



Osteosarkomlu baba ve oğulda genetik geçişin irdelenmesi

An analysis of genetic transmission in a father and son with osteosarcoma

Füsun TOKATLI,¹ Ruşen COŞAR ALAS,¹ Şemsi ALTANER,² Funda PALA,³
Kazım UYGUN,⁴ Cem UZAL,¹ Erol YALNIZ⁵

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, ²Patoloji Anabilim Dalı,
³Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, ⁴Medikal Onkoloji Bilim Dalı, ⁵Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

Ailesel osteosarkom kalıtsal sendromlar içinde nadir görülen bir hastalıktır. Otuz yedi yaşında bir babada ve, babaya tanı konmasından üç yıl sonra, 17 yaşındaki oğulda sırasıyla sol ve sağ femur distalinde osteosarkom saptandı. İki olguya da kemoterapi ve cerrahi tedavi uygulandı. Her iki olguda da p53 tümör baskılayıcı gen ve HER-2/neu onkogeni immünohistokimyasal olarak pozitif bulundu. Ek olarak, çocukta retinoblastom 1 gen kaybı vardı. Babada tanı anında ve tedaviden 13 ay sonra akciğer metastazı saptandı. Çocukta uzak metastaz yoktu. İlk olgu, gelişen merkezi semptomlara bağlı olarak tanıdan 39 ay sonra kaybedilirken, oğul tedavinin tamamlanmasından sonraki birinci yılda hastalısız olarak yaşamını sürdürmekteydi. Her iki olguda belirlenen genetik anormallikler osteosarkomun patogenezinde spesifik genetik değişikliklerin rol oynayabileceğini desteklemektedir.

Anahtar sözcükler: Kemik neoplazileri/genetik; erbB-2 geni; retinoblastoma geni; p53 geni; osteosarkom/genetik.

Familial osteosarcoma is a rare hereditary disease. We present a 37-year-old father and a 17-year-old son who developed osteosarcoma in the left and right distal femurs, respectively, at a three-year interval. They were treated with chemotherapy followed by surgery. Both had positive immunostaining for p53 tumor suppressor gene and HER-2/neu oncogene. The son also exhibited deletion of the retinoblastoma 1 gene. Pulmonary metastasis was detected in the father at the time of diagnosis and 13 months after primary treatment, whereas no distant metastasis was present in the child. The father died 39 months after the diagnosis from primary symptoms, but the son led a disease-free survival a year after completion of treatment. Genetic abnormalities documented in the father and son corroborate the presence of specific genetic alterations in the pathogenesis of osteosarcoma.

Key words: Bone neoplasms/genetics; genes, erbB-2; genes, retinoblastoma; genes, p53; osteosarcoma/genetics.

Osteosarkom kemiğin en sık görülen primer malign tümörüdür. Kemoterapi ve cerrahi bu tümörde en etkili tedavi yöntemleridir. Kemoterapi sonucu oluşan histolojik yanıt (nekroz oranı) günümüzde kabul edilen en güçlü prognostik faktördür. Bunun dışındaki güvenilir prognostik faktörler henüz bilinmemektedir.^[1] Morfolojik ve biyokimyasal belirteçler yanı sıra genetik belirteçler ile ilgili çalışmalar sürmektedir. HER-2/neu onkogeninin aşırı ekspresyonu, p53 ve retinoblastom 1 (RB1) tümör baskılayıcı gen değişikliklerinin osteosarkomun patogenezi

ve klinik seyri ile ilişkili oldukları bildirilmiştir.^[2-6] Ailesel osteosarkom kalıtsal sendromlar içinde nadir görülen bir hastalıktır ve genellikle olgu sunumları şeklinde sunulmuştur.^[7-9] Bu yazıda, genetik değişiklikler saptadığımız osteosarkomlu iki olgu (baba ve oğul) klinik sonuçları ile birlikte sunuldu.

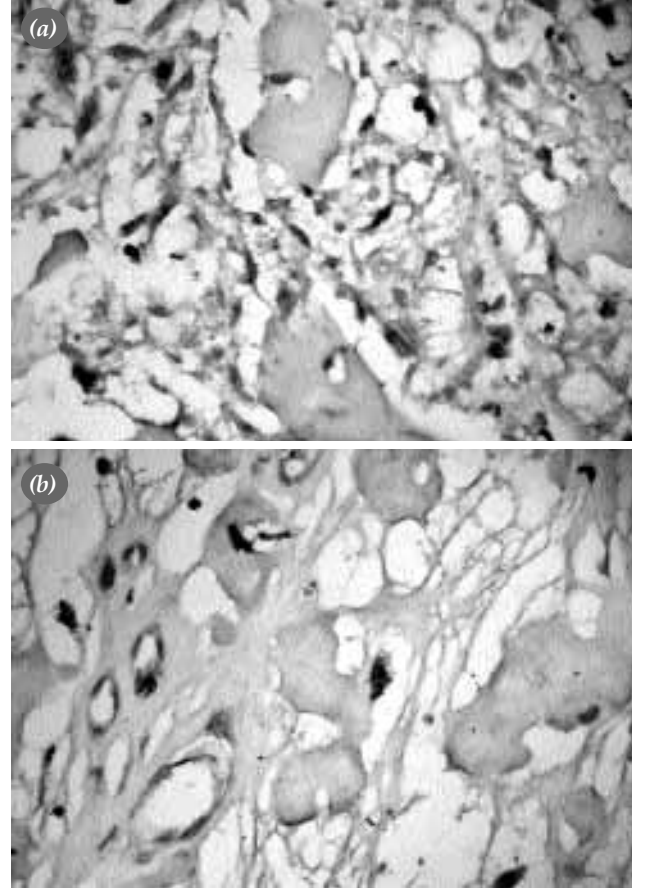
Olgu sunumu

Olgu 1– Otuz yedi yaşında erkek hasta sol femur distalinde ağrılı şişlik nedeniyle başvurdu. Manyetik rezonans görüntüleme, medüller kanalı tutan, yer

yer kalsifiye, kalınlığı 4 cm'ye varan, parosteal yumuşak doku uzanımlı, diyafiz boyunca uzanan kas gruplarında invazyon yapmış tümör saptandı. Biyopsi sonrasında klasik osteosarkom tanısı kondu ve immünohistokimyasal boyama sonucunda tümörde p53 ve HER-2/neu için pozitiflik saptandı (Şekil 1a, b). Tümörde %10'dan fazla çekirdek boyanması durumu p53 için (1:100, Clone DO7, DAKO Cytomation, Glostrup, Danimarka) pozitiflik olarak kabul edildi. HER-2/neu (1:100, Clone e2-4001+3B5, NeoMarkers, Fremont, CA, ABD) için boyanma ise 0, 1+, 2+ veya 3+ olarak derecelendirildi. Tümör hücrelerinin %30'dan fazlasında membranda boyanma olması durumunda HER-2/neu ekspresyonu orta (2+) veya kuvvetli (3+) pozitif olarak kabul edildi. Toraks bilgisayarlı tomografisinde metastatik pulmoner kitleler saptanması üzerine, hasta evre 4 olarak kabul edilerek, PEI kemoterapisi (21 günde bir: sisplatin 100 mg/m² 1. gün, epirubisin 90 mg/m² 1. gün, ifosfamid 2 gr/m² 2-4. günler) uygulandı. Üç kür kemoterapi sonrasında ekstremitte koruyucu cerrahi ve metastazektomi yapıldı. Ameliyat materyalinde %80 nekroz saptanması üzerine üç kür daha adjuvan kemoterapi verilerek hasta takibe alındı. Birincil tedavinin tamamlanmasından 13 ay sonra yeniden akciğer metastazı saptanması nedeniyle hastaya altı kür yüksek dozda ifosfamid kemoterapisi (21 günde bir: 10 gr/m² 1-6. günler) uygulandı. Fakat, son kürü takiben gelişen merkezi semptomlara bağlı olarak, hasta tanıdan sonraki 39. ayda kaybedildi.

Olgu 2- Babaya tanı konmasından üç yıl sonra, 17 yaşındaki oğlu da sağ femur distalinde şişlik nedeniyle başvurdu. Manyetik rezonans görüntüleme ve kemik sintigrafisinde osteosarkom ile uyumlu kitle saptandı. Biyopsi sonrasında klasik osteosarkom tanısı kondu ve immünohistokimyasal boyama sonucunda olgu 1'deki gibi tümörde p53 ve HER-2/neu için pozitiflik saptandı. Hastanın periferik kanında RB1 geni, doğrudan rhodamine işaretli 13q14 probu kullanılarak floresan *in situ* hibridizasyon (FISH) tekniği ile çalışıldı (Cancer Genetics Inc, ABD). Yüz hücre sayıldı ve hücrelerin 11'inde (%11) 13q14 kaybı saptandı (Şekil 2). Uzak metastaz saptanmayan hastaya önce üç kür dönüşümlü olarak API kemoterapisi (21 günde bir: adriamisin 60 mg/m² 1-2. günler, sisplatin 120 mg/m² 1. gün, ifosfamid 3 gr/m² 1-2. günler) verildikten sonra ekstremitte koruyucu cerrahi uygulandı. Ameliyat materyalinde %90 nekroz saptanması üzerine hastaya üç

kür daha (21 günde bir) adjuvan AP ve yüksek dozda ifosfamid (10 gr/m² 1-5. günler) uygulandı. Tedavinin tamamlanmasından sonraki birinci yılda olgu hastaliksız olarak yaşamını sürdürmekteydi.



Şekil 1. Tümör hücrelerinde (a) p53 (immünperoksidaz x 200) ve (b) HER-2/neu pozitifliği (immünperoksidaz x 300).



Şekil 2. Floresan *in situ* hibridizasyon tekniği ile saptanmış retinoblastom 1 (13q14) gen kaybı.

Tartışma

Ailesel osteosarkom kalıtsal sendromlar içinde nadir görülen bir hastalıktır ve literatürde genellikle olgu sunumları şeklinde yer almaktadır.^[7-9] Hillmann ve ark.^[7] 2000 yılına kadar olan 25 yayını kapsayan literatür taramasında, toplam 59 hastada ailesel osteosarkom bildirildiğini ve bunların da sadece dördünde hastalığın hem baba hem de çocuğunda görüldüğünü belirtmişlerdir. Longhi ve ark.^[9] da osteosarkom tanılı bir baba ve çocuk bildirmişlerdir. Sunduğumuz baba-oğul, İngilizce literatürde hem baba hem de çocuğunda osteosarkom tanısı konan altıncı olgu sunumudur. Longhi ve ark.^[9] sundukları iki olguda RB protein ekspresyonunda ve p53 geninin inaktif formunda kayıp saptanmıştır. Toguchida ve ark.^[10] sitogenetik olarak görünen germline mutasyonlarının genellikle babadan geçen genlerde olduğunu göstermişlerdir. Olgularımızda, RB1 geni çocukta saptanırken, p53 gen kaybı ile HER-2/neu onkogeninin aşırı ekspresyonu iki olguda da belirlenmiştir.

Son 25 yılda yapılan çalışmalar ile insan kanserlerinin öncelikli olarak genetik bir hastalık olduğu kanıtlanmıştır. Hücrelerde normal büyüme ve farklılaşmayı kontrol eden genlerde sonradan oluşan anormalliklerin kanserleşmeye yol açtıkları bilinmektedir. Bunlar içinde en yaygın olarak saptananlar p53 tümör baskılayıcı genindeki mutasyon ile HER-2/neu onkogeninin aşırı ekspresyonudur.^[11,12]

Tümör baskılayıcı gen olan p53 geni çekirdekte bulunan bir protein tarafından kodlanır.^[12] Bu genin hücre siklusunda dinlenmeyi, programlanmış hücre ölümünü ve DNA hasarına yol açabilen hücre streslere yanıt olarak olası DNA onarımını uyaran kritik bir belirleyici olduğuna inanılmaktadır. p53 geninde oluşan mutasyonlar, kemik ve yumuşak doku sarkomları ile karakterize Li-Fraumeni sendromunun gelişmesinde anahtar rol oynarlar.^[13] p53 proteininin ekspresyonundaki değişiklikler nedeniyle p53 tümör hücre çekirdeğinde de birikmekte ve immünohistokimyasal olarak saptanabilmektedir.^[12] Olgularımızda p53 proteini immünohistokimyasal olarak çalışılmış ve iki olguda da %10'dan fazla hücre çekirdeğinin boyandığı görülmüştür.

HER-2/neu onkogeni, insan 17. kromozomunda yer alan ve tirozin kinaz aktivitesi olan 185 kDa ağırlığındaki transmembran glikoproteinini kodla-

yan bir gendir.^[11] HER-2/neu onkogen ekspresyonunun meme kanserinde sağkalımda belirleyici bir değere sahip olduğu gösterilmiştir.^[11] HER-2/neu onkogeninin osteosarkom için de prognostik faktör olabileceği ileri sürülmüş; ancak, ağırlıklı olarak immünohistokimyasal çalışmalara dayanan bu araştırmaların sonuçları tartışmalı kalmıştır. Bazı çalışmalar HER-2/neu ekspresyonu ile düşük sağkalım arasında anlamlı bir ilişki bildirirken, diğerleri histolojik altgrup ve dereceden (grade) bağımsız olarak HER-2/neu ekspresyonu ile ameliyat öncesi kemoterapi ve sağkalım arasında anlamlı bir ilişki gösterememişlerdir.^[2,3,14] HER-2/neu onkogen ekspresyonunun sağkalım için belirleyici bir faktör olarak kabul edilebilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Sunduğumuz olguların her ikisinde de HER-2/neu onkogen ekspresyonu pozitif. Tanı anında metastaz saptanan ilk olgu 39 ay yaşamış iken, ikinci olgu tanıdan sonraki 20. ayda hastaliksiz olarak yaşamaktaydı. Hillman ve ark.^[7] derlemesinde olguların ortalama sağkalımı 30 aydır.

Retinoblastom 1 geni, p53 geni gibi hücre çoğalması ve hücre siklusunun kontrolünde önemli bir rol oynar.^[15] Her ikisi de tümör baskılayıcı olarak fonksiyon gören genlerdir ve bu genlerin fonksiyonlarının kaybında tümör oluşumuna yol açtıkları kabul edilmektedir. Retinoblastom 1 ve p53 gen değişikliklerinin kötü prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.^[4-6] Retinoblastom 1 gen mutasyonları, yani 13. kromozomun uzun kolundaki 1-4 bantlarındaki kayıp başlıca retinoblastom ve daha az sıklıkta osteosarkoma yol açar. Retinoblastom 1 geni yüksek dereceli kemik tümörlerinin %40'ında değişiklik gösterirken, bu durum düşük dereceli tümörlerde görülmez.^[16] Sunulan iki olguda da yüksek dereceli osteosarkom vardı; baba öldüğü için sadece çocuğun periferik kanı RB1 geni için çalışılmış ve gen mutasyonu saptanmıştır.

Etkin kemoterapi rejimlerinin geliştirilmesiyle son yıllarda osteosarkomlu hastaların tedavi sonuçlarında anlamlı düzelmeler sağlanmıştır.^[1] Hastaliksiz sağkalımdaki uzamaya rağmen hastaların %30-40'ında uzak metastaz gelişmektedir. Bu nedenle, osteosarkomun tedavisinde yeni tedavi stratejilerine ihtiyaç vardır. Prognostik değerinin yanı sıra HER-2/neu onkogeni, meme kanserinde olduğu gibi osteosarkom tedavisinde de belirleyici bir role sahip olabilir ve hedeflenmiş tedavilere olanak sağlayabilir.^[11]

Genetik faktörlerin etyolojideki rolünü açıklayabilmek için, bu tür ailelerin genetik özelliklerinin dikkatle araştırılması gerekmektedir. Osteosarkomda ucuz ve etkili tarama yöntemleri geliştirilinceye kadar, osteosarkomlu her yeni hastanın ayrıntılı aile öyküsü alınmalı ve aileler, geçmeyen ağrı yakınması olan akrabalarının geç kalmadan hekime görünmeleri konusunda uyarılmalı ve teşvik edilmelidir.

Kaynaklar

1. Meyers PA, Heller G, Healey J, Huvos A, Lane J, Marcove R, et al. Chemotherapy for nonmetastatic osteogenic sarcoma: the Memorial Sloan-Kettering experience. *J Clin Oncol* 1992;10:5-15.
2. Akatsuka T, Wada T, Kokai Y, Sawada N, Yamawaki S, Ishii S. Loss of ErbB2 expression in pulmonary metastatic lesions in osteosarcoma. *Oncology* 2001;60:361-6.
3. Onda M, Matsuda S, Higaki S, Iijima T, Fukushima J, Yokokura A, et al. ErbB-2 expression is correlated with poor prognosis for patients with osteosarcoma. *Cancer* 1996;77:71-8.
4. Ozaki T, Ikeda S, Kawai A, Inoue H, Oda T. Alterations of retinoblastoma susceptible gene accompanied by c-myc amplification in human bone and soft tissue tumors. *Cell Mol Biol* 1993;39:235-42.
5. Wadayama B, Toguchida J, Shimizu T, Ishizaki K, Sasaki MS, Kotoura Y, et al. Mutation spectrum of the retinoblastoma gene in osteosarcomas. *Cancer Res* 1994;54:3042-8.
6. Goto A, Kanda H, Ishikawa Y, Matsumoto S, Kawaguchi N, Machinami R, et al. Association of loss of heterozygosity at the p53 locus with chemoresistance in osteosarcomas. *Jpn J Cancer Res* 1998;89:539-47.
7. Hillmann A, Ozaki T, Winkelmann W. Familial occurrence of osteosarcoma. A case report and review of the literature. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000;126:497-502.
8. Chin KR, Mankin HJ, Gebhardt MC. Primary osteosarcoma of the distal femur in two consecutive brothers. *Clin Orthop Relat Res* 2001;(382):191-6.
9. Longhi A, Benassi MS, Molendini L, Macchiagodena M, Picci P, Bacci G. Osteosarcoma in blood relatives. *Oncol Rep* 2001;8:131-6.
10. Toguchida J, Ishizaki K, Sasaki MS, Nakamura Y, Ikenaga M, Kato M, et al. Preferential mutation of paternally derived RB gene as the initial event in sporadic osteosarcoma. *Nature* 1989;338:156-8.
11. Ross JS, Fletcher JA, Linette GP, Stec J, Clark E, Ayers M, et al. The Her-2/neu gene and protein in breast cancer 2003: biomarker and target of therapy. *Oncologist* 2003;8:307-25.
12. Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, Hostetter R, Cleary K, et al. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. *Nature* 1989;342:705-8.
13. Toguchida J, Yamaguchi T, Dayton SH, Beauchamp RL, Herrera GE, Ishizaki K, et al. Prevalence and spectrum of germline mutations of the p53 gene among patients with sarcoma. *N Engl J Med* 1992;326:1301-8.
14. Kilpatrick SE, Geisinger KR, King TS, Sciarrotta J, Ward WG, Gold SH, et al. Clinicopathologic analysis of HER-2/neu immunoreexpression among various histologic subtypes and grades of osteosarcoma. *Mod Pathol* 2001;14:1277-83.
15. Hamel PA, Phillips RA, Muncaster M, Gallie BL. Speculations on the roles of RB1 in tissue-specific differentiation, tumor initiation, and tumor progression. *FASEB J* 1993;7:846-54.
16. Wunder JS, Czitrom AA, Kandel R, Andrulis IL. Analysis of alterations in the retinoblastoma gene and tumor grade in bone and soft-tissue sarcomas. *J Natl Cancer Inst* 1991;83:194-200.