

TC
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Seniha HACİHANEFİOĞLU

AKCİĞER KANSERLERİNDE SİTOGENETİK İNCELEMELER

DOKTORA TEZİ

Uzm. Tıbbi Biyolog Yelda TARKAN-ARGÜDEN

İSTANBUL, 1999

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

***Bu alışma
İstanbul Üniversitesi
Araştırma Fonu'nca kısmen desteklenmiştir.
Proje No: T-103/160695***

***Bu alışma kapsamında Y. Tarkan-Argüden, TÜBİTAK-British Council
Burs Programı çerçevesinde dört ay süreyle, West Midlands Regional Genetic
Laboratory & Consultancy Services, Birmingham Maternity Hospital, Birmingham,
İngiltere'de solid tümör sitogenetiği konusunda teknik eğitim almıştır.***

Sadece bu çalışma sırasında değil, tüm lisans, yüksek lisans ve doktora eğitimim boyunca yol göstericim olan, bilimsel açıdan eseri olmakla gurur duyduğum, emekliliğine kadar danışmanlığımı yürüten ve daha sonra da beni yalnız bırakmayan, değerli hocam Sn. Prof. Dr. Asım CENANİ'ye,

Hocamın emekliliğinden sonra danışmanlığımı üstlenen, lisans eğitimimden bu yana duyarlı ve anlayışlı yaklaşımı ile yanımda olan, çok değerli yardımlarını gördüğüm, Sn. Doç. Dr. Seniha HACIHANEFİOĞLU'na,

Çalışmamı gerçekleştirebilmem için gerekli olan teknik eğitim konusunda maddi destek sağlayan TÜBİTAK ve British Council'e,

Laboratuvarlarını kullanımına açarak gereksindiğim eğitimi almamı sağlayan West Midlands Regional Genetic Laboratory and Consultancy Services Direktörü Sn. E. Val DAVISON'a,

Solid tümör sitogenetiği tekniklerini bana öğreten ve gerek laboratuvarı, gerekse laboratuvar dışında ilgi ve desteklerini hep yanımda hissettiğim West Midlands Regional Genetic Laboratory and Consultancy Services Direktör Yardımcısı ve Kanser Sitogenetiği Laboratuvarı Yöneticisi Sn. Mike J. GRIFFITHS ve ailesine,

Materyal alımı konusunda değerli yardımlarını gördüğüm, sevecen ilgi ve destekleriyle yanımda olan Sn. Prof. Dr. Müzeyyen ERK ve Sn. Prof. Dr. Gül ÖNGEN'e,

Emekliliğine kadar materyal alımı konusunda ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Sn. Prof. Dr. Seyhan ÇELİKOĞLU'na,

Görüntüleme cihazını kullanımına açan ve bu konuda ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Sn. Prof. Dr. Seher BAŞARAN'a,

Fotoğraflarımın basımında özverili ilgisiyle bana destek olan Sn. Yılmaz DİNÇ'e,

Tüm çalışmam boyunca ellerinden gelen her türlü yardımla yanımda olan bölüm arkadaşlarıma,

Her zaman olduğu gibi bu çalışma sırasında da anlayış ve sevgiyle bana destek olan eşim Sn. Korhan ARGÜDEN'e,

Beni ben yapan ve bu günlere gelmemi sağlayan aileme,

Sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Yelda TARKAN-ARGÜDEN,

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
I. GİRİŞ ve AMAÇ	1
II. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kanser Nedir?	4
2.1.1 Kanser Oluşumu	6
2.1.2 Karsinojen Ajanlar	7
2.1.3 Kanser Hücrelerindeki Moleküler Genetik Değişiklikler	9
2.1.3.1 Onkogenler	9
2.1.3.2 Tümör Süpresör Genler	11
2.1.4 Kanser ve Kromozomlar	13
2.1.4.1 Kanserde Görülen Kromozom Anomalisi Tipleri	16
2.1.4.2 Kanser Kromozom Anomalilerinin Oluşumunda Rol Oynayan Faktörler	19
2.1.4.3 Kanser Kromozomlarının Yapı ve İşleyişlerindeki Değişiklikler	22
2.1.5 Kanser Sitogenetiğinde Kullanılan Yöntemler	24
2.1.5.1 Bantlama Teknikleri	24
2.1.5.2 Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH)	25
2.1.5.3 Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon (CGH)	25
2.1.6 Kanser Sitogenetiği Terminolojisi	26
2.2. Akciğer Kanseri	31
2.2.1. Akciğer Kanserin Genetiği	34
2.2.2 Akciğer Kanserin Sitogenetiği	35
2.2.2.1 Küçük Hücreli Akciğer Kanselerinde	

Sitogenetik Bulgular	36
2.2.2.2 Küçük Hücreli Olmayan Akciğer Kanserlerinde	
Sitogenetik Bulgular	39
III. MATERYAL ve METOD	42
3.1. Materyal	42
3.2. Metod	45
3.2.1 Kullanılan Solüsyonlar	45
3.2.1.1 Doku Kültüründe Kullanılan Solüsyonlar	45
3.2.1.2 Periferik Kan Kültüründe Kullanılan Solüsyonlar	46
3.2.1.3 GTL Bant Yönteminde Kullanılan Solüsyonlar	46
3.2.2 Yöntemler	47
3.2.2.1 Uzun Süreli Doku Kültürü	47
3.2.2.2 İğne Aspirasyon Biyopsisi ve Plevra Sıvısı Kültürü	48
3.2.2.3 Periferik Kan Kültürü	48
3.2.2.4 Preparatların Hazırlanması	49
3.2.2.5 GTL Bantlama	49
3.2.3 Mikroskop İncelemesi	49
IV. BULGULAR	50
V. TARTIŞMA	86
VI. SONUÇLAR	100
VII. ÖZET	102
VIII. SUMMARY	103
IX. KAYNAKLAR	104
X. ÖZGEÇMİŞ	113

KISALTMALAR

ace:	Asentrik fragment
AT:	Ataksi telanjiektazi
BCME:	Bisklorometil eter
CGH:	Comparative genome hybridization
CMME:	Klorometil eter
dm:	Double minute
FA:	Fankoni anemisi
FHIT:	Fragile histidin triad geni
FISH:	Fluoresan in situ hibridizasyon
hsr:	Homogeneously staining regions
KKD:	Kardeş kromatid değişimi
mdr:	Multidrug cross resistance
NSCLC:	Non-small cell lung cancer
pcd:	Premature centromere division
SCLC:	Small cell lung cancer
XP:	Xeroderma pigmentosum

I. GİRİŞ ve AMAÇ

Günümüzde kanser sitogenetiğinde önemli ilerlemeler kaydedilmekle birlikte, gelişmelerin çoğu hematolojik malinitelerde olmuştur. Dünyada solid tümör sitogenetiği konusundaki yayınlar tüm kanser sitogenetiği yayınlarının %20'sinden daha azını oluşturmaktadır. Bu yayınların da çoğu primer tümörlerde değil, metastatik örneklerde, plevra ve asit sıvılarında yapılmış çalışmalardır (63, 67, 106).

Solid tümör dokusunda yapılan çalışmalardaki bu azlığın nedeni, bu örneklerle çalışılırken karşılaşılan bazı teknik güçlüklerdir. Fakat, 1980'lerden bu yana geliştirilen yeni yöntemlerle, artık solid tümör sitogenetiğinde de başarılı sonuçlar alınmaya başlanmıştır (20, 63, 67, 106).

Elde edilen bilgiler solid tümörlerde çeşitli kromozom anomalileri bulunduğunu göstermiştir. Tümör hücrelerinde -hastanın normal hücrelerinde bulunmayan- çok sayıda sayısal ve/veya yapısal kromozom anomalileri gözlenmektedir. Bunların bir kısmı tümör tipine özgü primer değişikliklerdir ve tümör gelişiminde rol oynadıkları düşünülmektedir. Tümör hücreleri, bu primer değişikliklerin üzerine tümöre spesifik olmayan çok sayıda sekonder kromozom anomalileri de kazanmaktadır. Öyle ki, tümör hücrelerinin her biri ayrı bir karyotipe sahip olabilmektedir. Yine de, bütün bu karmaşık karyotipler ve heterojen hücre populasyonları arasında bile tümör tipine özgü kromozomal anomalileri ayırt etmek mümkündür (63, 67, 106).

Bu spesifik kromozomal anomalilerin solid tümörlü hastalara yaklaşımda yararlı olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmalar hastalığa tanı koymayı kolaylaştırabileceği gibi, tümör tiplerinin ayırt edilmesinde bir temel sağlayabilir, hastalığın prognozu hakkında fikir verebilir ve tedavinin yönlendirilmesine yardımcı olabilir (20, 63, 67, 106).

Kansere bağlı ölümlerin önemli bir bölümü akciğer kanserlerine bağlı olarak meydana gelmektedir. Bütün akciğer kanserlerinin yaklaşık %25'ini küçük hücreli akciğer kanserleri oluşturmaktadır. Diğer histolojik tiplerin (skuamoz hücreli, adenokarsinom, büyük hücreli) hepsi, küçük hücreli olmayan akciğer kanserleri adı altında toplanmaktadır (2, 53). Akciğer kanserlerinde çok çeşitli kromozom anomalileri gözlenmektedir. 1, 3, 7, 8, 9, 11, 17 ve Y

kromozomlarının anomalilerinin değişik histopatolojik tiplerde değişik sıklıkta olmak kaydıyla, akciğer kanserlerinde sıklıkla görüldüğü bildirilmektedir (13, 20, 72, 75, 80, 94, 102, 106, 111, 117). Özellikle, del(3)(p14p23) bulgusunun, -küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde de daha az sıklıkta gözlenebilmekle birlikte- küçük hücreli akciğer kanserlerine spesifik bir bulgu olduğu bildirilmektedir (20, 53, 63, 72, 102, 106, 116, 117). Ayrıca, gen amplifikasyonuna işaret eden “double minute” kromozomlar ve homojen boyanan bölgeler (homogeneously staining regions, hsr) de akciğer kanserlerinde sıklıkla gözlenmektedir (75, 102, 111) .

Akciğer kanserlerinde hem proto-onkogenlerin aktivasyonu, hem de tümör süpresör genlerin inaktivasyonu söz konusudur. Özellikle 3p üzerindeki genlerin (hangi gen ya da genler oldukları bilinmiyor), 13q'daki retinoblastoma geninin ve 17p'deki p53 geninin kaybı ya da inaktivasyonunun görüldüğü bildirilmektedir. myc, ras ve neu genlerinin aktivasyonu veya fazla ekspresyonu da akciğer kanserleriyle ilişkilidir. Bu moleküler düzeydeki değişikliklerin sitogenetik değişikliklerle ilişkili oldukları düşünülmektedir. Dolayısıyla, gözlenen spesifik kromozom anomalileri, moleküler çalışmalar için hedef bölgeleri oluşturmaktadır (32, 102).

Literatürde yer alan primer akciğer kanserlerinde yapılan çalışmalar genellikle ameliyat materyallerinde gerçekleştirilmiştir. Fakat her akciğer kanseri olgusu ameliyata uygun değildir. Bu nedenle, tanı amacıyla her hastaya rutin olarak uygulanan ve gerekirse tekrarlanabilen bronkoskopik biyopsi materyallerinde çalışma yapmak önem kazanmaktadır. Oysa literatürde bronkoskopik biyopsi materyallerinin genellikle kültür için yetersiz miktarda olduğu bildirilmektedir. Bu materyallerin kültürde üretilmelerinin başarılabilmesi halinde, daha geniş bir hasta kitlesinde çalışma yapmak mümkün olabilecek, ameliyat materyaline göre daha erken bir zamanda sitogenetik inceleme yapılabilecek ve hatta daha sonra ameliyat materyalinin de çalışılabilmesi halinde tümörün klonal evrimi hakkında bilgi edinilebilecektir. Bu nedenlerle, bronkoskopik biyopsi materyallerinin kültüre edilebilmesi çok önemlidir. Bu çalışmanın amaçlarından biri, bronkoskopik biyopsi materyallerini kültürde üretmeyi başarmak, gerekirse kültür yöntemlerini bu materyallere uygun olacak şekilde modifiye etmek ve bunu -ülkeminizin koşullarını da dikkate alarak- olabilecek en ekonomik yöntemle gerçekleştirmeye çalışmaktır.

Literatürde akciğer kanserli hastaların normal bronş mukozalarında da çeşitli sitogenetik değişiklikler gözlenebildiği bildirilmektedir (40, 59, 80, 94). Bu nedenle bu çalışmada da olguların normal bronş mukozası örneklerinin de sitogenetik incelemeye tabi tutularak gözlenen değişikliklerin tümör dokusunda gözlenenlerle karşılaştırılması planlanmıştır.

Hastada konstitüsyonel bir kromozom anomalisi bulunması durumunda, bu anomali tümör dokusu incelenirken tümöre bağlı bir sitogenetik bulgu olarak değerlendirilebilir. Böyle bir olasılığı ortadan kaldırmak ve hastaların akciğer kanserine yatkınlık sağlayabilecek bir konstitüsyonel kromozom anomalisi taşıyıp taşımadıklarını anlayabilmek için olguların periferik

lenfosit kültürlerinde de sitogenetik inceleme yapmak önemlidir. Ayrıca, akciğer kanserlerinde -ve diğer bazı solid tümörlerde- hastaların periferik lenfositlerinde normal bireylere göre daha fazla sitogenetik anomali gözlenebildiği bildirilmektedir (18, 19, 121). Bu nedenlerle, olgularımızın periferik lenfosit kültürlerinde de sitogenetik inceleme yapılarak, sonuçlar tümör ve normal bronş mukazasından elde edilen sitogenetik verilerle karşılaştırılması planlanmıştır.

Kanser oluşum ve gelişiminin mekanizmasını aydınlatabilmek için herşeyden önce geniş bir veri havuzu oluşturmak gereklidir. Oysa bugün için elimizdeki veriler oldukça sınırlıdır ve kanser sitogenetiği konusunda yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışmamızla solid tümör sitogenetiği konusunda dünyadaki sınırlı veri havuzuna katkıda bulunmayı da amaçlamaktayız.



II. GENEL BİLGİLER

2.1 Kanser Nedir:

Kanser, 100'den fazla türü içeren bir hastalıklar grubunun genel adıdır. Bu hastalıklar, anormal, kontrolsüz bir hücre çoğalması ile karakterizedir. Vücudun çeşitli bölgelerinde ortaya çıkabilir ve başka kısımlarına da yayılabilirler. Değişik kanserlerin kendilerine has özellikleri vardır ve dolayısıyla farklı tedavi yöntemlerine gerek gösterirler. Kanseri her yaşta ortaya çıkabilir fakat genellikle bir yaşlılık hastalığı olarak kabul edilir. En yaygın kanser türleri ortalama olarak 67 yaş civarında ortaya çıkmaktadır. Çocukluk çağında görece az olmasına rağmen, yine de 1-14 yaş arası için en önemli ölüm sebeplerinden biridir. Bu yaş grubunda lösemiler en yaygın ölüm sebebidir. Bunun yanı sıra osteosarkoma, lenfoma, Wilms tümörü gibi başka kanserler de görülür (89).

Kanser yeni bir hastalık değildir. Tarihöncesi hayvanların kemiklerinde ve Etrüsk, Peru ve Mısır mumyalarında kanser izlerine rastlanmıştır (2). Milattan önce 400 yıllarında Hipokrat, bir meme tümöründen yayılan uzun, şişkin damarları bir yengecin bacaklarına benzetmiş, böylece hastalık, Yunancada yengeç anlamına gelen *karkinoma*, ve daha sonra, aynı sözcüğün Latince karşılığı olan *cancer* olarak adlandırılmıştır. Fakat kanserin oluşumu ile ilgili en küçük bir fikrin bile edinilebilmesi için 23 yüzyılın geçmesi gerekmiştir (109). Bugün bile kanser hakkında bildiklerimiz, bilmediklerimizin yanında pek azdır.

Vücutta özel bir görevi olmayan, anormal bir şekilde çoğalan hücre topluluğuna tümör adı verilir. Tümörlerin iki tipi vardır: selim (noncancerous, benign) ve habis (cancerous, malign). Oldukça yaygın olarak gözlenen siğil ve benler selim tümörlere örnektir. Selim tümörler genellikle kansere dönüşmezler. Fakat bazı selim tümörler prekanseröz olarak tanımlanırlar. "Yeni büyüme" anlamına gelen *neoplasm* terimi ise, daha çok kanseröz büyüme için kullanılır.

Kanserler kan ve lenf damarları yoluyla yayılarak lenf düğümlerine ve vücudun diğer organlarına yayılabilirler, yani metastaz yapabilirler. Vücutta ilk ortaya çıkan tümöre primer tümör denir. Metastaz sonucu meydana gelenlere ise sekonder tümör adı verilir.

Habis ve selim tümörlerin farkları şunlardır:

1- Habis tümörler invazivdir, çevrelerindeki normal dokuları tahrip ederler. Selim tümörler ise invaziv değildir, genişleyerek büyürler, genellikle bir kapsülle çevrilidirler. Bununla birlikte, çevrelerindeki normal dokuları iterler ve sinirlere ya da damarlara baskı yaptıkları takdirde tehlikeli olabilirler. Normal homeostatik mekanizmaları bozabilecek hormonlar gibi biyolojik aktif maddeleri salgılayarak da zarar verebilirler.

2- Habis tümörler metastaz yapabilirler. Selim tümörler ise oldukları yerde kalırlar, metastaz yapmazlar.

3- Habis tümörler anaplastik özellik gösterirler. Yani, kaynaklandıkları dokunun normal hücrelerinden “daha az farklılaşmış” hücrelerden meydana gelirler. Selim tümörler ise kaynaklandıkları normal dokuya habis tümörlerden daha fazla benzerlik gösterirler.

4- Habis tümörler -her zaman değilse de- genellikle selim tümörlerden daha hızlı büyürler. Klinik olarak saptanabilir hale geldikten sonra genellikle haftalar veya aylarla ölçülebilen zaman dilimlerinde çevre dokulara da invaze olarak hızla büyüdükleri gözlenir. Selim tümörler çoğunlukla yıllar içinde yavaşça büyürler ve belirli bir büyüklüğe eriştikten sonra durur veya gerilerler.

5-Habis tümörler hayatı tehdit ederler. Selim tümörler ise doğrudan hayati tehlike oluşturmazlar (2, 89, 105).

Kanser vücutta bölünme yeteneği olan hücreler içeren bütün dokularda ortaya çıkabilir. Kanserli hücreler hızlı ya da yavaş büyüyebilirler, fakat genellikle bölünme hızları çevrelerindeki normal dokulardan fazladır. Ancak bu kesin bir özellik değildir, çünkü mide-barsak kanalı epiteli, kemik iliği, saç kökü gibi bazı normal dokularda da hücre yenilenmesi hızlı büyüyen bir tümördeki kadar hızlıdır (89).

Malign tümörler, önce histolojik tiplerine, sonra da kaynaklandıkları dokuya göre *karsinoma* (epitel orijinli) ya da *sarkoma* (mezenşimal orijinli) diye adlandırılırlar: meme adenokarsinomu, akciğer skuamoz hücre karsinomu, deri bazal hücre karsinomu gibi. İnsanda en çok görülen kanserler epitel dokusu kaynaklıdır. Çokkatlı skuamoz (keratinleşmiş yassı) epitelden kaynaklananlara skuamoz hücre karsinomu denir. Glandular epitelden kaynaklananlar ise adenokarsinoma olarak adlandırılır. Bazı tümörler pluripotent primitif hücrelerden kaynaklanırlar ve çeşitli dokuların özelliklerini taşıyabilirler. Bunlar arasında karsinomatoz ve sarkomatoz bileşenler taşıyan uterusun mixed mezenşimal tümörleri ve kemik, kıkırdak, kas ve glandular epitel özelliklerini bir arada taşıyan over teratokarsinomları vardır (89).

İlerlemiş kanserler çok değişken bir sitolojik görünüm sergileyebilirler. Kanser hücreleri genellikle büyüklük ve şekil olarak normal hücrelerden farklıdırlar. Nukleus/sitoplazma oranı

genellikle artmıştır. Anormal boyda -sıklıkla dev-, şekilde ve sayıda nukleuslar içeren hücreler birarada bulunabilir. Mitozdaki hücre sayısı fazladır ve çeşitli mitoz anomalileri gözlenir (89, 105).

Kanser hücreleri in vitro kültür ortamında da normal hücrelerden farklılık gösterirler. Normal hücreler in vitro koşullarda sınırlı sayıda bölünme geçirebilirken, kanser hücreleri ölümsüzdür. Normal hücreler kültür kabının yüzeyini doldurduklarında kontakt inhibisyon ile bölünmeye son verirlerken, kanser hücreleri üst üste katlar halinde çoğalabilirler. Normal hücreler kültür ortamında bölünebilmek için ortamda fetal calf serum bulunmasına gerek duyarken, kanser hücreleri serum içermeyen kültür ortamında da bölünebilir (109).

2.1.1 Kanser Oluşumu:

Kanser genetik bir hastalıktır. Yani, kanserli hücrelerin genetik yapı ve fonksiyonlarında değişiklikler vardır. Bu değişiklikler nokta mutasyonları gibi gen düzeyindeki değişikliklerden, büyük kromozom anomalilerine, monozomi ve trizomilerden poliploidilere kadar çok çeşitli şekillerde ve değişik seviyelerde olabilir. Öyle ki, akla gelebilecek her türlü gen ve kromozom mutasyonunu kanserlerde gözlemek mümkündür.

Kanserle ilişkili gen mutasyonlarının büyük çoğunluğu sigara, bazı kimyasal maddeler ve radyasyon gibi çevresel etkenlere bağlı olarak meydana gelir ve sadece küçük bir kısmı germ hücreleri yoluyla kalıtılır. Kalıtsal kanserler her ne kadar seyrek görülse de, hem kalıtsal, hem de sporadik kanserlerin oluşumunda aynı genlerin rol oynayabildikleri bilindiğinden, önemlidirler. Dahası, bireyler arasında çevresel karsinojenlere duyarlılık açısından gözlenen farklılıklar genetik temellere sahiptir. Bu nedenle, kansere genetik yatkınlığın mekanizmalarının ortaya çıkarılması hem kalıtsal hem de sporadik kanserlerin moleküler patogeneze ışık tutabilir (43).

Malign tümörlerin hemen hemen tamamının transforme olan tek bir hücreden kaynaklandığına dair kanıtlar vardır. Tek bir hücreden kaynaklanan hücre topluluğuna klon adı verilir. Kanserlerin klonal orijinli olduğunu ortaya koyan başlıca bulgular şunlardır: Primer tümörlerde bütün hücrelerde aynı kromozomal anomaliyi gözlemek mümkündür. X'e bağlı bir gen için heterozigot olan kadınlarda yapılan enzim incelemelerinde tümör hücrelerinin hepsinde aynı X kromozomunun aktif olduğu görülmüştür. Ve bir plazma hücresi tümörünün bütün hücreleri aynı tip immünoglobulin üretir (89, 105, 106, 109).

Bir hücrenin transforme olması yani kanser hücresine dönüşmesi ile kanser tanısının konması arasında genellikle uzun bir latent dönem yer alır. Kimi durumlarda 20 yıldan fazla sürebilen bu dönemde tümör hiçbir klinik belirti vermez. Bu süre içinde de hücre çoğalması olmakla birlikte, organizmanın savunma sistemleri tarafından baskılanabilir ya da kan

dolaşımından yeterince yararlanamadığı için sınırlı kalabilir. Fakat tümör geliştikçe, organizmanın savunma mekanizmalarından kaçma ve damarlanma zamanla meydana gelir (89).

Tümör gelişmeye devam ettikçe, klonu oluşturan hücreler orijinal mutasyonların üzerine rastgele yeni mutasyonlar eklerler. Böylece, klonu oluşturan hücreler gittikçe birbirlerinden farklılaşırlar. Bu şekilde, tümörün içinde farklı sub-klonlar meydana gelir (109).

2.1.2 Karsinojen Ajanlar:

Maruz kalındığında kansere yol açan ve/veya kanser oluşumunu kolaylaştıran ajanlara karsinojen (başlatıcı, initiator) ajanlar denir. Karsinojen ajanlar yapay olabilir (sigara dumanı gibi), ya da çevrede doğal olarak bulunabilir (güneşten kaynaklanan ultraviyole ışınımı gibi) (2).

Karsinogenez multifaktöriyel bir olaydır. Aynı hücre çeşitli karsinojenlere maruz kalabilir ve bunların etkileri kalıcı ve kümülatif olabilir (88).

Kendisi karsinojen olmadığı halde, daha önce bir karsinojene maruz kalmış bir dokuda kanserin ortaya çıkmasına yardımcı olan bazı maddeler vardır. Bu ajanlara promoter'lar ya da ko-karsinojenler denir.

Şekil II.1'de, karsinojenlerin ve promoter'lerin bir model sistemde kanser gelişimine etkileri görülmektedir. Bu model ilk kez Berenblum tarafından fare deri kanseri oluşumunda tanımlanmış, daha sonra akciğer, meme, mesane, karaciğer gibi diğer tümörlerin gelişiminde de benzer safhalar gösterilmiştir. Görüldüğü gibi, karsinojen ajanın tek başına etkisi kanser oluşturmaya yeterli olmamaktadır (Grup 1). Karsinojenin etkisinden sonra herhangi bir zamanda promoter'ın etkisi eklendiğinde ise kanser ortaya çıkabilmektedir (Grup 2 ve 3). Karsinojen promoter'den sonra etki ederse, kanser oluşumu gözlenmemektedir (Grup 4). Promoter kendi başına karsinojen değildir (Grup 5). İnisiyasyondan sonra promoter uzun aralıklarla uygulandığında, yine kanser oluşumu gözlenmemektedir. Bu da, promoter'in etkisinin geçici olabileceğini göstermektedir (Grup 6).

Karsinojen ajanlar kimyasal (kullanılan çeşitli kimyasal maddeler gibi), fiziksel (radyasyon) ve biyolojik (virüsler) ajanlar olmak üzere üç grupta incelenebilirler. Kimyasal ajanların kansere yol açtıkları iki yüzyıldır bilinmektedir. İlk kez 1761'de John Hill'in fazla enfiye çekenlerde burun kanseri olduğunu bildirmesinden ve 1775'te Percival Pott'un kömür tozunun baca temizleyicilerinde skrotum kanserine neden olduğunu göstermesinden bu yana, kimyasal karsinogenezin mekanizmaları anlaşılmağa başlanmış ve son 50 yılda birçok kimyasal karsinojen tanımlanmıştır. Onkogenik virüsler ilk kez 1911'de Peyton Rous tarafından tanımlanmıştır. İnsan kanserlerinde rol oynayan Epstein-Barr virüsü ve Human T Cell Leukemia Virus gibi virüsler ise 1960'lardan sonra keşfedilmişlerdir. İlk radyologlarda gözlenen deri

kanserleri, radyoaktif elementleri çıkartan madencilerde görülen akciğer kanserleri, ve Hiroshima ve Nagasaki'ye atılan atom bombalarından sonra gözlenen yüksek lösemi ve solid tümör insidansları, ilk radyasyon karsinogenezi gözlemleridir (88, 89).

Şekil. II.1 Karsinojenlerin ve promoterlerin kanser gelişimine etkileri

Grup 1	K _____	Tümör yok.
Grup 2	K p p p p _____	Tümör var.
Grup 3	K _____ p p p p _____	Tümör var.
Grup 4	p p p p K _____	Tümör yok.
Grup 5	p p p p _____	Tümör yok.
Grup 6	K p p p p _____	Tümör yok.
K: Karsinojen p: Promoter		

(Ruacan 1995)

Karsinojen ajanlar aynı zamanda mutajendirler. Hücrenin genetik materyali ile etkileşime girerek, kansere yol açacak olan mutasyonları meydana getirirler. Doğrudan doğruya mutajen etki yapmayan bazı kimyasal karsinojenler de, metabolize olduktan sonra mutajen ajanlara dönüşürler (109, 113). Özellikle onkogenlerin aktivasyonu ve tümör süpresör genlerin inaktivasyonuna neden olan mutasyonlar kansere yol açan kritik mutasyonlardır.

2.1.3 Kanser Hücrelerindeki Moleküler Genetik Değişiklikler:

Kanser hücre büyüme ve çoğalmasını kontrol eden genetik mekanizmaların bozulması sonucunda ortaya çıkmaktadır. Hücre büyüme ve farklılaşması ile (dolayısıyla kanser oluşum ve gelişimi ile) direkt olarak ilişkisi olan genler iki grupta toplanabilirler:

- 1-Hücre büyüme ve çoğalmasına pozitif etkisi olanlar yani onkogenler (proto-onkogenler)
- 2-Hücre büyüme ve çoğalmasına negatif etkisi olanlar yani tümör süpresör (tümör baskılayıcı) genler. Bu genler antionkogenler olarak da adlandırılırlar (43).

2.1.3.1 Onkogenler:

Onkogenler kanser oluşum ve gelişim sürecinde dominant etki gösteren bir gen grubudur. İlk kez RNA virüslerinde gösterilmiş (viral onkogenler, v-onc), fakat daha sonra normal hücresel genlerden kaynaklandıkları anlaşılmış ve bu hücresel genler sellüler onkogenler (c-onc) ya da proto-onkogenler olarak adlandırılmışlardır. Proto-onkogenler normal hücre büyüme ve çoğalmasında rol oynayan genlerdir fakat mutasyona uğradıklarında onkogen haline gelebilirler. Bugün 40'tan fazla proto-onkogen bilinmektedir. Tablo. II.1'de insan tümörlerinde gözlenen proto-onkogenler ile ilgili anomalilere örnekler görülmektedir (43, 89, 109, 113).

Onkogenler az sayıdaki atasal genden kaynaklanan, birbirleriyle ilişkili dizilerden meydana gelen "gen aileleri" oluştururlar. Yüksek düzeyde korunurluk gösteren dizilerinin benzerliği, bu genlerin ortak bir atadan kaynaklandığını düşündürmüştür. Bu genlerin eskiliği ve dizilerinin yüksek derecede korunmuş olması, bu genlerin ökaryotik hücreler için çok önemli genler olduğunu göstermektedir (89).

Proto-onkogenleri onkogenlere dönüştürecek mutasyonlar çeşitli şekillerde meydana gelebilirler:

- 1-Gen regülasyonunun bozulmasıyla gen ürünü fazla miktarda sentezlenebilir.
- 2-Gen amplifikasyonu sonucunda onkoprotein konsantrasyonu artabilir.
- 3-Kromozomal translokasyonlar genlerin yeniden düzenlenmesine yol açarak proto-onkogenleri aktifleştirebilir ya da normalde bulunmayan yeni bir ürün kodlayan füzyon genleri oluşturabilir.
- 4-Nokta mutasyonları gen ürününün yapısını değiştirerek bir onkoproteine dönüştürebilir.
- 5-Retrovirüs "enhancer" bölgelerinin proto-onkogenlerin yakınına insersiyonu da bu genleri aktifleştirebilir (43, 89, 109, 113).

Proto-onkogenler bütün insan ve hayvan hücrelerinde mevcuttur ve normal hücresel süreçlerin sonucunda oluşan oksidatif hasarın yeterince tamir edilememesi gibi endojen ya da UV

ışığı, kimyasal karsinojenler gibi eksojen ajanlarla mutasyona uğrayarak kanser oluşumunu başlatabilirler (89).

Tablo II.1 İnsan tümörlerinde rol oynayan bazı proto-onkogenler ve aktifleştirici mutasyonları

Proto-onkogen	Kanser türü	Mutasyon tipi
abl	Kronik myeloid lösemi (KML)	Translokasyon
erbB-1	Skuamoz hücreli karsinom, astrositom	Amplifikasyon
erbB-2 (neu)	Meme, over ve mide adenokarsinomu	Amplifikasyon
gip	Over ve adrenal guddde karsinomu	Nokta mutasyonları
gsp	Hipofiz adenomu, tiroid karsinomu	Nokta mutasyonları
myc	Burkitt lenfoması, akciğer, meme ve serviks karsinomu	Translokasyon Amplifikasyon
L-myc	Akciğer karsinomu	Amplifikasyon
N-myc	Nöroblastoma, küçük hücreli akciğer karsinomu	Amplifikasyon
H-ras	kolon, akciğer ve pankreas karsinomu; melanom	Nokta mutasyonları
K-ras	Akut myeloid ve lenfoblastik lösemi; tiroid karsinomu; melanom	Nokta mutasyonları
N-ras	Genitoüriner bölge ve tiroid karsinomu; melanom	Nokta mutasyonları
ret	Tiroid karsinomu	Yeniden düzenlenme
ros	Astrositom	?
K-sam	Mide karsinomu	Amplifikasyon
sis	Astrositom	?
src	Kolon karsinomu	?
trk	Tiroid karsinomu	Yeniden düzenlenme

(Ruddon 1995)

Onkogenler, sentezledikleri ürünlerin fonksiyonlarına göre çeşitli gruplara ayrılabilirler. Onkogen ürünleri tirozin kinaz aktivitesi olanlar (örneğin src ailesi), büyüme faktörü benzeri işlev görenler (örneğin sis), büyüme faktörü reseptör bölgeleri (örneğin erb-B) ve DNA bağlayıcı

(örneğin myc ve myb), RNA bağlayıcı (örneğin mil) ya da guanin bağlayıcı (örneğin ras ailesi) olarak gruplanmaktadır (89).

2.1.3.2 Tumor Süpresör Genler:

Tümör süpresör genler hücre çoğalmasının negatif kontrolünü yapan genlerdir. Normal koşullarda hücrelerin gereğinden fazla çoğalmasını önlerler. Kanseri hücrelerine normal tümör süpresör genler verildiğinde, bu hücreler sınırsız bölünme kapasitelerini kaybederek tekrar normal hücreler haline gelirler (43, 79, 89, 109, 113).

Tümör süpresör genler herhangi bir şekilde (kromozomal delesyonlar, translokasyonlar, nokta mutasyonları, heterozigosite kaybı vb.) inaktifleşir ya da kaybolursa, hücre çoğalması normal sınırlarda tutulamaz ve kanser ortaya çıkar. Tümör süpresör genler kanserleşmede resesif etki yaparlar. Yani kanserin ortaya çıkabilmesi için her iki allelin de görev yapamaz hale gelmesi gerekir. Önce, allellerden birinin fonksiyonunu ortadan kaldıran bir başlangıç mutasyonu meydana gelir. Daha sonra yine aynı hücrede meydana gelen yeni bir mutasyonla ikinci allelin işlevi de ortadan kalkarsa, tümör süpresör genin inaktivasyonu tamamlanmış olur ve kanserleşme için gerekli ortam oluşur. Her iki mutasyon da somatik hücrelerde meydana gelebileceği gibi, ilk (başlangıç) mutasyonu germ hücreleri ile kalıtılıyor da olabilir. Bu durumda, tek bir mutasyon ikinci alleli de inaktifleştirerek tümör baskılayıcı işlevi engellemeye yeterli olur. Bu model, 1971'de Alfred Knudson tarafından kalıtsal ve sporadik retinoblastom formlarını açıklamak için ileri sürülmüş ve yaklaşık on yıl sonra, retinoblastom hastalarının 13. kromozomun q14 bandında bir delesyon taşıdıklarının gösterilmesinden sonra, doğrulanmıştır. Aynı hücrede, aynı genin iki ayrı allelini etkileyecek iki mutasyonun meydana gelme olasılığı, tek bir mutasyonun olma olasılığından daha az olduğu için, başlangıç mutasyonunun germ hücreleriyle kalıtıldığı ailelerde kanser riski daha fazladır. Bununla birlikte, birçok kanserde, tam bir malign fenotipin ortaya çıkması için birden fazla genin mutasyona uğraması gerektiği de hatırlanmalıdır. Yani bir tümör süpresör genindeki bir başlangıç mutasyonunun kalıtılması, birçok başka olayın (aynı genin ikinci allelinin de inaktifleşmesi ve ayrıca diğer tümör süpresör genlerin de inaktivasyonu ve onkogenlerin aktivasyonu) arasında sadece küçük bir adımdır (43, 79, 89, 109, 113).

Retinoblastom modelinden daha karışık bir işleyişe sahip olan tümör süpresör genler de vardır. Örneğin Wilms tümöründe heterozigosite kaybı araştırmaları, allel kaybının 11. kromozomun kısa kolundaki iki ayrı lokusta meydana gelebildiğini göstermiştir. Her iki lokustaki tek birer mutasyon tümör gelişimi için yeterli olmaktadır. Fakat ailevi Wilms tümörlerinde bağlantı analizi çalışmaları ile ailevi Wilms tümörü geninin 11. kromozomun kısa kolunda bulunmadığı anlaşılmıştır. Ayrıca, sporadik Wilms tümörlerinde allel kayıplarının tercihli olarak

anne kaynaklı kromozomda meydana geldiği ortaya çıkarılmıştır. Bu da, Wilms tümörü oluşumunda genomik imprinting'in rolü olduğunu göstermektedir (43, 79, 89, 109, 113).

Tablo. II.2, bugün bilinen belli başlı tümör süpresör genlerini özetlemektedir.

Tablo II.2 Tümör Süpresör Genler

Genin Adı	Kromozom	Kalıtsal Kanseler	Kalıtsal Olmayan Kanseler
RB1	13q	Kalıtsal retinoblastoma	Değişik kanseler
p53	17p	Li-Fraumeni sendromu, Değişik primer kanseler	Kanselerin birçoğu
WT1	11p	Wilms tümörü	-
NF1	17q	Nörofibromatozis tip 1	Değişik kanseler
NF2	22q	Nörofibromatozis tip 2	?
APC	5q	Ailevi adenomatöz polipozis	Kolon kanseri
DCC	18q	-	Kolon kanseri
MCC	5q	-	Kolon kanseri
hMLH1	3p	Kalıtsal nonpolipozis kolon kanseri	?
hMSH2	2p	Kalıtsal nonpolipozis kolon kanseri	?
hPMS1	2q	Kalıtsal nonpolipozis kolon kanseri	?
hPMS2	7p	Kalıtsal nonpolipozis kolon kanseri	?
VHL	3p	von Hippel-Lindau sendromu, ailevi böbrek kanseri	Böbrek kanseri
BRCA1	17q	Ailevi meme/over kanseri	-
BRCA2	13q	Ailevi meme kanseri	-
p16/INK4a	9p	Ailevi melanom	Değişik kanseler
DPC4	18q	?	Pankreas kanseri
FHIT	3p	?	Özofagus, mide, kolon ve akciğer kanseleri
PTC	9q	Bazal hücre nevus sendromu	Bazal hücre kanseri

(Öztürk 1996)

Tek bir hücrede bir onkogen ya da tümör süpresör gende meydana gelen bir mutasyon o hücreye komşu hücrelerden daha fazla çoğalma yeteneği kazandırdığında, kanser ortaya çıkar. Orijinal mutant hücreden kaynaklanan hücreler çoğaldıkça, bunlardan birinin daha da hızlı bölünmesini sağlayabilecek ikinci bir mutasyon kazanması olasılığı da artar. Ve hücrelerin çoğalmasıyla, daha hızlı bölünmelerini ve çevre dokulara invaze olmalarını sağlayacak ilave mutasyonların birikmesi bir kısır döngü halinde devam eder. Bu mutasyonlar, tümör gelişimine yardım edecek başka olayları da ortaya çıkarırlar. Bazı tümörler çok miktarda anjiyogenez faktörleri salgılar. Bu peptid hormonlar kan damarlarının tümörün içine doğru uzanmalarına yol açarak, tümörün gelişimi için elzem olan kan akımını sağlarlar. Bu değişiklik düzenleyici (regulator) bir mutasyonun sonucu olabilir. Başka ilave mutasyonlar tümöre metastaz yapma yeteneği kazandırabilirler (113).

Hem onkogenlerin hem de tümör süpresör genlerin, kanser oluşum ve gelişiminin yanısıra, ilaçlara ve radyoterapiye duyarlılığın belirlenmesinde de rolü olduğu bildirilmektedir (33).

2.1.4 Kanser ve Kromozomlar:

1914'te, Alman biyolog Theodor Boveri, kanser oluşumuna ilişkin somatik mutasyon hipotezini ortaya attı. Boveri'nin hipotezine göre, somatik bir hücrede meydana gelen kromozom anomalileri hücrenin kanserleşmesine ve anormal hücre proliferasyonuna neden olurlar. Hatta, tek bir kromozom anomalisi bile, kanserleşmenin sebebi olabilir. Boveri ayrıca bu hatalı yapının orijinal kanser hücresinden kaynaklanan bütün hücrelere geçirildiğine de inanıyordu (40, 43, 89, 105).

İnsanda, kesin olarak kanserle ilişkili olduğu saptanan ilk kromozom anomalisi, 1960'da Nowell ve Hungerford tarafından kronik myeloid lösemili (KML) hastalarda gösterilen Philadelphia (Ph¹) kromozomuydu. Başlangıçta Ph¹ kromozomunun 22. kromozomun uzun kolunun delesyonu sonucunda meydana geldiği düşünülüyordu. Daha sonra tekniklerin ilerlemesiyle, defektin 22 ve 9 numaralı kromozomlar arasında bir translokasyon sonucunda meydana geldiği anlaşıldı: t(9;22)(q34;q11). Ph¹, KML hastalarının %90'ından fazlasının lösemi hücrelerinde bulunur. Bu kromozomun keşfi, Boveri'nin hipotezini destekleyen en önemli kanıtı oluşturdu (2, 40, 43, 89). Kromozom bant tekniklerinin gelişmesi, kanser hücrelerindeki kromozomal değişikliklerin tanımlanmasında büyük ilerlemeler sağladı. Bugün, çeşitli kanser tipleri ile ilişkili olduğu kesinleşen birçok kromozom anomalisi bilinmektedir. Tablo II.3'de kanserle ilişkili oldukları saptanan kromozom anomalilerine örnekler görülmektedir.

Tablo II.3 Kanserle ilişkili bazı kromozom anomalileri

Kromozom Anomalisi	Kanser Tipi
del(1)(p32p36)	Nöroblastoma
t(1;3)(p36;q21)	Akut non-lenfositik lösemi (ANLL)
del(1)(p12p22)	Malin melanoma
t(1;19)(q23;p13.3)	Akut lenfatik lösemi (ALL)
t(2;8)(p12;q24)	Burkitt lenfoması
t(2;11)(p21;q23)	ANLL, miyelodisplazi
del(3)(p14p23)	Bronş karsinomu
t(6;14)(q21;q24)	Over karsinomu
t(9;22)(q34;q11)	Kronik miyeloid lösemi (KML), ALL, ANLL
del(11)(p13)	Wilms tümörü
t(11;17)(q23;q25)	ANLL
t(11;19)(q23;p13)	ANLL
t(11;22)(q24;q12)	Ewing sarkoması
del(12)(p11p13)	ANLL
del(13)(q14.1)	Retinoblastoma
inv(14)(q11q32)	T hücreli kronik lenfositik lösemi
del(14)(q22q24)	B hücreli kronik lenfositik lösemi
del(22)(q11)	Meningioma, glioma

(Weatherall 1991)

Özellikle sitogenetik bulgular, solid tümörlerin kanserleşen tek bir ata hücreden kaynaklanıp, daha sonra evrilerek farklılaşmaya devam ettiklerini düşündürmektedir. Başlangıçtaki transformasyon aşaması moleküler ya da kromozomal seviyede bir mutasyon olabilir. Fakat başlangıçtaki anomali ne olursa olsun, solid tümörlerin çoğunda, tanı ya da tedavi aşamasına gelindiğinde çok miktarda kromozomal dengesizlikler ve yeniden düzenlenmeler meydana gelmiş bulunur. Teknik açıdan bu, aynı örnekten yapılan karyogramların hiçbirinin bir diğeriyle aynı olmaması anlamına gelir. Tek bir anomali taşıyan hücre olabileceği gibi, 100'den fazla yapısal ya da sayısal kromozom anomalisi taşıyan hücreler de bulunabilir. Ayrıca, kimi tümörlerin birden fazla kök hücreden kaynaklanabileceğine (poliklonal orijin) ve klonal evölüsyon

sonunda birbiriyle tamamen ilişkisiz karyotiplere sahip hücre popülasyonlarına sahip olabileceğine dair kanıtlar vardır. Bununla birlikte, bütün bu karışık karyotiplerin arasında belirli bazı kromozom anomalileri tanımlanabilir. Bunlar, a) belirli bir tümör tipine spesifik olan ve tümör oluşumunun erken safhalarında rol oynadığı düşünülen değişiklikler, ki bunlara “primer değişiklikler” denir, b) genel ya da belirli bazı tümör tiplerinin (oluşumunda değil de) gelişiminde önemli olabilecek “rastgele olmayan” değişiklikler, c) tümörün evrimi ve farklılaşması sırasında oluşan ve önemleri pek bilinmeyen “sekonder değişiklikler”, ve d) belirli bir tümör tipinin içinde değişik klinik subgrupları ayırt etmekte kullanılabilecek karakteristik kromozom anomalileridir (106).

Tümör hücreleri arasındaki bu genetik instabilite ve farklılaşma solid tümör materyallerinden elde edilen metafazları analiz etmeyi çok zorlaştırdığı gibi, gözlenen değişik kromozom anomalilerinin klinikle ilişkisini anlamayı da güçleştirir. Çoğu zaman analiz için metafaz elde etmek bile zordur. Örneğin, kanserleşmenin ve genomik değişikliklerin sonuçlarından biri hücre siklusunda meydana gelen değişikliklerdir. Yani tümör hücrelerinde hücre bölünmeleri arasında geçen süre normal hücrelerden farklıdır ve tümör hücrelerinin in vitro “doubling time”i normal hücrelerden uzun olabilir. Dolayısıyla kültür çıkışından önceki kolsemid süresinin normalden uzun olması gerekir. Dahası, tümör hücrelerindeki birçok genetik değişiklik, kimileri tedavide ya da hücre kültürlerinde kullanılan değişik kimyasal maddelere karşı direnç kazandırır. Birçok solid tümörde gözlenen bu “multidrug cross-resistance (MDR)” fenotipi, metotraksat ve/veya kolsemide cevapsızlığa neden olur, böylece DNA sentezini bloke etmek için metotraksat kullanan senkronizasyon yöntemler etkisiz kalır ve kolsemidin iç iplikçiklerinin oluşumunu baskılayarak bölünmeyi metafaz evresinde durdurması mümkün olmaz. Her iki durumda da, incelenecek ya çok az metafaz elde edilir, ya da hiç metafaz bulunamaz (106).

Çoğu zaman, tümör kromozomlarının kalitesi de kötüdür. Metafazlar sitoplazma kalıntıları ile kaplı gibi görünürler. Kaliteli G bandı elde etmek çok zordur. Bu gibi güçlüklerin nedeni tümör hücrelerinin biyolojik özelliklerinin birçok bakımdan normal hücrelerden farklı olmasıdır. Örneğin gen amplifikasyonu tümör hücrelerinde yaygın olarak gözlenirken, normal insan hücrelerinde bulunmaz. Gen amplifikasyonu DNA dizilerinin normal yerlerinden çıkıp, sitogenetik olarak “double minute” ya da homojen boyanan bölgeler olarak görülür hale gelinceye kadar replike olmaları ile meydana gelir. Fakat sitogenetik olarak görülebilir hale gelmeden önce, bu DNA dizileri epizom denilen yuvarlak submikroskopik yapılar oluştururlar. Epizomlar devam eden replikasyon sonucunda sitogenetik olarak görülecek kadar büyüyebilirler. Fakat çoğu zaman ışık mikroskopunda güçlüklerle görülebilecek boyuttadırlar. Bu yapılar hücre kalıntısı olarak algılanabilirler. Ayrıca kromozomların kenarlarında toplandıklarında bulanık bir görünüme sebep

olabilirler. Dolayısıyla, tümör kromozomları ile çalışırken bu “kötü kaliteli” metafazlar seçici bir biçimde atlanmamalı, daha ayrıntılı olarak incelenmelidir (106).

Standart bant teknikleriyle elde edilen ortalama bir bant 5×10^6 nükleotid çifti içerir. Bu tekniklerle, 2×10^6 nükleotid çifti ya da daha küçük delesyonları saptamak güçtür. Moleküler ağırlığı (MV) 50.000 olan ortalama bir proteini kodlamak için gerekli gen büyüklüğü 1200 nükleotid çifti civarında olduğundan, aşağı yukarı 1000 gen bant yöntemleriyle farkedilmeksizin duplike olabilir ya da delesyona uğrayabilir. Yani, kromozom bantlama teknikleriyle saptanabilen değişiklikler, kanser hücresindeki genetik değişikliklerin sadece bir bölümüdür Bu nedenle, kimi tümörlerde olduğu gibi, sadece normal metafazlar görülmesi, kanserin somatik mutasyon teorisine ters düşmez (40, 89).

Ayrıca, tümör örneklerinde gözlenen normal karyotipli hücrelerin gerçekten tümör hücresi olup olmadıkları da bilinemez. Bunların tümörde bulunan stromal komponentlerden birine ait, normal hücreler olma olasılığı gözden uzak tutulmamalıdır (40).

Genellikle kanserle ilişkili kromozom anomalileri kanserli hücrelerde bulunurken, aynı bireyin kanserli olmayan hücrelerinde gözlenmez. Bununla birlikte, değişik kanserlere özgü primer kromozom anomalileri (retinoblastomadaki 13q delesyonu, Wilms tümöründeki 11p delesyonu, renal hücre karsinomunda 3p anomalileri ve kolorektal karsinomlardaki 5q delesyonu gibi) ilk kez lenfosit kültürlerinde konstitüsyonel anomali olarak gözlenmiş, daha sonra aynı anomaliler lenfositleri normal olan hastalarda tümör hücrelerine özgü anomaliler olarak saptanmışlardır (81). Ayrıca, kimi kanserlerde, belirli bazı kromozomların (örneğin meme kanserinde 1, 17 ve 18 numaralı kromozomların) az sayıdaki lenfositte rastgele olmayan bir şekilde yapısal anomaliler gösterdikleri (81), ve periferik lenfositlerinde normalden fazla kromozomal aberasyon taşıyan kişilerin ileride kansere yakalanma riskinin yüksek olduğu anlaşılmıştır (38).

2.1.4.1 Kanserde Görülen Kromozom Anomalisi Tipleri:

Kanserli hücrelerde her türlü sayısal ve yapısal kromozom anomalileri gözlenmektedir.

Normalde yaklaşık 1 olan metafaz/profaz oranı kanserli hücrelerde çok artmıştır ve kanserlerde multipolar bölünmeler, endoreduplikasyonlar, endomitozlar, anafazda geri kalan kromozomlar, kromatid köprüleri gibi çok çeşitli mitoz anomalileri gözlenir (105). Bunlara bağlı olarak kanserli hücrelerin kromozom sayıları haploid'den oktaploidi'ye hatta daha fazlasına kadar çok değişik ploidi seviyelerinde olabilir ve birçok durumda anöploiddir, yani haploid sayının (n) tam katlarından sapmıştır. Bütün kromozomların artışı ve azalışı görülebilmektedir.

Kimi kanser türlerine özgü olan bazı yapısal kromozom anomalileri saptanmışsa da, ploidi seviyesindeki değişiklikler ile belirli bir kanser türü arasında bir bağlantı kurulamamıştır. Birçok kanser türünde anöploidi gözlenir. Genel olarak, hastalık ilerledikçe anöploidi sıklığı artar (89). Kanser kromozomlarının sentromerlerinde normal miktarda kinetokor proteinlerinin bulunmadığı, bunun da sentromerin normal olarak iğ iplikçiklerine tutunmasını engelleyerek anöploidiye yol açtığı ileri sürülmüştür (112).

Üç ana yapısal kromozomal değişiklik vardır: delesyonlar, translokasyonlar ve inversiyonlar. Kanser oluşumunda delesyonlar genellikle bir tümör supresör genin kaybına sebep olarak etkili olurlar, retinoblastomadaki 13q ve Wilms tümöründeki 11p delesyonları gibi (86).

Translokasyonlar ya da inversiyonlar, belirli tümör tiplerinde anlamlı olarak sık görülenler (spesifik olanlar) ve sadece bir hastanın tümör dokusunda gözlenmiş olanlar (idyopatik olanlar) diye ikiye ayrılabilirler. Spesifik aberasyonların kırık noktalarında yapılan moleküler çalışmalarla bugün bu konuda belli bir bilgi birikimine ulaşılmıştır. Birçok farklı spesifik translokasyon ve inversiyonların kırık noktaları klonlanmış ve ilgili genlerle yapılan çalışmalarla bazı genel prensipler ortaya çıkarılmıştır (86).

Translokasyon ve inversiyonların iki temel sonucu vardır: Ya bir T-hücre reseptörü (T-cell receptor, TCR) veya immünoglobulin proteini geni bir proto-onkogenin yakınına gelip yerleşerek onu aktive eder, ya da translokasyona karışan iki kromozomda da kırık noktaları birer genin içinde yer alır ve kimerik bir proteini kodlayan bir füzyon geni meydana gelir. İşe karışan genler sıklıkla transkripsiyon faktörlerini kodlayan genlerdir, bu da transkripsiyon faktörlerinin tümör gelişiminde önemli bir rol oynadığına işaret etmektedir (86).

Moleküler seviyede çalışılan ilk iki translokasyon, bu sonuçlara örnektir. Burkitt lenfomasındaki c-myc geni translokasyonları, bir proto-onkogenin bir immünoglobulin ya da T-hücre reseptörü geni ile yan yana gelerek aktive olmasına bir örnektir. İmmünoglobulin ve T-hücre reseptörü genleri kromozomal aberasyonlara sık karışırlar, çünkü bu genler aktif antijen reseptörü genleri meydana getirmek üzere doğal olarak yeniden düzenlenen genlerdir. Burkitt lenfomasında olduğu gibi, bu işlem sırasında zaman zaman yanlışlıklar olabilmekte, ve translokasyonlar ya da inversiyonlar meydana gelebilmektedir. Burkitt lenfomasının karakteristik bulgusu olan üç ayrı translokasyonun en sık gözlenenini olan t(8;14)(q24;q32)'de, 8q24'teki c-myc geni, 14q32'de bulunan immünoglobulin ağır zincir (H) geni ile yan yana gelir. Varyant formlar olan t(2;8)(p12;q24) ve t(8;22)(q24;q11)'te ise, c-myc sırasıyla immünoglobulin κ ve λ hafif zincir genlerinin yanına gelerek aktifleşmektedir (40, 86).

Kronik myeloid lösemilerde gözlenen Philadelphia kromozomu ise ikinci duruma örnektir. t(9;22)(q34;q11) şeklinde formüle edilen bu translokasyon kromozomunda, kırık noktaları

9q34'te bulunan c-abl proto-onkogeni ve 22q11'deki bcr geninde meydana gelir ve bu iki genin birleşmesi ile, kimerik bir protein kodlayan bcr/abl füzyon geni ortaya çıkar (40, 86).

Bu ilk örneklerden sonra, hem immünoglobulin ya da T-hücre reseptörü genleri aracılığı ile protoonkogen aktivasyonuna, hem de füzyon genlerine birçok başka örnek bulunmuştur (86).

İzokromozomlar, kolları birbirinin ayna görüntüsü olan kromozomlardır. Tek ya da çift sentromerli olabilirler. Bölünme hataları (sentromerin dikey yerine yatay düzlemde bölünmesi) (30, 40, 68) ya da iki homolog kromozom arasında translokasyon veya kromatid değişimi sonucunda meydana gelebilirler (68). İnsanda konstitüsyonel izokromozomlar oldukça seyrek görülmekle birlikte, kanserli hücrelerde edinsel kromozom aberasyonları olarak izokromozomlar sık sık gözlenirler (30, 68). Kanserlerde sık görülen prematür sentromer ayrılması (premature centromere separation, PCS, ya da premature centromere division, PCD) olaylarının izokromozomların oluşumuna yol açabileceği ileri sürülmüştür (30).

Kanserli hücrelerdeki sitogenetik bulgular moleküler genetik sonuçları açısından değerlendirildiğinde, delesyonlar ya da monozomiler genellikle “resesif” tümör supresör genlerin kaybının göstergesi, tekrarlayan trizomiler ya da parsiyel kromozom artışları ise “dominant” onkogenlerin amplifikasyonunun belirtisi olarak kabul edilir. İzokromozom oluşumu genellikle genetik materyalin hem kaybına, hem de artışına yol açar. Dolayısıyla, izokromozom taşıyan tümörlerde hem tümör supresör genlerin kaybı, hem de onkogen amplifikasyonu kanser gelişim sürecinde rol oynar (68).

Kanserlerde en sık gözlenen izokromozomların i(1q), i(5p), i(6p), i(7q), i(8q), i(9q), i(12p), i(17q) ve i(21q) olduğu bildirilmektedir (68).

“Double-minute” (dmin) kromozomlar ve homojen boyanan kromozom bölgeleri, (homogeneously staining regions, hsr) gen amplifikasyonunun kromozom düzeyindeki görünümleridir. dmin'ler küçük, çift halde bulunan kromatin parçacıklarıdır. Boyutları akrosentrik kromozomların satellitleri kadar küçükten, 17-18. kromozomların kısa kollarına kadar değişik büyüklüklerde olabilir. Sayıları bir hücrede birden yüzlerceye kadar değişebilir ve aynı tümör örneğinde sayıları metafazdan metafaza çok değişik olabilir. Bunun nedeni, sentromer ve kinetokor yapıları içermedikleri için, hücre bölünmesi sırasında yavru hücrelere rastgele dağılmalarıdır. hsr'ler ise anormal derecede uzamış ve homojen olarak boyanmış kromozom bölgeleridir. Boyları değişiklik gösterebilir. Kimi zaman kromozomun boyunu normal boyunun birkaç katına çıkartabilirler. Genel olarak dmin ve hsr'ler kötü prognoz habercisidir (106).

2.1.4.2 Kanser Kromozom Anomalilerinin Oluşumunda Rol Oynayan Faktörler:

Kanserin somatik mutasyon teorisinin ışığı altında Knudson (1985), populasyonun tümör geliştirme riski açısından dört farklı kategoriye, veya dört *onkodeme* ayrılabilirliğini ileri sürdü (40).

Birinci onkodemi meydana getiren kanserler, genetik maddedeki instabiliteye ve kaçınılmaz olarak maruz kalan düşük dozdaki çevresel karsinojenlere (kozmetik radyasyon gibi) bağlı olarak meydana gelen kanserlerdir. Bu gruptaki kanserleri ortadan kaldırmak mümkün değildir.

İkinci onkodemde ise, ortamda normal olarak bulunandan daha fazla mutajen ajana maruz kalma sonucunda meydana gelen kanserler bulunur. Kişinin mutajenlerle baş etme kapasitesi normal seviyedeki mutajenler için yeterli olsa bile, daha fazlası ile başa çıkamayabilir.

Üçüncü onkodem, karsinojenlerin etkilerini tolere etmekteki göreceli bir genetik yetersizlik sonucu meydana gelen kanserleri kapsar. İkinci onkodemin aksine, burada mutajen miktarı artmamış, fakat normal ortamdaki mutajenlerle baş etme kapasitesi -herhangi bir nedenle, örneğin DNA tamir mekanizmasındaki bir yetersizlik sonucunda- azalmıştır.

Son olarak, dördüncü onkodem, çevresel etkilerin önemsiz görüldüğü kanserleri kapsar. Bu, özellikle ilk mutasyonun germ hücrelerinde kalıtıldığı kanserlerde gözlenen durumdur. Bu grupta üzerinde en çok çalışılan örnek, kalıtsal retinoblastomdur.

Her ne kadar genetik araştırmaların çoğu dördüncü onkodem hastalıkları üzerinde odaklanmışsa da -özellikle son yıllarda kanserden sorumlu genlerin haritalanması ve klonlanması amacıyla yönelik olarak-, kantitatif olarak en önemli onkodemler ikinci ve üçüncüdür. Her ikisinde de, dış etki (çevresel karsinojenlerin etkisi) ve içsel cevap (kişinin mutasyonel hasara direnç ya da tamir kapasitesi) arasındaki denge, DNA hasarı oluşturacak yönde bozulmuştur; ve kanser gelişir (40).

DNA hasar-tamir dengesinin klinik olarak önem taşıyacak şekilde değiştiği ve karakteristik sitogenetik özellikler taşıyan bazı kalıtsal durumlar vardır. Bu sitogenetik özelliklerin kanser oluşumunda nedensel olarak önem taşıyıp taşımadıkları bilinmemektedir. Bunlar C bandı polimorfizmleri, fragil kromozom bölgeleri ve kromozom kırık sendromlarıdır (40).

C Bandı Polimorfizmleri:

İnsan kromozomlarının heterokromatik bölgeleri polimorfiktir. Bu durum, 1, 9, 16 ve Y kromozomlarında bulunan büyük konstitütif heterokromatin bloklarında özellikle belirgindir. Konstitütif heterokromatin bölgelerinin moleküler yapısı tam olarak anlaşılmış değildir; RNA'ya transkribe olmazlar ve bu bölgelerde genetik bilgi kodlandığına dair kanıt yoktur. Genellikle bu konstitütif heterokromatin polimorfizmlerinin fenotipe herhangi bir değişikliğe yol açmadığı

kabul edilmektedir. Bununla birlikte, son yirmi yılda, çeşitli hematolojik ve solid tümör tipleriyle heterokromatik varyantlar arasında pozitif bir korelasyon olduğunu bildiren çok sayıda yayın yapılmıştır. Hem büyüklük, hem de pozisyon heteromorfizmleri işe karışmaktadır. Değişiklikler en çok 1 numaralı kromozomda gözlenmiştir (40, 47). Değişik yazarlar, konstitütif heterokromatinlerin kanser oluşumundaki olası rolleri ile ilgili değişik hipotezler ileri sürmüşlerdir. Heterokromatinizasyonun artması halinde yakında bulunan genlerin inaktive olabildiği bildirilmiştir; eğer bu genler hücreleri normal farklılaşma durumlarında tutmakta rol oynayan genler ise, inaktifleşmelerinin kanser gelişimine yol açabileceği ileri sürülmüştür (47). Ayrıca, konstitütif heterokromatin bölgelerinin genomik instabiliteyi arttırarak somatik hücrelerde eşit olmayan crossing over'lara eğilim oluşturabileceği, böylece kansere zemin hazırlayabileceği de düşünülmüştür. Kromozom kırıcı ajanlara duyarlılığı arttırarak kanser gelişiminde rol oynayabilecekleri de ileri sürülmüştür (108).

Diğer taraftan, çeşitli çalışmalarda, kanser hastaları ile kontrol grupları arasında C bant örnekleri açısından anlamlı farklar bulunmadığı da bildirilmiş, ve kontrol gruplarının seçiminin uygun yapılamamış olmasının, gözlenen farklılıkların asıl nedeni olabileceği ileri sürülmüştür (1). Dolayısıyla, konstitütif heterokromatin bölgelerinin miktar ve dağılımının kanser geliştirme riski ile gerçekten bir ilişkisi olup olmadığı bugün için bilinmemektedir (40).

Frajl Bölgeler:

Frajl bölgeler, kromozomlar üzerinde gap'ler, kırıklar ve nadiren delesyonlar, multiradial oluşumlar ve asentrik fragmentler şeklinde görülen spesifik bölgelerdir. Kodominant kalıtım şekli gösterirler. Ekspresyonları için gerekli olan kültür şartlarına ve popülasyondaki görülme sıklıklarına bağlı olarak iki gruba ayrılırlar: nadir (kalıtsal) frajl bölgeler (rare fragile sites [r-fra], heritable fragile sites, [h-fra]) ve yaygın (yapısal) frajl bölgeler (common fragile sites, constitutive fragile sites [c-fra]). In vitro koşullarda, folik asit yoksunluğu ya da afidikolin, distamisin-A, 5-azasitidin veya bromodeoksiüridin varlığı ile indüklenirler (36, 40).

Otozomal frajl bölgelerin çoğu fenotipik olarak normal bireylerde gösterilmiştir ve hiçbirisi spesifik bir klinik bozuklukla ilişkilendirilmemiştir. Bununla birlikte 1980'lerde kanser kromozom anomalilerinin kırık noktaları ile frajl bölgelerin aynı bantlarda toplandıklarına dair raporlar yayımlanmaya başlamıştır. Çeşitli araştırmacılar meme kanserinde, nöroblastomada, renal hücre karsinomunda, akciğer kanserinde, retinoblastomada ve Wilms tümöründe kanser kromozom kırık noktaları ile frajl bölgeler arasında uyum görüldüğünü bildirmişlerdir. Bu bulguların ışığında, belirli frajl bölgelerin kırılmaya ve kromozom aberasyonlarına, dolayısıyla kansere eğilim yarattığı ileri sürülmüştür. Bununla birlikte başka çalışmalarda da, kanser

kromozom kırık noktaları ile frajil bölgeler arasında bir ortaklık görülmediği bildirilmiştir. Ewings sarkoma, renal hücre karsinomu, meme kanseri, akciğer kanserinde yapılan ve frajil bölgelerle kanser kromozom kırık noktaları arasında herhangi bir ilişkinin saptanmadığı çalışmalar vardır. Bazı durumlarda da, kanserle ilişkili kırık noktalarının, aynı kromozom bandında bulunan konstitüsyonel frajil bölgelerden moleküler düzeyde farklı olduğu gösterilmiştir. Dolayısıyla frajil bölgelerle kanser kırık noktaları arasındaki ilişki henüz kesin olarak bilinmemekte, bu konudaki çalışmalar halen devam etmektedir (40, 43, 99).

Kromozom Kırık Sendromları:

Normal olarak insanda kromozom anomalileri yaş ilerledikçe artar. Fakat kromozom anomalisi sıklığını belirleyen tek faktör zaman değildir. Kromozom kırık sendromları denen bazı nadir otozomal resesif hastalıklarda, kromozom anomalileri normal bireylere göre çok artmıştır. Xeroderma pigmentosum (XP), ataksi telanjiektazi (AT), Fanconi anemisi (FA) ve Bloom sendromu bu gruptaki hastalıklardandır. Bu hastalıklarda kanser insidansı da çok yüksektir ve kansere yakalanma yaşı da normal popülasyona oranla çok erkendir (27, 40, 43, 105, 114).

Bu sendromların sitogenetik özellikleri şöyledir:

Ataksi telanjiektazi: Bu hastaların hücre kültürlerinde çok fazla miktarda kromozom kırıkları, gap'leri ve yapısal kromozom anomalileri gözlenir. Başlangıçtaki rastgele kırıkların translokasyonlar taşıyan hücre klonlarına yol açtığı düşünülmüştür. Hastaların çoğunda 14. kromozomun translokasyonlara katıldığı ve t(14;14)(q12;q32)'nin karakteristik bir translokasyon olduğu bildirilmiştir. Fakat kardeş kromatid değişimi (KKD) artmamıştır. DNA hasarlayıcı ajanlara duyarlılık artmıştır ve özellikle iyonizan ışınlarla maruz kaldıktan sonra DNA tamiri yeterince yapılamaz (27, 40, 43, 105, 114).

AT hastalarının yaklaşık %10'u kansere yakalanırlar, bunların %80'i lenfatik sistemi tutan hastalıklardır; bunlar arasında lenfatik lösemi, lenfoma ve Hodgkin hastalığı bulunur (27, 105, 114). Bu tümörlerin büyük çoğunluğu T hücre orijinlidir. T hücreli lösemi ve lenfomada AT ile ilişkili olarak görülen translokasyonların çoğu, 14q32 bandını içermektedir. Hastaların bazılarında, bu bölgenin anomalilerini içeren hücre klonlarının kanserin ortaya çıkmasından önce de gözlemlendiği bildirilmektedir. Bu bölgenin birçok insan T hücre tümöründe işe karışması, bu kırık noktasının yakınlarında, onkogeneze önemli bir rolü olan bir lokus bulunduğunu düşündürmektedir (114).

Fanconi anemisi: Fanconi anemisinin en karakteristik kromozom anomalileri nonhomolog kromozomlar arasındaki translokasyonlardır. Triradial ve quadriradial oluşumlar sık görülür. Kromozom kırıkları fazladır. Fakat, kardeş kromatid değişimlerinde artış yoktur (105). Temel defekt DNA'da meydana gelen çapraz bağlantıları (crosslinks) tamir yeteneğindeki

yetersizlik olabilir. Alkilleyici ajanlara aşırı duyarlılık vardır ve SV40 virüsü ile transformasyon sıklığı çok yüksektir (43). Fanconi anemisi hastalarının lösemi ve lenfoma geliştirme riskleri yüksektir (27, 43). Hastaların yaklaşık %5-10'u lösemiden ölür. Başta hepatokarsinom olmak üzere karsinomlar da sıktır (43).

Xeroderma pigmentosum: Bu hastalıkta kromozomlar spontan olarak kırılmazlar, fakat eksizyon tamir mekanizması bozuktur ve ultraviyole ışığın oluşturduğu hasar tamir edilemez. Güneş ışığına maruz kalan bölgelerde sonradan kansere dönüşebilen birçok deri lezyonu oluşur. Bu lezyonlardan çeşitli malign basal ve skuamoz hücre karsinomları ve malign melanomlar gelişir. Kanser riski normal popülasyona göre 2000 kat artmıştır. Normal popülasyonda deri kanserine yakalanma yaşı ortalama 60 iken, XP hastalarında bu yaş 8'dir. Gözlerde ve mukozada skuamoz hücre karsinomları, sarkomalar, melanomalar ve epiteliomalar gelişebilir ve normale göre 10.000 kat fazla riskle dil ve orofarinkste skuamoz hücre karsinomları görülür. Nörinomalar, adenokarsinomlar ve diğer malign tümörler de görülmektedir. Akciğer, uterus, beyin, meme ve testis tümörleri gibi internal neoplazilerin de XP hastalarında normalden 10-20 kat fazla görüldüğü ileri sürülmüştür (27, 43, 105).

XP'nin en az dokuz alt grubu tanımlanmıştır, bu alt grupların her biri, eksizyon tamiri kapasitesini düşüren değişik bir mutasyon taşımaktadır. Değişik mutasyon tipleri, değişik klinik ağırlıklar göstermektedir (43).

Bloom Sendromu: Bu hastalıkta da kromozom kırıkları fazla görülür. Homolog rekombinasyona eğilim çok artmıştır ve sık sık quadriradial oluşumlar gözlenir. KKD de artmıştır. Bloom sendromlu hastalarda DNA ligaz 1 enziminin defekti gösterilmiştir. Hastaların yaklaşık %20-25'i kansere yakalanırlar, bunların da yarısı 20 yaşından önce tümör geliştirirler. Bloom sendromunda en sık gözlenen kanserler; lösemi, lenfoma ve ağız, mide, özofagus, kolon, serviks ve larinks karsinomalarıdır (27, 40, 43, 105).

2.1.4.3 Kanser Kromozomlarının Yapı ve İşleyişlerindeki Değişiklikler:

Kanserli hücrelerin kromozomlarında, kromozom anomalilerine yol açan yeniden düzenlenmelerin yanında, moleküler yapılarında, işleyişlerinde ve stabilitelerinde de değişiklikler görülür. Telomerlerin yapı ve işlevlerinde, genomik imprinting'te ve mikrosatellit instabilitesinde meydana gelen değişiklikler gibi.

Telomerler, kromozomların uçlarında bulunan, tandem tekrarlanan DNA dizilerinden ve bu dizilerle ilişkide olan çeşitli proteinlerden meydana gelen özel yapılardır. Telomeraz adı verilen enzim tarafından sentezlenirler. İnsan germline hücrelerinde, telomerler, TTAGGG nükleotid dizisinin yaklaşık 1000-1700 kopyasını içerirler. Telomerik diziler türler arasında ileri derecede korunurluk gösterirler. Telomerler linear kromozomların doğal ucunun çift iplik kırıklarından

farklı olmasını sağlarlar. Telomerle sonlanmayan bir kromozom ucu birleşme ve rekombinasyona açıktır. Linear DNA'nın replikasyonunu sağlayan DNA polimerazlar zincirin uç kısımlarında bulunan telomerik bölgeleri sentezleyemediklerinden, telomerlerin boyları hücre siklusünün her S fazında bir miktar kısalır. Germ hücrelerinde bu kısalma telomeraz tarafından kromozomun ucuna telomerik dizilerin eklenmesi ile giderilir. Fakat soma hücrelerinde telomeraz aktivitesi yoktur ve transforme olmayan insan hücreleri hem in vitro hem de in vivo koşullarda hücre bölünmesiyle progresif telomer kısalması gösterirler. Bu nedenle telomerler, yavaş yavaş kısalarak hücrenin yaşam süresini belirleyen mitotik saatler olarak görülmektedirler. Oysa, kanserlerin hemen hemen tümünde telomeraz aktivitesi pozitif bulunmuştur. Kanser hücreleri normalden fazla bölündükleri için, telomer bölgeleri de kısadır, fakat sürekli aktif durumda olan telomeraz enzimi telomerleri sabit bir uzunlukta tutarak kanser hücrelerini ölümsüz kılar (4, 35, 55, 90, 92, 113).

Kanserde epigenetik değişikliklerin de olduğu görülmektedir. DNA'nın metilasyon patterninde ve genomik imprinting'de kanserle ilişkili değişiklikler olmaktadır. Hatta, Knudson'un iki vuruşlu (two hits) kanser oluşumu hipotezindeki ilk vuruşun, genomik imprinting sonucunda allellerden birinin ekspresyon yapmaması olabileceği ileri sürülmüştür. İkinci allel de bir mutasyonel olay sonucunda ekspresyon yapmaz hale gelirse, kanserleşme başlayacaktır. Wilms tümörü, osteosarkoma, bilateral retinoblastoma, embriyonal rabdomiyosarkoma ve Baeckwith-Wiedemann sendromu ile ilgili tümörlerde DNA metilasyonunun ve genomik imprinting'in rolü olduğunu gösteren bulgular olduğu bildirilmektedir (42, 48, 89, 110). Kronik myeloid lösemisinin karakteristik bulgusu olan Philadelphia kromozomunu (Ph¹) oluşturan t(9;22)'de de, translokasyona katılan 9 numaralı kromozomun hemen hemen daima baba kaynaklı, 22. kromozomun ise anne kaynaklı olduğu gösterilmiştir (37). Kimi tümörlerde DNA metilasyonunda artış ve azalışlar da görülmektedir. Akciğer kanserlerinde 3p, 9p, 11p, 17p ve 18q'daki anormal metilasyon bölgelerinde sık sık allel kayıpları gözlemlendiği bildirilmektedir (73, 89). Yine akciğer kanserlerinde 11p15 bölgesinde seçici olarak anne kaynaklı allel kayıpları vardır (57). Kanserli hücre soylarına bir demetilasyon ajanı olan 5-Aza-2'-deoksisitidin verilerek yapılan deneylerde, hipermetilasyon sonucunda bozulan imprinting durumunun geri dönebildiği gösterilmiştir (6, 7, 41). İnsan kanserlerinde en çok mutasyona uğradığı bilinen p53 geninde de en çok mutasyon metillenmiş CpG dizilerinde meydana gelmekte ve karsinojen ajanlar bu bölgelere daha sık bağlanmaktadır (14).

İnsan genomuna dağılmış olan kısa, tandem tekrarlanan ve polimorfizm gösteren diziler olan mikrosatellit dizilerinin de, hem ailevi, hem de sporadik birçok kanserde instabil durumda olduğu gösterilmiştir (3, 21). Küçük hücreli akciğer kanserlerinde de hem tümör hem de plazma DNA örneklerinde mikrosatellit dizilerinde değişiklik olduğu saptanmıştır (15, 21). Küçük hücreli

olmayan akciğer kanserlerinde ise mikrosatellit instabilitesi seyrek görülmektedir. Bununla birlikte, mikrosatellit instabilitesi gösteren hem küçük hücreli, hem de küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde yaygın heterozigosite kaybı saptanmış ve prognozun kötü olduğu gözlenmiştir (21).

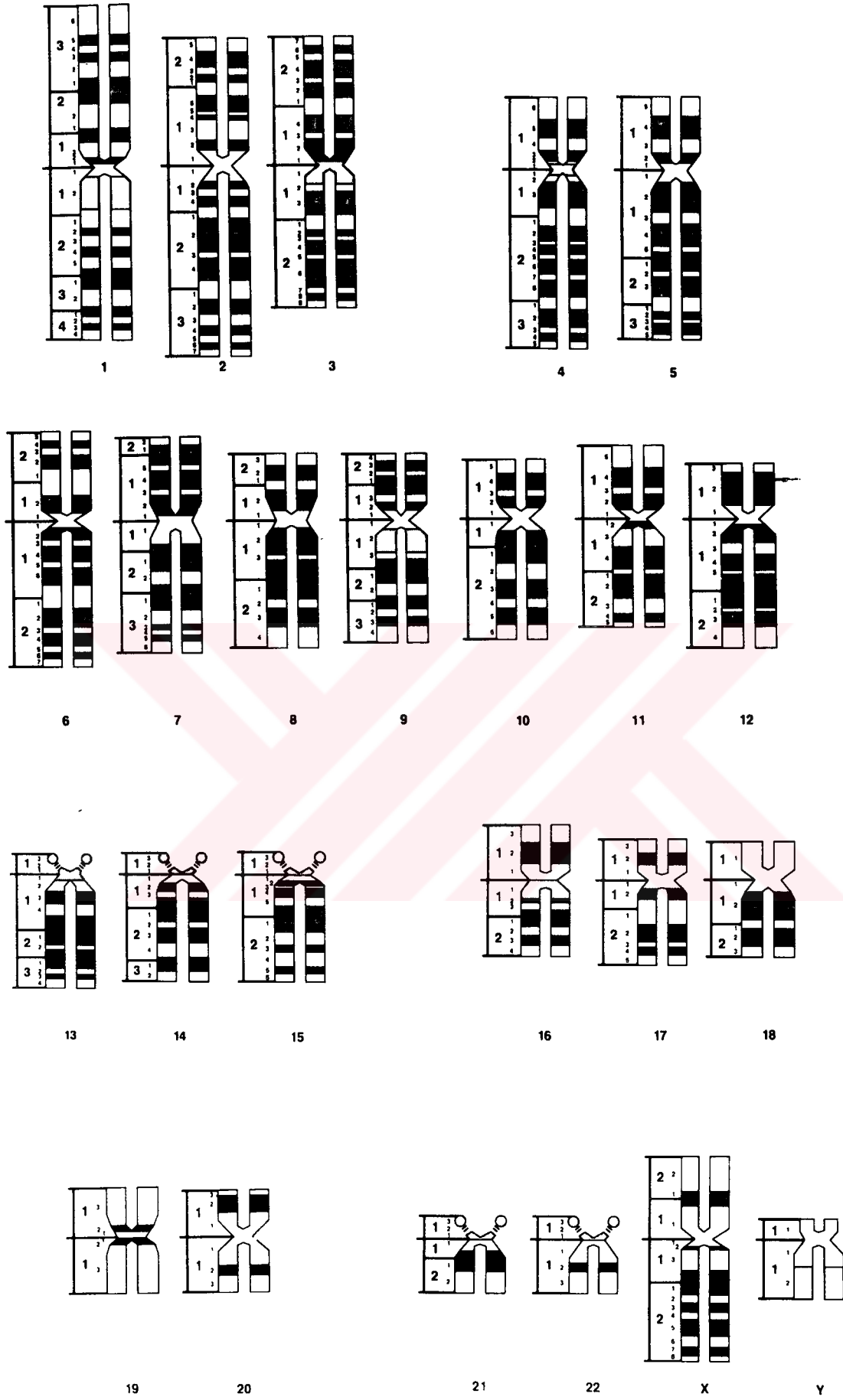
2.1.5 Kanser Sitogenetiğinde Kullanılan Yöntemler:

Kanser hücrelerindeki kromozomal düzensizliklerin incelenebilmesi için, bölünmekte olan neoplastik hücrelerin metafaz ya da prometafazda durdurulması, fiks edilmesi, iyi bir şekilde yayılabilmesi ve boyanabilmesi gerekir. Gözlenen anomalilerin in vivo koşulları yansıtmalarını sağlamak için, genellikle direkt preparasyonlar ve kısa süreli kültürler uzun süreli kültürlerle ve cell line'lara tercih edilir. Bununla birlikte, direkt preparasyonlarda ve kısa süreli kültürlerde kromozom elde edilemediğinde uzun süreli kültürler önem kazanmaktadırlar ve cell line'lar da kanser araştırmalarında kullanılan çok değerli araçlardır.

2.1.5.1 Bantlama Teknikleri:

Kromozomların teker teker tanınabilmesini sağlayan bantlama teknikleri sitogenetik incelemeler için vazgeçilmezdir. İlk geliştirilen bantlama tekniği, kromozomlar boyunca değişik parlaklıkta fluoresans veren enine bantlar oluşturmak için quinacrine mustard veya quinacrine dihydrochloride kullanılan Q bantlama tekniğidir. Bu yöntemle elde edilen bantlara da Q bantları denir. Q bantlama ile aynı bant örneğini veren fluoresan olmayan teknikler de vardır. Giemsa veya ilişkili (örneğin Wright's) boyalarla elde edildikleri için bunlara G bantları denir. Şekil II.1'de G bantlı insan kromozomlarına ait ideogram görülmektedir. G bantlarının tersi bir bant örneği veren yöntemlere ise R bantlama teknikleri (Reverse banding), bu bantlara da R bantları denir. Bütün kromozom boyunca bantlar oluşturan Q, G ve R bantlarının aksine, diğer teknikler sadece belirli kromozomal bölgeleri ya da yapıları boyarlar. Bunlar arasında "constitutive" heterokromatin bölgelerini boyayan C bandı, telomerik bölgeleri boyayan T bandı ve satellitlerdeki, hücrede nukleolusu oluşturan bölgeleri (Nucleolus Organizing Regions; NOR) görünür hale getiren NOR bandı yöntemleri vardır.

Bu klasik bant tekniklerine ilaveten, son yıllarda, sitogenetik ve moleküler genetik teknikleri arasında köprü kuran iki yeni teknik geliştirilmiştir: fluoresan in situ hibridizasyon (FISH) ve karşılaştırmalı genom hibridizasyonu (comparative genome hybridization, CGH).



Şekil II.1 G bantlı insan kromozomlarına ait ideogram

2.1.5.2 Fluoresan In Situ Hibridizasyon (FISH):

FISH tekniği, fluoresan işaretli problemlerin, incelenecek kromozomlarla hibridizasyonuna dayanır. Belirli bir kromozomal yapıyı (örneğin belli bir kromozom çiftinin satelit sentromerik dizilerini) tanıyan problemler, tek dizi problemleri, ya da birden fazla kromozomal diziyle hibridize olabilen problemler (yani kromozoma özgü kütüphane problemleri) kullanılmaktadır. Kromozoma özgü kütüphane problemleriyle yapılan kromozom boyaması (chromosome painting), marker kromozomları meydana getiren yapısal yeniden düzenlenmelerin tanımlanmasında kullanılmaktadır (124). Sentromere özgü problemlerle hibridizasyon, sayısal kromozom aberasyonlarının saptanmasında tercih edilen yöntem olabilir (101). FISH tekniğinin önemli bir avantajı, hem bölünen, hem de interfaz hücrelerinde kullanılabilmesidir. Dezavantajı ise, bant tekniklerinin aksine, sadece probun gönderildiği bölge hakkında bilgi sağlamasıdır. Dolayısıyla, kanser sitogenetiğindeki yeri daima aberasyonların ilk taramasının yapıldığı bant tekniklerinden sonradır.

2.1.5.3 Karşılařtırılmalđ Genomik Hibridizasyon (CGH):

CGH tekniği ise, farklı işaretlenmiş total tümör DNA'sı ile normal referans DNA'sının aynı anda, aynı normal insan metafaz kromozomlarına in situ hibridizasyonuna dayanır. Böylece, tek bir hibridizasyon işlemi sonucunda, tümör örneğindeki DNA dizilerinin tekrar sayılarındaki artış veya azalış, tek bir metafaz üzerinde gözlenebilir. Örneğın, tümör DNA'sı yeşil, normal DNA kırmızı işaretlendiyse, tümör DNA'sı ve normal DNA'nın hibridizasyon işlemi sırasındaki kompetisyonu nedeniyle, tümör dokusunda amplifiye olmuş bir kromozom bölgesi yeşil, tümörde delesyona uğramış bir bölge ise kırmızı olarak işaretlenecektir (40, 52).

CGH tekniği ile gösterilebilmesi için, amplifiye olan DNA miktarının en az 2 Mb olması gerektiği hesaplanmıştır. Bu yöntemle gösterilebilecek en küçük delesyonun ise, (çift problu FISH ile metafaz analizinde ayrıştırılabilecek en küçük mesafe olan) 3-5 Mb olduğu düşünölmektedir. Delesyon tayininde duyarlılık ploidi derecesiyle de çok ilişkilidir. Örneğın, bir kromozomun homologunun kaybı, tetraploid bir hücre soyunda diploid bir hücre soyuna göre daha zor gösterilir (52).

CGH tekniği, FISH yönteminin fazla özgönlük dezavantajını taşımaz, bu açıdan CGH gerçek bir tarama yöntemidir. Bant yöntemlerine kıyasla dezavantajları, dengeli yeniden düzenlenmelerle ilgili bilgi verememesi, peri-sentromerik, heterokromatik ve telomerik bölgelerde güvenilir olmaması, tümör örneğinde bulunan normal hücrelerin kırmızı-yeşil oranını etkilemesi ve tümör hücrelerindeki anomalileri hep bir arada gösterip, tümör hücreleri arasındaki farklılıkları gösterememesidir (40, 52).

Her ikisi de güçlü teknikler olmakla birlikte, FISH ve CGH, kanser sitogenetiğinde bant tekniklerinin yerini alamazlar.

2.1.6 Kanser Sitogenetiği Terminolojisi:

İnsan kromozomları için kullanılan terminoloji bir dizi uluslararası konferansta alınan kararlarla belirlenmiştir. Her konferanstan sonra karyotip yazımı için tek bir sistem oluşturmak için o konferansta varılan tavsiye kararlarının toplandığı bir rapor yayımlanmıştır (40). Bunların en yenisi ve bugün için en geçerlisi ISCN (An International System for Human Cytogenetic Nomenclature) (1995)'tir (46). Bu rapora kanser sitogenetiği için önerilen terimler ve yazım kuralları da dahil edilmiştir.

Kanser sitogenetiğinde yaygın olarak kullanılan terimler ve yazım kuralları şunlardır:

Klon: Tek bir ata hücreden kaynaklanan hücre popülasyonuna klon denir. Birden fazla hücrede aynı ya da yakın kromozomal anomaliler görüldüğünde klonal orijinden söz edilir. Tümör gelişimi sırasında subklonlar ortaya çıkabildiğinden, bir klonun tamamen homojen olması gerekmez. Bir klondan söz edebilmek için aynı kromozom anomalisini en az iki hücrede görmek gereklidir. Eğer söz konusu anomali bir kromozomun kaybı ise, klonal kabul edilebilmek için en az üç hücrede gözlenmelidir. Aynı tümörde gözlenen farklı klonlar, karyotip yazılırken bir bölü çizgisiyle (/) ayrılırlar. Klonun büyüklüğünü belirtmek için, karyotip formülünde klonal anomalilerin arkasına o klonu oluşturan hücrelerin sayısı köşeli parantez [] içinde yazılabilir.

Kanser sitogenetiğinde genel kural sadece klonal anomalileri rapor etmektir. Eğer özel nedenlerle klonal olmayan kromozom anomalileri de bildirilecekse, bunlar klonal olanlardan açık bir şekilde ayrılmalı, ve tercihan tümör karyotipine dahil edilmemelidir.

Mainline: Mainline (ml), bir tümör hücre popülasyonunda en sık gözlenen kromozom konstitüsyonudur. En büyük klonu ifade eden, tamamen kantitatif bir terimdir ve tümör gelişimi açısından en temel olan klonu belirtmesi gerekmez. İki ya da daha fazla klon aynı büyüklükte ise, bir tümör birden fazla mainline'a sahip olabilir.

Stemline ve Sideline: Stemline (sl), bir tümör hücre popülasyonundaki en basit (temel) klondur. Bu klondan köken alıp, yeni anomaliler kazanarak farklılaşan bütün subklonlara sideline (sdl) adı verilir. Eğer birden fazla sideline varsa, sdl1, sdl2, ... diye adlandırılır.

Klonal Evolüsyon: Sitogenetik olarak ilişkili klonlar, yani subklonlar karyotip formülünde yazılırken, mümkün olduğunca, klonun büyüklüğü dikkate alınmaksızın, gittikçe artan karmaşıklık sırası ile yazılırlar. Yani stemline önce yazılır, ardından basitten karmaşığa doğru sideline'lar sıralanırlar.

Subklon içeren bir tümör karyotipi formüle edilirken *idem* terimi kullanılabilir. Latince aynı anlamına gelen *idem* sözcüğünün arkasından, stemline'a eklenen, subklonun yeni anomalileri yazılır. İdem daima stemline'a atfen kullanılır. Yani birden fazla subklon içeren tümörlerde, stemline'a eklenen her yeni klonal anomali, bir önceki sideline'da yazılmış olsa bile, her sideline için yeniden yazılmalıdır. Ayrıca, sideline'lardaki bütün artı ve eksi işaretleri de, stemline ile ilgili değişiklikleri belirtecek şekilde kullanılmalıdır.

Örnek:

52,XY,t(1;6)(p34;q22),-3,...[13]/55,idem,+3,+del(7)(q11),+8[22]/57,idem,+3,+del(7)(q11),+8,+9,+11[8]

Bu örnekte, 52 kromozom içeren klon stemline'dır. 55 kromozomlu sdl1'de, stemline'a göre üç ilave değişiklik daha vardır. Fakat buradaki +3, sideline'a göre bir fazla 3 numaralı kromozom bulunduğunu göstermektedir. Yani stemline'da 3 monozomisi varken, sdl1'de iki normal 3 numaralı kromozom bulunmaktadır. 57 kromozomlu sdl2'de ise, sdl1'deki ilave değişikliklerin yanı sıra iki anomali daha (+9 ve +11) eklenmiştir. İdem terimi sadece stemline'ı belirttiği için sdl1'deki ilave değişiklikler sdl2'de tekrar yazılmışlardır.

Anormal poliploid klonları belirtmek için *idem* x2, x3, ... denilebilir. Arkasından poliploid klondaki ilave değişiklikler, o ploid derecesine göre, belirtilir.

Kompozit Karyotip: Birçok durumda, özellikle solid tümörlerde, tümör hücreleri arasında büyük bir karyotipik çeşitlilik olmakla birlikte yine de bazı hücreler aynı sitogenetik bulguları paylaşabilirler. Bu gibi durumlarda bir kompozit (bileşik) karyotip (cp) meydana getirilir. Kompozit karyotip bütün klonal anomalileri kapsar ve klonal anomalileri taşıyan hücrelerin kromozom sayılarını bir sayı aralığı olarak verir. Klonal değişikliklerin gözlemlendiği hücrelerin toplam sayısı karyotip formülünün sonunda, köşeli parantez içinde, cp kısaltmasının ardına yazılır. İstenirse bir klonal anomalinin kaç hücrede görüldüğü de her anomalinin arkasına yine köşeli parantez içinde yazılabilir.

Örnek:

45~48,XX,del(3)(p12)[2],-5[4],+8[2],+11[3][cp7]

Bu kompozit karyotip, her biri yazılan anomalilerden en az birini içeren 7 hücreden derlenmiştir. İki hücrede del(3)(p12), dört hücrede -5, iki hücrede +8 ve üç hücrede de +11 gözlemlenmiştir. Bazı hücrelerde bu anomalilerden birden fazlasının yer aldığı anlaşılmaktadır.

Bir kompozit karyotipte yazılan kromozom anomalilerinin toplamı, gerçekten görülen kromozomların sayısından fazla ya da eksik olabilir.

Örnek:

48,XX,+7,+9,+11,+13[cp5]

Beş hücreden derlenen bu kompozit karyotipte, her bir hücrenin kromozom sayısı 48'dir. Kromozom anomalilerinin toplamı 50 kromozom olduğunu düşündürse de, 50 kromozom içeren hücre gözlenmemiştir.

Bir kompozit karyotip, aynı kromozomun hem monozomisi hem de trizomisi gibi, çelişkili görünen kromozom anomalilerini bir arada içerebilir.

Örnek:

45~48,XX,+7[2],+12[2],-15[3],+15[2],del(17)(q11) [3][cp6]

Bu örnekte -15 ve +15'in her ikisi de sırasıyla üç ve iki hücrede gözlenen klonal değişikliklerdir.

Kompozit karyotipte sayı aralığı olarak verilen kromozom sayıları ve köşeli parantez içinde yazılan hücre sayıları sadece klonal anomalilerin görüldüğü hücreleri belirtmeli, incelenen ve klonal anomali taşımadıkları saptanan hücreler bu sayılara dahil edilmemelidir.

İlişkisiz Klonlar: Birbirinden tamamen farklı karyotipik anomaliler taşıyan klonlar, karyotip yazılırken büyüklüklerine göre sıralanırlar. En büyük klon birinci, ikinci büyük klon ikinci, ...gibi. Normal diploid bir klon, eğer varsa, daima en sona yazılır.

Eğer tümör hem ilişkili, hem de ilişkisiz klonlar içeriyorsa, önce birbirleriyle ilişkili olan klonlar artan karmaşıklık sırası ile yazılır, daha sonra ilişkisiz klonlar büyükten küçüğe doğru sıralanırlar.

Modal Sayı: Modal sayı (modal number; kısaltılmışı mn), bir tümör hücre popülasyonunda en sık gözlenen kromozom sayısıdır. Modal sayı, iki kromozom sayısı arasındaki bir sayı aralığı olarak da ifade edilebilir.

Haploid (n), diploid (2n), triploid (3n), ya da tetraploid (4n) seviyelerde bulunan, ya da haploid sayının herhangi bir katına yakın olan fakat eşit olmayan, dolayısıyla kesin bir sayı olarak verilemeyen modal sayılar, *near-haploid* ($n\pm$), *hypohaploid* (n-), *hyperhaploid* (n+), *near-diploid* ($2n\pm$), *hypodiploid* (2n-), *hyperdiploid* (2n+), *near-triploid* ($3n\pm$), *hypotriploid* (3n-), *hypertriploid* (3n+), *near-tetraploid* ($4n\pm$), *hypotetraploid* (4n-), *hypertetraploid* (4n+), vb. olarak anılır. Her bir aralık, $n/2$ 11 kromozom olmak üzere, $n\pm n/2$ formülüne göre belirlenir. Ploidi seviyelerine örnekler ve her seviyede bulunması gereken kromozom sayıları Tablo II.4'te görülmektedir.

Pseudodiploid, pseudotriploid, vb. terimleri, haploid sayının tam katı sayılarda kromozom içeren (*euploid*), fakat edinilmiş sayısal ve/veya yapısal anomaliler taşıdığı için anormal olan karyotipleri anlatmakta kullanılır. Euploidy'den sapan bütün kromozom sayıları *aneuploid*dir.

Tablo II. 4 Ploidi seviyeleri ve içerdikleri kromozom sayıları

Near-haploidy (23±)	≤ 34	Near-pentaploidy (115±)	104-126
Hypohaploidy	< 23	Hypopentaploidy	104-114
Hyperhaploidy	24-34	Hyperpentaploidy	116-126
Near-diploidy (46±)	35-57	Near-hexaploidy (138±)	127-149
Hypodiploidy	35-45	Hypohexaploidy	127-137
Hyperdiploidy	47-57	Hyperhexaploidy	139-149
Near-triploidy (69±)	58-80	Near-heptaploidy (161±)	150-172
Hypotriploidy	58-68	Hypoheptaploidy	150-160
Hypertriploidy	70-80	Hyperheptaploidy	162-172
Near-tetraploidy (92±)	81-103	Near-octaploidy (184±)	173-195
Hypotetraploidy	81-91	Hypoocaploidy	173-183
Hypertetraploidy	93-103	Hyperocaploidy	185-195

(ISCN 1995)

Erkek hastaların tek sayılı ploidi seviyelerindeki tümör hücrelerinde gözlenen seks kromozomu anomalilerinin tanımlanması özel bir sorun oluşturur: Eksik olan seks kromozomunun X mi, yoksa Y mi olduğu bilinemez. Örneğin, triploid bir tümörün seks kromozom konstitüsü teorik olarak XXY veya XYY olabilir. Ortaklaşa alınan bir kararla, erkeklerdeki bütün seks kromozom anomalilerinin haploid tümörlerde X, triploid tümörlerde XXY, pentaploid tümörlerde XXXYY kromozom yapısına göre ifade edilmesi kabul edilmiştir.

ISCN 1995'e göre, bütün sayısal değişiklikler uygun ploidi seviyesine göre ifade edilir. Yani near-haploid hücrelerde (kromozom sayısı <34) 23'e göre, near-diploid hücrelerde (kromozom sayısı 35-57 arası) 46'ya göre, near-triploid hücrelerde (kromozom sayısı 58-80 arası) 69'a göre, near-tetraploid hücrelerde (kromozom sayısı 81-103 arası) 92'ye göre vb. değerlendirilirler. Birden fazla ploidi seviyesinde hücreler varsa, biyolojik olarak anlamlı ve en uygun olan ploidi seviyesi temel alınır ve kromozom sayılarından sonra < içinde yazılır (76~102, <4n>, XXXX, ... gibi).

Konstitüsyonel Karyotip: Edinilmiş kromozomal anomaliler içeren hücrelere uygulanan aynı klonalite kriterleri, konstitüsyonel karyotip taşıyan hücrelere de uygulanır. Normal diploid bir klon, bulunduğu takdirde, büyüklüğüne bakılmaksızın, daima en sona yazılır.

Karyotip formülü yazılırken, konstitüsyonel bir anomali varsa, yine kromozom numarası sırasına göre yazılır fakat arkasına eklenen bir *c* harfi ile belirtilir. Sadece konstitüsyonel anomaliyi taşıyan bir klon varsa, normal diploid bir klon gibi, daima en sona yazılır.

Örnek:

48,XX,+8,+21c/49,XX,+8,+9,+21c/47,XX,+21c

Konstitüsyonel anomalide yer alan kromozom çiftinden birini etkileyen bir edinsel anomaliyi uygun şekilde ifade edebilmek için, konstitüsyonel anomali, hiçbir tümör hücresi tarafından taşınmasa bile, mutlaka karyotipte belirtilmelidir. Bu nedenle edinsel bir anomali daima konstitüsyonel karyotip ile ilişkili olarak sunulmalıdır.

Örnekler:

46,XX,+21c,-21

Konstitüsyonel olarak trizomi 21 taşıyan hastanın tümör hücrelerinde edinsel bir 21. kromozom kaybı gözlenmiştir.

45,Xc,t(X;18)(p11;q11)

Turner sendromlu (45,X) hastanın tümör hücrelerinde edinsel bir t(X;18) anomalisi bulunmaktadır. Yani hastanın tek X kromozomu translokasyona katılmıştır ve dolayısıyla tümör hücrelerinde hiç normal X kromozomu bulunmamaktadır.

Yukarıdaki örneklerin her ikisinde de, tümör hücrelerinde tek başına konstitüsyonel karyotip taşıyan, bir klon oluşturmaya yetecek sayıda hücre gözlenmemiştir. Konstitüsyonel anomali ile ilgili bilgi tümör hücreleri çalışmasından bağımsız olarak edinilmiştir (46).

2.2 Akciğer Kanseri:

Akciğer dokusunda gelişen primer kanserdir. İlk kez 1800'lerin ortalarında tanımlanmıştır. Bu yüzyılın başlarında hala nadir olarak görülen bir kanser türü olarak kabul edilmekte idiye de, bugün Amerika Birleşik Devletleri'nde kansere bağlı ölümler içinde -hem erkeklerde hem de kadınlarda- birinci sırayı almaktadır (2). Akciğer kanseri ülkemizde en sık rastlanan kanserler içinde erkeklerde 1., kadınlarda ise 5. sıradadır. Dünyada ve ülkemizde kadınlarda akciğer kanseri son yıllarda hızla artarak ölüm sebebinde üst sıralara yükselmiştir. Yurdumuzda yapılan bir çalışmada, 1980 öncesinde akciğer kanserinde erkek/kadın oranı 11/1 iken, 1980 sonrasında 5/1 olduğu saptanmıştır (122). Akciğer kanserlerinin tam olarak tedavi edilebilecek denli erken safhada yakalanması oldukça güçtür.

Akciğer ve bronş kanserleri bütün solunum yolu kanserlerinin %90'ını oluştururlar. Geri kalanlar en sıklıkla larinks (%7) ve nasal kavite (%2,5) kanserleridir (89).

Akciğer kanserine yakalanma riski taşıyan insanlar:

- 60 yaş üstü erkekler
- 20 yıl veya daha fazla süreyle günde bir paket ya da daha fazla sigara içenler
- 20 yaşından önce sigaraya başlayıp, hala içmeye devam edenler
- Yüksek risk taşıyan -asbest gibi- maddelerle çalışan ve sigara içen endüstri işçileri
- Sigaraya bağlı devamlı veya şiddetli öksürüğü olanlar
- Sigara içmeyen, fakat pasif içici konumunda olanlar (2)

Dünyanın her yerinde yapılan çok çeşitli çalışmalar, sigara içimi ile akciğer kanseri arasında bir bağlantı olduğunu göstermiştir (2, 22, 26, 43, 51, 95). Akciğer kanserlerinin %85-90'ı sigaraya bağlıdır. Sigara içimi, akciğer kanseri riskini sigara içmeyenlere göre 15 kat arttırmaktadır. Günde içilen sigara sayısı ve sigara içilen süre arttıkça akciğer kanseri riski de artmaktadır. Sigarayı bıraktıktan 15 yıl sonra bile eski sigara içicisinin akciğer kanseri geliştirme riski, hiç sigara içmemiş bir bireye göre 1,5-4 kat fazla olarak kalmaktadır. Hiç sigara içmeyen fakat aile bireylerinden biri sigara içicisi olan bir kişinin akciğer kanserine yakalanma riski, sigara içmeyen ve ev içinde içilen sigaraya maruz kalmayan birine göre 1,2-1,5 kat artmaktadır. Akciğer kanserinin değişik histolojik tipleri, sigara içimiyle değişik derecede ilintili görünmektedir. Küçük hücreli akciğer kanseri ve skuamoz hücreli akciğer kanseri hastalarının %95'ten fazlası aktif ya da eski sigara içicileri iken, adenokarsinomlu hastalarda bu oran %80'dir. Adenokarsinom, sigara içmeyenlerde en sık rastlanan akciğer kanseri tipidir (2, 51).

Akciğer kanserinin en yaygın sebebi sigara içimi olduğundan, sigara içenlerde ortaya çıkan erken lezyonlar, özellikle hastanın havayollarında meydana gelen erken proliferatif yanıtlar

incelenmiştir. Sigara içenlerde cilia'larda azalma, atipik hücreler ve bronşiyal epitel proliferasyonu gibi histolojik değişiklikler görülmektedir. Bu değişiklikler proksimal havayollarında distale göre daha belirgindir ve sigara kullanımı arttıkça daha yaygın olarak gözlenirler. Akciğer kanserinden ölen hastaların kanser dışı havayollarında bu histolojik değişiklikler had safhada bulunur (51).

Sigara içimi ile ortaya çıkan bu histolojik değişikliklere ilaveten, dağılık nöroendokrin hücrelerin ve nöroepitelyal cisimlerin sayısında artış görülebilir. Akciğerdeki bu sistem önemlidir çünkü bu hücreler büyümenin düzenlenmesinde ve farklılaşmada rol oynuyor olabilirler ve küçük hücreli akciğer kanserlerinin başlangıç hücreleri olabilirler. Bu nöroendokrin hücrelerin yaklaşık %70'i proksimal bronşlarda, %25'i bronşiyollerde, sadece %4'ü alveolar ductus'larda yerleşmiştir. Bu hücreler biogenic aminlere (serotonin) ve peptid hormonlara (gastrin-releasing peptide, kalsitonin ve kromogranin) karşı antikörlerle saptanabilirler. Kronik bronşit, amfizem, bronşiektazi ve akciğer kanserli hastaların kanser olmayan havayollarında, bronşiyal epiteldeki bu nöroendokrin hücrelerin ve nöroendokrin cisimlerin sayısı artmaktadır. Hayvan model sistemlerindeki çalışmalarda, sigara dumanında bulunan nitrozaminlere ve hiperoksiye maruz kalan kemirgenlerde nöroendokrin hücre proliferasyonu, akciğerlerde bombesin-like immünoreaktivite ve nöroendokrin özellikli akciğer kanseri gözlenmiştir (51).

Sigara dumanında, birçoğu karsinojen olan 4000'den fazla kimyasal madde bulunmaktadır. Bu karsinojen maddelerin moleküler hedefleri hakkında fazla bilginiz yoktur. Son yıllarda, sigara dumanına özgü genetik lezyonlar olup olmadığı yoğun olarak araştırılmaktadır. Bu çalışmalardan birinde, 3p14.2 bölgesinde yer alan ve olası bir tümör süpresör gen olan FHIT geninin, sigara içen akciğer kanserli hastalarda, hiç sigara içmemiş akciğer kanserli hastalardan anlamlı olarak daha fazla heterozigosite kaybına uğradığı gösterilmiştir (95). Rb, p53, CDKN2 ve K-ras genleri gibi onkogen ve tümör süpresör genlerin de, sigara dumanındaki karsinojenlerin moleküler hedefleri oldukları bildirilmektedir. Hücre iskeletindeki aktin filamentlerinin regülatörü olan gelsolin geninin de sigara dumanının potansiyel bir hedefi olabileceği ileri sürülmektedir (22). Sigaranın DNA metilasyonunu da değiştirebileceği düşünülmektedir. Bir tümör süpresör gen adayı olan HIC-1 (hypermethylated in cancer)'in bulunduğu D17S5 lokusunun, sigara içen küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda, hiç sigara içmemiş hastalara oranla anlamlı olarak daha fazla DNA metilasyonuna uğradığı gösterilmiştir (26).

Doğada bulunan radyoaktif bir gaz olan radon da, akciğer kanserinin bir başka nedeni olarak kabul edilmektedir. Yine, radona maruz kalan sigara içicileri daha büyük risk altındadırlar (2, 51). Endüstride kullanılan doğal bir mineral fiber grubu olan asbest de akciğer kanseri nedeni

olarak görülmektedir. Asbest ile çalışan işçiler akciğer kanseri riski altındadırlar. Sigara içenlerde bu risk katlanarak artmaktadır (2).

Bisklorometil eter (BCME) ve klorometil metil eter (CMME) adlı kimyasallar da, diğer olası akciğer kanseri nedenleri arasında sayılmaktadırlar. Amerika Birleşik Devletleri, Almanya ve Japonya'da yapılan çalışmalar, bu kimyasallara maruz kalan işçiler arasında akciğer kanseri insidansının yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Bilinen bir karsinojen olan arseniğe maruz kalan maden işçileri arasında da akciğer kanseri insidansı yüksektir (2).

Akciğer kanserleri iki ana gruba ayrılır: Küçük hücreli akciğer kanseri (Small cell lung cancer, SCLC) ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (Nonsmall cell lung cancer, NSCLC) (2).

Küçük hücreli olmayan akciğer kanserleri de kendi içinde gruplara ayrılır: Skuamoz hücreli akciğer kanseri (epidermoid karsinom olarak da adlandırılır), adenokarsinom ve büyük hücreli karsinom (2, 89).

Skuamoz hücreli karsinomlar bütün akciğer kanserlerinin %35'ini meydana getirirler. Bu histolojik tip sigara içimi ile yakın ilişkilidir ve erkeklerde en sık görülen akciğer kanseri tipidir. Bu tümörler iyi diferansiye keratinize skuamoz epitelden, farklılaşmamış (anaplastik) hücrelere kadar çok çeşitli farklılaşma seviyeleri gösterirler (89).

Akciğer adenokarsinomları akciğer kanserlerinin yaklaşık %35'ini oluştururlar. Adenokarsinomların büyüme hızı skuamoz hücre karsinomlarından daha fazladır ve sıklıkla beyne metastaz yaparlar. Akciğer adenokarsinomları farklılaşmış görünümlü glandular epitelden, yüksek mitotik aktiviteli anaplastik hücrelere kadar değişik görünümsergileyebilirler. Bronkoalveoler karsinomlar akciğer adenokarsinomlarının bir alttipidir ve bütün akciğer kanserlerinin yaklaşık %5'ini oluştururlar. Bu tip kanserler eğer tek bir bölgede lokalize olmuşsa cerrahi yöntemlerle tedavi edilebilir fakat çoğu kez multisentrik olarak ortaya çıkarlar (89).

Büyük hücreli farklılaşmamış karsinomlar akciğer kanserlerinin yaklaşık %15'ini meydana getirirler. Histolojik olarak, bu tümörler büyük anaplastik hücreler ve sık mitotik hücrelerden meydana gelirler ve skuamoz ya da glandular hücre özelliklerini taşımazlar. Genellikle erken metastaz yaparlar ve prognozları kötüdür (89).

Akciğer kanserlerinin geri kalanını küçük hücreli akciğer kanserleri oluşturur (%10). Bunlar hızlı büyüyen, erken metastaz yapan, ve genellikle çok kötü prognoz gösteren bir akciğer kanseri tipidirler. Belirtiler genellikle hastalığın ileri dönemlerinde ortaya çıkar. Küçük hücreli akciğer kanseri de sigara içimi ile ilişkilidir. Küçük hücreli akciğer kanserleri çeşitli nöroendokrin hormonlar -ACTH, ADH, kalsitonin vb.- salgılamak eğilimindedirler. Bu durum salgılanan hormonun biyolojik aktivitesiyle ilgili belirtilere neden olur. Bu belirtiler toplamına

paraneoplastik sendrom adı verilir. Küçük hücreli akciğer kanserli hastaların yaklaşık %10'unda bu sendrom görülür (89).

Skuamoz hücreli ve küçük hücreli akciğer kanserleri gibi bronşlardan kaynaklanan kanserlerin morfolojik aşamaları; hiperplazi→metaplazi→displazi→in situ karsinom→invaziv karsinom→metastatik karsinom şeklinde sıralanır. Büyük hücreli karsinomlar ve adenokarsinomların çoğu gibi periferde ortaya çıkanlar ise, metaplazik mukus hücrelerinden ve bronş ve alveollerin öncü hücreleri, yani Clara hücreleri ve tip II alveolar pnömositlerden kaynaklanırlar. Bunlarda da periferik hava yolu hücrelerinde hiperplazik ve displazik değişiklikler görülür. Hem küçük hücreli, hem de küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde gözlenen preneoplastik lezyonlar genellikle multifokal ve yaygındır. Solunum yolları epitelinin birçok hücresinin, muhtemelen sigara dumanındaki karsinojenlerin etkisiyle mutasyonel değişikliklere uğradığına işaret eden bu durum, bölgesel kanserizasyon (field cancerization) olarak anılır (56).

Akciğer kanserlerinin tedavisi tümörün tipine bağlıdır. Küçük hücreli olmayan akciğer kanserleri için cerrahi yöntemler tercih edilen tedavi şeklidir fakat küçük hücreli akciğer kanserleri için kemoterapi başlıca tedavi yöntemidir. Küçük hücreli akciğer kanseri çok sayıda bölünmekte olan hücre içerdiğinden, antikanser ilaçlarına cevap veren bir tümör tipidir. Bazı durumlarda, diğer tedavi yöntemlerinden de yararlanılır -örneğin "neoadjuvant" tedavi (kemoterapi ve ardından cerrahi), ya da radyoterapi ve ardından cerrahi ya da kemoterapi. Fakat her durumda akciğer kanserinin hayatta kalma oranı (survival rate) iyi değildir. Bütün akciğer kanseri hastaları için ortalama 5 yıllık hayatta kalma oranı sadece %13'tür. Hastalık henüz lokalize iken tanı konduğunda bu oran %46'dır, fakat akciğer kanserlerinin sadece %16'sı bu kadar erken yakalanabilmektedir (89).

2.2.1 Akciğer Kanserinin Genetiği:

Bütün diğer kanserlerde olduğu gibi, akciğer karsinogenezi de, birçok gendeki değişikliklerin işe karıştığı çok basamaklı bir süreçtir. Çeşitli genlerdeki, özellikle de karsinojenlerin metabolizmaları ile ilgili genlerdeki kalıtsal polimorfizmler, çevreden gelen karsinojen etkilerle birlikte, bireyin akciğer kanserine yatkınlığını belirler. DNA tamiri, hücre büyümesi, sinyal iletimi ve hücre siklusu kontrolü ile ilgili genler, akciğer kanserinin gelişimi sırasında değişik aşamalarda hasara uğrayabilirler. Onkogenlerin mutasyonel aktivasyonu ve tümör süpresör genlerin inaktivasyonu, ve ardından genomik instabilitenin artışı, akciğer karsinogenezindeki majör genetik olaylardır (21).

Akciğer kanserinin özellikle sık görüldüğü aileler vardır, fakat bu ailelerle çalışılırken paylaşılan çevresel etkilerin (örneğin asbeste maruz kalma) ve benzer yaşam tarzlarının (örneğin sigara içimi), genetik yatkınlıktan ayırd edilmesine dikkat edilmelidir. Bununla birlikte, çevresel faktörlerin etkisi elimine edildiğinde, yine de akciğer kanserli hastaların akrabaları arasında akciğer kanseri riskinin normal popülasyona göre yüksek olduğu ortaya çıkmaktadır. Tokuhata ve Lilienfeld (1963) ve Ooi ve ark. (1986), akciğer kanserli hastaların hem sigara içen, hem de sigara içmeyen akrabaları arasında akciğer kanseri riskinin üç kat artmış olduğunu gözlemişlerdir. Sellers ve ark. (1990), 50 yaşında, akciğer kanserlerinin %69'unun sigara içimi ile genetik faktörlerin etkileşiminin sonucunda meydana geldiğini, fakat 70 yaşında ortaya çıkan akciğer kanserlerinin %72'sinin sadece çevresel etkenlere bağlanabileceğini hesaplamışlardır (43).

Akciğer kanserine yatkınlığın Mendeliyen kalıtım şekli gösterdiğine dair kanıtlar vardır. Düzenli olarak sigara içen herkes akciğer kanserine yakalanmadığı için, eskiden beri akciğer kanserine genetik bir yatkınlığın ya da eğilimin söz konusu olabileceği düşünülmekteydi. Gerçekten de sigara dumanında bulunan kimyasal karsinojenleri aktive eden enzimatik yollarla ilgili bazı genetik polimorfizmler olduğu bulunmuştur. Akciğer kanserli üyeleri olan 337 aileyi kapsayan bir çalışma, Mendeliyen kodominant kalıtım şekli gösteren otozomal bir genin, erken yaşta akciğer kanserine yakalanma eğilimine yol açtığını düşündürmektedir (89). Ayrıca proto-onkogenler, tümör süpresör genler ve DNA tamiri ve hücre büyümesinde görev alan genlerdeki kalıtsal polimorfizmler de akciğer kanserine eğilimi etkileyebilir. Akciğer kanserine eğilim yaratan genlerin tanımlanması, akciğer kanseri riskinin daha kesin olarak hesaplanmasına yardım edecektir (21).

2.2.2 Akciğer Kanserinin Sitogenetiği:

İnsidansının yüksekliğine rağmen, akciğer kanserlerinin detaylı sitogenetik incelemeleri çok azdır. Primer akciğer kanseri örneklerinin mitotik indeksleri genellikle çok düşüktür. Bu da detaylı bir sitogenetik değerlendirme için yeterli sayıda metafaz plağı elde etmeyi güçleştirmektedir. Üstelik ileri derecede karmaşık karyotipler görülmektedir ki, bu da tekrarlayan anomalileri ayırt etmeyi güçleştirmektedir. Triploid ve tetraploid ploidi seviyeleri çok yaygındır (104).

Gözlenen sitogenetik değişikliklerin in vivo durumu yansıtması için, tümör örneklerinden hazırlanan direkt preparasyonlar ya da kısa süreli kültürler uzun süreli kültürlerle tercih edilmektedir. Fakat direkt preparasyonlarda mitozlar çok seyrek bulunmakta ya da hiç bulunmamaktadır. Genellikle başarılı sonuçlar 1-2 günlük ile birkaç haftalık kültürlerden elde edilmektedir (104).

Küçük hücreli akciğer kanserlerinde yapılan sitogenetik incelemelerin çoğu kemik iliğinde bulunan tümör hücrelerinden kurulan hücre soylarında, efüzyonlarda ya da metastatik lezyonlarda yapılmıştır. Primer tümörlerin kısa süreli kültürlerinden yapılan az sayıda çalışma varsa da, küçük hücreli akciğer kanseri kültürlerinden yeterli sayıda metafaz elde edebilmek için genellikle haftalar hatta aylar geçmesi gerekmektedir (104).

2.2.2.1 Küçük Hücreli Akciğer Kanserlerinde Sitogenetik Bulgular:

Küçük hücreli akciğer kanseri sitogenetik olarak karakterize edilen ilk akciğer kanseri tipidir. 1982’de Jacqueline Wang-Peng ve arkadaşları, sitogenetik inceleme yaptıkları, küçük hücreli akciğer kanserine ait 12 hücre soyunda ve 3 kısa süreli kültürde, %100 oranında 3 numaralı kromozomda delesyonlar gözlediklerini bildirdiler (115). En sık delesyona uğrayan bölge 3p14-23 bölgesiydi. Küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerine ait hücre soylarında aynı anomaliyi görmedikleri için de, del(3)(p14p23) bulgusunun küçük hücreli akciğer kanserlerine özgü bir bulgu olduğunu bildirdiler (40, 115).

Fakat sonraki araştırmalar del(3p) ile küçük hücreli akciğer kanseri arasındaki ilişkinin başlangıçta zannedildiği kadar kesin olmadığını ortaya koydu. Kromozom seviyesinde bir 3p delesyonu bütün küçük hücreli akciğer kanseri vakalarında görülmüyordu (20, 40). Ayrıca aynı delesyon, hem küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde (20), hem de başka organ tümörlerinde de gözlenmekteydi (40).

Her hastada interstisyel ya da terminal 3p delesyonları bulunmasa da, dengesiz translokasyonlar veya izokromozomlar gibi diğer mekanizmalarla da meydana gelebilen 3p kayıpları, küçük hücreli akciğer kanserlerinde en sık rastlanan bulgudur (102, 104).

Moleküler genetik teknikleriyle yapılan çalışmalar küçük hücreli akciğer kanserli primer tümör ve hücre soylarının tamamında ve küçük hücreli olmayanların ise biraz daha azında (%50-75) 3p’de moleküler düzeyde materyal kaybı olduğunu göstermiştir (23, 58, 72, 102, 104, 106, 107, 117). 3p boyunca uzanan çeşitli problemlerin kullanılmasıyla allel kayıplarının küçük hücreli ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde farklı olduğu anlaşılmıştır. Bu da genetik seviyede farklı bir patogenezin söz konusu olduğunu düşündürmektedir. Veriler ayrıca üç ayrı 3p bölgesinin akciğer kanserlerinde sık delesyona uğradığına işaret etmektedir. Bu bölgeler 3p25, 3p21.3 ve 3p14→cen bölgeleridir. Sık delesyona uğrayan bölgelerde bulunduğu varsayılan tümör süpresör gen ya da genlerini tanımlamak için çalışmalar sürmektedir (21, 32, 34, 51, 53, 102, 107).

c-raf onkogeni 3p25 bölgesine haritalanmıştır ve akciğer kanserinde sık sık delesyona uğramaktadır (34, 102). Kalıtsal nonpoliposis kolon kanseri ile ilişkili olan DNA “mismatch”

tamir geni hMLH1 de 3p'ye yerleştirilmiştir. von Hippel-Lindau tümör süpresör geni de 3p25'tedir fakat akciğer kanseri hücre soylarında nadiren mutasyona uğradığı bildirilmektedir. Son yıllarda yapılan mikrohücre füzyonu çalışmaları, kanser hücrelerine normal 3 numaralı kromozomun verilmesinin telomeraz ekspresyonunu baskıladığını göstermiştir (21). Sadece 3p21.3-3p21.2 bölgesinin transferinin de hücre soylarında tümör süpresör aktivite gösterdiği ileri sürülmüştür (97).

1996'da tanımlanan ve 3p14.2 bölgesine haritalanan FHIT (Fragile Histidine Triad) geni, üzerinde en çok çalışılan genlerden biridir. Histidin triad gen ailesine mensup olan bu gen, ökaryot ve prokaryotlarda bulunan bir grup gene benzerlik gösteren, yüksek derecede korunmuş bir gen dir ve tümör süpresör genlere benzer özellikler taşır. Yaygın frajil bölgelerden olan FRA3B, FHIT geninin içinde yer alır. Çeşitli insan kanseri hücre soylarında FHIT geninde homozigot delesyonlar (özellikle ekson 5'te), ve Fhit proteininin yokluğu gösterilmiştir (25, 44, 97). Ailevi renal hücre karsinomunda gözlenen t(3;8) translokasyonunda da kırık noktası FHIT geninin içinde (ekson 3 ve 4'ün arasında) yer almaktadır (44, 97, 125). Küçük hücreli ve küçük hücreli olmayan primer akciğer tümörleriyle ve hücre soylarıyla yapılan çalışmalarda, FHIT geni anomalileri ve allel kayıpları saptanmıştır (28, 44, 74, 97, 123). FHIT geni anomalileri taşıyan küçük hücreli ve küçük hücreli olmayan akciğer tümörlerinde ve hücre soylarında Fhit proteininin eksprese olmadığı da gösterilmiştir. Fhit proteininin biyolojik rolü henüz bilinmemekle birlikte, hücre siklusünün kontrolünde doğrudan bir rolü olmadığı ve büyümeye ilgili olmadığı düşünülmektedir. Fhit proteininin yokluğu doku kültüründe büyümede bir avantaj sağlamamaktadır (44). Bazı prekanseröz displastik lezyonlarda da Fhit proteininin bulunmaması, FHIT inaktivasyonunun akciğer kanserinin erken dönemlerinde meydana geldiğini düşündürmektedir (28, 96). Ayrıca FHIT ekson kayıpları ve sigara içimi ve asbeste maruz kalma arasında bir ilişki bulunduğu bildirilmektedir (74).

Kanserli hastaların periferik lenfositlerinde FRA3B frajil bölgesinin ekspressivitesi de incelenmiştir. Afidikolin ile indüklenen yaygın frajil bölgelerden olan FRA3B, insanda en sık eksprese olan frajil bölgedir. Afidikolin ile indüklenen FRA3B gap'leri FHIT geni içinde en çok intron 5'te meydana gelir. Daha az sıklıkla intron 4 ve intron 3'te de gap'ler görülür ki, intron 4 HPV (human papilloma virus) integrasyon bölgesi, intron 3 ise ailevi renal hücre karsinomlarında görülen t(3;8) kırık noktasını içeren bölgedir (120, 125). FRA3B ekspresyonunun sigara alışkanlığı ile ilişkili olduğu ve akciğer kanseri hastalarında anlamlı olarak daha fazla eksprese olduğunu bildiren (97, 117) çalışmaların yanı sıra, böyle bir ilişkinin bulunmadığını bildiren çalışmalar da vardır (99).

Küçük hücreli akciğer kanserlerinde del(3p) dışındaki bulgular son derece çeşitli olmakla birlikte, yine de özellikle sık tekrarlayan bazı bulgular ayırt edilebilmiştir. Çeşitli çalışmalarda 1p

(102), 10q (84, 115, 117), 5q (40, 84, 102, 106), 13q (Rb1 bölgesi) (32, 33, 40, 84, 102, 104, 106) ve 17p'de (p53 bölgesi) (32, 33, 40, 84, 102, 104, 106) materyal kayıplarının sık görüldüğü bildirilmiştir. Bu bölgelerde küçük hücreli akciğer kanseri patogeneğinde rol alan tümör süpresör genler bulunabileceği düşünülmüştür.

5q üzerinde APC ve MCC genleri bulunmaktadır. Kolorektal kanserlerde somatik mutasyona uğradıkları bilinen bu genlerin, küçük hücreli akciğer kanserlerinin yaklaşık %80'inde allel kayıpları gösterdikleri, fakat mutasyon ya da homozigot delesyona uğramadıkları bildirilmektedir (102, 104).

13q14 bölgesinde bulunan Rb geni, hücre siklusunun düzenlenmesinde rol oynayan bir nükleer fosfoprotein kodlar. Birçok kanser türünde, özellikle retinoblastoma, osteosarkoma, mesane, prostat, meme ve serviks karsinomlarında ve bazı lösemi tiplerinde Rb geninin inaktivasyonu söz konusudur. Akciğer kanseri tümör ve hücre soylarında da Rb geninin mutasyonları, delesyonları, mRNA ekspresyonunun azalışı ya da kaybı, anormal protein üretimi ya da hiç protein üretilmeyişi görülür. Küçük hücreli akciğer kanserlerinin %90'dan fazlasında Rb inaktivasyonu varken, küçük hücreli olmayanların ancak %10'unda Rb geni inaktiftir (33, 51, 53, 89, 98, 102, 117).

Kalıtsal retinoblastomların tersine, diğer kanserlerde Rb mutasyonları daha çok somatiktir. Çünkü kalıtsal bir mutant allel taşıyan çocuklar ileriki yaşlarda osteosarkom geliştirebilirlerse de, diğer tümörler seyrek görülür. Bu da, değişik hücre tiplerinin germ line Rb mutasyonlarına değişik yanıt verdiğini düşündürmektedir. Dolayısıyla dokuların kanserleşebilmeleri için başka mutasyonlar da gerekli olmalıdır (89).

17p13.1'de p53 tümör süpresör geni bulunur. p53, insan kanserlerinde en fazla mutasyonu gözlenen gendir (%50-60). Birçok çalışmada, akciğer kanserlerinde bu bölgede materyal kayıpları, heterozigosite kayıpları, ya da p53 geninde mutasyonlar bulunduğu bildirilmektedir (51, 89, 98, 102). Mutasyonların yanı sıra, birçok kanser türünde p53'ün fazla ekspresyonu da görülür ve akciğer kanseri de dahil olmak üzere, bazı kanserlerde bu durum kötü prognoz habercisidir. Akciğer kanserlerinde p53 mutasyonları görece erken dönemlerde meydana gelmektedir. Preneoplastik lezyonlarda 17p'de sitogenetik anomaliler, heterozigosite kayıpları ve p53 geni mutasyonları ve p53 proteini birikimi saptanmıştır (51, 89, 93).

Küçük hücreli akciğer kanserlerinde 1p22-23, 2p24-25, 8q24 bölgelerinde materyal artışı olduğu CGH çalışmalarıyla gösterilmiştir. Hücre soylarıyla yapılan bir çalışmada da, 5p, 1q24 ve Xq26 bölgelerinde artış bulunmuştur (106). Ayrıca, araştırmacılar agresif tümör fenotipi ile 1p22-32, 2p24-25 (N-myc bölgesi) ve 3q22-25 bölgelerindeki artışlar ve 18p'deki kayıplar arasında bir ilişki saptamışlardır (98, 106).

Küçük hücreli akciğer kanserlerinde, özellikle de bu tümörlerden yapılmış hücre soylarında çok sayıda dmin ve hsr'lere de rastlanmaktadır. Hastalık ilerledikçe dmin ve hsr'lere daha çok rastlandığı bildirilmektedir (20, 102, 104, 106). dmin ve hsr'lerin onkogenlerin ve ilaca karşı direnç gelişiminde rol oynayan genlerin amplifikasyonu ile ilgili olduğu bilinmektedir. Küçük hücreli akciğer kanseri hücre soylarında myc ailesinden çeşitli onkogenlerin amplifikasyonu oldukça yaygındır. Bununla birlikte, bu amplifikasyonlar primer tümörlerde daha seyrek görülmektedir. Hem dmin ve hsr'lerin, hem de myc onkogenlerinin amplifikasyonunun primer tümörlerde tedaviden önce az görülmesi, bu olayların küçük hücreli akciğer kanserlerinin başlangıcında rol oynamadığını düşündürmektedir (104).

2.2.2.2 Küçük Hücreli Olmayan Akciğer Kanserlerinde Sitogenetik Bulgular:

Küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde de genellikle birçok sayısal ve yapısal anomali içeren çok kompleks karyotipler gözlenmektedir. En yaygın bulgulardan biri yine 3p delesyonları olmakla birlikte, sıklığı küçük hücrelilere göre daha düşüktür (40, 104, 106).

Küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinin alt tipleri arasında sitogenetik açıdan belirgin bir farklılık bulunmadığı bildirilmektedir (40, 104).

Çeşitli moleküler ve sitogenetik çalışmalarda sıklıkla materyal kaybı görüldüğü bildirilen kromozom kolları şunlardır: 1p (8, 50, 70, 76, 83, 116), 1q (116), 2q (8, 60), 3p (5, 8, 11, 16, 50, 60, 61, 62, 69, 70, 80, 83, 94, 103, 104, 106, 111, 116), 3q (116), 4q (11, 61, 83), 5p (106, 111), 5q (5, 50, 83, 103, 106, 111), 6q (8, 50, 61, 62, 70, 83, 103, 116), 7q (8, 61, 116), 8p (5, 11, 31, 50, 62, 69, 77, 83, 103, 106, 111), 8q (8, 111), 9p (5, 8, 12, 17, 21, 32, 33, 39, 54, 61, 62, 65, 66, 78, 83, 103, 104, 119), 9q (8, 103), 10p (106, 111), 10q (111), 11p (29, 45, 70, 111), 11q (45, 87), 12p (116), 13p (50, 62, 106), 13q (5, 83, 103, 106), 14p (50, 62), 15p (62, 70), 15q (5), 17p (5, 61, 62, 69, 70, 103), 18q (5, 83, 103), 19p (103), 19q (70), 21q (83, 103), 22q (103), Xq (8) ve Y (106).

Bu kayıplar delesyon, izokromozom ya da materyal kaybına yol açan başka yapısal anomaliler sonucunda meydana gelen sitogenetik olarak gözlenebilecek boyutta kayıplar olabileceği gibi, moleküler düzeyde materyal kayıpları da olabilir.

En çok artış gösteren kromozom kolları ise, 1q (5, 50, 61, 103, 106, 111), 2p (5), 3q (5, 9, 106, 111), 5p (5, 50, 83, 104), 7p (5, 103), 7q (106, 111), 8q (5, 11, 83, 61, 69, 104), 11q (61, 83, 103), 16p (83), 17q (83), 19q (83), 20p (5) olarak bildirilmektedir.

En sık rastlanan sayısal anomaliler ise, 1 (100), 2 (100), 4 (10, 61), 5 (10), 6 (100), 9 (10, 61, 100, 103, 104, 111), 10 (10, 61), 12 (100), 13 (61, 103, 111), 14 (111), 15 (61, 103, 111), 16 (61, 103), 18 (61, 103), 19 (10, 61), 20 (100), 21 (10, 61, 100, 103, 111), 22 (10, 61, 100, 103), ve Y (8, 13, 17, 50, 103, 111) kromozomlarının kaybı ve 1 (10), 2 (10), 3 (100), 5

(104), 6 (10), 7 (10, 11, 17, 50, 59, 61, 70, 100, 103, 104), 8 (10, 100), 11 (10), 12 (104), 16 (10, 100), 17 (100), 20 (61, 70) numaralı kromozomların artışıdır.

Y kromozomunun kaybı (8, 13, 17, 50, 101, 103, 104) ve 7. kromozomun sayısının artışı, (17, 50, 59, 61, 62, 70, 100, 101, 103, 104) -özellikle tek anomali olarak- çok sık rastlanmaktaysa da, bu konuda değişik yorumlar yapılmaktadır. Cinsiyet kromozomlarının kaybı ve 7 trizomisine kanserli olmayan bireylerde ve kanserli hastaların normal dokularında da rastlanmaktadır. Kimi araştırmacılar bu bulguların kanser gelişiminin erken dönemlerinde ortaya çıkan, kanserle ilişkili değişiklikler olabileceğini ileri sürerken (8, 13, 17, 59, 61, 62, 70, 100, 103, 104), kimileri de bunların kanserle bir ilgisi olmadığı görüşündedirler (50, 101). Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) geni 7p12-13 bölgesindedir ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde EGFR ekspresyonunda artış olduğu gösterilmiştir (62, 70). Fakat, bugün için 7 polizomileri ile EGFR düzeyindeki artışlar arasında bir ilişki olup olmadığı bilinmemektedir (70).

Akciğer kanserinde ve diğer kanserlerde en sık delesyona uğrayan 9p bölgesi 9p21'dir. Bu da, burada bir veya birkaç tümör süpresör gen bulunabileceğini düşündürmektedir. Bu bölgeye haritalanan iki aday gen, p16 (MTS1/p16-INK4) ve p15 (MTS2/p15-INK4B), hücre siklüsünün G1 noktasında kontrolünde görev alan CDK4 siklin dependent kinazın inhibitörlerini kodlarlar. Bu fonksiyonun kaybı, hücre siklüsünün düzenini bozarak kontrolsüz hücre çoğalmasına yol açabilir. Primer tümörlerde ve kanserli hücre soylarında yapılan çeşitli çalışmalar, 9p21'de heterozigosite kayıpları, homozigot delesyonlar ve p16 ve p15 mutasyonları olduğunu göstermiştir (12, 21, 39, 54, 66, 119). Küçük hücreli ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerine ait primer tümör ve hücre soylarında yapılan çalışmalar, 9p21'deki heterozigosite kayıplarının küçük hücreli olmayan tipte daha fazla olduğunu ortaya koymuştur (21, 54, 119). Ayrıca bu tiplerde preneoplastik lezyonlarda da 9p lokuslarında heterozigosite kayıpları bulunması, bu değişikliğin kanserin en erken dönemlerinde meydana geldiğini göstermektedir (56). Küçük hücreli akciğer kanserinde ise Rb geni kayıpları daha fazladır. p16 ve Rb aynı metabolik yol üzerinde işlev gördüklerinden, her ikisinin birden inaktivasyonu gerekli olmayabilir diye düşünülmektedir. Çalışmalar özellikle küçük hücreli tip için 9p'de başka tümör süpresör gen ya da genlerin de bulunabileceğine işaret etmektedir (21, 119). Kimi akciğer kanserli hücre soylarında delesyona uğrayan bölge içinde bulunmakla birlikte (32, 78), 9p22'de lokalize olan interferon genlerinin akciğer kanserlerinde doğrudan bir rol oynamadığı bildirilmektedir. Fakat bu gen grubunun hemen yakınında hem küçük hücreli, hem de küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sık sık delesyona uğrayan bir bölge bulunmaktadır (33, 65).

Her ne kadar küçük hücreli olmayan akciğer kanseri türleri arasında sitogenetik bulgular açısından benzerlik varsa da, bazı farklılıklar da bulunmaktadır: 2p, 3q ve 15q'daki değişiklikler skuamoz hücreli tipte daha fazla görülürken, 4q ve 6q değişiklikleri adenokarsinomlarda daha

sıktır (104). Skuamoz hücrelilerde 2q (83) ve 3p'de (104) materyal kayıpları ve 3q (83) ve 12p'de (83) DNA artışı daha sık görülürken, adenokarsinomlarda 3q (83), 9q (83), 10p (83), 19 (83)'da DNA miktarında azalma ve 1q (83, 104), 7p (104) ve 11q (104)'da artış daha sıktır. +8 (61) ve i(8q) (62, 69, 70) da adenokarsinomlarda daha fazla görülmektedir.

EGFR ve erb-B ailesi onkogenlerinin (98) ekspresyonlarının artışı ve p53 mutasyonlarının da skuamoz hücreli karsinomlarda daha çok görüldüğü, diğer taraftan her2/neu onkogeninin fazla ekspresyonunun (80) ve ras onkogeni mutasyonlarının (21, 32, 51) ise adenokarsinomlarda daha ağırlıkta olduğu bildirilmektedir.

Akciğer kanserli hastaların normal bronş mukozalarında da çeşitli genetik anomaliler bulunabilmektedir. Çeşitli çalışmalarda, akciğer kanserli hastaların normal bronş mukozalarında trizomi 7 (59, 94) ve başka kromozom anomalileri gözlenmiştir. Ayrıca büyüme faktörü reseptörü genlerinin ve her2/neu onkogeninin fazla ekspresyon yaptığı da saptanmıştır. Bu bulgular, bütün havayolları epitelinin bölgesel kanserizasyona uğradığı şeklinde yorumlanmıştır. (40, 59, 80, 94).

Kimi solid tümörlerde periferik lenfositlerde de rastgele olmayan ve kanserin türüne özgü kromozom anomalileri gözlenebildiği belirtilmiştir. Akciğer kanserlerinde de periferik lenfositlerde sitogenetik ve FISH analizleri yapılmış ve 7, 9, X ve Y kromozomlarının yapısal ve sayısal anomalilerinin normal bireylere göre anlamlı olarak fazla bulunduğu gözlenmiştir (19, 18, 121).

III. MATERYAL ve METOD

3.1 Materyal:

Bu çalışmada 10 küçük hücreli, 10 da küçük hücreli olmayan akciğer kanserli 20 hasta materyalinde sitogenetik inceleme yaparak, bu iki akciğer kanseri alt grubu arasındaki sitogenetik farklılıkların karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Kültür yönteminin verimliliğinin %100 olmaması nedeniyle, toplam 40 hasta materyali ile çalışılmıştır. Küçük hücreli akciğer kanseri vakaları küçük hücreli olmayanlardan daha seyrek bulunduğu için, çalışma grubunun çoğunluğu küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalardan meydana gelmiştir. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'nda bronkoskopi yapılan 23, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Bronkopnömoloji Bilim Dalı'nda bronkoskopi yapılan 16, ve Yedikule Göğüs Hastalıkları Hastanesi'nden 1 hasta materyali ile çalışılmıştır.

Hastaların tümör materyallerinin yanısıra normal akciğer dokusu örneklerinde ve periferik kan örneklerinde de sitogenetik inceleme yapılarak, sonuçların karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Hastaların özellikleri Tablo III.1'de görülmektedir. 36 erkek, 4 kadın olgu çalışılmıştır. Olguların yaş ortalaması 59'dur. Bir kadın hasta hariç tüm olgular aktif ya da eski sigara içicileridir. 28 hastaya patolojik inceleme sonucunda küçük hücreli olmayan akciğer kanseri tanısı konurken, 4 hasta küçük hücreli akciğer kanseri tanısı almıştır. Küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastaların 23'ü skuamoz hücreli akciğer kanseri, 2'si adenokarsinom tanısı almış, 3 hastanın ise alttipi belirlenememekle birlikte, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri olduğu bildirilmiştir. 8 hasta ise kanser tanısı olmadığı için değerlendirme dışı kalmıştır.

Bir hasta (olgu 9) dışında bütün olgularda örnekler sitotoksik tedavi öncesinde alınmıştır. Bir hastada (olgu 12) ise, hem sitotoksik tedavi öncesinde, hem de tedavi başladıktan sonra örnekler almarak sitogenetik incelemeye tabi tutulmuştur.

Tablo III.1 Olgulara ait özellikler

Olgu No.	Yaş	Cins	Sigara İçimi	Çalışılan Tümör	Örnek Normal	Türleri Kan	Patolojik Tanı
Olgu 1 (T-2)	72	E	+	+	+	-	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 2 (T-3)	57	E	+	+	+	-	Küçük hücreli ca.
Olgu 3 (T-4)	60	K	+	+	-	-	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 4 (T-5)	60	E	+	+	+	-	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 5 (T-6)	54	E	+	+ ^a	-	-	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 6 (T-8)	63	E	+	+	+	-	Adenokarsinom
Olgu 7 (T-9)	50	K	+	+	+	-	Kronik bronşit
Olgu 8 (T-13, G-1358)	63	E	+	+	+	+	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 9 (T-21, G-1466)*	57	E	+	+	+	+	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 10 (T-27, G-1478)	65	E	+	+	-	+	Kronik bronşit
Olgu 11 (T-31, G-1496)	70	E	+	+	-	+	Tümöre rastlanmadı
Olgu 12 (T-34, 35, 41, G-1511)	65	E	+	+	+	+	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 13 (T-36, G-1512)	53	E	+	+	+	+	Küçük hücreli olmayan akc. ca.
Olgu 14 (T- 37, G-1513)	55	E	+	+	-	+	Epitel hücre proliferasyonu
Olgu 15 (T-38)	73	E	+	+	-	-	Kronik bronşit
Olgu 16 (T-39, G-1514)	53	E	+	+	+	+	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 17 (T-44, G-1610)	66	E	+	+	-	+	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 18 (T-45, G-1611)	69	E	+	+	+	+	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 19 (T-46, G-1612)	69	E	+	+	-	+	Küçük hücreli olmayan akc. ca.
Olgu 20 (T-47, 49, G-1649)	59	K	-	+ ^b	+	+	Adenokarsinom
Olgu 21 (T-48, G-1651)	65	E	+	+	+	+	Skuamoz hücreli ca.

Tablo III.1 (devam)

Olgu 22 (T-50, G-1653)	63	E	+	+	-	+	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 23 (T-51, G-1654)	60	E	+	+	+	+	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 24 (T-53, G-1689)	46	E	+	+	+	+	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 25 (T-54, G-1688)	65	E	+	+	-	+	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 26 (T-56, G- 1773)	64	E	+	+	+	+	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 27 (T-57, G-1783)	65	E	+	+	-	+	Nonspesifik kronik iltihap
Olgu 28 (T-58, G-1784)	67	E	+	+	-	+	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 29 (T-61)	79	E	+	+	+	-	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 30 (T-66, G-1951)	67	E	+	+	+	+	Kronik bronşit
Olgu 31 (T-67, G-1980)	60	E	+	+	-	+	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 32 (T-70)	66	E	+	+	-	-	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 33 (T-71, G-2025)	54	E	+	+	+	+	Küçük hücreli olmayan akc. ca.
Olgu 34 (T-74, G-2026)	57	K	+	+	-	+	Küçük hücreli ca.
Olgu 35 (T-75)	64	E	-	+	-	-	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 36 (T-76, G-2049)	54	E	+	+	+	+	Küçük hücreli ca.
Olgu 37 (T-79, G-2073)	53	E	+	+	+	+	Lejyonella pnömonisi
Olgu 38 (T-80, G-2238)	71	E	+	+	+	+	Küçük hücreli ca.
Olgu 39 (T-81, G-2238)	72	E	+	+	+	+	Skuamoz hücreli ca.
Olgu 40 (T-82, G-2239)	66	E	+	+	+	+	Skuamoz hücreli ca.

* Tedavi sonrası, ^aİğne aspirasyon biyopsisi, ^bBronkoskopik biyopsi materyali ve plevra sıvısı örnekleri

3.2 Metod:

Çalışma, İstanbul Üniversitesi, Genetik ve Teratoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (GETAM) Sitogenetik Laboratuvarında yapılmıştır.

Çalışmada, doku örneklerine uzun süreli doku kültür yöntemi (63), periferik kan örneklerine ise, Moorhead ve arkadaşları tarafından geliştirilen 72 saatlik kültür yöntemi (71) modifiye edilerek uygulanmış, hazırlanan preparatlar GTL bant yöntemi ile boyanarak, ISCN 1995'e (46) göre değerlendirilmiştir.

3.2.1 Kullanılan Solüsyonlar:

3.2.1.1 Doku kültüründe kullanılan solüsyonlar:

-Kültür Medyumu:

- 100 ml. RPMI 1640 Medyum
- 20 ml. Fetal Calf Serum (FCS)
- 2 ml. L-Glutamin
- 0,15 ml. Gentamicin

-Kollajenaz Tip II

400-500 ünite/mg olan 50mg kollajenaz tip II 5 ml. steril distile suda çözüldü. Bu stok solüsyon 20 ml. kültür medyumuna ilave edilerek çalışma solüsyonu hazırlandı ve 1'er ml. tüplere bölünerek buzlukta saklandı. (Doku parçalarını içeren 1 ml. taşıma medyumuna ilave edildiğinde %4'lük (400-500 ünite/ml.) solüsyon oluşturacak şekilde).

-Kolsemid:

10 µg./ml.'lik solüsyon

-Trypsin/EDTA

%0,05/0,02 (w/v)
PBS'te, w/o Ca⁺⁺, Mg⁺⁺

-Hipotonik Solüsyon:

0,025 M KCl solüsyonuna (80 ml. 0,075 M KCl solüsyonuna 160 ml. distile su ilave edilerek hazırlandı), 1 ml. kolsemid ilave edildi.

-Carnoy Fiksatif:

3:1 Metanol: Asetik Asit

3.2.1.2 Periferik kan kültürü için kullanılan solüsyonlar:

-Kültür Medyumu:

100 ml. RPMI 1640 Medyum

20 ml. Fetal Calf Serum (FCS)

2 ml. L-Glutamin

1,5 ml. Phytohaemagglutinin (PHA)

0,2 ml. Penisilin

0,2 ml. Streptomisin

Hazırlanan kültür medyumu vidalı kapaklı kültür tüplerine 5'er ml. olacak şekilde bölünerek buzlukta saklandı.

-Kolsemid

10 µg./ml.'lik solüsyon

-Hipotonik Solüsyon:

0.075 M KCl solüsyonu

-Carnoy Fiksatif:

3:1 Metanol: Asetik Asit

3.2.1.3 GTL Bant yönteminde kullanılan solüsyonlar:

-Tripsin:

0,04 mg tripsin 100 ml. %0.9'luk NaCl çözeltisi (salin) içinde çözöldü.

-Salin:

%0,9'luk NaCl çözeltisi

-Buffer:

0,025 M KH_2PO_4 çözeltisi (pH 6.8)

-Leishman boyası:

Stok solüsyon: 0,3 gr. Leishman boyası 200 ml. metanol içinde, 70°C'de bir gece karıştırılarak çözüldü.

Kullanım solüsyonu: 1:5 stok boya sol.: buffer

3.2.2 Yöntemler:

Klinik olarak akciğer kanseri tanısı konmuş olan hastalardan, bronkoskop (Olympus BF 1T-30) ile lokal anestezi altında, premedikasyon yapılmaksızın uygulanan bronkoskopik işlemde görülen kitle üzerinden biyopsiler alındı. Aynı bölgeden alınan biyopsi örneklerinin bir kısmı patolojik inceleme için ayrıldı; ~3 mm³'lük 2-4 parça biyopsi materyali ise sitogenetik inceleme için hemen (tam kültür medyumundan oluşan) taşıma medyumuna alındı. Mümkün olan vakalarda (temiz bir forseps ile) normal bronş mukozasından da 2-3 parça alınarak, ayrı bir medyum tüpünde laboratuara taşındı. Yine mümkün olduğunca hastalardan periferik kan örnekleri de alındı.

3.2.2.1 Uzun Süreli Doku Kültürü:

Laboratuara ulaştırılan doku örnekleri, steril koşullarda, mekanik olarak olabildiğince küçük parçalara ayrıldıktan sonra, 1 ml. taşıma medyumuna ile, 1ml. kollajenaz tip II içine ilave edildi (%4'lük solüsyon). Doku parçaları, çalkalayıcı üzerinde bir gece kollajenaz ile inkübasyona bırakıldı.

Medyumunun kalan kısmı 1000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra, süpernatant atıldı ve dipte kalan hücreler 25 ml.lik doku kültür flaskına ekildi. 4 ml. kültür medyumuna ilave edilerek, nemli ve %5 CO₂ içeren 37°C'lik inkübatöre (flaskın kapağı hafifçe gevşetilerek) yerleştirildi.

Ertesi sabah kollajenaz solüsyonu (eğer doku örnekleri tamamen ayrılmışlarsa), çalkalayıcıdan alındı ve 6-7 ml. kültür medyumuna ile bir kez yıkandıktan sonra (hücrelerin yoğunluğuna göre), bir veya iki kültür flaskına ekildi. Dokular tamamen ayrılmamışsa, kalan

parçalar yeni bir kollajenaz tüpüne alınarak inkübasyona devam edildi ve ayrıışmış olan hücrelerin ekim işlemleri gerçekleştirildi.

Ekim yapıldıktan 3-4 gün sonra, hücrelerin yüzeye tutunup tutunmadıkları invert mikroskopta kontrol edildi. Hücreler tutunmuşlarsa ilk medyum değişimi gerçekleştirildi. Tutunmamışlarsa, flasklar yeniden inkübatöre kaldırılarak beklemeye devam edildi.

Hücreler tutunduktan sonra, haftada iki kez medyum değişimi yapıldı. Bunun için flastaki eski medyum dökülerek, 4 ml. taze kültür medyumunu konuldu. İki günde bir de, flasklar invert mikroskopta incelenerek, üremeleri kontrol edildi.

Hücreler flask yüzeyinin tamamına yakını kapladıklarında, kültür çıkış işlemlerine hazır olarak değerlendirildi. Genellikle medyum değişiminden sonra mitotik aktivitede artış gözleendiğinden, çıkış işlemlerinden bir gün önce medyum değişimi yapıldı. Ertesi gün akşam üzeri flastaki kültür medyumunu boşaltılarak, 3 ml. çıkış medyumunu (0,1 ml. kolsemid/ 20 ml. kültür medyumunu) konuldu. Flask yeniden inkübatöre yerleştirilerek, bir gecelik inkübasyona bırakıldı.

Ertesi gün çıkış medyumunu boşaltılarak, flask iki kez 1,5 ml. tripsin/EDTA ile yıkandı ve 2 ml. tripsin/EDTA ilave edilerek 37°C'de 5-10 dakika inkübe edildi. İvert mikroskopta hücrelerin yüzeyden ayrılıp ayrılmadıkları kontrol edildi. Hücreler tamamen kalktığıında, solüsyon bir santrifüj tüpüne alındı. Flaska 4 ml. taze kültür medyumunu konularak, yeniden inkübatöre kaldırıldı ve kültüre devam edildi. Bir flastan en fazla 3 kez çıkış yapıldı.

Santrifüj tüpüne alınan hücreler pipetaj yapılarak teker teker ayrılmalrı sağlandıktan sonra, tüp hipotonik solüsyon (0,025 M KCl+1 ml. kolsemid) ile dolduruldu. 37°C'de 40 dakika inkübe edildikten sonra, 1200 rpm'de 7-8 dakika santrifüj edildi, süpernatant atıldı ve Carnoy fiksatif ile fikse edildi. İlk fiksatif tüp vorteks üzerinde karıştırılırken damla damla ilave edilerek, hücrelerin birbirlerine yapışmamasına dikkat edildi. İlk fiksasyondan sonra, tüpler en az bir gece buzdolabında bekletildi. Daha sonra hücreler iki kez daha taze fiksatifle yıkanarak, yaymaya hazır hale getirildi.

3.2.2.2 İğne Aspirasyon Biyopsisi ve Plevra Sıvısı Kültürü:

İğne aspirasyon biyopsisi ve plevra sıvısı örneği tüp içinde 10-15 dakika bekletildikten sonra dibe çöken hücreler alınarak doku kültürü kaplarına ekildi ve bronkoskopik biyopsi örneklerine uygulanan doku kültür yöntemi uygulandı.

3.2.2.3 Periferik Kan Kültürü:

5 ml. kültür medyumunu içeren bir tüpe 0.2 ml. heparinize venöz kan ilave edilerek, her hasta için iki tüpe ekim yapıldı. Kültürler 37°C'lik inkübatöre yerleştirilerek, 72 saatlik inkübasyona bırakıldı. Kültürün 70. saatinde tüplere 0,1 ml. kolsemid ilave edilerek tüpler

yeniden inkübatöre kaldırıldı. 72. saatin sonunda kültürler sonlandırılarak kromozom eldesine geçildi.

İnkübatörden çıkarılan tüpler 1200 rpm'de 7 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra, tüpler vorteks üzerinde karıştırılırken 7 ml. 0,075 M KCl solüsyonu (hipotonik solüsyon) ilave edilerek, 20 dakika 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Hipotonik şok tamamlandıktan sonra tüpler yine 7 dakika 1200 rpm'de santrifüj edildi, süpernatant atıldı ve fiksasyon aşamasına geçildi. Tüpler vorteks üzerinde karıştırılırken, taze hazırlanmış Carnoy fiksatifinden 7 ml., damla damla tüplere ilave edildi. İlk fiksasyondan sonra tüpler bir gece +4°C'de bekletildi. Ertesi gün kültürler üç kez daha Carnoy fiksatifi ile yıkandıktan sonra, preparat hazırlanmasına geçildi.

Preparatların hazırlanması, yaşlandırılması ve bantlanması hem doku, hem de kan kültürlerinde aynı şekilde yapıldı.

3.2.2.4 Preparatların Hazırlanması:

Yayma aşamasında, son yıkamadan sonra santrifüj edilen tüplerdeki süpernatant atıldı, dipte kalan hücre peletinin üzerine birkaç damla fiksatif ilave edildi ve soğuk ve ıslak lamlara 2-3 cm. yükseklikten 2-3 damla yayıldı. Lamm üzerinden birkaç damla fiksatif geçirildi ve havada kurumaya bırakıldı.

Preparatlar kuruduktan sonra 90°C'lik hotplate üzerinde 30 dakika bırakılarak yaşlandırıldı.

3.2.2.5 GTL Bantlama:

Preparatlar tripsin çözeltisi içinde 5-20 sn. hafifçe çalkalanarak tutuldu. (Uygun süre her gün için yeniden denenerek saptandı). Daha sonra preparatlar sırasıyla salin ve buffer'da yıkandı ve 4 dakika Leishman boyası kullanım solüsyonu ile boyandı. Akar suda çalkalanan preparatlar havada kurutuldu ve entellan ile lamel kapatıldı.

3.2.3 Mikroskop İncelemesi:

Hazırlanan preparatlar, Zeiss Axioskop mikroskopta, x10'luk objektifle taranarak, değerlendirilebilecek kalitedeki metafazlar x100'lük immersiyon objektifi ile incelendi. Analiz edilen metafazlar ISCN 1995'e göre değerlendirildi. Fotoğraflar aynı mikroskopta, MC 100 kamera ile, yeşil-siyah filtre ve AGFA ORTHO 25 (15 DIN) film kullanılarak çekildi. Film ve kartlar (Kodak Photographic Paper 7x9 1/2 in), Ilford Multigrade Developer ve Ilford Hypam Rapid Fixer ile prosedürlerine uygun olarak banyo edildi.

IV. BULGULAR

Çalışılan 40 olgunun 8'ine patolojik incelemelerinde kanser tanısı konmadığı için çalışmadan çıkarıldıkları halde, kültür yönteminin verimliliğinin saptanmasında bu olguların doku kültürleri de değerlendirmeye alınmıştır. Kültüre edilen 40 olgunun doku kültürleri ile ilgili bilgiler Tablo IV.1'de görülmektedir.

Tablo IV.1 Olguların Doku Kültürleri ile İlgili Bilgiler

Olgu No.	Tümör Dokusu Örneği		Normal Doku Örneği	
	Üreme	Kültür Süresi (gün)	Üreme	Kültür Süresi (gün)
Olgu 1	–		+	49
Olgu 2	+	36, 48	–	
Olgu 3	+	62, 71		
Olgu 4	+	27	+	27
Olgu 5 ^a	+	48, 57		
Olgu 6	+	6, 16, 26, 36	+	6, 15, 29, 30
Olgu 7*	+	32, 38	+	31
Olgu 8	–		–	
Olgu 9	+	18	–	
Olgu 10*	–			
Olgu 11*	+	12		
Olgu 12 (T-34)	+	15		
Olgu 12 (T-35)	+	12	–	
Olgu 12 (T-41)	–		+	33

Tablo IV.1 (devam)

Olgu 13	+	-	-	
Olgu 14*	-			
Olgu 15*	-			
Olgu 16	-		+	57
Olgu 17	+	17		
Olgu 18	-		+	-
Olgu 19	-			
Olgu 20 (T-47)	-		-	
Olgu 20 (T-49) ^b	+	27		
Olgu 21	-		-	
Olgu 22	+	11, 17		
Olgu 23	-		-	
Olgu 24	+	31	+	31
Olgu 25	+	37		
Olgu 26	-		-	
Olgu 27*	-			
Olgu 28	+	30		
Olgu 29	+	30	-	
Olgu 30*	-		-	
Olgu 31	+	18		
Olgu 32	+	16		
Olgu 33	+	35	+	-
Olgu 34	-			
Olgu 35	+	33		
Olgu 36	-		+	-
Olgu 37*	+++	-	+	-
Olgu 38	+++	-	+	-
Olgu 39	+++	-	+	-
Olgu 40	-		-	

* Çalışmadan çıkartıldı. ^a İğne aspirasyon biyopsisi, ^b Plevra sıvısı örneği

** Üreme olup da kültür çıkışı yapılamayan olgularda üreme + ile gösterildi, kültür süresine - yazıldı.

Çalışılan 40 hastanın 8'i, patolojik olarak kanser tanısı almadığı için çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışma grubunu oluşturan 32 hastanın tümör dokusu kültürlerine ait sitogenetik veriler Tablo IV.2'de görülmektedir.

Tablo IV.2 Çalışma grubunu oluşturan olguların tümör dokusu kültürlerine ait sitogenetik bulgular

Olgu No.	İncelenen metafaz sayısı	Gözlenen ploidi seviyeleri	Klonal anomaliler			Klonal olmayan anomali	pcd/ endore- dup.	Normal karyotip
			Sayısal	Yapısal	Marker			
Olgu 1	–							
Olgu 2	10	$n\pm$, $2n\pm$, $3n\pm$, $4n\pm$	–	–	–	+	–	3
Olgu 3	–							
Olgu 4	33	$n\pm$, $2n\pm$, $5n\pm$	?	–	–	+	–	3
Olgu 5 ^a	–							
Olgu 6	83	$n\pm$, $2n\pm$, $3n\pm$, $4n\pm$	?	–	+	+	+	6
Olgu 8	–							
Olgu 9*	45	$n\pm$, $2n\pm$, $3n\pm$	+	+	–	+	+	4
Olgu 12 (T-34)	49	$n\pm$, $2n\pm$, $3n\pm$	+	+	+	+	+	–
Olgu 12 (T-35)*	53	$n\pm$, $2n\pm$, $3n\pm$, $4n\pm$	+	+	–	+	+	11
Olgu 12 (T-41)*	–							
Olgu 13	–							
Olgu 16	–							
Olgu 17	44	$n\pm$, $2n\pm$, $3n\pm$, $4n\pm$	+	+	–	+	+	11

Tablo IV.2 (devam)

Olgu 18	–							
Olgu 19	–							
Olgu 20 (T-47)	–							
Olgu 20 (T-49) ^b	27	$n\pm, 2n\pm$	+	–	–	+	–	3
Olgu 21	–							
Olgu 22	35	$2n\pm, 3n\pm$	+	+	–	+	+	14
Olgu 23	–							
Olgu 24	56	$n\pm, 2n\pm,$ $3n\pm, 4n\pm$	+	–	–	+	+	3
Olgu 25	42	$n\pm, 2n\pm,$ $3n\pm, 4n\pm$	+	+	–	+	+	3
Olgu 26	–							
Olgu 28	40	$n\pm, 2n\pm,$ $3n\pm, 4n\pm,$ $5n\pm$	+	–	–	+	+	1
Olgu 29	39	$n\pm, 2n\pm,$ $3n\pm, 4n\pm$	+	–	–	+	+	–
Olgu 31	16	$n\pm, 2n\pm$	–	–	–	+	–	1
Olgu 32	9	$n\pm, 2n\pm,$ $4n\pm$	+	–	–	+	–	–
Olgu 33	40	$n\pm, 2n\pm,$ $4n\pm$	+	–	–	+	–	2
Olgu 34	–							
Olgu 35	35	$n\pm, 2n\pm,$ $3n\pm, 4n\pm$	–	–	–	+	+	4
Olgu 36	–							
Olgu 38	–							
Olgu 39	–							
Olgu 40	–							

* Tedavi sonrası. ^a İğne aspirasyon biyopsisi. ^b Plevra sıvısı örneği

Çalışma grubunu oluşturan 32 olgunun 21'inden normal bronş mukozası örneği de alınarak kültüre edildi. (Olgu 12'den ayrı zamanlarda iki kez normal doku örneği alındı. T-35 kültüründe üreme olmadı, T-41 kültüründe üreme elde edildi). 11 olgunun kültürlerinde üreme sağlandı. Ancak iki olguda (12 ve 16 numaralı olgular) değerlendirmeye uygun metafazlar bulundu. 12 numaralı olguya ait preparatlardan toplam 31 metafaz incelendi. $2n\pm$, $3n\pm$, $4n\pm$, arasında değişen ploidi seviyeleri gözlemlendi. Klonal olan sayısal ve yapısal kromozom anomalilerinin yanı sıra, klonal olmayan çok sayıda anomali saptandı. 6 metafazda prematür sentromer ayrılması (pcd) gözlemlendi. Hiç normal karyotipli hücre saptanmadı. 16 numaralı olgudan ise 9 metafaz incelendi. Kromozom sayıları $2n\pm$ ile $4n\pm$, seviyelerinde idi. Sadece bir metafazda normal karyotip saptandı. Diğer metafazlarda klonal olmayan kromozom anomalileri gözlemlendi. 3 metafazda endoreduplikasyon saptandı. 10 olgunun normal doku kültürlerinde ise üreme elde edilemedi.

Çalışma grubu olgularının 23'ünden periferik kan örnekleri de alınarak sitogenetik açıdan değerlendirildi. Kan kültürlerinden elde edilen sitogenetik veriler Tablo IV.3'de görülmektedir.

Tablo IV.3 Periferik kan örneği alınan çalışma grubu olgularının kan kültürleri ile ilgili sitogenetik bulgular

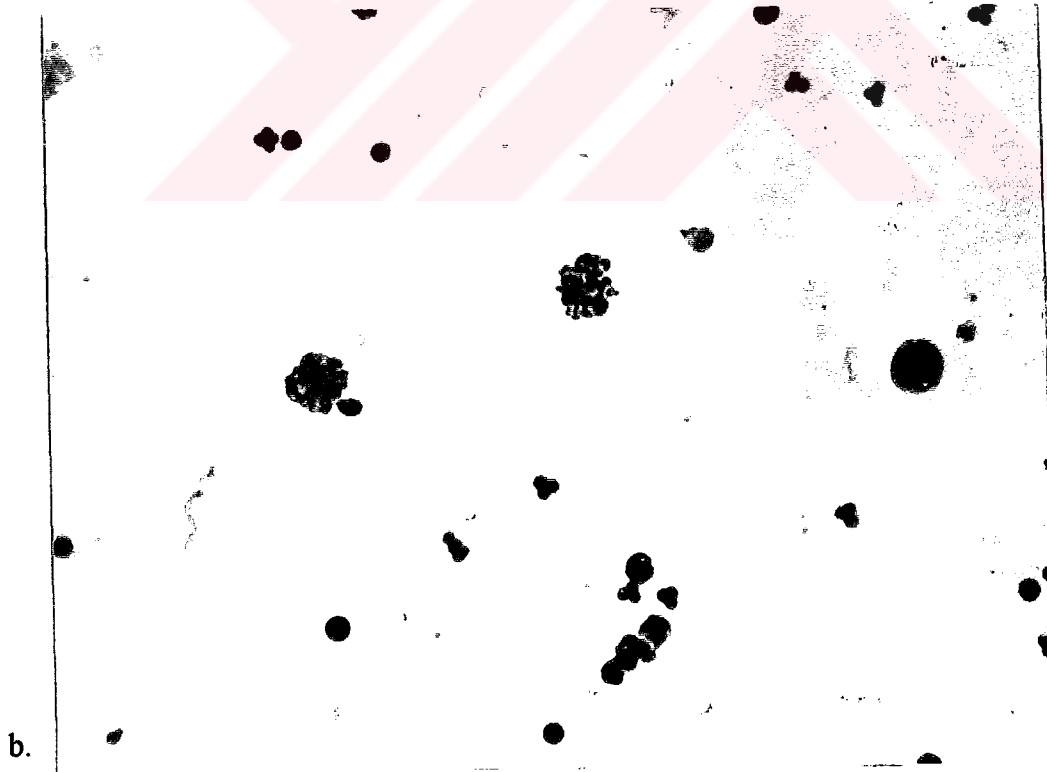
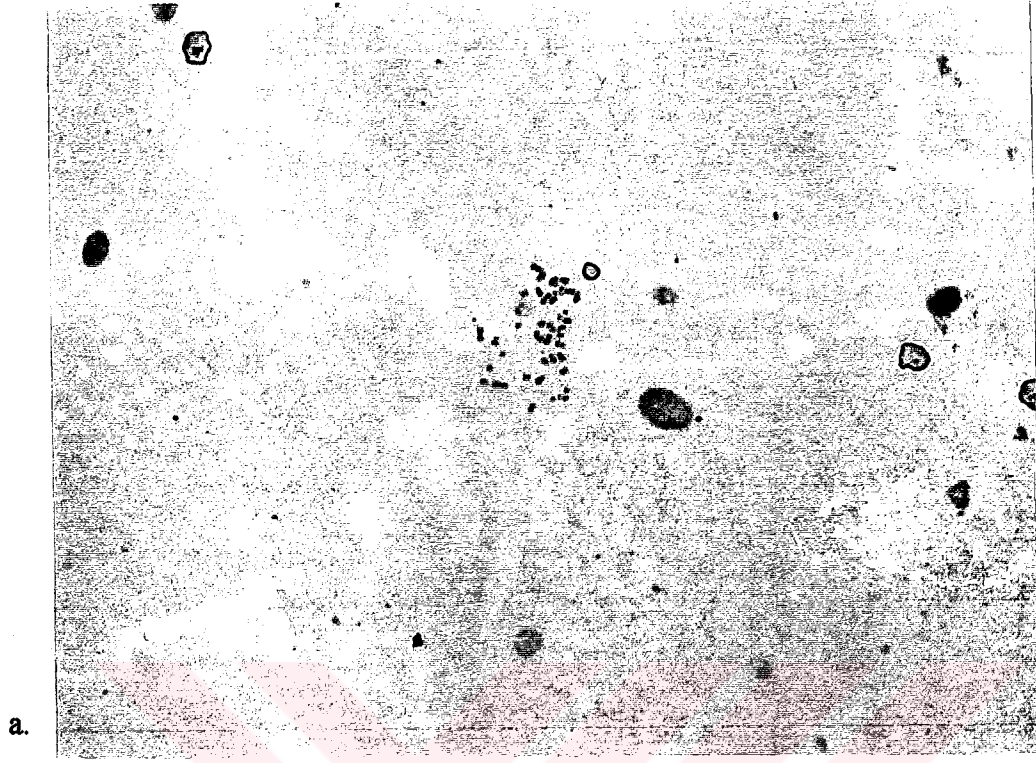
Olgu No.	İncelenen metafaz sayısı	Gözlenen ploidi seviyeleri	Klonal anomaliler			Klonal olmayan anomali	pcd/endoredup.	Normal karyotip
			Sayısal	Yapısal	Marker			
Olgu 8	5	$2n\pm$	-	-	-	+	-	4
Olgu 9	20	$n\pm$, $2n\pm$	-	-	-	+	-	14
Olgu 12	20	$n\pm$, $2n\pm$	+	-	-	+	-	10
Olgu 13	Analize uygun metafaz bulunamadı.							
Olgu 16	Analize uygun metafaz bulunamadı.							
Olgu 17	30	$n\pm$, $2n\pm$	+	+	-	+	-	10
Olgu 18	20	$2n\pm$	+	-	-	+	-	9
Olgu 19	7	$2n\pm$	-	-	-	+	-	4
Olgu 20	30	$2n\pm$, $4n\pm$	-	-	-	+	-	18

Tablo IV.3 (devam)

Olgu 21	Analize uygun metafaz bulunamadı.							
Olgu 22	30	$n\pm, 2n\pm, 4n\pm$	-	-	-	+	-	20
Olgu 23	30	$2n\pm$	-	-	-	+	-	28
Olgu 24	30	$n\pm, 2n\pm, 4n\pm$	+	-	-	+	-	21
Olgu 25	32	$n\pm, 2n\pm, 4n\pm$	+	-	-	+	-	18
Olgu 26	50	$2n\pm$	-	-	-	+	+	15
Olgu 28	50	$2n\pm$	-	-	-	+	-	20
Olgu 31	30	$n\pm, 2n\pm$	+	-	-	+	-	17
Olgu 33	30	$2n\pm$	-	-	-	+	-	26
Olgu 34	59	$2n\pm, 3n\pm, 4n\pm, 6n\pm$	+	+	+	+	+	6
Olgu 36	30	$2n\pm, 4n\pm$	-	-	-	+	+	23
Olgu 38	30	$2n\pm$	-	-	-	+	-	27
Olgu 39	30	$2n\pm, 4n\pm$	-	-	-	+	-	19
Olgu 40	30	$2n\pm, 3n\pm, 4n\pm$	-	+	-	+	-	13

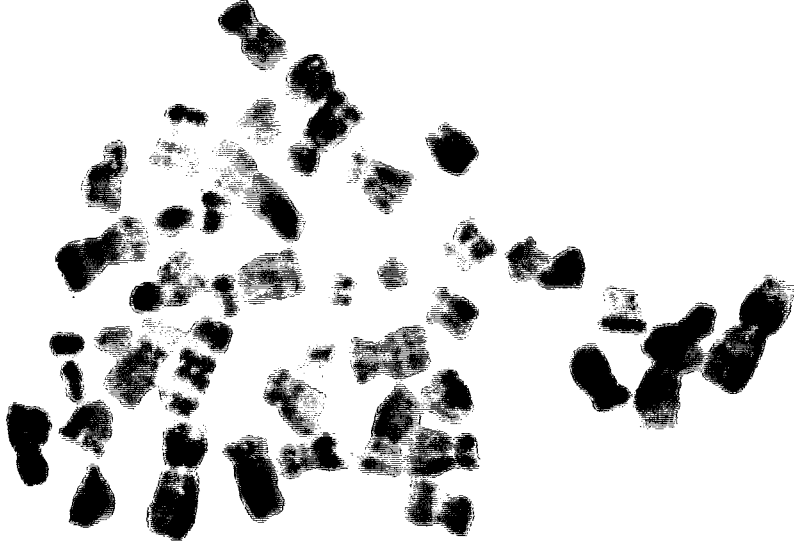
Çalışma grubunu oluşturan olgulara ait preparatlar mikroskopta x10'luk objektif ile taranarak, değerlendirilebilecek kalitedeki metafazlar x100'lük immersiyon objektifi ile incelenmiş ve ISCN 1995'e göre değerlendirilmiştir. Şekil IV.1'de, tümör dokularına ait, a) değerlendirmeye uygun, b) değerlendirmeye uygun olmayan metafaz örnekleri görülmektedir. Olguların değerlendirilmesinde mikroskop bulguları temel alınmış, kaliteli fotoğraf elde edilen olgularda karyogram ya da metafaz örnekleri sunulmuştur. Karyogram örneklerinde yalnızca yapısal anomali gösteren kromozomlar oklarla işaretlenmiştir. Şekil IV.2'de, olguların çoğunun tümör dokularında gözlenen a) endoreduplikasyon, b) prematür sentromar ayrılması örnekleri görülmektedir.

Çalışılan 40 olgunun her birinden elde edilen bulgular aşağıda görülmektedir.

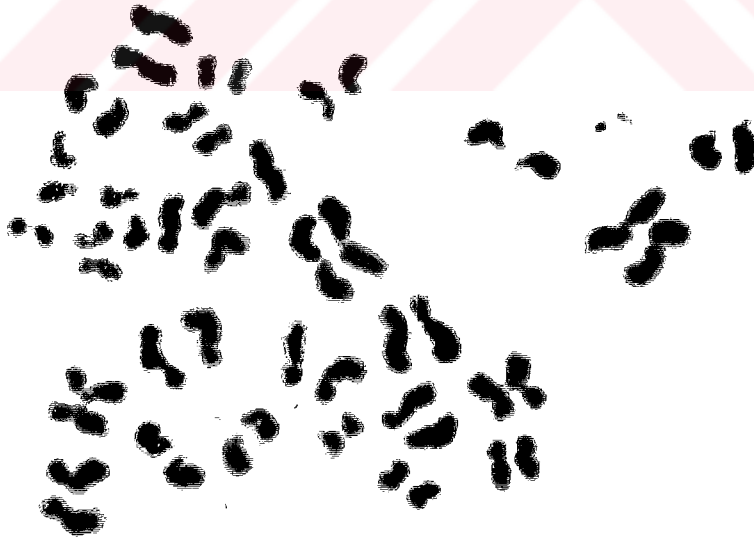


Şekil IV.1 Tümör dokularına ait, a) Değerlendirmeye uygun, b) Değerlendirmeye uygun olmayan metafaz örnekleri ($\times 10$ 'luk objektif ile) (Örnekler Olgu 12'ye aittir)

a.



b.



Şekil IV.2 a) Endoreduplikasyon (Olgu 25), b) Prematür sentromer ayrılması (Olgu 12) örnekleri

Olgu 1 (T-2, M.M.K.):

Yaş: 72

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1 paket/gün (50 yıldır)

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali
(İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD, Bronkopnömoji Bilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

Tümör materyalinde hücreler kültür kabının yüzeyine tutunmadıkları için üreme elde edilemedi.

Normal doku örneğinden yapılan kültürde üreme sağlandı. 43. günde kültür çıkışı yapıldı. Hazırlanan preparatlarda değerlendirilebilir metafaz görülmedi.

Olgu 2 (T-3, M.G.):

Yaş: 57

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 2 paket/gün (30 yıldır)

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali
(İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD, Bronkopnömoji Bilim Dalı).

Patolojik Tanı: Küçük hücreli ca.

Tümör dokusundan yapılan kültürlerde üreme elde edildi. 36. ve 48. günlerde çıkışları yapılan iki ayrı kültürden preparat hazırlandı. İncelenen toplam 10 hücrenin 5'i analiz edildi ve 5'i sayıldı. Ayrıca 3 tane de sayılamayacak kadar karışık poliploid hücre gözlemlendi. Analiz edilen hücrelerden üçü 46,XY kromozom yapısı gösterdi. Diğer hücreler 43,X,-Y,-11,-19 ve 45,XY,-11,del(17)(p11), kromozom yapısındaydılar. Sayılan hücrelerden üçü near-haploid (18, 27, 27) kromozom sayısı gösterirken, biri near-triploid (67), biri de near-tetraploid (87) seviyede bulundu. Şekil IV.3'de, Olgu 2'nin tümör dokusuna ait karyogram örneği görülmektedir.

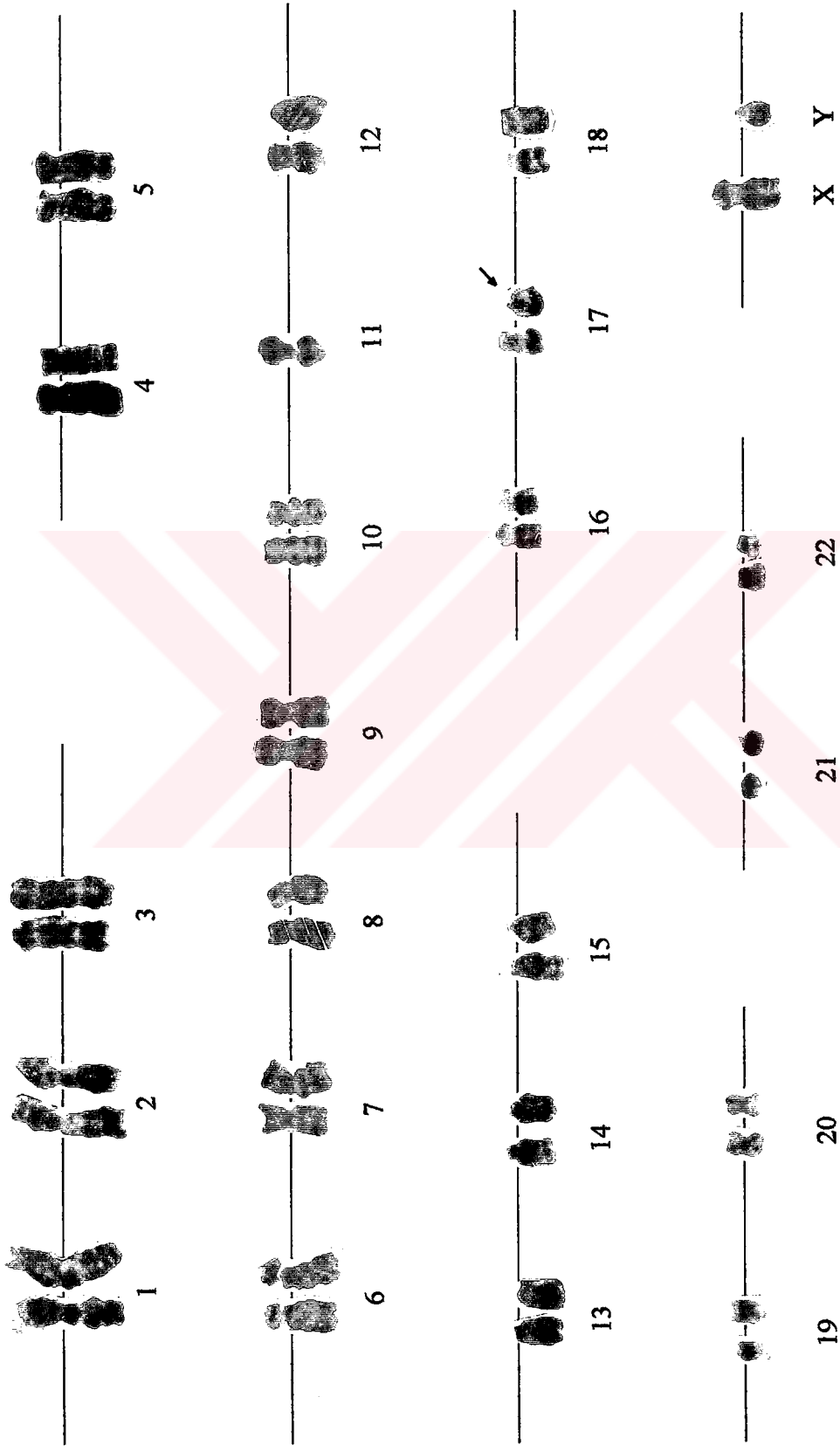
Normal doku örneğinde bakteri kontaminasyonu nedeniyle üreme olmadı.

Olgu 3 (T-4, H.G.):

Yaş: 60

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1-1,5 paket/gün (20 yıl içmiş, 6 yıldır içmiyor)



Şekil IV.3 Olgu 2'nin tümör dokusuna ait karyogram örneği

Materyal: Tümör dokusundan ameliyat materyali (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD, Bronkopnömoji Bilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

Kültürlerde üreme elde edildi. 62. ve 71. günlerde çıkışları yapılan iki ayrı kültürden hazırlanan preparatlarda açık metafaz görülmediğinden, değerlendirilemedi.

Olgu 4 (T-5, H.Y.):

Yaş: 60

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 3 paket/gün (35 yıldır)

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD, Bronkopnömoji Bilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

Hem tümör, hem de normal doku örneklerinden yapılan kültürlerde üreme elde edildi. Kültürlerin hepsi 27. günde çıkış işlemlerine tabi tutuldu. Tümör dokusundan toplam 33 metafaz incelendi. İncelenen metafazların 15'i analiz edildi ve 18'i sayıldı. Preparatların bant kalitesi isnenen düzeyde olmadığı için bazı metafazlar solid boyalı olarak değerlendirildi. Analiz edilen metafazların üçü 46,XY kromozom yapısı gösterdi. Bir hücre 45,XY,-17,min yapısındaydı. Diğerleri hipodiploid sayıdaydı (37~45) ve değişik gruplardan eksikler gösteriyorlardı. Sayılan 18 sahanın 8 tanesi near-haploid (16~32), 9 tanesi near-diploid (35~44), biri ise near-oktaploid (179?) seviyedeydi. Çok sayıda anöploid metafaz gözlenmesi klonal sayısal anomaliler bulunabileceğini düşündürmektedir. Fakat metafazlar bant almadıkları için klonal sayısal anomali olup olmadığı anlaşılamadı. Şekil IV.4'de, Olgu 4'ün tümör dokusuna ait karyogram örneği görülmektedir.

Normal doku kültürlerinde ise değerlendirilebilir metafaz görülmedi.

Olgu 5 (T-6, M.D.):

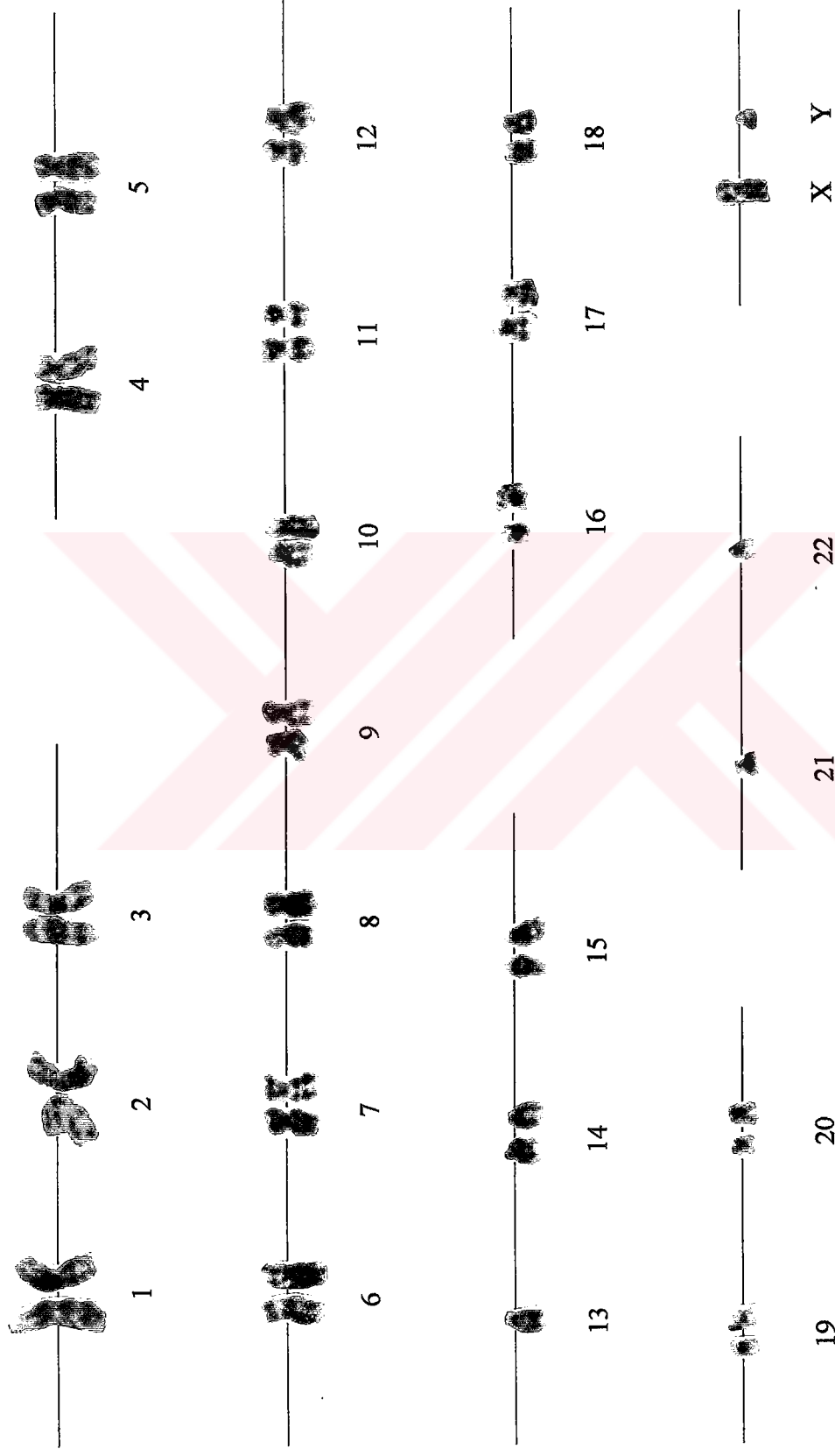
Yaş: 54

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1,5 paket/gün (34 yıldır)

Materyal: İğne aspirasyon biyopsisi (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD, Bronkopnömoji Bilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.



Şekil IV.4 Olgu 4'ün tümör dokusuna ait karyogram örneği

Kültürlerde üreme elde edildi. 48. ve 57. günlerde çıkış işlemleri yapılan iki ayrı kültürden hazırlanan preparatlarda açık metafaz görülmedi.

Olgu 6 (T-8, H.C.):

Yaş: 63

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1/4 paket/gün (33 yıl), 1 paket/gün (12 yıldır)

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD, Bronkopnömoloji Bilim Dalı).

Patolojik Tanı: Adenokarsinom

Hem tümör, hem de normal doku kültürlerinde üreme oldu. Tümör dokusu kültürlerinin çıkışları 6., 16., 26. ve 36. günlerde gerçekleştirildi. Preparatlar bant almadığından, metafazlar solid boyalı olarak değerlendirildi. Toplam 83 metafaz incelendi. İncelenen metafazların 15'i analiz edildi, 59'u sayıldı ve yapısal anomaliler ile marker kromozomlar açısından değerlendirildi. 6 metafazda endoreduplikasyon ve iki metafazda prematür sentromer ayrılması saptandı. Analiz edilen metafazların 6 tanesinde 46,XY kromozom yapısı gözlemlendi. Analiz edilen diğer metafazların 8'i near-diploid seviyede (38~47), biri ise hipotetraploid (82) idi ve değişik gruplardan eksiklikler, artışlar ve farklı marker kromozomlar içeriyorlardı. Sayılan metafazların 6'sı near-haploid (23~34), 17 tanesi near-diploid (35~49), 9 tanesi near-triploid (60~78), 7'si near-tetraploid (82~91) seviyede idi ve birinde de 100'den çok fazla kromozom tespit edildi. Sayılan metafazlarda da çeşitli marker kromozomlar gözlemlendi. Hemen hemen 1 numaralı kromozom boyunda disentrik bir marker kromozom toplam 4 hücrede gözlemlendi, yani klonal bir anomali idi. Klonal anomali taşıyan hücrelerin ikisi near-diploid kromozom sayısı (45, 46) gösterirken, ikisi near-triploid (68, 70) seviyedeydi. Ayrıca, bu hücrelerin üçünde birer de dmin gözlemlendi. Şekil IV.5'te, klonal anomali taşıyan metafaz örnekleri görülmektedir. Değişik sahalarda asentrik ve minute kromozomlar da gözlemlendi. Çok sayıda anöploid hücre gözlenmesi klonal sayısal anomalilerin bulunabileceğini düşündürmektedir. Fakat metafazlar bant almadıklarından, klonal sayısal anomaliler kesin olarak tanımlanamadı. Derlenen karyotip formülü aşağıda görülmektedir.

45~70, <2n>, XY, dicmar [4], dmin [3] [cp 4]/46, XY [6]

6., 15., 29. ve 30. günlerde çıkışları yapılan normal doku kültürlerinden hazırlanan preparatlarda ise değerlendirilebilir metafaz görülmedi.



Şekil IV.5 Olgu 6'ya ait metafaz örnekleri

Olgu 7 (T-9, M.Ç.):

Yaş: 50

Cinsiyet: Kadın

Sigara: 1,5 paket/gün (15 yıldır)

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali
(İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD, Bronkopnömoloji Bilim Dalı).

Patolojik Tanı: Kronik bronşit

Çalışmadan çıkartıldı.

Olgu 8 (T-13, G-1358, M.Z.S.):

Yaş: 63

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1,5-2 paket/gün (35 yıldır)

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD, Bronkopnömoloji Bilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

Tümör ve normal doku örneklerinden yapılan kültürlerde çıkış işlemleri için yeterli üreme elde edilemedi.

Periferik kan kültüründe 5 metafaz bulundu. 5 metafazın 4'ü 46,XY kromozom yapısında iken, biri 40, XY, -6, -10, -11, -11, -15, -18 kromozom yapısına sahipti.

Olgu 9 (T-21, G-1466, M.K.):

Yaş: 57

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1,5 paket/gün (25 yıldır)

Materyal: Birbuçuk yıldır kemoterapi uygulanmakta olan hastadan tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD, Bronkopnömoloji Bilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

Tümör dokusundan yapılan kültürlerde üreme elde edildi. Kültür çıkışı 18. günde gerçekleştirildi. Hazırlanan preparatlardan toplam 45 metafaz incelendi. Bu metafazların 36'sı analiz edildi, 4'ü sayıldı. 5 metafazda da endoreduplikasyon gözlemlendi. Analiz edilen 36 metafazın 4'ünde 46, XY kromozom yapısı saptandı. 32 metafazda ise basit ya da kompleks anormal

karyotipler gözlendi. Bu metafazların 3'ü near-haploid (22~31), 29'u ise near-diploid (41~57) seviyedeydi. Sayılan 4 metafaz ise near-diploid (38~46) idi. Analiz edilen metafazlarda klonal ve klonal olmayan, çok sayıda sayısal ve yapısal kromozom anomalileri ve klonal olmayan marker kromozomlar gözlendi. Derlenen karyotip formülü aşağıda görülmektedir.

22~57, <2n>, XY, -Y [7], +Y [2], -2 [4], -3 [4], del(3)(q24q26) [2], -6 [6], -7 [3], -9 [8], -10 [4], -11 [5], del(11)(q23) [2], -13 [4], -15 [6], +15 [2], -17 [6], -18 [4], -19 [3], -20 [6], -21 [4], -22 [5], del(22)(q13) [2] [cp 26]/46, XY [4]

Şekil IV.6'da Olgu 9'un tümör dokusu kültürüne ait karyogram örneği görülmektedir.

Olgu 9'un normal doku kültürlerinde üreme elde edilemedi.

Periferik kan kültüründen ise 20 metafaz incelendi. 15 metafazda 46, XY kromozom yapısı saptandı. 5 metafazda ise klonal olmayan sayısal ya da yapısal kromozom anomalileri gözlendi.

Olgu 10 (T-27, G-1478, Ş.K.):

Yaş: 65

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 2 paket/gün (35 yıldır)

Materyal: Tümör dokusundan bronkosopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD, Bronkopnömoloji Bilim Dalı).

Patolojik Tanı: Kronik bronşit

Çalışmadan çıkartıldı.

Olgu 11 (T-31, G-1496, S.D.):

Yaş: 70

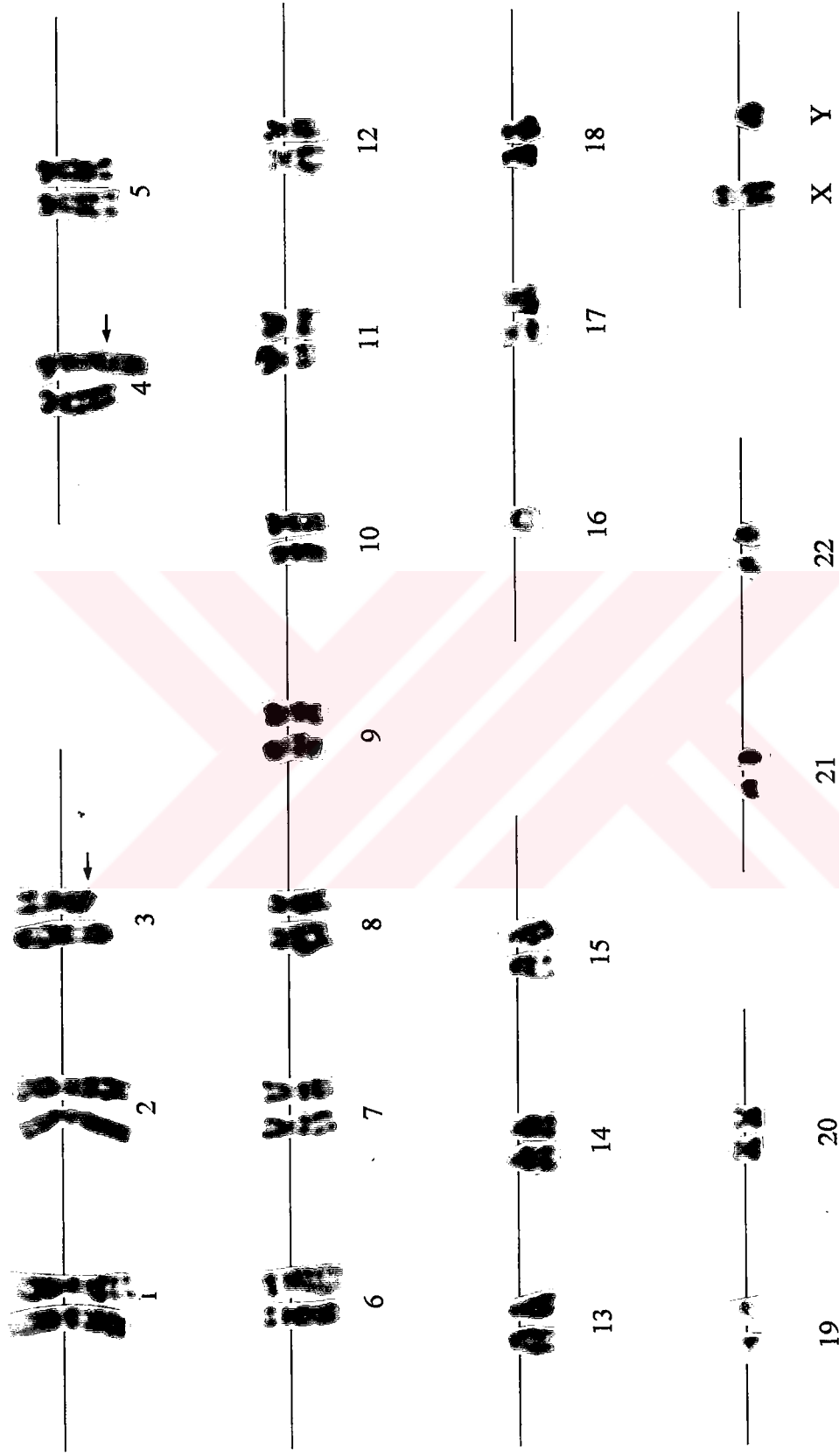
Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1,5-2 paket/gün (60 yıldır)

Materyal: Tümör dokusundan bronkosopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD, Bronkopnömoloji Bilim Dalı)

Patolojik Tanı: Tümöre rastlanmadı.

Çalışmadan çıkartıldı.



Şekil IV. 6 Olgu 9'un tümör dokusuna ait karyogram örneği

Olgu 12 (T-34, T-35, T-41, G-1511, M.B.):

Yaş: 65

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 3 paket/gün (55 yıldır)

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD, Bronkopnömoji Bilim Dalı). İntratümöral kemoterapi uygulanan hastadan, 1., 2. ve 3. intratümöral kemoterapi uygulamasından önce tümör dokusundan bronkoskopik biyopsi örneği alındı (T-34, T-35 ve T-41 kültürleri). 2. ve 3. uygulamalardan önce normal bronş mukozası örnekleri de alındı. İlk örneğin alınmasından sonraki üçüncü günde ikinci örnek, ikinci örneğin alınmasından sonraki beşinci günde üçüncü örnek alındı.

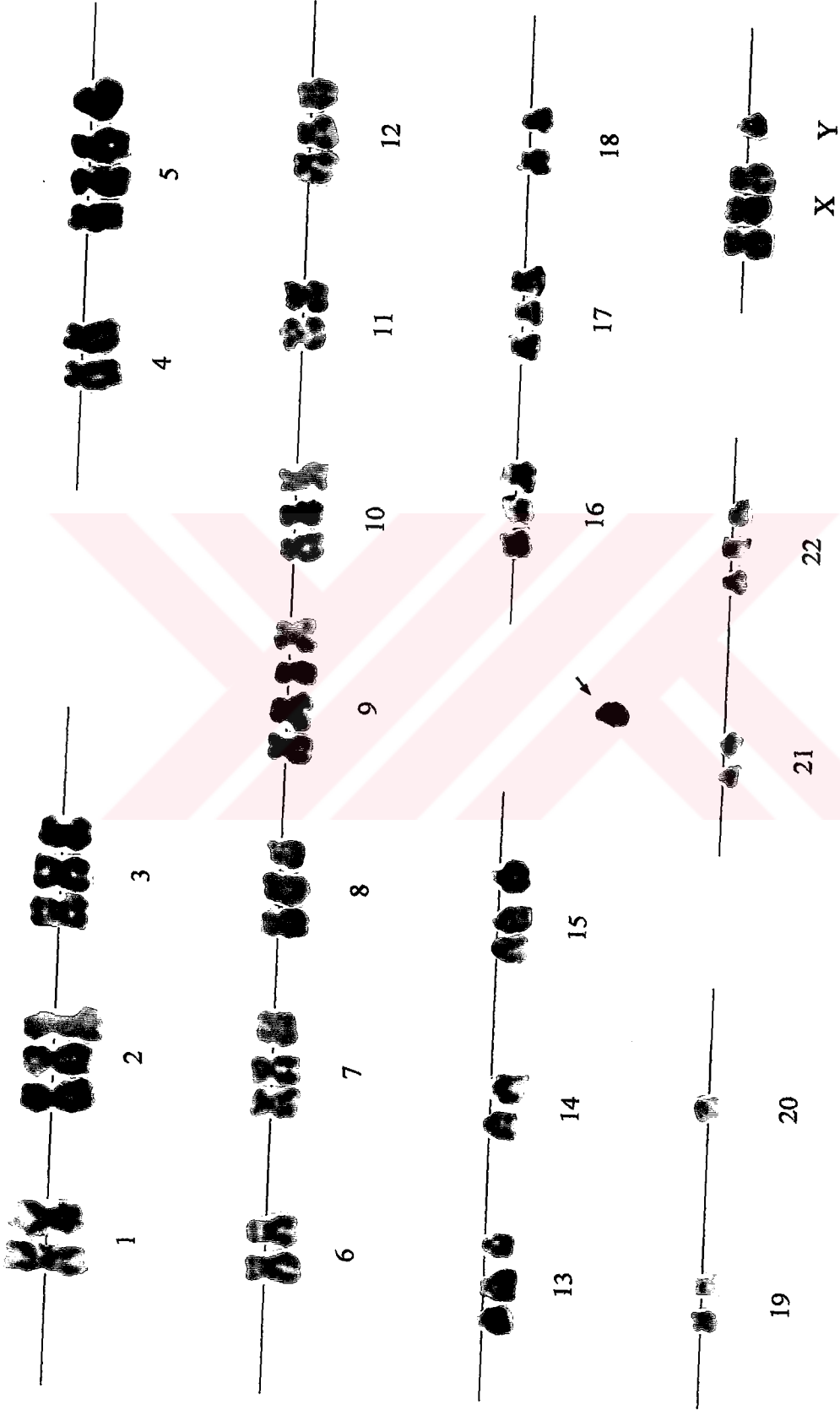
Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

T-34 Kültürü:

Yapılan kültürlerde üreme elde edildi. Kültür çıkışı 15. günde yapıldı. Bu kültürden hazırlanan preparatlardan toplam 49 metafaz incelendi. Bu metafazların 34'ü analiz edildi. Hiç normal (46,XY) kromozom yapılı hücreye rastlanmadı. 34 hücrenin biri basit, diğerleri kompleks anormal karyotipe sahipti. 9 hücre near-haploid (21~32), 24 hücre near-diploid (35~46) ve bir hücre de near-triploid (63) seviyedeydi. Bir tane de sayılamayacak kadar karışık poliploid hücre gözlemlendi. Analiz edilen metafazlarda klonal ve klonal olmayan, çok sayıda yapısal ve sayısal kromozom anomalileri ve marker kromozomlar görüldü. 5 hücrede endoreduplikasyon ve 10 hücrede prematür sentromer ayrılması bulundu. Derlenen karyotip formülü aşağıda görülmektedir.

21~32, X, -X [4], +Y [4], +1 [4], +2 [5], +3 [5], add(3)(p25) [2], +4 [5], +5 [3], +6 [5], +8 [4], +9 [6], +10 [2], +12 [5], +13 [4], -14 [3], +14 [5], +15 [3], +16 [4], -17 [3], +17 [2], -18 [4], +19 [2], +21 [5], +22 [2] [cp 9] / 35~63, <2n>, XY, -Y [4], -2 [3], +4 [2], -5 [3], -6 [3], del(6)(p21p21) [3], -7 [4], -8 [3], -9 [7], -10 [3], -12 [5], -13 [7], +13 [2], -14 [6], -15 [7], -16 [5], -17 [6], -18 [3], -19 [4], -20 [8], -21 [9], -21 [3], -22 [6], +mar [3] [cp 25]

Şekil IV.7'de, Olgu 12'nin T-34 tümör dokusu kültürüne ait karyogram örneği görülmektedir.



Şekil IV. 7 Olgu 12'nin T-34 tümör dokusu kültürüne ait karyogram örneği

T-35 Kültürü:

Tümör materyalinden yapılan kültürlerden üreme elde edildi. Kültür çıkışı 12. günde gerçekleştirildi. Toplam 53 hücre incelendi. İncelenen bu hücrelerin 37'si analiz edildi ve 12'si sayıldı, 1 metafazda endoreduplikasyon ve 3 metafazda da prematür sentromer ayrılması saptandı. Analiz edilen 37 hücrenin 11'inde 46, XY kromozom yapısı gözlemlendi. 26 hücre ise kompleks karyotipe sahipti. Bu metafazların 3'ü near-haploid (29~31), 19'u near-diploid (36~52), biri near-triploid (78), 3'ü ise near-tetraploid (86~92) seviyedeydi. Sayılan 12 metafazın ise ikisi near-haploid (23, 24), 6'sı near-diploid (40~47), 4'ü ise near-tetraploid (82~93) seviyedeydi. Ayrıca 3 tane de sayılamayacak kadar karışık poliploid saha gözlemlendi. Derlenen karyotip formülü aşağıda görülmektedir.

29~49, <2n>, XY, -X [4], -1 [4], -2 [4], -3 [4], -4 [4], -5 [5], -6 [4], t(6;8)(q21;q24) [3], -7 [5], -8 [4], -9 [4], -10 [3], -11 [3], der(11)del(11)(p11.2p13)dup(11)(p11.1p12)? [2], -12 [4], -14 [3], -16 [4], -17 [6], -18 [4], -19 [4], -20 [8], -21 [4], -22 [4] [cp 20]/52~91, <4n>, XXYY, -5 [3], -7 [4], -9 [3], -14 [3], i(15)(q10) [2], -16 [3], -21 [3] [cp 4]/46, XY [11]

Şekil IV.8 ve Şekil IV.9'da, Olgu 12'nin T-35 tümör dokusu kültürüne ait karyogram örnekleri görülmektedir.

Normal doku kültüründe ise mantar enfeksiyonu nedeniyle üreme olmadı.

T-41 Kültürü:

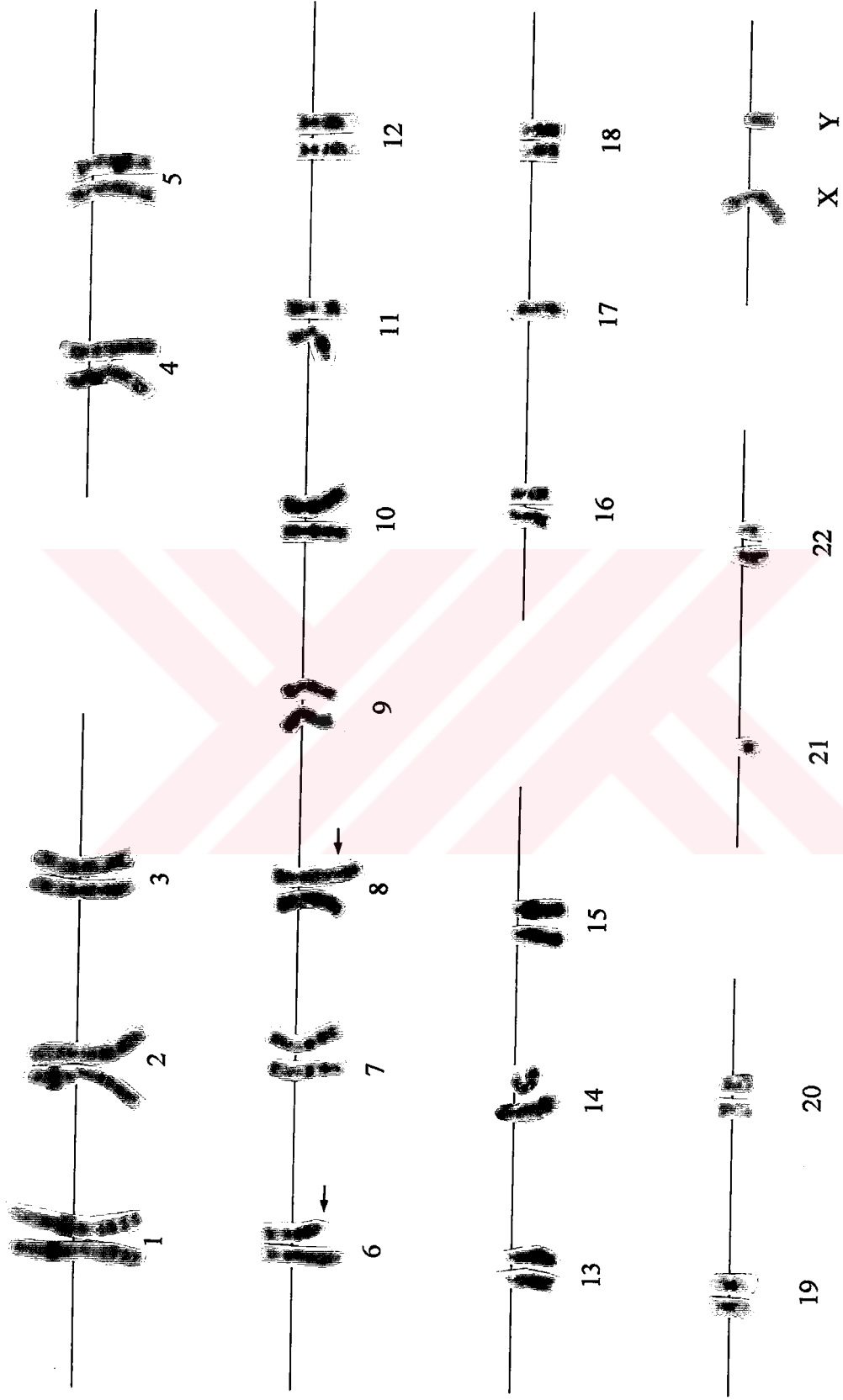
T-41 tümör dokusu kültüründe mantar enfeksiyonu nedeniyle üreme olmadı.

Normal doku örneğinden yapılan kültürde üreme elde edildi. Çıkış işlemleri 33. günde yapıldı. Toplam 31 hücre incelendi. Bu 30 hücrenin 20'si analiz edildi, 5'i sayıldı ve 6'sında prematür sentromer ayrılması gözlemlendi. Ayrıca iki tane de sayılamayacak kadar karışık poliploid hücre gözlemlendi. Hiç normal (46,XY) kromozom yapılı hücreye rastlanmadı. Analiz edilen 20 hücrenin 19'u near-diploid (36~46), biri ise near-triploid (68) idi ve bütün hücrelerde klonal olan ya da olmayan kromozomal anomaliler bulunmaktaydı. 15 hücre kompleks karyotipe sahipken, 5 hücre basit anormal karyotip göstermekteydi. Basit karyotipli metafazlardan üçü 45, X, -Y kromozom yapısında idi ve bu metafazlar kompozit karyotipe dahil edilmedi. Derlenen karyotip formülü aşağıda görülmektedir.

36~68, <2n>, XY, -Y [12], -3 [3], -7 [3], -10 [3], +13 [2], der(13;22)(q10;q10) [2], -18 [4], -21 [3], +22 [2] [cp 15]/45, X, -Y [3]



Şekil IV.8 Olgu 12'nin T-35 tümör dokusu kültürüne ait karyogram örneği



Şekil IV.9 Olgu 12'nin T-35 tümör dokusu kültürüne ait karyogram örneği

Şekil IV.10 ve Şekil IV.11’de, Olgu 12’nin T-41 normal doku kültürüne ait karyogram ve metafaz örnekleri görülmektedir.

Periferik kan kültürü (G-1511):

Olgu 12’ye ait periferik kan kültüründen 20 hücre analiz edildi. Bu hücrelerin 10’u 46,XY kromozom yapısında idi. Diğer 10 hücre ise kompleks ya da basit anormal karyotipler gösteriyordu. 2 hücre near-haploid (32, 34), 8 hücre ise near-diploid (39~47) seviyedeydi. Klonal anomali taşıyan hücrelerden derlenen kompozit karyotip aşağıda görülmektedir.

32~43, <2n>, XY, -11 [3], -16 [3], -22 [3] [cp 5]/46, XY [10]

Olgu 13 (T-36, G-1512, H.A.):

Yaş:53

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 3,5-4 paket/gün (20 yıl içmiş, 3 yıldır günde bir tane içiyor)

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD, Bronkopnömoloji Bilim Dalı).

Patolojik Tanı: Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri

Tümör dokusu kültüründe çıkış için yeterli üreme elde edilemedi.

Normal doku kültüründe hücreler kültür kabına tutunmadıklarından, üreme sağlanamadı.

Periferik kan kültüründe değerlendirilebilecek kalitede metafazlar elde edilemedi.

Olgu 14 (T-37, G-1513, Ö.Ö.):

Yaş: 55

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1 paket/3 gün (20 yıldır)

Materyal: Tümör dokusundan bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD, Bronkopnömoloji Bilim Dalı).

Patolojik Tanı: Epitel hücre proliferasyonu

Çalışmadan çıkartıldı.

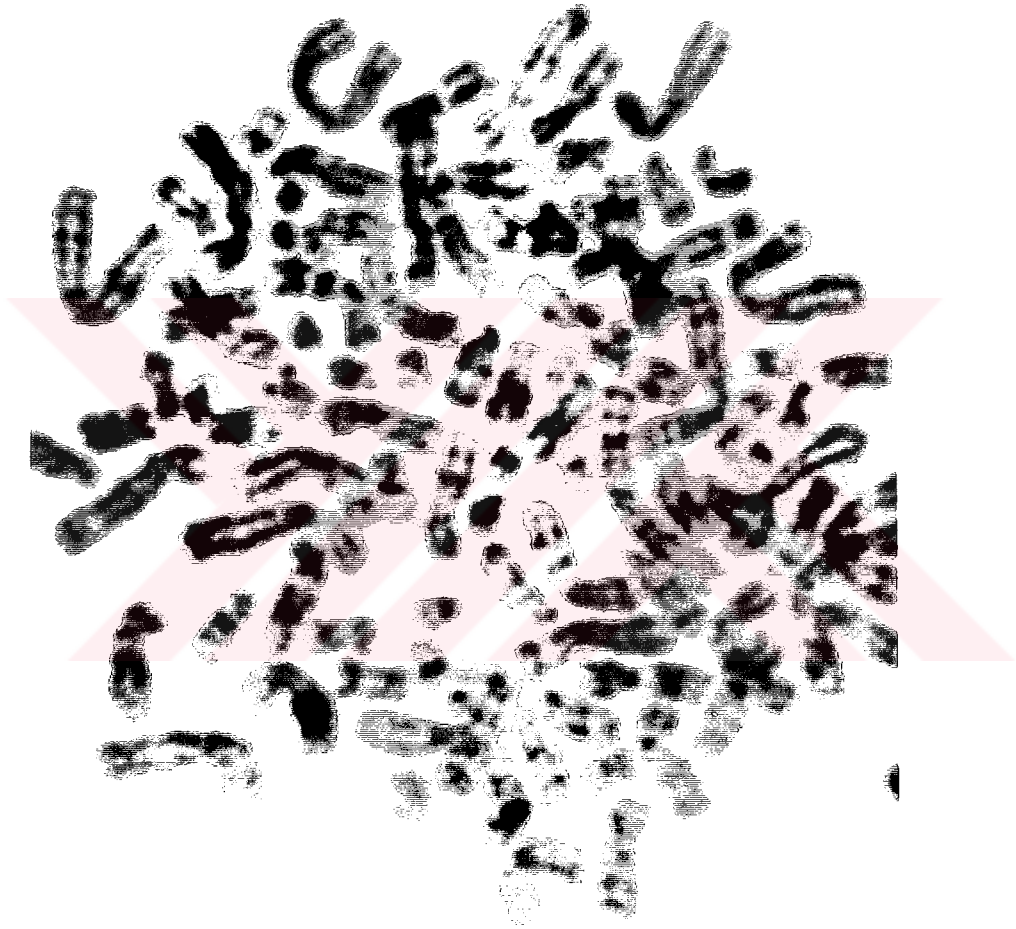
Olgu 15 (T-38, A.Z.):

Yaş: 73

Cinsiyet: Erkek



Şekil IV.10 Olgu 12'nin T-41 normal doku kültürüne ait karyogram örneği



Şekil IV.11 Olgu 12'nin T-41 normal doku kültürüne ait metafaz örneği

Sigara: 1 paket/gün (40 yıldır)

Materyal: Tümör dokusundan bronkoskopik biyopsi materyali (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD, Bronkopnömoloji Bilim Dalı).

Patolojik Tanı: Kronik bronşit

Çalışmadan çıkartıldı.

Olgu 16 (T-39, G-1514, R.Ş.):

Yaş: 53

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 2 paket/gün (30 yıldır)

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD, Bronkopnömoloji Bilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

Tümör dokusu kültürlerinde mantar enfeksiyonu nedeniyle üreme olmadı.

Normal doku kültüründe üreme elde edildi. Çıkış işlemleri 57. günde gerçekleştirildi. Hazırlanan preparatlarda 9 metafaz bulundu. Bunların 3'ü analiz edildi ve 46, XY, 45, X, -Y ve 45, XY, -18 yapısında oldukları görüldü. Bir metafaz sayıldı ve near-tetraploid (90) seviyede olduğu saptandı. İki metafaz sayılamayacak kadar karışık poliploid sahalardı. Kalan üç metafaz ise endoreduplikasyon gösteriyordu.

Periferik lenfosit kültüründen hazırlanan preparatlarda değerlendirilebilecek kalitede metafaz bulunamadı.

Olgu 17 (T-44, G-1610, A.İ.):

Yaş: 66

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1 paket/gün (35 yıl içmiş, 10 yıldır içmiyor)

Materyal: Tümör dokusundan bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

Tümör dokusu kültürlerinden üreme elde edildi. Çıkış işlemleri 17. günde gerçekleştirildi. Toplam 44 hücre incelendi. Bu 44 hücrenin 36'sı analiz edildi ve 6'sı sayıldı, ikisinde ise endoreduplikasyon saptandı. Analiz edilen 36 hücrenin 11'i 46,XY kromozom yapısındaydı. 25 hücre ise basit veya kompleks anormal karyotipe sahipti. Bu hücrelerin 2'si near-haploid (32, 32),

18'i near-diploid (38~51), 2'si near-triploid (72, 75), 3'ü ise near-tetraploid (84~89) seviyedeydi. Sayılan 6 hücrenin ise 2'si near-diploid (37, 39), biri near-triploid (59), 3'ü de near-tetraploid (84~92) idi. Klonal anomali taşıyan metafazlardan derlenen kompozit karyotip aşağıda görülmektedir.

32~51, <2n>, XY, -X [4], -1 [3], del(1)(p13?p31?) [2], -3 [3], -7 [5], -8 [3], -9 [5], -11 [4], -15 [4], +15 [2], -17 [5], -18 [4], +18 [2], -21 [4], -22 [3] [cp 17]/72~89, <4n>, XXY, -Y [5], -3 [3], -5 [4], -6 [3], -7 [3], -15 [3], -20 [3] [cp 5]/46, XY [11]

Şekil IV.12'de Olgu 17'nin tümör dokusu kültürüne ait karyogram örneği, Şekil IV.13'de ise periferik kan kültürüne ait karyogram örneği görülmektedir.

Olgu 17'nin periferik kan kültüründen 30 metafaz analiz edildi. Yalnızca 10 metafaz 46,XY kromozom yapısında bulundu. Diğer 20 metafaz basit ya da kompleks anormal karyotiplere sahipti. Klonal anomali taşıyan hücrelerden derlenen kompozit karyotip aşağıda görülmektedir.

20~45, <2n>, XY, -4 [4], -5 [3], -6 [3], -8 [3], -11 [3], -16 [3], -17 [3], -18 [5], -21 [5], -22 [3] [cp 14]/46, XY [10]

Olgu 18 (T-45, G-1611, S.S.):

Yaş: 69

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1 paket/gün (50 yıldır)

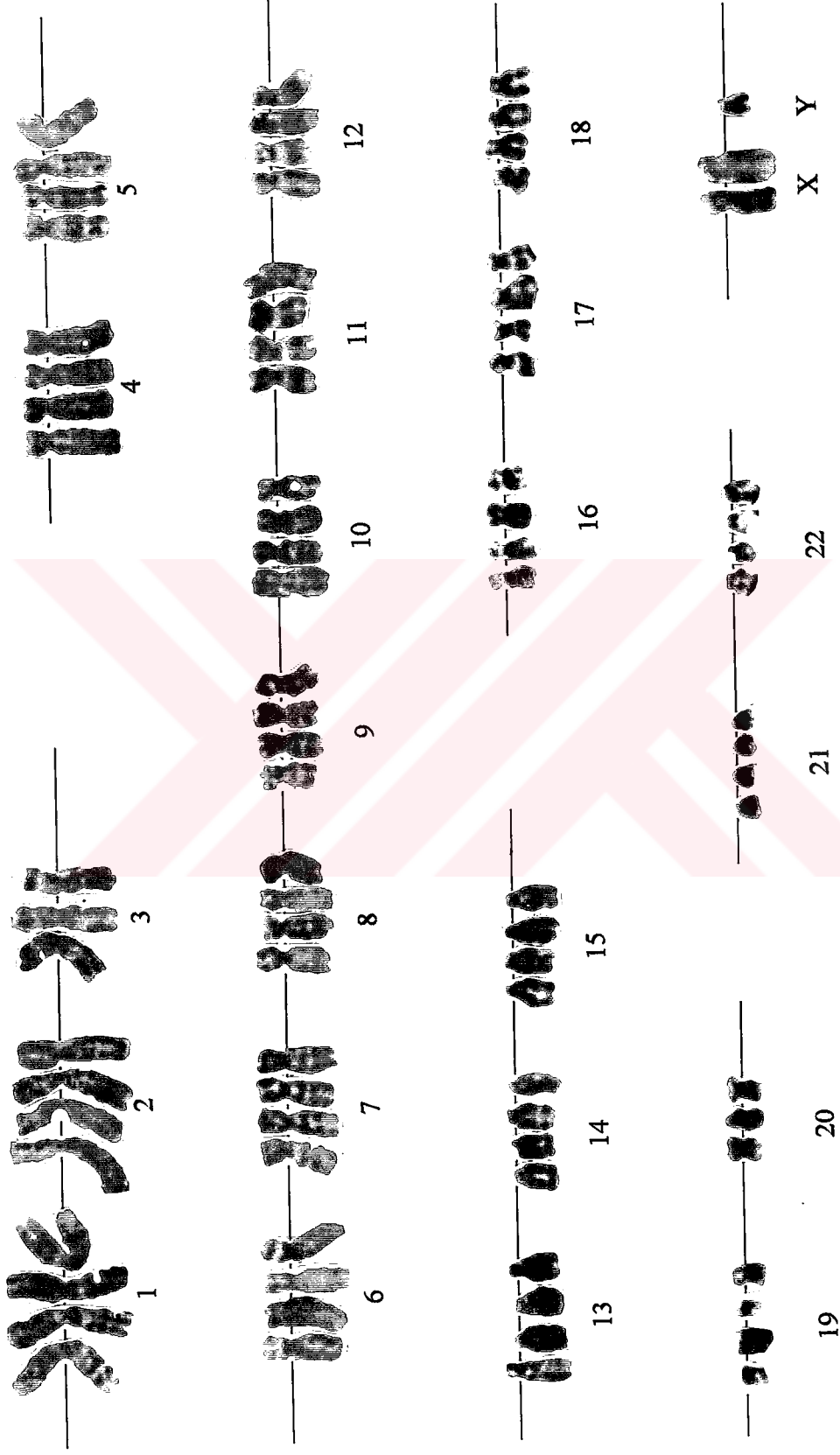
Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

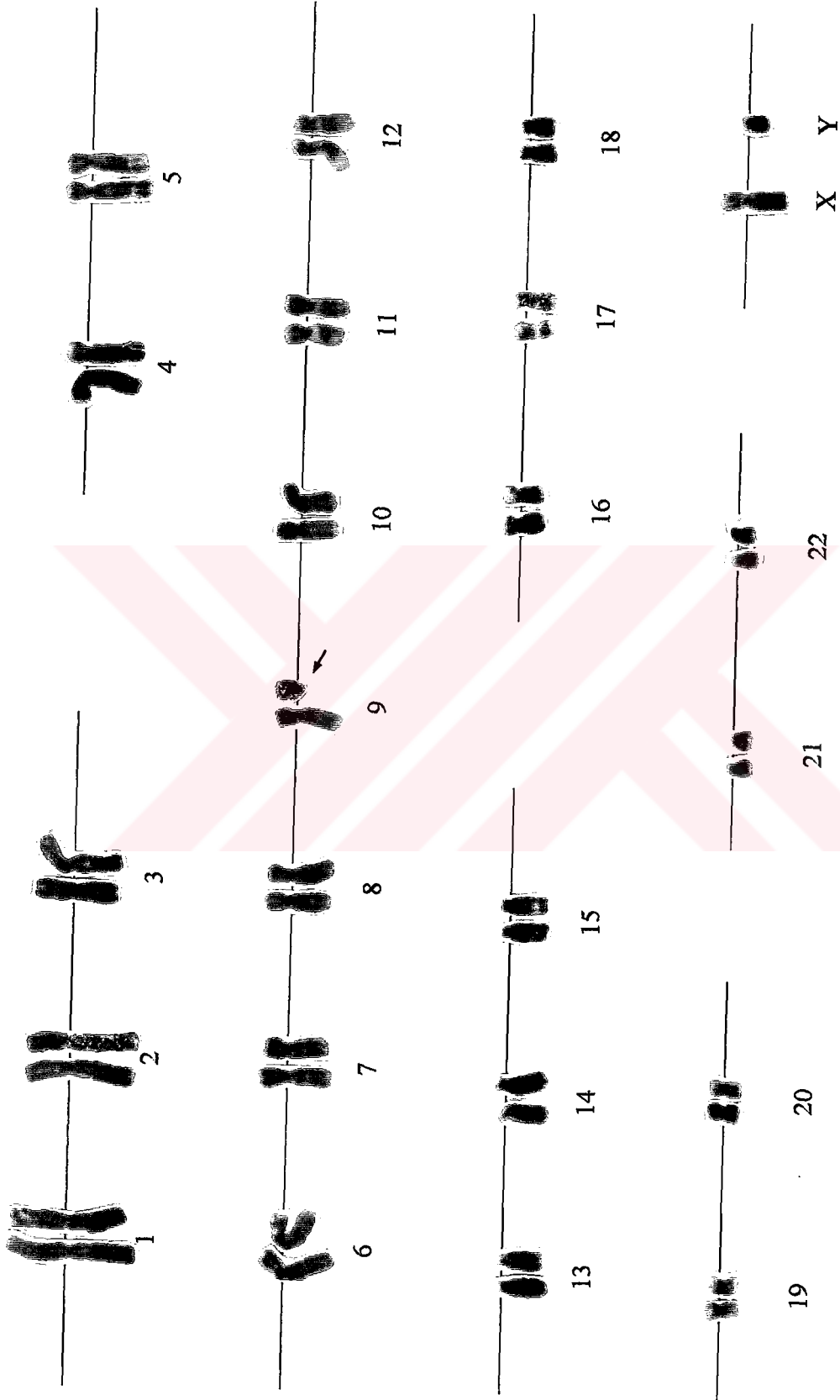
Olgu 18'in tümör ve normal doku kültürlerinde hücreler kültür kabına tutunmadıkları için üreme elde edilemedi.

Periferik kan kültüründen ise kromozom elde edildi ve 20 hücre analiz edildi. 9 hücre 46, XY kromozom yapısında bulundu. 11 hücre ise near-diploid seviyedeydi ve basit ya da kompleks anormal karyotiplere sahipti. Fakat bir klon oluşturabilecek kadar tekrarlanan tek anomali 3 hücrede gözlenen -22 bulgusu idi. Derlenen kompozit karyotip aşağıda görülmektedir.

44~45, XY, -22 [3][cp 3]/46, XY [9]



Şekil IV.12 Olgu 17'nin tümör dokusuna ait karyogram örneği



Şekil IV.13 Olgu 17'nin periferik kan kültürüne ait karyogram örneği

Olgu 19 (T-46, G-1612, Y.K.):

Yaş: 69

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1 paket/gün (45 yıl içmiş, 8 yıldır içmiyor)

Materyal: Tümör dokusundan bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Küçük hücreli olmayan akciğer ca.

Olgu 19'un tümör dokusu örneğinden yapılan kültürlerde hücreler kültür kabına tutunmadıkları için üreme elde edilemedi.

Periferik kan kültüründen 7 metafaz incelendi. Bu metafazların 4'ünde 46, XY kromozom yapısı saptandı. Diğer 3 metafazda ise klonal olmayan basit ya da kompleks kromozom anomalileri gözlemlendi.

Olgu 20 (T-47, T-49, G-1649, G.S.):

Yaş: 59

Cinsiyet: Kadın

Sigara: Hiç içmemiş

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali, plevra sıvısı örneği ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Bronkoskopik biyopsi materyali patolojik takip sırasında eridiği için bu materyalden patolojik tanı konulamadı. Plevra sıvısı örneği ise adenokarsinom tanısı aldı.

Tümör ve normal doku örneklerinden yapılan kültürlerde hücreler kültür kabının yüzeyine tutunmadıkları için üreme elde edilemedi.

Plevra sıvısı örneğinden yapılan kültürlerde üreme elde edildi. Çıkış işlemleri 15. ve 16. günlerde gerçekleştirildi. Hazırlanan preparatlardan toplam 27 hücre incelendi. Bu hücrelerin 10'u analiz edildi ve 17'si sayıldı. Analiz edilen hücrelerin 3'ünün 46,XX kromozom yapısına sahip olduğu gözlemlendi. Diğer 7 hücre ise kompleks karyotip taşıyordu. Bu 7 hücrenin 4'ü near-haploid (17~34) seviyedeydi ve klonal ve klonal olmayan kromozomal anomaliler taşıyordu. 3 metafaz ise near-diploid (35~49) seviyedeydi ve klonal olmayan anomaliler içeriyorlardı. Derlenen kompozit karyotip aşağıda görülmektedir. Sayılan 17 hücrenin ise 11'i near-haploid (11~33), 6'sı da near-diploid (39~47) idi.

17~34, X, +1 [2], +4 [3], +5 [2], +9 [4], +12 [2], -13 [3], +14 [2], +16 [2], +21 [2] [cp 4]/46, XX [3]

Şekil IV.14'de Olgu 20'nin plevra sıvısı kültürüne ait karyogram örneği görülmektedir.

Olgu 20'nin periferik kan kültüründen ise 28 metafaz analiz edildi ve 2 metafaz sayıldı. 18 hücre 46,XX kromozom yapısında bulundu. 9 hücre near-diploid seviyedeydi ve klonal olmayan basit ya da kompleks anomaliler taşıyordu. Sayılan iki metafaz ise near-tetraploid (87, 88) seviyede bulundu.

Olgu 21 (T-48, G-1651, A.E.):

Yaş: 65

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1 paket/gün (30 yıldır)

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

Olgu 21'e ait tümör ve normal doku örneklerinden yapılan kültürlerde hücreler kültür kabının yüzeyine tutunmadıkları için üreme olmadı.

Periferik kan kültüründen ise açık metafaz elde edilemediği için değerlendirme yapılamadı.

Olgu 22 (T-50, G-1653, K.S.):

Yaş: 63

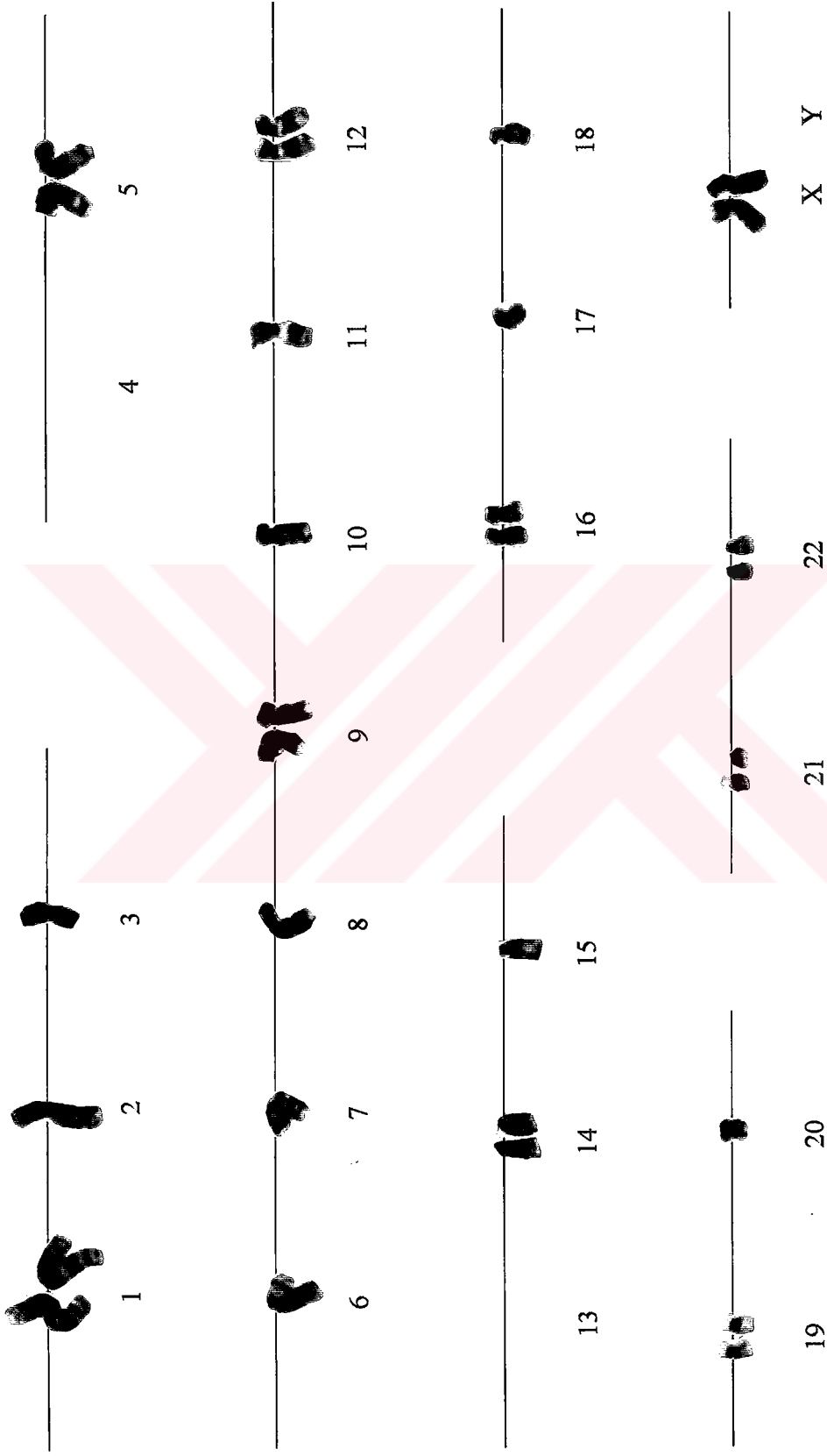
Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1/2 paket/gün (35 yıl içmiş, 6 aydır içmiyor).

Materyal: Tümör dokusundan bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

Tümör dokusu kültüründe üreme elde edildi. Aynı kültür flaskından 11. ve 17. günlerde iki kez çıkış yapıldı. Hazırlanan preparatlardan toplam 35 hücre incelendi. Bu hücrelerin 31'i analiz edildi, ikisi sayıldı, ikisinde de prematür sentromer ayrılması saptandı. Analiz edilen hücrelerin 14'ü 46, XY kromozom yapısında bulundu. 17 hücre ise basit ya da kompleks anormal karyotipe sahipti. Analiz edilen anomalili hücrelerin hepsi near-diploid (36~46) seviyedeydi.



Şekil IV.14 Olgu 20'nin plevra sıvısı kültürüne ait karyogram örneği

Sayılan iki hücrenin ise biri near-diploid (46) iken, biri de near-triploid (79) seviyede bulundu. Klonal anomali içeren hücrelerden derlenen kompozit karyotip aşağıda görülmektedir.

36~46, XY, -X [3], -4 [3], -6 [3], add(11)(q13) [3], -12 [3], -16 [3] [cp 11]

Şekil IV.15’de, Olgu 22’nin tümör dokusu kültürüne ait karyogram örneği görülmektedir.

Olgu 22’nin periferik kan kültüründen 30 hücre analiz edildi. 21 hücre 46, XY kromozom yapısında bulundu. Diğer 9 metafaz klonal olmayan sayısal ve yapısal anomaliler taşıyordu ve iki hücre near-haploid (24, 25), 6 hücre near-diploid (38~46), bir hücre ise near-tetraploid (91) seviyedeydi.

Olgu 23 (T-51, G-1654, M.T.):

Yaş: 60

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1 paket/gün (30 yıldır)

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

Tümör ve normal doku kültürlerinde hücreler kültür kabının yüzeyine tutunmadıkları için üreme elde edilemedi.

Periferik kan kültüründen 30 hücre analiz edildi. 28 hücrede 46, XY kromozom yapısı gözlemlendi. Bu hücrelerin ikisinde çeşitli kromozomlar arasında telomer assosiyasyonları tespit edildi. Yine near-diploid seviyede olan diğer iki hücrede ise klonal olmayan kromozomal anomaliler bulundu.

Olgu 24 (T-53, G-1689, K.A.):

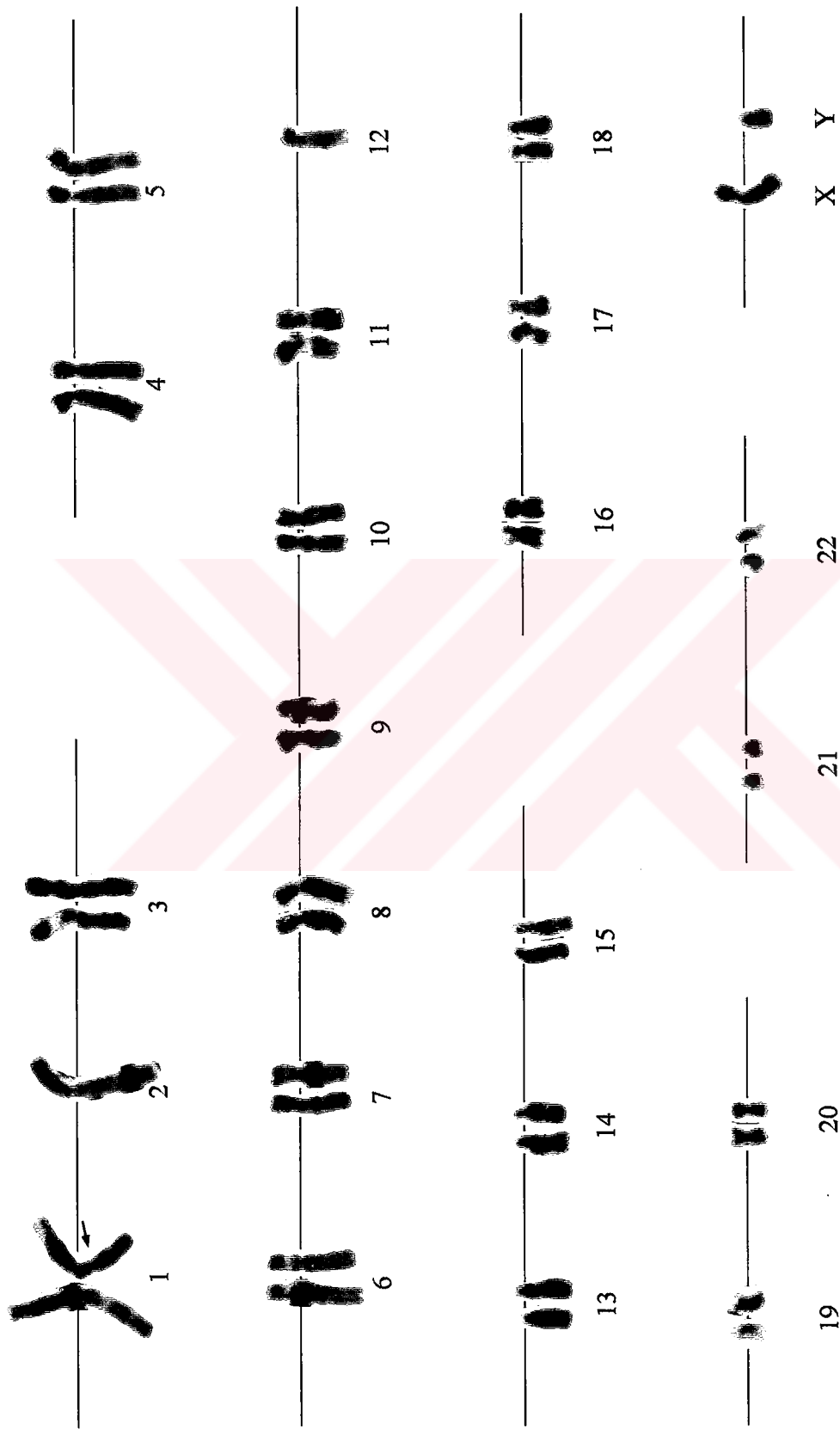
Yaş: 46

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1 paket/gün (30 yıldır)

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.



Şekil IV.15 Olgu 22'nin tümör dokusuna ait karyogram örneği

Tümör dokusu kültürlerinde üreme sağlandı. Çıkış işlemleri 31. günde gerçekleştirildi. Hazırlanan preparatlardan toplam 56 hücre incelendi. Bunlardan 29'u analiz edildi, 23'ü sayıldı, 4'ünde ise prematür sentromer ayrılması saptandı. Analiz edilen hücrelerden 3'ü 46, XY kromozom yapısında bulundu. Kalan 26 hücre basit ya da kompleks anormal karyotip taşıyordu. Bu 26 hücrenin biri near-haploid (25), 18'i near-diploid (35~55), 3'ü near-triploid (64~74), 4'ü de near-tetraploid (89~93) seviyedeydi. Sayılan 23 hücrenin ise biri near-haploid (28), 13'ü near-diploid (37~54), 4'ü near-triploid (64~79) ve 5'i de near-tetraploid (82~94) seviyede bulundu. Derlenen kompozit karyotip aşağıda görülmektedir.

25~55, <2n>, XY, -X [3], +X [2], +Y [2], -1 [5], -2 [4], +2 [2], +2 [2], -3 [5], +3 [3], +3 [2], -4 [3], -5 [8], -6 [4], +6 [3], -7 [4], -8 [3], -9 [5], +9 [2], +10 [3], -12 [5], +12 [2], -13 [5], -14 [3], -15 [5], -16 [6], +16 [2], -17 [4], -18 [4], +18 [2], -19 [12], -21 [8], -21 [3], -22 [6], +22 [2] [cp 18]/64~91, <4n>, XXYY, -Y [4], -3 [4], -5 [3], -7 [3], -8 [3], -9 [3], -12 [3], -15 [3], -19 [3], -20 [3], -20 [3], -21 [3], -22 [3] [cp 6]/46, XY [3]

Şekil IV.16'da Olgu 24'ün tümör dokusu kültürüne ait karyogram örneği görülmektedir.

Olgu 24'ün normal doku örneği kültüründe de üreme elde edildi. Kültür çıkışı 31. günde yapıldı. Fakat hazırlanan preparatlarda değerlendirilebilir metafaz bulunamadı.

Periferik kan kültüründen 30 metafaz analiz edildi. 21 metafazda 46, XY kromozom yapısı saptandı. 4 metafaz near-haploid (22~27), 4 metafaz near-diploid (45, 46), bir metafaz ise tetraploid (92,XXYY) seviyedeydi. Near-haploid hücrelerde klonal ve klonal olmayan sayısal anomaliler saptandı. Near-diploid hücrelerde ise klonal olmayan sayısal ve yapısal kromozom anomalileri gözlemlendi. Derlenen kompozit karyotip aşağıda görülmektedir.

22~27, X, -X [4], +Y [2], +2 [2], +11 [2], +18 [3], +19 [2], +22 [2] [cp 4]/46, XY [21]

Olgu 25 (T-54, G-1688, F.İ.):

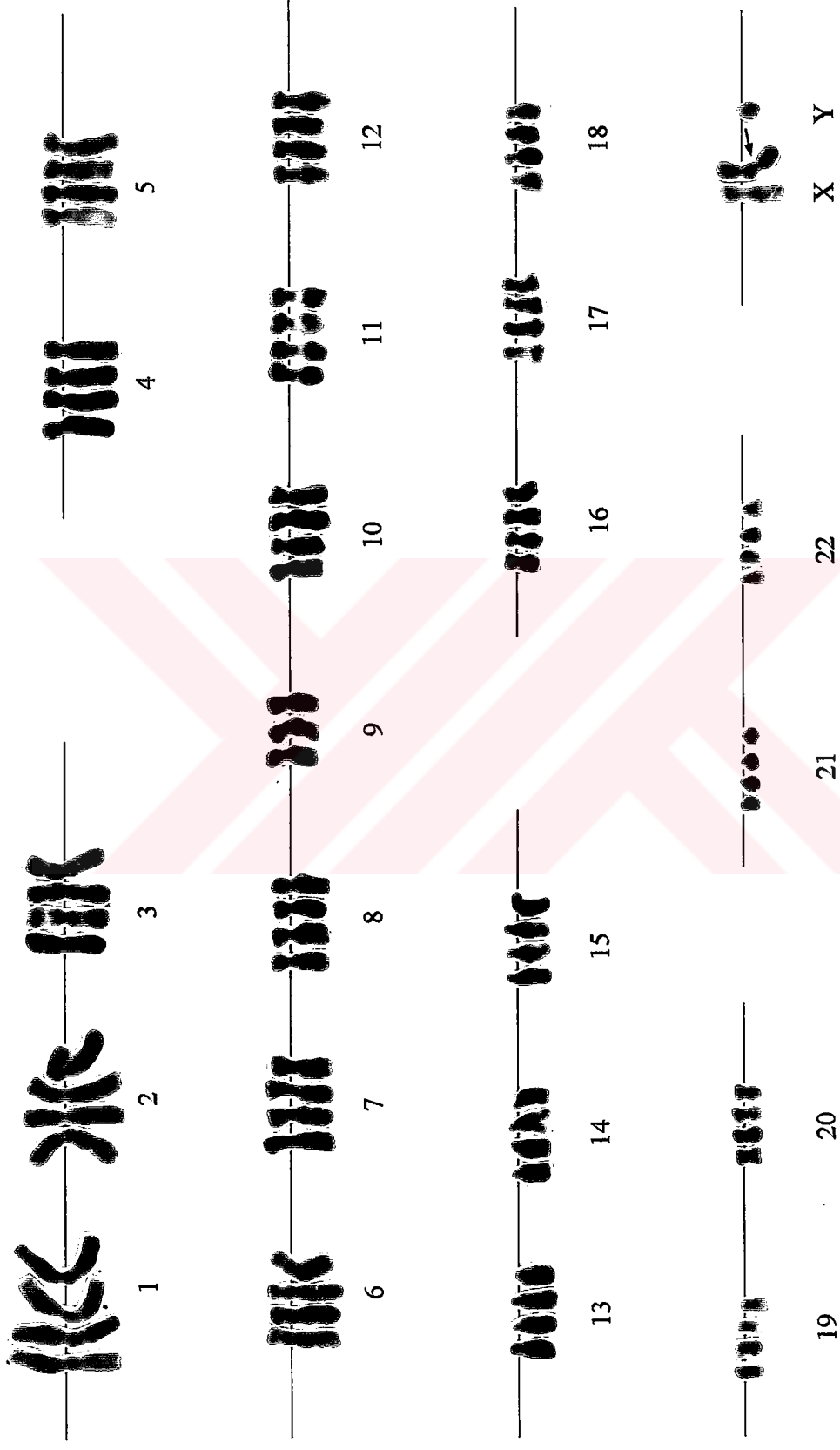
Yaş: 65

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 2 paket/gün (30 yıl içmiş, 2 yıldır içmiyor)

Materyal: Tümör dokusundan bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.



Şekil IV.16 Olgu 24'ün tümör dokusuna ait karyogram örneği

Tümör dokusu kültüründe üreme elde edildi. Kültür çıkışı 37. günde yapıldı. Hazırlanan preparatlardan toplam 42 metafaz incelendi. Bu metafazların 25'i analiz edildi, 13'ü sayıldı, ikisinde endoreduplikasyon ve ikisinde de prematür sentromer ayrılması gözlemlendi. Analiz edilen metafazların 3'ü 46, XY kromozom yapısındaydı. Bir hücre 45, X, -Y karyotipine sahipken, 21 hücre kompleks karyotip taşıyordu ve hepsinde de klonal anomaliler vardı. Bu hücrelerin 7'si near-haploid (21~32), 11'i near-diploid (39~57), 3'ü ise near-triploid (70~79) seviyedeydi. Klonal anomali taşıyan hücrelerden derlenen kompozit karyotip aşağıda görülmektedir. (45, X,-Y yapısındaki hücre kompozit karyotipe dahil değil). Sayılan 13 hücrenin ise 2'si near-haploid (16, 33) iken, 7'si near-diploid (36~55), 2'si near-triploid (64, 68) ve 2'si de near-tetraploid (87, 90) olarak saptandı.

21~32, X or Y, -X [3], +1 [5], +2 [2], +4 [2], +6 [3], +7 [2], +8 [2], +9 [2], +10 [3], +11 [6], +12 [4], +13 [3], +14 [4], +15 [3], +17 [3], +20 [3], -21 [3], +22 [4] [cp 7]/39~79, <2n>, XY, +X [2], -Y [8], +Y [2], +1 [4], +1 [2], +2 [3], +2 [2], +3 [4], +4 [2], +5 [2], -6 [3], +7 [4], -8 [3], +8 [2], +9 [2], -10 [3], +10 [3], +11 [2], +12 [3], +13 [4], +13 [2], +14 [3], +15 [3], -16 [3], +16 [2], +16 [2], +17 [4], +17 [2], +18 [4], +18 [3], -19 [3], +19 [3], +19 [2], +20 [3], +20 [2], +21 [2], -22 [4], +22 [2] [cp 14]/46, XY [3]

Şekil IV.17'de Olgu 25'in tümör dokusu kültürüne ait karyogram örneği görülmektedir.

Olgu 25'in periferik kan kültüründen ise toplam 32 metafaz incelendi. 30 metafaz analiz edildi. 18 metafaz 46,XY kromozom yapısında bulundu. 5 metafaz near-haploid (14~32) seviyedeydi ve klonal ve klonal olmayan sayısal anomaliler taşıyorlardı. 7 hücre near-diploid (36~47) seviyede olup klonal olmayan basit ya da kompleks kromozom anomalileri gösteriyorlardı. Bir hücre sayıldı ve near-tetraploid (81) seviyede bulundu. Ayrıca bir de sayılamayacak kadar karışık poliploid hücre gözlemlendi. Klonal kromozom anomalisi taşıyan hücrelerden derlenen kompozit karyotip aşağıda görülmektedir.

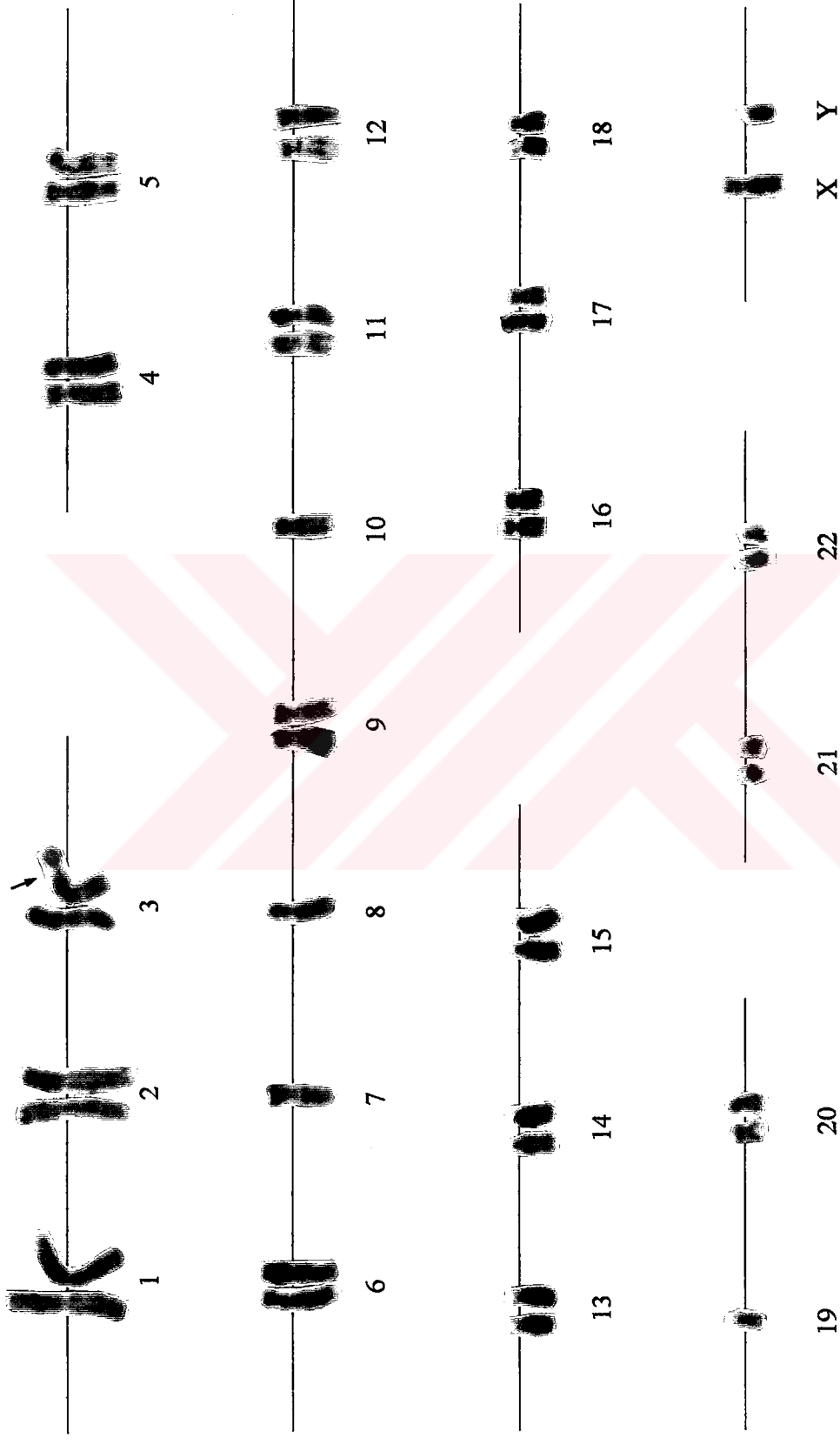
14~32, X, -X [4], +1 [2], -4 [3], +5 [2], +6 [2], +8 [2], +11 [3], +12 [3], +13 [2], -14 [3], +16 [2], +17 [2], +19 [3], +21 [2] [cp 5]/46, XY [18]

Olgu 26 (T-56, G-1773, H.K.):

Yaş: 64

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1 paket/gün (40 yıldır)



Şekil IV.17 Olgu 25'in tümör dokusuna ait karyogram örneği

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

Olgu 26'ya ait tümör ve normal doku örneklerinden yapılan kültürlerde hücreler kültür kabının yüzeyine tutunmadıkları için üreme olmadı.

Periferik kan kültüründen 50 hücre incelendi. Bu hücrelerin 30'u analiz edildi. 23 metafazda 46, XY kromozom yapısı saptandı. 7 metafazda klonal olmayan basit sayısal ya da yapısal kromozom anomalileri saptandı. Bu anomalilerden biri olan inv(14)(q11q34) bulgusu Olgu 28'in periferik kan kültüründe de bir hücrede gözlemlendiğinden, 20 metafaz daha inv(14) açısından incelendi. Fakat ikinci bir inv(14) taşıyan hücre bulunamadı. Bir hücrede ise endoreduplikasyon gözlemlendi.

Olgu 27 (T-57, G-1783 H.Y.):

Yaş: 65

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1,5 paket/gün (40 yıldır)

Materyal: Tümör dokusundan bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Nonspesifik kronik iltihap

Çalışmadan çıkartıldı.

Olgu 28 (T-58, G-1784, A.G.):

Yaş: 67

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 2 paket/gün (30 yıldır)

Materyal: Tümör dokusundan bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

Tümör dokusu kültüründe üreme elde edildi. Çıkış işlemleri 30. günde gerçekleştirildi. Hazırlanan preparatlardan toplam 40 metafaz incelendi. Bu metafazların 11'i analiz edildi, 28'i sayıldı, birinde ise prematür sentromer ayrılması saptandı. Analiz edilen hücrelerden sadece biri 46, XY kromozom yapısındaydı. Diğer 10 hücrenin biri near-haploid (24), 5'i near-diploid (41~45), biri near-triploid (79), ikisi near-tetraploid (90, 92), biri de near-pentaploid (111) seviyedeydi ve klonal olmayan yapısal anomalilerin yanısıra kimi klonal, kimi klonal olmayan

çeşitli sayısal anomaliler taşıyorlardı. Klonal anomali taşıyan hücrelerden derlenen kompozit karyotip aşağıda görülmektedir. Sayılan 28 hücrenin ise 5'i near-haploid (25~32), 10'u near-diploid (39~55), 6'sı near-triploid (62~79), 6'sı near-tetraploid (83~91) ve biri de near-pentaploid (113) seviyedeydi.

24~44, <2n>,XY, -13 [3], -19 [3] [cp 4]/92~111,<4n>,XXYY,+16 [2], +18 [2], +20 [2], +21 [2] [cp 2]

Olgu 28'in periferik lenfosit kültüründen 30 metafaz analiz edildi. 20 metafazda 46, XY kromozom yapısı saptandı. 3 metafazda 46, XY, 15ps+ karyotipi gözlemlendi. 7 metafazda klonal olmayan sayısal ya da yapısal kromozom anomalileri vardı. Bu anomalilerden biri olan inv(14)(q11q32) bulgusu Olgu 26'nın periferik lenfosit kültüründe de bir hücrede gözlemlendiğinden, 20 metafaz daha inv(14) yönünden incelendi fakat ikinci bir inv(14) taşıyan hücre bulunamadı.

Olgu 29 (T-61, K.K):

Yaş: 79

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 3 paket/gün (40 yıldır)

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali (Yedikule Göğüs Hastalıkları Hastanesi)

Patolojik Tanı: Skuamöz hücreli ca.

Tümör dokusu kültüründe üreme oldu. Çıkış işlemleri 30. günde gerçekleştirildi. Hazırlanan preparatlardan 39 metafaz incelendi. Bu metafazların 19'u analiz edildi, 16'sı sayıldı, birinde endoreduplikasyon ve 3'ünde prematür sentromer ayrılması saptandı. Hiç normal kromozom yapılı (46, XY) hücre gözlenmedi. 5 hücrede 45, X, -Y kromozom yapısı saptandı. Bu hücreler kompozit karyotipe dahil edilmedi. Diğer 14 hücre basit ya da kompleks kromozom anomalileri taşıyordu. Bu hücrelerin 4'ü near-haploid (22~34), 8'i near-diploid (35~46) ve 2'si de near-triploid (76, 77) seviyedeydi. Klonal anomali taşıyan kompleks karyotipli hücrelerden derlenen kompozit karyotip aşağıda görülmektedir. Sayılan 16 hücrenin ise 4'ü near-haploid (20~29), 10'u near-diploid (36~46), biri near-triploid (78) ve biri de near-tetraploid (81) seviyedeydi.

22~77,<2n>,XY, -X [5], -Y [6], -1 [3], +1 [2], +2 [2], -3 [3], +3 [2], +3 [2], -4 [2], +4 [2], -5 [3], +5 [2], +5 [2], -6 [4], +6 [2], -7 [4], +7 [2], -8 [4], +8 [2], -9 [3], +9 [3], -10 [4], -11

[6], -12 [4], +12 [2], +12 [2], -13 [5], +13 [2], -14 [5], -15 [7], -16 [5], +16 [2], -17 [3], -18 [7], +18 [2], +18 [2], -19 [5], +19 [2], +19 [2], -20 [4], -21 [7], +21 [2], -22 [5], -22 [3], +22 [2], +22 [2] [cp 14]/45, X, -Y [5]

Şekil IV.18’de Olgu 29’un tümör dokusu kültürüne ait karyogram örneği görülmektedir.

Normal doku örneğinden yapılan kültürlerde hücreler kültür kabının yüzeyine tutunmadıkları için üreme elde edilemedi.

Olgu 30 (T-66, G-1951, M.Y.İ.):

Yaş: 67

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 2-3 paket/gün (40 yıl içmiş, 5 yıl ara vermiş, tekrar ~1 paket /gün içmiş, 15 gündür içmiyor).

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Nonspesifik kronik bronşit

Çalışmadan çıkartıldı.

Olgu 31 (T-67, G-1980, H. K.):

Yaş: 60

Cinsiyet: Erkek

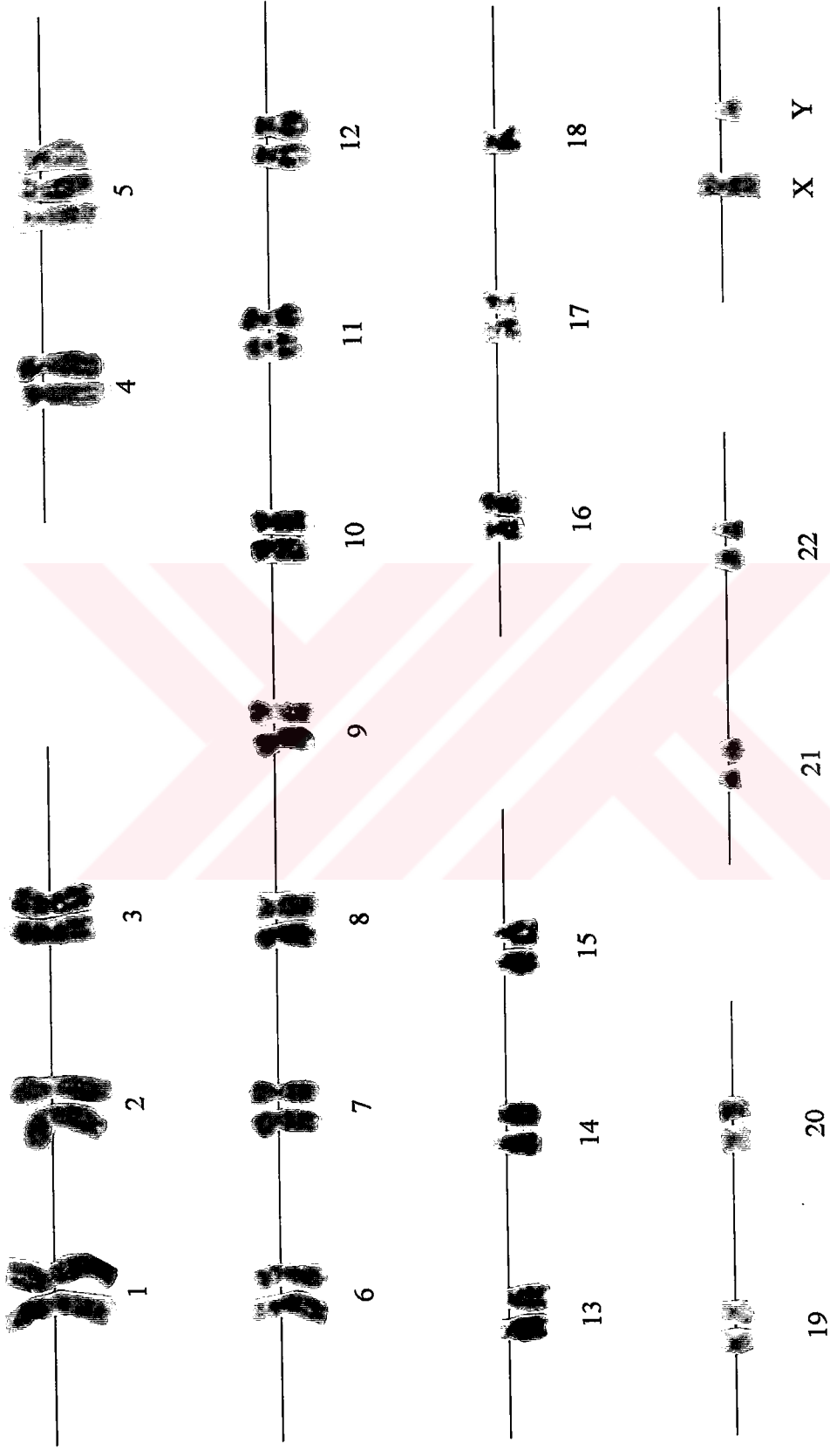
Sigara: 2 paket/gün (40 yıldan fazla içmiş, 4 aydır içmiyor).

Materyal: Tümör dokusundan bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

Olgu 31’in tümör dokusundan yapılan kültürlerde üreme elde edildi. Çıkış işlemleri 18. günde gerçekleştirildi. Hazırlanan preparatlardan toplam 16 hücre incelendi. Bu hücrelerden 4’ü analiz edildi ve 12’si sayıldı. Analiz edilen hücrelerin biri 46, XY kromozom yapısındaydı. Klonal olmayan kromozom anomalileri taşıyan diğer hücrelerin biri near-haploid (23) ploidi seviyesindeyken, diğer ikisi near-diploid (42, 46) idi. Sayılan 12 hücreden ise biri near-haploid (34), kalan 11 tanesi near-diploid (36~45) seviyedeydi. Şekil IV.19’da Olgu 31’in tümör dokusu kültürüne ait karyogram örneği görülmektedir.

Olgu 31’in periferik lenfosit kültüründen 30 metafaz analiz edildi. 17 metafazda 46, XY kromozom yapısı saptandı. 13 metafaz ise basit ya da kompleks kromozom anomalileri



Şekil IV.18 Olgu 29'un tümör dokusuna ait karyogram örneği



Şekil IV.19 Olgu 31'in tümör dokusuna ait karyogram örneği

içeriyordu. Bu hücrelerin 5'i near-haploid (20~33), 8'i ise near-diploid (39~47) seviyedeydi. Klonal anomali taşıyan hücrelerden derlenen kompozit karyotip aşağıda görülmektedir.

20~45,<2n>,XY, -1[3], -2 [5], -3 [6], -4 [4], -5 [7], -5 [3], -7 [6], -8 [4], -9 [3], -10 [4], -10 [4], -11 [5], -12 [5], -13 [4], -15 [3], -16 [4], -17 [5], -18 [5], -19 [3], -21 [5], -22 [4] [cp 12]

Olgu 32 (T-70, M.Ş.):

Yaş:66

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1,5 paket/gün (40 yıldır)

Materyal: Tümör dokusundan bronkoskopik biyopsi materyali (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

Olgu 32'nin tümör dokusu kültüründe üreme oldu. Kültür çıkışı 16. günde yapıldı. Hazırlanan preparatlardan toplam 9 metafaz incelendi. Bu metafazların 5'i analiz edildi ve 4'ü sayıldı. Hiç normal (46, XY) kromozom yapısında hücreye rastlanmadı. Analiz edilen 5 metafazın ikisi near-haploid (24, 30), ikisi near-diploid (45, 46), biri de near-tetraploid (90) seviyedeydi ve klonal olmayan basit ya da kompleks kromozom anomalileri içeriyorlardı. Sayılan 4 metafazın hepsi de near-diploid seviyedeydi (39~44).

Olgu 33 (T-71, G-2025, T.K.):

Yaş: 54

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 3 paket/gün (19 yıldır)

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri

Olgu 33'ün tümör dokusu kültüründe üreme oldu. Çıkış işlemleri 35. günde yapıldı. Toplam 40 metafaz incelendi. Bu metafazların 8'i analiz edildi ve 32'si sayıldı. Analiz edilen hücrelerden ikisi 46, XY kromozom yapısındaydı. İki hücrede basit kromozom anomalileri bulunurken, 4 hücre kompleks karyotip taşıyordu. Bu hücrelerin 3'ü near-diploid (42~44) seviyedeyken, bir hücre near-tetraploid (89) idi. Derlenen karyotip formülü aşağıda

görülmektedir. Sayılan 32 metafazın ise 3'ü near-haploid (13~32), 26'sı near-diploid (38~48) ve 3'ü de near-tetraploid (82~86) seviyedeydi.

42~44, XY, -19 [3] [cp 3]/46, XY [2]

Olgu 33'ün normal doku kültüründe ise çıkış işlemleri için yeterli üreme elde edilemedi.

Periferik kan kültüründen 30 metafaz analiz edildi. 26 hücre 46, XY kromozom yapısında bulundu. Diğer 4 metafazda ise klonal olmayan basit ya da kompleks kromozom anomalileri gözlemlendi.

Olgu 34 (T-74, G-2026, F. K.):

Yaş:57

Cinsiyet: Kadın

Sigara: 10-15 adet/gün (40 yıldır)

Materyal: Tümör dokusundan bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Küçük hücreli ca.

Olgu 34'ün tümör dokusu örneğinden yapılan kültürlerde hücreler kültür kabının yüzeyine tutunmadıkları için üreme elde edilemedi.

Periferik kan kültüründen toplam 59 metafaz incelendi. Bu metafazların 31'i analiz edildi, 24'ü sayıldı ya da marker kromozomlar açısından incelendi. Üç hücrede endoreduplikasyon, birinde de prematür sentromer ayrılması saptandı. Analiz edilen hücrelerin 6'sında 46,XX kromozom yapısı saptandı. 25 hücrede ise basit ya da kompleks anormal karyotipler gözlemlendi. 20 hücre near-diploid (39~49), bir hücre near-triploid (74), 4 hücre ise near-tetraploid (87~91) seviyedeydi. Sayılan ve marker aranan hücrelerin 13'ü near-diploid (39~46), 3'ü near-triploid (71~80), 6'sı near-tetraploid (86~94), biri near-oktaploid (185?) seviyedeydi, bir poliploid hücre ise sayılamayacak kadar karışıktı. İncelenen metafazlarda klonal ve klonal olmayan çok sayıda yapısal ya da sayısal kromozom anomalisi gözlemlendi. Derlenen karyotip formülü aşağıda görülmektedir.

39~92, <2n>, XX, -X [4], +X [4], +X [2], del (X)(q25) [2], +1 [2], del (1)(q21) [2], -2 [3], +2 [4], +2 [3], +2 [2], +3 [5] +3 [4], inv (3)(p14q29) [2], +4 [4], +4 [4], +5 [5], +5 [4], del (5)(p13) [2], +6 [4], +6 [4], +7 [4], +7 [2], +8 [5], +8 [4], +9 [4], +9 [3], +10 [4], +10 [4], +11 [4], +11 [3], +12 [5], +12 [4], +13 [5], +13 [4], der (13)t(2;13)(q14;q22) [6], +14 [5], +14 [3],

+15 [3], +15 [2], del (15)(q22) [2], +16 [5], +16 [4], -17 [3], +17 [3], +17 [2], +18 [5], +18 [5], +19 [5], +19 [5], +20 [5], +20 [4], +21 [4], +21 [3], +21 [2], +22 [5], +22 [3], +22 [2], +mar 3 [2], +mar 5 [3], +mar 8 [2], +mar 11 [3], +mar 11 [2], +mar15 [3], +mar 15 [2], +mar 16 [4], +mar 16 [2], +dicmar 2 [4], +dicmar 3 [2], +dicmar 6 [3], ace 1 [5], ace 2 [2], ace 3 [2], ace 4 [4], min [3], dmin(s) [19] [cp 20]/46,XX [6]

Klonal olmamakla birlikte, 3 numaralı kromozoma ait şu anomaliler de birer metafazda gözlenmiştir: del (3)(p14?p23?), del (3)(p10), add (3)(q25), inv (3)(q13q28) ve t(3;9)(q21,p24).

Şekil IV.20, Şekil IV.21 ve Şekil IV.22’de, Olgu 34’ün periferik kan kültürüne ait karyogram örnekleri görülmektedir.

Olgu 35 (T-75, İ.T.):

Yaş: 64

Cinsiyet: Erkek

Sigara: Hiç içmemiş.

Materyal: Tümör dokusundan bronkoskopik biyopsi materyali (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

Yapılan kültürlerde üreme elde edildi. Çıkış işlemleri 33. günde gerçekleştirildi. Hazırlanan preparatlardan toplam 35 metafaz incelendi. Bu metafazların 10’u analiz edildi ve 23’ü sayıldı. Bir metafazda endoreduplikasyon ve bir metafazda prematür sentromer ayrılması gözlemlendi. Analiz edilen 10 metafazın 4’ünde 46, XY kromozom yapısı saptandı. Bir metafazda 45, X, -Y karyotipi gözlemlendi. Near-diploid seviyede olan diğer 5 metafaz ise klonal olmayan basit ya da kompleks kromozom anomalileri taşıyordu. Sayılan 23 metafazın 4’ü near-haploid (24~33), 17’si near-diploid (39~52), biri near-triploid (73), biri de near-tetraploid (85) seviyedeydi.

Olgu 36 (T-76, G-2049, E.Y.):

Yaş: 54

Cinsiyet: Erkek

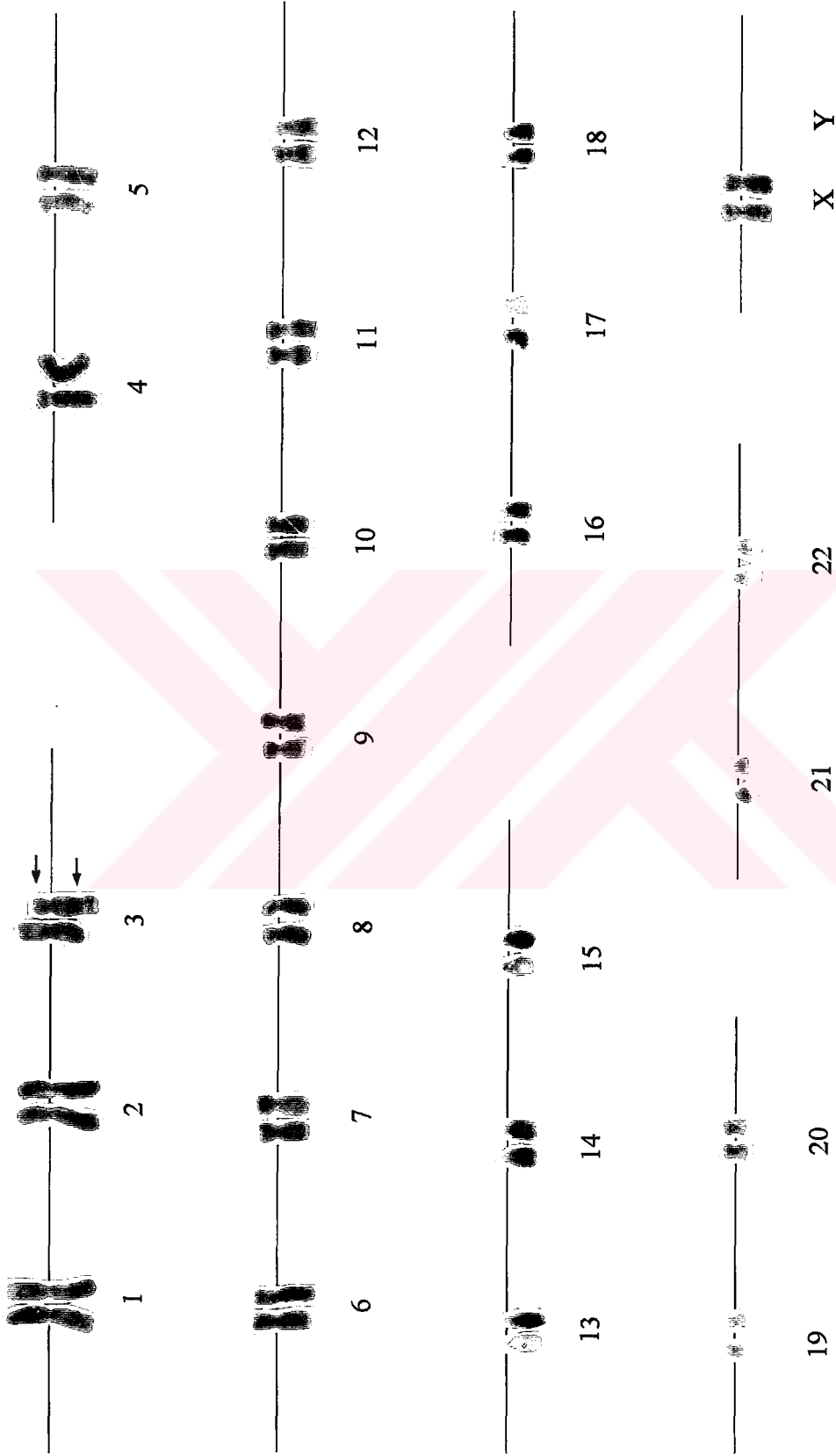
Sigara: 1-1,5 paket/gün (40 yıldır)

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

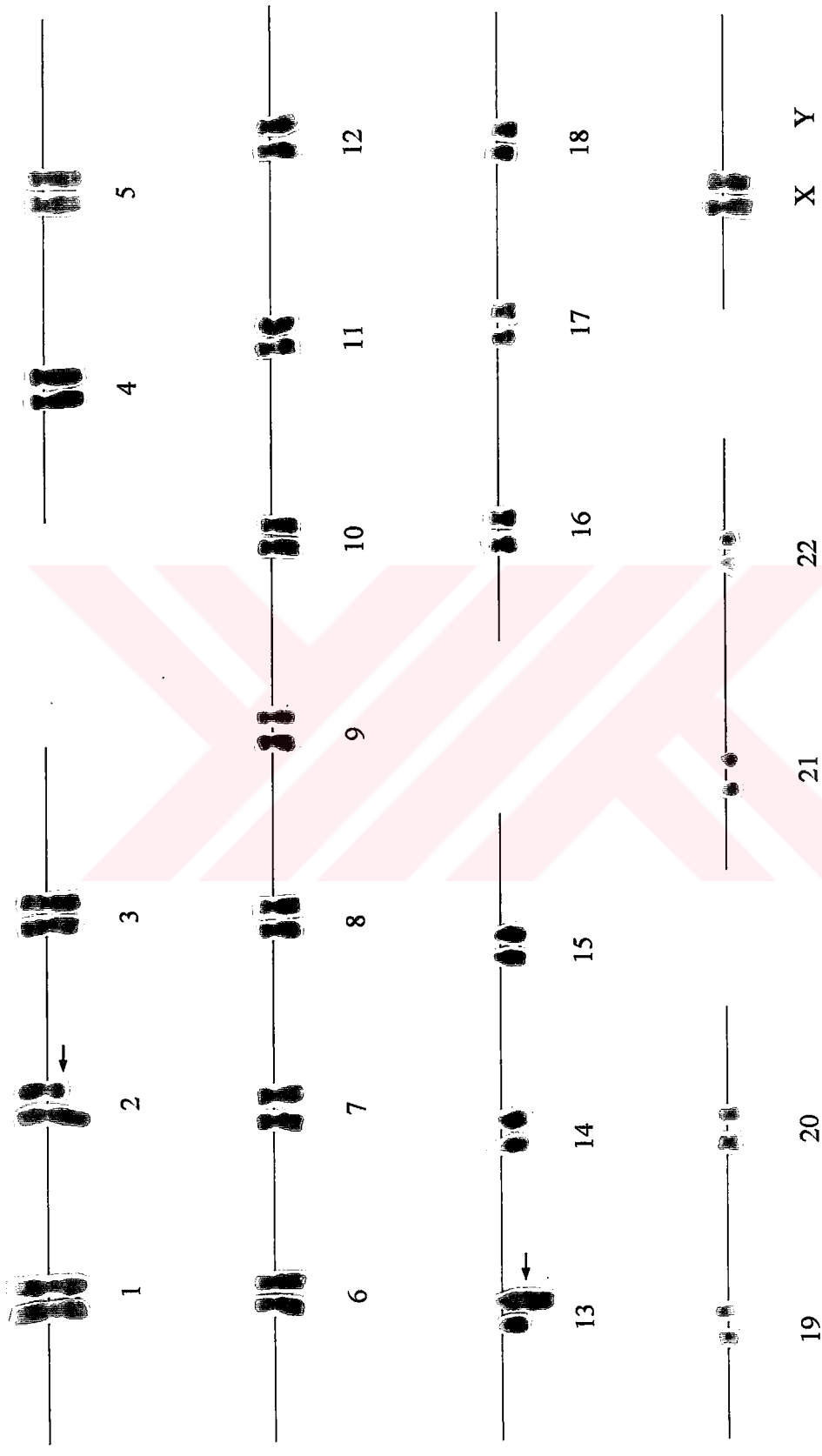
Patolojik Tanı: Küçük hücreli ca.



Şekil IV.20 Olgu 34'ün periferik kan kültürüne ait karyogram örneği



Şekil IV.21 Olgu 34'ün periferik kan kültürüne ait karyogram örneği



Şekil IV.22 Olgu 34'ün periferik kan kültürüne ait karyogram örneği

Tümör dokusu örneğinden yapılan kültürlerde hücreler kültür kabının yüzeyine tutunmadıkları için üreme olmadı.

Normal doku örneğinden yapılan kültürlerde üreme elde edilmekle birlikte, çıkış işlemleri için yeterli üreme sağlanamadı.

Periferik kan kültüründen toplam 30 metafaz incelendi. 23 metafazda 46, XY kromozom yapısı saptandı. 4 metafazda klonal olmayan basit kromozom anomalileri görüldü. İki metafazda endoreduplikasyon gözlemlendi. Bir de near-tetraploid seviyede hücre saptandı.

Olgu 37 (T-79, G-2073, O.M.):

Yaş: 53

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1 paket/gün (30 yıldır)

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Lejyonella pnömonisi

Çalışmadan çıkartıldı.

Olgu 38 (T-80, G-2234, H.T.):

Yaş: 71

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 2 paket/gün (50 yıl içmiş, 9 yıldır içmiyor).

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Küçük hücreli ca.

Tümör ve normal doku örneklerinden yapılan kültürlerde üreme olmakla birlikte, çıkış işlemleri için yeterli değildi.

Periferik kan kültüründen toplam 30 metafaz incelendi. 27 metafazda 46, XY kromozom yapısı saptandı. 3 metafazda ise klonal olmayan basit kromozom anomalileri gözlemlendi.

Olgu 39 (T-81, G-2234, H.S.):

Yaş: 72

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 1,5 paket/gün (40 yıldır)

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

Tümör ve normal doku örneklerinden yapılan kültürlerde üreme olmakla birlikte, çıkış işlemleri için yeterli değildi.

Periferik kan kültüründen toplam 30 metafaz incelendi. 19 metafazda 46, XY, 1qh+ kromozom yapısı saptandı. İki metafazda 45,X,-Y,1qh+ karyotipi gözlemlendi. Near-diploid seviyedeki 9 metafazda klonal olmayan basit ya da kompleks kromozom anomalileri vardı.

Olgu 40 (T-82, G-2239, Y. K.):

Yaş: 66

Cinsiyet: Erkek

Sigara: 15-16 adet/gün (40 yıldır)

Materyal: Tümör dokusu ve normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı).

Patolojik Tanı: Skuamoz hücreli ca.

Tümör ve normal doku örneklerinden yapılan kültürlerde hücreler kültür kabının yüzeyine tutunmadıkları için üreme elde edilemedi.

Periferik kan kültüründen toplam 30 metafaz incelendi. Bu metafazların 26'sı analiz edildi ve 4'ü sayıldı. Analiz edilen metafazların hepsi near-diploid seviyedeydi. 19 metafazda 46, XY kromozom yapısı saptandı. 7 metafazda klonal olmayan basit ya da kompleks kromozom anomalileri gözlemlendi. Sayılan 4 metafazın ise ikisi near-triploid (64, 78), ikisi ise near-tetraploid (89, 92) seviyedeydi.

Tümör dokularından karyotip tayini yapılan olguların tümör dokularına ait karyotip formülleri toplu halde Tablo. IV.4'de görülmektedir.

Tablo IV.4 Olguların tümör dokularına ait karyotip formülleri

Olgu No.	Kanser Tipi	Karyotip
Olgu 2	Küçük hücreli	Klonal olmayan anomaliler (iki hücre), 46, XY [3]
Olgu 4	Skuamoz hücreli	Klonal olmayan anomaliler? (12 hücre), 46, XY [3]
Olgu 6	Adeno karsinom	45~70, <2n>, XY, dicmar [4], dmin [3] [cp 4]/46, XY [6]
Olgu 9	Skuamoz hücreli	22~57, <2n>, XY, -Y [7], +Y [2], -2 [4], -3 [4], del(3)(q24q26) [2], -6 [6], -7 [3], -9 [8], -10 [4], -11 [5], del(11)(q23) [2], -13 [4], -15 [6], +15 [2], -17 [6], -18 [4], -19 [3], -20 [6], -21 [4], -22 [5], del(22)(q13) [2] [cp 26]/46, XY [4]
Olgu 12 T-34	Skuamoz hücreli	21~32, X, -X [4], +Y [4], +1 [4], +2 [5], +3 [5], add(3)(p25) [2], +4 [5], +5 [3], +6 [5], +8 [4], +9 [6], +10 [2], +12 [5], +13 [4], -14 [3], +14 [5], +15 [3], +16 [4], -17 [3], +17 [2], -18 [4], +19 [2], +21 [5], +22 [2] [cp 9] / 35~63, <2n>, XY, -Y [4], -2 [3], +4 [2], -5 [3], -6 [3], del(6)(p21p21) [3], -7 [4], -8 [3], -9 [7], -10 [3], -12 [5], -13 [7], +13 [2], -14 [6], -15 [7], -16 [5], -17 [6], -18 [3], -19 [4], -20 [8], -21 [9], -22 [6], +mar [3] [cp 25]
Olgu 12 T-35	Skuamoz hücreli	29~49, <2n>, XY, -X [4], -1 [4], -2 [4], -3 [4], -4 [4], -5 [5], -6 [4], t(6;8)(q21;q24) [3], -7 [5], -8 [4], -9 [4], -10 [3], -11 [3], der(11)del(11)(p11.2p13)dup(11)(p11.1p12)? [2], -12 [4], -14 [3], -16 [4], -17 [6], -18 [4], -19 [4], -20 [8], -21 [4], -22 [4] [cp 20]/52~91, <4n>, XXYY, -5 [3], -7 [4], -9 [3], -14 [3], i(15)(q10) [2], -16 [3], -21 [3] [cp 4]/46, XY [11]
Olgu 17	Skuamoz hücreli	32~51, <2n>, XY, -X [4], -1 [3], del(1)(p13?p31)? [2], -3 [3], -7 [5], -8 [3], -9 [5], -11 [4], -15 [4], +15 [2], -17 [5], -18 [4], +18 [2], -21 [4], -22 [3] [cp 17]/72~89, <4n>, XXY, -Y [5], -3 [3], -5 [4], -6 [3], -7 [3], -15 [3], -20 [3] [cp 5]/46, XY [11]

Tablo IV. 4 (devam)

Olgu 20	Adeno karsinom	17~34, X, +1 [2], +4 [3], +5 [2], +9 [4], +12 [2], -13 [3], +14 [2], +16 [2], +21 [2] [cp 4]/46, XX [3]
Olgu 22	Skuamoz hücreli	36~46, XY, -X [3], -4 [3], -6 [3], add(11)(q13) [3], -12 [3], -16 [3] [cp 11]
Olgu 24	Skuamoz hücreli	25~55, <2n>, XY, -X [3], +X [2], +Y [2], -1 [5], -2 [4], +2 [2], +3 [5], +3 [3], +3 [2], -4 [3], -5 [8], -6 [4], +6 [3], -7 [4], -8 [3], -9 [5], +9 [2], +10 [3], -12 [5], +12 [2], -13 [5], -14 [3], -15 [5], -16 [6], +16 [2], -17 [4], -18 [4], +18 [2], -19 [12], -21 [8], -21 [3], -22 [6], +22 [2] [cp 18]/64~91, <4n>, XXYY, -Y [4], -3 [4], -5 [3], -7 [3], -8 [3], -9 [3], -12 [3], -15 [3], -19 [3], -20 [3], -20 [3], -21 [3], -22 [3] [cp 6]/46, XY [3]
Olgu 25	Skuamoz hücreli	21~32, X or Y, -X [3], +1 [5], +2 [2], +4 [2], +6 [3], +7 [2], +8 [2], +9 [2], +10 [3], +11 [6], +12 [4], +13 [3], +14 [4], +15 [3], +17 [3], +20 [3], -21 [3], +22 [4] [cp 7]/39~79, <2n>, XY, +X [2], -Y [8], +Y [2], +1 [4], +1 [2], +2 [3], +2 [2], +3 [4], +4 [2], +5 [2], -6 [3], +7 [4], -8 [3], +8 [2], +9 [2], -10 [3], +10 [3], +11 [2], +12 [3], +13 [4], +13 [2], +14 [3], +15 [3], -16 [3], +16 [2], +17 [4], +17 [2], +18 [4], +18 [3], -19 [3], +19 [2], +20 [3], +20 [2], +21 [2], -22 [4], +22 [2] [cp 14]/46, XY [3]
Olgu 28	Skuamoz hücreli	24~44, <2n>, XY, -13 [3], -19 [3] [cp 4]/92~111, <4n>, XXYY, +16 [2], +18 [2], +20 [2], +21 [2] [cp 2]
Olgu 29	Skuamoz hücreli	22~77, <2n>, XY, -X [5], -Y [6], -1 [3], +1 [2], +2 [2], -3 [3], +3 [2], +3 [2], +3 [2], -4 [2], +4 [2], -5 [3], +5 [2], +5 [2], -6 [4], +6 [2], -7 [4], +7 [2], -8 [4], +8 [2], -9 [3], +9 [3], -10 [4], -11 [6], -12 [4], +12 [2], +12 [2], -13 [5], +13 [2], -14 [5], -15 [7], -16 [5], +16 [2], -17 [3], -18 [7], +18 [2], +18 [2], -19 [5], +19 [2], +19 [2], -20 [4], -21 [7], +21 [2], -22 [5], -22 [3], +22 [2], +22 [2] [cp 14]/45, X, -Y [5]

Tablo IV.4 (devam)

Olgu 31	Skuamoz hücreli	Klonal olmayan anomaliler (üç hücre), 46, XY (bir hücre)
Olgu 32	Skuamoz hücreli	Klonal olmayan anomaliler (beş hücre)
Olgu 33	Küçük hücreli olmayan	42~44, XY, -19 [3] [cp 3]/46, XY [2]
Olgu 35	Skuamoz hücreli	Klonal olmayan anomaliler (beş hücre), 45, X, -Y (bir hücre), 46, XY (dört hücre)

Normal doku örneklerinden karyotip tayini yapılabilen iki olgunun karyotip formülleri aşağıda görülmektedir.

Olgu 12 (T-41) (Skuamoz hücreli ca.): 36~68, <2n>, XY, -Y [12], -3 [3], -7 [3], -10 [3], +13 [2], der(13;22)(q10;q10) [2], -18 [4], -21 [3], +22 [2] [cp 15]/45, X, -Y [3]

Olgu 16 (Skuamoz hücreli ca.): 45, XY, -18 (bir hücre), 45, X, -Y (bir hücre), 46, XY (bir hücre)

Periferik lenfosit kültüründen kromozom analizi yapılan olguların lenfosit kültürü sonuçları toplu halde Tablo. IV. 5 'te görülmektedir.



Tablo IV. 5 Olguların periferik lenfosit kültürlerine ait karyotip formülleri

Olgu No.	Kanser Tipi	Karyotip
Olgu 8	Skuamoz hücreli	40, XY, -6, -10, -11, -11, -18 (bir hücre), 46, XY (4 hücre)
Olgu 9	Skuamoz hücreli	Klonal olmayan anomaliler (5 hücre), 46, XY (15 hücre)
Olgu 12	Skuamoz hücreli	32~43, <2n>, XY, -11 [3], -16 [3], -22 [3] [cp 5]/46, XY [10]
Olgu 17	Skuamoz hücreli	20~45, <2n>, XY, -4 [4], -5 [3], -6 [3], -8 [3], -11 [3], -16 [3], -17 [3], -18 [5], -21 [5], -22 [3] [cp 14]/46, XY [10]
Olgu 18	Skuamoz hücreli	44~45, XY, -22 [3][cp 3]/46, XY [9]
Olgu 19	Küçük hücreli olmayan	Klonal olmayan anomaliler (3 hücre), 46, XY (4 hücre)
Olgu 20	Adeno karsinom	Klonal olmayan anomaliler (9 hücre), 46, XX (18 hücre)
Olgu 22	Skuamoz hücreli	Klonal olmayan anomaliler (9 hücre), 46, XY (21 hücre)
Olgu 23	Skuamoz hücreli	Klonal olmayan anomaliler (2 hücre), 46, XY (28 hücre)

Tablo IV. 5 (devam)

Olgu 24	Skuamoz hücreli	22~27, X, -X [4], +Y [2], +2 [2], +11 [2], +18 [3], +19 [2], +22 [2] [cp 4]/46, XY [21]
Olgu 25	Skuamoz hücreli	14~32, X, -X [4], +1 [2], -4 [3], +5 [2], +6 [2], +8 [2], +11 [3], +12 [3], +13 [2], -14 [3], +16 [2], +17 [2], +19 [3], +21 [2] [cp 5]/46, XY [18]
Olgu 26	Skuamoz hücreli	Klonal olmayan anomaliler (6 hücre), 46, XY, inv(14)(q11q34) (bir hücre), 46, XY (23 hücre)
Olgu 28	Skuamoz hücreli	Klonal olmayan anomaliler (6 hücre), 46, XY, inv(14)(q11q34) (bir hücre), 46, XY, 15ps+ (3 hücre), 46, XY (20 hücre)
Olgu 31	Skuamoz hücreli	20~45, <2n>, XY, -1[3], -2 [5], -3 [6], -4 [4], -5 [7], -5 [3], -7 [6], -8 [4], -9 [3], -10 [4], -10 [4], -11 [5], -12 [5], -13 [4], -15 [3], -16 [4], -17 [5], -18 [5], -19 [3], -21 [5], -22 [4] [cp 12]
Olgu 33	Küçük hücreli olmayan	Klonal olmayan anomaliler (4 hücre), 46, XY (26 hücre)
Olgu 34	Küçük hücreli	39~92, <2n>, XX, -X [4], +X [4], +X [2], del (X)(q25) [2], +1 [2], del (1)(q21) [2], -2 [3], +2 [4], +2 [3], +2 [2], +3 [5] +3 [4], inv (3)(p14q29) [2], +4 [4], +4 [4], +5 [5], +5 [4], del (5)(p13) [2], +6 [4], +6 [4], +7 [4], +7 [2], +8 [5], +8 [4], +9 [4], +9 [3], +10 [4], +10 [4], +11 [4], +11 [3], +12 [5], +12 [4], +13 [5], +13 [4], der (13)(2;13)(q14;q22) [6], +14 [5], +14 [3], +15 [3], +15 [2], del (15)(q22) [2], +16 [5], +16 [4], -17 [3], +17 [3], +17 [2], +18 [5], +18 [5], +19 [5], +19 [5], +20 [5], +20 [4], +21 [4], +21 [3], +21 [2], +22 [5], +22 [3], +22 [2], +mar 3 [2], +mar 5 [3], +mar 8 [2], +mar 11 [3], +mar 11 [2], +mar 15 [3], +mar 15 [2], +mar 16 [4], +mar 16 [2], +dicmar 2 [4], +dicmar 3 [2], +dicmar 6 [3], ace 1 [5], ace 2 [2], ace 3 [2], ace 4 [4], min [3], dmin(s) [19] [cp 20]/46,XX [6]

Tablo IV. 5 (devam)

Olgu 36	Küçük hücreli	Klonal olmayan anomaliler (4 hücre), endoreduplikasyon (2 hücre), 46, XY (23 hücre)
Olgu 38	Küçük hücreli	Klonal olmayan anomaliler (3 hücre), 46, XY (27 hücre)
Olgu 39	Skuamoz hücreli	Klonal olmayan anomaliler (9 hücre), 45, X, -Y, 1qh+ (2 hücre), 46, XY, 1qh+ (19 hücre)
Olgu 40	Skuamoz hücreli	Klonal olmayan anomaliler (7 hücre), 46, XY [19]

V. TARTIŞMA

Bütün kanserlerde olduğu gibi, akciğer kanserlerinde de çeşitli kromozom anomalilerinin önemli olduğu bilinmektedir (40, 43, 89). Akciğer kanserlerinde yapılan çalışmalar daha çok ameliyat materyallerinde, plevra sıvısı örneklerinde, ya da metastatik örneklerde yapılmaktadır ve bu örneklerin kültürde üreme oranı %30-50 arasında değişmektedir (104). Ayrıca her hastaya ameliyat önerilmediği için, primer tümörde inceleme yapılabilecek hasta grubu kısıtlıdır. Bronkoskopik biyopsi materyallerinin ise genellikle çok küçük olduğu ve alındığı bölgenin dış ortamla temasından dolayı steril olmadığı için kültürde üretilmesinin güç olduğu bildirilmektedir. Fakat, bronkoskopik biyopsi materyallerinin kanserin tanı aşamasında elde edilmesi ve gerekirse ilerleyen evrelerde de tekrarlanabilir olması, bu materyallerde sitogenetik inceleme yapılmasını gerekli kılmaktadır.

Çalışmamızda, akciğer kanseri şüphesiyle, tanı amacıyla bronkoskopi yapılan 40 olgudan elde edilen tümör ve normal bronş mukozasına ait bronkoskopik biyopsi materyalleri ve periferik kan örnekleri kültüre edilerek sitogenetik incelemeye tabi tutulmuştur. Elde edilen bulgular literatürle karşılaştırılmış ve literatürdeki bazı bulgularla paralellik olduğu görülürken, daha önce tartışılmamış olan yeni bulgular da saptanmıştır.

Bu bölümde, serimizde yer alan olgulara ait verileri sırasıyla kültür verimliliği, kültür süreleri, ploidi seviyeleri, -küçük hücreli ve küçük hücreli olmayan olgularımız için ayrı ayrı olmak üzere- tümör, normal ve kan dokularında gözlenen sayısal ve yapısal anomaliler açısından irdelleyeceğiz.

Tümör dokusu örneklerinde, çalışılan 40 olgunun 24'ünde üreme sağlanmıştır. Buna göre kültür yönteminin verimliliği %60 olarak saptanmıştır.

Normal doku örneklerinde ise 25 olguya ait örnek çalışılmış ve 13'ünde üreme elde edilmiştir (Verimlilik %52). Normal doku örneklerinde üreme oranının biraz daha düşük olması, alınabilen normal doku parçalarının genellikle tümör dokularından daha az ve kırıntılar şeklinde olmalarına bağlanmıştır.

Kültüre edilen tümör ve normal doku örnekleri birlikte değerlendirildiğinde, 40 olguya ait toplam 68 örnek çalışılmış, 38'inde üreme elde edilmiştir. Buna göre kültür yönteminin verimliliği %56'dır.

Olgu 37, 38 ve 39'un tümör ve normal doku kültürleri ile Olgu 36'nın normal doku kültüründe üreme sağlanmakla birlikte, laboratuvarımızdaki tek CO₂'li inkübatörün arızalanması nedeniyle kültür çıkış işlemleri için yeterli bölünme elde edilememiştir.

Solid tümör materyallerinden yapılan kültürlerin gücülüğü bilinmektedir. Karşılaşılan teknik zorluklar, kanserlerin %90'ından fazlası solid tümör olduğu halde, bütün dünyada yapılan kanser sitogenetiği konulu yayınların ancak %27'sinin solid tümörlerle ilgili olmasına sebep olmaktadır (40). Bazı araştırmacılar kültürlerindeki hücre bölünmesini arttırabilmek için değişik yöntemler denemişlerdir. İnaktive edilmiş fare fibroblastlarından bir "feeder layer" kullanmak ya da kültür ortamına hidrokortizon, insülin ve epitelyal büyüme faktörü gibi maddeler ilave etmek denenen yöntemler arasındadır. Fakat yine de bugün için hem küçük hücreli, hem de küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinin ancak %30-50'sinde üreme sağlanabilmektedir (16, 17, 104). Üstelik, yayımlanan çalışmaların hemen hemen tamamı ameliyat materyallerinde plevra sıvısı örneklerinde ya da hücre soylarında yapılmıştır (5, 8, 10, 11, 13, 16, 17, 20, 24, 49, 50, 59, 61, 62, 69, 70, 75, 80, 82, 83, 94, 102, 103, 111, 116, 124). Kimi araştırmacılar, bronkoskopik biyopsi materyallerinin, kültürde üretmek için çok küçük olduğunu ileri sürmüşlerdir (20). Ayrıca, materyalin alındığı bölge olan havayolları epitelinin dış ortam ile çok fazla temasta olması nedeniyle, alınan örnekler steril olamamakta ve bakteri kontaminasyonu bu örneklerle çalışmadaki en büyük güçlüklerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Biz de çalışmamızın başlangıcında yöntem yerleştirme aşamasında bu sorunla çok sık karşılaştık ancak, kültür medyumuna Gentamicin ilave ederek sorunu çözümledik.

Bu bilgilerin ışığında, çalışmamızda bronkoskopik biyopsi örnekleri gibi çok küçük materyaller ve oldukça basit bir kültür tekniği kullanarak elde ettiğimiz %56'lık verim literatürle kıyaslandığında memnuniyet vericidir.

Kültür verimi açısından küçük hücreli ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserli olgular arasında bir fark olup olmadığı, küçük hücreli akciğer kanserli olguların sayısının azlığı nedeniyle saptanamamıştır.

Üreme elde edilen 38 kültürün 28'inden kromozom elde edilerek değerlendirilmiş, 10'unda ise değerlendirilebilecek kalitede metafaz görülebilmiştir.

Tablo IV.1'de de görüldüğü gibi, çalışmamızda kültür çıkış işlemleri en erken 6., en geç 71. günlerde gerçekleştirilmiştir. 10 kültür 5. haftanın içinde (29-35. günler arasında) çıkartılmış, 8 kültür 3. haftanın içinde (15-21. günler arasında), 4 kültür 4. haftada (22-28. günler arası), 4

kültür 6. haftada (36-42. günler arası), 3 kültür 2. haftada (8-14. günler arası), 3 kültür 7. haftada (43-49. günler arası), 3 kültür 9. haftada (57-63. günler arası), 2 kültür ilk hafta içinde (1-7. günler arası) bir kültür ise 11. hafta içinde (71-77. günler arası) çıkış işlemlerine tabi tutulmuştur.

Literatürde genellikle kültür çıkışlarının olabildiğince erken, mümkün olduğu takdirde 1-2 hafta içinde yapılması önerilmektedir. Bunun sebebi kültür süresi uzadıkça materyal içinde bulunan normal fibroblastların çok fazla çoğalarak tümör hücrelerinin büyümesini baskılaması endişesidir (63, 106). Fakat araştırmacılar üremenin daha yavaş olduğu durumlarda beklemek gerektiğini de kabul etmektedirler. Kimi kültürler birkaç günde çıkışa hazır hale gelirken, kimilerinde haftalar hatta aylar geçmesi gerekebilir. Ayrıca kültürde geçen süre uzadıkça ilave kromozom anomalilerinin de meydana gelerek karyotipleri daha da kompleksleştirmesi ve in vivo durumdan uzaklaştırması kaygısı da vardır (104). Fakat, bu durum mikroskopta metafazların değerlendirilmesini zorlaştırmakla birlikte, bu ilave değişiklikler rastgele yani klonal olmayan değişiklikler olacağından, sonuçları çok fazla etkilemeyecektir.

Çalışmamızda kültür süreleri genellikle literatürde önerilenden uzun olmakla birlikte, Tablo IV.2'de de görüldüğü gibi, tümör dokularında normal kromozom yapısında metafazlara oldukça az rastlanmıştır. Dolayısıyla uzun kültür sürelerinin bir sakınca oluşturmadığı düşünülmektedir.

Hem küçük hücreli, hem de küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde, yeni tanı konmuş ve henüz tedavi görmemiş olan olgularda dahi, çok kompleks karyotipler gözlenmektedir. Sitogenetik inceleme için materyal alınmasından önce tedavi gören ve görmeyen hastalar arasında ve tümörün değişik differensiyasyon derecelerinde karyotipin kompleksliği açısından fark görülmemektedir. Ayrıca bu karyotipik karmaşıklık kültürde geçen süre ile de ilişkili değildir. Çünkü kısa ve uzun süreli kültürlerden, hatta hücre soylarından elde edilen metafazların hepsinde aynı derecede kompleks karyotipler gözlenmektedir (17, 20, 50, 61, 70, 91, 102, 103, 104).

Küçük hücreli ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinin sayısal kromozom anomalilerinin önem ve derecesini değerlendirmeyi zorlaştıran birtakım karakteristik özellikleri vardır: kromozom sayılarının hücreden hücreye çok büyük değişiklik göstermesi, belirgin bir modal kromozom sayısının olmaması, triploid ve tetraploid seviyelerde çok sayıda hücre bulunması gibi. Tüm bunların sonucunda, yayınlanan birçok çalışmada sayısal kromozom anomalilerinin üzerinde fazla durulmamıştır. Diğer taraftan, yapısal anomalilerin değerlendirilmesi de yeniden düzenlenmelerin çokluğu, karmaşıklığı ve kaliteli metafaz elde etmekteki güçlük nedeniyle zordur. Dolayısıyla, yapısal anomalilerde yer alan kırık noktalarının kesinlikle belirlenmesinde sık sık güçlüklerle karşılaşmaktadır (20, 100, 102, 116).

Bizim serimizde de tümör dokusu kültürlerinin hepsinde ve periferik lenfosit kültürlerinin çoğunda (12/18 olgu) birden fazla ploidi seviyesinde metafazlar gözlenmiştir (Tablo IV.2, Tablo IV.3). Her olgu kendi içinde değerlendirilip o olgu için en uygun ploidi seviyeleri saptanarak karyotip formülleri yazılmaya çalışılmıştır. Olabildiğince her ploidi seviyesindeki klon ayrı ayrı yazılmış fakat gerekli olduğunda o olgu için en uygun görülen ortak ploidi seviyesinde toplanmıştır. En uygun ploidi seviyesinin belirlenmesinde modal sayı (en sık gözlenen kromozom sayısı) ve kimi zaman ayrı ploidi seviyelerindeki metafazlarda gözlenen ortak yapısal kromozom anomalileri yol gösterici olmuştur. Ayrıca, metafazları ortak ploidi seviyelerinde toplarken haploidi ve triploidi gibi doğal olmayan ploidi seviyelerinden (mümkün olan olgularda) kaçınmayı tercih ettik.

Çalışmamızda, sayısal klonal kromozom anomalileri yapısal olanlara göre daha fazla gözlenmiştir. Çalıştığımız bütün tümör dokuları anöploiddir ve birden fazla ploidi seviyesinde hücreler içermektedir. Bu tür anomalilere yol açan mekanizmalar olan endoreduplikasyon ve prematür sentromer ayrılması gibi mitoz anomalileri de sık görülmüştür (Tablo IV.2).

Akciğer kanserlerinde sayısal kromozom anomalileri çok sık görüldüğü ve bütün kromozomlar bu değişikliklere katıldıkları halde, -Y (8, 17, 50) ve +7 (17, 50, 62, 70) dışındaki sayısal kromozom anomalilerini tartışan çok az yayın bulunmaktadır (61, 100, 103, 104, 116).

Genellikle akciğer kanserlerine ait sitogenetik bulgular küçük hücreli ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserleri için ayrı ayrı değerlendirilmektedir. Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri alttipleri arasında ise sitogenetik açıdan belirgin bir farklılık olmadığı bildirilmektedir (103). Biz de, çalışmamızda yer alan 4 küçük hücreli akciğer kanseri olgusu ile 26 küçük hücreli olmayan akciğer kanserli olguyu ayrı olarak değerlendirip tartışmayı uygun bulduk.

Küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde yapılan sitogenetik çalışmalarla ilgili yayınlarda, kromozom sayılarının hipohaploidden hipertetraploid sayıya kadar çok geniş bir aralıkta değişkenlik gösterdiği bildirilmektedir (8, 10, 17, 61, 70, 100, 103, 104, 116). (Sadece bir yayında (24) yalnızca near-haploid seviyede hücreler gözlenen bir olgu sunulmuştur). Biz de kendi serimizde kromozom sayılarındaki bu geniş değişkenliği gözledik. Çalışmamızda kromozom elde edilip değerlendirmesi yapılan 15 küçük hücreli olmayan akciğer kanserli olguya ait 16 kültürün hepsinde en az iki değişik ploidi seviyesinde hücreler gözlenmiştir (Tablo. IV.2).

Literatürde, küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde bütün kromozomların sayısal anomalilerinin gözlenebildiği bildirilmektedir (70, 103, 116). Biz de çalışmamızda küçük hücreli olmayan akciğer kanserli olgularda bütün kromozomların sayısal anomalilere katıldığını gözledik. Çalışmamızda karyotip tayini yapılan küçük hücreli olmayan akciğer kanserli 15 olguda rastlanan klonal kromozom kayıpları sıklık sırasına göre şöyledir: -6 ve -19 (7'şer olguda), -X, -

Y, -13, -21 ve -22 (6'şar olguda), -3, -7, -8, -9, -15, -16, -17, -18 ve -20 (5'er olguda), -1, -4, -5, -10, -11 ve -12 (4'er olguda) ve -2 ve -14 (3'er olguda).

Sunderashan ve Augustus da, küçük hücreli olmayan akciğer kanserli 6 olguda yaptıkları çalışmalarında, 4 olguda -6 bulgusuna rastladıklarını bildirmişlerdir (100). Bütün kromozomun kaybı dışında, 6. kromozomun uzun kolundan materyal kayıpları da bildirilmiştir (8, 50, 61, 62, 70, 83, 103, 116).

Küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde 19. kromozomun kaybı da daha önce bildirilmiştir (10, 61). Ayrıca 19p'de (103) ve 19q'da (70) materyal kayıpları da gözlenmiştir.

Çalışmamızda 6'şar olguda klonal olarak X ve Y kromozomlarının kayıpları gözlenmiştir. Kimi yayımlarda verilen karyotip formüllerinde X kromozomu kayıpları bulunmaktaysa da (8, 50, 61, 62, 70, 100, 103), bu çalışmaların hiçbirinde X kromozomunun kaybı küçük hücreli olmayan akciğer kanserleri için önemli bir bulgu sayılacak sıklıkta gözlenmemiştir. Y kromozomunun kaybı ise bütün akciğer kanserleri tiplerinde (ve birçok başka kanserlerde) en sık rastlanan sitogenetik bulgulardan biridir (8, 13, 17, 50, 104, 111). Kompleks anomaliler arasında bulunmasının yanı sıra, -Y'nin tek anomali olarak görüldüğü olgular/klonlar da bulunmaktadır (17, 50, 103, 104). -Y bulgusu kanser olmayan çeşitli dokularda da görülebilmektedir (50). Bu nedenle, bazı araştırmacılar Y kromozomu kaybının tümör gelişiminde rolü olabileceğini düşünmekteyken (8, 13, 17, 103, 104), bazıları da özellikle tek anomali olarak -Y taşıyan hücrelerin tümör parenkimine ait olmadıklarını düşünmektedirler (50, 104). Bu nedenle biz de, kompozit karyotipleri yazarken tek anomali olarak -Y taşıyan hücreleri dahil etmedik. 6 olguda gözlenen klonal -Y bulgusu kompleks anomaliler arasında yer alan -Y bulgularıdır. Ayrıca 12 numaralı olgumuzun çalışılan iki tümör örneğinde de hiç 45, X, -Y kromozom yapısında hücre görülmezken, aynı olgunun normal bronş mukozası kültüründe 45, X, -Y yapılı bir hücre klonu bulunması dikkat çekicidir.

Bir çalışmada, küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde en sık kaybı görülen Y kromozomu bölgesinin distal Yp'den sentromere kadar olan ökromatin bölgesi olduğu gösterilmiştir ve bu araştırmacılar burada bulunabilecek bir tümör supresör genin tümör gelişiminde rol oynuyor olabileceği hipotezini ileri sürmüşlerdir (13).

Çalışmamızda altı olguda gözlenen 13 numaralı kromozomun kaybı daha önce üç araştırma grubu tarafından küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sık rastlanan bir bulgu olarak bildirilmiştir (61, 103, 111). Ayrıca 13q'dan materyal kayıpları da görülmektedir (83). Yine 6'şar olguda gözlediğimiz -21 (10, 61, 100, 111) ve -22 (10, 61, 100) bulguları da daha önce küçük hücreli olmayan akciğer kanserli olgularda sık görülen bulgular olarak bildirilmiştir. 21q (83) ve 22q (103)'dan materyal kayıpları da gözlenebilmektedir.

Çalışmamızda beşer olguda klonal olarak -3, -7, -8, -9, -15, -16, -17, -18 ve -20 gözledik. -3, taradığımız yayınlarda küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sık görülen bir anomali olarak sözü edilmeyen bir bulgudur. Fakat 3p'den (moleküler ya da sitogenetik boyutlarda) materyal kaybı çok siktir (70, 103, 104, 111). -7 (8, 50, 62, 69, 70, 100, 103, 116) ve -8 (8, 50, 61, 62, 70, 100, 103, 111, 116) için de durum aynıdır. -9 ise, eksikliği küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sık görüldüğü en fazla yayında bildirilen otozomdur (10, 61, 100, 103, 104, 111). 9p'den (moleküler düzeyde ya da sitogenetik boyutlarda) materyal kaybı da küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde en sık rastlanan bulgudur (5, 8, 12, 17, 32, 33, 39, 54, 61, 62, 65, 66, 78, 83, 103, 104, 119, 124). Bazı küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde 9p21-22 bölgesinden homozigot DNA dizi kayıpları saptanmış ve buradaki tümör süpresör gen(ler)in akciğer kanseri gelişiminde rol oynuyor olabileceği düşünülmüştür (100, 104). 9p21'de bir tümör süpresör gen olduğu varsayılan p16/CDKN2/MTS1 bulunmaktadır. Bu genin homozigot delesyon ya da mutasyonları küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücre soylarında çok siktir ve primer tümör örneklerinin %20-30'unda da saptanmıştır. Buna karşılık, küçük hücreli akciğer kanserlerinde p16 geni değişiklikleri nadiren görülmektedir (104).

-15 (61, 103, 111), -16 (61, 103) ve -18 (61, 103) bulguları da küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sık gözlenen bulgular olarak bildirilmişlerdir. Ayrıca 15p (62, 70), 15q (5) ve 18q'dan (5, 83, 103) materyal kayıpları da bildirilmiştir.

-17 küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sık gözlenen bir bulgu olarak bildirilmemiştir. Fakat, 17p'den materyal kayıpları çok sık görülmektedir (5, 61, 62, 69, 70, 103, 104).

-20 de daha önce bir grup tarafından küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde sık görülen bir bulgu olarak bildirilmiştir (100).

Çalışmamızda dörder olguda gözlediğimiz -1, -4, -5, -10, -11 ve -12 bulgularından -1 daha önce bir yayında küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sık görülen bir bulgu olarak bildirilmiştir (100). Ayrıca, 1p'den materyal kayıpları da siktir (8, 50, 70, 83, 116).

-4 (10, 61), -5 (10), -10 (10, 61) ve -12 (100) de daha önce küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde bildirilmiştir. Ayrıca, 4q'dan (11, 61, 83), 5p'den (106, 111), 5q'dan (5, 50, 83, 103, 106, 111), 10p'den (106, 111), 10q'dan (111) ve 12p'den (116), materyal kayıpları da gözlenmiştir.

-11 ise daha önce herhangi bir yayında küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sık görülen bir bulgu olarak tartışılmamıştır. Fakat 11p'den materyal kayıpları bildirilmektedir (70, 111).

Çalışmamızda üçer olguda saptadığımız -2 (100) ve -14 (111) bulguları da daha önce bildirilmiştir (100).

Aynı 15 olguda gözlenen klonal kromozom artışları ise, sıklık sıralarına göre, şöyledir: +16 (6 olguda), +9, +12, +18 ve +21 (5'er olguda), +Y, +1, +2, +3, +4, +5, +6, +15 ve +22 (4'er olguda), +8, +10, +13, +14 ve +19 (3'er olguda), +X, +7, +17 ve +20 (2'şer olguda) ve +11 (bir olguda).

+16 bulgusu daha önce iki yayında küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sık görülen bir bulgu olarak bildirilmiştir (10, 100).

Çalışmamızda beşer olguda gözlediğimiz +9, +12, +18 ve +21 bulgularından +9, +18 ve +21'in daha önceki yayınlarda küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sık gözlenen bulgular olarak sözü edilmemektedir. Fakat +12 daha önce bildirilmiştir (104).

Dörder olgumuzda gözlediğimiz +Y, +1, +2, +3, +4, +5, +6, +15 ve +22 bulgularından +Y (8, 13, 17, 50, 103), +1 (10), +2 (10), +3 (100), +5 (104), ve +6 (10) daha önceki yayınlarda küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde saptanan sayısal anomaliler olarak bildirilmişlerdir. Ayrıca, 1q'da (5, 50, 61, 106, 111), 2p'de (5), 3q'da (5, 106, 111) ve 5p'de (5, 50, 83, 104) materyal artışları olduğu da bilinmektedir. +4, +15 ve +22 ise, daha önceki yayınlarda sayısal anomaliler olarak tartışılmamıştır. Bu kromozomların p veya q kollarına ait materyal artışları da bildirilmemiştir.

Üçer olgumuzda klonal olarak gözlediğimiz +8, +10, +13, +14 ve +19 bulgularından +8 daha önce küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sayısal anomali olarak bildirilmiştir (10, 100). Ayrıca, 8q'da materyal artışı da oldukça sık yayınlanmıştır (5, 11, 61, 69, 83, 104). +10, +13, +14 ve +19 ise daha önceki yayınlarda sayısal anomali olarak tartışılmamıştır. Bu kromozomlardan sadece 19q'da (83) materyal artışı bildirilmiştir.

Çalışmamızda ikişer olguda gözlediğimiz +X, +7, +17 ve +20 bulgularından +7, özellikle tek anomali olarak, küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde en fazla gözlenen kromozom artışıdır (10, 17, 50, 59, 61, 70, 100, 103, 104). Ayrıca, 7p (5, 103) ve 7q'da (106, 111) materyal artışları da bildirilmiştir. Fakat +7 kanserli olmayan dokularda (59, 104) ve kanser dışı koşullarda da (romatizmal hastalıklar gibi) sık sık gözlenen bir bulgu olduğundan, bu bulgunun kanser oluşum ve gelişimiyle ilgili olup olmadığı tartışmalıdır. Bizim çalışmamızda ise, +7 sadece iki olguda klonal olarak (kompleks karyotiplerin içinde) gözlenmiştir. Tek anomali olarak ise hiç rastlanmamıştır. +17 (100) ve +20 (61, 70) de, küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde daha önce bildirilen bulgulardandır. Ayrıca, 17q (83) ve 20p'de (5) materyal artışları da gözlenmiştir. +X ise daha önceki yayınlarda küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sık gözlenen bir bulgu olarak tartışılmamıştır.

Sadece bir olgumuzda klonal olarak saptadığımız +11 bulgusu ise, daha önce bir yayında küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde gözlenen bir sayısal anomali olarak tartışılmıştır (10). Ayrıca, 11q'da materyal artışı bildiren çalışmalar da vardır (61, 83, 103).

Çalışmamızda küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hasta grubumuzda gözlediğimiz sayısal kromozom anomalilerinden -X, -3, -7, -8, -17, -11, +4, +9, +10, +13, +14, +15, +18, +19, +21, +22, ve +X daha önce literatürde tartışılmamıştır.

Sayısal kromozom anomalilerini tartışmayan yayınların da karyotip formleri incelendiğinde, bütün kromozomların katıldığı çok miktarda sayısal anomali görüldüğü anlaşılmaktadır.

Küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde gözlenen yapısal kromozom anomalilerine bakıldığında, bu anomalilerin de (sayısal olanlar gibi), büyük bir değişkenlik sergilediği görülür. Belirli bir akciğer kanseri tipine özgü yapısal bir kromozom anomalisi saptamak zordur. Fakat, dengeli translokasyonların akciğer kanserlerinde yaygın olmadığı, genetik materyalde kayıplara ya da artışlara yol açan dengesiz anomalilerin sık görüldüğü bildirilmektedir (124). Bu nedenle, olgular arasında ortak kırık noktaları belirlenmeye çalışılmaktadır. Böylece bu noktalardaki genlerin moleküler düzeyde incelenerek, akciğer kanseri oluşum ve gelişiminde rol alan genlerin ve mutasyonlarının belirlenmesi amaçlanmaktadır.

Küçük hücreli olmayan akciğer kanserli olgu grubumuzun tümör hücrelerinde gözlediğimiz klonal yapısal anomaliler şunlardır: del(1)(p13?p13?), add(3)(p25), del(3)(q24q26), del(6)(p21p21), t(6;8)(q21;q24), der(11)del(11)(p11.2p13)dup(11)(p11.1p12)?, del(11)(q23), add(11)(q13), i(15)(q10) ve del(22)(q13).

Çalışmamızda 1p13'te bir kırık noktası saptadık. Küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde 1p'de yeniden düzenlenmeler bildirilmiştir (8, 50, 61, 62, 70, 103, 111, 116). 1p13 de küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde görülen yapısal anomalilerde sık sık yer alan bir kırık noktadır (50, 61, 62, 70, 104) ve N-ras onkogeni de bu noktadadır (85).

3 numaralı kromozom üzerinde 3p25, 3q24 ve 3q26 noktalarında kırıklar tespit ettik. 3p'deki yeniden düzenlenmeler (özellikle materyal kaybı ile birlikte olanlar) küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde (küçük hücrelilerde de olduğu gibi), çok sıktır (8, 50, 61, 69, 70, 83, 94, 100, 103, 104, 111, 116). En fazla gözlenen kırık noktası 3p21 olmakla birlikte (61, 103, 104), 3p25 de küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde kırık noktası olarak gözlenmektedir (104, 116) ve bu nokta raf1 onkogeninin bulunduğu bölgedir (85). 3q'da da yeniden düzenlenmeler görülmektedir (8, 17, 50, 61, 83, 103, 116). 3q1 ve 3q2 bölgelerinin de küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde diğer kromozom bölgelerine göre anlamlı olarak daha fazla kırık noktası içerdiği bildirilmiştir (8, 50, 61, 116). 3q26 noktası da evi-1 onkogenini içermektedir (85).

Çalışmamızda 6p21 bandında bir interstisyel delesyon saptadık. 6p'de delesyonlar başka gruplarca da bildirilmiştir (8, 50). 6p21 de, küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde kırık noktası olarak gözlenmektedir (61, 104) ve bu nokta pim-1 onkogenin bulunduğu bölgedir (85).

Bir olgumuzda 6. ve 8. kromozomlar arasında bir translokasyon gözledik: t(6;8)(q21;q24). Akciğer kanserlerinde resiprokal translokasyonlar bildirilmemiştir. Fakat 6q'nun yeniden düzenlenmeleri görülmektedir (8, 50, 61, 62, 70, 103) ve 6q13-23 arası, kırık noktalarının sık olduğu bir bölgedir (61). 8q'da yeniden düzenlenmeler ve delesyonlar bildirilmiştir (8, 61). Ayrıca, gözlediğimiz t(6;8)(q21;q24) bulgusundaki 8q24 kırık noktasının c-myc onkogeninin bulunduğu nokta olması dikkate değerdir (85).

Çalışmamızda 11p11, 11p13, 11q13 ve 11q23 noktalarında da kırıklar saptanmıştır. 11. kromozomun yeniden düzenlenmeleri literatürde de bildirilmektedir (8, 50, 61, 100). 11p'den materyal kaybına yol açan yapısal anomaliler gözlenmiştir (50, 70). 11p11-13 ve 11q13-24 bölgelerinin kırık noktası açısından zengin olduğu bildirilmektedir (50, 61). 11p13, wt-1 tümör süpresör geninin bulunduğu bölgedir (85). 11q13'te ise cycD1 onkogeni bulunmaktadır ve akciğer kanserinde değişikliğe uğradığı gösterilmiştir (83).

Serimizde bir de 15. kromozomun uzun koluna ait bir izokromozom gözledik. Küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde akrosentrik kromozomların yeniden düzenlenmeleri görülmektedir. Bu kromozomlara ait translokasyonlar ve izokromozomlar sıktır (8, 17, 50, 70 100). 13, 14 ve 15. kromozomların kısa kollarının sık sık kırık noktası içerdikleri bildirilmektedir (61).

22 q13'te de bir kırık noktası saptadık. 22q'dan sık sık materyal kaybı olduğu literatürde de bildirilmiştir (103). 22q12.3-13.1 bölgesi, sis onkogeninin bulunduğu bölgedir (85).

Saptadığımız kırık noktalarının birçoğunda kanserle ilişkili genlerin bulunması, akciğer kanserlerinde bu genlerin etkisiyle ilgili moleküler genetik çalışmalarına önem verilmesinin uygun olacağını düşündürmektedir.

Küçük hücreli olmayan akciğer kanserli olgu grubumuzdan Olgu 12'yi, dört ayrı kültüründen karyotip tayini yapılmış olması ve bulgularındaki özellikler nedeniyle tek başına ele alıp tartışmayı uygun bulduk.

Skuamoz hücreli akciğer kanseri tanısı alan Olgu 12'den üç gün ara ile alınan iki tümör örneğinden metafaz elde edilerek değerlendirilmiştir. (T-34 ve T-35 numaralı kültürler). Bu kültürlerden ve Olgu 12'nin normal bronş mukozası ve periferik kan kültürlerinden elde edilen karyotipler aşağıda görülmektedir.

T-34 numaralı kültürün karyotipi:

21~32, X, -X [4], +Y [4], +1 [4], +2 [5], +3 [5], add(3)(p25) [2], +4 [5], +5 [3], +6 [5], +8 [4], +9 [6], +10 [2], +12 [5], +13 [4], -14 [3], +14 [5], +15 [3], +16 [4], -17 [3], +17 [2], -18 [4], +19 [2], +21 [5], +22 [2] [cp 9] / 35~63, <2n>, XY, -Y [4], -2 [3], +4 [2], -5 [3], -6 [3], del(6)(p21p21) [3], -7 [4], -8 [3], -9 [7], -10 [3], -12 [5], -13 [7], +13 [2], -14 [6], -15 [7], -16 [5], -17 [6], -18 [3], -19 [4], -20 [8], -21 [9], -21 [3], -22 [6], +mar [3] [cp 25]

T-35 numaralı kültürün karyotipi:

29~49, <2n>, XY, -X [4], -1 [4], -2 [4], -3 [4], -4 [4], -5 [5], -6 [4], t(6;8)(q21;q24) [3], -7 [5], -8 [4], -9 [4], -10 [3], -11 [3], der(11)del(11)(p11.2p13)dup(11)(p11.1p12)? [2], -12 [4], -14 [3], -16 [4], -17 [6], -18 [4], -19 [4], -20 [8], -21 [4], -22 [4] [cp 20]/52~91, <4n>, XXYY, -5 [3], -7 [4], -9 [3], -14 [3], der(15;15)(q10;q10) [2], -16 [3], -21 [3] [cp 4]/46, XY [11]

Olgu 12'nin normal bronş mukazası örneğine ait karyotip:

36~68, <2n>, XY, -Y [12], -3 [3], -7 [3], -10 [3], +13 [2], der(13;22)(q10;q10) [2], -18 [4], -21 [3], +22 [2] [cp 15]/45, X, -Y [3]

Olgu 12'nin periferik kan kültürüne ait karyotip:

32~43, <2n>, XY, -11 [3], -16 [3], -22 [3] [cp 5]/46, XY [10]

T-34 numaralı kültürde near-haploid ve near-diploid klonlar (bir de near-triploid hücre) varken, T-35 kültüründe bunlara ilaveten bir de near-tetraploid klon vardır. İki kültür -2, -5, -6, -7, -8, -9, -10, -12, -14, -16, -17, -18, -19, -20, -21 ve -22 klonal sayısal anomalilerini paylaşmaktadırlar. Her iki kültürde ortak olarak bulunan yapısal bir anomali saptanmamıştır. T-34 ve T-35 kültürlerinde ortak olan anomalilerden -7, -10, -18 ve -21 normal bronş mukazası kültüründe (T-41 numaralı kültür) de bulunmaktadır. Ayrıca, normal dokuda bulunan klonal -Y, +13 ve +22 bulguları T-34 tümör dokusu kültüründe de gözlenmiştir. Normal dokuda bulunan -3 bulgusu ise T-35 tümör dokusu kültürü ile ortaktır. Bu bulgular, bütün havayolları epitelinin bölgesel kanserizasyona uğradığı ve prekanseröz kromozom anomalileri gösterdiği hipotezine uymaktadır. Kanser erken dönemleriyle ilişkili bir bulgu olup olmadığı tartışmalı olan 45,X,-Y karyotipi ise sadece normal bronş mukozasında gözlenmiş, tümör dokularında saptanmamıştır.

Olgu 12'nin periferik kanında da klonal kromozom anomalileri saptanmıştır. Bu anomalilerden -16 ve -22 her iki tümör dokusu kültüründe de bulunmaktadır. Kanda gözlenen -11 bulgusu ise T-35 tümör kültürü ile ortaktır.

Küçük hücreli olmayan akciğer kanserli olgularımızın periferik kan kültürlerinden elde edilen sonuçlara toplu olarak bakarsak; bu olgularımızın 17'sinin periferik kan kültürü yapılmış ve 6'sında periferik kanda klonal kromozom anomalileri saptanmıştır. Bu 6 olgunun 4'ünde periferik kanda -22 gözlenmiştir. -4, -11 ve -16 bulguları 3'er olguda bulunmaktadır. -5, -8, +11, -17, -18, +19, -21 ve -X bulguları ikişer olguda gözlenmiştir. -1, +1, -2, +2, -3, +5, -6, +6, -7, +8, -9, -10, -12, +12, -13, +13, -14, -15, +16, +17, +18, -19, +21 ve +22 bulguları ise birer olguda saptanmıştır.

Periferik kanında -22 bulunan 4 olgunun ikisinde, tümör dokularında da klonal -22 bulgusu vardır. -22 bulgusu tümör materyalleri değerlendirilen 15 olgunun 6'sının tümör dokularında gözlenmiştir ve en sık gözlenen sayısal anomalilerden biridir. Olgu 12'nin iki ayrı tümör örneğinde de -22 bulunmaktadır. Hem tümör dokularında, hem de periferik kanda bu kadar sık gözlenmesi, -22'nin küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde rol oynayan primer bir değişiklik olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde de -22'nin küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sık gözlenen bir bulgu olduğu bildirilmiştir (10, 61, 100). 22. kromozomun kısmi ya da tam monozomisi, meningiomada da hem tümör, hem de periferik lenfositlerde spesifik bir anomali olarak görülmektedir (81).

3 olgunun periferik kanında gözlenen -11 bulgusu, 4 olgunun tümör materyallerinde de saptanmıştır. İki olguda -11 hem tümör hem de periferik kanda bulunmaktadır. Daha önce literatürde küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sık görülen bir sayısal anomali olarak bildirilmemesine karşın, bizim serimizde -11, hem tümör hem de kanda sık gözlenen bir bulgu olarak göze çarpmaktadır.

Üç olgunun periferik kanında gözlenen -16 bulgusu, 5 olgunun tümör dokusunda bulunmaktadır. Olgu 12'nin her iki tümör dokusu kültüründe (T-34 ve T-35 numaralı kültürler) ve periferik kanında -16 bulgusu vardır. Olgu 12 dışında hem tümör hem de periferik kanında -16 taşıyan olgu saptanmamıştır. -16 daha önce de literatürde küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sık rastlanan bir bulgu olarak bildirilmiştir (61, 103).

-X ve -21 bulguları ikişer olgunun periferik kanında ve altışar olgunun tümör materyalinde klonal bir sayısal anomali olarak saptanmıştır. İki olguda -X bulgusu, bir olguda da -21 bulgusu hem tümör, hem de periferik kanda ortaktır. -X, literatürde küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sık gözlenen bir bulgu olarak bildirilmemiştir. -21 ise birçok yayında küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sık gözlenen bir sitogenetik bulgu olarak yer almaktadır (10, 61, 100, 103, 111).

İkişer olguda periferik kanda gözlenen -8, -17 ve -18 bulguları, beş olgunun tümör dokularında bulunmaktadır ve bir olgunun hem tümör, hem de periferik kanında ortaktır. -8 ve -17 bulguları, daha önce küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sık görülen bulgular olarak

bildirilmemişlerdir. -18 ise literatürde küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde sık bulunabilen bir bulgu olarak yer almaktadır (61, 103).

İkişer olgunun periferik kanında gözlenen +11 ve +19 bulgularından +19, 3 olgunun tümör materyallerinde de gözlenmiştir ve bu olgulardan birinde hem tümör, hem de periferik kanda ortak olan bir bulgudur. +11 ise bir olgunun hem tümör, hem de periferik kanında gözlenmiştir.

Birer olgunun periferik kanında saptanan +1, +2, +6, +8, +12, +13, +16, +17, +21 ve +22 bulguları, bulundukları olgunun hem tümör, hem de periferik kanında ortaktır.

Periferik kanda tümör dokusu ile ortak kromozom anomalileri bulunması, bu olgularda tümör dokusunun yanı sıra periferik kanda da sitogenetik inceleme yapmanın önemini göstermektedir.

Küçük hücreli olmayan akciğer kanserli olgularımızdan elde ettiğimiz bulguları bu şekilde tartıştıktan sonra, şimdi de küçük hücreli akciğer kanseri tanısı almış olan olgularımızı irdeleyelim.

Çalışmamızda yer alan 4 küçük hücreli akciğer kanserli olgunun ikisinin tümör kültürlerinde üreme sağlanmış, bunlardan birinden metafaz elde edilerek değerlendirilmiştir. Diğer iki olgunun ise tümör dokusu kültürlerinde üreme olmamıştır.

Üç küçük hücreli akciğer kanserli olgudan normal doku örnekleri alınarak kültüre edilmiş, bu kültürlerden ikisinde üreme sağlanmış, ancak çıkış için yeterli bölünme elde edilememiştir. Bir kültürde ise üreme olmamıştır.

Üç olgunun periferik kanı çalışılmış ve kromozom elde edilerek değerlendirilmiştir.

Tümör dokusundan metafaz elde edilen Olgu 2'de klonal bir kromozom anomalisi saptanmamıştır. Ancak analiz edilebilen metafaz sayısı azdır (5 hücre). Bu 5 hücrenin üçü normal (46, XY) kromozom yapısı göstermiş, iki hücrede ise klonal olmayan sayısal ve yapısal anomaliler bulunmuştur. Fakat, sayılan 5 metafazın near-haploid, near-triploid ve near-tetraploid seviyelerde olması ve ayrıca üç tane de sayılamayacak kadar karışık poliploid hücre gözlenmesi, hücrelerde kansere bağlı kromozomal değişikliklerin bulunduğu işaret etmektedir. Bu bulgular, analiz edilebilecek kalitede daha fazla metafaz bulunabilmesi halinde, klonal sayısal ve yapısal kromozom anomalileri gözlenebileceğini düşündürmektedir. Saptanan üç normal karyotipli hücre ise, sitogenetik olarak belirlenebilecek kadar büyük anomali taşımayan tümör hücreleri olabilecekleri gibi, tümör parenkimine ait olmayan normal hücreler de olabilirler.

Olgu 34'e ait tümör dokusu örneğinden yapılan kültürlerde üreme sağlanamamıştır. Periferik kan kültüründe ise aşağıda görülen karyotip saptanmıştır.

39~92, <2n>, XX, -X [4], +X [4], +X [2], del (X)(q25) [2], +1 [2], del (1)(q21) [2], -2 [3], +2 [4], +2 [3], +2 [2], +3 [5] +3 [4], inv (3)(p14q29) [2], +4 [4], +4 [4], +5 [5], +5 [4], del (5)(p13) [2], +6 [4], +6 [4], +7 [4], +7 [2], +8 [5], +8 [4], +9 [4], +9 [3], +10 [4], +10 [4], +11 [4], +11 [3], +12 [5], +12 [4], +13 [5], +13 [4], der (13)t(2;13)(q14;q22) [6], +14 [5], +14 [3], +15 [3], +15 [2], del (15)(q22) [2], +16 [5], +16 [4], -17 [3], +17 [3], +17 [2], +18 [5], +18 [5], +19 [5], +19 [5], +20 [5], +20 [4], +21 [4], +21 [3], +21 [2], +22 [5], +22 [3], +22 [2], +mar 3 [2], +mar 5 [3], +mar 8 [2], +mar 11 [3], +mar 11 [2], +mar15 [3], +mar 15 [2], +mar 16 [4], +mar 16 [2], +dicmar 2 [4], +dicmar 3 [2], +dicmar 6 [3], ace 1 [5], ace 2 [2], ace 3 [2], ace 4 [4], min [3], dmin(s) [19] [cp 20]/46,XX [6]

Ayrıca, klonal olmamakla birlikte, 3 numaralı kromozoma ait şu anomaliler de birer metafazda gözlenmiştir: del (3)(p14?p23?), del (3)(p10), add (3)(q25), inv (3)(q13q28) ve t(3;9)(q21;p24).

Kemik metastazı olan bu olgu, periferik kanında en kompleks karyotipi saptadığımız olgumuzdur. De Fusco ve ark. (20), 11 olguluk serilerinde periferik kanlarını inceledikleri 7 olgunun birinde, periferik kanda anöploid hücreler (+5 ve +12 taşıyan bir ve +8 ve +12 taşıyan bir başka hücre) gözlediklerini bildirmişlerdir. +5, +8 ve +12, birçok başka anomali ile birlikte, hastanın tümör dokusunda da bulunmaktadır. Tedavi sonrasında hastada iyileşme gözlenmişse de, daha sonra metastaz saptanmıştır. Yazarlar, anormal periferik hücrelerin kanda dolaşan tümör hücreleri olabileceği ve bu hücrelerin metastazdan sorumlu olabileceği yorumunu yapmışlardır. +5, +8 ve +12 bizim olgumuzun da periferik kanında saptadığımız anomalilerdendir. Ayrıca olgumuzda çok sayıda yapısal ve sayısal klonal anomalilerin yanı sıra, klonal ve klonal olmayan 3p anomalileri de bulunmaktadır. Klonal olmayan 3p anomalilerinden biri (kırık noktaları kesin olarak belirlenememekle birlikte), küçük hücreli akciğer kanserlerine özgü olduğu ileri sürülen del(3)(p14?p23?) bulgusudur. Klonal olarak gözlediğimiz inv(3)(p14q29) bulgusunda ise, kırık noktası yine küçük hücreli akciğer kanseri için kritik sayılan bölgededir. Yaptığımız literatür araştırmasında periferik kanında bu kadar kompleks sitogenetik anomaliler ve küçük hücreli akciğer kanserlerinin en karakteristik bulgusu olan 3p anomalilerini taşıyan başka bir akciğer kanserli olguya rastlamadık.

Periferik kanında sitogenetik inceleme yapılan diğer küçük hücreli akciğer kanserli olgularımızdan Olgu 36'da bir metafazda -6, bir metafazda -14, bir metafazda da -9 ve -21

saptanmış, ayrıca iki hücrede de endoreduplikasyon gözlenmiştir. Olgu 38’de ise bir metafazda - 18, bir metafazda $t(14)(q?)$ bir metafazda ise $inv(3)(?)$ bulgusu saptanmış, fakat metafazın bant kalitesi iyi olmadığı için kırık noktaları belirlenememiştir. Fakat derivatif kromozomun morfolojik yapısı, Olgu 34’te gözlenen $inv(3)$ ’e benzemektedir.

Serimizde dmin’leri çok az gözledik. Yalnızca adenokarsinom tanısı almış olan Olgu 6’nın tümör dokusu kültüründen 3 hücrede birer tane ve küçük hücreli akciğer karsinomlu Olgu 34’ün periferik kan kültüründen 19 hücrede birden altıya kadar değişen sayılarda dmin saptandı. Bu olgumuz, serimizdeki tek metastatik olgudur. Ayrıca, bütün olgularımızdan sitotoksik tedavi öncesinde materyal alınarak sitogenetik inceleme yapılmıştır. Bu bulgularımız, hastalığın ilerleyen dönemlerinde ve tedaviye başladıktan sonra dmin ve hsr gibi gen amplifikasyonu bulgularının daha fazla görüldüğünü bildiren literatürle uyumludur (20, 102, 104, 106).

Periferik kanında inceleme yaptığımız toplam 29 olgudan 6’sı kanser tanısı almadığı için çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışma grubundaki 23 olgunun 3’ünde analize uygun metafaz bulunamamış, 20’sinde ise karyotip tayini yapılmıştır. 12 olguda en az iki değişik ploidi seviyesinde metafazlar görülmüştür. 7 olguda klonal sayısal ve/veya yapısal anomaliler bulunmuştur. Karyotip tayini yapılan 20 olgunun hepsinde klonal olmayan anomaliler gözlenmiştir. Ayrıca, 3 olguda pcd ya da endoreduplikasyon gibi mitoz anomalileri de saptanmıştır. Tüm bu bulgular, küçük hücreli ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde, periferik kanda çeşitli kromozom anomalileri bulunabildiğini ve özellikle metastatik küçük hücreli akciğer kanserlerinde tümöre bağlı çok sayıda kromozom anomalisinin periferik kanda saptanabileceğini göstermekte, ve bu tür olgularda periferik kanda sitogenetik inceleme yapmanın önemine işaret etmektedir.

VI. SONUÇLAR

Akciğer kanserlerinde yapılan sitogenetik incelemeler daha çok ameliyat materyallerinde, efüzyon sıvısı örneklerinde ya da metastatik örneklerde yapılmaktadır. Bu örneklerin kültürde üreme oranı %30-50 arasındadır. Bronkoskopik biyopsi materyallerinin ise çok küçük olması ve alındığı bölgenin dış ortamla temasından dolayı steril olmaması nedeniyle kültürde üretilmeye uygun olmadığı bildirilmektedir. Fakat tanı aşamasında materyal temin edilebilmesi ve gerektiğinde tekrarlanabilir olması nedeniyle bu materyallerde inceleme yapabilmek önemlidir. Çalışmamızda akciğer kanseri şüphesi ile tanı amacıyla bronkoskopi yapılan 40 olgunun biyopsi örnekleri %56 gibi bir başarı oranı ile kültüre edilerek, bu materyallerin, bütün dezavantajlarına karşın, kültürde üretilerek sitogenetik inceleme yapmaya uygun örnekler olduğu gösterilmiştir.

Küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde bütün kromozomların sayısal değişikliklere katıldıkları gözlenmiştir. Bu bulgu literatürle uyumludur. Küçük hücreli olmayan akciğer kanserli 15 olgumuzda saptadığımız klonal kromozom kayıpları sıklık sıralarına göre şöyledir: -6 ve -19 (7'şer olguda), -X, -Y, -13, -21 ve -22 (6'şar olguda), -3, -7, -8, -9, -15, -16, -17, -18 ve -20 (5'er olguda), -1, -4, -5, -10, -11, -12 (4'er olguda) ve -2 ve -14 (3'er olguda).

Bu bulgularımızdan altı olguda gözlediğimiz -X, beş olguda gözlediğimiz -3, -7, -8, -17 ve dört olguda saptadığımız -11, daha önce literatürde küçük hücreli olmayan akciğer kanserli olgularda sık görülen anomaliler olarak bildirilmemişlerdir.

Küçük hücreli olmayan akciğer kanserli olgu grubunda gözlenen klonal kromozom artışları ise, sıklık sıralarına göre, şöyledir: +16 (6 olguda), +9, +12, +18 ve +21 (5'er olguda), +Y, +1, +2, +3, +4, +5, +6, +15 ve +22 (4'er olguda), +8, +10, +13, +14 ve +19 (3'er olguda), +X, +7, +17 ve +20 (2'şer olguda) ve +11 (bir olguda).

Beşer olguda gözlediğimiz +9, +18, +21, dörder olguda bulunan +4, +15, +22, üçer olguda saptanan +10, +13, +14, +19 ve iki olguda saptadığımız +X daha önce literatürde tartışılmamıştır. Bununla birlikte, yayınlanan çalışmalarda özellikle yapısal anomalilerin üzerinde durulduğu gözlenmiş, sayısal anomalilerin daha dikkatle tartışılmasının gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

Küçük hücreli olmayan akciğer kanserli olgularımızın 17'sinin periferik kan kültürü yapılmış ve 6'sında klonal kromozom anomalileri saptanmıştır. Bu 6 olgunun 4'ünde periferik kanda -22 gözlenmiştir. -4, -11 ve -16 bulguları 3'er olguda bulunmaktadır. -5, -8, -17, -18, -21, -X, +11 ve +19 bulguları ikişer olguda gözlenmiştir. -1, -2, -3, -6, -7, -9, -10, -12, -13, -14, -15, -19, +1, +2, +5, +6, +8, +12, +13, +16, +17, +18, +21 ve +22 bulguları ise birer olguda saptanmıştır.

-22 başta olmak üzere, -4, -11 ve -16 gibi bulguların hem tümör, hem de periferik kanda ortak olarak gözlenmeleri, bu değişikliklerin küçük hücreli olmayan akciğer kanseri gelişiminde rolü olabileceğini düşündürmüştür. Bu bulgulara dayanarak, akciğer kanserli hastalarda periferik kanda sitogenetik inceleme yapmanın önemli ve değerli olduğu sonucuna varılmıştır.

Küçük hücreli olmayan akciğer kanserli olgularda gözlediğimiz yapısal anomalilerde ise 1p13, 3p25, 3q24, 3q26, 6p21, 6q21, 8q24, 11p11, 11p13, 11q13, 11q23, 15q10 ve 22q13 kırık noktaları saptanmıştır. Bu kırık noktaları daha önce de küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde gözlenen yapısal anomalilerde yer almışlardır.

Küçük hücreli akciğer kanserli olgularımız sayıca az olmakla birlikte, metastatik küçük hücreli akciğer kanserli olgumuzun periferik kanında çok sayıda sayısal ve yapısal kromozom anomalisi ve küçük hücreli akciğer kanserlerinin tümör dokularında sık görülen 3p anomalileri saptanmıştır. Periferik kanda bu kadar kompleks karyotip ve 3p anomalileri literatürde bulunmamaktadır. Bu bulgumuz da, akciğer kanserli olgularda periferik kanda sitogenetik inceleme yapmanın değerini açıkça ortaya koymaktadır.

VII. ÖZET

Akciğer kanserlerinde çeşitli kromozom anomalilerinin önemi bilinmektedir. Akciğer kanserlerinde yapılan çalışmalar daha çok ameliyat materyallerinde, efüzyon sıvısı örneklerinde, ya da metastatik örneklerde yapılmaktadır ve bu örneklerin kültürde üreme oranı %30-50 arasındadır. Bronkoskopik biyopsi materyallerinin ise genellikle çok küçük olduğu ve kültürde üretilmesinin güç olduğu bildirilmektedir. Fakat, bronkoskopik biyopsi materyallerinin kanserin tanı aşamasında elde edilmesi ve gerekirse ilerleyen evrelerde de tekrarlanabilir olması, bu materyallerde sitogenetik inceleme yapılmasını önemli kılmaktadır. Çalışmamızda, akciğer kanseri şüphesiyle, tanı amacıyla bronkoskopi yapılan 40 olgudan elde edilen biyopsi materyalleri %56 gibi bir başarı ile kültüre edildi. Olgulardan tümör dokusu örneğinin yanı sıra, normal bronş mukozasından bronkoskopik biyopsi materyali ve periferik kan örneği de sitogenetik incelemeye tabi tutuldu. Küçük hücreli olmayan akciğer kanserli olgu grubumuzun (15 olgu) tümör dokularında, sıklık sıralarına göre, -6, -19 (7'şer olguda), -X, -Y, -13, -21, -22 (6'şar olguda), -3, -7, -8, -9, -15, -16, -17, -18, -20 (5'er olguda), -1, -4, -5, -10, -11, -12 (4'er olguda), -2, -14 (3'er olguda), +16 (6 olguda), +9, +12, +18, +21 (5'er olguda), +Y, +1, +2, +3, +4, +5, +6, +15, +22 (4'er olguda), +8, +10, +13, +14, +19 (3'er olguda), +X, +7, +17, +20 (ikişer olguda) ve +11 (bir olguda) saptandı. Bu bulgulardan -X, -3, -7, -8, -17, -11, +4, +9, +10, +13, +14, +15, +18, +19, +21, +22, ve +X daha önce literatürde tartışılmamıştır. Küçük hücreli olmayan akciğer kanserli olguların tümör dokularında gözlediğimiz yapısal anomalilerde ise 1p13, 3p25, 3q24, 3q26, 6p21, 6q21, 8q24, 11p11, 11p13, 11q13, 11q23, 15q10 ve 22q13 kırık noktaları saptandı. Bu kırık noktalarının bu kanserlerde gözleendiği literatürde de bildirilmektedir. Küçük hücreli olmayan akciğer kanserli 6 olgunun periferik kanında da klonal kromozom anomalileri gözleendi. Dört olguda -22, üçer olguda ise -4, -11 ve -16 bulundu. Bu bulguların hem tümör hem de periferik kanda ortak olması, bunların küçük hücreli olmayan akciğer kanseri gelişiminde rolü olabileceğini düşündürmüştür. Küçük hücreli akciğer kanserli olgularımız sayıca az olmakla birlikte, metastatik küçük hücreli akciğer kanserli olgumuzun periferik kanında çok sayıda sayısal ve yapısal kromozom anomalileri ve bu kanserlerin tümör dokularında sık görülen 3p anomalileri saptanmıştır. Bu bulgularımız, akciğer kanserli olgularda periferik kanda sitogenetik inceleme yapmanın değerini açıkça ortaya koymaktadır.

SUMMARY

The importance of chromosomal changes in lung cancers has long been known. Cytogenetic studies on lung cancer are generally performed on surgery materials, effusions or metastatic samples and the success rate of the cultures is between 30-50%. The bronchoscopic biopsy materials are usually considered to be too small for cultivating, but these materials are easy to obtain in the diagnosis stage of the cancer and this procedure can be repeated many times as needed during the progress of the disease. Therefore, it is important to perform cytogenetic analysis on these materials. In this study, materials from 40 cases to whom bronchoscopic biopsy was applied due to lung cancer suspect, have been cultured with a success rate of 56%. Apart from tumor tissue, we have also performed cytogenetic analysis on normal tissue from bronchial epithelium and peripheral blood of the patients. In the NSCLC group (15 cases) the following findings have been noted in tumor materials: -6, -19 (7 case each), -X, -Y, -13, -21, -22 (6 cases each), -3, -7, -8, -9, -15, -16, -17, -18, -20 (5 cases each), -1, -4, -5, -10, -11, -12 (4 cases each), -2, -14 (3 cases each), +16 (6 cases), +9, +12, +18, +21 (5 cases each), +Y, +1, +2, +3, +4, +5, +6, +15, +22 (4 cases each), +8, +10, +13, +14, +19 (3 cases each), +X, +7, +17, +20 (2 cases each), and +11 (in one case). Among those findings -X, -3, -7, -8, -17, -11, +4, +9, +10, +13, +14, +15, +18, +19, +21, +22 and +X has not been reported in the literature previously. The structural chromosome changes observed in the tumor materials of NSCLS group involved the breakpoints of 1p13, 3p25, 3q24, 3q26, 6p21, 6q21, 8q24, 11p11, 11p13, 11q13, 11q23, 15q10 and 22q13. These breakpoints have been reported in NSCLC cases in the literature. In the blood culture of the 6 NSCLC patients clonal chromosome changes have been observed. In four cases -22 and in three cases -4, -11 and -16 has been found. The similar findings both in the tumor and the blood cultures of some patients, may lead to a suggestion as these cytogenetic changes could have played a role in the development of NSCLC. The SCLC cases were few in number but in blood culture preparation of the case with metastatic SCLC we have observed many numerical and structural aberrations especially on 3p, anomalies of which have already been reported to exist in the tumor tissues of such patients. These findings show the importance of cytogenetic analysis on peripheral blood of the lung cancer patients.

IX. KAYNAKLAR

1. Aguilar, L., Lisker, R., Ruz, L., Mutchinick, O.: Constitutive heterchromatin polymorphisms in patients with malignant diseases. *Cancer*, 47: 2437-2439, 1981
2. Altman, R., Sarg, M.J. (eds): *The Cancer Dictionary*. New York: Facts on File, 1992
3. Arzimanoglou, I. I., Gilbert, F., Barber, H. R. K.: Microsatellite instability in human solid tumors. *Cancer*, 82: 1808-1820, 1998
4. Axelrod, N.: Of telomeres and tumors. *Nature Medicine*, 2 (2): 158-159, 1996
5. Balsara, B. R., Sonoda, G., du Manoir, S., Siegfried, J. M., Gabrielson, E., Testa, J. R.: Comparative genomic hybridization analysis detects frequent, often high level, overrepresentation of DNA sequences at 3q, 5p, 7p, and 8q in human non-small cell lung carcinomas. *Cancer Res.*, 57: 2116-2120, 1997
6. Barletta, J. M., Rainer, S., Feinberg, A. P.: Reversal loss of imprinting in tumor cells by 5-Aza-2'-deoxycytidine. *Cancer Res.*, 57: 48-50, 1997
7. Bender, C. M., Pao, M. M., Jones, P. A.: Inhibition of DNA methylation by 5-Aza-2'-deoxycytidine suppresses the growth of human tumor cell lines. *Cancer Res.*, 58: 95-101, 1998
8. Berker-Karaüzüm, S., Lüleci, G., Özbilim, G., Erdoğan, A., Kuzucu, A., Demircan, A.: Cytogenetic findings in thirty lung carcinoma patients. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 100: 2, 114-123, 1998
9. Brass, N., Racz, A., Heckel, D., Remberger, K., Sybrecht, G. W., Meese, E. U.: Amplification of the genes BCHE and SLC2A2 in 40% of squamous cell carcinoma of the lung. *Cancer Res.*, 57: 2290-2294, 1997
10. Burholt, D. R., Shackney, S. E., Ketterer, D. M., Pollice, A. A., Smith, C. A., Brown, K. A., Giles, H. R., Schepart, B. S.: Karyotypic evolution of a human undifferentiated large cell carcinoma of the lung in tissue culture. *Cancer Res.*, 49: 3355-3361, 1989
11. Cagle, P. T., Taylor, L. D., Schwartz, M. R., Ramzy, I., Elder, F. F. B.: Cytogenetic abnormalities common to adenocarcinoma metastatic to the pleura. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 39:219-225, 1989
12. Center, R., Lukeis, R., Dietzsch, E., Gillespie, M., Garson, O. M.: Molecular deletion of 9p sequences in non-small cell lung cancer and malignant mesothelioma. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 7: 47-53, 1993
13. Center, R., Lukeis, R., Vrazas, V., Garson, O. M.: Y chromosome loss and rearrangement in non-small cell lung cancer. *Int. J. Cancer*, 55: 390-393, 1993

14. Chen, J. X., Zheng, Y., West, M., Tang, M.: Carcinogens preferentially bind at methylated CpG in the mutational hot spots. *Cancer Res.*, 58: 2070-2075, 1998
15. Chen, X. Q., Stroun, M., Magnenat, J. L., Nicod, L. P., Kurt, A. M., Lyautey, J., Lederrey, C., Anker, P.: Microsatellite alterations in plasma DNA of small cell lung cancer patients. *Nature Medicine*, 2: 1033-1035, 1996
16. Clerici, M., Lavezzi, A. M., Vergani, C., Pezzuoli, G., Lupurini, G., Maturri, L.: Cytogenetic analysis in 28 radically operated non-small cell lung cancer: preliminary considerations. *Tumori*, 75: 483-485, 1989
17. D'Alessandro, E., Re, M. L. L., Crisci, R., Ligas, C., Coloni, G. F.: Cytogenetic findings in primary non-small cell lung cancer. *Tumori*, 80: 151-156, 1994
18. Dave, B. J., Hopwood, V. L., Spitz, M. R., Pathak, S.: Sex chromosome abnormalities in lung cancer patients. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 87: 24-28, 1996
19. Dave, B. J., Risin, S. A., Spitz, M. R., Pathak, S.: Fluorescent in situ hybridization analysis in blood lymphocytes of lung cancer patients. *Anticancer Res.*, 16: 1187-1192, 1996
20. De Fusco, P. A., Frytak, S., Dahl, R. J., Weiland, L. H., Unni, K. K., Dewald, G. W.: Cytogenetic studies in 11 patients with small cell carcinoma of the lung. *Mayo Clin. Proc.*, 64: 168-176, 1989
21. Devereux, T. R., Taylor, J. A., Barrett, J. C.: Molecular mechanisms of lung cancer, interaction of environmental and genetic factors. Giles F. Filly Lecture, Session 2, Thomas L. Petty 38th Annual Aspen Lung Conference, Chest, 109: 15S-19S, 1996
22. Dosaka-Akita, H., Hommura, F., Fujita, H., Kinoshita, I., Nishi, M., Morikawa, T., Katoh, H., Kawakami, Y., Kuzumaki, N.: Frequent loss of gelsolin expression in non-small cell lung cancers of heavy smokers. *Cancer Res.*, 58: 322-327, 1998
23. Drabkin, H. A., Mendez, M. J., Rabbitts, P. H., Varkony, T., Bergh, J., Schlessinger, J., Erickson, P., Gemmill, R. M.: Characterization of the submicroscopic deletion in the small-cell lung carcinoma (SCLC) cell line U2020. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 5: 67-74, 1992
24. Drouin, V., Viguié, F., Debesse, B.: Near-haploid karyotype in a squamous cell lung carcinoma. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 7: 209-212, 1993
25. Druck, T., Hadaczek, P., Fu, T. B., Ohta, M., Siprashvili, Z., Baffa, R., Negrini, M., Kastury, K., Veronese, M. L., Rosen, D., Rothstein, J., McCue, P., Cotticelli, M. G., Inoue, H., Croce, C. M., Huebner, K.: Structure and expression of the human FHIT gene in normal and tumor cells. *Cancer Res.*, 57: 504-512, 1997
26. Eguchi, K., Kanai, Y., Kobayashi, K., Hirohashi, S.: DNA hypermethylation at the D17S5 locus in non-small cell lung cancers: its association with smoking history. *Cancer Res.*, 57, 4913-4915, 1997
27. Emery, A. E. H., Mueller, R. F. (eds): *Elements of Medical Genetics Student Notes*, 8th edition, Edinburgh: Churchill Livingstone, 1992
28. Fong, K. M., Biesterveld, E. J., Virmani, A., Wistuba, I., Sekido, Y., Bader, S. A., Ahmadian, M., Ong, S. T., Rassool, F. V., Zimmerman, P. V., Giaccone, G., Gazdar, A. F., Minna, J. D.: FHIT and

- FRA3B 3p14.2 allele loss are common in lung cancer and preneoplastic bronchial lesions and are associated with cancer related FHIT cDNA splicing aberrations. *Cancer Res.*, 57: 2256-2267, 1997
29. Fong, K. M., Zimmerman, P. V., Smith, P. J.: Correlation of loss of heterozygosity at 11p with tumour progression and survival in non-small cell lung cancer. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 10: 183-189, 1994
 30. Fu, S-B., Li, P., Feng, X-L., Liu, C-X., Liu, Q-Z.: The origin of isochromosomes and their significance in tumorigenesis of human lung cancer. *Cancer Genet. Cytogenet.* 74: 120-122, 1994
 31. Fujiwara, Y., Ohata, H., Emi, M., Okui, K., Koyama, K., Tsuchiya, E., Nakajima, T., Monden, M., Mori, T., Kurimasa, A., Oshimura, M., Nakamura, Y.: A 3-Mb physical map of the chromosome region 8p21.3-p22, including a 600-kb region commonly deleted in human hepatocellular carcinoma, colorectal cancer, and non-small cell lung cancer. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 10: 7-14, 1994
 32. Gazdar, A. F.: The molecular and cellular basis of human lung cancer. *Anticancer Res.*, 13: 261-268, 1994
 33. Giaccone, G.: Onkogenes and antionkogenes in lung tumorigenesis. *Chest*, 109: 130S-134S, 1996
 34. Graziano, S. L., Pfeifer, A. M., Testa, J. R., Mark, G. E., Johnson, B. E., Hallinan, E. J., Pettengill, O. S., Sorenson, G. D., Tatum, A. H., Brauch, H., Zbar, B., Fletjer, W. L., Erlich, G. D., Poiesz, B. J.: Involvement of the RAF1 lokus, at band 3p25, in the 3p deletion of small-cell lung cancer. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 3: 283-293, 1991
 35. Greaves, M.: Is telomerase activity in cancer due to selection of stem cells and differentiation arrest? *Trends Gen.*, 12 (4): 127-128, 1996
 36. Güven, G.: Türk populasyonunda afidikolin, flordeoksiüridin ve kafein ile indüklenen fragil bölgelerin sıklık ve dağılımları. Doktora Tezi , İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, 1996
 37. Haas, O. A., Argyriou-Tirita, A., Lion, T.: Parental origin of chromosomes involved in the translocation t(9;22). *Nature*, 359: 414-416, 1992
 38. Hagmar, L., Brögger, A., Hansteen, I. L., Heim, S., Högstedt B., Knudsen, L., Lambert, B., Linnainmaa, K., Mitelman, F., Nordenson, I., Reuterwall, C., Salomaa, S., Skerfving, S., Sorsa, M.: Cancer risk in humans predicted by increased levels of chromosomal aberrations in lymphocytes: Nordic study group on the health risk of chromosome damage. *Cancer Res.*, 54: 2919-2922, 1994
 39. Hayashi, N., Sugimoto, Y., Tsuchiya, E., Ogawa, M., Nakamura, Y.: Somatic mutations of the MTS (multipl tumor suppressor) 1/CDK4I (cyclin-dependent kinase 4 inhibitor) gene in human primary non-small cell lung carcinomas. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 202: 1426-1430, 1994
 40. Heim, S., Mitelman, F. (eds): *Cancer Cytogenetics*. 2nd ed. New York: Wiley- Liss, 1995
 41. Herman, J. G., Jen, J., Merlo, A., Baylin, S. B.: Hypermethylation-associated inactivation indicates a tumor suppressor role for p15^{INK4B1}. *Cancer Res.*, 56: 722-727, 1996

42. Hochberg, A., Gonik, B., Goshen, R., de Groot, N.: A growing relationship between genomic imprinting and tumorigenesis. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 73: 82-83, 1994
43. Hodgson, S.V., Maher E.R. (eds): *A Practical Guide to Human Cancer Genetics*. Cambridge: Cambridge University Press, 1993
44. Huebner, K., Hadaczek, P., Siprashvili, Z., Druck, T., Croce, C. M.: The FHIT gene, a multiple tumor suppressor gene encompassing the carcinogen sensitive chromosome fragile site, FRA3B. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1332: M65-M70, 1997
45. Iizuka, M., Sugiyama, Y., Shiraishi, M., Jones, C., Sekiya, T.: Allelic losses in human chromosome 11 in lung cancers. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 13: 40-46, 1995
46. ISCN (1995): *An International System for Human Cytogenetic Nomenclature*, Mitelman F (ed); S. Karger, Basel, 1995
47. Islam, M.Q., Köpf, I., Levan, A., Granberg, S., Friberg, L.G., Levan, G.: Cytogenetic findings in 111 ovarian cancer patients: therapy-related chromosome aberrations and heterchromatic variants. *Cancer Genet Cytogenet*, 65: 35-46, 1993
48. Issa, J. P. J., Baylin, S. B.: Epigenetics and human disease. *Nature Medicine*, 2 (3): 281-282, 1996
49. Johansson, M., Jin, Y., Heim, S., Mandahl, N., Hambræus, G., Johansson, L., Mitelman, F.: Pseudodiploid karyotypes in adenosquamous carcinomas of the lung. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 63: 95-96, 1992
50. Johansson, M., Jin, Y., Mandahl, N., Hambræus, G., Johansson, L., Mitelman, F., Heim, S.: Cytogenetic analysis of short-term cultured squamous cell carcinomas of the lung. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 81: 46-55, 1995
51. Johnson, B.E.: Molecular biology of lung cancer. In Mendelsohn, Howley, Israel, Liotta (eds): *The Molecular Basis of Cancer*, Philadelphia: Saunders, 1995, s. 317-339
52. Kallioniemi, O. P., Kallioniemi, A., Piper, J., Isola, J., Waldman, F. M., Gray, J. W., Pinkel, D.: Optimizing comparative genomic hybridization for analysis of DNA sequence copy number changes in solid tumors. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 10: 231-243, 1994
53. Kaye, F. J., Kratzke, R. A., Gerster, J. L., Lin, P. S.: Recessive oncogenes in lung cancer. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 142: S44-S47, 1990
54. Kim, S. K., Ro, J. Y., Kemp, B.L., Lee, J. S., Kwon, T. J., Fong, K. M., Sekido, Y., Minna, J. D., Hong, W. K., Mao, L.: Identification of three distinct tumor suppressor loci on the short arm of chromosome 9 in small cell lung cancer. *Cancer Res.*, 57: 400-403, 1997
55. Kipling, D.: Telomerase: immortality enzyme or oncogene? *Nature Genetics*, 9: 104-105, 1995
56. Kishimoto, Y., Sugio, K., Hung, J. Y., Virmani, A. K., McIntire, D. D., Minna, J. D., Gazdar, A. F.: Allele-specific loss in chromosome 9p loci in preneoplastic lesions accompanying non-small cell lung cancers. *Journal of the National Cancer Institute*, 87: 1224-1229, 1995
57. Kondo, M., Matsuoka, S., Uchida, K., Osada, H., Nagatake, M., Takagi, K., Harper, J. W., Takahashi, T., Elledge, S. J., Takahashi, T.: Selective maternal loss in human lung cancers of the maternally expressed p57^{KIP2} gene at 11p15.5. *Oncogene*, 12: 1365-1368, 1996

58. Latif, F., Tory, K., Modi, W. S., Graziano, S. L., Gamble, G., Douglas, J., Heppell-Parton, A. c., Rabbitts, P. H., Zbar, B., Lerman, M. I.: Molecular characterization of a large homozygous deletion in the small cell lung cancer cell line U2020: A strategy for cloning the putative tumor suppressor gene. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 5: 119-127, 1992
59. Lee, J. S., Pathak, S., Hopwood, V., Tomasovic, B., Mullins, T. D., Baker, F. L., Spitzer, G., Neidhard, J. A.: Involvement of chromosome 7 in primary lung tumor and nonmalignant normal lung tissue. *Cancer Res.*, 47: 6349-6352, 1987
60. Lu, Y. J., Dong, X. Y., Guo, S. P., Zhang, R. G., Ke, Y., Zhang, L. Z., Xu, L. H., Cheng, S. J.: 2q-, a non-random chromosomal abnormality in human non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis*, 17: 1589-1593, 1996
61. Lukeis, R., Ball, D., Irving, L., Garson, O. M., Hasthorpe, S.: Chromosome abnormalities in non-small cell lung cancer pleural effusions: cytogenetic indicators of disease subgroups. *Genes, Chromosomes, & Cancer*, 8: 262-269, 1993
62. Lukeis, R., Irving, L., Garson, M., Hasthorpe, S.: Cytogenetics of non-small cell lung cancer: analysis of consistent non-random abnormalities. *Genes, Chromosomes, & Cancer*, 2: 116-124, 1990
63. Mandahl, N.: Methods in solid tumour cytogenetics. In Rooney, D. E., Czepulkowski, B. H. (eds): *Human Cytogenetics Vol. II, Malignancy and acquired abnormalities, A Practical Approach*, Oxford University Press, New York, 1992
64. McKusick, V. A., Amberger, J. S.: General Themes, Appendix 1-1. In: Scriver, C. R., Beaudet, A. L., Sly, W. S., Valle, D. (eds). *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995
65. Mead, L. J., Gillespie, M. T., Irving, L. B., Campbell, L. J.: Homozygous and hemizygous deletions of 9p centromeric to the interferon genes in lung cancer. *Cancer Res.*, 54: 2307-2309, 1994
66. Merlo, A., Gabrielson, E., Askin, F., Sidransky, D.: Frequent loss of chromosome 9 in human primary non-small cell lung cancer. *Cancer Res.*, 54: 640-642, 1994
67. Mertens, F., Johansson, B., Höglund, M., Mitelman, F.: Chromosomal imbalance maps of solid tumors: A cytogenetic survey of 3185 neoplasms. *Cancer Res.*, 57: 2765-2780, 1997
68. Mertens, F., Johansson, B., Mitelman, F.: Isochromosomes in neoplasia. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 10: 221-230, 1994
69. Miura, I., Resau, J., Tomiyasu, T., Testa, J.R.: Isochromosome (8q) in four patients with adenocarcinoma of the lung. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 48: 203-207, 1990
70. Miura, I., Siegfried, J. M., Reseau, J., Keller, S. M., Zhou, J., Testa, J. R.: Chromosome alterations in 21 non-small cell lung carcinomas. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 2: 328-338, 1990
71. Moorhead, P. S., Nowell, P. C., Mellman, W. J., Battips, D. M., Hungerford, D. A.: Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell Res.*, 20: 613-616, 1960

72. Mori, N., Yokota, J., Oshimura, M., Cavenee, W. K., Mizoguchi, H., Noguchi, M., Shimosato, Y., Sugimura, T., Terada, M.: Concordant deletions of chromosome 3p and loss of heterozygosity for chromosomes 13 and 17 in small cell lung carcinoma. *Cancer Res.*, 49: 5130-5135, 1989
73. Nagatake, N., Osada, H., Kondo, M., Uchida, K., Nishio, M., Shimokata, K., Takahashi, T., Takahashi, T.: Aberrant hypermethylation at the bcl-2 lokus at 18q21 in human lung cancers. *Cancer Res.*, 56, 1886-1891, 1996
74. Nelson, H. H., Wicke, J. K., Gunn, L., Wain, J. C., Christiani, D. C., Kelsey, K. T.: Chromosome 3p14 alterations in lung cancer: Evidence that FHIT exon deletion is a target of tobacco carcinogens and asbestos. *Cancer Res.*, 58: 1804-1807, 1998
75. Nielsen, J. L., Walsh, J. T., Degen, D. R., Drabek, S. M., McGill J. R., Von Hoff, D. D.: Evidence of gene amplification in the form of double minute chromosomes is frequently observed in lung cancer. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 65: 120-124, 1993
76. Nomoto, S., Haruki, N., Kondo, M., Konishi, H., Takahashi, T., Takahashi, T., Takahashi, T.: Search for mutations and examination of allelic expression imbalance of the p73 gene at 1p36.33 in human lung cancers. *Cancer Res.*, 58: 1380-1383, 1998
77. Ohata, H., Emi, M., Fujiwara, Y., Higashino, K., Nakagawa, K., Fugatami, R., Tsuchiya, E., Nakamura, Y.: Deletion mapping of the short arm of chromosome 8 in non-small cell lung carcinoma. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 7: 85-88, 1993
78. Olopade, O. I., Buchhagen, D. L., Malik, K., Sherman, J., Nobori, T., Bader, S., Nau, M. M., Gazdar, A. F., Minna, J. D., Diaz, M. O.: Homozygous loss of the interferon genes defines the critical region on 9p that is deleted in lung cancers. *Cancer Res.*, 53: 2410-2415, 1993
79. Öztürk M.: Tumor suppressor genes. *Özet Kitapçığı*, 2nd Balkan Meeting on Human Genetics, Istanbul, 3-6 Sep. 1996
80. Pastorino, U., Sozzi, G., Miozzo, M., Tagliabue, E., Pilotti, S., Pierotti, M. A.: Genetic changes in lung cancer. *J. Cell. Biochem., Suppl.* 17F: 237-248, 1993
81. Pathak, S.: Cytogenetics of epithelial malignant lesions. *Cancer*, 70: 1660-1670, 1992
82. Pejovic, T., Heim, S., Örndal, C., Jin, Y., Mandahl, N., Willén, H., Mitelman, F.: *Cancer Genet. Cytogenet.*, 49: 95-101, 1990
83. Petersen, I., Bujard, M., Petersen, S., Wolf, G., Goeze, A., Schwendel, A., Langreck, H., Gellert, K., Reichel, M., Just, K., du Maour, S., Cremer, T., Dietel, M., Ried, T.: Patterns of chromosomal imbalances in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung. *Cancer Res.*, 57: 2331-2335, 1997
84. Petersen, I., Langreck, H., Wolf, G., Schwendel, A., Psille, R., Vogt, P., Reichel, M. B., Ried, T., Dietel, M.: Small-cell lung cancer is characterized by a high incidence of deletions on chromosomes 3p, 4q, 5q, 10q, 13q and 17p. *Br. J. Cancer*, 75: 79-86, 1997
85. Rabbitts, P., Douglas, J., Daly, M., Sundaresan, V, Fox, B., Haselton, P., Wells, F., Albertson, D., Waters, J., Bergh, J.: Frequency and extent of allelic loss in the short arm of chromosome 3 in nonsmall-cell lung cancer. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 1: 95-105, 1989

86. Rabbitts, T.H.: Chromosomal translocations in human cancer. *Nature*, 372: 143-149, 1994
87. Rasio, D., Negrini, M., Manenti, G., Dragani, T. A., Croce, C. M.: Loss of heterozygosity at chromosome 11q in lung adenocarcinoma: identification of three independent regions. *Cancer Res.*, 55: 3988-3991, 1995
88. Ruacan Ş.: Mechanisms of carcinogenesis. In; Kansu E., Ruacan Ş., Kottaridis S. D. (eds): *Tumor Biology Course. European School of Oncology, Hacettepe University Institute of Oncology, Side-Antalya*, 1995
89. Ruddle, W., R. (ed): *Cancer Biology*. 3rd ed. New York: Oxford University Press, 1995
90. Shay, J. W., Wright, W. E.: The reactivation of telomerase activity in cancer progression. *Trends Gen.*, 12 (4): 129-131, 1996
91. Siegfried, J. M., Ellison, D. J., Resau, J. H., Miura, I., Testa, J. R.: Correlation of modal chromosome number of cultured non-small cell lung carcinomas with DNA index of solid tumor tissue. *Cancer Res.*, 51: 3267-3273, 1991
92. Soder, A. I., Hoare, S. F., Muir, S., Going, J. J., Parkinson, E. K., Keith, W. N.: Amplification, increased dosage and in situ expression of the telomerase RNA gene in human cancer. *Oncogene*, 14: 1013-1021, 1997
93. Sozzi, G., Miozzo, M., Donghi, R., Pilotti, S., Cariani, C. T., Pastorino, U., Della Porta, G., Pierotti, M. A.: Deletions of 17p and p53 mutations in preneoplastic lesions of the lung. *Cancer Res.*, 52: 6079-6082, 1992
94. Sozzi, G., Miozzo, M., Tagliabue, E., Calderone, C., Lombardi, L., Pilotti, S., Pastorino, U., Pierotti, M. A., Della Porta, G.: Cytogenetic abnormalities and overexpression of receptors for growth factors in normal bronchial epithelium and tumor samples of lung cancer patients. *Cancer Res.*, 51: 400-404, 1991
95. Sozzi, G., Sard, L., De Gregorio, L., Marchetti, A., Musso, K., Buttitta, F., Tornielli, S., Pellegrini, S., Veronese, M. L., Manenti, G., Incarbone, M., Chella, A., Angeletti, C. A., Pastorino, U., Huebner, K., Bevilacqua, G., Pilotti, S., Croce, C. M., Pierotti, M. A.: Association between cigarette smoking and FHIT gene alterations in lung cancer. *Cancer Res.*, 57: 2121-2123, 1997
96. Sozzi, G., Tornielli, S., Tagliabue, E., Sard, L., Pezzella, F., Pastorino, U., Minoletti, F., Pilotti, S., Ratcliffe, C., Feronese, M. L., Goldstraw, P., Huebner, K., Croce, C. M., Pierotti, M. A.: Absence of Fhit protein in primary lung tumors and cell lines with FHIT gene abnormalities. *Cancer Res.*, 57: 5207-5212, 1997
97. Sozzi, G., Veronese, M. L., Negrini, M., Baffa, R., Cotticelli, M. G., Inoue, H., Tornielli, S., Pilotti, S., De Gregorio, L., Pastorino, U., Pierotti, M. A., Ohta, M., Huebner, K., Croce, C. M.: The FHIT gene at 3p14.2 is abnormal in lung cancer. *Cell*, 85: 17-26, 1996
98. Spiro, S. G.: *Carcinoma of the lung. European Respiratory Monograph, Vol. 1, Monograph 1*, 1995
99. Sundareshan, T.S., Augustus, M.: Normal expression of fra(3)(p14.2) in lymphocytes of lung cancer patients. *Cancer Genet Cytogenet*, 89: 82-84, 1996

100. Sunderashan, T. S., Augustus, M.: Cytogenetics of non-small cell lung cancer: simple technique for obtaining high quality chromosomes by fine needle aspirate cultures. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 91: 53-60, 1996
101. Taguchi, T., Zhou, J. Y., Feder, M., Litwin, S., Klein-Szanto, A. J. P., Testa, J. R.: detection of aneuploidy in interphase nuclei from non-small cell lung carcinomas by fluorescence in situ hybridization using chromosome-specific repetitive DNA probes. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 89: 120-125, 1996
102. Testa, J. R., Graziano, S. L.: Molecular implications of recurrent cytogenetic alterations in human small cell lung cancer. *Cancer Detect. Prev.*, 17: 267-277, 1993
103. Testa, J. R., Siegfried, J. M., Liu, Z., Hunt, J. D., Feder, M. M., Litwin, S., Zhou, J. Y., Taguchi, T., Keller, S. M.: Cytogenetic analysis of 63 non-small cell lung carcinomas: recurrent chromosome alterations amid frequent and widespread genomic upheaval. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 11: 178-194, 1994
104. Testa, R. J., Liu, Z., Feder, M., Bell, D. W., Balsara, B., Cheng, J. Q., Taguchi, T.: Advances in the analysis of chromosome alterations in human lung carcinomas. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 95: 20-32, 1997
105. Therman, E. (ed): *Human Chromosomes: Structure, Behaviour Effects*. 2nd ed. New York: Springer-Verlag, 1986
106. Thompson, F. H.: Cytogenetic methods and findings in human solid tumors. In Barch, M. J., Knutsen, T., Spurbeck, J. (eds): *The ACT Cytogenetics Laboratory Manual*, 3rd ed., Lippincott Raven Publishers, Philadelphia, 1997
107. Todd, S., Franklin, W. A., Varella-Garcia, M., Kennedy, T., Hilliker Jr., C. E., Hahner, L., Anderson, M., Wiest, J. S., Drabkin, H. A., Gemmill, R. M.: Homozygous deletions of human chromosome 3p in lung tumors. *Cancer Res.*, 57: 1344-1352, 1997
108. Tsezou, A., Kitsiou-Tzeli, S., Kosmidis, H., Paidousi, K., Katsouyanni, K., Sinaniotis, C.: Constitutive heterochromatin polymorphisms in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatric Hematology and Oncology*, 10: 7-11, 1993
109. Varmus, H., Weinberg R. A. (eds): *Genes and the Biology of Cancer*. New York: Scientific American Library, 1993
110. Versteeg, R.: Aberrant methylation in cancer. *Am. J. Hum. Genet.*, 60: 751-754, 1997
111. Viegas-Péquignot, E., Flüry-Hérard, A., De Cremoux, H., Chlecq, C., Bignon, J., Dutrillaux, B.: Recurrent chromosome aberrations in human lung squamous cell carcinomas. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 49: 37-49, 1990
112. Vig, B. K., Sternes, K. L.: Centromeres without kinetochore proteins: Another mechanism for origin of aneuploidy in neoplasia. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 51: 269-272, 1991
113. Watson, J. D., Gilman, M., Witkowski, J., Zoller, M. (eds): *Recombinant DNA*. 2nd ed. New York: Scientific American Books, 1992

114. Weatherall, D.J. (ed): The New Genetics and Clinical Practice, 3rd edition, New York: Oxford University Press, 1991
115. Whang-Peng, J., Kao-Shan, C. S., Lee, E. C., Bunn, P.A., Carney, D. N., Gazdar, A. F., Minna, J. D.: Specific chromosome defect associated with human small-cell lung cancer: deletion 3p(14-23). *Science*, 215: 181-182, 1982
116. Whang-Peng, J., Knutsen, T., Gazdar, A., Steinberg, S. M., Oie, H., Linnoila, I., Mulshine, J., Nau, M., Minna, J. D.: Nonrandom structural and numerical chromosome changes in non-small-cell lung cancer. *Genes, Chromosomes, & Cancer*, 3: 168-188, 1991
117. Whang-Peng, J.: 3p deletion and small cell lung carcinoma. *Mayo Clin.Proc.*, 64: 256-260, 1989
118. Wieland, I., Böhm, M., Arden, K. C., Ammermüller, T., Bogatz, S., Viars, C. S., Rajewsky, M. F.: Allelic deletion mapping on chromosome 5 in human lung carcinomas. *Oncogene*, 12: 97-102, 1996
119. Wiest, J. S., Franklin, W. A., Otstot, J. T., Forbey, K., Varella-Garcia, M., Rao, K., Drabkin, H., Gemmill, R., Ahrent, S., Sidransky, D., Saccomanno, G., Fountain, J. W., Anderson, M. W.: Identification of a novel region of homozygous deletion on chromosome 9p in squamous cell carcinoma of the lung: the location of a putative tumor suppressor gene. *Cancer Res.*, 57: 1-6, 1997
120. Wilke, C. M., Hall, B. K., Hoge, A., Paradee, W., Smith, D. I., Glover, T. W.: FRA3B extends over a broad region and contains a spontaneous HPV16 integration site: direct evidence for the coincidence of viral integration sites and fragile sites. *Human Mol. Genet.*, 5: 187-195, 1996
121. Wu, X., Dave, B. J., Jiang, H., Pathak, S., Spitz, M. R.: Lung carcinoma patients with a family history of cancer and lymphocyte primary chromosome 9 aberrations. *Cancer*, 79: 1527-1532, 1997
122. Yaman, M., Ari, O., Sipahioğlu, B., Küçükusta, A. R., Öngen, G., Yılmaz, G., Sözer, K.: Primer bronş kanserinde son on yılda görülen değişiklikler. *Solunum*, 18: 737-747, 1993
123. Yanagisawa, K., Kondo, M., Osada, H., Uchida, K., Takagi, K., Masuda, A., Takahashi, T., Takahashi, T.: Molecular analysis of the FHIT gene at 3p14.2 in lung cancer cell lines. *Cancer Res.*, 56: 5579-5582, 1996
124. Zhou, J. Y., Taguchi, T., Siegfried, J. M., Jhanwar, S. C., Resau, J., Testa, J. R.: Characterization of 9q;15q whole-arm translocation derivatives in non-small cell lung carcinomas by fluorescence in situ hybridization. *Cancer Genet. Cytogenet.*: 69: 1-6, 1993
125. Zimonjic, D. B., Druck, T., Ohta, M., Kastury, K., Croce, C. M., Popescu, N. C., Huebner, K.: Positions of chromosome 3p14.2 fragile sites (FRA3B) within the FHIT gene. *Cancer Res.*, 57: 1166-1170, 1997

X. ÖZGEÇMİŞ

1966 yılında İzmit'te doğdum. İlk ve orta öğrenimimi İzmit'te tamamladım. 1984'te İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü'nde Lisans eğitimime başladım ve 1988 yılında mezun oldum. Aynı yıl, İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün Tıbbi Genetik programına bağlı olarak İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Genetik ve Teratoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimime başladım. 1989'da İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü'nde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladım. 1991'de "Turner Sendromundaki X Kromozomu Morfolojik Düzensizliklerinin İncelenmesi" başlıklı tezimi sunarak, Yüksek Lisans eğitimimi tamamladım. Aynı yıl, The Norwegian Research Council for Science and the Humanities (NAVF) bursu ile iki ay Norwegian Radium Hospital, Oslo, Norveç'te çalıştım. 1992'de İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün Genetik programına bağlı olarak İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü Genetik Anabilim Dalı'nda Doktora eğitimime başladım. Halen görevime ve çalışmalarına aynı bölümde devam etmekteyim.

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**