

# GENETIKAI ELTÉRÉSEK GYERMEKKORI ROSSZINDULATÚ BETEGSÉGEK BEN

AZ ELMŰLT ÉVTIZEDEK SORÁN A GENETIKAI MÓDSZEREK INTENZÍV FEJLŐDÉSE SZÁMOS ÚJ LEHETŐSÉGET BIZTOSÍTOTT A KLASSZIKUS ALAPMÓDSZERREL, A SÁVTECHNIKÁVAL VÉGZETT KROMOSZÓMAVIZSGÁLATTAL NYERHETŐ INFORMÁCIÓ KIEGÉSZÍTÉSÉRE. ELNYERTÉK HELYÜKET A MINDENNAPI GYAKORLATBAN AZ ÁRAMLÁSOS CITOMETRIÁVAL VÉGZETT DNS-INDEX-MEGHATÁROZÁS, A SPECIFIKUS SZÁMBELI ÉS SZERKEZETI KROMOSZÓMA-ABERRÁCIÓK KIMUTÁSÁRA SZOLGÁLÓ FLUORESCENS IN SITU HIBRIDIZÁCIÓ ÉS A MOLEKULÁRIS GENETIKAI MÓDSZEREK VÁLTOZATAI. SEGÍTSÉGÜKKEL BIZONYÍTÁST NYERT, HOGY A DAGANATOS BETEGSÉGEK KIALAKULÁSÁBAN OKI SZEREPEP JÁTSZANAK A SPONTÁN OSZTÓDÓ TUMORSEJTEK BEN KIMUTATHATÓ KROMOSZÓMA-ABERRÁCIÓK ÉS MOLEKULÁRIS GENETIKAI ELTÉRÉSEK, S HOGY A SPECIFIKUS KROMOSZÓMA-ELTÉRÉSEK TÖRÉSPONTJAINAK LOKALIZÁCIÓJA EGYBEESIK AZ ONKOGÉNEK ÉS TUMOR SZUPPRESSZOR GÉNEK LÓKUSZAIVAL. MIVEL E GENETIKAI RENDELLENESÉGEK NEM CSUPÁN ELMÉLETI JELENTŐSÉGŰEK, HANEM GYAKRAN DIAGNOSZTIKUS, PROGNOZSTIKAI ÉS TERÁPIÁS KONZEVENCIAKKAL IS BÍRNAK, MINDEN BETEGSÉGNÉL TÖREKEDNÜNK KELL KIMUTATÁSUKRA. A GENETIKAI ELTÉRÉSEK MEGISMERÉSE A MEGBETEGEDÉSEK PATOMECHANIZMUSÁNAK MEGÉRTÉSE MELLETT SEGÍTSÉGET NYÚJT A LEGMEGFELÉLŐBB KEZELÉS MEGVÁLASZTÁSÁBAN, ÉS LEHETŐVÉ TÉVE A REZIDUÁLIS BETEGSÉG NAGY ÉRZÉKENYSÉGGEL VALÓ KIMUTATÁSÁT, MEGKÖNNYÍTI A BETEGEK UTÁNKÖVETÉSÉT.

JAKAB  
ZSUZSANNA  
DR.,  
OLÁH ÉVA DR.

DEBRECENI EGYETEM  
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTU-  
DOMÁNYI CENTRUM,  
GYERMEKKLINIKA, REGIO-  
NÁLIS GENETIKAI LABORA-  
TÓRIUM, DEBRECEN

## Elméleti háttér

A gyermekkori rosszindulatú betegségek évenkénti incidenciája hazánkban – a nyugati országokéhoz hasonlóan – 140/millió (2000–2002, Országos Gyermektumor Regiszter), ami a 0–14 éves korosztályban évente 200–250 megbetegedést jelent. Jóllehet ritka betegségcsoportról van szó, mégis kiemelkedő szerepet játszik a gyermekkori halálozásban: a második helyen áll a balesetek mögött. Az elmúlt évtizedek során a genetika robanásszerű fejlődésével párhuzamosan a daganatok patogenezisére vonatkozó elméleti ismereteink is jelentősen gyarapodtak. Nyilvánvalóvá vált, hogy a daganatos sejtburjánzás oka a sejtosztódás és a természetes sejtpusztulás egyensúlyának megbomlása, ami a sejtproliferáció, a differenciálódás és a sejtelhalás szabályozá-

sában szerepet játszó gének meghibásodására vezethető vissza. A normál sejtekben a sejtciklus szabályozását megfelelő rendszerben óramű pontossággal aktiváló, illetve nyugalmi állapotba kerülő ún. protoonkogének végzik. Ezek kóros körülmények között különböző módon károsodhatnak: kromoszóma-átrendező-dés, mutáció, tumor promóter beépülése révén aktivált állapotba kerülhetnek (onkogének). Az általuk kódolt fehérje növekedési faktorként vagy annak receptorként, enzim vagy kötőfehérje formájában szól bele a jelátviteli folyamatba.

Hasonlóképpen a proliferáció és differenciálódás egyensúlyának eltolódását eredményezi a protoonkogének működésének szabályozásában részt vevő ún. tumor szuppresszor gének (antionkogének) funkciókárosodása. Kiemelkedő jelentősége van továbbá azon géneknek, amelyek a DNS-szintézis során keletkező hibák kijavításában játszanak szerepet, őrizve az örökítő anyag épségét, megakadályozva a proliferációs előnyhöz vezető új mutációk felhalmozódását. A tumor szuppresszor gének indítják be az apoptózist, a programozott sejthalál folyamatát, amennyiben a genetikai hiba kijavítása sikertelen.

A protoonkogének dominánsan ható gének, aktiválódásuk már a génpár egyik alléljének károsodásakor létrejöhet, míg a tumor szuppresszor gének általában recesszív módon hatnak, azaz mindkét allél károsodása szükséges a génfunkció teljes kieséséhez.

Az első kromoszóma vizsgálatot daganatos sejteken *Levan és munkatársai* 1956-ban, az emberi kromoszómaszám felfedezésének évében végezték. Azóta bebizonyosodott, hogy minden megfelelően

vizsgált daganatban jellemző klonális kromoszómaeltérések mutathatók ki (klonális: azonos szerkezeti vagy számbeli aberráció), amelyek meghatározott kromoszómális régiókat érintenek, és amelyekhez a betegség előrehaladásával párhuzamosan, az ún. klonális evolúció során új aberrációk társulnak. Azt is megfigyelték, hogy az érintett kromoszómaregiók messzemenően megegyeznek a protoonkogének és tumor szuppresszor gének lokalizációjával, ami arra utalt, hogy a tumorspecifikus kromoszómaeltérések a protoonkogének deregulációja révén alapvető szerepet játszanak a malignus transzformációban. Ma már számos esetben a génnaktivációhoz vezető pontos molekuláris mechanizmus is ismert. A transzlokációkban két egymástól a genomban eredetileg távol elhelyezkedő gén (egyik a proliferációért, másik a sejttípus meghatározásáért felelős) kerül egymás mellé, új funkciójú fúziós gént, vagy a proliferációért felelős gén transzkripciójának fokozódását eredményezve. Előbbire a krónikus mieloid leukémia Ph-transzlokációja, utóbbira a leukémiák és lymphomák transzlokációi nyújtanak példát. Utóbbiakban a sejttípustól függően az immunglobulin, illetve T-sejt-receptor könnyű és nehéz láncok génjei protoonkogénekké (pl. c-myc, bcl-2), rekombinálódnak, az utóbbiak transzkripciójának fokozódását és kontrollálatlan sejtproliferációt eredményezve. A limfoid sejtek tumorspecifikus átrendeződéseiben az érésükkel járó fiziológiás génátrendeződési folyamatokban közreműködő rekombinátorok hibás működése játszik szerepet. Természetesen az így keletkező aberráns sejtek többsége általában védekező rendszereink közreműködésével idejében kiküszöbölődik.

A daganatos sejtekben látott kromoszómaeltérések a daganatos átalakulás szempontjából játszhatnak elsődleges szerepet, vagy megjelenhetnek másodlagosan. A primer aberrációk már a betegség kezdetén megjelennek, szoros összefüggést mutatva az érintett sejttípussal, illetve annak differenciáltsági fokával vagy a kiváltó ágenssel. Szerkezetüket tekintve döntően kromoszóma-átrendeződések (transzlokáció, inverzió, inszerció), részleges vagy teljes veszteségek (deléciók).

Diagnosztikus és prognosztikai jelentőséggel bírnak, segítve a klinikust a megfelelő terápia megválasztásában. A szekunder kromoszómaaberrációk ugyanakkor a kórlefordulás későbbi szakaszában jelennek meg, kevésbé következetesek, bár összefüggést mutatnak a tumor típusával és a primer aberrációval. A genetikailag instabillá vált sejt klonális evolúciójára utalnak, szerkezetüket tekintve általában teljes vagy részleges kromoszómavesztést vagy többletet jelentenek, prognosztikailag a folyamat előrehaladását jelzik.

Mai ismereteink szerint a szabályozási folyamatok szoros kontrollja miatt egyetlen gén mutációja nem elegendő a malignus transzformációhoz, általában legalább kettő, még inkább mutációs lépések sorozata szükséges a malignus folyamat manifesztációjához. A mutáció klasszikus okaiként ismert az ionizáló sugárzás, genotoxikus kémiai anyagok hatása, virális eredetű gének beépülése. A neoplastikus sejtek genetikai változásai határozzák meg további viselkedésüket, invazivitásukat, metasztatizáló képességüket és terápia érzékenységüket.

Viszonylag ritkán, az összes gyermekkori daganatos megbetegedés kevesebb, mint 5%-ában veleszületett betegség, konstitutionális genetikai eltérés hajlamosítja a beteget malignus betegség kialakulására. Ismert, hogy Down-szindrómában gyakori a leukémia, immundeficienciákban (Bloom-szindróma, ataxia teleangiectasia) a lymphoreticularis rendszer tumorai. A hemihipertrófia, aniridia Wilms-tumorral társulhat. A neurocutan szindrómák multiplex hamartomák, daganatok jelentkezésével járnak a bőrben, idegrendszerben és kötőszövetekben változatos klinikai manifesztációk mellett (sclerosis tuberosa, Sturge-Weber, von Hippel-Lindau-szindróma, neurofibromatosis). A multiplex endokrin neoplázia szindróma típusai az előbbiekhöz hasonlóan általában autoszomális domináns módon öröklődnek. A rákos család szindrómák (Lynch, familiaris polyposis szindróma, emlőrák, ovárium) a családi anamnézis alapján merülhetnek fel. A felsorolt szindrómák többségében olyan örökletes mutációról van szó, mely tumor szuppresszor gének egyik alléljának csökkent funkciójával jár (és minden sejtben jelen van), míg a tu-

mor manifesztálódásához az allél gén elvesztése/mutációja is szükséges (tumorban). Ezen betegségek hátterében álló gének lokalizációja ma már többnyire ismert, sokszor lehetőség van a génhiba molekuláris szintű kimutatására, a családi érintettség igazolására. Ilyenkor a szoros gondozás, nyomonkövetés nélkülözhetetlen, megfelelő preventív műtéti beavatkozások végrehajtásával a daganatok kialakulásának kockázata esetenként csökkenthető.

### Vizsgálati módszerek

A daganatokra jellemző genetikai változások kimutatását magukból a kóros sejtekből végezzük: a műtét vagy mintavétel során eltávolított primer vagy metasztatikus tumorszövetből, leukémiák esetében a csontvelőből, esetleg magas perifériás blasztszám esetén vérből. A klasszikus alapmódszer, a sávtechnikával végzett kromoszóma vizsgálat, amely átfogó képet ad a daganatsejtek számbeli és szerkezeti kromoszóma-eltéréseiről, számos nehézségbe ütközik: gyakran kevés a rendelkezésre álló minta, alacsony az osztódó sejtek száma, rossz a metafázisok minősége. Nehezen fedezhetők fel és értékelhetők a kromoszóma-eltérések még a legmodernebb számítógépes analízissel is. Génamplifikációra a kariogramban a homogénen festődő régiók és/vagy páros kromatintestecskék megjelenése utalhat. A helyes értékelést nehezíti, hogy gyakran a jelenlévő normál metafázisok kerülnek előtérbe jobb minőségük, jobb értékelhetőségük miatt. Ezért a daganatsejtek megbízható genetikai jellemzéséhez minden esetben javasolt kiegészítő módszerek egyidejű alkalmazása. Segítségükkel nemcsak a fel nem ismert kromoszómarendellenességek tisztázhatók, de a molekuláris szintű genetikai eltérésekre is fény deríthető.

A flow citometriával meghatározott DNS-index megmutatja, hogy a normál DNS-tartalomhoz képest a kóros sejtek DNS-állománya több (hyperdiploid, tetraploid) vagy kevesebb (hypodiploid, haploid). Utal emellett a kóros sejtek normális sejtekhez viszonyított arányára és több kóros sejtklón egyidejű jelenlétére. A vizsgálat általában sikeres, nem ad jelentős többletkölt-

séget a rutinszerűen végzett immunfenotípus meghatározáshoz, amely a tumorsejtek pontos tipizálásához egyébként is nélkülözhetetlen. A fluoreszcens in situ hibridizáció (FISH) kiválóan alkalmas specifikus számbeli és szerkezeti aberrációk, prognosztikai értékkel bíró eltérések jelenlétének vizsgálatára nagyszámú nem osztódó (ún. interfázisú) sejten és metafázisokon egyaránt (pl. myelodysplasiás szindróma MDS:  $-7/7q-$ ,  $+8$ , ALL: TEL/AML<sub>1</sub> átrendeződés). Segítségével felderíthetők a kariotipizálással nem azonosítható számbeli és komplex szerkezeti aberrációk is (teljes kromoszóma-, vagy karfestő próbák, multicolor-FISH). Bár viszonylag drága tesztről van szó, magas sikerességi arányával, a vizsgálható sejtek nagy számából adódó (több száz) információértékével fontos szerepet játszik a diagnosztikában.

A molekuláris genetikai módszerek, a polimeráz láncreakció alapú metodikák forradalmasították a daganatsejtek genetikai vizsgálatát. A tumorsejtekből kivont DNS és RNS-ből specifikus gének mutációi, amplifikációja/delécioja, átrendeződése, megváltozott expressziója mutatható ki; sőt a reakció kvantifikálása révén a kóros sejtek mennyisége, aránya is monitorozható. A specifikus molekuláris eltérések kimutatása – elméleti tudományos jelentősége mellett – jelentős klinikai szerepet kap a diagnózis felállításában, a betegség klonális voltának, a kóros sejtek típusának és arányának nyomonkövetésében. Jelenleg a real-time kvantitatív PCR-technika a legérzékenyebb módszer a kóros sejtek kimutatására, ezért ma már számos laboratóriumban rutinszerűen alkalmazzák a leukémiás és lymphomás betegek kezdeti vizsgálatára, majd a kórlefolyás során a kezelés eredményességének követésére, a minimális reziduális betegség kimutatására.

Nemcsak a hematológiai malignus betegségekben, hanem a szolid tumorok esetében is törekednünk kell a diagnosztikus és/vagy prognosztikai értékű genetikai eltérések kimutatására, különösen ha az terápiás konzekvenciával is jár (pl. Rb-gén mutációja/delécioja retinoblastomában, Wt-1, 2, vagy 3 mutációja/delécioja Wilms-tumorban, Ewing-szarkóma specifikus transzlokációja, neuroblastoma N-myc

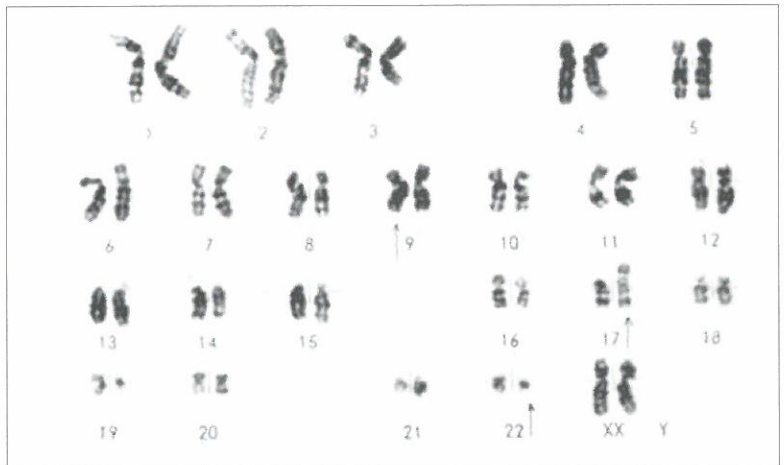
amplifikációja stb.). Érzékeny molekuláris genetikai módszerekkel biztosítható a kóros sejtek kimutatása vérből, csontvelőből, amely az alapbetegség szóródására utal. Különösen fontos a csontvelői érintettség megítélése a ma már számos betegség terápiájának részét képező autológ csontvelőátültetés előtt. Nélkülözhetetlenek a molekuláris genetikai módszerek a pontos HLA-típezés kivitelezésében és a donor-keresésben is.

Valamely genetikai aberráció kimutatására az említett módszerek közül rendszerint több is alkalmas, megbízhatóságuk, érzékenységük, információtartalmuk és elérhetőségük azonban különbözik, ezért a klinikai diagnosztikai alkalmazásukra vonatkozó irányelveket az egyes betegségek kezelési protokolljai is magukban foglalják. Fontos megemlíteni, hogy a vizsgálatok egyik része (FISH, DNS-index, PCR) archivált anyagon is elvégezhető (paraffinos blokkok, fagyasztott sejtek/DNS), így lehetőség van retrospektív összehasonlításra is, ami ilyen ritka betegségcsoportnál és a módszerek gyors fejlődése miatt nélkülözhetetlen. Hasonlóképpen javasolt a jövőbeli új prognosztikai értékű vizsgálatok céljára daganatos mintákat, illetve DNS-t fagyasztva tárolni (sejtbank), a kromoszóma-szuszpenziókat és lemezeket megfelelő körülmények között ( $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on) megőrizni, a laboratóriumok közötti mintacsere lehetőségét, a kollaborációt biztosítani.

A tudományos eredmények gyors felhasználhatóságát nagymértékben megkönnyíti, hogy az újonnan felismert genetikai eltérések regisztrálása számítógépes adatbázisban történik (Lund, Genetikai Intézet).

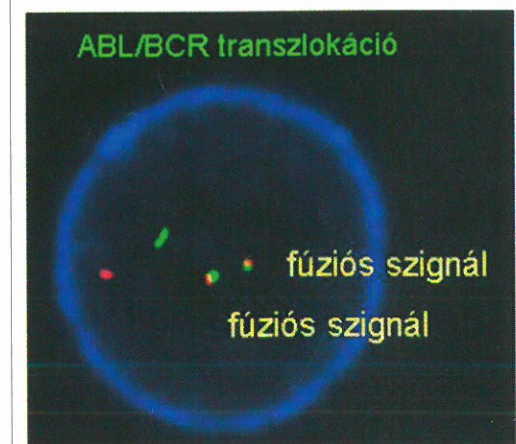
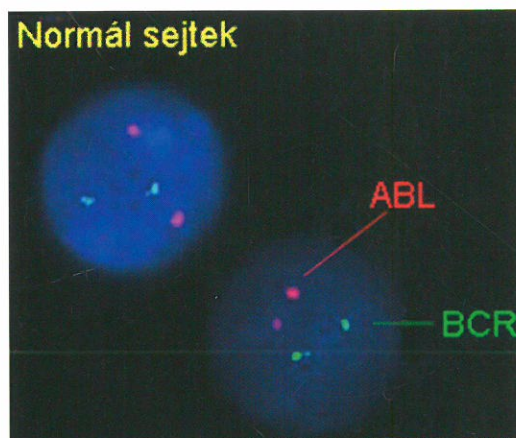
### A leukémiák lymphomák genetikai eltérései

A tumorcitogenetika korszaknyitó felfedezése a krónikus mieloid leukémia jellemző aberrációjának, a Philadelphia-kromoszómának a leírása volt (Nowell, Hungerford, 1960) (1. ábra). A kis deletált 22-esnek tartott kromoszómáról később kiderült, hogy reciprok transzlokációról van szó:  $t(9;22)(q34;q11)$ , amely a csontvelői vérképzés minden sejtvonalaiban jelen van és igazolja a betegség monokloná-



lis eredetét. Ez volt az első következetesen észlelt aberráció, amely az ABL onkogén (9q34 régió) 22-es kromoszómára való transzlokációjával (22q11 régió: BCR) jár; az átrendeződés révén keletkező fúziós gén új, fokozott tirozinkináz aktivitású kimérafehérje képződéséért felel, ez áll a betegség hátterében. Molekuláris genetikai szinten (PCR-rel) az eltérés nagyobb érzékenységgel mutatható ki, illetve az ABL-BCR-átrendeződésnek major és minor típusa különíthető el (2. ábra). Ez az

**1. ÁBRA:**  
KRÓNIKUS  
MIELOID LEUKÉMIÁS BETEG  
KARIOTÍPUSA (G-SÁVOZÁS):  
PRIMER ABERRÁCIÓKÉNT  
PHILADELPHIA-ÁTRENDEZŐDÉS,  
SZEKUNDER ABERRÁCIÓKÉNT  
A 17-ES KROMOSZÓMA  
HOSSZÚ KARJÁNAK IZOKROMOZÓMÁJA -  
I(17q) LÁTHATÓ



**2. ÁBRA:**  
KRÓNIKUS  
MIELOID LEUKÉMIA ABL/BCR  
GÉNÁTRENDEZŐDÉSÉNEK  
KIMUTATÁSA FISH-MÓDSZERREL,  
GÉNSPECIFIKUS PRÓBÁKKAL

a betegség, amelyben a klasszikus citogenetika elsőként bizonyította nélkülözhetetlen szerepét a diagnózis felállításában, a differenciáldiagnosztikai nehézségek megoldásában és a terápia eredményességének lemerésében. A korábbi kemoterápiás kezeléssel szemben az új terápiás lehetőségek (interferon, Glyvec) nemcsak hematológiai, de citogenetikai remisszió elérését is lehetővé teszik. Az interferonkezelésre adott citogenetikai válasz lehet teljes, részleges és enyhe a Ph-pozitív sejtek arányának csökkenése szerint. A kezelés eredményességének lemerése mellett nélkülözhetetlen a kromoszómvizsgálat az akcelerációs és blasztos fázist jellemző ún. szekunder kromoszóma-eltérések kimutatásában: a 17-es kromoszóma hosszú karjának izokromoszómája, a 8-as triszómia, a második Ph-kromoszóma megjelenése, illetve az adott sejtípussal jellemzett akut leukémia típusos aberrációi (pl. lymphoblastos krízis: hyperdiploiditás, +8, 14q eltérések stb.) a Ph-pozitív sejtek csökkenő száma mellett is megjelenhetnek. Kiemelkedően fontos a genetikai vizsgálatok szerepe a csontvelő-átültetés előtt és után a Ph-pozitív klón eradikációjának felmérésében, a donor csontvelő megtapadásának igazolásában, a vérképzés donor, illetve graft eredetének eldöntésében vagy a leukémia relapszus igazolásában. A betegség legújabb kezelési módja is a patomechanizmus pontos ismeretén alapszik: a Glyvec (ST571, tirozinkináz inhibitor) a kórosan fokozott tirozinkináz aktivitást csökkenti.

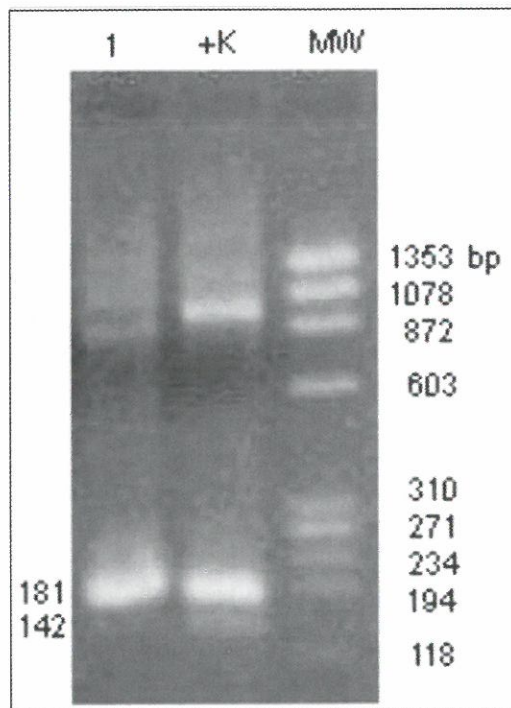
Az ANLL (akut nem-limfoid leukémia) típusos aberrációi is reciprok transzlokációk, amelyek eredményeként érési blokk alakul ki és az éretlen blasztok felszaporodása vezet a klinikai tünetekhez. A genetikai eltérések szoros kapcsolatban állnak a blasztsejtek morfológiai jellemzőivel (FAB-altípusok: M0-M7) meghatározva az egyes klinikai entitásokat. A csecsemőkorra jellemző differenciálatlan, illetve mieloid és limfoid sajátságokat is mutató ún. bifenotípusos leukémiák típusos aberrációja a 4;11 transzlokáció, amely súlyos kórlefolyással, magas sejtszámmal, organomegáliával, gyakori idegrendszeri érintettséggel és terápia rezisztenciával társul. A gyermek- és fiatal felnőttkori M2-es típusú ANLL leggyakoribb eltérése

a t(8;21), amely relatíve jó prognózissal, csontvelői Auer-pálca pozitivitással jár. Az akut promielocitás leukémia (M3) típusos eltérése a t(15;17), vérzeshajlammal járó betegség, amelyet a 17q21 régióba lokalizálódó retinsav receptor gén (RARA) és a 15q22 PML DNS-kötő fehérje génjének rekombinációja okoz. Ennek felismerése segített a specifikus terápia kialakításában: retinsav adásával a gátolt érés visszafordítható, a kóros sejtek differenciációja indukálható, a beteg a sejtőlő citosztatikumok mellőzésével és mellékhatásaik elkerülésével remisszióba juttatható. A mielomonocitás forma (M4) gyakran csontvelői eozinofiliával jár, a 16q22 régiót érintő inverzióval, delécióval vagy transzlokációval jelentkezik, prognózisa kedvező. Az akut monoblasztos leukémia (M5) típusos transzlokációi a 11q23 régió MLL génjét (Mixed Line Leukémia) érintik. A standard transzlokáció a t(9;11), variánsaiban más kromoszómák (4, 6, 10, 17, 19) érintettek. Az MLL aberrációja gyors progresszióval, magas sejtszámmal társul. A ritka akut erythroleukémiának (M6) nincs ismert típusos aberrációja, a megakarioblasztos leukémiában (M7) a 3q21-26 régiók inverziója fordul elő. Kedvezőtlen prognózisú formákat képviselnek a szekunder (korábbi malignus megbetegedés gyógyulását követően 2-10 évvel fellépő) ANLL-k, a MDS-t követően fellépő, valamint a környezeti expozícióval összefüggő megbetegedések. Az ANLL e formáiban, valamint MDS-ban a -7/7q-, -5/5q-, +8 a jellemző aberrációk (ún. ágens-specifikus aberrációk). Valamennyi kedvezőtlen prognózissal jár, jelenlétük a csontvelő transzplantáció szükségességét veti fel. Gyermekkorban leggyakoribb az ALL (akut limfoid leukémia), az összes leukémiás eset 85%-a. A betegség ún. primer aberrációi szoros összefüggésben állnak az érintett sejtípussal és annak differenciáltsági fokával, a leukémiás sejtek immunológiai jellemzőivel, azaz jellegzetes klinikai entitásként jelentkeznek. A többféle vizsgálati módszer kombinációjával számos genetikai alcsoport különíthető el. Az osztályozás alapjául a specifikus transzlokációk jelenléte, azok hiányában az uralkodó kromoszómaszám szolgál. A specifikus transzlokációt hordozó esetek (ún. pseudodiploid csoport) általában

kedvezőtlen klinikai képpel, immunfenotípussal és prognózissal járnak [T-sejtes, érett B-sejtes esetek a megfelelő lymphomákkal egyező aberrációkkal; t(4;11), t(1;19), t(9;22)]. Rendszerint kedvező prognózissal jár a rutin kromoszómvizsgálattal nem azonosítható t(12;21), a TEL/AML<sub>1</sub> génátrendeződés (3. ábra), amely FISH-sel, vagy RT-PCR-rel igazolható. Hasonlóan kedvező a hyperdiploid B-alcsoport prognózisa, amelyre magas, 51 feletti kromoszómaszám (számfölötti 4, 6, 10, 14, 18, 21, 22-es kromoszómák; DNS-index: 1,16 felett) jellemző. Mindkét utóbbi alcsoport optimális immunfenotípussal (CD<sub>10</sub> pozitívitas, common ALL), típusos életkorral (2–6 év), nem magas fehérvérsejtszámmal és jó terápiás válasz-készséggel társul. Közepes prognózissal bír a hyperdiploid A (47–51 kromoszóma, DNS-index 1,03–1,16) és a normál kariotípusú alcsoport. Utóbbi esetekben egyéb, ma még ismeretlen molekuláris eltérések szerepe feltételezhető. Kedvezőtlen prognózisú entitások a közel haploid és a tetraploid változatok, illetve a komplex kromoszóma-eltérésekkel járó esetek. A fenti diagnosztikus és prognosztikai értékű genetikai eltérések kimutatására mindenképpen ajánlott a kezdeti kromoszómvizsgálatot kiegészítő DNS-index-meghatározás, valamint a legrosszabb és a legkedvezőbb aberrációk (MLL, TEL/AML<sub>1</sub>, ABL/BCR) jelenlétének igazolására/kizárására szolgáló FISH vagy molekuláris vizsgálat egyidejű elvégzése. Így sikertelen kariotipizálás esetén is azonosíthatjuk azokat a prognosztikai alcsoportokat, amelyek magas rizikócsoporthoz tartoznak, és agresszívabb kezelést igényelnek.

A felsorolt genetikai alapvizsgálatokat a hazánkban jelenleg alkalmazott nemzetközi diagnosztikus és terápiás protokollok (ALLIC 2002 protokoll) is előírják.

Ismert ugyan, hogy a TEL/AML<sub>1</sub>-pozitívitas és a hyperdiploid B eltérés jó prognózisú betegséget jelez, jelenleg ezek még nem jelentik a protokoll enyhítésének indikációját, mivel e betegségformákban gyakoriak a relapszusok (20–25%). Valószínű, hogy a fenti genetikai alcsoportok genetikailag heterogének (pl. a TEL/AML<sub>1</sub> átrendeződéshez a TEL deléciója, vagy az AML<sub>1</sub> deléciója is társulhat, módosítva a



**3. ÁBRA:**  
**AKUT LIMFOID**  
**LEUKÉMIA**  
**SPECIFIKUS**  
**TRANSZLOKÁCIÓ-**  
**JÁ, A TEL/AML-1**  
**GÉNÁTREDE-**  
**ZŐDÉS REVERZ-**  
**TRANZKRIPCIÓS-**  
**POLIMERÁZ**  
**LÁNCREAKCIÓVAL**

körlefolyást). A minimális reziduális betegség kimutatására irányuló molekuláris genetikai vizsgálatok elsődleges célja éppen az, hogy a terápiás válasz alapján azonosítsa a gyorsan és nehezen remiszióba kerülő eseteket.

A non-Hodgkin lymphomás betegek túlnyomó többségénél a leukémiákhoz hasonlóan klonális kromoszóma-eltérés, specifikus átrendeződés igazolható. Az érett B-sejtes forma (Burkitt-lymphoma) transzlokációi az immunglobulin láncok génjeit érintik (nehézlánc: 14q32, könnyűláncok: 2p12, 22q11 régió), melyek a c-myc onkogénnel rekombinálnak (8q24). Az előbbi változatot típusos, az utóbbiakat variáns transzlokációknak nevezzük. Az átrendeződés eredményeképpen a c-myc expressziója jelentősen fokozódik (30–100-szoros). Az érett és éretlen T-sejtes lymphomaformák típusos aberrációiban egy onkogén a T-sejt-receptor génnel (7q35, 7p15, 14q11) és a T-sejt növekedési faktor lókuszaival (4q) rekombinálnak. E betegségek prognózisa nem kedvező, jóllehet az elmúlt évtizedekben az intenzív kemoterápiás protokollok alkalmazása, a javuló szupportív terápia, valamint a csontvelő-átültetés jelentős javulást eredményeztek. A lymphomák genetikai vizsgálata nagy segítséget jelentett a molekuláris patomechanizmus meg-

Megbetegedés	Specifikus átrendeződés	Érintett gének
CML, ALL	t(9;22)(q34;q11)	ABL/BCR
AML, ALL	t(4;11)(q21;q23)	AF4/MLL
AML, M2	t(8;21)(q22;q22)	ETO/AML-1
AML, M3	t(15;17)(q22;q11)	PML-/retinsav receptor- $\alpha$
AML, M5	t(9;11)(p21;q23)	Interferon-gén/MLL
ALL, pre-B-sejtes	t(1;19)(q23;p13)	PBX-1/E2A
ALL, progenitor-B-sejtes	t(12;21)(p13;q22)	TEL/AML-1
ALL, NHL (érett B-sejtes)	t(8;14)(q24;q32)	c-MYC/IgH
	t(2;8)(p11;q24)	Ig $\kappa$ /c-MYC
	t(8;22)(q24;q11)	c-MYC/IgH $\lambda$
ALL, NHL (T-sejtes)	t(8;14)(q24;q11)	c-MYC/TCR- $\alpha$
	t(10;14)(q24;q11)	HOX-11/TCR- $\alpha$
	t(11;14)(p15;q11)	Tcl-2/TCR- $\alpha$
	7q34-35 eltérései	TCR- $\beta$
	7p15 eltérései	TCR- $\gamma$
Ewing-sarcoma	t(11;22)(q24;q12)	FLI-1/EWS
Rhabdomyosarcoma	t(2;13)(q37;q14)	PAX-3/FKHR

**1. TÁBLÁZAT:  
A GYERMEKKORI  
ROSSZINDULATÚ  
BETEGSÉGEKBEN  
KIMUTATHATÓ  
LEGGYAKORIBB  
SPECIFIKUS  
GENETIKAI ELTÉ-  
RÉSEK ÉS AZ ÁT-  
RENDEZŐDÉS-  
BEN ÉRINTETT  
GÉNEK**

értésében: az a megfigyelés, hogy a fenti kromoszómális lókusok megegyeznek a fiziológiás génátrendeződési folyamatban szerepet játszó rekombinációk hasító helyeivel, arra utal, hogy a malignus transzformációhoz vezető specifikus transzlokációk e rekombinációk kóros működésére, a fiziológiás folyamat „kisiklására” vezethetők vissza.

**A szolid tumorok genetikai eltérései**

Módszertani nehézségek magyarázzák, hogy egyelőre lényegesen kevesebb információnk van a szolid tumorok genetikai eltéréseiről (1. táblázat). Az utóbbi két évtizedben azonban e téren is jelentős volt az előrelépés: fény derült arra, hogy számos daganat keletkezésénél az alapmechanizmus a genetikai anyag elvesztése, a deléció, amelynek eredményeként tumor szuppresszor gének funkciója esik ki. Gyakran több lépésben, több gén mutációja következik be (ezek lehetnek onkogé-

nek és/vagy tumor szuppresszor gének), s ezek együttesen vezetnek a daganat manifesztálódásához. A genetikai heterogenitás több szubklón jelenlétéhez vezet, amelyek – számos kromoszóma vesztese, többlete vagy poliploiditás eredményeképpen – DNS-index szerint is jelentősen különböznek, azaz míg a hematológiai malignitásokra a monoklonalitás a jellemző, addig a szolid tumorokban a jelentős genetikai instabilitás miatt gyakori a poliklonális sejtburjánzás.

A szolid tumorok keletkezésére a Knudson által retinoblastomára leírt ún. „kétlépcsés” daganatkeletkezési elmélet szolgál modellül. A jellegzetes gyermekkori retinatumor mintegy 40%-ban veleszületett, illetve már az első hónapok során jelentkezik, mindkét szemet érintve, több gócu növekedéssel. Hátterében a retinoblastoma tumor szuppresszor gén (13q14 régió) örökletes (germ line) károsodása: deléciója/mutációja áll, amely ilyenkor a szervezet minden sejtjében jelen van és citogenetikai vagy molekuláris módszerekkel perifériás vérből kimutatható. Az általa meghatározott fehérje igen fontos sejtciklus szabályozó szerepet tölt be. A daganat létrejöttéhez ilyenkor az allél gén károsodása (mutációja, deléciója) is szükséges, amely magukban a retina tumorsejtjeiben alakul ki. A familiáris retinoblastoma esetekben tehát a hajlam autoszómális domináns módon öröklődik. A sporadikus, nem örökletes retinoblastoma esetekben a gén mindkét mutációja szomatikus, a daganat kiindulásául szolgáló sejtben alakul ki.

Hasonló a Wilms-tumor keletkezésének mechanizmusa: a felelős gén a 11p13 lokalizálódó WT-1 gén, amely gyakran a szomszédos génekkel együtt károsodik (konstitucionális deléció). Az aniridia génjének egyidejű károsodása a Wilms-tumor-aniridia szindrómához, a kataláz gén károsodása az enzimaktivitás 50%-os csökkenéséhez vezet. Az aniridia és az enzimeltérés a Wilms-tumorra való hajlalmot jelzi. A tumor manifesztálódásához azonban a másik allél károsodása, funkciókiesése is szükséges: ez a lépés, amelyet a heterozigótáság elvesztésének nevezünk, magában a tumor kiindulásául szolgáló sejtben, a vesében következik be. A tumorsejtben az enzimaktivitás hi-

ányzik. A második mutáció kialakulásának valószínűsége a mutációt hordozókban 40%. A Wilms-tumor keletkezésében más gének is szerepet játszhatnak (WT-2: 11p15).

A neuroblastoma a gyermekkori daganatok 8-10%-a, változatos klinikai képpel. Míg a 18 hónapnál fiatalabbak prognózisa kedvezőnek mondható, a későbbi életkorban a betegség kimenetele nehezen ítélni meg. A prognózis előrejelzésében segítséget nyújtanak a genetikai vizsgálatok: az N-myc gén amplifikációja, 1p36 és 7q deléció, 17q többlet kedvezőtlen faktorok, a hyperdiploiditás kedvező. Az N-myc amplifikációjának jelenléte, a betegség előrehaladott stádiumára utal és a magas rizikó csoportnak megfelelő kezelést teszi szükségessé.

Kötőszöveti eredetű daganatokban is leírtak specifikus genetikai eltéréseket: lágyszarkómára a t(2;13)(q37;q14), Ewing-sarkómára a t(11;22)(q24;q12) transzlokáció a jellemző. Kimutatásuk molekuláris és citogenetikai módszerek-

kel egyre inkább elfoglalja helyét a rutin diagnosztikában.

### Következtetések

A genetikai vizsgálómódszerek hihetetlen léptékű fejlődése az elmúlt néhány évtizedben lehetővé tette a daganatok kialakulásának alapjául szolgáló genetikai eltérések feltérképezését, a patomechanizmus megértését. A szaporodó tapasztalatok révén az aberrációk kimutatása elméleti jelentősége mellett bevonult a mindennapi diagnosztikába és ma már nélkülözhetetlen a betegségek diagnózisának megerősítésében, a prognózis megítélésében és a legmegfelelőbb terápia megválasztásában, valamint a betegek nyomonkövetésében.

Mindez arra ösztönzi a szakembereket, hogy folyamatosan figyelemmel kísérjék a tudományos kutatás legújabb eredményeit, és keressék a klinikai alkalmazás lehetőségeit a betegek minél eredményesebb kezelése érdekében.

### Irodalom

1. Oláh É. A klinikai genetika alapjai. Budapest: Medicina Könyvkiadó Rt.; 1999.
2. Papp Z. Klinikai genetika. Budapest: Golden Book Kiadó Kft. 1995.
3. Kopper L, Marcsek Z, Kovalszky I. Molekuláris medicina. Budapest: Medicina, 1997.
4. Pizzo PA, Poplack DG, editors. Principles and practice of pediatric oncology. 4<sup>th</sup> ed. Lippincott; 2001.
5. Knudson AG. Hereditary cancer, oncogenes and antioncogenes. Cancer Research 1985; 45: 1437-43.
6. Little J. Epidemiology of childhood cancer. IARC Scientific Publications; 1999. 149.
7. Greaves MF, Wiemels J. Origins of chromosome translocations in childhood leukaemia. Nat Rev Cancer. 2003; 3 (9): 639-649.
8. Kersey JH. Fifty years of studies of the biology and therapy of childhood leukemia. Blood. 1997; 90 (11): 4243-4251.
9. Brodeur GM, Ambros PF, Favrot MC. Biological aspects of neuroblastoma screening. Medical and Pediatric Oncology 1998; 31: 394-400.
10. Magnani C, Pastore G, et al. Trends in survival after childhood cancer in Europe, 1978-97: the ACCISS project. Eur J Cancer Special Issue, 2006.