial cells. *J Immunol* 2000; 165: 903-14. [CrossRef]
16. Kobayashi KS, Chamaillard M, Ogura Y, Henegariu O, Inohara N, Nunez G et al. Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. *Science* 2005; 307: 731-4. [CrossRef]
17. Wittwer CT, Ririe KM, Andrew RV, David DA, Gundry RA, Balis UJ. The LightCycler: a microvolume multisample fluorimeter with rapid temperature control. *BioTechniques* 1997; 22: 176-81.
18. Rodrigo L, Martínez-Borra J, Garrote JA, Niño P, León AJ, Riestra V, et al. CARD15 mutations are poorly related to Crohn's disease phenotypes in Asturias. *Rev Esp Enferm Dig* 2007; 99: 570-7.
19. Ignatz-Hoover JJ, Wang H, Moreton SA, Chakrabarti A, Agarwal MK, Sun K, et al. The role of TLR8 signaling in acute myeloid leukemia differentiation. *Leukemia* 2015; 29: 918-26. [CrossRef]
20. Hennessy EJ, Parker AE, O'Neill LAJ. Targeting Toll-like receptors: emerging therapeutics? *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9: 293-307. [CrossRef]
21. Oberg HH JM, Kabelitz D, Wesch D. Regulation of T cell activation by TLR ligands. *Eur J Cell Biol* 2011; 90: 582-92. [CrossRef]
22. Wei MQ, Mengesha A, Good D, Anné J. Bacterial targeted tumour therapy-dawn of a new era. *Cancer Lett* 2008; 259: 16-27. [CrossRef]
23. Isaza-Correa JM, Liang Z, van den Berg A, Diepstra A, Visser L. Toll-like receptors in the pathogenesis of human B cell malignancies. *J Hematol Oncol* 2014; 7: 57. [CrossRef]
24. Ahmad-Nejad P, Mrabet-Dahbi S, Breuer K, Klotz M, Werfel T, Herz U, et al. The Toll-like receptor 2 R753Q polymorphism defines a subgroup of patients with atopic dermatitis having severe phenotype. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 565-7. [CrossRef]
25. Arbour NC, Lorenz E, Schutte BC, Zabner J, Kline JN, Jones M, et al. TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat Genet* 2000; 25: 187-91. [CrossRef]
26. Oğus AC, Yoldas B, Ozdemir T, Uguz A, Olcen S, Keser I, et al. The Arg753Gln polymorphism of the human Toll-like receptor 2 gene in tuberculosis disease. *Eur Respir J* 2004; 23: 219-23. [CrossRef]
27. Schroder NW, Schumann RR. Single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptors and susceptibility to infectious disease. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 156-64. [CrossRef]

28. Pehlivan M, Sahin HH, Ozdilli K, Onay H, Ozcan A, Ozkinyay F, et al. Gene polymorphisms and febrile neutropenia in acute leukemia--no association with IL-4, CCR-5, IL-1RA, but the MBL-2, ACE, and TLR-4 are associated with the disease in Turkish patients: a preliminary study. *Genet Test Mol Biomarkers* 2014; 18: 474-81. [\[CrossRef\]](#)
29. Nieters A, Beckmann L, Deeg E, Becker N. Gene polymorphisms in Toll-like receptors, interleukin-10, and interleukin-10 receptor alpha and lymphoma risk. *Genes Immun* 2006; 7: 615-24. [\[CrossRef\]](#)
30. Grulich AE, Vajdic CM. The epidemiology of non-Hodgkin lymphoma. *Pathology* 2005; 37: 409-19. [\[CrossRef\]](#)
31. Woolner AF, Davidson A, Skinner R, King D. Evaluation of infection control advice for patients at risk of chemotherapy-induced neutropenia in 2 pediatric oncology centers: Cape Town, South Africa, and Newcastle-Upon-Tyne, UK. *Pediatr Hematol Oncol* 2012; 29: 73-84. [\[CrossRef\]](#)
32. Macher E, Dubos F, Garnier N, Delebarre M, De Berranger E, Thebaud E ve ark. Predicting the risk of severe bacterial infection in children with chemotherapy-induced febrile neutropenia. *Pediatr Blood Cancer* 2010; 55: 662-7. [\[CrossRef\]](#)
33. Ozdemir N, Guven M, Batar B, Baris S, Tun O, Celkan T. The Association of TLR4 and NOD2 Polymorphisms and Febrile Neutropenia in Children with Burkitt Lymphoma. *Int J Hematol Oncol* 2015; 25: 70-1. [\[CrossRef\]](#)
34. Kutikhin AG. Role of NOD1/CARD4 and NOD2/CARD15 gene polymorphisms in cancer etiology. *Hum Immunol* 2011; 72: 955-68. [\[CrossRef\]](#)
35. Forrest MS, Skibola CF, Lightfoot TJ, Bracci PM, Willett EV, Smith MT, et al. Polymorphisms in innate immunity genes and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* 2006; 134: 180-3. [\[CrossRef\]](#)
36. Rothman N, Skibola CF, Wang SS, Morgan G, Lan Q, Smith MT, et al. Genetic variation in TNF and IL10 and risk of non-Hodgkin lymphoma: A report from the InterLymph Consortium. *Lancet Oncol* 2006; 7: 27-38. [\[CrossRef\]](#)
37. Rosenstiel P, Hellmig S, Hampe J, Ott S, Till A, Fischbach W, et al. Influence of polymorphisms in the NOD1/CARD4 and NOD2/CARD15 genes on the clinical outcome of *Helicobacter pylori* infection. *Cell Microbiol* 2006; 8: 1188-98. [\[CrossRef\]](#)
38. Türe-Ozdemir F, Gazouli M, Tzivras M, Panagos C, Bovaretos N, Petraki K, et al. Association of polymorphisms of NOD2, TLR4 and CD14 genes with susceptibility to gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Anticancer Res* 2008; 28: 3697-700.