

Nöro-Onkolojide Genetik

Genetics in Neuro-Oncology

Tanı ve Evrelemede Genetik Yöntemler

Genetics Methods in Diagnosis and Pathological Grading

Beyin Tümörlerinin Tanı ve Evrelemede Genetik Yöntemler

Dr. Aydın SAV

Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul

SSS tümörlerinin patogenetik mekanizmaları; Onkogenler, tümör baskılayıcı genler, EGFR, P53 gibi tümör gelişimindeki mekanizmalar, hücre siklusu, apoptozis, herediter ve sporadik tümörlerde genlerin tanımlanması, bir kanser geninin bölgesel olarak tanımlanması, sitogenetik analizler, gen amplifikasyonu, Northern blotting, Southern blotting, PCR (Polymerase Chain Reaction), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism, heterozigote kaybı (LOH) çalışmaları, RB1, WT1, APC, DCC olarak sıralanabilir. Kısıtlayıcı endonükleazlar; ligazlar, polimerazlar, PCR gibi, DNA problemleri ve hibridizasyon moleküler teknikleri oluşturur. Virchow'un 1864 yılında yaptığı beyin tümörleri sınıflamasından bugüne dek temel tıp bilimlerinde santral sinir sistemi tümörlerinin morfolojileri, davranışları, immünolojileri ve moleküler genetik özelliklerini araştırmak amacı ile çok büyük çabalar gösterilmiştir.

Bu alandaki heyecan verici çabalar ve yeni terapötik yaklaşımlara rağmen, bugün santral sinir sistemi tümörlerinin etiolojisi ve patolojik mekanizmaları hakkında çok az şey bilinmektedir.

Cushing'in orijinal soruları:

- Niçin bazı hücreler aniden çoğalmaya başlar ?
- Hangi hücreler çoğalır?
- Bütün gliomaların ortak kökeni var mıdır ?

Henüz tam olarak cevaplandırılmış değildir.

Yine de 1980'lerin ortalarında başlayan moleküler genetik dalındaki teknolojik gelişmeler, santral sinir sistemi tümörlerinin karsinogenezine yönelik çalışmalara yeni boyutlar kazandırdı. Bu konudaki en son gelişmeler ışığında bugün tümör oluşumunun hedef genlerdeki belirli mutasyonların oluşmasını gerektiren çok aşamalı bir olay olduğunu biliyoruz.

Tümör gelişimi için gerekli genetik değişiklikler kalıtım yolu ile ya da rastlantısal olarak değişik faktörlerin etkisi ile olmaktadır.

Hedef genlerde kanser inisiasyonunda ve progresyonunda etkili olan en az 2 farklı genetik değişiklik meydana gelmektedir.

- Normal hücrelerde önemli fizyolojik olayları üstlenen, fakat fonksiyonları değiştiğinde hücreyi bir tümör hücresine dönüştüren genler onkogenler,
- Hücrelerin kontrol edilemeyen çoğalmalarını engelleyen genler anti-onkogenler (tümör baskılayıcı genler),

Hedef genlerde kanser inisiasyonunda ve progresyonunda etkili en az 2 farklı genetik değişiklik meydana gelmektedir.

- Tümör baskılayıcı genleri inaktive eden resesif mutasyonlar,

• Onkogenleri aktive eden dominant mutasyonlar, Keşfedilen ilk tümör baskılayıcı gen: RB 1 genidir. RB 1 (Retinoblastoma) geni 1986 yılında izole edilen ilk tümör baskılayıcı genidir. 13q14 bandında yer almaktadır. Retinoblastomalar iki farklı mutasyon sonucu gelişmektedir. Sağ kalan retinoblastoma olgularında ikinci bir tümör gelişme olasılığı çok yüksektir. Bu tümörler çoğunlukla osteosarkoma ya da beyin tümörleridir.

Sitogenetik ve moleküler araştırmalarda yüksek grade'li astrositomalarda 13q'da delesyonlar ve bazı tümörlerde diğer alleli de inaktive eden mutasyonlar saptanmıştır.

RB1 lokusunda delesyon ve mutasyonlar yalnızca anaplastik astrositomalar ve glioblastomalarda saptandığından, RB1 geninin inaktivasyonu astrositoma progresyonunda rol oynayan patogenetik mekanizmalardan biri olarak kabul edilmektedir.

Kalıtsal retinoblastoma ile ilişkili olabilen ve RB1 geninin inaktivasyonundan kaynaklanan olası bir ortak mekanizma içeren diğer bir beyin tümörü de pineoblastomadır.

- RB 1 geninin izole edilmesinden sonra en az 11 adet değişik tümör baskılayıcı gen tanımlanmıştır.

- Bugün beyin tümörlerinin inisiasyonunda ve progresyonunda etkili olan en az 4 tümör baskılayıcı gen biliyoruz.

- NF1, NF2, VHL, p 53

NF1 geni 17. kromozomun uzun kolunda 11.2 bandında yer almakta ve nörofibromin adlı proteini kodlamaktadır. Bu genin NF1 ile ilişkili tümörlerin gelişimindeki tümör baskılayıcı rolü bir çok tümördeki somatik mutasyonlar ile gösterilmiştir.

- NF2 geni 22. kromozomun uzun kolunda 12 bandında yer almakta ve merlin adlı proteini kodlamaktadır.

- Schwannomalarda NF2 geninin bir allel kaybı sonucunda kalan diğer allelin de mutasyona uğradığı gösterilmiştir.

- VHL geni 3. kromozomun kısa kolunda (3p) saptanmıştır.

- von Hippel Lindau Sendromunda görülen ve sporadik hemangioblastomalarda VHL geninde mutasyonlar saptanmıştır.

- Santral sinir sistemi tümörlerinde tümör baskılayıcı gen inaktivasyonu hem sporadik hem de kalıtsal tümörlerde sık görülen bir genetik mekanizmadır.

- Santral sinir sistemi tümörlerinde 17. ve 22. kromozomlardaki tümör baskılayıcı gen lokusları en sık tutulan yerlerdir.

- Astrositomalar, MPSKT ve medulloblastomalarda 17. kromozomda heterozigozite kaybı görülmektedir.

- p53 mutasyonları ise, yalnız astrositomalarda ve bazı nörofibromalarda gösterilmiştir.

- 22. kromozomdaki mutasyonlar astrositomalar, meningiomalar ve Nörofibromatosis tip 2'deki tümörlerde gösterilmesi,

- NF2 gen mutasyonlarının ise, yalnız Nörofibromatosis tip 2 deki tümörler ve bazı meningiomalar ile ender olarak da ependimomalarda gösterilmesi,

- 22. ve 17. kromozomlarda yer alan henüz tanımlanmamış başka tümör baskılayıcı genlerin varlığını belirtmektedir. Benzer bir şekilde astrositoma progresyonu ile ilişkili olan 10.

kromozomda da çok sayıda tümör baskılayıcı genlerin bulunma olasılığı çok yüksektir. Önümüzdeki bir kaç yıl için nöroonkoloji alanındaki araştırmaların ana amacı henüz tanımlanmamış bu tümör baskılayıcı genlerin tanımlanması, belirli tümör tiplerindeki etkileşimlerin gösterilmesi olacaktır.

Bu yeni tümör baskılayıcı genlerin normal ve tümör dokusundaki fonksiyonları tanımlandığında bu hastalıkların tedavisi ve belki de tamamen iyileştirilebilmesi mümkün olacaktır.

Gliomlardaki genetik değişiklikler:

- Heterozigozite kaybı (loss of heterozygosity; LOH)

- Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) genindeki amplifikasyonlar

- p53 gen mutasyonları

- Hücre siklusunu kontrol eden proteinler

Apoptosis:

- Apoptosis; çevre hücrelerde bir hasar olmadan kontrollü bir kendi kendini sindirme (autodigestion) olarak tanımlanabilir.

- Apoptosisi kontrol eden proteinlerden bcl-2 nöroblastomada prognoz ile ilişkili bulunmuştur.

bcl-2 ve diğer proteinler direkt olarak hücre siklusu ilerlemesini ya da hücre çoğalmasını uyardıktan DNA hasarı, büyüme faktörü yokluğu ya da bir çok değişik uyarıcıya yanıt olarak apoptosisi inhibe ederler. bcl-2'nin apoptosisteki rolünün daha iyi anlaşılması ile gelecekteki kanser tedavi hedeflerinin kanserli hücrelerin yok edilmesini değil, bu hücrelerde apoptosisi eşikini değiştirebilecek, bcl-2'yi farmakolojik olarak inhibe edebilecek yeni tedavi olanaklarının geliştirilmesini sağlayabilecektir.

Hereditör ve sporadik tümörlerde genlerin tanımlanması:

Bir insan kanserinde rol oynayan genin tanımlanması birbirini tamamlayan 4 aşamada gerçekleşmektedir.

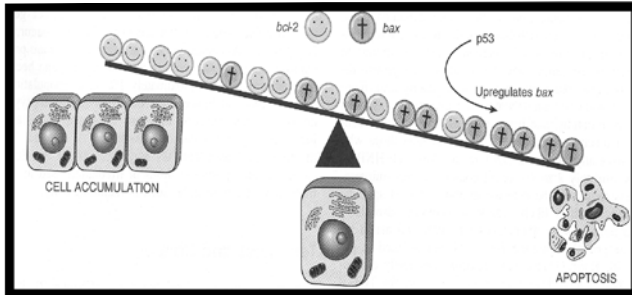
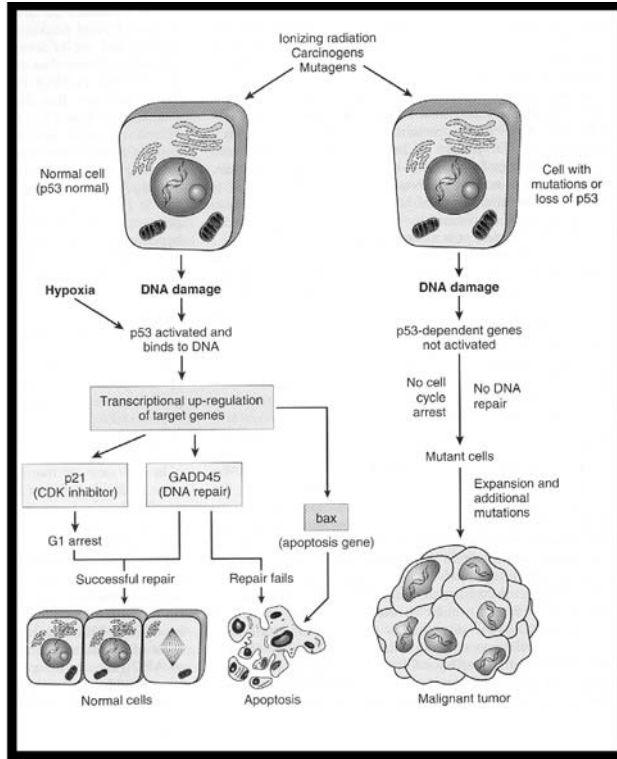
1. Bir gen için kabaca bir bölgenin tanımının yapılması,

2. Bu alanın fiziksel analizi ve haritasının çıkartılması,

3. Aday genlerin tanımlanması,

4. Hastalığa özgül mutasyonların tanımlanması ile kanser geninin tanımının doğrulanması.

İnsanda 30.000 gen olduğunu düşünürsek bir kanser geninin tanımlanmasının ne kadar zor olduğunu anlayabiliriz.



• İnsan kanserlerinde bilinmeyen bir genin araştırılması için önce o genin yer alabileceği olası bölgenin tanımlanması gerekmektedir.

• Sitogenetik ve genetik analiz gibi genetik haritalama yöntemleri, heterozigote kaybı veya gen amplifikasyon çalışmaları sporadik ve genetik tümörlerden elde edilen materyallerde kanser genini içeren DNA bölgelerini tanımlamak için kullanılabilir.

Geni içeren sınırlı bölge tanımlandığında daha ileri fiziksel haritalama yöntemleri ile daha özgül bir bölge tanımlanabilir.

Sitogenetik analizler:

• Belirli bir tümör ile ilişkili kromozomal değişiklik hasta genin yerini gösterebilir.

Bu değişiklikler:

• Sayısal (bir kromozomun kaybı ya da duplikasyonu) olabilir.

• Yapısal (delesyon, translokasyon) olabilir.

• Meningiomalardaki 22. ve glioblastomalardaki 10. kromozomlardaki monozomiler gibi sayısal değişiklikler bir kanser geninin olası yerleşimini gösterebilir.

• Sitogenetik olarak tanımlanabilen delesyonlar özellikle solid tümörlerde tümör baskılayıcı genlerin yerini belirtebilir.

Gen amplifikasyonu:

• DNA zincirlerinin bir genin birçok kopyasının oluşumu ile sonuçlanan duplikasyonu gen amplifikasyonu olarak adlandırılır.

• Kötu prognozlu ilerlemiş nöroblastomalarda myc-n onkogeni amplifiye olmuş olabilir.

• Gliomalarda Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) geni amplifiye olabilir.

Sitogenetik analizler:

• Herediter kanserlerde kansere yatkınlık yaratan genin mutant kopyası ya da alleli genetik olarak kazanılır.

• Bu genin lokalizasyonu için kullanılan yöntem GENETIC LINKAGE ANALYSIS olarak adlandırılır.

Genetic linkage analysis:

• Bu yöntem genomdaki gereksiz DNA zincirlerini etkileyen normal DNA zincir çeşitliliği (polimorfizm) üzerine kurulmuştur.

• Bu çeşitlilik DNA'yı belirli bölgelerde kesen kısıtlayıcı enzimler kullanılarak saptanabilir.

• Zincir çeşitliliği (Polymorphism)

• Southern blot

• PCR (Polymerase Chain Reaction)

• RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) ile saptanabilir.

• Genetik bağlantı analizi çalışmaları ile bir çok insan kanser geninin lokalizasyonu tanımlanmıştır:

• NF1, RB1, VHL, NF2

Heterozigote kaybı:

• Heterozigote kaybı çalışmaları :

• Hastalık geni bir tümör baskılayıcı gen ise; hücrenin büyümesi ve fonksiyonu için genin tek bir normal kopyası gereklidir.

• Genin mutasyona uğramış kopyası genetik olarak kazanılmış ya da somatik olarak mutasyona uğramış ise , kalan allelin somatik olarak kaybı hücreye tümör oluşturan özellik kazandıran mutasyonu açığa çıkartabilir.

• Bu olaylar bir tümördeki somatik olarak yapısal heterozigositenin kaybı olarak (LOH) tanımlanır.

• Allel kayıplarının tanımlanması ile Retinoblastoma (RB1), Wilms' Tümörü (WT1), Kolon karsinomasındaki (APC, DCC) yatkınlık sağlayan genler saptanmıştır.

Gliomlardaki genetik değişiklikler:

- 1) Diffüz infiltratif astrositomlar
- Diffüz astrositom (grade II)
- Anaplastik astrositom (grade III)
- Glioblastoma (grade IV)
- 2) Piloitik astrositom
- 3) Pleomorfik ksantoastrositom
- 4) Çocukluk çağının desmoplastik astrositomları
- 5) Subependimal dev hücreli astrositomlar

tek tek ele alınarak ayrıntıları ile irdelendi.

Sydner Brenner, John Sulston, Robert Horvitz ve Talia B. Aykan övgülerle anıldılar.