

# SPORADİK MALİGN MELANOMA: GENETİK TESTLER MEDİKAL TEDAVİYİ MÜMKÜN KILABİLİR Mİ?

Ahmet DURSUN, Eksal KARGI, M. Cengiz YAKICIER, Mübin HOŞNUTER, Orhan BABUCCU, Necat İMİRZALIOĞLU

Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Bilim Dalı, Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalı, Bilkent Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, GATA Tıbbi Genetik Bilim Dalı, Ankara

## ÖZET

Malign melanoma gelişiminde diğer birçok kanser türlerinde olduğu gibi çevresel ve genetik faktörlerin birlikte rol oynadığı düşünülmektedir. Malign melanoma oluşumundan sorumlu tutulan iki gen grubunda (onkogen ve tümör baskılayıcı genler) mutasyonlar tanımlanmıştır. Ailesel melanomalarda aynı tümör baskılayıcı sinyal yolunun iki üyesi olan, p16 (CDKN2A) ve CDK4 genlerinde çeşitli mutasyonlar gösterilmiştir. Son yıllarda RAF genlerinin de tümör patogenezisinde rolleri olduğu ve özellikle B-RAF onkogeninin sporadik malign melanoma vakalarının yaklaşık %65'inde mutasyona uğradığı gösterilmiştir. B-RAF geninde mutasyon analizi, mutasyona uğramış dokudan (nevus veya malign melanoma) alınan örnekler ile rutin moleküler genetik tanı yöntemleri ile yapılmaktadır. Günümüzde hastalıkların moleküler patogenezi hakkında bilgilerimiz gittikçe artmakta ve bunun sonucu olarak hastalıklarla mücadele konusunda daha spesifik daha etkin ve yan etkileri daha az tedavi yöntemleri geliştirilmektedir. Yakın bir gelecekte, sporadik malign melanoma vakalarının teşhis ve tedavisinde, BRAF veya RAS gen mutasyonları sonucu RAS-RAF-MEK-ERK-MAP kinaz yolu aktivasyonunun tespitinde kullanılan moleküler genetik metodların hekimlerin vazgeçilmez silahları olacağına kesin gözü ile bakılmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** B-RAF, malign melanoma, sporadik kanser

## GİRİŞ

Malign melanoma (MM), diğer deri kanserleri arasında en nadir görüleni olmakla birlikte kötü prognozu, görülme sıklığı ve bu kanserden ölüm hızındaki artış ile günümüzün en çok araştırılan kanser türlerinden biridir<sup>1</sup>. MM gelişiminde diğer birçok kanser türlerinde olduğu gibi çevresel ve genetik faktörlerin birlikte rol oynadığı düşünülmektedir. MM için birçok risk faktörü belirlenmiş olup, bunlardan en önemlisi MM pozitif aile hikayesidir (melanoma hastalarının yaklaşık

## SUMMARY

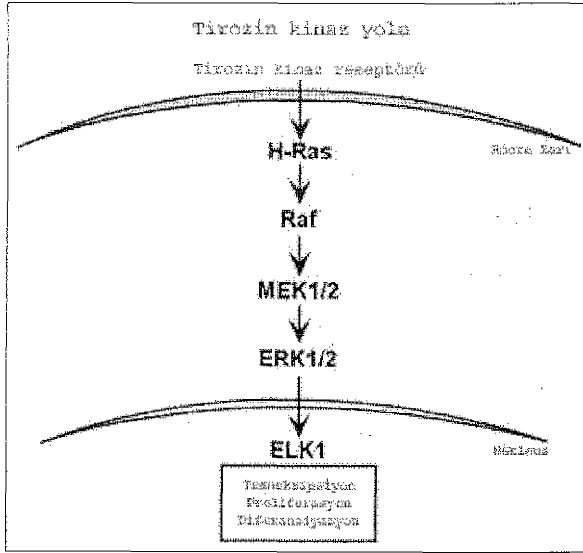
**Sporadic Malignant Melanoma: Does a Genetic Test Make Possible a Medical Treatment?**

As in other cancers, environmental and genetical factors take part of in malignant melanoma. Responsible mutations have been described in two groups of genes (oncogenes and tumour suppressor genes). In familial malign melanoma, various mutations have been published in two genes p16 (CDKN2A) and CDK4, which are the members of same tumour suppressor pathway. In recent years, it has been reported that, RAF genes are responsible from tumour pathogenesis and especially, B-RAF gene is mutated in 65% of sporadic malignant melanoma cases. Mutation detection for B-RAF gene is employed from a tissue which has the mutation (lesion or nevus) with rutin molecular genetics analysis techniques. Today, our knowledge of molecular pathogenesis of diseases is getting improved and more effective, more specific new treatments with and less complication are getting emerged. In near future, for diagnosis and treatment of sporadic malignant melanoma, molecular genetic methods are going to be a diagnosical weapon establishing RAS-RAF-MEK-ERK-MAP kinase pathway activation because of B-RAF veya RAS gene mutations

**Key Word:** B-RAF, malignant melanoma, sporadic cancer

%10'udur). Diğer yandan MM lu hastaların pigmentasyon (deri tipi, saç ve göz rengi, deride çillenme) gibi fenotip özellikleri ve yaşanan coğrafya (enlem ve yükseklik) ile olan yakın ilişkisinden ötürü UV ışınlarına maruz kalmasıyla yakın ilişki bulunmuştur<sup>2,3</sup>.

MM oluşumundan sorumlu tutulan iki gen grubunda (onkogen ve tümör baskılayıcı genler) mutasyonlar tanımlanmıştır. Ailesel melanomalarda aynı tümör baskılayıcı sinyal yolunun iki üyesi olan, p16 (CDKN2A)



Şekil 1:

ve CDK4 genlerinde çeşitli mutasyonlar gösterilmiştir <sup>4,5</sup>. Söz konusu mutasyonlardan daha az etki gösteren ve pigmentasyonda rol oynayan MC1R (Melanokortin 1 Reseptörü) geni polimorfizmlerinin de melanoma gelişiminde yatkınlığa yol açtığı bildirilmiştir <sup>6</sup>.

#### Sporadik Melanoma ve B-RAF Geni:

Kanser gelişmesinden sorumlu tutulan en önemli yollardan birisi dizi halindeki RAS-RAF-MEK-ERK-MAP kinaz yoludur (Şekil 1) <sup>7</sup>. Normal fonksiyonunda, bu kinaz yolu hücrenin bölünme sinyallerinin düzenlenmesinde önemli role sahiptir ve bu sinyal ileti yolunun RAS genindeki mutasyonlar sonucu aktive edildiği gösterilmiştir. Aynı kinaz zincir yolunda bulunan RAF genleri (özellikle B-RAF), negatif feed back yoluyla RAS geni üzerinden hücre bölünmesini kontrol etmektedir <sup>8</sup>. Son yıllarda RAF genlerinin de tümör patogenezi rolleri olduğu ve özellikle B-RAF onkogeninin sporadik malign melanomada (MM) vakalarının yaklaşık %65'inde mutasyona uğradığı gösterilmiştir <sup>9,10</sup>.

B-RAF geninde bulunan mutasyonlar, RAS geninde de olduğu gibi insanda bilinen çoğu kanser türlerinde benzer oranlarda gösterilmiştir. Bu kanserler içerisinde B-RAF mutasyonlarının en sık bulunduğu kanser türü MM dir. MM kanser türlerine ait hücre dizileri kullanılarak yapılan hücre kültürleri ve daha sonrasındaki mutasyon analizi sonuçlarına göre 58 farklı hücre dizisinden 38'inde B-RAF geninde mutasyon varlığı gösterilmiştir <sup>9</sup>. RAS-RAF-MEK-ERK-MAP kinaz yolundaki B-RAF geni hücre içi serin / treonin kinaz yolu ile RAS proteini ile MEK proteini arasında düzenleyici rol oynar. Bu yoldaki mutasyon sonucu

oluşan aktivasyon hem tirozin kinaz reseptörleri hem de G proteine bağlı reseptörleri etkileyerek melanosit proliferasyonuna yol açar <sup>11</sup>. B-RAF geninde tanımlanan hemen hemen tüm mutasyonlar, genin kinaz köprüsü üzerinde olup, bu mutasyonların yaklaşık %80'i gende V599E amino asit değişikliğine yol açan 1796T>A missense (nokta) mutasyonudur <sup>9</sup>.

B-RAF mutasyonlarının MM vakalarında daha fazla görülmesi ve sporadik melanomaların büyük bir bölümünden sorumlu tutulmasının en önemli nedenlerinden biri, melanosit yapısı ve fizyolojisi üzerinde yaptığı değişikliğe bağlıdır. Bilindiği üzere,  $\alpha$ -melanosit stimüle edici hormon ve diğer proopiomelanokortinden türemiş peptidler melanosit için önemli regülatörlerdir. Bu hormonlar, UV ışınlarına maruz kalan deride, melanokortin 1 reseptörüne bağlanarak cAMP salınımı artırırlar ve proliferasyona (melanogenezis) sebep olurlar <sup>11</sup>. Bu cAMP'ye bağımlı sinyalizasyon B-RAF'ın ve o yolla da ERK'nın aktive olmasını sağlar <sup>12</sup>. Melanositte bağımlı sinyal yolu üzerindeki proliferasyon ve diferensiyasyon ile B-RAF geninin aktivasyonunun yakın ilişkide olması, sporadik melanoma vakalarında, belirtilen gendeki mutasyon sıklığındaki artışın sebebi olarak gösterilmektedir.

B-RAF geninde en sık karşılaşılan 4 mutasyonun (G463V, G468A, L596V ve V599E), RAS'tan bağımsız bir şekilde B-RAF (normal aktivitesinden 2.7 ile 5 kat arasında) aktivasyonuna yol açtığı gösterilmiştir <sup>9</sup>.

BRAF geninde mutasyon analizi, mutasyona uğramış dokudan (nevus veya MM dokusu) alınan örnekler ile rutin moleküler genetik tam yöntemleri ile yapılmaktadır. Gerekli bölgenin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile amplifikasyonunun yanı sıra spesifik enzimlerle gerekli bölgenin kesimi yada aynı bölgenin DNA zincir sırasının çıkarılması ile moleküler hatanın tanısı konulabilmektedir <sup>13,14</sup>.

B-RAF geni sporadik melanomalarda bu güne dek bilinen en önemli genetik hedef olsa da ailesel vakalarda B-RAF geni mutasyonlarına rastlanmamış ve bu genin ailesel melanoma yatkınlığında rol oynamadığı gösterilmiştir <sup>13</sup>. Sporadik MM da rastlanan genetik değişiklikler ailesel formdan farklı olup, % 10-15 vakada NRAS, %5-15 vakada da PTEN genlerinin mutasyonları gösterilmiştir <sup>15</sup>. Yapılan bir çalışmada ise RAS ile aynı sinyal ileti yolunda bulunan B-RAF geninin melanomalarda mutasyonel hedef olduğuna ve bu genin mutasyonlarının melanomalarda görülen en sık genetik değişiklik olduğuna işaret etmektedir <sup>9</sup>.

B-RAF geni üzerine yapılan çalışmalar bu genin benign ve displastik nevüslerde de mutasyona uğradığını göstermiştir. Bu sonuçlar B-RAF geninin melanoma gelişiminde erken dönemde rol oynadığını ancak tek başına kanserleşme süreci için yeterli olmadığını ve başka genetik bozuklukların B-RAF geni mutasyonu

taşıyan hücrelerde birikmesi gerektiğini düşündürmektedir <sup>16</sup>.

### SONUÇ ve TARTIŞMA

Günümüzde hastalıkların moleküler patogenezi hakkında bilgilerimiz gittikçe artmakta ve bunun sonucu olarak hastalıklarla mücadele konusunda daha spesifik daha etkin ve yan etkileri daha az tedavi araçları geliştirilmektedir. Buna en iyi örnek son yıllarda kronik myelositik lösemi vakalarının tedavisinde kullanılan bcr-abl kinaz yolu inhibitörü olan ST1571 (Gleevec®) dir. Kronik myelositik lösemi vakalarında en sık görülen genetik anormallik bcr-abl translokasyonu olup bu anormallik söz konusu tirozin kinaz yolunun sürekli aktivasyonuna sebep olmaktadır. ST1571 spesifik olarak bu kinaz yolunu inhibe etmekte ve bcr-abl translokasyonu bulunan kronik miyelösiter lösemi vakalarının tedavisinde başarı ile kullanılmaktadır. Bu inhibitörlerin sayısı da gittikçe artmakta ve zaman içinde gelişen direnç fenomeninin tedavisine alternatif moleküller eklenmektedir <sup>14</sup>.

Benzer bir yaklaşımla melanomada yüksek oranda görülen, BRAF ve RAS mutasyonları sonucu aktif hale gelen, RAS-RAF-MEK-ERK-MAP kinaz yolunu inhibe etmek içinde özgün moleküllerin bulunması gerçek dışı görünmemektedir. Yakın bir gelecekte, sporadik malign melanoma vakalarında, BRAF veya RAS gen mutasyonları sonucu RAS-RAF-MEK-ERK-MAP kinaz yolu aktivasyonunun tespitinde kullanılan moleküler genetik metodların hekimlerin vazgeçilmez silahları olacağına kesin gözü ile bakılmaktadır.

*Dr. Eksal KARGI*  
Zonguldak Karaelmas Üniversitesi  
Tıp Fakültesi Hastanesi  
Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi A.D.  
67600 Kozlu, ZONGULDAK

### KAYNAKLAR

1. Jackson A, Wilkinson C, Ranger M, Pill R, August P. Can primary prevention or selective screening for melanoma be more precisely targeted through general practice? A prospective study to validate a self administered risk score. *BMJ* 316: 34-38, 1998.

2. Lowitt MH, Lowitt NR. Recent advances in dermatology: Prognostic factors in malignant melanoma. *BMJ* 311: 1615-7, 1995.
3. Tucker MA, Goldstein AM. Melanoma etiology: where are we? *Oncogene* 22: 3042-52, 2003.
4. Hayward NK. Genetics of melanoma predisposition. *Oncogene* 22: 3053-62, 2003.
5. Dursun A, Kargı E, Hoşnuter M, Babuçcu O, İmirzahoğlu N. Kanser genetiği penceresinden ailesel malign melanomaya bakış. *Türk Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Dergisi* (baskıda)
6. Palmer JS, Duffy DL, Box NF, Aitken JF, O'Gorman LE, et al. Melanocortin-1 receptor polymorphisms and risk of melanoma: is the association explained solely by pigmentation phenotype? *Am J Hum Genet* 66: 176-86, 2000.
7. Peyssonnaud C, Eychene A. The Raf/MEK/ERK pathway: new concept of activation. *Biol Cell* 93: 53-62, 2001.
8. Caduff RF, Svoboda-Newman SM, Ferguson AW, Johnston CM, Frank TS. Comparison of mutations of Ki-RAS and p53 immunoreactivity in borderline and malignant epithelial ovarian tumors. *Am J Surg Pathol* 23: 323-8, 1999.
9. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 417: 949-54, 2002.
10. Brose MS, Volpe P, Feldman M, Kumar M, Rishi I, et al. B-RAF and RAS mutations in human lung cancer and melanoma. *Cancer Res* 62: 6997-7000, 2002.
11. Halaban R. Pigmentation in melanomas: changes manifesting underlying oncogenic and metabolic activities. *Oncol Res* 13: 3-8, 2002.
12. Busca R, Abbe P, Mantoux F, Aberdam E, Peyssonnaud C, et al. Ras mediates the cAMP-dependent activation of extracellular signal-regulated kinases (ERKs) in melanocytes. *EMBO J* 19: 2900-10, 2000.
13. Laud K, Kannengiesser C, Avril MF, Chompret A, Stoppa-Lyonnet D, et al. French Hereditary Melanoma Study Group. BRAF as a melanoma susceptibility candidate gene? *Cancer Res* 63: 3061-5, 2003.
14. Nimmanapalli R, Bhalra K. Novel targeted therapies for Bcr-Abl positive acute leukemias: beyond STI571. *Oncogene* 21: 8584-90, 2002.
15. Chin L. The genetics of malignant melanoma: lessons from mouse and man. *Nat Rev Cancer* 3: 559-70, 2003.
16. Pollock PM, Harper UL, Hansen KS, Yudt LM, Stark M, Robbins CM, et al. High frequency of BRAF mutations in nevi. *Nat Genet* 33: 19-20, 2003.