

Mesane kanseri ve RAS proto-onkogenleri

Bladder cancer and RAS proto-oncogenes

Pınar Aslan Koşar¹, Erdem Çapar², Alim Koşar²

¹Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.B.D

²Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji A.B.D

Özet

Mesane kanserleri genitoüriner sistem tümörleri içerisinde ikinci sıklıkta gözlenen malignite türüdür. Yüzeysel mesane tümörlü hastaların %70'den fazlasında başlangıç mesane transüretal rezeksiyonu sonrası bir veya daha fazla rekürrens gözlenir, ve yaklaşık bu hastaların üçte birinde hastalık progresyon gösterir. İnvaziv mesane kanseri ise metastazlara bağlı olarak % 50 ölüm hızı nedeniyle yıkıcı bir hastalıktır.

RAS genleri Onkogen ailesinin bir üyesidir. Ras proteinlerinin hücre içinde protein kinaz (MAP) kaskadını aktifleştirmesiyle oluşan devamlı mitojenik sinyal sonucu ölümsüz hücreler oluşur. Ras proteinlerinin hücredeki çoğalma sinyallerinde rol alması onları üretiliyal tümörlerde görülen mutasyonlar için önemli bir hedef haline getirir. İnsan kanserlerinde RAS protoonkogeni mutasyonları en sık görülen genetik değişikliklerdendir. Ras genlerindeki somatik mutasyonlar primer ve rekürren üretiliyal tümörlerde erken tanı ve tedavi takibinde kullanılabilir.

Bu derlemede mesane kanserleri ile RAS mutasyonları ilişkisi gözden geçirildi.

Anahtar Kelimeler: Onkogenler, mesane kanseri

Abstract

Bladder cancer is the second most common cancer of the genitourinary tumors. After initial TURB, %70 of patients with non-muscle-invasive bladder cancer have develop one or more recurrences and one third of them will progress to invasive tumor. Muscle invaziv bladder cancer is a devastating disease since over 50% of the patients will die from metastatic disease.

RAS genes are the member of oncogenes family. The main function of the ras proteins is to induce activation of protein kinase pathway, which in turn results in continuous mitogenic signaling and transformation of immortalized cells. Because of their active involvement in proliferative signals within the growing cell, ras genes are the most common targets for somatic mutations in urothelial tumors. RAS protooncogene mutations in the human cancers are the most common observed genetic alterations. In urothelial tumors somatic mutations in the ras genes may be of use for early detection of primary and recurrent tumors, for follow up targeted therapies in tissue-based assays.

In this review, it was revised relations between RAS gene mutations and bladder cancer.

Key Words: Oncogenes, bladder cancer

Giriş

Mesane kanseri batıda 5. sıklıkta gözlenen nonkutanöz solid malign tümördür ve genitoüriner sistem tümörleri içerisinde ikinci sıklıkta gözlenen malignite türüdür. Erkeklerde kadınlardan 3 kat fazla görülmektedir. Mesaneden kaynaklanan malign tümörlerin yaklaşık %90'ı epitelyal orijindir ve bunların büyük çoğunluğu değişik hücreli karsinomdur. Kliniğe ilk başvuru anında mesane tümörlerinin yaklaşık %75-85'i yüzeysel (evre Ta-Tis), %15-25'i invaziv (T1,T2-T4) ya da metastatik lezyonlardır.(1,2)

Yüzeysel tümörlü hastaların %70'den fazlasında başlangıç tedaviden sonra bir veya daha fazla rekürrens oluşur. Bu hastaların da yaklaşık üçte birinde hastalık progresyon gösterir. Günümüzde olası invaziv karsinoma dönüşecek yüksek riskli yüzeysel tümörleri belirleyen yeni metodlara ihtiyaç vardır. Tümörün kasa invazyonundan sonra doğal seyir oldukça değişkendir fakat büyük oranda ölümcül seyretmektedir. Agresif cerrahi rezeksiyonlar, radyoterapi ve/ya da kemoterapiye rağmen, kür oranı %20-%50 arasında kalmaktadır. Bu hastalarda reseptör düzeyinde hedeflere ve onkogenlere yönelik tedaviler so-

nuçları iyileştirebilir (3).

Yeni mesane kanseri ve rekürrenslerin tanısında sistoskopi standart yöntemdir. Sistoskopinin rekürren tümörleri yakalama sensitivitesi ancak %77-83 oranındadır. İnvaziv durumdaki tümöre tanı konulduğunda tedavi etkinliği azaldığından tanı araçlarının sensitivitesini arttırmak amaçlanmalıdır. Bu nedenle sistoskopiye onkogenik biyomarkırlarla desteklemek ve tedavi hedeflerini belirlemek amacıyla onkogenik mutasyonların tespit edilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.(4,5)

Mesane kanserinin patogenezi

Mesane tümörogenezisinde PTEN, RB1, TP53 tümör supresör genlerinin kaybı ve ERBB2'nin amplifikasyonu, RAS ailesi genleri ve FGFR3'ün mutasyonlarını içeren epigenetik ve genetik bozukluklar yer almaktadır. Çalışmalar farklı genotipik ve fenotipik özelliklerin erken ya da geç evre mesane kanseri ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Yüzeysel papiller mesane tümörleri başlıca RAS ve FGFR3 gibi klasik onkogenlerin etkilendiği mutasyonlarla karakterizedir. Başlıca uzun kolda (9q) allelik kayıplarla seyreden kromozom 9 delesyonları da bu tümörlerde gözlenen sık olaylardır. Onkogenlerde oluşan genetik bozukluklar yüzeysel papiller (Ta) tümörlerin çoğunda, invaziv tümörlerin ise küçük bir grubunda da gözlenmektedir. Düz karsinoma insutu (Tis) ve invaziv tümörler, p53, RB ve PTEN'i içeren prototip tümör supresör genlerinde fonksiyon kaybına neden olan mutasyonlarla karakterizedir. Bu bozukluklar Ta tümörlerde ya yoktur ya da çok nadir gözlenir, fakat invaziv mesane kanserlerinde sıklıkla belirlenmiştir.

Klinik bilgi ve deneysel çalışmalarda ürotelyal tümörlerin iki farklı yolakta progresse olduğu saptanmıştır. Birinci yolakta RTK-RAS aktivasyonu ile basit papiller hiperplazi gelişir. Ürotelyal tümörlerin %70-80'i birinci yolakta progresse olur. Basit papiller hiperplazilerin %70'i RAS geni ve fibroblast growth faktör reseptörü-3 (FGFR3) mutasyonları ile rekürrense ilerler. Rekürren tümörlerin %15'i 8p-, 11p- ve 13q-,14q- mutasyonları eklenerek invaziv hale dönüşür. Ürotelyal tümörlerin %20-30'u ikinci yolakta CIS ve displaziye progresse olur. Displazilerin %50'si p53, RB gen defektleriyle invaziv hale gelir (6).

RAS gen ailesi

RAS proteini monomerik GTP bağlayan bir GTPaz'dır.

RAS proteinleri hücre zarının sitoplazmik yüzüne bakan kısmına bağlanmak için bir lipid grubu içermektedir. RAS gen ailesi, Harvey RAS (HRAS), Kristen RAS A ve B (KRAS), ve nöroblastom RAS (NRAS) olmak üzere 4 fonksiyonel genden oluşur. Bunlar 21 kDa (p21) molekül ağırlığında, birbirine çok benzer ve korunmuş proteinleri kodlarlar (7,8). Farklı hücrelerde görevli farklı RAS proteinleri bulunur. Ras hem mitojenik etkilidir, hem de hücre siklusu kontrolünde de indirekt olarak rol alır. RAS hücreye gelen sinyali hücre yüzeyinden başka bölgelere yaymaya yardımcı olur. Hücre çoğalması esnasında sinyallerin hücre çekirdeğine iletilmesine kadar geçen yolda yer alan enzimlerin önemli bir kısmı "tirozine kinaz" adı verilen bir aktiviteye sahiptir. Tirozine kinazlar gen ifadesini değiştirerek hücre çoğalma ve farklılaşma sinyalini iletmeye kullanılırlar (7,9,10).

RAS proteini, GTP bağlayan bir protein olarak 2 belirgin konformasyon arasında gidip gelen bir anahtar gibi davranır. GTP bağladığında aktif ve GDP bağladığında inaktiftir. Aktif ve inaktif durumları arasındaki geçiş Guanin nükleotid değiş tokuş elementleri (GEF) düzenler. GEF'ler GDP'nin ayrışmasını ve sonrasında GTP'nin sitozolden alınmasını uyararak RAS'ı aktifleştirirler. GTPaz etkinleştirici proteinler (GAP) RAS'taki GTP'nin hidroliz hızını arttırarak RAS'ı inaktive ederler. Mutant RAS formları GAP'a duyarlıdır ve sürekli GTP bağlı aktif durumda kalırlar. Böylece kanser oluşumunu teşvik ederler. Tirozine kinaz reseptörleri GEF'leri aktifleştirerek, GAP'ları devre dışı bırakarak RAS'ı aktifleştirirler. Ras proteinleri büyüyen hücrenin proliferatif ve değişim sinyallerinde aktif rol aldığı için tüm kanserlerde somatik kazanılmış fonksiyonel mutasyonlara çok açıktır. Bu şekilde intrinsik GTPase aktiviteli proteinlerin yapısı değişir (7,9,10). Bazı tümörler üzerinde yapılan çalışmalar RAS gen ailesinde nokta mutasyonlara yatkın olan bazı 'hot spot'ları göstermiştir. Sık mutasyonlar kodon 12 de glisin valine, kodon 13 te glisin sisteine ve kodon 61 de glutaminin arginin/lizinin/lösine değişimi şeklinde olmaktadır. Hotspot kodonlar olarak bilinen ekzon 12, 13 (segment 1) ve 61 (segment 2) deki mutasyonlar spesifik aminoasit değişimlerine neden olur. Bu durum GTPaz aktivitesinin kaybıyla sonuçlanır (7,11,12). Guanozin trifosfatın sinyal aktarımında (genetik bilgi aktarımında) moleküler anahtar olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca farklı

ekstrasellüler sinyal çeşitleri RAS-GDPnin RAS-GTP aktif biçimine dönüşümünü stimüle eder. RAS proteininin ana fonksiyonu devamlı mitojenik sinyalizasyonla, ölümsüz hücrelere dönüşüm ile sonuçlanan aşağı yönde kinaz kaskadının aktivasyonunu indüklemektir (13).

Ras, hücrelerin; sinyal transdüksiyonu, proliferasyonu, farklılaşması (diferiasyon), adhezyonu, apoptozisi, migrasyonu gibi süreçlerinde rol alır. Ras ve ras-ilişkili proteinler arttığında; invazyon ve metastazı artırmak ve apoptozisi azaltmak yoluyla sıklıkla kanserlerin oluşumuna neden olmaktadır. Uygun olmayan aktivasyonunun; hücrelerin sinyal iletimini, proliferasyon ve malign dönüşümde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Çeşitli genlerdeki mutasyonlar ve RAS geninin kendi mutasyonları buna neden olabilir. İnsan kanserlerinde RAS protoonkogeni mutasyonları en sık görülen genetik değişikliklerdendir. Ras genindeki somatik mutasyonlar primer ve rekürren üretiliyal tümörlerde erken tanıda ve tedavi takibinde kullanılabilir.

İnsan kanserlerinde Ras mutasyonları

İnsan kanserlerinde RAS protoonkogeni mutasyonları en sık görülen genetik değişikliklerdendir (7).

Ras geni mutasyonları, meme, ovaryum, mide, özefagus ve prostatta az görülmesine karşın pankreasın bütün adenokarsinomlarında, kolon ve troid kanserlerinin %50'sinde gözlenir. Kolon ve pankreatik kanserlerdeki mutasyonlar sadece KRAS geninde görülür (7,14,15,16).

RAS mutasyonları ve mesane kanseri

İnsan mesane tümörlerinde RAS gen mutasyonlarını araştıran pek çok çalışma yapılmıştır. Tümörögenizeste yer alan pek çok aktif RAS mutasyonu bildirilmiştir. RAS mutasyonlarının insidansı değişkendir ve büyük oranda kanser hücrelerinden üretilen doku ya da hücre tipine bağlıdır. Genetik yapısı değiştirilmiş fareler üzerinde yapılan bir deneysel çalışmada bir K-ras transgeninin doku spesifik salınımı sonucu ürotelyal hiperplazi ve yüzeysel papiller tümör oluştuğu gözlenmiştir (7). Bu gözlem RAS aktivasyonunun mesanedeki karsinogenezisin erken basamaklarına etki ettiğini göstermektedir.

RAS mutasyonları ilk kez insan mesane kanser hücre hattı T24'te saptandı. Mesane kanserli hastalarda değişik RAS gen mutasyon oranları bildirilmiştir (7,17). Hiç RAS mutasyonu belirlemeyen seriler mevcutken %84 gibi yüksek mutasyon oranları bildiren seriler de mevcuttur.

Bu çalışmalarda daha çok HRAS mutasyonları değerlendirilmiştir. Kültüre olmamış mesane tümörlerinin analizi ile örneklerin yalnız %10'unun mutasyona uğramış HRAS geni içerdiğini göstermektedir (11,14). Buna rağmen, sonraki çalışmalar daha sık oranlar bildirdiler. Fitzgerald ve arkadaşları mesane kanserli hastaların idrar sedimentlerinde %44 oranında HRAS gen mutasyonlarını saptadı(7). İlave olarak, Przybojewska ve arkadaşları PCR yöntemi ile mesane kanserli hastaların %84'ünde HRAS mutasyonu bulmuşlardır (13). Czerniak ve arkadaşları HRAS mutasyonlarının, mesane kanserlerinin %45'inde spesifik olarak kodon 12 ile bağlantılı olduğunu gözlemlediler (7). Diğer taraftan son zamanlarda RAS geni kodon 12 de tanımlanan pek çok mutasyon mesane kanserinde bildirilmiştir. Zhu ve arkadaşları ve Buyru ve arkadaşları kodon 12 de HRAS nokta mutasyonlarını sırasıyla %46.7 ve %39 oranında bildirmişlerdir (1,11). Yine bu çalışmaların bazılarında mesane kanserli hastalarda RAS gen alt gruplarının hangi sıklıkta mutasyona uğradığı araştırılmıştır. Bu çalışmalar üriner sistem tümörlerinde HRAS mutasyonlarının KRAS ve NRAS gen mutasyonlarından çok daha sık gözlendiğini gösterdi. Jebar ve arkadaşları RAS mutasyonlarını 98 mesane tümörü ve 31 mesane hücre hattında çalışmışlardır. Örneklerin her ikisinde de %13 oranında RAS mutasyonu saptamışlardır (7). Totalde HRAS'ta 10 mutasyon, KRAS'ta 4, ve NRAS'ta 4 mutasyon belirlemişlerdir. Kompier LC ve arkadaşlarının 257 mesane kanserli hasta grubunda yaptıkları çalışmada 28 hastada RAS mutasyonu (%11) saptamışlardır. Bu mutasyonların 14 tanesi HRAS, 13 tanesi KRAS ve 1 tanesi NRAS geninde gözlenmiştir (5).

Yukardaki çalışmaların tersine İran popülasyonunda Karimianpour ve arkadaşlarının yaptığı 35 hastalık mesane kanser serisinde hiçbir hastada herhangi bir düzeyde RAS gen ailesinde mutasyon saptanamamıştır. Araştırmacılar RAS gen mutasyonunun olmamasını genetik ve kültürel durumla bağlantılı olabileceğini bildirmişlerdir (7). Başka bir çalışmada Hindistan'ın Kaşmir bölgesindeki mesane kanserli hastalarda K-ras gen mutasyonu sıklığı araştırılmıştır (7). Bu çalışmada farklı evre ve derecedeki 60 tümör dokusunda mutasyon insidansı incelenmiştir. K-RAS mutasyonlarının sıklığı etnik Kaşmir topluluğunda da düşük oranda (%11.7) bulunmuştur. Bu çalışmalar RAS mutasyon sıklığının etnisiteden etkilendiğini

göstermektedir. Yine bu son çalışmada K-RAS mutasyon sıklığı lenf nodu tutulumu ve tümör rekürrensi ile korele bulunmuştur. Ayrıca sigara içenlerde ve yüksek dereceli tümörü olan hastalarda oranın yüksek olduğu belirlenmiştir (7).

Sonuç olarak, RAS mutasyonları mesane kanseri etiolojisinde rol alan önemli faktörlerden biridir. Fakat insan mesane kanserinde RAS mutasyonlarının gerçek sıklığı hala açık değildir. Diğer taraftan, H-RAS mutasyonlarının diğer mutasyonlardan daha sık olduğu görülmektedir. Ayrıca, etnisitenin RAS mutasyon sıklığını etkilediği görülmektedir. Fakat bu konuda geniş serili prospektif çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır.

Kaynaklar

1. Ayan S, Gökçe G, Kılıçarslan H, Ozdemir O, Yıldız E, Gultekin E.Y. K-Ras mutation in transitional cell carcinoma of urinary bladder. *International urology and nephrology*. (2001);33: 363-367.
2. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics 2010. *Ca cancer j clin*.(2010); 60(5):227-300.
3. Black PC, Agarwal PK, Damey CP. Targeted therapies in bladder cancer an update. *Uro onkol*.(2010); 25: 433-438.
4. Grosman HB, Gomella L, Fradet Y, Morales A, Presti J. A phase 3, multicenter comparison of hexaminolevulinate fluorescence cystoscopy and white light cystoscopy for the detection of superficial lesions in patients with bladder cancer. *J Urol*. (2007); 178: 62-67.
5. Kompier LC, Lurkin I, Madelon NM, Bas WG, Theo H, Ellen Z. FGFR3, HRAS, KRAS, NRAS and PIK3CA mutations in bladder cancer and their potential as biomarkers for surveillance and therapy. (2010);5: e13821.
6. Bladder cancer in2010: how far we came? Jacobs BL, Lee CT, Montie JE. *CA Cancer J clin*. (2010);60:244-272.
7. Nanda MS, Sameer AS, Syeed N, Shah ZA, Murtaza I, Siddiqi MA, Ali A. Genetic aberrations of the k-ras proto-oncogene in bladder cancer in kashmiri population. *Urol J*. (2010);7:168-73.
8. Watzinger F, Lion T. RAS family Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. 1999;http://AtlasGeneticsOncology.org/Deep/Ras.html.
9. Capon DJ, Chen EY, Levinson AD, Seeburg PH, Goeddel DV. Complete nucleotide sequences of the T24 human bladder carcinoma oncogene and its normal homologue. *Nature*. (1983);302:33-7.
10. Schubert S, Shannon K, Bollag G. Hyperactive Ras in developmental disorders and cancer. *Nat Rev Cancer*. (2007);7:295-308.
11. Levesque P, Ramchurren N, Saini K, Joyce A, Libertino J, Summerhayes IC. Screening of human bladder tumors and urine sediments for the presence of H-ras mutations. *Int J Cancer*. (1993);55:785-90.
12. Smit VT, Boot AJ, Smits AM, Fleuren GJ, Cornelisse CJ, Bos JL. KRAS codon 12 mutations occur very frequently in pancreatic adenocarcinomas. *Nucleic Acids Res*. (1988);16:7773-82.
13. Kim MJ, Woo SJ, Yoon CH, Lee JS, An S, Choi YH et al. Involvement of autophagy in oncogenic K-Ras-induced malignant cell transformation. *The journal of biological chemistry*. (2011);286(15):12924-12932.
14. Almoguera C, Shibata D, Forrester K, Martin J, Arnheim N, Perucho M. Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant c-K-ras genes. *Cell*. (1988);53:549-54.
15. Sameer AS, Chowdhri NA, Abdullah S, Shah ZA, Siddiqi MA. Mutation pattern of K-ras gene in colorectal cancer patients of Kashmir: a report. *Indian J Cancer*. (2009);46:219-25.
16. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med*. (1988);319:525-32.

Yazışma / Correspondence

Dr. Erdem ÇAPAR

Süleyman Demirel Üniversitesi Hastanesi Üroloji Kliniği Servisi, Isparta

E-posta: capar.erdem@gmail.com

Tel: 0506 771 60 69