



Geçmişten Günümüze Glioblastoma Genetiği

Genetics of Glioblastoma; Past and Present

Rasime KALKAN^{1*}, Emine İkbal ATLI^{2*}

¹*Yakın Doğu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti*

²*Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye*

*Her iki yazar da çalışmaya eşit derecede katkıda bulunmuşlardır.

Yazışma Adresi: Rasime KALKAN / E-posta: kalkanr@yahoo.com

ÖZ

Glioblastoma multiform beyin tümörleri içerisinde en sık rastlanan histolojik tiptir. Gliomaların genetik özellikleri Nörofibromatöz ve Li-Fraumeni sendromunun moleküler temellerinin açıklandığı 1980'lerin son dönemlerinden bugüne kadar yapılan çalışmalarla ortaya konulmaya çalışılmaktadır. Genetik alt yapının ortaya konması hem karsinogenez sürecini anlamamıza yardımcı olurken aynı zamanda olguların tümör tiplerinin, prognozunu ve tedaviye yönelik hassasiyetlerinin belirlenmesi açısından da büyük önem taşımaktadır. Glioblastomalar günümüzde moleküler temelde primer ve sekonder olarak iki altgruba ayrılmakta ve biyolojik ve genetik olarak farklı genetik alt yapıya sahiptirler. Aynı zamanda GBM'de birçok genin epigenetik olarak inaktivasyonu saptanmıştır. Bu genler hücre siklusu gibi hücre fonksiyonlarında, DNA tamiri ve genom bütünlüğünü sağlamada, tümör invazyonu ve apoptozisde anahtar rolü olan genlerdir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Glioblastoma, Genetik, Mutasyon

ABSTRACT

Glioblastoma multiforme is the most common histological brain tumor type. The genetic characteristics of gliomas have been described in the late 1980s. The demonstration of the genetic background can help us understand the process of carcinogenesis of these tumor types and also their prognosis and sensitivity to treatment. Glioblastomas are divided as a two subgroups as primary and secondary, with distinct biological and genetic backgrounds. Epigenetic inactivation of many genes in GBM has also been identified. These genes play a key role in cellular functions such as the cell cycle and DNA repair, ensuring the integrity of the genome, tumor invasion, and apoptosis.

KEYWORDS: Glioblastoma, Genetic, Mutation

GİRİŞ

Glioblastoma multiform (GBM) beyin tümörleri içerisinde en sık rastlanan histolojik tiptir (39). Primer beyin tümörlerinin %22,6-27'sini, tüm gliomaların %50-60'ını (9), tüm intrakranial tümörlerin %12-15'ini ve astrositik tümörlerin %50-60'ını oluşturmaktadır (19, 31, 53).

Her yaşta görülebilmekle beraber olgular sıklıkla 45-75 yaş arasındadır. Çocukluk yaşlarında ise nadir görülmektedir (18, 37). Erkeklerde, kadınlarla karşılaştırıldığında biraz daha fazla gözlenmektedir (1,59/1). Ortalama tanı yaşı 47 ile 61 arasında değişmektedir (9).

Dünya Sağlık Örgütü ve St. Anne-Mayo sınıflamasına göre derece 4 olarak kabul edilmekte ve histolojik olarak; pleomorfik, belirgin nükleer atipi ve mitotik aktivite yanında mikrovasküler proliferasyon ve nekroz içermektedir (9, 18), belirgin mikrovasküler proliferasyon ve/veya nekroz esas tanısıl işaretlerdir (19).

Bu yazıda, Glioblastoma Multiform tarihçesi ve genetik alt yapısına bağlı olarak primer ile sekonder glioblastomanın ayrımında kullanılan gerek genetik gerekse epigenetik belirteçler

ve bu genetik markerların klinik uygulamalara sağladığı faydalar hakkında bir derleme yapmak amaçlanmıştır.

TARİHÇE

1863 yılında Virchow tarafından glioblastoma multiform glial orjinli tümör olarak belirlenmiş ve 1914 yılında Mallory tarafından spongioblastoma multiform terimi kullanılmıştır. 1929 yılında Bailey ve Cushing bu terimi glioblastoma multiform olarak değiştirmiştir ve daha ayrıntılı tanım ise Zülch, Russell ve Rubinstein tarafından verilmiştir. Günümüzde glioblastom, glioblastoma multiform ile eşanlamlı kullanılmaktadır (25). İsimlendirmedeki "Multiform" klasifikasyondaki problemlerden ve tümör derecelendirmesinden kaynaklanmaktadır çünkü bu tümörler oldukça heterojendir (58).

Gliomaların genetik özellikleri Nörofibromatöz ve Li-Fraumeni sendromunun moleküler temellerinin açıklandığı 1980'lerin son dönemlerinden bugüne kadar yapılan çalışmalarla ortaya konulmaya çalışılmaktadır. Son yıllarda geniş olgu-kontrol serilerinde gerçekleştirilen tüm genom asosiasyon çalışmaları düşük penetrans gösteren genlerin belirlenmesini sağlamıştır (41). Li-Fraumeni sendromlu ailelerdeki gibi yüksek penetrans gösteren genlerin çoğunlukla P53 geni germ hücreleri mutas-

yonu olduğu ve sadece beyin tümörleri değil aynı zamanda meme, sarkom, lösemi gibi diğer pek çok kanser tipi gelişiminde de rol oynadığı belirlenmiştir. Lynch sendromunda, pek çok gene ilişkin, germ hücre mutasyonları saptanmıştır ki bu genler; özellikle Turcots sendromu bağlantılı gelişen gliomalarla ilişkilendirilmiş biallelik mutasyonları olan genlerdir.

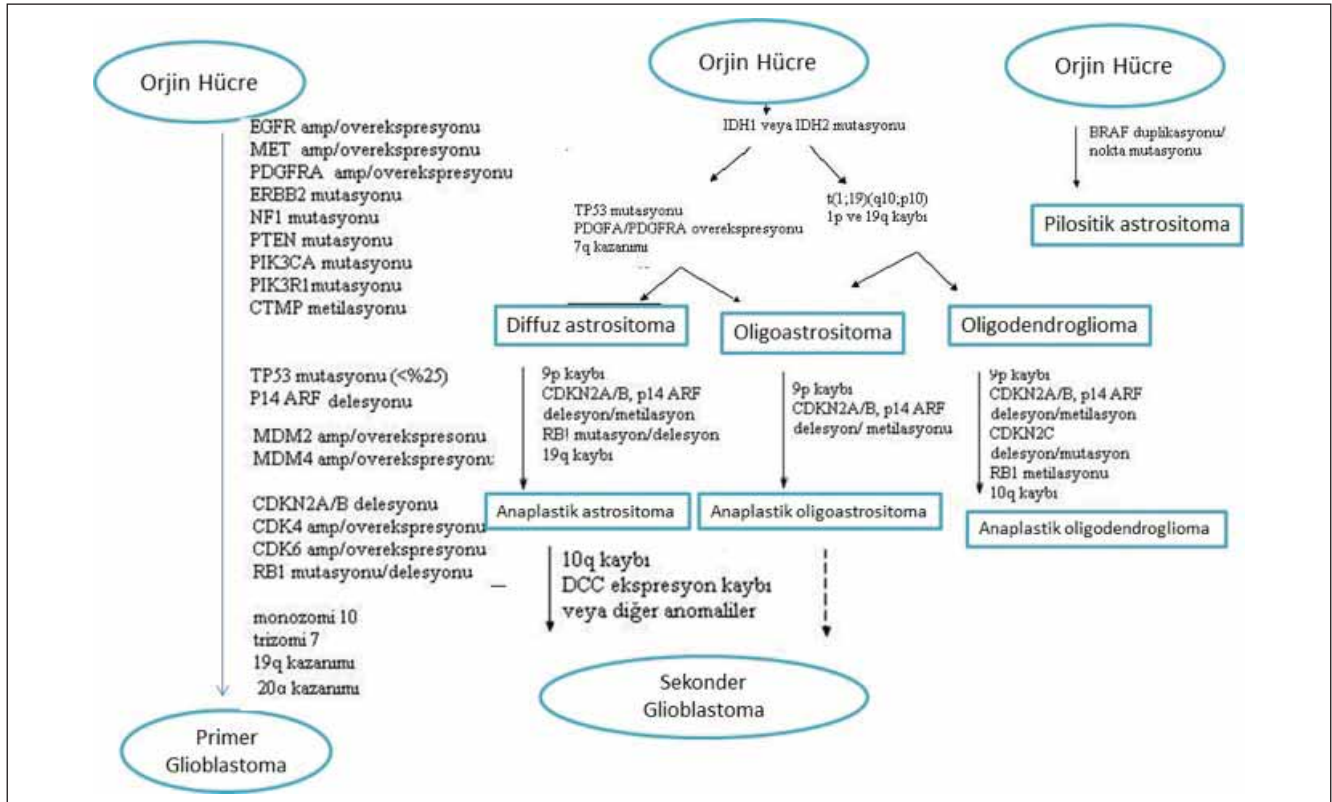
Nörofibromatöz Tip I ve II daha spesifik olarak primer beyin tümörleri ile ilişkilidirler. Bu sendromlar aracılığıyla gliomaların germ hücre mutasyonları ile ilişkileri saptanmıştır. Ayrıca, son 10 yıldır yapılan olgu serilerinde yapılan çalışmalar gliomalarındaki familial birikimi ortaya koymuştur (31).

Genetik alt yapının ortaya konması hem karsinogenez sürecini anlamamıza yardımcı olurken aynı zamanda olguların tümör tiplerinin, prognozunu ve tedaviye yönelik hassasiyetlerinin belirlenmesi açısından da büyük önem taşımaktadır.

PRİMER ve SEKONDER GLİOBLASTOMA MULTİFORM GENETİĞİ

Glioblastomalar günümüzde moleküler temelde primer ve sekonder olarak iki altgruba ayrılmaktadır (10). Primer ve sekonder glioblastoma terimi ilk kez 1940 yılında kullanılmış (25) ve bu ayrımı ilk olarak Alman nöropatolojist Hans-Joachim Scherer yapmıştır (39). "Biyolojik ve klinik açıdan astrositomlardan gelişen sekonder glioblastomaları primer glioblastomadan ayırt etmek gerekir. Bunlar muhtemelen uzun klinik süre ile uyumlu glioblastomlardır" diyerek glioblastomaları klinik ve histopatolojik bulgulara göre iki altgruba ayıran ilk kişidir (10).

Popülasyon seviyesinde primer glioblastoma erkeklerde daha sık gelişirken, sekonder glioblastoma ise dişilerde daha sıktır. Primer ve sekonder glioblastoma farklı hastalık subtiplerini oluşturmaktadır. Kişiler farklı yaşlarda etkilenmekte ve farklı genetik yollarla oluşmaktadır (39). Primer ve sekonder GBM dokuları arasında klinik ve sitogenetik farklılık vardır (53) (Şekil 1). Olguların majör grubunu (>%90) primer glioblastoma oluşturmakta, hızlı ve de novo gelişmekte ve malign prekürsör lezyonlara göre klinik ve histolojik belirtileri bulunmamaktadır (39). Genellikle yaşlı kişilerde (60 yaş) gözlenen ve ilk histopatolojik incelemede glioblastoma tanısı konulan tümörlerdir. Hızlı geliştikleri için ilk 3 ay içinde klinik belirti vermekte (10) ve ortalama sağ kalım süresi 4,7 ay olarak bildirilmektedir. Tek basamak transformasyon önerilmemiştir ve diğer neoplazmlar gibi birçok genetik anomali kazanımı sonucu oluşmaktadır. 10q kaybı (%70), EGFR amplifikasyonu (%36), P16^{INK4A} delesyonu (%31) ve PTEN mutasyonu (%25) ile karakterize edilmektedir (39). Sekonder glioblastoma, düşük grade diffüz astrositoma veya anaplastik astrositomadan yavaş progresyonla gelişmektedir (39). Düşük dereceli astrositomaların GBM'e dönüşmesi için geçmesi gereken süre ortalama 4-5 yıldır (27). Sekonder GBM'in görülme yaşı 30-40'lı yaşlardır (10) ve olguların ortalama sağ kalım süresi 7-8 aydır. Sekonder glioblastoma tanısı klinik veya histolojik bulgu gerektirmektedir. Genetik temelde, TP53 mutasyonuna sıklıkla rastlanmakta ve bu anomalinin erken dönemde saptanabildiği ifade edilmektedir (39,40). Primer ve sekonder GBM, morfolojik ola-



Şekil 1: Astrositik tümörlerde moleküler değişim (Riemenschneider ve arkadaşlarından değiştirilerek alınmıştır) (49).

rak ayırıt edilemez, her ikisi de hasta yaşı dikkate alınmadığına da kötü prognoza sahiptir (52). Tüm kanserlerde olduğu gibi GBM dokusuna ait tümör hücrelerinde de yaşam sinyallerinin aktivasyonunda artış, anjiyogenez, kontrolsüz çoğalma, doku invazyonu yapabilme ve apoptoza direnç gelişimi görülmektedir (27,52). Bu süreçler normalde kompleks sinyal yolları ile regüle edilmektedir. Sinyal yolları diğer birçok malignansi ile benzerdir, saptanan anomaliler aktive (onkogen) veya patolojik olarak baskılanan (tümör süpressör gen) sinyal yollarını içermektedir. Büyüme faktörleri, hormonlar, büyüme faktör reseptörleri, sinir sistemi hücrelerinin büyüme ve farklılaşmasından sorumlu integrinler ve mikroçevre stimülasyonunu (pH, oksijen seviyesi vs.) içermektedir (5).

Primer GBM'de epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), siklin bağımlı kinaz inhibitörü 2 (CDKN2A) genlerindeki mutasyonlar ve kromozom 10q23'te heterozigosite kaybı en sık saptanan genetik değişikliklerdir. MDM2 proteininin aşırı ekspresyonu, primer GBM'lerin %50'sinden fazlasında görülmektedir. Kromozom 10q23'te meydana gelen heterozigosite kaybı (LOH) olguların %60-80'inde meydana gelmekte ve bu bölgede bir tümör baskılayıcı gen olan fosfat ve tensin homolog (PTEN) geni bulunmaktadır (27). EGFR ailesi üyeleri ve ligandları merkezi sinir sistemi (MSS) hücre göçü, proliferasyonu, farklılaşması ve sağ kalımını içeren MSS gelişmesinde ve idamesinde kritik role sahiptir (14). Primer glioblastoma gelişiminde anahtar bir sinyal ileti sistemidir (39) ve gliomagenezde merkezi role sahiptir (24). GBM'de EGFR gen amplifikasyonu (%40-80) ve EGFR overekspresyonu (%10-%60) görülmektedir (14). EGFR amplifikasyonu ve overekspresyonu primer GBM'de sık görülürken sekonder GBM'de ise daha nadirdir. EGFR gen amplifikasyonu genin yapısal değişiklikleri ile ilişkilidir. EGFR geninin yedi majör mutant varyantı tanımlanmıştır, en çok gözlenen varyant III (EGFRvIII), de2-7EGFR veya pEGFR olarak da adlandırılmaktadır. Ekzon 2-7'deki delesyon sonucunda EGFRvIII oluşur, genomik seviyede anormal transkript ekspresyonu ve protein meydana gelmektedir. Bu genomik delesyon sonucunda ekstraselüler ligand bağlama bölgesinin eksikliğine neden olmakta ve reseptör yapısal olarak otofosforillenmekte, tümör büyümesi, proliferasyonu, migrasyonu ve tümör neovaskülarizasyonu da artmaktadır. Bu etkilenmiş reseptör, kemoterapi direncinden sorumlu tutulmaktadır (24). P16^{INK4A}/RB1 yolağı primer ve sekonder glioblastomanın her ikisinde de önemli bir yoldur. Homozigot P16^{INK4} delesyonu primer GBM'de sekonder GBM'e göre daha sık bulunmaktadır. Son TCGA pilot projesinde RB1 sinyal yolağı anomalilerinin %78 görüldüğü bildirilmiş ve bu anomalileri; P16^{INK4A} homozigot delesyonu (%52), P15^{INK4B} homozigot delesyonu (%47), P18^{INK4C} homozigot delesyonu (%2), CDK4 amplifikasyonu (%18), siklin D2 (CCD2) amplifikasyonu (%2), CDK6 amplifikasyonu (%1), RB1 mutasyonu veya homozigot delesyonu (%11) olarak listelenmişlerdir (39).

Sekonder GBM'de platelet kökenli büyüme faktörü reseptörü A (PDGFRA), PDGFRA ligandı ve tümör baskılayıcı protein 53 (TP53) genlerinde çeşitli genetik değişiklikler bulunmaktadır. Ayrıca, p16^{INK4A}, pRB1 genlerinde mutasyonlar, siklin bağımlı kinaz 4/6 (CDK) ve murine double minute 2 (MDM2) genlerinin

amplifikasyonu, kromozom 10 delesyonları sekonder GBM'de saptanmış genetik değişikliklerdir (52,53). TP53 yolağı sekonder glioblastomanın gelişiminde kritik bir rol oynamaktadır. TP53 geni 17p31,1'de lokalize (39) ve hücre siklusu, DNA hasarına hücre sel yanıt, hücre ölümü ve hücre farklılaşmasını içeren birçok hücre sel süreçte önemli rolü olan bir protein kodlamaktadır (39,40). Sekonder GBM'lerde p53 mutasyonları yüksek bir insidansa sahiptir (>%65). Sekonder GBM'lerde mutasyon %57 oranında 2 hotspot bölge olan kodon 248 ve 273'de lokalize iken, primer GBM'lerde mutasyonların (%10) tüm ekzonlara eşit oranda dağıldıkları gözlenmektedir (35). p14^{ARF} ekspresyon kaybı GBM'lerde sık gözlenmektedir (%76) ve bu homozigot delesyonu veya p14^{ARF} promotor metilasyonu ile korelasyon göstermektedir. p14^{ARF} değişikliklerinin görülme sıklığı primer ve sekonder GBM'de farklılık göstermez, fakat p14^{ARF} promotor metilasyonu sekonder GBM'lerde daha sık gözlenmektedir (35). RB LOH veya nokta mutasyonu GBM'de %30-40 sıklıkta bulunmaktadır (5). RB1 promotor metilasyonu sekonder GBM'de (% 43) primer GBM'e göre (% 14) daha sık gözlenmektedir (39). Glioblastoma progresyonu sırasında, tüm bu anomalilere ek olarak kromozom 10 kaybı (39) ve tümör baskılayıcı PTEN gen delesyonunda primer ve sekonder GBM'de saptanan ortak genetik değişikliklerdir. Ancak bu sınıflandırmanın kesin sınırları yoktur. Bu nedenle, her iki tip GBM'de de TP53 mutasyonu ve CDK4 amplifikasyonu gibi genetik değişikliklere rastlanabilir (52,53). 10q heterozigosite kaybı primer ve sekonder glioblastomada benzer sıklıkta, 10q25-qter, gözlenen genetik anomalidir (%60-80) (39). Birçok LOH çalışması 3 benzer lokusun delesyonunu tanımlamıştır. 10p14-p15, 10q23-24 (PTEN) ve 10q25-qter ve birçok tümör süpressör genin glioblastoma patogenezinde önemli rol oynadığı sonucuna varılmıştır (27, 39).

GBM hücrelerinde saptanan ve canlılığı tetikleyen diğer önemli yolak fosfatidilinositol 3 kinaz (PI3K) yolağıdır. Çeşitli tirozin kinaz reseptörlerinin (EGFR, PDGFR gibi) büyüme faktörleriyle aktivasyonu sonucu PI3K/Protein Kinaz B (PKB, AKT) yolağı aktiveleşir ve nükleer faktör κ B (NF κ B) aracılığıyla yaşamı ve proliferasyonu düzenleyen genlerin aktivasyonu sağlanır. PTEN bu yolağı bloke edebilir ancak GBM'de saptanan PTEN mutasyonunun bu yolağı inaktive etmediği belirtilmektedir. Tirozin kinazların aktivasyonu sonucu tetiklenen diğer bir yol ise RAS onkogeni aracılığıyla mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK) yolağıdır. Bu yolağın aktivasyonu da, glia hücresinde yaşam ve büyümeyi kontrol eden genlerin ekspresyonunu sağlayan transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu tetikler. GBM'de bu sinyallerin aktivasyonuna neden olan tirozin kinaz reseptörlerinde mutasyon meydana gelmesi sinyal yollarının kontrolsüz aktivasyonuna neden olmaktadır (27). LOH 22q sekonder GBM'de (%82) primer GBM'e göre (%41) daha sıktır. 22q delesyonu primer GBM'de 2 delesyonlu bölge ile karakterize edilmektedir, bunlar 22q12,3 ve 22q13,31'dir (39). Kromozom 19q'daki LOH sıklıkla oligodendrogliomda (%70) gözlenirken, düşük dereceli astrositomların, AA (Anaplastik Astrositom) ve GBM'e dönüşümünde rol aldığı da düşünülmektedir. Kromozom 19q da LOH; diffüz astrositomda ~ %15, AA'da ~ %45 ve sekonder GBM'de %54 gözlenirken,

primer GBM'de ancak %6 düzeyinde gözlenmiştir. Bu da, 19q da olan LOH'un düşük dereceli astrositomların malign formlara dönüşümünde rol aldığını göstermektedir (10).

Sitogenetik yapı bakımından GBM oldukça karışıktır. Sayısal ve yapısal kromozomal anomaliler sık görülmektedir. Translokasyonlardan t(15;19) ve t(10;19), kayıplardan 9p, 10p, 10q, 13q, 17p ve 19q bölgelerindeki kayıplar sık saptanan kromozomal anomalilerdir. GBM'de genel olarak kromozomal kayıpların, kromozomal kazanımlardan daha fazla olduğu belirtilmektedir (10).

2008'de 22 glioblastoma multiform örneğinde yapılan geniş çaplı genom analizinde daha önce tanımlanmamış (36) ve hücreyi oksidatif strese karşı korumada görevli izositrat dehidrogenaz 1 (IDH1) geninde çeşitli mutasyonların var olduğu tanımlanmıştır (27). IDH1 genindeki mutasyon ilk olarak Sjöblom ve ark. tarafından 2006 yılında kolorektal kanserde tanımlanmıştır. Daha sonra ise 2008 yılında tüm genom mutasyon analizleri ile Parsons ve ark. tarafından glioblastomalarda tanımlanmıştır (44). Kanserlerde elde edilen veriler anormal metabolizmanın karsinogenezde önemli bir rol üstlendiğini göstermektedir (44). John Hopkins ve Duke Üniversitesinde yapılan ve yeni ufuklar açan çalışmada, primer ve sekonder glioblastoma olgularında 2000'den fazla gen sekanslanmış ve birçok gende mutasyon olduğunu ortaya çıkarılmıştır. Bu genler arasında sürpriz olarak metabolizma ile ilişkili izositrat dehidrogenaz 1 (IDH1) geninin de mutant olduğu bulunmuş ve metabolik genlerdeki mutasyon glioblastomada ilk kez rapor edilmiştir (44). İnsan genomu 3 farklı IDH enzimi (IDH1, IDH2, IDH3) kodlayan 5 IDH genine sahip olup bunlar; IDH1, IDH2, IDH3A, IDH3B ve IDH3G genleridir (26, 30). Gliomada IDH1'in en sık R132H mutasyonu (G395A) arjinin aminoasitinin histidine, IDH2'nin R172K mutasyonu (G515A) ise arjinin lizine dönüşümüne neden olmaktadır (54). IDH1 sitoplazma ve peroksizomda, IDH2 ve IDH3 ise mitokondri de lokalizedir. IDH'lar izositratın α -ketoglutarata (α -KG) oksidatif dekarboksilasyonunu ve NAD(P)⁺'nin NAD(P)H'a indirgenmesini katalizlemektedir (26, 30).

IDH'lar hücrel metabolizmada önemli role sahiptir. IDH1 lipid metabolizması ve glikoz toleransında, IDH2 oksidatif solunumun regülasyonunda ve IDH3 trikarboksilik asit (TCA) siklusunda aerobik enerji üretiminde görev almaktadır. Normal hücrel metabolizmadaki rollerine ek olarak oksidatif hasara hücrel yanıtta rol oynamaktadırlar (30).

Yabanıl tip IDH1 α -ketoglutaratın NADPH'a oksidatif dekarboksilasyonunu katalizlemektedir. IDH1 mutasyonu tümör spesifiktir ve çeşitli glioma tiplerinde özellikle histolojik olarak sınıflandırılmış düşük derece gliomalar ve sekonder glioblastomalarda, akut myeloid lösemi (8), B-akut lenfoblastik lösemi, kolorektal kanser ve prostat kanserinde, en son çalışmalarda tiroid kanseri ve foliküler tiroid kanserinde iki yeni homozigot IDH1 mutasyonu tespit edilmiştir (30).

IDH1'in mutasyon profili; evrimsel olarak korunmuş tek rezidüyülü etkilemektedir (arjinin R132), arjinin izoenziminin

substrat bağlanma bölgesinde lokalizedir (3), diğer IDH mutasyonları R132V (%0,1) hariç, komşu baz değişimi sonucunda arjininin sisteine (%4,7), glisine (%2,1), serine (%1,7) ve lösine (%0,8) dönüşebilmektedir. %90'dan fazla IDH1 mutasyonu R132H şeklindedir (26). Neredeyse rapor edilen tüm olgulardaki mutasyon heterozigottur ve inaktive edici değişiklikler çerçeve kayması, delesyon ve non-sense mutasyonlar bu genlerde tanımlanmamıştır (46). Genetik perspektif açısından IDH1 mutasyonunun fonksiyon kazandırma (onkogenlerdeki gibi) özelliğinde olduğu bildirilmektedir (3).

Mutasyon IDH1'in standart enzimatik aktivitesini inaktive etmektedir. Sonuçta IDH1 mutant olduğu zaman α -ketoglutarat seviyesi yarıya inmektedir. Sitoplazmadaki α -ketoglutarat HIF-1 α 'nın oksijen bağımlı degradasyonunu başlatmaktadır. α -ketoglutarat'ın sitoplazmadaki seviyesinin azalması HIF-1 α 'nın seviyesinin artmasına ve HIF-1 α ve HIF-1 β 'yi içeren HIF-1 heterodimerinin transkripsiyonel aktivite için nukleusa taşınmasına neden olmaktadır (3).

HIF-1 düşük oksijen basıncına adaptasyonda anahtar role sahip olmakla birlikte anjiyogenezi, hücre motilitesi, invazyon ve enerji metabolizmasını düzenleyen genlerin transkripsiyonunu da indüklemektedir (3). Tümörlerde IDH1 R132 mutasyonu NADPH üretimini etkilemekte, NADPH detoksifikasyon prosesi ve oksijen radikallerinin temizlenmesinde önemli role sahip olup kanser hücrelerini kemoterapi ve radyoterapi sırasındaki stresten korumaktadır (3). Nükleik asit sentezinde, IDH1 pentoz fosfat yolağında elektron alıcısı NADP⁺ ile rekabet etmektedir. IDH1'in overekspresyonu sonucunda reaktif oksijen türlerine, bunun yanı sıra radyasyona karşı koruma artarken, IDH1 inhibisyonu sonucunda hassasiyet artmaktadır. IDH1 mutasyonları hücrel göç ve hipoksiye hücrel yanıtta rol oynamaktadır. Örneğin, sistolik IDH1 inhibisyonu glioma hücrelerinin göçünü teşvik eden laktatın üretimini artırdığı rapor edilmiştir (26). IDH1 mutasyonunun tümör büyümesi ve anjiyogenezi artırdığı öne sürülmektedir (56).

IDH1 ve IDH2 mutasyonlarının keşfinden bugüne, mutasyonların kanserdeki fonksiyonel önemi sır olarak kalmıştır. Mutasyonun IDH1'de fonksiyon kaybına neden olduğu rapor edilmiş ve HIF-1 α düzeyinin mutasyonlu tümörlerde mutasyon olmayanlara göre yüksek seviyede olduğunu dolayısıyla bu genin tümör süpresör gen olduğu sonucuna varılmıştır. Fakat IDH1 mutasyonlu tümörlerde tek bir metabolit, 2-hidroksiglutarat (2-HG), yüksek seviyede bulunmuştur. Bu verilere göre in-vivo birikmiş 2-HG gliomaların malign progresyonuna ve formasyonuna katkıda bulunmaktadır. Mutant IDH'in metabolitleri; α -KG, NADPH, 2-HG ve HIF-1 α 'dır (30, 46).

α -Ketoglutarat

IDH1 mutasyonu enzimin substrata olan afinitesini bozmakta ve yabanıl tip IDH1'in normal fonksiyonu olan izositratı α -KG'a çevirmesini inhibe etmektedir. Mutasyon sonucu inaktif katalitik heterodimer formasyonu oluşmakta ve izositrattan α -ketoglutarat dönüşümü inhibe olmaktadır. İleri çalışmalar mutasyona uğramış IDH1 ve IDH2'nin NADPH'den NADP dönüşümü esnasında α -ketoglutarattan D-2-HG'ın dönüşümüne neden olduğu belirtilmiştir (30, 60).

NADPH

NADPH üretimi apoptozisin baskılanması ve hücreye büyüme ve hayatta kalma avantajı sağlamakla bağlantılıdır. NADPH glutatyon sentezi için de gereklidir, glutatyon hücreleri redoks stresten korumakta ve apoptozise karşı dayanıklılığı artırmaktadır. Ayrıca sitozolik NADPH membran ilişkili NADPH oksidaz için substrat, aynı zamanda tirozin fosfataz proteinini inhibe eden hidrojen peroksit üretmektedir. Dolayısıyla kinaz aktivasyonunu, bununla birlikte otonom hücre sağkalımı ve mitojenik sinyal sistemini kolaylaştırmada yer alır. Bu süreçte IDH1 ve daha az oranda IDH2 hücresele NADPH'in önemli bir bölümünü sağlamaktadır. Glioblastomada total NADPH üretim kapasitesinin %65'i IDH aktivitesi ile sağlanmakta ve IDH1 R132 mutasyonunun oluşması ile bu kapasite %38'lere inmektedir. Dolayısı ile IDH1 mutasyonu NADPH üretimi için engel teşkil etmektedir. Mutant IDH'lı gliomalardaki NADPH seviyesi hala bir soru olarak ileri çalışmalarla desteklenmeyi beklemektedir (30).

2-Hidroksi Glutarat

2-HG'in normal metabolik rolü tam olarak anlaşılamamıştır. 2-HG NADPH bağımlı α -KG indirgenmesinin direkt ürünüdür. Genel olarak α -KG redüktaz enzimi için spesifik olup 2-HG dehidrogenaz ile tekrar α -KG'a oksidize edilmektedir. IDH1 R132 ve IDH2 R172 mutasyonları ile yeni enzimatik aktivite kazanımı sonucu gliomalarda 2-HG üretimi görülmekte ve NADPH'a bağılı α -KG redüksiyonunun direkt ürünü 2-HG oluşmaktadır. Deneyler IDH1 mutasyonlu kanserli hücrelerin kanserli olmayanlara göre 2-HG seviyesinin 100 kat daha fazla olduğunu göstermiştir. Kanserli hücrelerde biriken bu metabolit 2-HG 2 enantiomer olarak var olmaktadır. 1-2 HG ve D-2-HG (biri diğerinin ayna izdüşümüdür) her ikisinin de ilgili enzim ile dönüşümü hücreler için defektifdir. 2-HG enantiomerlerinin klinik açıdan değerlendirilmesi sonucu patolojik olarak L-2-HG birikimi progresif nöronal defektler ve gliomaları içeren beyin tümörleri için artmış riske neden olduğu sonucuna varılmıştır (30). Beyinde 2-HG artması sonucu ROS (Reaktif oksijen türleri) seviyesinde artış olmakta bu da potansiyel olarak kanser gelişimi riskinde de artışa neden olmaktadır. 2-HG hücreler için toksik olup bunu glutamat ve α -KG kullanan enzimlerin inhibisyonunu yaparak gerçekleştirmektedir (13, 29). 2-HG, dioksijenazlar olarak bilinen histon demetilaz ailesinde görev almakta ve metil gruplarını histonlar üzerinden çıkararak gen ekspresyonunu düzenlemektedir. 2-HG tümör mikro-çevresinde ve mitokondri hasarında rol almaktadır. Böylelikle yeniden hücre programlanmasına ve hücreleri anaerobik glikolize girmeye zorlamaktadır (Warburg Etkisi). Birçok kanser hücresinde enerji, baskın olarak sitozolda aerobik glikozis ile üretilir. Normal hücreler ise mitokondride piruvatın oksidasyonu ile bunu gerçekleştirir. Metabolizmadaki bu değişim kanserin temel nedenidir (26, 30).

Hipoksi ile İndüklenebilir Faktör (HIF-1 α)

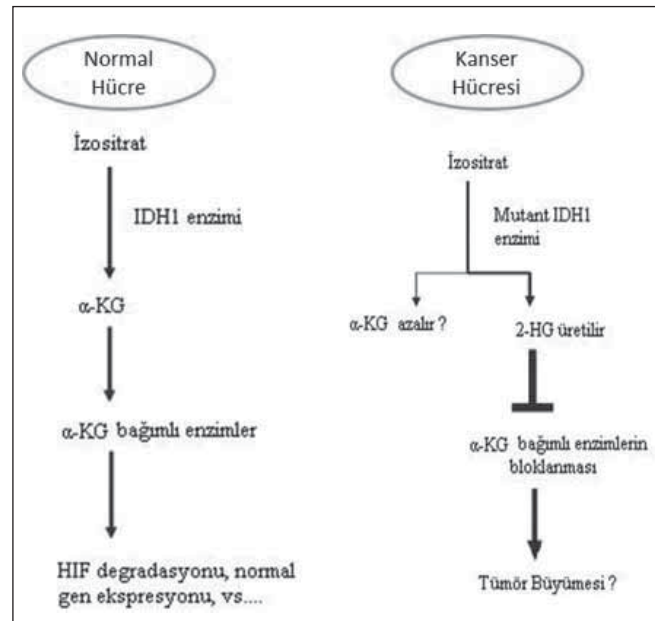
HIF, düşük oksijen seviyelerinde aktif hale geçen ana regülatör genlerden biridir ve glikoz metabolizması, anjiyogenez,

hücre hareketinde, invazyon ve tümör büyümesinde kritik rolü olan sinyal yolları ile ilişkili genlerin ekspresyonunu düzenlemektedir (30) (Şekil 2).

PDH (Prolyl hydroxylase) α -KG'ı HIF-1 α degradasyonu için substrat olarak kullanmaktadır. TCA (Tri karboksilik asit) siklusunun diğer iki enziminin aktivitesinin kaybı, suksinat dehidrogenaz (SDH) veya fumarat hidrataz (FH), tümörogenezi suksinat veya fumaratı artırarak sağlamaktadır. Bu substratlar α -KG'ın kosubstratı ile PHD'yi inhibe etmekte ve HIF transkripsiyon faktörü aktivasyonuna ve HIF-1 α seviyesinin artmasına neden olmaktadır. Deneylerde IDH1 mutasyonlu gliomalarda, mutasyonsuz olanlara göre HIF-1 α düzeyi daha yüksek olarak gözlenmiş ve yüksek düzeydeki HIF-1 α transkripsiyonel aktivite için nükleusa taşınmaktadır (30).

Mutant IDH'lar α -KG'ı kullanarak düşük hücresele seviyeye ve böylece PHD inaktivasyonuna yol açabilirler. Alternatif olarak, 2-HG mutant IDH'lar tarafından üretilmekte, PHD'lar enzimin α -KG bağlanma bölgesini işgal ederek inhibe etmek için yarışmaktadırlar (30).

Metabolik reaksiyonlar IDH ailesi tarafından katalizlenmektedir. IDH1 peroksizom ve sitoplazmada izositratın α -KG'a NADP+ bağımlı dekarboksilasyonunu katalizlemekte, IDH2 aynı reaksiyonu mitokondride gerçekleştirmektedir. Mitokondriyal bölmede heterotetramerik IDH3 izositratın α -KG'a çevrilmesini NADP+ bağımlı olarak katalizlemektedir. IDH1 ve IDH2'deki mutasyonlar bu enzimlerin α -KG'ın 2-HG'a çevirme yeteneğini azaltarak etki etmektedir. Bu iki metabolit arasındaki kimyasal benzerliğin temeli, IDH1 ve IDH2 mutasyonlarını barındıran tümörlerde α -KG bağımlı enzimlerin aktivitesi ile 2HG'in seviyesinin yükseltilmesini mümkün kılmaktadır (6, 60).



Şekil 2: Normal ve kanser hücresinde izositrat metabolizması (Garber ve arkadaşlarından değiştirilerek alınmıştır) (14).

IDH1 mutasyonu neredeyse tüm glioma subtiplerinde, primer glioblastoma hariç, %50'den %80'e değişen oranda gözlenmektedir. IDH1 diffüz astrositoma ve anaplastik astrositomada ortak olan birkaç genden biridir. IDH1 mutasyonunun prevalansı primer glioblastomalarda (%5) sekonder glioblastomalara (%75) oranla daha azdır. IDH1 mutasyonu diffüz astrositoma ve anaplastik astrositomada benzer oranda gözlenirken pilositik astrositomada nadir gözlenmektedir (26).

GLİOBLASTOMA MULTİFORM ve DNA METİLYASYONU

DNA metilasyonu, DNA'yı doğrudan etkileyen epigenetik bir mekanizmadır. DNA metilasyonu, embriyogenez ve genomik baskılanma, yaşlanma, X kromozomunun transkripsiyonel inaktivasyonu, kanser gibi biyolojik süreçlerde önemlidir (4). DNA metilasyonunun, kanser sürecine önemli katkı sağladığı gözlenmiştir. Tümör hücrelerinde hipometilasyon, genomun tekrarlayan bölgelerinden metilasyonun kaybına ve genlerin yeniden aktivasyonuna neden olur. Genomik metilasyonun kaybı, kanserde sık ve erken gözlenen bir olaydır. Bu kayıp pek çok tümör çeşitinde metastatik potansiyel ve hastalığın şiddeti ile ilişkilidir (15,50). Promotor bölgelerinde hatalı sitozin birimlerinin hipermetilasyonu ise, tümör supressör genlerin transkripsiyonel sessizleşmesine, gen ekspresyonunda değişikliğe ve DNA tamir genlerinin inaktivasyonuna neden olmaktadır (4,7). Bu iki özelliğe tümör hücresinin gelişimi için büyük bir avantaj kazandırmaktadır.

Kanserde, DNA hipermetilasyonuna uğrayan sayısız gen bildirilmiştir. Bu genler, hücre döngüsünü düzenleyen genler (p16^{INK4a}, p15^{INK4a}, Rb, p14^{ARF}), DNA tamir mekanizması ile ilişkili olan genler (BRCA1, MGMT), apoptoz genleri (DAPK, TMS1), ilaç direnci, detoksifikasyon, farklılaşma, anjiyogenez ve metastazla ilgili genlerdir (7).

GBM'de de birçok genin epigenetik olarak inaktivasyonu saptanmıştır. GBM'in sağ kalım yolağında disregülasyon neden olan carboxyl-terminal modilatör protein (CTMP) geni (43) ve PTEN promotör metilasyonu; hücre siklusu gibi hücre fonksiyonlarda anahtar rolü olan p16^{INK4a}, p15^{INK4b} genleri hipermetile olmaktadır. Aynı zamanda tümör supressör genler; RB1, VHL, EMP3, RASSF1A, BLU (34), BEX1 ve BEX2 (43), DNA tamiri ve genom bütünlüğü ile ilgili genler MGMT ve MLH1; tümör invazyonu ve apoptozis ile ilgili genler DAPK, TIMP3, CDH1, PCDH-gamma-A11 ve TMS1/ASC'da da hipermetilasyon görülmektedir (34).

MGMT

Gıda, ilaç, kozmetik, tekstil ve daha birçok sanayi ürünü ile birlikte hayatımıza giren çeşitli kimyasal maddelerin kansere yol açtığı uzun süredir bilinmektedir. Bu kimyasalların en önemli gruplarından biri olan alkilleyici maddeler nükleik asitlerle ve diğer hücresele moleküllerle etkileşerek onlara alkil grubu aktarırlar. Transfer edilen alkil grupları hücrenin biyolojik etkilerini değiştirmektedirler (8).

Alkilleyici maddeler DNA üzerinde çeşitli bölgelerle etkileşebilirler. Özellikle DNA bazlarının halka üzerindeki azot atom-

ları, halka yapısındaki oksijen atomları ve nükleotidler arasındaki fosfatların 5'-3' fosfodiester bağında yer almayan oksijen atomları DNA üzerinde en fazla alkilenen bölgelerdir (8).

Alkilleyici ajanlar ultraviyole radyasyona benzeyen bir DNA hasarına (genellikle DNA'daki O6-G (Guanin), O4-T (Timin) ve O2-T pozisyonları) neden olurlar. Bu ajanlar tarafından değiştirilen bazlar öncelikle pürinler olup oluşan ürün spektrumu kullanılan ajana bağlı olarak çeşitlilik göstermektedir. Memeli hücrelerinde bu gibi yanlış kodlanan alkilasyon lezyonlarını düzeltmek amacıyla DNA tamir mekanizmaları bulunmaktadır. Bu ürünlerin en mutajenik olanı, modifiye edilen zincir duplake olduğu zaman sitozin yerine timin ile eşleşme olasılığı en yüksek olan O⁶-MeG (O6-metilguanin)'dir (57). DNA polimeraz O⁶ MeG'ni yeni sentezlenen kolda sitozin veya timin ile eşleştirir. Eğer O⁶ MeG timin ile eşleşirse G:C → A:T transisyon mutasyonu ortaya çıkaracaktır (8). O⁶-MeG, reaktif hücresele katabolitler tarafından küçük miktarlarda endojen olarak üretilir (57).

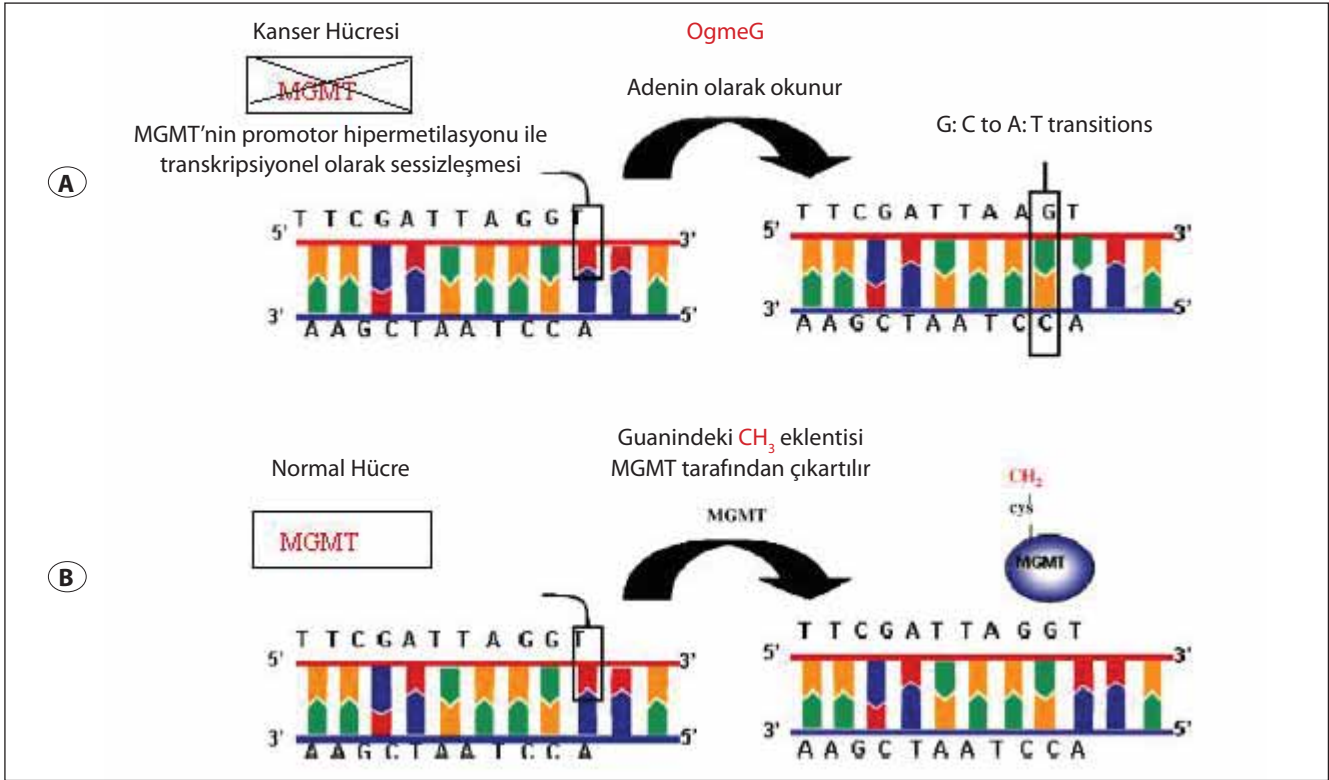
Memeli hücrelerinde, alkilasyonun ve oksidatif DNA hasarının tamiri için kullanılan direkt mekanizma, DNA tamir proteini olan ve DNA'daki alkil gruplarını uzaklaştıran MGMT'yi (O6-Metilguanin-DNA metiltransferaz) içermektedir. İnsan hücreleri sadece bir tip MGMT içerir ve bu MGMT geni 5 ekzon ve 1 intron içermektedir. Yaklaşık 145 bp uzunluğunda ve 10q26'da lokalizedir. Bu gen 866 nükleotidlik bir mRNA, bu ise 207 amino asit içeren 24kDa'lık bir protein kodlamaktadır. MGMT nispeten stabil bir proteindir, yarılanma ömrü 24 saatten uzundur (23).

MGMT'nin DNA'da tamir edilecek bölgeyi nasıl tespit ettiği tam olarak bilinmemektedir. Genel olarak, alkil eklentisinin DNA'da yapışal bir değişikliğe yol açtığı ve bunun da tanınmaya yardımcı olduğu belirtilmektedir (55). Ayrıca, bu konuya ilişkin sunulan bazı öneriler de bulunmaktadır. Bunlardan ilki, MGMT'nin DNA boyunca hareket ettiği ve yapısal olarak dışı doğru çıkıntı yapmış O6-MeG'yi saptadığı yönündedir. Diğer bir öneri de MGMT'nin Watson-Crick modeli dışında kalan ve stabil olmayan baz çiftlerini tanıdığıdır. Bu tamir mekanizmasında, MGMT'nin dizi spesifik bağlanma için heliks-turn-heliks yapısıyla DNA'nın majör oluşuyla etkileşime geçtiği belirtilmektedir. Bu etkileşimin ardından, MGMT DNA'nın minör oluşuna bağlanmakta ve alkilasyon alanındaki alkil grubu, MGMT proteinin aktif bölgesinin 145. pozisyonunda yer alan sistein aminoasidi üzerine taşınmaktadır (33,55). MGMT proteinin 145. pozisyonunda ki sistein amino asidinin bulunduğu bölge evrimsel açıdan korunmuş bir bölgedir (55). MGMT'nin O6-MeG ile etkileşiminin ardından oluşan alkilenen formu tekrar tamir enzimi olarak fonksiyon göremez. Çünkü alkilenen MGMT ubikuitinlenir ve ardından ubikuitin/proteozomal sistem aracılığıyla parçalanır. MGMT proteini, kendisinin parçalanmasıyla sonuçlanan fonksiyonu nedeniyle "intihar eden" enzim olarak tanımlanır (12, 20, 55). Bir MGMT molekülü sadece bir alkil eklentisi tamir edebilir, dolayısı ile hücrelerin tamir kapasitesi toplam MGMT molekül sayısına bağlıdır (22). Hücre içerisinde, MGMT aracılı tamirin devamı için yeni MGMT proteinleri sentezlenir. MGMT'nin aktivitesi

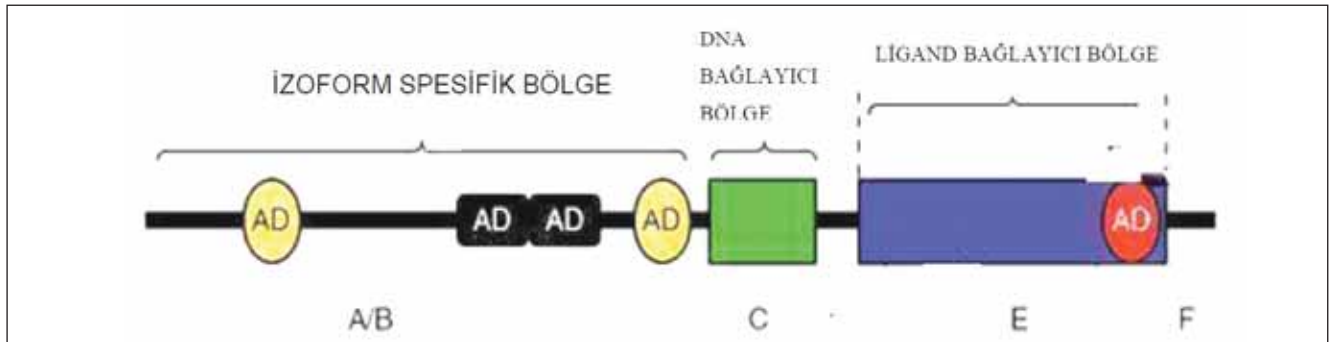
substrattaki yapısal değişikliklere ve MGMT miktarına bağlıdır. Hücre ne kadar çok MGMT sentezlerse tamir oranı o düzeyde fazla olur. MGMT tamir hızı alkil grubunun çeşidine göre değişmektedir. Moleküler büyüklüğü nedeniyle metil (CH₃) eklentilerini etil (C₂H₅) ve propil (C₃H₇) eklentilerine göre daha hızlı tamir etmektedir (22).

MGMT molekülü, sitotoksik alkilleyici bileşiklere maruz kalan hücrelerde alkil eklentilerini kendi üzerindeki sistein amino asidine transfer ederek alkilasyonun mutajenik etkisini ortadan kaldırmaktadır (Şekil 2,4) (12,23). Böylece, MGMT,

monofonksiyonel alkilleyici ajanların sebep olduğu DNA hasarını tamir ederek bu moleküllere karşı gelişen direnç mekanizmalarından birini oluşturmaktadır (33). Bu tamir mekanizması sağlıklı hücreleri alkilasyon ajanlarının sitotoksik etkilerinden korurken kanser hücrelerinde de alkilasyon ajanlarının tedavi etkilerine karşı direnç gelişmesine neden olmaktadır (1,22). Alkilleyiciler tarafından oluşturulan O6 DNA eklentileri ve özellikle guaninin O6 pozisyonundan alkilasyonu, transisyon mutasyonlarının oluşmasına ve kanserin indüklenmesine neden olmaktadır (Şekil 3A,B) (33).



Şekil 3: A) MGMT tamiri ve transisyon mutasyonunun oluşumu. **B)** MGMT'nin metilasyon ile sessizleştirilmesi sonucu transisyon mutasyonu oluşumu. MGMT, hücrel genomu alkilleyici ajanların mutajenik etkilerinden koruması (Jacinto ve arkadaşlarından değiştirilerek alınmıştır) (20).



Şekil 4: RAR-β geni DNA ve ligand bağlayıcı fonksiyonel bölgeleri (2). Evrimsel olarak yüksek oranda korunmuş olan C ve E bölgeleri kutularla gösterilmiş, değişken olan sekanslar (A/B, D ve F) ise siyah bar ile gösterilmiştir. N terminal ucu (A/B bölgesi) bir otonom transkripsiyonel aktivasyon işlevi içermektedir (AF-1). Yüksek oranda korunmuş olan C bölgesi dizi spesifik DNA tanıması işlevini gören DNA bağlanma bölgesini kodlamaktadır.

MGMT'nin aktivitesi çeşitli normal ve tümör dokularında (beyin, kolon, over, testis ve meme) tanımlanmıştır. Normal dokularda MGMT ekspresyonu doku ve hücre-tipine göre regüle olmaktadır. Tümör dokularında ekspresyonu oldukça değişiklik göstermektedir. Kolon kanseri, pankreatik karsinoma ve akciğer kanserinde yüksek seviyede MGMT aktivitesi varken, beyin tümörleri ve malign melanomada düşük MGMT aktivitesi gözlenmektedir (23).

MGMT aktivitesi tümörde onu çevreleyen normal dokulara göre daha yüksektir. Over kanserinde MGMT ekspresyonu sınıflandırma ve evrelendirme ile ilişkilendirilmiş, glioblastomalarda ise rekkürrens aktivitesinde artış olduğu gözlenmiştir (23). Malign gliomalarda MGMT, kemoterapotik ajanların indüklediği alkil lezyonlarının çıkarılmasında görev almakta ve metillenmesi sonucunda MGMT proteininin azalmış ekspresyonu, DNA tamir aktivitesinde azalmaya ve nitrozüre ve temozolomid gibi alkile edici ajanlara karşı hassasiyet artmaktadır (30). Bu özelliğinden dolayı da gliomalı kişilerde "kemosensitivite sensör"ü olarak da adlandırılmaktadır (28).

Glioblastomaların yarısında MGMT konsantrasyonu azalmıştır, bu sayede tümörler temozolomid etkisine karşı duyarlı hale gelmektedir. Kanserlerde MGMT geni mutasyon veya delesyona uğramaz, MGMT fonksiyon kaybı spesifik olarak promotör bölge metilasyonu ile olmaktadır (42). MGMT ekspresyonundaki azalmada etkili olan esas mekanizma MGMT promotör metilasyonudur (21).

MGMT'nin hipermetilasyon ile epigenetik olarak sessizleştirilmesi primer glioblastomalarda %40, sekonder glioblastomalarda ise % 70'den fazladır. MGMT promotör metilasyonu difüzyon ve anaplastik astrositomaların yarısında, oligodendrogliyal ve mix tümörlerin üçte ikisinde bulunmaktadır (36,48).

Glioblastomalı kişilerde MGMT promotör metilasyon analizi geniş prospektif klinik çalışma gerektirmekte ve kombine radyo/kemoterapi tedavisi ile metile MGMT promotörü olan tümörlü kişiler MGMT promotör metilasyonu olmayanlara göre daha uzun yaşamaktadır. MGMT hipermetilasyonu net olarak glioblastoma multiformda nitrozüre ile alkile kemoterapiye, temozolomid veya her ikisinin kombinasyonuna yanıtta prediktif bir marker olduğu tanımlanmıştır (36).

RETİNOİK ASİT RESEPTÖR BETA (RARβ) GENİ

Kromozom 3p de lokalize RARβ geni troit-steroid hormon reseptör süper ailesine üye protein kodlamaktadır. Retinoik asit cevabını başlatan bir nükleer reseptör olarak görev yapar. Retinoik asit reseptörü β'yi kodlayan RARβ geni, (önceden HAP; RRB2; NR1B2 olarak da adlandırılmıştır) somatik hücre hibridizasyonu ve in situ hibridizasyon metotlarıyla kromozom 3p24 bölgesinde 25443028-25614427 nükleotidleri arasına haritalanmıştır. Bu gen özellikle epiteliyal dokularda baskın bir ekspresyon paterni göstermektedir.

RARβ geni, P1 ve P2 promotörlerinin etkisiyle alternatif kırılma sonucu dört farklı izoform oluşturmaktadır. RARβ1 ve RARβ3 izoformları P1 promotöründen transkribe olmakta, RARβ2 ve RARβ4 izoformları ise P2 promotörünü kullanmak-

tadır. İnsanlarda tanımlanan üç RARβ izoformu β1, β2, ve β4'tür. β1 ve β2 izoformları nükleusta yer alırken, β4 izoformu sitoplazmada lokalizedir. RARβ geninin anlatımını yaptığı protein, bir nükleer hormon reseptörü olup birçok başka genin çalışmasını düzenlemektedir. ELF3, NCOA2, ZNF42 ve CDNK1A genlerinin ekspresyonları RARβ tarafından düzenlenmektedir. (2,35).

RARβ ürünü olan reseptör, biyolojik olarak vitamin A'nın aktif formu olan retinoik asit ile bağlanır. Embriyonik dönem morfogenezin, hücrel sinyal yolağında ve hücre büyümesi ile farklılaşmasında yer alır. RARβ transkriptinin fare sinir sisteminin emriyonik dönem gelişiminde, belirgin noktalarda yer aldığı gösterilmiştir (Şekil 4) (32).

RARβ geninin çocukluk çağı intrakraniyal ependimomlarında ve koroid pleksus tümörlerinde metile halde bulunduğu bildirilmiştir (45). Ancak RARβ gen hipermetilasyonunun GBM patogenezindeki durumu henüz bilinmemektedir. Glioblastom olgularında RARβ geni metilasyonu sadece Piperi ve ark. tarafından değerlendirilmiştir. Çalışmalarında 23 derece II-IV tümörde %58,8 metilasyon oranı saptamışlardır. Ayrıca GBM hastalarında RARβ geninin metilasyonu ve tümör derecesi ile pozitif korelasyon kurulmuş, primer GBM progresyonunda agresif fenotip ile ilişkilendirilmiştir ancak bu tümör grubunda RARβ nin rolüne ilişkin veri eksikliği sözkonusudur (38).

GENETİK MARKERLARIN KLİNİK UYGULAMAYA FAYDASI

Bugüne kadar sadece iki moleküler aberasyonun klinik önemi prospektif klinik çalışmalarla ortaya konmuştur. 1p/19q kodelesyonu radyoterapi veya radyoterapi ile kemoterapi alan oligodendrogliyal tümörlerde ve oligoastrositik ve anaplastik gliomalarda iyi prognoz ile ilişkilendirilmiştir (30).

IDH gen profilinin belirlenmesi ölümcül kanser gruplarının klinik değerlendirmesi için bir kılavuz görevi görmektedir. Birçok tümör tipi için kurtarıcı bir prognostik faktördür. Bu nedenle IDH1 ve IDH2'nin mutasyonel durumu klinik-preklinik çalışmaların dizaynı için gelecekte kullanılabilir (30). Onkogenik sinyal moleküllerine zıt olarak metabolik enzimin aktif bölgesi muhtemelen sorumlu hedefdir. IDH1 ve IDH2 mutasyonları kanser gelişiminde diğer genetik değişikliklerden erken meydana gelmekte ve göreceli olarak farklılaşmamış hücrelerden meydana gelen kanserlerde bulunmaktadır. Bunun temelinde bu mutasyonların hücrel farklılaşmanın bloklanmasına aracılık ettiği, karsinogeneze yol açtığı yönünde spekülasyonlar vardır. Eğer bunlar doğruysa, tedavi stratejilerinin hedefi hücre farklılaşma yolağını modüle etmek ve bu kanserlerde tedaviyi sağlamak olacaktır (46).

IDH1 ve IDH2 mutasyon çalışmaları halen tamamlanmamış ve tartışmalı olmasına rağmen, çalışmalar diagnostik ve teröpatik uygulamalara ışık tutmaktadır. IDH1 ve IDH2 mutasyonlarının tek bir amino asit lokalizasyonuna sahip olması, bu genetik değişimin diagnostik amaçlar için kullanımını kolaylaştırır. IDH1 ve IDH2 mutasyonları glioma patogenezinde ve spesifik glioma alt tiplerinin tanımlanmasında merkezi bir rol almaktadır. IDH1 mutasyonu iyi prognoz için kuvvetli bir gösterge

olup sekonder glioblastomayı primer glioblastomadan ayırt etmek için spesifik bir biyomarkerdir. Bu durum histopatolojik analiz için materyalin yetersiz olduğu olgular için yararlı olabilir (30).

Sonuçlanan analizlerin verilerine göre IDH1 ve IDH2 mutasyonlu gliomalı kişiler mutasyonsuzlara göre daha uzun süre hayatta kalmakta ve IDH1 mutasyonu gliomalarda yeni prognostik marker olarak değerlendirilmektedir (29, 30, 41, 59).

IDH1/2 mutasyonları primer ve sekonder GBM ayırımında güçlü bir ayıraç ve prognoz tayini için daha spesifik bir biyomarker'dır. Bu durum histopatolojik analizde, tümör tipi için belirleyici olabilir. IDH1/2 mutasyonlarının tek bir amino asit lokalizasyonuna sahip olması, bu genetik değişimin diagnostik amaçlar için kullanımını kolaylaştırmaktadır (30,47).

MGMT promotör hipermetilasyonu nitrozüre veya temozolomid gibi alkile edici ajanlarla tedavi edilmiş glioblastomalı kişilerde uzun progresyonsuz sağ kalım (PFS) ve genel sağ kalım (OS) ile ilişkilendirilmiştir (11, 16, 17).

IDH1 MUTASYONU ve DİĞER GENETİK DEĞİŞİKLİKLER İLE İLİŞKİSİ

Hücre siklusunu düzenleyen p53 tümör süpressör geninin kodladığı p53 tümör proteini (TP53), apoptoz, DNA tamir, genom stabilitesi ve bu yolaktaki mutasyonlar kanser gelişimine neden olmaktadır. TP53 mutasyonları astrositoma gelişiminde erken gözlenen değişikliklerden olup evre II ve III astrositomalar ve sekonder glioblastomalarda ortak gözlenen bir anomalidir. Yapılan çalışmalarda IDH1 mutasyonu ile TP53 mutasyonu arasında korelasyon olduğu gösterilmiş ancak bu durumu istatistiksel olarak anlamlı bulmayan çalışmalarda vardır. 1p/19q kodelesyonu, oligodendroglial tümörlerde sıklıkla gözlenmektedir. Geniş bir seriyi baz alan bir çalışmada ise tüm tümörlerde 1p/19q kodelesyonu ve mutant IDH1 veya IDH2 geni birarada bulunmuştur (30).

O-6-metilguanin-DNA metiltransferaz (MGMT), kemoterapotik ajanların indüklediği alkil lezyonlarının çıkarılmasında görev alan bir DNA tamir enzimidir. Metillenmesi sonucunda MGMT proteininin azalmış ekspresyonu ile DNA tamir aktivitesi de azalmaya başlamakta ve temozolomid gibi alkile edici ajanlara karşı hassasiyet artmaktadır. 404 glioblastomadan oluşan bir seride IDH1 mutasyonunun 1p/19q kodelesyonu ve MGMT metilasyonu ile arasında sıkı bir ilişki olduğu bulunmuştur (30, 51).

Bu genetik değişiklikler yüksek derece tümör progresyonu sırasında olmaktadır. Disekte edilen birçok biyopside IDH1 mutasyonunun TP53 veya 1p/19q kodelesyonundan önce meydana geldiği saptanmış ve buyüzden IDH1 mutasyonunun gliomagenezin çok erken evrelerinde olduğu ve ortak bir glial prekürsör hücre popülasyonundan etkilenilmiş olunabileceği düşünülmektedir (30).

Glioma spesifik CpG adacık metilatör fenotipi ile kolorektal kanser CpG adacık metilatör fenotipi birbirlerine çok benze-

mektedirler ve her ikisindeki ortak bulgu çok sayıda genomik lokusta hipermetilasyonun olmasıdır. Kolorektal kanserlerde olduğu gibi gliomalarda da IDH mutasyonları ile metilatör fenotipler yakın ilişki içerisindeyler (30, 41, 47).

SONUÇ

Primer ve sekonder glioblastoma farklı hastalık alttiplerini oluşturmaktadır. Dolayısı ile kişiler farklı yaşlarda etkilenmekte ve farklı genetik yollarla oluşmaktadır. Primer ve sekonder GBM dokuları arasında klinik ve sitogenetik farklılık vardır. Olguların majör grubunu (>%90) primer glioblastoma oluşturmakta, hızlı ve de novo gelişmekte ve malign prekürsör lezyonlara göre klinik ve histolojik belirtileri bulunmamaktadır. Tek basamak transformasyon önerilmemekle birlikte diğer neoplazmlar gibi birçok genetik anomalili kazanımı sonucu oluşmaktadır. 10q kaybı (%70), EGFR amplifikasyonu (%36), P16^{INK4A} delesyonu (%31) ve PTEN mutasyonu (%25) ile karakterize edilmektedirler.

Sekonder glioblastomalar ise düşük grade diffüz astrositoma veya anaplastik astrositomadan yavaş progresyonla gelişmektedir. Genetik temelinde, TP53 mutasyonuna sıklıkla rastlanmakta ve bu anomali erken dönemde saptanabilmektedir. Primer ve sekonder GBM, morfolojik olarak ayırt edilemezler ve her ikisi de hasta yaşı dikkate alınmadığında kötü prognoza sahiptirler.

KAYNAKLAR

1. Agarwala SS, Kirkwood JM: Temozolomide, a novel alkylating agent with activity in the central nervous system, may improve the treatment of advanced metastatic melanoma. *Oncologist* 5:144-151,2000
2. Benbrook DL, Pfahl, M: A new retinoic acid receptor identified from a hepatocellular carcinoma. *Nature* 333: 669-672, 1988
3. Bleeker FE, Atai NA, Lamba S, Jonker A, Rijkeboer D, Bosch KS, Tigchelaar W, Troost D, Vandertop WP, Bardelli A, Van Noorden CJ: The prognostic IDH1R132 mutation is associated with reduced NADP+-dependent IDH activity in glioblastoma. *Acta Neuropathol* 119(4):487-494, 2010
4. Bock C, Lengauer T: Computational epigenetics. *Bioinformatics* 24:1-10, 2008
5. Carrabba G, Mukhopadhyay D, Guha A: Aberrant Signalling Complexes in GBMs: Prognostic and Therapeutic Implications. Swapan K. Ray (ed), *Glioblastoma; Molecular Mechanisms of Pathogenesis and Current Therapeutic Strategies*. Springer Science+Business Media, 2010:95
6. Dang L, Jin S, Su SM: IDH mutations in glioma and acute myeloid leukemia. *Trends in Molecular Medicine* 16(9):387-397, 2010
7. Das PM, Singal R: DNA methylation and cancer. *Journal of Clinical Oncology* 22:4632-4642, 2004
8. Dinçer Y: Tiroid kanserli hastalarda lökosit O6 metil guanin DNA metil transferaz aktivitesinin tayini. Doktora tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 2000:96
9. Durmaz R: Glioblastoma multiforme. *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci* 3(34):35-40, 2007

10. Durmaz R, Vural M: Primer ve sekonder glioblastoma multiforme genetiği. *Türk Nöroşirürji Dergisi* 17(2):80-90, 2007
11. Esteller M, Garcia-Foncillas J, Andion E, Goodman SN, Hidalgo OF, Vanaclocha V, Baylin SB, Herman JG: Inactivation of the DNA repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents. *N Engl J Med* 343:1350-1354, 2000
12. Esteller M, Herman JG: Generating mutations but providing chemosensitivity: The role of O6-methylguanine DNA methyltransferase in human cancer. *Oncogene* 23:1-8, 2004
13. Ferroli P, Acerbi F, Finocchiaro G: From standard treatment to personalized medicine: Role of IDH1 mutations in low-grade glioma evolution and treatment. *World Neurosurgery* 73(4): 231-238, 2010
14. Garbe K: Oncometabolite? IDH1 discoveries raise possibility of new metabolism targets in brain cancers and leukemia. *JNCI J Natl Cancer Inst* 102(13): 926-928, 2010
15. Gopisetty G, Ramachandran K, Singal R: DNA methylation and apoptosis. *Molecular Immunology* 43:1729-1740, 2006
16. Hegi ME, Diserens AC, Godard S, Dietrich PY, Regli L, Ostermann S, Otten P, Van Melle G, de Tribolet N, Stupp R: Clinical trial substantiates the predictive value of O6-methylguanine-DNA methyltransferase promoter methylation in glioblastoma patients treated with temozolomide. *Clin Cancer Res* 10(6):1871-1874, 2004
17. Herrlinger U, Rieger J, Koch D, Loeser S, Blaschke B, Kortmann RD, Steinbach JP, Hundsberger T, Wick W, Meyermann R, Tan TC, Sommer C, Bamberg M, Reifenberger G, Weller M: Phase II trial of lomustine plus temozolomide chemotherapy in addition to radiotherapy in newly diagnosed glioblastoma: UKT-03. *J Clin Oncol* 24:4412-4417, 2006
18. Iacob G, Dinca EB: Current data and strategy in glioblastoma multiforme. *Journal of Medicine and Life* 2(4):386-393, 2009
19. Ironside CV, Moss TH, Louis DN: *Astrocytic tumours. Diagnostic Pathology of Nervous System Tumours*, 1. basım. London: Churchill-Livingstone, 2002: 53-121
20. Jacinto FV, Esteller M: MGMT hypermethylation: A prognostic foe, a predictive friend. *DNA Repair (Amst)* 6(8):1155-1160, 2007
21. Jansen M, Yip S, Louis DN: Molecular pathology in adult gliomas: Diagnostic, prognostic, and predictive markers. *Lancet Neurol* 9(7):717-726, 2010
22. Kaina B, Christmann M, Naumann S, Roos WP: MGMT: Key node in the battle against genotoxicity, carcinogenicity and apoptosis induced by alkylating agents. *DNA Repair* 6(8):1079-1099, 2007
23. Kaina B, Margison GP, Christmann M: Targeting O6 methylguanine-DNA methyltransferase with specific inhibitors as a strategy in cancer therapy. *Cell Mol Life Sci* 67: 3663-3681, 2010
24. Kanu OO, Hughes B, Di C, Lin N, Fu J, Bigner DD, Yan H, Adamson C: Glioblastoma multiforme oncogenomics and signaling pathways. *Clin Med Oncol* 3:39-52, 2009
25. Kleihues P, Cavenee WK: *WHO Classification of Tumors, Pathology and Genetics of Tumors of the Nervous System*. International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon, 61(3):215-225, 2000
26. Kloosterhof NK, Bralten LB, Dubbink HJ, French PJ, van den Bent MJ: Isocitrate dehydrogenase-1 mutations: A fundamentally new understanding of diffuse glioma. *Lancet Oncol* 12(1):83-91, 2011
27. Krakstad C, Chekenya M: Survival signaling and apoptosis resistance in glioblastoma: Opportunities for targeted therapeutics. *Molecular Cancer* 9:135, 2010
28. Kreth S, Thon N, Eigenbrod S, Lutz J, Ledderose C, Egensperger R, Tonn JC, Kretzschmar HA, Hinske LC, Kreth FW: O6-Methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) mRNA expression predicts outcome in malignant glioma independent of MGMT promoter methylation. *PLoS One* 6(2):e17156, 2011
29. Lee CH, Jung KW, Yoo H, Park S, Lee SH: Epidemiology of primary brain and central nervous system tumors in Korea. *Journal of Korean Neurosurgical Society* 48(2):145-152, 2010
30. Lei Y, Song-tao Q, Zhi-yong L: Analysis of isocitrate dehydrogenase-1/2 gene mutations in gliomas. *Chinese Medical Journal* 123(24):3697-3705, 2010
31. Levin VA, Leibel SA, Gutin PH, Hellman S, Rosenberg SA, DeVita VT: *Cancer: Principles and Practice of Oncology* (6th ed). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001:2100-2160
32. Losi-guembarovski R, Kuasne H, Guembarovski AL, Rainho CA, Colus IM: DNA methylation patterns of the CDH1, RAR β and SFN genes in choroid plexus tumors. *Cancer Genet Cytogenet* 179:140-145, 2007
33. Marchesi F, Turriziani M, Tortorelli G, Avvisati G, Torino F, De Vecchis L: Triazene compounds: Mechanism of action and related DNA repair systems. *Italian Pharmacological Society* 56(4):275-287, 2007
34. Martinez R, Martin-Subero JI, Rohde V, Kirsch M, Alaminos M, Fernandez AF, Ropero S, Schackert GT, Esteller M: A microarray-based DNA methylation study of glioblastoma multiforme. *Epigenetics* 4(4):255-264, 2009
35. Mattei JF, Marchio A, Tiollais P, Dejean A: Assignment of the human hap retinoic acid receptor RAR-beta gene to the p24 band of chromosome 3. *Hum Genet* 80:189-190, 1988
36. Nagarajan RP, Costello JF: Epigenetic profiling of gliomas. Erwin G Van Meir (ed), *CNS Cancer: Models, Markers, Prognostic Factors, Targets, and Therapeutic*. Springer Science+Business Media, 2010:616-638
37. Newton HB: Overview of the molecular genetics and molecular chemotherapy of GBM. Ray Swapan K. (ed), *Glioblastoma: Molecular Mechanisms of Pathogenesis and Current Therapeutic Strategies*. Springer Science+Business Media, 2010:1
38. Ohgaki H, Kleihues P: Population based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 64: 479-489, 2005

39. Ohgaki H, Kleihues P: Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma. *American Journal of Pathology* 170(5): 1445-1453, 2007
40. Ohgaki H, Kleihues P: Genetic alterations and signaling pathways in the evolution of gliomas. *Cancer Sci* 100(12): 2235-2241, 2009
41. Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P, Mankoo P, Carter H, Siu IM, Gallia GL, Olivi A, McLendon R, Rasheed BA, Keir S, Nikolskaya T, Nikolsky Y, Busam DA, Tekleab H, Diaz LA, Jr, Hartigan J, Smith DR, Strausberg RL, Marie SK, Shinjo SM, Yan H, Riggins GJ, Bigner DD, Karchin R, Papadopoulos N, Parmigiani G, Vogelstein B, Velculescu VE, Kinzler KW: An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* 321(5897):1807-1812, 2008
42. Paz MF, Yaya-Tur R, Rojas-Marcos I, Reynes G, Pollan M, Aguirre-Cruz L, García-Lopez JL, Piquer J, Safont MJ, Balaña C, Sanchez-Cespedes M, Garcia-Villanueva M, Arribas L, Esteller M: CpG Island hypermethylation of the DNA repair enzyme methyltransferase predicts response to temozolomide in primary gliomas. *Clin Cancer Res* 10(15):4933-4938, 2004
43. Puduvalli VK: Aberrations of the epigenome in gliomas: Novel targets for therapy. Ray Swapan K (ed), *Glioblastoma: Molecular Mechanisms of Pathogenesis and Current Therapeutic Strategies*. Springer Science+Business Media, 2010:185
44. Purow B, Schiff D: Advances in the genetics of glioblastoma: Are we reaching critical mass? *Nat Rev Neurol* 5:419-426, 2009
45. Piperi C, Themistocleous MS, Papavassiliou GA, Farmaki E, Levidou G, Korkolopoulou P, Adamopoulos C, Papavassiliou AG: High incidence of MGMT and RAR β promoter methylation in primary glioblastomas: Association with histopathological characteristics, inflammatory mediators and clinical outcome. *Mol Med* 16(1-2): 1-9, 2010
46. Reitman ZJ, Parsons DW, Yan H: IDH1 and IDH2: Not your typical oncogenes. *Cancer Cell* 17(3):215-216, 2010
47. Reitman ZJ, Yan H: Isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations in cancer: Alterations at a crossroads of cellular metabolism. *J Natl Cancer Inst* 102:932-941, 2010
48. Riemenschneider MJ, Hegi ME: MGMT promoter methylation in malignant gliomas. *Targ Oncol* 5:161-165, 2010
49. Riemenschneider MJ, Jeuken JWM, Wesseling P, Reifenberger G: Molecular diagnostics of gliomas: State of the art. *Acta Neuropathol* 120:567-584, 2010
50. Robertson KD: DNA methylation and human disease. *Nature* 6:597-610, 2005
51. Sanson M, Marie Y, Paris S, Idbaih A, Laffaire J, Ducray F, El Hallani S, Boisselier B, Mokhtari K, Hoang-Xuan K, Delattre JY: Isocitrate dehydrogenase 1 codon 132 mutation is an important prognostic biomarker in gliomas. *J Clin Oncol* 27:4150-4154, 2009
52. Sarkar C, Jain A, Suri V: Current concepts in the pathology and genetics of gliomas. *Indian Journal of Cancer* 46(2):108-119, 2009
53. Sathornsumetee S, Rich JN: Designer therapies for glioblastoma multiforme. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1142:108-132, 2008
54. Sonoda Y, Kumabe T, Nakamura T: Analysis of IDH1 and IDH2 mutations in Japanese glioma patients. *Cancer Sci* 100: 1996-1998, 2009
55. Tubbs JL, Pegg AE, Tainer JA: DNA binding, nucleotide flipping, and the helix-turn-helix motif in the base repair O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase and its implications for cancer chemotherapy. *DNA Repair (Amst)* 6:1100-1115, 2007
56. von Deimling A, Korshunov A, Hartmann C: The next generation of glioma biomarkers: MGMT methylation, BRAF fusions and IDH1 mutations. *Brain Pathology* 21:74-87, 2011
57. Warren JJ, Forsberg LJ, Beese LS: The structural basis for the mutagenicity of O6-methyl-guanine lesions. *PNAS* 103(52):19701-19706, 2006
58. Welsh CT: Molecular mechanisms of pathogenesis in glioblastoma and current therapeutic strategies. Ray Swapan K (ed), *Glioblastoma: Molecular Mechanisms of Pathogenesis and Current Therapeutic Strategies*. Springer Science+Business Media, 2010:85
59. Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W, Kos I, Batinic-Haberle I, Jones S, Riggins GJ, Friedman H, Friedman A, Reardon D, Herndon J, Kinzler KW, Velculescu VE, Vogelstein B, Bigner DD: IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med* 360(8):765-773, 2009
60. Yen KE, Bittinger MA, Su SM, Fantin VR: Cancer-associated IDH mutations: Biomarker and therapeutic opportunities. *Oncogene* 29(49):6409-6417, 2010