

Kordomalarda Sitogenetik ve Moleküler Genetik

Fatih BAYRAKLI ¹, Tufan ÇANKAYA ², Şengül BAYRAKLI ³,
İlter GÜNEY ⁴, Selçuk PEKER ⁵

¹ Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Anabilim Dalı, İstanbul

² İstanbul Cerrahi Hastanesi, Genetik Bölümü, İstanbul

³ İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aile Hekimliği Anabilim Dalı, İstanbul

⁴ Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Bilim Dalı, İstanbul

⁵ Acibadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Anabilim Dalı, İstanbul

Cytogenetics and Molecular Genetics in Chordomas

✓ This review presents a synopsis of the available data in the literature on the molecular genetics of chordoma.

Key words: Chordoma, cytogenetic, molecular cytogenetic, comparative genomic hybridization

J Nervous Sys Surgery 2008; 1(4):259-263

✓ Literatürde kordomaların moleküler genetiği üzerine çok az çalışma vardır. Bu derlememizde kordomalarda moleküler biyolojik ve genetik değişimler açısından literatürde sınırlı bilgi ortaya konulmuş ve tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler: Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon, kordoma, moleküler sitogenetik, sitogenetik

J Nervous Sys Surgery 2008; 1(4):259-263

Kordomalar ektojik veya kalıntı notokorddan köken alan, ender, yavaş büyüyen ve infiltratif tümörler olup, Amerika Birleşik Devletleri'nde insidansı 0.08/10000 olarak bildirilmiştir. Kordoma aksiyel iskeletin her yerinde görülebileceği gibi, sıklıkla sfenooksipital, vertebral ve sakrokoksigeal bölgede görülür ⁽¹⁾.

Kordomaların moleküler genetiğini anlamak için literatürde yapılmış fazla çalışma yoktur ve dolayısıyla bu tümörde görülen genetik değişimlerin moleküler biyolojisi hakkında çok az bilgi vardır. Bu derlememizde, literatürde kordoma ile ilgili yapılmış, klasik ve moleküler sitogenetik metodları kullanarak oluşan genomik değişimleri gösteren yayınlar incelenmiş ve oluşan bilgiler toplanmıştır.

Klasik sitogenetik teknikler olarak adlandırabileceğimiz kromozomal bantlama yöntemleri ilk defa Torbjon Caspersen tarafından geliştirilmiştir ⁽¹⁷⁾. Her kromozomun uzunluğu boyunca açık ve koyu bantları oluşturan boyama protokolleri sitogenetik analizin gücünü arttırmıştır. Bu bantlama örnekleri sitogenetikçiler için kolaylıkla kromozomları ve bunlarla ilişkili delesyon ve translokasyon gibi yapısal ve sayısal değişiklikleri tanıyabilecekleri kalıplar oluşturur. Bantlar en iyi metafaz kromozomlarında incelenir ve bu nedenle, değerlendirme için mitozaya girmiş hücreye gereksinim vardır ⁽¹⁷⁾. Kromozomal bantlama örneklerinin titizlikle değerlendirilmesi, kromozomal anomali ile ilişkili binlerce kalıtsal ve de novo bozuklukların altında yatan moleküler nedenleri ortaya koymada yol göstermektedir. Solid tümörler, her biri tümör oluşumu ve

gelişimine ipucu olabilecek karmaşık kromozomal düzensizlikler içermektedir⁽¹⁷⁾.

Kordomalar ile ilgili ilk klasik sitogenetik araştırmayı kromozomal bantlama tekniği ile 1991 yılında Persons ve ark.⁽¹³⁾ iki sakral kordoma üzerinde yaparak yayımlamıştır. Bu makalede klasik kromozomal giemza bantlama yöntemi kullanılmıştır. Bildirilen olguların birinde incelenen 12 metafaz hücrenin karyotip olarak normal olduğunu, yalnızca bir hücrenin 21. kromozom için monozomik olduğunu bildirmişlerdir. Diğer olguda da 13 metafaz hücresi incelenmiş ve iki farklı anormal klon saptanmıştır. Klonlardan biri 4 hücreden oluşmakta olup, kromozom 1, 2, 3 ve 7'de görülen yapısal yeniden düzenleme göstermekteydi. Bu hücrelerin biri polipoid olmasına rağmen, aynı kromozomal değişimleri göstermekteydi. Üç hücreden oluşan 2. klonda ise kromozom 1, 5, 8, 10, 14 ve Y kromozomunda yapısal değişimler görülmekteydi. Bu klonlardaki değişimler şöyleydi: 44, XY, t(1;3)(q42;q11), -2, der(7)t(2;7)(q23;q32), -21 ve 46, X, t(Y;8)(q12;q22), t(1;14)(p34;q32), t(5;10)(q13;p11).

Gibas ve ark.⁽⁷⁾ 1992 yılında iki sakrokoksigeal kordomada ikinci klasik sitogenetik çalışmayı yayınlamıştır. Bu çalışmada klasik G-bantlama yöntemi kullanılmışlardır. Olguların birinde 15 metafaz incelenmiş, bunların yalnızca biri 46, XX karyotipi göstermiş, geri kalan metafazlar 36 ile 38 arasında değişim kromozom sayıları göstermiştir. Bu olgudaki model karyotip şöyleydi: 36, X, -X, -1, -3, -4, -10, -11, -13, -14, -18, -21, -22, +der(21)t(1;21)(q21;q22). der(21) kromozomu kısa kolu ile akrosentrik kromozomların satellitleriyle birlik gösteriyordu. Olguların ikincisinde 25 metafaz incelenmişti ve bunların hepsi klonal anormallikler göstermişti. Kromozom sayısı genellikle 72'ydi. Her metafaz 42 ile 53 arasında yapısal olarak normal kromozom ve 16 ile 20 arasında belirteç içeriyordu ve bunların 6 ile 11'inin orijini belli değildi. Tümörün karışık karyotipi şöyleydi: 72, XX, -X, -1, +del(1)

(p22)x2, -2, -3, der(3)t(3;?)(p25;?), -4, del(5)(p13), der(5)t(5;?)(p15;?), der(5)t(5;?)(p13;?), -7, inv(7)(q11.2q22), der(9)t(9;?)(p24;?)x2, -10, -10, -10, +12, -13, -13, der(15)t(15;?)(p11;?), -17, der(18)t(18;?)(p11;?), der(19)t(19;?)(q13;?), der(20)t(20;?)(q13;?), +der(20)t(20;?)(q13;?), -21, +der(21)t(2;21)(q11;q22)x2, +9mar. Metafazların yaklaşık %10'unda profaz safhaları görülmüş olup, S tipi en yaygın görüleniydi. İki olgu beraber değerlendirildiğinde, 21. kromozomun q22 bandında var olan translokasyonların iki olguda da olması bunun kordomalarda rastlantısal bir durum olmadığını düşündürmüştür. Bu bölgeye daha önce haritalanan ERG ve ETS2 proto-onkogenlerin kordoma gelişiminde rol alabileceği bildirilmiştir.

Aynı yıl DeBoer ve ark.⁽⁶⁾ bir sakral kordoma olgusunda giemza bantlama tekniği ile inceledikleri yirmi metafaz hücrenin 11'inin karyotip olarak normal olduğunu ve geri kalan 9'unun 43, XY, -2, -3, del(4)(q32), -6, +7, -11, der(12)t(9;12)(q12;p11), add(16)(q23), -20, add(22)(q13), +mar anormal kromozomal yapısal anormali gösteren koloni oluşturduğunu bildirdi.

Mertens ve ark.⁽¹¹⁾ 1994 yılında yaptıkları çalışmada, 8 hastanın sakral tümörlerini inceledi. Bu tümörlerin 5'i primer, 2'si lokal rekürrenstir. Bir olgu da primer lezyon ve lokal rekürrens beraberdi. Bu tümörlerin 7'sinde sitogenetik araştırma yapılabildi. Tümörlerin 4'ü normal karyotip gösterdiler. Bir olgu t(1;6)(q44;q11) anormalliği gösteren bir klon gösterdi. İlginç olarak bu olgunun 4 yıl sonraki nüks tümörünün kromozomal analizi normaldi. Diğer iki tümör olgusu kompleks karyotipik yeniden yapılanmalar gösterdiler. Bu olguların birinde 42, 46 ve 48 kromozomlu 3 farklı klon vardı. Bu üç klonda del(2)(p21), del(9)(p13), -10, 12q13 bandının yeniden yapılanması ve add(19)(p13) değişimlerini benzer şekilde taşıyorlardı. Diğer olgu 40 kromozom taşıyordu ve kromozom analizi şöyleydi: 40, XY, der(1)t(1;21)(p11;q11), -3, -4, -8, der(8)t(1;8)(q21;q23), add(9)(q22), -13, -14, der(20)

t(2;20)(q21;q13),del(2)(q35),-21113]/77-84, idemx2, +3, +8, +2mar[6]/46,XY[3].

Bu dört klasik sitogenetik çalışmada, toplam 13 sakral kordoma olgusundan elde edilen 14 kordoma (8 primer, 6 nüks) tümör dokusu incelenmiş; fakat sonuçlar kordomalar içerisinde karyotipik olarak farklı klonal oluşumlar göstermelerine rağmen, kordomaya özgün kromozomal anomali ortaya koyamamışlardır.

1999 yılında, Buonamici ve ark. ⁽³⁾ ilk kez 3 primer kranial kordoma olgusunda ve bir servikal nüks kordoma olgusunda yaptıkları klasik sitogenetik analizleri yayınlamıştır. Kranial kordomaların karyotipleri normaldi. Servikal kordoma olgusunda ise 6. ve 11. kromozomlar arasında translokasyon saptandı (46, XY, t(6;11)(q12;q23)).

Moleküler sitogenetik yöntemle elde edilmek istenen amaç, tümörlerin görülebilir morfolojik değişimlerinden, DNA'larındaki baz dizilerinin seviyesine inmektedir. Bu adım normal ve anormal kromozomları fiziksel olarak ayıran ve böylelikle gen içeriğini bağımsız olarak inceleyen tekniklerin kullanılması ile atılmıştır. Bunun için kullanılan üç yöntem vardır: Somatic-cell-hybrid teknolojisi, Fluorescence-activated cell (chromosome) sorting (FACS) ve Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) ⁽¹⁷⁾. Bu yöntemlerin tekniklerinin açıklanması makalemizin kapsamı içerisinde değildir.

Kordomalarda ilk moleküler sitogenetik çalışmayı Bridge ve ark. ⁽²⁾ 1994 yılında yapmıştır. Moleküler sitogenetik tetkik olarak metafaz FISH kullanılmıştır. Sakral tümör dokusunda yapılan klasik sitogenetik analizde şu karyotip görülmüştür: 42, XY, add(1)(p11), -3, der(4)t(4;?;?18;?)(q12;?;?;?), -6, -9, -14, der(16)t(4;?;16)(q12;?;q11), der(17)add(17)(p12)t(17;18)(q11;p11), der(18)del(18)(p11)add(18)(q?) [6]/42, idem, der(9)t(6;9)(q11;p11)[4]/46, XY[10]. Çalışmada kromozom 1, 3, 4, 6, 16, 17, 18 ve 21 için metafaz FISH yöntemi kullanılmış

ve kromozom 1'deki ek materyelin yeri belirlenemese de bu materyalin belirtilen kromozomlardan gelmediği ortaya konmuştur. FISH çalışması bu tümörde klasik sitogenetik yaklaşımın gösteremediği, submetasentrik bir kromozom içerisinde kromozom 18 materyali göstermiştir. Buna ilave olarak kromozom 17 ve 18'de ek anomaliler saptamıştır.

Butler ve ark. ⁽⁴⁾ inceledikleri 5 lumbosakral kordoma olgusunda, klasik sitogenetik yaklaşımda tümörlerin 4'ünde normal karyotip elde etmiştir. Diğer tek olguda belirgin bir klon tespit edilememiş, anormal görülen metafazda 46, X, -X, t(5;12)(q13;p13), t(6;7)(q25;q22), +14 karyotipi görülmüştür. İnterfaz FISH yöntemi ile incelenen kromozomlar 14, 22 ve X'te anomali saptanmamıştır.

Dalpra ve ark. ⁽⁵⁾ bir hastanın iki nüks kordoma tümöründe yaptıkları klasik sitogenetik analizde çok kompleks karyotipler bildirdi. Yapılan metafaz FISH çalışmasında bu klasik sitogenetik yaklaşımın kompleks karyotipin belirlediği anomalileri gösterdikleri gibi ek anomalilerde ortaya koydular ve sonuç olarak 1p36 bölgesini içeren 1p delesyonlarının iki nüks kordomada olduğunu, 9p21 ve 10q24-26 bölgelerinin kordomalarda klonal olarak etkilendiğini ve bu bölgelerde embriyonik veya ailesel tümörlerin gelişimine yol açan bazı genlerin bu bölgelerde olduğunu belirtmişlerdir.

Miozzo ve ark. ⁽¹²⁾ ilk kez bir kordoma ailesinde heterozigotluk kaybı-haplotip analizi ve bağlantı analizi yaptı. Ailenin probandı Dalpra ve ark.'nın ⁽⁵⁾ tarifledikleri hastaydı. Kızlarının birinde klivus kordaması ve diğerinde serebellar astrositom görülmüştü. Babada görülen telomerik 1p delesyonu genetik belirteçlerle çocuklarda araştırıldığında, delesyonun 1p36.11'in ötesine geçebileceği belirlendi. Yapılan bağlantı analiz sonucu maksimum sonucu verdi. Bu sonuçlar incelendiğinde, 1p36.31-1p36.13 bölgeleri arasında tümör baskılayıcı gen olabileceği ortaya kondu.

Kelley ve ark. ⁽¹⁰⁾ 2001 yılında otozomal dominant kalıtım gösteren geniş bir kordoma ailesinde yaptıkları tüm genom bağlantı analizinde kromozom 7q33 bölgesinde maksimum anlamlı bölgeyi buldu. Böylece ilk defa kordomada bir kromozomal bölge bu kadar kesinlikle tariflenmiş oldu. Yang ve ark. ⁽¹⁸⁾ 2005 yılında kendi kordoma ailelerinde yaptıkları bağlantı analizlerinde bu bölgeyi doğruladı. Aynı zamanda analizleri sonucunda ailesel kordomalarda genetik heterojenite olduğunu ortaya koydular. Fakat sonuçları daha önce bildirilen 1p36 bölgesini doğrulamadı.

Scheil ve ark. ⁽¹⁶⁾ ilk defa 16 kordoma tümörünün (10 sakrokoksigeal, 5 sfenooksipital, 1 spinal) 13'ünde comparative genomic hybridizasyon (CGH) yöntemini kullanarak kromozomal dengesizlikleri araştırmıştır. Her tümör için ortalama 3.2 kayıp 4.2 kazanım saptanmıştır. DNA kopya sayısında en sık kayıplar kromozom 3p (% 50) ve kromozom 1p (% 44)'de yer alıyordu. 3p kaybı 7 primer tümörün 5'inde görülmüştü. Bundan dolayı kromozom 3p kaybının kordoma gelişiminin erken safhalarında oluşan bir kromozomal değişim olabileceğini öne sürdüler. Tümör dokularında görülen en sık kazanım değişimleri 7q (% 69), 20 (% 50), 5q (% 38) ve 12q (% 38) kromozomlarındaydı. Sonuç olarak, kordoma tümör gelişiminden sorumlu olabilecek tümör baskılayıcı genlerin kromozom 1p31 ve 3p14 de, onkogenlerin kromozom 7q36 de olabileceğini belirttiler.

Sawyer ve ark. ⁽¹⁵⁾ 24 kordoma ile yaptıkları klasik sitogenetik ve spectral karyotyping (SKY) analizlerinde primer tümörlerde kromozomal anomali görmemiş ve kromozomal anomali bulunan tümörlerin hepsinin nüks tümörler olduğunu bildirmişlerdir. Sawyer aynı zamanda kordomalarda kromozomal değişimlerin tümörün ilerleyişinde ortaya çıkacağını ve bu değişimin özellikle radyoterapi alan hastalarda daha belirgin olacağını ileri sürmüştür.

Riva ve ark. ⁽¹⁴⁾ 27 sporadik kordoma olgusunda genetik belirteçlerle yaptıkları yaptıkları heterozigotluk kaybı çalışmasıyla 1p36.32-36.11 bölgesini lokalize etti ve bölgeyi 1p36.13'e daralttı. Bu bölge içerisinde bulunan CASP9, EPH2A ve DVL1 genlerinin tumor baskılayıcı rollerinin olabileceğini ve kordoma gelişiminde rol alabileceklerini belirttiler.

Gil ve ark. ⁽⁸⁾ kordomanın üç alt tipinde birer tümörle klasik sitogenetik ve SKY tekniklerini kullanarak yaptıkları çalışmalarda, kondroid kordoma alt tipinde kromozomal anomali olmadığını bildirdi. Konvansiyonel kordoma alt tipinde 45~46, X, del(X)(q23)[3], t(2;9)(p23;p24)[5], t(3;19)(q26;q13)[4], t(5;15)(p13;q26)[5], der(8)[3][cp7] şeklinde anormal karyotip saptadılar. Dediferansiye kordoma alt tipinde ise birçok sayısal ve yapısal kromozomal değişim gösteren poliploid kompleks karyotip izlendi. (71, XY, +X, +1, +1, +2, +2, +5, +6, +6, +7, +7, +8, +9, -11, add(11)(p15), +12, +14, +14, +16, +7mar, 3dmin).

Bayraklı ve ark. ⁽¹⁾ 2007 yılında 7 primer klival kordoma ve her tümörün nüksleri üzerinde (toplam 18) interfaz FISH yöntemi ile yaptıkları çalışmada, kromozom 1p36, 1q25, 2p13 ve 7q33'ün primer tümörlerde etkilendiğini ve bunun nüks tümörlerde devam ettiğini göstermiştir. İlginç bir bulgu olarak kromozom 6p12 değişiminin yalnızca primer tümörlerde olduğu nükslerde ise görülmediğini bildirdiler.

Hallor ve ark. ⁽⁹⁾ array CGH yöntemini kullanarak inceledikleri kordoma tümörlerinin %70'inde CDKN2A ve CDKN2B genlerinin bulunduğu kromozom 9p21 bölgesinin homozigot veya heterozigot olarak delesyone olduğunu bildirmiş ve bu değişimin kordoma gelişiminde önemli bir adım olduğunu belirtmişlerdir.

Sonuç olarak, kordoma gelişim sürecindeki moleküler genetik alt yapı tam olarak günümüze kadar belirlenememiştir. Bununla birlikte ailesel

kordomada 7q33 bölgesi güçlü bağlantı analizi ile ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

1. Bayraklı F, Guney I, Kilic T, Ozek M, Pamir MN. New candidate chromosomal regions for chordoma development. *Surg Neurol* 2007; 68:425-430; discussion 430.
2. Bridge JA, Pickering D, Neff JR. Cytogenetic and molecular cytogenetic analysis of sacral chordoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1994; 75:23-25.
3. Buonamici L, Roncaroli F, Fioravanti A, Losi L, Van den Berghe H, Calbucci F, et al. Cytogenetic investigation of chordomas of the skull. *Cancer Genet Cytogenet* 1999; 112:49-52.
4. Butler MG, Dahir GA, Hedges LK, Juliao SF, Sciadini MF, Schwartz HS. Cytogenetic, telomere, and telomerase studies in five surgically managed lumbosacral chordomas. *Cancer Genet Cytogenet* 1995; 85:51-7.
5. Dalpra L, Malgara R, Miozzo M, Riva P, Volonte M, Larizza L, et al. First cytogenetic study of a recurrent familial chordoma of the clivus. *Int J Cancer* 1999; 81:24-30.
6. DeBoer JM, Neff JR, Bridge JA. Cytogenetics of sacral chordoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1992; 64:95-6.
7. Gibas Z, Miettinen M, Sandberg AA. Chromosomal abnormalities in two chordomas. *Cancer Genet Cytogenet* 1992; 58:169-73.
8. Gil Z, Fliiss DM, Voskoboinik N, Leider-Trejo L, Spektor S, Yaron Y, Orr-Urtreger A. Cytogenetic analysis of three variants of clival chordoma. *Cancer Genet Cytogenet* 2004; 154:124-30.
9. Hallor KH, Teixeira MR, Fletcher CD, Bizarro S, Staaf J, Domanski HA, et al. Heterogeneous genetic profiles in soft tissue myoepitheliomas. *Mod Pathol* 2008;
10. Kelley MJ, Korczak JF, Sheridan E, Yang X, Goldstein AM, Parry DM. Familial chordoma, a tumor of notochordal remnants, is linked to chromosome 7q33. *Am J Hum Genet* 2001; 69:454-60.
11. Mertens F, Kreicbergs A, Rydholm A, Willen H, Carlen B, Mitelman F, Mandahl N. Clonal chromosome aberrations in three sacral chordomas. *Cancer Genet Cytogenet* 1994; 73:147-51.
12. Miozzo M, Dalpra L, Riva P, Volonta M, Macchiardi F, Pericotti S, et al. A tumor suppressor locus in familial and sporadic chordoma maps to 1p36. *Int J Cancer* 2000; 87:68-72.
13. Persons DL, Bridge JA, Neff JR. Cytogenetic analysis of two sacral chordomas. *Cancer Genet Cytogenet* 1991; 56:197-201.
14. Riva P, Crosti F, Orzan F, Dalpra L, Mortini P, Parafioriti A, et al. Mapping of candidate region for chordoma development to 1p36.13 by LOH analysis. *Int J Cancer* 2003; 107:493-7.
15. Sawyer JR, Husain M, Al-Mefty O. Identification of isochromosome 1q as a recurring chromosome aberration in skull base chordomas: a new marker for aggressive tumors? *Neurosurg Focus* 2001; 10:E6.
16. Scheil S, Bruderlein S, Liehr T, Starke H, Herms J, Schulte M, Moller P. Genome-wide analysis of sixteen chordomas by comparative genomic hybridization and cytogenetics of the first human chordoma cell line, U-CH1. *Genes Chromosomes Cancer* 2001; 32:203-11.
17. Trask BJ. Human cytogenetics: 46 chromosomes, 46 years and counting. *Nat Rev Genet* 2002; 3:769-778.
18. Yang XR, Beerman M, Bergen AW, Parry DM, Sheridan E, Liebsch NJ, et al. Corroboration of a familial chordoma locus on chromosome 7q and evidence of genetic heterogeneity using single nucleotide polymorphisms (SNPs). *Int J Cancer* 2005; 116:487-91.