## Moleküler Patoloji nedir?

Moleküler patoloji, anatomik patoloji, klinik patoloji ve genetiğin birlikte çalıştığı bir alandır. OMICS olarak belirtilen (genomik, proteomik, metabolomik gibi) yeni çalışma alanları ile de ilişkisi olan moleküler patoloji, günlük uygulamada daha çok kanser tanı ve mutasyon analizlerinde yer almaktadır.

Moleküler patolojik incelemeler, patoloji spesmenlerindeki değişiklikleri moleküler düzeyinde inceleyen patoloji teknikleridir.

## Moleküler teknikler hangi amaçlarla kullanılır?

Moleküler teknikler patolojide değişik amaçlarla kullanılmaktadır.

### Tanı amaçlı:

Yetkin bir patoloji uzmanının morfolojik değerlendirmesi sonrası istenen uygun testler ile tümör ya da enfeksiyöz hastalıkların tanılarının konması ve tümör alt tiplerinin belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Birbirini tamamlar nitelikteki morfoloji ve moleküler incelemeler giderek onkolojik hastaların tanı, takip ve tedavisinde birbirinin ayrılmaz parçası haline gelmiştir. Öyle ki bazı tümörlerin isimleri moleküler teknikler ve morfolojilerin karşılaştırılması ile değiştirilmiş, yeni tanı grupları oluşturulmuştur.

### Tedaviyi yönlendirme amaçlı:

Kanserli dokularda mutasyonun varlığı ya da yokluğu ile hedefe yönelik tedavilerin kullanımı mümkün olmaktadır. Bu mutasyonların varlığının ya da yokluğunun tespiti moleküler patolojide uygulanan testler ile yapılmaktadır.

### Hastalığın seyrini (prognozunu) öngörme amaçlı:

Her ne kadar hastalığın seyri kişisel nedenlere çok bağlı olsa da, hastaya uygun tedavi yönetimi için hastalığın olası seyrini bilmek gerekir. Bu nedenle kullanılan bazı moleküler teknikler onkoloji uzmanlarına yol göstermektedir.

## Moleküler teknikler nelerdir?

### Mutasyon spesifik (mutasyona özgü) immünohistokimya:

Patoloji pratiğinde günlük olarak kullanılan immünohistokimyasal çalışmalara benzeyen bu özellikli immünohistokimyalar, mutasyon ile ortaya çıkan protein yapılarının tespitine imkan vermektedir. Hızlı ve pratik olması nedeniyle (BRAF, IDH1 gibi) bazı mutasyonların tespitinde kullanılmaktadır.

### ISH (in-situ hibridizasyon):

Hücrelerdeki DNA ya da RNA’lara bağlanan özel karşıt (komplementer) DNA ve RNA’lar kullanılarak yapılan testlerdir. Virüslerin tespitinde (EBER, HPV), tümör odağının tespitinde (karaciğerdeki albumin), kromozon değişikliklerinin tespitinde (1p19q kaybı, BCR-ABL füzyonu) ve gen ekspresyonlarının artışının tespitinde (HER2, EGFR) kullanılmaktadır.

#### FlSH (Floresan in-situ hibridizasyon):

Özel floresan ışımalı kitler ve özel floresan mikroskobu kullanılarak yapılan in-situ hibridizasyon tetkiklerdir.

#### CISH (Kromojen in-situ hibridizasyon):

In-situ hibridizasyonun ışık mikroskobu ile de yapılmasını sağlayan tetkiklerdir.

### PCR:

Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction), dokudan elde edilen DNA ya da RNA’ların laboratuvarda çoğaltılması işlemidir. Belli sayıda çoğaltma süresinde eğer mutasyon varsa yeterli yeni DNA ya da RNA oluşmakta ve mutasyon varlığı tespit edilmektedir.

### Mutasyon analizi:

Tümörlerde görülen mutasyonlar çok çeşitlidir. Kimi mutasyonlar tümörün çoğalmasında ana etkenken, kimileri sadece hasarlı olarak kalmakta ve tümörün davranışına (tümör biyolojisine) etki etmemektedir. Tümör davranışına etki eden bu “sürücü” (driver) mutasyonlar ile davranışa etki etmeyen “yolcu” (passenger) mutasyonlar tanı, tedavi ve sağkalım açısından farklıdırlar. Bu nedenle tümör davranışını direk belirleyebilecek seçili mutasyonlara özgü analizler (nokta mutasyon analizleri) moleküler patolojide kullanılmaktadır.

### Sekanslama:

Bir DNA dizisindeki bazların teker teker okunması ile yapılan analizdir. Böylece oluşan mutasyonun hangi değişiklikle olduğu anlaşılır ve buna göre tanı, tedavi seçimi yapılır.

### Yeni kuşak sekanslama:

DNA’nın çok sayıda odağının aynı anda okunmasına dayanan yeni kuşak sekanslama ile bir tümörde olan tüm mutasyonlar tespit edilebilmektedir. Özellikle ileri evre ve ilk tedavilerini tamamlamış hastalarda ilgili tümörde sık görülmeyen ancak tedavi için ilacı bulunan mutasyonların tespitinde kullanılmaktadır.

### Mutasyon yükü:

DNA’da değişikliğe neden olan hasarlara mutasyon denmektedir. Mutasyonlar hemen her hücre bölünmesinde olmakta ve hemen tümü tamir edilmektedir. Kanser hücreleri çok hızlı büyüdüklerinden ve tamir mekanizmaları yeterli düzeltmeleri yapamadığından bu mutasyonlar birikmektedir. Bu mutasyonlu birikimin toplam DNA miktarına oranı ile elde edilen mutasyon ölçüm yükü yakın zamanda tedavi seçiminde kullanılmaya başlamıştır. Bir tümörde ne kadar çok mutasyon varsa (melanomlar gibi), o kadar çok yabancı antijen üretilecek ve bu tümörler immünmodülatör tedavilere (PD1-PDL1 ilişkili) daha iyi yanıt vereceklerdir.

## 

## Moleküler tekniklerin birbirine üstünlüğü var mıdır?

Moleküler çalışmalarda farklı teknikler farklı özgünlük ve duyarlılığa sahiptir. Bunun için hastaya ve planlanan tedaviye özgü testler seçilmelidir.

## Moleküler teknikler için dokular nasıl saklanmalıdır?

Moleküler teknikler için dokular uygun tespit ve takip işlemleri yapılıp, patoloji laboratuvarlarında uygun arşivlerde saklanmalıdır.

Eğer başka bir laboratuvara parafin blok (mum blok) taşıyorsanız, bunları oda sıcaklığında (21-23 c) muhafaza etmeniz gerekir.

## Tümörlü alanın patolojide seçilmesi ya da işaretlenmesi ne demektir?

Ameliyat ve biyopsi ile alınan dokular tümüyle tümörden oluşmazlar. Normal doku, nekroza gitmiş ölü doku ya da tümör öncesi (adenom, in situ tümör gibi) alanlar da içerebilirler. Tümör içinde de alt gruplar oluşmakta ve kimi alt gruplar hastalığın asıl nedeni olup hızlıca büyürken, kimileri büyüme özelliğini yitirmiş olabilmektedir. Tümör patolojisinde yetkin bir patoloji uzmanı mikroskopla tümörün uygun alanını seçmeli ve seçtiği alandaki tümör hücre sayısını ya da yüzdesini belirtmelidir. Bu ön değerlendirmenin yapılmadığı durumlarda yanlış pozitif ya da yanlış negatif sonuçlar alınmakta, tedavi alabilecek hastalar tedavileri alamamakta, tedavi almasında fayda umulmayan hastalar ise gereksiz yere ilaca maruz kalmaktadır.

## Moleküler teknikler sadece tümörler için mi kullanılır?

Moleküler patolojide genelde tümörler için kullanılsa da enfeksiyon hastalıkları ve kimlik tayini için de benzer teknikler uygulanabilmektedir.

## Her tümör için moleküler tetkik yapılmalı mıdır?

Kanser hastaları giderek daha uzun yaşamakta ve yıllar içinde yeni tedavi yöntemleri rutin uygulamaya girmektedir. Bu nedenle tümör dokusu hastalar için eskiye nazaran çok daha kıymetli olmaya başlamıştır. Potansiyel olarak her tümörde moleküler patoloji çalışmaları yapılabilir. Ancak bu durumda ileride kullanılabilecek dokunun muhafazasına dikkat edilmelidir. Eğer alınacak sonuç hastanın tedavisini yönlendirici nitelikte değilse (yani klinik endikasyon yoksa) ya da bu analiz etik kurul onaylı bilimsel bir çalışmanın parçası değilse moleküler çalışmalar yapılmamalıdır.

## Moleküler tekniklerin “akıllı ilaç” ya da “hedefe yönelik tedavi” için kullanımı

Hedefe yönelik tedaviye uygunluğun tespiti için moleküler patoloji teknikleri kullanılmaktadır. Hastalık ve mutasyona göre değişiklik göstermekle birlikte ilgili mutasyonların varlığı ya da yokluğunda kimi ilaçlar tedavide kullanılmaktadır. Bu analizler ilaçtan fayda sağlayabilecek hastaları belirlerken aynı zamanda ilacın fayda sağlamayacağı hastaları da tespit etmekte ve bu hastaları ilaçların olası yan etkilerinden korumaktadır.

## Her doku moleküler tekniklerle incelenebilir mi?

Uygun tespit ve takip ile parafine gömülmüş (mum blok yapılmış) dokular ve hızlı dondurma ile (-80 C) saklanan dokularda moleküler çalışmalar yapılabilir. Ameliyat ya da biyopsi ile alınan dokuların uygun tespiti (çok çabuk formaldehit solüsyonu içine alınması) bu nedenle çok önemlidir. Yeterli formaldehit ile tespit edilmeyen dokularda otoliz olacağından moleküler çalışmalar sağlıklı olmayacaktır.

## Kaç yıl önceki bir tümöre moleküler patolojide inceleme yapılabilir?

Eğer uygun tespit ve takip işlemleri uygulanmışsa, uygun patoloji arşivlerinde saklanan dokulardan on yıllar sonra bile moleküler patoloji tektikleri yapılabilmektedir.

## Moleküler tetkik sonrası mutasyonun var ya da yok olması neyi gösterir? Negatif ya da pozitif sonuç ne demektir? Mutasyonun var olması kötü bir şey midir? Mutasyonun olmaması kötü bir şey midir?

Moleküler patoloji raporları genelde detaylı teknik bilgiler içerir. Mutasyonun var olması ya da yok olması, kimi hastalıklarda tedaviye yanıt verme ihtimalini gösterirken, kimi hastalıklarda o tedavinin verilmemesi gerektiğini belirtebilir. Bu nedenle moleküler patoloji raporlarının hastayı takip eden onkoloji uzmanı hekim tarafından yorumlaması gerekmektedir.