

Nöroblastomda N-myc Gen Amplifikasyonu*

N-myc gene amplification in neuroblastoma

Burak TANDER*, Uğur ÖZBEK**, Melih BULUT*

* Şişli Etfal Hastanesi Çocuk Cerrahisi Kliniği

** İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü

ÖZET

AMAC: İkinci kromozomda bulunan bir onkogen olan N-myc geni, nöroblastomun tanı ve prognozunda önemli bir yere sahiptir. Yurtdışında bu genle ilgili pekçok yayın bulunmasına karşın, Türkiye’de henüz yeterince araştırılmamıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Kliniğimizde, 4 nöroblastomlu hastada N-myc geninin varlığı ile tanısıl ve prognostik değerini araştırdık. Ameliyat sırasında, taze tümör dokusundan bir parça eksize edildi ve DNA analizi için saklandı. Bundan sonra, N-myc onkogen amplifikasyonu ölçüldü.

BULGULAR: İki hastada N-myc onkogeninin varlığı belirlenirken, diğer 2 hastada bu onkogene rastlamadık. N-myc (+) olan hastalar, daha kötü bir klinik gidiş sergilediler ve bir hastada nüks oluşurken, diğer hasta kaybedildi.

SONUÇ: Nöroblastomda, N-myc bir tümör belirtici olarak kullanılabilir ve varlığı kötü prognozu gösterebilir. Sınırlı sayıda olgu nedeniyle; nöroblastomlu hastalarda, bu onkogenin önemi üzerine daha ayrıntılı çalışmalar yapılmalıdır.

ANAHTAR KELİMELELER: Nöroblastom, N-myc.

SUMMARY

OBJECTIVE: As an oncogene on the second chromosome, the N-myc gene has an important role in the diagnosis and prognosis of neuroblastoma. There are many reports about the N-myc oncogene abroad, however in Turkey, it has never investigated yet.

MATERIAL AND METHODS: We analysed the presence and diagnostic and prognostic values of N-myc in four children with neuroblastoma in our institution. During the operation, a small part of fresh tumour tissue was excised and kept for the DNA isolation; after that, the amplification of N-myc oncogene was measured.

RESULTS: In two patients, we observed N-myc gene amplification, in other two, no amplification was demonstrated. The children with (+) N-myc had poorer clinical course and in one patient, residual disease occurred and the other one died.

CONCLUSION: We found that, N-myc can be used as a tumour marker in neuroblastoma and its presence may indicate poor outcome. Due to the limited number of cases, we conclude that, further investigation about the importance of N-myc in patients with neuroblastoma is required.

KEY WORDS: Neuroblastoma, N-myc.

GİRİŞ

İkinci kromozomda yer alan bir onkogen olan “N-myc” geninin varlığı özellikle ileri evre nöroblastomlu hastalarda amplifiye olarak bulunmuştur (1, 2). Bu genin, nöroblastomun hem tanısı hem de prognoz ve tedaviyi belirlemede yararlı olduğu son zamanlarda ortaya konulmuştur (3). Bu çalışmada, nöroblastomlu hastalarımızda bu genin varlığı retrospektif olarak araştırıldı.

Yazışma Adresi:

Burak Tander
Şişli Etfal Hastanesi, Çocuk Cerrahisi Kliniği

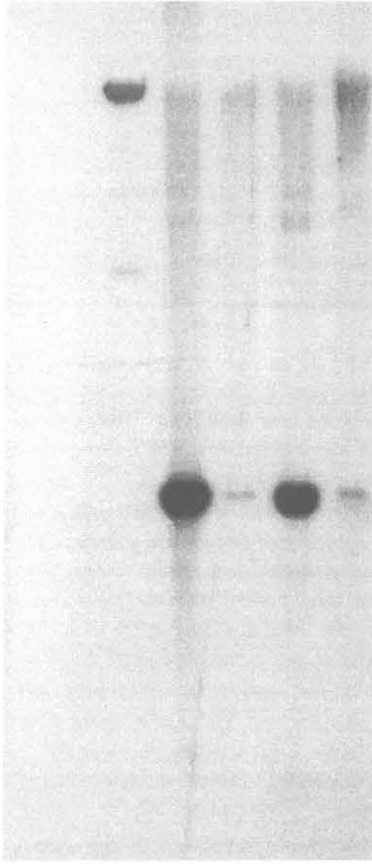
* 13. Ulusal Çocuk Cerrahisi Kongresinde sunulmuştur. Pamukkale 1995.

HASTALAR VE YÖNTEM

Ekim 1992 ile Ağustos 1993 tarihleri arasında kliniğimizde tedavi edilen dört nöroblastom olgusunun operasyonu sırasında özel besiyerine alınan taze steril doku parçasından DNA izole edildi ve Southern-Blot analizi ile Nb-1 prob kullanılarak incelendi. Gen amplifikasyonu miktarı dansitometre ile saptandı (Resim 1). Bu inceleme İtalya’da gerçekleştirildi. Ülkemizde henüz, bu çalışmayı yapacak donanım bulunmadığından olgu sayısı sınırlı kaldı.

BULGULAR

Toplam 4 hastanın üçü erkek, biri kızdı. İki olguda tümör abdominal, birinde boyunda, bir olguda ise “kum saati” biçiminde medulla spinalis yerleşmişti.



Resim 1: N-myc amplifikasyonunun görünümü (Soldan sağa: Pozitif kontrol, negatif kontrol, N-myc (+) hasta, N-myc (-) hasta).

Hastalar 10 ay-5 yaş arasındaydılar. Üç olgunun tümörü primer olarak tamamen çıkarıldı. Dört olgunun üçünde histopatolojik inceleme nöroblastom olarak rapor edildi. Bunlardan boyun bölgesinde hastalığı olan çocuğun kitle eksizyon uygulandı, aile kemoterapiyi reddetti. Kum saati biçimli kitlesi olan, nüks nedeniyle yeniden opere edilerek kitlesi tamamen çıkarılan hastanın 14 kürlük kemoterapisi sonrası rezidüe rastlanmadı. Bu olgumuzun tedavisi halen sürmektedir. Bu iki hastamızda N-myc geni saptanmadı. Abdominal yerleşimli tümörlü bir hastamızdan yalnız biopsi alınabildi; ikinci bakış operasyonu sonrası da kitlesi çıkarılamayan hasta yapılan kemoterapiye yanıt vermedi ve kaybedildi. Bu hastamızın N-myc amplifikasyonu (+) sonuç verdi. Önce ganglionöroblastom saptanan, ardından nöroblastom adacıkları tespit edilen abdominal yerleşimli kitlesi olan son hastanın da tümörü total olarak eksize edildi ve postoperativ kemoterapiye önce olumlu yanıt verdi, ancak daha sonra nüks eden hasta tedaviyi terk etti. Bu olgumuzda da N-myc amplifikasyonu vardı (Tablo 1).

TARTIŞMA

Nöroblastomlu hastalarda, son yıllarda, genetik anomalilerin saptanması, hastalığın tanısı ve prognozunun belirlenmesinde bir çıkış açmıştır (3). Nöroblastomlu olguların %80'inde genetik anomalilerin varlığı

Tablo 1

Sıra No	Yaş Cins	Yerleşim	Ameliyat	Kemoterapi	N-myc	Sonuç
1	15 ay E	Dumbbell Medula spinalis	1. Primer tumor eksizyonu 2. İkinci bakış: Eksizyon	Sisplatin Siklofosamid Vinkristin	(-)	14 kür tedavi sonrası şifa kabul edilip kemoterapi kesildi.
2	4 yaş E	Karın sağ tarafı	1. Kitleden biopsi 2. İkinci bakış: Biopsi	Sisplatin Siklofosamid Vinkristin VP-16	(+)	Kemoterapiye yanıt vermeyen hasta kaybedildi.
3	5 yaş E	Karın sol tarafı	Kitle eksizyonu	Sisplatin Siklofosamid Vinkristin VP-16 Epurubisin DTIC	(+)	Kemoterapiden önce yarar gören ancak nüks eden hasta tedaviyi terk etti.
4	10 ay E	Boyunda kitle	Kitle eksizyonu		(-)	İleri tedaviyi reddetti.

ğı bildirilmektedir (4). En sık rastlanılan anomaliler; birinci kromozom kısa kolu delesyonu, ikinci kromozomda kısa kolunda yerleşimli bir gen olan N-myc'in varlığı ve tümörün kromozom sayısı anomalileridir (4).

Bu genetik bozukluklardan, 2. kromozomda yerleşim bir onkogen olan N-myc, hem bu hastalık için oldukça özgündür hem de kötü prognozla bağımtısı gösterilmiştir (2-4). Bu nedenle, araştırmacıların yoğun olarak ilgisini çekmeye devam etmektedir. Ancak, ülkemizde, nöroblastomlu hastalarda N-myc ile yapılmış çalışma henüz çok sınırlıdır, çünkü ülkemizde, bu tür çalışmalar için yetişmiş eleman ve teknik donanım henüz yeterli değildir, ancak mutlaka geliştirilmesi gerektiği düşüncesindeyiz. Bu nedenle biz, az sayıdaki hastamızda, bu genin varlığını araştırıp, N-myc ile ilgili ilk ön çalışmayı gerçekleştirmeyi amaçladık.

Nöroblastomun tanısında; köken aldığı dokudan açık biopsi hastalığın ana tanı yöntemidir. Ancak, rutin histopatolojik inceleme, tek başına bazı olgularda yeterince güvenilir olmadığından, immunhistokimya, elektron mikroskopisi gibi yöntemlere de başvurulması gerekebilir (3). Tanıda, açık biopsiye yardımcı bazı alternatifler de önerilmektedir. Bunlar arasında başlıca; kemik iliğinde tümör hücrelerinin bulunması; idrarda VMA (veya HVA)'nın normalin 3 standart sapmasından yüksek olması ve N-myc onkogeninin varlığıdır (3). Özellikle N-myc onkogeni; saptanabilmesi durumunda, nöroblastom tanısı için kuşkuyla yer bırakmayacak kadar spesifik kabul edilir. Bu nedenle, nöroblastomun tanısı için çok değerli bir tümör belirtecidir.

Klasik olarak nöroblastomlu hastalarda, kötü prognoz kriterleri; hastanın 1 yaşı üzerinde ve tümörün karın içinde lokalize olması, tümör dokusundaki stromanın azlığı ve tümörün köken aldığı organ ya da dokudan ilerleyip çevre dokulara invazyon yapması, lenf nodu tutulumunun bulunması, nöron spesifik enolaz ve ferritin değerlerinin yüksekliği olarak özetlenebilir (5). Bu kriterlere, yapılan çalışmalar sonucunda, N-myc onkogeninin varlığı ve son olarak da bu onkogenin nicel olarak, amplifikasyon sayısı da eklenmiştir. Buna göre, N-myc onkogeni (+) olan olgularda, prognoz daha kötüdür. Ayrıca, N-myc (+) hastalardan, amplifikasyon sayısı 10 ve daha fazla olanların sağkalımının daha da olumsuz yönde etkilendiği bildirilmektedir (5). Bu durum, özellikle lokalize tümörlü ve iyi prognoz işaretleri sayılabilecek kriterlere (küçük yaş, karıncısı hastalık, iyi histoloji,

metastaz yokluğu vb.) sahip hastalarda önem taşımaktadır ve böyle hastalarda bile, eğer N-myc (+) ise, prognozun kötüleşeceği ve daha agresif kemoterapinin gerekli olacağı bildirilmektedir (4).

Biz de, nispeten daha büyük yaşta ve karın içinde lokalize, yani kötü prognozlu olduğunu düşündüğümüz 2 hastamızda, N-myc onkogeninin (+) olduğunu belirledik. Buna karşın, karın dışında lokalize tümörlü, daha küçük yaştaki diğer 2 hastamızda N-myc araştırması (-) sonuç verdi. Hasta sayımız çok sınırlı olmakla birlikte, bu durum bize, klinik olarak iyi prognoz kriterlerine sahip hastalarda, bir diğer iyi prognoz kriteri olan N-myc negatifliğinin de birlikte olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak; nöroblastomlu olgularda, saptanırsa N-myc geni tanıyı doğrulayan ve prognozla ilgili fikir verebilen testlerden biri olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- 1 Brodeur GM, Sekhon GS, Goldstein MN: Chromosomal aberrations in human neuroblastomas. *Cancer* 40: 2256-2263, 1977.
- 2 Seeger RC, Brodeur GM, Sather H, Dalton A, Siegel SE, Wong KY, Hammond D: Association of multiple copies of N-myc oncogene with rapid progression of neuroblastomas. *N Engl J Med* 313: 1111-1116, 1985.
- 3 Brodeur GM, Castlebury R: Neuroblastoma in "Principles and Practice of Pediatric Oncology" Pizzo PA, Poplack DG (eds) JB Lippencott Company 739-767, 1993.
- 4 Smith EI: Neuroblastoma in "Pediatric Surgery" Ashcraft KW, Holder TM (eds) WB Saunders Company 823-839, 1993.
- 5 Rowe MI: Neuroblastoma in "Essentials of Pediatric Surgery" Rowe MI (ed) Mosby Yearbook Inc. 249-259, 1995.