

Derleme

Yüksek Gradeli Gliomların Moleküler Biyolojisi

Molecular Biology of High Grade Gliomas

Timuçin AVŞAR¹, Türker KILIÇ²¹Bahçeşehir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye²Bahçeşehir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZ

Yüksek gradeli tümörlerin tedavisi on yıllardır bilinmezlikler ve başarısızlıklarla dolu bir alan olmuş ve bu hastalığa pessimist bir bakış açısı yaratmıştır. Bu başarısızlığın en önemli nedeni tümör biyolojisini anlayamamış olmamızdır. Son on yıldaki moleküler biyolojik çalışmalar bu heterojen tümör grubunun tümör biyolojisini çok daha iyi anlamamızı sağlamıştır. Bu gelişmeler sonucunda ortaya konan moleküler belirteçler de bugün bu hastalığı etkin ve hızlı bir şekilde sınıflayabilmemizi sağlamıştır. Bu derlemede yüksek gradeli gliomlar konusundaki gelişmeler özetlenecektir. Yüksek gradeli gliomların Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2016 sınıflaması, farklı moleküler belirteçler özetlendikten sonra bunların tümör biyolojisindeki yeri anlatılacaktır. Yüksek gradeli gliomlar konusunda moleküler belirteçler farklı moleküler alt tipleri tanımlar. Bu alt tipler tümör biyolojisi açısından birbirlerinden farklılıklar gösterir. Yüksek gradeli gliomların biyolojisi konusundaki bilgimiz moleküler biyolojik teknikler sayesinde artmıştır.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Glioblastom, Anaplastik astrositom

ABSTRACT

For the last several decades the treatment of high grade gliomas has been a field of unknowns and treatment failures, which has created pessimism. The sole reason for this failure was our lack of understanding on tumor biology. Molecular biological studies in the last decade have significantly improved our understanding of glioma biology. Resulting biomarkers have enabled quick and effective classification of the disease. This review will summarize advances on high grade glioma. The World Health Organization (WHO) 2016 classification of gliomas as well as current biomarkers will be summarized. This will be followed by a summary of their place in glioma biology. Molecular markers define different molecular subsets within high grade gliomas and these subsets have unique tumor biologies. Our understanding of high grade glioma biology has increased with the help of molecular technologies.

KEYWORDS: Glioblastoma, Anaplastic astrocytoma

■ GİRİŞ

İntrakraniyal tümörler, bütün kanserlerin yaklaşık olarak %1,5'inden ve kansere bağlı ölümlerin %2'sinden sorumludur (14,17). İntrakraniyal tümörler tüm primer santral sinir sistemi (SSS) tümörlerinin %85-90'ini oluşturur. Gliomalar erişkinlerdeki primer serebral tümörlerinin yaklaşık %70'ini oluşturmaktadır ve tümörün global insidansı yaklaşık 6/100.000 olarak bildirilmektedir (20).

SSS tümörlerinin tedavisinin başarılı bir şekilde yapılabilmesi için tümörün oluşumuna neden olan biyolojik faktörler ortaya konulması gerekmektedir. Karmaşık biyolojik yapısı ve farklı genetik faktörlerin etkileşimleri ile ortaya çıkan glial tümörlerin sınıflandırılması da doğru ve etkin tedavinin yapılabilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. 2016 yılına kadar SSS tümörleri, dokusal/hücresele özelliklere göre sınıflandırılmaktaydı. Bu sınıflandırma biçiminde tümör oluşumuna neden olan hücrelerin morfolojileri ve hücresele



Yazışma adresi: Türker KILIÇ

E-posta: turker.kilic@med.bau.edu.tr

davranışlarına göre yapılmaktaydı. Bu sınıflandırmada glial tümörler klinik bulgularına ve malignitelerine göre derecelere (1-4) ayrılırlar (13). Evre 1 pilositik astrositom hariç tüm glial tümörler değişken klinik izlem süreleri sonrasında malign dejenerasyon gösterirler. Diffüz infiltratif gliomlar (evre 2) çoğunlukla genç erişkinleri etkiler, yüksek derecede hücrenel farklılaşma ve yavaş büyüme gösterirler. Zamanla bu tümörler anaplastik astrositoma veya oligodendrogliomlara (evre 3) ya da glioblastoma (GBM) dönüşürler. Evre 4 astrositom veya GBM erişkinlerde en malign beyin tümörü tipini temsil etmektedir ve aynı zamanda en sık rastlanan primer beyin tümördür (4,9). Tanı konulduktan sonraki medyan sağ kalım genellikle bir yıldan azdır ve en iyi şartlarda bile, hastaların büyük çoğunluğu iki yıl içinde kaybedilir (5,8,9). GBM primer olarak gelişebilmekle birlikte daha düşük gradeli glial tümörlerden malign dejenerasyon ile gelişebilmektedir. Bu iki tip, primer ve sekonder GBM olarak anılmaktadır. Primer GBM daha yaşlı insanlarda ve daha kısa bir klinik tablo ile karşımıza çıkarken, sekonder GBM, daha genç hastalarda ve genellikle aylar veya yıllar süren klinik tablolar ile kliniklere başvururlar.

■ YÜKSEK GRADELİ GLİOMALARIN SINIFLANDIRILMASI: DÜNYA SAĞLIK ÖRGÜTÜ (WHO) 2016 SINIFLANDIRMASI

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2016 yılında 20 farklı ülkeden 117 katılımcı ile yayınladığı SSS tümörlerinin yeniden sınıflandırılması raporunda bahsedilen moleküler parametreler ilk kez sınıflandırma için kullanılmıştır (21). Genel olarak SSS tümörlerinin sınıflandırılması için 3 farklı seviyede moleküler bilgi kullanılmıştır: İlk olarak kanser hücresi oluşumuna neden olan moleküler değişiklikler (örneğin TP53, ya da BRAF mutasyonları) ya da tümör türüne özgü mutasyonlar (IDH1/2 mutasyonları) ya da kromozomal anomaliler (delesyon/duplikasyon ya da translokasyonlar). İkinci seviye olarak, gen ifadesi seviyesindeki değişiklikler (EGFR, PDGF-R/A overekspresyonları vb.). Üçüncü seviye olarak ise, hem kromozom stabilitesini hem de gen ekspresyon profilini etkileyen epigenetik modifikasyonlar incelenerek, hem tümör alt türünün özelinde, hem de hastaya spesifik mekanizmalar analiz edilmektedir.

Yüksek gradeli gliomalarda tümör biyolojisinin oluşmasına neden olan genetik alt yapının ortaya konması tümör tiplerinin, prognozunu ve tedaviye yönelik hassasiyetlerinin belirlenmesi açısından da büyük önem taşımaktadır. Gliomalarda birçok genin epigenetik olarak inaktivasyonu saptanmıştır. Bu genler hücre döngüsü gibi hücrenel fonksiyonlarda, deoksiribonükleik asit (DNA) tamiri ve genom stabilitesinin sağlanmasında, tümör invazyonu ve apoptozisde anahtar rolü olan genlerdir. Şekil 1'de bu genlerin ve tümör sınıflandırmasındaki yerleri gösterilmiştir. Özetle, primer ve sekonder glioblastomalar hem ortak ve hem de bazı ayırıcı moleküler belirteçler taşımaktadırlar. Bunlardan ortak olan bazı moleküler belirteçler tümör oluşumuna neden olan köken hücrenin aynı kaynaktan gelebileceğini, fakat zaman içerisinde farklı mutasyonların, gen overekspresyonları, metilasyonu ya da sitogenetik değişikliklerin birikmesi ile tümörün prognozunu oluşturduğunu düşündürmektedir (23). Fakat bu mutasyon ya da

moleküler değişimlerin tümör profilini yansıtmakta her zaman korelasyon göstermediği de daha sonra yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Örneğin patolojik olarak diffüz glioma sınıfındaki bir tümöründe primer glioblastoma mutasyonları ya da diğer moleküler değişimlerini gösterebileceği, bu nedenle de yüksek gradeli tümörlerin sınıflandırılmasında daha önce belirlenen moleküler alt sınıfların da yeterli tümörün WHO sınıflandırması ile ilişkili olamayabileceği gösterilmiştir (6). Bu durum patolojik olarak anaplastik olarak sınıflandırılan tümörlerin de farklı moleküler alt yapılarının olabileceğini düşündürmektedir.

Gen ekspresyon profilleri ve diğer seviyelerdeki moleküler parametreler ile gliomaların sınıflandırılması, karmaşık bir bilgi ağının incelenmesini gerektirmektedir. Kanser Genom Atlası (TCGA) projesi ile glioblastomaların karakteristik genetik değişiklik, epigenetik özellik, gen ekspresyon profili ve posttranslasyonel değişikliklerin tümü aynı anda incelenmiş ve bu tümör grubunun alt grupları belirlenmiştir. Bu sayede her üç seviyedeki bilgiler birleştirilerek birbirine en çok benzeyen tümörlerin patolojik sınıflandırmadan bağımsız olarak sınıflandırılabilmesi gösterilmiştir. Bu sınıflandırmada moleküler parametrelere göre oluşan alt sınıfların farklı patolojik gruplardan örnekler içerdiği de gösterilmiştir (6).

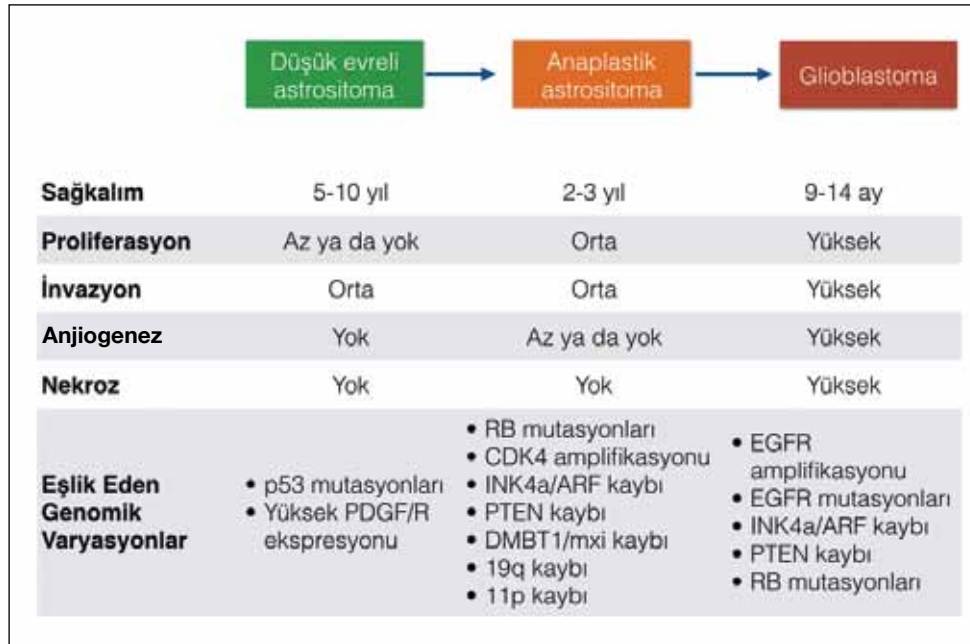
Yüksek gradeli glial tümörlerin moleküler genetiği ile ilgili bilgi birikimimizin artmasına rağmen, bu tümörlerin kaynağını oluşturan hücreler, bu hücrelerin oluşumundaki moleküler mekanizmalar ve tümörün agresifliğine neden olan moleküler oyuncular hakkındaki bilgi birikimimiz halen kısıtlıdır. Bu bölümde yüksek gradeli gliomaların moleküler biyolojisi bugüne kadar yapılan çalışmalarda elde edilen genetik belirteçlerin bir bölümü ve moleküler yollar üzerinden anlatılacaktır.

■ YÜKSEK GRADELİ GLİOMALARIN MOLEKÜLER BELİRTEÇLERİ

Gliomalar, yüksek invazyon potansiyeli, apoptoza karşı dirençli, yüksek anjiogenez kapasitesi ve hücre göçü yeteneğiyle, diğer beyin tümörlerinden ve malign neoplazmlardan farklıdır. Patogenezlerindeki bu özellikler nedeniyle, bugüne kadar yapılan moleküler çalışmalarda birçok prognostik ve diagnostik belirteç tanımlanmaya çalışılmıştır. Günümüzde klinik kullanımı olan yalnızca 3 moleküler belirteç bulunmaktadır: Kromozom 1p/19q ko-delesyonunu, kemoterapi ve/veya radyoterapinin oligodendrogliomalarda başarılı olacağını, IDH1/2 mutasyonu olan gliomaların sağ kalım sürelerinin uygun tedavi ile uzatılabileceğini ve MGMT promotör bölgesi hipermetilasyonunun alkali ajan kemoterapisine olumlu yanıt verebileceği ve sağ kalım süresini uzatacağı bilinmektedir. Fakat bu üç belirteçinde tahmin etme değeri ya da kapasitesi (predictive value) halen tartışılmaktadır. Elde edilen diğer kromozomal ve genetik varyasyonların tümörün moleküler patogenezini anlamamızda ve hedefli tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde önemi büyüktür.

Kromozomal Delesyonlar

Kromozom 1'in p kolu ve kromozom 19'un q kolu daha önce oligodendrogliomaların prognozu ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan seri çalışmalarında bu dengesiz karşılıklı translokasyonun tümörün iyi prognozu ve postoperatif tedaviye yanıtın



Şekil 1: Gliomalarda moleküler belirteçlerin tümör sınıflandırma kullanımı (Riemenschneider ve ark., 2010'dan uyarlanmıştır).

başarısı ile pozitif korelasyonu birçok kez gösterilmiştir. Fakat bu ko-delesyonun, tümörün moleküler patogeneziindeki biyolojik rolü halen anlaşılabilmiş değildir (24). Kromozom 7'deki kopya sayısı kazancı, bu kromozom üzerinde bulunana HOXA genlerinin hipermetilasyonunun GBM için moleküler bir belirteç olabileceği gösterilmiştir (10). Kromozom 10'un q kolundaki delesyonların GBM'lerin %90'ından fazlasında olduğu ve içerdiği tümör süpresör genlerin (PTEN, Mxi1, DMBT1, MMAC1) kaybı nedeniyle moleküler bir belirteç olduğu gösterilmiştir (25).

Genetik Belirteçler

Gliomalarda moleküler oyuncuların belirlenmesi için yapılan birçok genetik çalışmada, farklı evrelerin farklı genlerdeki mutasyonlarla ilişkisi ortaya konulmuştur. Bulgular primer ve sekonder gliomaların farklı genetik yollar üzerinden geliştiğini göstermektedir. Bugüne ilişkilendirilen birçok genetik varyasyonun glioma ilişkisi istatistiksel düzeyde kalsa da, bazı genlerin bu yollarda rol aldığı bu nedenle tümörün gelişimi ve farklılaşmasında önemli belirteçler olduğu düşünülmektedir. IDH1/2, NADP+-bağımlı izositrat dehidrogenaz 1/2 enzimlerini üreten genler olup, izositratın alfa-ketoglutarat'a dönüşümünü sağladığı ve bu yolla oksidatif dekarboksilasyonun ana oyuncusudur. IDH1/2 mutasyonları düşük gradeli ve sekonder GBM'lerin yaklaşık %70'inde görülmektedir. Primer GBM'ler ile IDH mutasyonları arasında pozitif bir ilişki ortaya konulmamıştır. Fakat lösemi gibi bazı diğer kanser türlerinde de yüksek frekanslarda IDH mutasyonları görülmektedir.

O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT), geninin promotor bölgesinin metillenmesi de yüksek gradeli gliomalar için önemli bir prognostik belirteçtir. Bu bölgenin metilasyonu metil transferaz enziminin epigenetik olarak susturulmasına ve dolayısıyla da enzimin gen tamir aktivitesinin azalmasına neden olmaktadır. 2005 yılından beri özellikle GBM'lerde

tedavi öncesinde MGMT promotor metilasyonuna bakılarak temozolomid ve diğer alkilleyici ajanların ya da radyoterapinin başarı etkinliğini değerlendirmede kullanıldığı bilinmektedir.

Yukarıda belirtilen kromozomal delesyonlar ve genetik mutasyonlar yüksek gradeli gliomaların tanı, tedavi ve takibinde klinik olarak kullanılan belirteçlerdir. Bunların dışında, ilişkilendirilmiş ve gliomajenezde rolü olan birçok ilişkili gen ve mutasyon da tanımlanmıştır. Epidermal büyüme faktörü reseptör (EGFR) geni mutasyonları yüksek gradeli gliomalar ile ilişkilendirilmiş bir diğer yaygın mutasyonlardır (11). EGFRvIII mutasyonu, bu reseptörün tirozin kinaz aktivitesinin sürekli olmasına ve hücrelerin tümörojenik aktivitesinin artmasına neden olmaktadır. EGFRvIII mutasyonu olan primer GBM'lerin %33'ünde yüksek EGFR ekspresyonu gösterilmiştir (12). Hücre içi sinyal mekanizmalarının kontrolünü sağlayan Ras yolağında yer alan NRAS, HRAS, KRAS ve BRAF geni mutasyonları birçok diğer malign kanserde olduğu gibi GBM'lerle de ilişkili olduğu yapılan genom boyu ilişkilendirme (GWAS) çalışmaları ile rapor edilmiştir (19). Nöral kök hücrelerin ve projenitör hücrelerin üretilmesi, çoğalması ve farklılaşmasında rol alan TP53, PTEN ve CDKN2A gen mutasyonları da hem yapılan seri çalışmalarında hem de GBM hücre kültürü çalışmalarında ilişkili olarak gösterilmiştir (27).

■ YÜKSEK GRADELİ GLIOMLARIN TÜMÖR BİYOLOJİSİ

Gliomalar ile ilişkilendirilen mutasyonların birçoğu hücre dönüşümü yolağında ve apoptotik yollarda meydana gelmektedir. Bu mutasyonların, hücre büyümesi, sağ kalımı ve göçünün anormal düzenlenmesine neden olarak gliogenezi tetiklemektedir. Bu yollarda yer alan diğer bileşenler ile birlikte genlerdeki genomik ve kromozomal varyasyonlar, mutasyonlar, mutasyonların ya da hipo/hipermetilasyonların sebep olduğu gen ifadenmesi seviyelerindeki anormal değişiklikler düşük

gradeli astrositomalardan GBM'e giden süreçte tümörün büyümesi ve farklılaşmasına neden olmaktadır (Şekil 2).

Büyüme Faktörü Yolakları

Platelet-derived growth factor (PDGF) ve epidermal growth factor (EGF) gliogenezde rolü olan önemli büyüme faktörüdür. Glial gelişimde, EGF ve PDGF nöral kök hücrelerin proliferasyonunda ve sağ kalımında ve hücrelerin proliferasyonunda görev almaktadır (2). PDGF'in düşük gradeli gliomalarda, EGF reseptörü'nün de (EGFR) GBM'lerde yüksek miktarda ekspresyonu Tirozin Kinaz Reseptör (RTK) yolağını aktive ederek, sürekli hücre bölünmesi, hücre göçü ve sitokin stimülasyonu için RAS/MAPK (MAP Kinase), PI3-K (Phosphoinositide 3-kinase), PLC- γ (Phospho lipase C) ve JAK-STAT (hücre içi sinyal düzenleyici ve transkripsiyon faktörleri) moleküllerinin miktarında artışını sağlamaktadır (7,11,18). Yüksek gradeli astrositomalardaki gen ekspresyon çalışmalarının çoğunda yüksek EGF ve EGFR ekspresyonu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda GBM'lerin yaklaşık %50'si ve anaplastik astrositomaların daha az miktarında yüksek EGFR ekspresyonu gösterilirken düşük gradeli gliomalarda yüksek EGFR ekspresyonu gösterilmemiştir. EGFR aktivasyonunun düşük evreden yüksek evreye geçişte merkezi bir yolak olduğu düşünülmektedir (15).

PDGF/R bir anjiyogenik faktör olmakla birlikte oligodendrosit gelişiminde önemli bir regülatördür. Embriyogenez sırasında

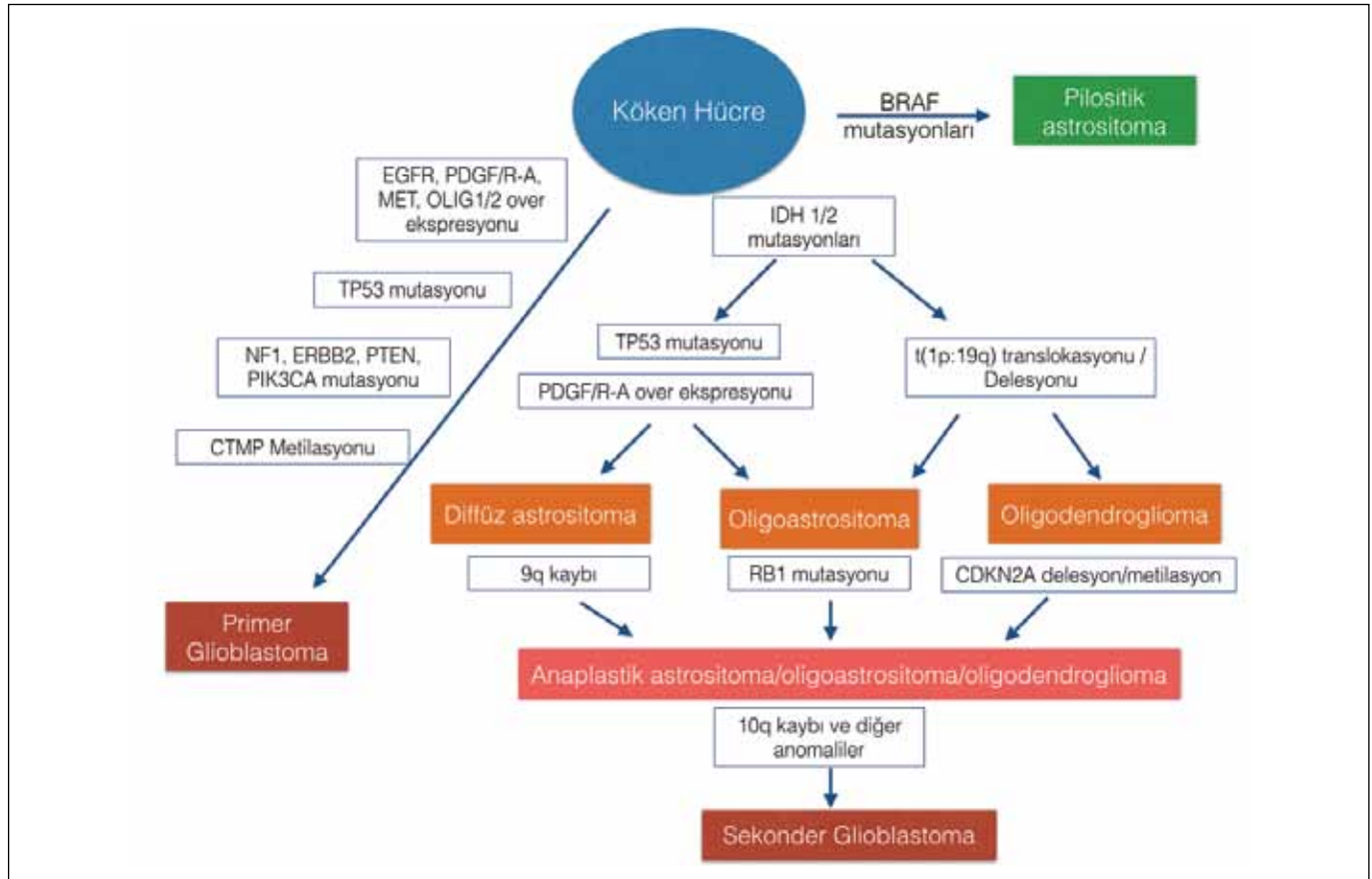
astrositler PDGF eksprese ederken, glial progenitör hücreler ve nöronlar PDGFR ekspresyonu yaparlar. Postnatal dönemde glial progenitör hücreler oligodendrositlere farklılaştığından PDGFR ekspresyonu azalır. Daha sonra bu hücre grubu olfaktor oluk ve subventriküler bölgeye göç ederek normal beyinde beyaz maddenin oluşumuna katkı olmaktadır. PDGF/R mutasyonlarının farklı oligodendrosit hücre popülasyonlarına dönüşümüne neden olması ile oligodendroglioma oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir (10).

P53 Yolağı

TP53 geni kromozom 17'nin p kolunda yer alan ve P53 proteinini kodlayan tümör süpresör geni olup, apoptoz, genomik stabilite ve anjiyogenin inhibisyonu ile anti-kanser görevi bulunmaktadır. Düşük evre, anaplastik astrositoma ve yüksek gradeli gliomalarda 17p delesyonu ya da p53 mutasyonları benzer frekanslarda bulunmaktadır. Bu durum p53'ün gliogenezin erken evrelerinde yer aldığını düşündürmektedir.

Retinoblastoma (RB) Yolağı

RB yolağı siklin bağımlı kinazlar, tümör süpresör RB proteini ve E2F ailesi transkripsiyon faktörlerinden oluşur. Hücre döngüsünün devamı ve hücre ölümü süreçlerinin düzenlenmesinde görevlidir. RB yolağı daha çok düşük-orta gradeli gliomalarda aktive olur ve düşükten orta evreye



Şekil 2: Farklı gliomlar ile histopatogenez ve genomik bileşenlerin gliogenez ile ilişkisi (Maher ve ark., 2001'de Tablo 1'den uyarlanmıştır).

transformasyon ile ilişkilendirilmiştir. Gerek RB genindeki mutasyonlar, gerekse de bu yolakta yer alan diğer genlerdeki (CDK4/6, INK4a) mutasyonlar glioblastoma ve yüksek evre astrositoma ile de ilişkilendirilmiştir. Mutasyonların neden olduğu fonksiyon kaybı hücrel dönüşüm de etkili olduğu bilirse de, dönüşümün moleküler mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir.

■ ANJİOGENEZ VE VASKÜLOGENEZ

Bir tümörün farklı bölgelerde tekrar edebilmesi için yeni oluşan dokunun diğer dokularda damar oluşturması gereklidir. Dolaşım sisteminin oluşmaya başlaması embriyogenez sırasında ilk meydana gelen olaylardan biridir ve temelde iki aşamada gerçekleşir; vaskülogenez ve anjiogenez. Vaskülogenez, erken embriyonik dönemde endotel hücrelerin kökeni olan anjioblast hücrelerinin bir araya gelerek canlılık ilk damarsı yapıları olan primer kapiller pleksusu oluşturmalarına denir. Anjiogenez ise var olan damarlardan, damar duvarında bulunan endotel hücrelerin aktivasyonu ile hücrelerin göçü ve yeni damar oluşturmaları sürecine denir.

Anjiogenez; büyüme faktörleri ve reseptörleri, transkripsiyon faktörleri, sitokinler, kemokinler, hücre-dışı matriks proteinleri, proteazlar ve inhibitörleri gibi birçok farklı moleküler etmenin rol aldığı, dinamik bir programla gerçekleşir. Temelde, anjiogenik süreç şu aşamaları içerir; i) endotel hücrelerin çevre doku tarafından uyarıcı faktörlerle aktivasyonu, ii) aktive olan hücrelerin, göç edebilmek amacıyla hücre-dışı matriks moleküllerinin yıkılması için proteazları salgılaması, iii) endotel hücrelerinin yıkılan alana doğru çoğalarak göçü ve lümen oluşturması, iv) damar duvarını oluşturan perisit ve düz kas hücrelerinin de uyarılması, çoğalması ve damar yapısına katılmasıyla olgun damar yapısının oluşması ve v) hücre dışı matriksin tekrar şekillendirilmesi (6). Bu aşamalar sırasında rol aldığı bilinen başlıca moleküller fonksiyonlarına göre şu şekilde gruplanabilir;

- Endotel hücrelerin aktivasyonu ve anjiogenezini tetikleyici hücre-dışına salgılanan moleküller arasında VEGF ailesi (Vascular endothelial growth factors), FGF2 (Fibroblast growth factor-2), ANG (Angiopoietins), PDGF ailesi (Platelet-derived growth factors), EGF ailesi (Epidermal growth factors), IGF-1 (Insulin-like growth factor 1), Ephrin ailesi, TNF- α (Tumor-necrosis-factor- α) ve TGF ailesi (Transforming growth factors), HIF (hypoxia-inducible transcription factor) ve bunların reseptörleri yer alır.
- Hücre-dışı matriks moleküllerine örnek olarak; integrin reseptörleri, fibronektin, vitronektin, kollajen, laminin, von Willebrand faktör, fibrinojen, trombospondin ve osteopontin verilebilir.
- Hücre-dışı matriksin yıkılmasında plasminojen tetikleyici sistem molekülleri, MMP'ler (Matrix metalloproteinases) ve diğer birtakım proteazlar rol alırlar.
- Endotel hücrelerinin göçü, çoğalması ve lümen oluşturmada Dll4 (Delta-like 4) ligandı ve Notch 1 ve Notch 4 reseptörlerinin rol aldığı belirtilmiştir.

- Endotel hücrelerin oluşturdukları lümenin, damar yapısını oluşturan diğer hücrelerin katılımıyla olgun damara dönüşmesi sırasında, PDGF ailesi, angiopoietinler, TGF- β , Sip1 (Sphingosine-1-phosphate-1), Edg1 (Endothelial differentiation sphingolipid G-protein coupled receptor-1), Alk1 ve Alk5 (Activin receptor-like kinase 1 ve 5) ve plasminojen aktivatör sistem inhibitörleri rol alırlar.

Yüksek gradeli gliomalar, anjiogenik aktivitesi yüksek olan tümörlerdir ve yüksek miktarda VEGF ve PDGF ekspresyonu ettikleri bilinmektedir. Anjiogenez mekanizması kompleks ve bir çok molekülün ya da hücrenin yer aldığı bir süreçtir. VEGF vasküler endotel hücreler için bölünme sinyali olan bir mitojen iken PDGF-B mezenkimal hücrelerin proliferasyonunu sağlamaktadır. Bu iki hücre grubu için uyarıcı sinyallerin yüksek seviyede ekspresyonu anjiogenik aktiviteyi artırmaktadır. GBM'in gelişmesine katkı sağlayan nöral kök hücrelerin vasküler mikroçevre ile yakın ilişkisinin olması da GBM'lerin kolayca ve diğer anjiogenik etkenlerin olmadığı durumlarda da damar yapısını oluşturmalarını sağlamaktadır. Anjiogenez, tüm yüksek gradeli gliomalarda görülen ortak bir mekanizma olduğu için, özellikle GBM'lerde hedefli tedavi yaklaşımlarının başında anti-anjiogenik moleküller bulunmaktadır. Bevacizumab gibi, VEGF ya da PDGF inhibitörleri tedavisi uygulanan hastalarda tümör rekürrensini önlediği ve hatta tekrar eden tümörün daha agresif ve invazif bir şekilde ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Özellikle VEGF hedefli tedaviye dirençli tümörlerin vasküler oluşumu ve tümör hücre biyolojisi ile ilişkilidir. Tedaviye yanıtta başarısızlığa neden olan bu mekanizmalar şu şekildedir: Tümör hücrelerinin VEGF inhibitörü ile inhibe edildiğinde, fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi diğer proanjiogenik moleküller üretmesi VEGF'den bağımsız damar büyümesine neden olmaktadır. VEGF inhibisyonunun neden olduğu hipoksi durumunda, tümör hücrelerinde invazyonun kapasitesi artmaktadır. Hastalara uygulanan radyoterapi sonrası, tümör vaskülarizasyonu için gerekli pro-anjiogenik faktörleri üreten kemik iliğinden elde edilen hücreler (bone marrow-derived cells, BMDCs) ve infiltre makrofaj hücreleri gibi stromal hücreler de farklı VEGF alt türlerinin ekspresyonunu gerçekleştirerek vaskülogenezin devam etmesini sağlamaktadır. Ayrıca klonal olarak çoğalan tümör hücrelerindeki VEGFR gen mutasyonları da VEGFR inhibitörlerinin başarısız olmasına neden olmaktadır. VEGF ve PDGF'in dışında vaskülogenez tetikleyen sistemlerden Angiopoietin/Tie2 reseptör sistemi daha önce kardiyovasküler sistemde normal vasküler gelişimdeki rolü bilinen bir reseptör sistemidir. Bu sistemin gliomalarda da vaskülogenez artırdığı gösterilmiştir. Histopatolojik çalışmalarda, Tie2 tümör endotelinde artış gösterirken, Ang-1 ve Ang-2'nin glioma hücrelerinde artış gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca Ang-2'nin GBM ve anaplastik ve karışık astrositomaların endotel duvarında diğer düşük gradeli gliomalara göre daha fazla ekspresyon edildiği de gösterilmiştir (26).

Primer ve sekonder GBM'lerde yapılan çalışmalarda, birçok anjiogenik molekülün ekspresyon seviyesi test edilmiştir. Primer GBM'de yüksek VEGF-A ekspresyonu görülürken, sekonder GBM'lerde yüksek PDGF-AG ekspresyonu gösterilmiştir. Hepatosit büyüme faktörü (HGF) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF), tümörün malignitesi ve evresinden bağımsız olarak tüm glioma türlerinde görülürken, seviye

olarak anlamlı bir farklılık göstermemektedir. Fakat GM-CSF ekspresyonunun kötü prognoz ve agresif anjiogenik aktivite ile birlikte artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bu bilgiler primer ve sekonder GBM'lerin anjiogenik aktivitelerinin de farklı olduğunu düşündürmektedir (16).

Yapılan hayvan modeli ve hücre kültürü çalışmalarında da yüksek gradeli gliomaların diğer beyin tümörleri ve düşük gradeli glioblastomalardan daha yüksek anjiogenik aktiviteye sahip olduğu ve farklı anti-anjiogenik ajanlar kullanarak tümör büyümesi, proliferasyonu ve hücre göçü kapasitesinin azaltılabildiği gösterilmiştir (1,18).

■ MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR (MMP)

MMP'ler, hücre dışı matriks ile bazal membran komponentlerini parçalayan enzim ailesidir. Bu enzimler, dokuların yeniden yapılanması, oluşumu, yara iyileşmesi ve normal süreçler gibi, tümör hücrelerinin invazyonu, anjiogenezi ve metastazı gibi patolojik durumlarda rol alırlar. Kollojenaz ailesi başta olmak üzere birçok farklı MMP türü bulunmaktadır ve uzun zamandan beri proteazların gliomaların yayılmasındaki rolü bilinmektedir. Sistein ve aspartat proteazları, proteinleri asit pH'da parçalarlarken intraselüler aktiviteden sorumludurlar. Gliomaların invazyonunda da hücre dışı matriksin ve bazal membranın parçalanması önemli rol oynar. Gliomalarda da tümör ile infiltrate olmuş stromal hücrelerde matriksi degrade eden proteaz sisteminin elemanları saptanmıştır (3). Proteinazların oluşturduğu hücre dışı matriks hasarı primer olarak, normal bir şekilde düzenlenemeyen proteinaz aktivitesinden kaynaklanır. Aktif proteinazlar arasındaki denge, metastatik yolların her bir evresinde ortaya çıkabilecek hücre dışı matriks yıkımı ve tekrar yapımının varlığının belirlenmesinde önemlidir (22).

Yüksek gradeli glial tümörlerin invazyonu, anjiogenezi, metastazı ve azalmış sağ kalım süresi ile MMP seviyeleri arasında güçlü ilişki olduğu farklı çalışmalarda gösterilmiştir. MMP2 ve MMP9'un en çok çalışılan ve pozitif ilişki kurulan proteazlardır ve bu genlerin transgenik farelerinde tümör davranışlarının azaltıldığı tespit edilmiştir (22).

■ SONUÇ

Yüksek gradeli gliomaların moleküler patogenezinin anlaşılmasında azımsanmayacak yol kat edilmiş olsa da, elde edilen bulgular, bu invazif ve metastatik tümörün oluşum ve gelişim nedenlerinin aydınlatılması konusunda henüz yetersizdir. Elde edilen veriler, ilişkili genomik varyasyonların yanı sıra anormal düzenlenen birçok moleküler yolağı ortaya koymuştur. Bu yolların her biri ayrı ayrı ve birbirinden bağımsız olarak yüksek gradeli gliomaların oluşmasına ya da düşük evreden yüksek evreye dönüşüme neden olabilmektedir. Genel olarak tümörün süreç içerisinde birden çok mutasyonun etkileşimi ile oluştuğu ve farklılaşmaya başladığı bilinen bir durumdur. Artık tümörün moleküler biyolojisine göre tümör türlerinin homojen bir şekilde sınıflandırılması, tümörün tedavisi ve prognozunun öngörülmesinde başarıyı artıracaktır. Bu nedenle elde edilecek her türlü mutasyon/anormal gen ifadesi/gen metilasyonu ve kromozomal anomaliler tümör sınıflandırmasını kolaylaştıracaktır.

Günümüzde yüksek çözünürlüklü genomik teknolojilerin (Yüksek ölçekli mikroarray ve yeni nesil DNA dizileme) kullanılması ile ailesel yüksek gradeli tümörler ya da oluşturulabilecek homojen hastalık gruplarında gerçekleştirilecek mutasyon taramaları ya da ekspresyonu değişen genlerin belirlenmesi ile gliomaların oluşumu ve yüksek evreye dönüşümüne neden olan sorumlu genlerin, mutasyonların, ya da moleküler oyuncuların belirlenmesi moleküler patogenezin aydınlatılabilmesi için çok önemlidir. Bu çalışmalar sonucunda belirlenen aday genlerin fonksiyonel araştırmaları ve model transgenik hayvan çalışmalarından elde edilecek bulguların, gelişen anjiogenez ve diğer moleküler yolların literatürün ışığı altında değerlendirilmesi ile yüksek gradeli gliomaların moleküler patogenezinin aydınlatılması konusunda önemli yol kat edileceği beklenebilir. Son olarak, moleküler patogenezi çalışmalarından elde edilen hedef moleküllere spesifik tedavi modalitelerinin geliştirilmesi ile, yakın gelecekte glioma tedavisi ya da düşük evreden yüksek evreye geçişin engellenebilmesinin mümkün olabileceği düşünülmektedir.

■ KAYNAKLAR

1. Atabay KD, Yıldız MT, Avşar T, Karabay A, Kılıç T: Knockdown of Pin1 leads to reduced angiogenic potential and tumorigenicity in glioblastoma cells. *Oncol Lett* 10(4): 2385-2389, 2015
2. Bao S, Wu Q, McLendon RE, Hao Y, Shi Q, Hjelmeland AB, Dewhirst MW, Bigner DD, Rich JN: Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature* 444(7120): 756-760, 2006
3. Bexell D, Gunnarsson S, Tormin A, Darabi A, Gisselsson D, Roybon L, Scheding S, Bengzon J: Bone marrow multipotent mesenchymal stroma cells act as pericyte-like migratory vehicles in experimental gliomas. *Mol Ther* 17(1): 183-190, 2009
4. Bhujbal SV, de Vos P, Niclou SP: Drug and cell encapsulation: Alternative delivery options for the treatment of malignant brain tumors. *Adv Drug Deliv Rev* 67-68: 142-153, 2014
5. Buckner JC: Factors influencing survival in high-grade gliomas. *Semin Oncol* 30(6 Suppl 19): 10-14, 2003
6. Ceccarelli M, Barthel FP, Malta TM, Sabedot TS, Salama SR, Murray BA, Morozova O, Newton Y, Radenbaugh A, Pagnotta SM, Anjum S, Wang J, Manyam G, Zoppi P, Ling S, Rao AA, Grifford M, Cherniack AD, Zhang H, Poisson L, Carlotti CG Jr, Tirapelli DP, Rao A, Mikkelsen T, Lau CC, Yung WK, Rabadan R, Huse J, Brat DJ, Lehman NL, Barnholtz-Sloan JS, Zheng S, Hess K, Rao G, Meyerson M, Beroukhi R, Cooper L, Akbani R, Wrensch M, Haussler D, Aldape KD, Laird PW, Gutmann DH; TCGA Research Network; Nounshmehr H, Iavarone A, Verhaak RG: Molecular profiling reveals biologically discrete subsets and pathways of progression in diffuse glioma. *Cell* 164(3): 550-563, 2016
7. Chakravarti A, Chakladar A, Delaney MA, Latham DE, Loeffler JS: The epidermal growth factor receptor pathway mediates resistance to sequential administration of radiation and chemotherapy in primary human glioblastoma cells in a RAS-dependent manner. *Cancer Res* 62(15): 4307-4315, 2002

8. Curran WJ Jr, Scott CB, Horton J, Nelson JS, Weinstein AS, Fischbach AJ, Chang CH, Rotman M, Asbell SO, Krisch RE: Recursive partitioning analysis in three Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) malignant glioma trials. *J Natl Cancer Inst* 85(9): 704-710, 1993
9. DeAngelis L: Brain tumors. *N Engl J Med* 344: 114-123, 2001
10. Di Vinci A, Casciano I, Marasco E, Banelli B, Ravetti GL, Borzi L, Brigati C, Forlani A, Dorcaratto A, Allemanni G, Zona G, Spaziante R, Gohlke H, Gardin G, Merlo DF, Mantovani V, Romani M: Quantitative methylation analysis of HOXA3, 7, 9, and 10 genes in glioma: Association with tumor WHO grade and clinical outcome. *J Cancer Res Clin Oncol* 138(1): 35-47, 2012
11. Ekstrand AJ, James CD, Cavenee WK, Seliger B, Pettersson RF, Collins VP: Genes for epidermal growth factor receptor, transforming growth factor α , and epidermal growth factor and their expression in human gliomas in vivo. *Cancer Res* 51(8): 2164-2172, 1991
12. Gan HK, Cvrljevic AN, Johns TG: The epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII): Where wild things are altered. *FEBS J* 280(21): 5350-5370, 2013
13. Goldstein GW, Betz AL: The blood-brain barrier. *Sci Am* 255: 70-79, 1986
14. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA: Cancer statistics, 2000. *CA Cancer J Clin* 50: 7-33, 2000
15. Hartmann C, Xu X, Bartels G, Holtkamp N, Gonzales IA, Tallen G, von Deimling A: Pdgfr-alpha in 1p/19q LOH oligodendrogliomas. *Int J Cancer* 112(6): 1081-1082, 2004
16. Karcher S, Steiner HH, Ahmadi R, Zoubaa S, Vasvari G, Bauer H, Unterberg A, Herold-Mende C: Different angiogenic phenotypes in primary and secondary glioblastomas. *Int J Cancer* 118(9): 2182-2189, 2006
17. Karlsson UL, Leibel SA, Wallner K, Davis LW, Brady LW: Brain. In: Perez CA, Brady LW (ed). *Principles and Practice of Radiation Oncology*. Philadelphia: J.B Lippincot Company, 2004:791-838.
18. Kilic T, Alberta JA, Zdunek PR, Acar M, Iannarelli P, O'Reilly T, Buchdunger E, Black PM, Stiles CD: Intracranial inhibition of platelet-derived growth factor-mediated glioblastoma cell growth by an orally active kinase inhibitor of the 2-phenylaminopyrimidine class. *Cancer Res* 60(18): 5143-5150, 2000
19. Knobbe CB, Reifenberger J, Reifenberger G: Mutation analysis of the Ras pathway genes NRAS, HRAS, KRAS and BRAF in glioblastomas. *Acta Neuropathol* 108(6): 467-470, 2004
20. Levin VA, Leibel SA, Gutin PH: Neoplasms of the central nervous system. In: DeVita VT Jr, Hellmar S, Rosenberg SA, (eds). *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, altıncı baskı, Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 2100-2160
21. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, Ohgaki H, Wiestler OD, Kleihues P, Ellison DW: The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: A summary. *Acta Neuropathol* 131(6): 803-820, 2016
22. Rao JS: Molecular mechanisms of glioma invasiveness: The role of proteases. *Nat Rev Cancer* 3(7): 489-501, 2003
23. Riemenschneider MJ, Jeuken JW, Wesseling P, Reifenberger G: Molecular diagnostics of gliomas: State of the art. *Acta Neuropathol* 120(5): 567-584, 2010
24. Smith JS, Perry A, Borell TJ, Lee HK, O'Fallon J, Hosek SM, Kimmel D, Yates A, Burger PC, Scheithauer BW, Jenkins RB: Alterations of chromosome arms 1p and 19q as predictors of survival in oligodendrogliomas, astrocytomas, and mixed oligoastrocytomas. *J Clin Oncol* 18(3): 636-645, 2000
25. Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA, Yung WK, Lin H, Ligon AH, Langford LA, Baumgard ML, Hattier T, Davis T, Frye C, Hu R, Swedlund B, Teng DH, Tavtigian SV: Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. *Nat Genet* 15(4): 356-362, 1997
26. Stratmann A, Werner R, Plate KH: Cell type-specific expression of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 suggests a role in glioblastoma angiogenesis. *Am J Pathol* 153(5): 1459-1466, 1998
27. Zheng H, Ying H, Yan H, Kimmelman AC, Hiller DJ, Chen AJ, Perry SR, Tonon G, Chu GC, Ding Z, Stommel JM, Dunn KL, Wiedemeyer R, You MJ, Brennan C, Wang YA, Ligon KL, Wong WH, Chin L, DePinho RA: p53 and Pten control neural and glioma stem/progenitor cell renewal and differentiation. *Nature* 455(7216): 1129-1133, 2008