

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .

← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**KÜÇÜK HÜCRELİ VE ADENOKARSİNOM TANILI
AKCİĞER KANSERİ OLGULARINDA PERİFER KANDA
3P ANOMALİLERİNİN SİTOGENETİK VE FISH
YÖNTEMİYLE İNCELENMESİ**

NARMİN BAKHSHALİYEVA

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. YELDA TARKAN ARGÜDEN**

**GENETİK ANABİLİM DALI
GENETİK PROGRAMI**

İSTANBUL-2018

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**KÜÇÜK HÜCRELİ VE ADENOKARSINOM TANILI
AKCİĞER KANSERİ OLGULARINDA PERİFER KANDA
3P ANOMALİLERİNİN SİTOGENETİK VE FISH
YÖNTEMİYLE İNCELENMESİ**

NARMİN BAKHSHALİYEVA

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. YELDA TARKAN ARGÜDEN**

**2.DANIŞMAN
DOÇ. DR. AYŞE ÇIRAKOĞLU**

**GENETİK ANABİLİM DALI
GENETİK PROGRAMI**

İSTANBUL-2018

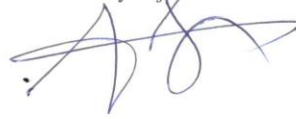
YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı, Genetik Programında Yüksek Lisans öğrencisi Narmin BAKHSHALİYEVA tarafından Doç. Dr. Yelda TARKAN ARGÜDEN'in danışmanlığında hazırlanan **“Küçük Hücreli ve Adenokarsinom Tanılı Akciğer Kanseri Olgularında Perifer Kanda 3p Anomalilerinin Sitogenetik ve FISH Yöntemiyle İncelenmesi”** başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 30.05.2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Seniha HACIHANEFİOĞLU

İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

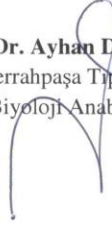
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı



Prof. Dr. Ayhan DEVİREN

İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

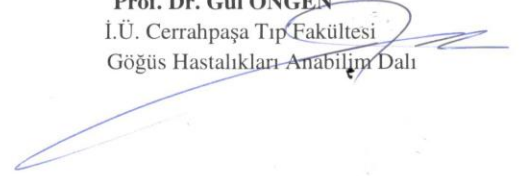
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı



Prof. Dr. Gül ÖNGEN

İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı



Doç. Dr. Fahri AKBAS

Bezmialem V. Üni. Tıp Fakültesi

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı



Doç. Dr. Yelda TARKAN ARGÜDEN

İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

NARMİN BAKHSHALİYEVA

İTHAF

Her zaman yanımda olan canım aileme ithaf ediyorum...

TEŞEKKÜR

Eğitimim boyunca engin bilgi ve deneyimleri ile beni yönlendiren, her zaman desteğini hiss ettiğim, tez danışmanım, sayın hocam Doç. Dr. Yelda Tarkan Argüden'e,

Eğitimimde rol oynayan ve bilgisiyle bana yol gösteren sayın hocam Prof. Dr. Seniha Hacıhanefioğlu'na,

Eğitimim boyunca öğrenmek istediğim ve öğrenmem gereken her konuda ilgi ve sabırla bidiklerini paylaşan sayın hocam Prof. Dr. Ayhan Deviren'e,

Değerli bilgileriyle bana destek olan, benden yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, sayın hocalarım Prof. Dr. H. Gül Öngen ve Doç. Dr. Esin Bil Tuncay'a

Tezimin her aşamasında bana destek olan, bilgi ve birikimlerini bana aktaran ikinci danışmanım, sayın Doç. Dr. Ayşe Çırakoğlu'na,

Mesleki anlamda uzmanlaşmama yardımcı olan, tezimde yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Dr. Dilhan Kuru ve ve Dr. Şükriye Yılmaz'a,

Bulgularımın istatistiksel değerlendirilmesindeki yardımlarından dolayı, sayın Nazmiye Kurşun'a

Birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum ve her konuda bana gösterdikleri destek için C.T.F. Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nın sevgili Sitogenetik ailesine ve sağladıkları sıcak çalışma ortamı ve her konuda destekleri için, C.T.F. Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalına ve İstanbul Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi 8. poliklinik ailesine,

İstanbuldaki ailem gibi olan, yardım ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen canım dostlarım, Seda Süsgün'e, Handenur Göktan'a, Msc. Hilal Şahin'e ve Msc. Başak Aslanlı Çakmak'a,

Son olarak hayatım boyunca her zaman yanımda olan, beni bugünlere emek, fedakarlık ve sabırla getiren annem Aytan Kasımov'a ve babam Karim Bakhshaliyev'a, varlığıyla yaşama sebebim olan canım kardeşim Farida Bakhshaliyeva'ya gönülden sonsuz teşekkür ve saygılarımla...

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 23831

İÇİNDEKİLER

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.	
JÜRİ BAŞKANI..... HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.	
BEYAN.....	İV
İTHAF.....	V
TEŞEKKÜR.....	VI
İÇİNDEKİLER	VII
TABLolar LİSTESİ.....	X
ŞEKİLLER LİSTESİ	XII
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XIV
ÖZET	XVI
ABSTRACT.....	XVII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.Akciğer Kanseri	3
2.2.Akciğer Kanserinin Epidemiyolojisi.....	4
2.3.Akciğer Kanserinin Etyolojisi.....	5
2.3.1.Sigara	5
2.3.2. Sigara İçmeyenler	6
2.3.3.İrk ve Etnik Köken.....	6
2.3.4.Yaş	6
2.3.5.Cinsiyet	7
2.3.6.Genetik Faktörler	8
2.3.7. Diyet.....	9
2.4. Akciğer Kanseri Sınıflandırması.....	9
2.4.1. PREİNVAZİV LEZYON.....	12
2.4.2. İnvazif Akciğer Kanserleri.....	12
2.4.2.1. Adenokarsinom	13
2.4.2.2. Küçük Hücreli Akciğer Kanseri (KHAK).....	13
2.5.Akciğer Kanserinin Kliniği.....	14
2.6.Akciğer Kanserinde Tanı ve Evreleme	15

2.6.1.Akciğer Kanserinde Tanı	15
2.6.2.Akciğer Kanserinde Evreleme	16
2.7. Akciğer Kanserinin Tedavisi	19
2.8.Akciğer Kanserinde Tarama ve Korunma	20
2.8.1.Akciğer Kanserinde Tarama	20
2.8.2Akciğer Kanserinden Korunma	21
2.9.Akciğer Kanserinin Genetiği	21
2.9.1.Akciğer Kanserinde Epigenetik	24
2.9.2.Küçük Hücreli Akciğer Kanserinin Genetiği	27
2.9.3.Akciğer Kanserinde 3p delesyonu	29
2.9.3.1.Akciğer Kanserinde 3p14.2'de FHIT Geni	30
2.10.Akciğer Kanserinde Genetik Tanı Yöntemleri	31
2.10.1.Konvansiyonel Sitogenetik Yöntemi	32
2.10.1.1. Kanser Sitogenetiği Terminolojisi	32
2.10.2.Fluoresans İn Situ Hibridizasyon Yöntemi (FISH).....	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
3.1.Yöntem.....	36
3.1.1. Materyal seçimi.....	36
3.1.2.Konvansiyonel Sitogenetik Yöntemi	39
3.1.2.1.Perifer Kan Lenfosit Kültürü	40
3.1.2.2.Harvest	40
3.1.2.3.Yayma İşlemi	41
3.1.2.4.GTL Bantlama İşlemi.....	41
3.1.2.5.Sitogenetik İnceleme	42
3.1.3.Fluoresans İn Situ Hibridizasyon (FISH) Yöntemi.....	43
3.1.3.1.Hibridizasyon Öncesi Yıkamalar	43
3.1.3.2.Prob Hazırlığı ve Denatürasyon	44
3.1.3.3.Hibridizasyon	44
3.1.3.4.Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar	44
3.1.3.5.Analiz	45
3.1.4.İstatiksel Analiz Yöntemleri	45
3.2. Gereç	46
3.2.1.Konvansiyonel Sitogenetik ve FISH Yönteminde Kullanılan Gereçler	46

3.2.2.Konvansiyonel Sitogenetik ve FISH Yönteminde Kullanılan Cam Malzemeler	47
3.2.3.Konvansiyonel Sitogenetik ve FISH Yönteminde Kullanılan Kimyasallar.....	48
3.2.4.FISH Yönteminde Kullanılan Prob.....	49
3.2.5.Konvansiyonel Sitogenetik ve FISH Yönteminde Kullanılan Solüsyonlar	50
4. BULGULAR.....	56
4.1.Adenokarsinom ve KHAK olgularının sigara kullanımına göre istatistiksel değerlendirilmesi.....	59
4.2.Adenokarsinom ve KHAK Olguların Metastaz ve Evre Dağılımlarına göre İstatistiksel Değerlendirilmesi	60
4.3.Adenokarsinom ve KHAK Olgularının Konvansiyonel Sitogenetik Bulguları.....	63
4.3.1.Adenokarsinom ve KHAK Olgularının Konvansiyonel Sitogenetik Bulgularının İstatistiksel Analizi	90
4.3.1.1.Adenokarsinom ve KHAK Olgularının Monozomi Sonuçlarının İstatistiksel Analizi	90
4.3.1.2.Adenokarsinom ve KHAK Olgularının Ploidi Seviyelerinin İstatistiksel Analizi	95
4.4.Adenokarsinom ve KHAK Olgularının FISH Bulguları	96
4.4.1.Adenokarsinom ve KHAK Olgularının FISH Bulgularının İstatistiksel Analizi	103
4.4.2.Adenokarsinom ve KHAK Olgularının FISH Bulgularının Değişkenlerle (Sigara Kullanımı, Metastaz, Evre) İstatistiksel Analizi	105
5. TARTIŞMA	110
KAYNAKLAR	131
FORMLAR	141
ETİK KURUL KARARI	144
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	146
ÖZGEÇMİŞ	147

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Akciğer Kanserinin Histolojik olarak Sınıflandırılması	10
Tablo 2-2: Akciğer Kanserinin Klinik Seyrine göre Semptom ve Bulguları	14
Tablo 2-3: Akciğer Kanseri 7.TNM Evrelemesi	16
Tablo 2-4: 7.TNM Bulgularına göre Akciğer Kanserinin Evreleri	18
Tablo 2-5: Akciğer Kanserlerinde Epigenetik Regülatörlerde Mutasyonlar	25
Tablo 2-6: Küçük Hücreli Akciğer Kanserlerinde Tümör Baskılayıcı Genler	28
Tablo 3-1: Olguların Cinsiyeti, Yaşı, Sigara Kullanımı, Metastazı, TNM'e göre Evresi ve Histopatolojik Tanısı.....	37
Tablo 3-2: Perifer Kanın Lenfosit Kültürü için Kullanılan Solüsyonlar	51
Tablo 3-3: GTL (G-Bantlama, T-Tripsin, L-Leishmann) Boyama Yönteminde Kullanılan Solüsyonlar	51
Tablo 3-4: FISH Yönteminde Kullanılan Solüsyonlar	53
Tablo 4-1: Adenokarsinom Olgularının Cinsiyet, Yaş, Sigara Kullanımı, Metastaz ve TNM Sistemine göre Evreleri (n=30).....	56
Tablo 4-2: KHAK Olgularının Cinsiyet, Yaş, Sigara Kullanımı, Metastaz ve TNM Sistemine göre Evreleri (n=24).....	57
Tablo 4-3: Kontrol Grubunun Cinsiyet ve Yaşları (n=20)	58
Tablo 4-4: Adenokarsinom ve KHAK Gruplarında Sigara İçme Durumlarının Karşılaştırılması ve Tanımlayıcı İstatistikleri.....	60
Tablo 4-5: Adenokarsinom ve KHAK Gruplarının Metastaz ve Evre Dağılımlarının Karşılaştırılması ve Tanımlayıcı İstatistikleri.....	61
Tablo 4-6: Adenokarsinom ve KHAK Gruplarının Metastaz Tutulumlarının Dağılımları	62
Tablo 4-7: Adenokarsinom Olgularının Konvansiyonel Sitogenetik Bulguları	64
Tablo 4-8: KHAK Olgularının Konvansiyonel Sitogenetik Bulguları	68
Tablo 4-9: Kontrol Grubunun Konvansiyonel Sitogenetik Bulguları	71
Tablo 4-10: Adenokarsinom, KHAK ve Kontrol Grubunda Gözlenen Monozomiler ...	72
Tablo 4-11: Adenokarsinom, KHAK ve Kontrol Grubunda Gözlenen Ploidi Seviyeleri	73

Tablo 4-12: Adenokarsinom, KHAK ve Kontrol Grubunda Monozomi Karşılaştırmaları	90
Tablo 4-13: Adenokarsinom, KHAK ve Kontrol Grubunda Monozomi Karşılaştırmaları Devam.....	92
Tablo 4-14: Adenokarsinom, KHAK ve Kontrol Grubunda Ploidi Seviyesinin Karşılaştırmaları.....	95
Tablo 4-15: Adenokarsinom Olgularında FISH Bulguları	97
Tablo 4-16: KHAK Olgularında FISH Bulguları	98
Tablo 4-17: Kontrol Grubunda FISH Bulguları	99
Tablo 4-18: Adenokarsinom ve KHAK Olgularında ve Kontrol Grubu Bireylerinde Hücre Sayılarının Karşılaştırılması ve Tanımlayıcı İstatistikleri.....	103
Tablo 4-19: Adenokarsinom Hastalarında Metastaz Olanlarla Olmayanların Hücre Sayılarının Karşılaştırılması ve Tanımlayıcı İstatistikleri	105
Tablo 4-20: KHAK Hastalarında Metastaz Olanlarla Olmayanların Hücre Sayılarının Karşılaştırılması ve Tanımlayıcı İstatistikleri.....	106
Tablo 4-21: Adenokarsinom ve KHAK Hastalarında (grupları ayırmadan) Evre Düzeylerine göre Hücre Sayılarının Karşılaştırılması ve Tanımlayıcı İstatistikleri.....	107
Tablo 5-1: Adenokarsinom Olgularında Sitogenetik Anomalilerinin Görülme Sıklığı	113
Tablo 5-2: KHAK Olgularında Sitogenetik Anomalilerinin Görülme Sıklığı	114
Tablo 5-3: Adenokarsinom Olgularında Değişkenlerine göre Monozomilerin Görülme Sıklığı.....	115
Tablo 5-4: KHAK Olgularında Değişkenlerine göre Monozomilerin Görülme Sıklığı	116

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Nikotin Bağımlılığı ve Tütün Dumanı Karsinojenleri ile Birlikte oluşan Kritik Genlerdeki Mutasyonların Akciğer Kanserine Dönüşüm Şeması	23
Şekil 2-2: FHIT Geninin Lokalizasyonu (N-normal, T-tümör, E-ekzon LOH-heterozigosite kaybı)	31
Şekil 3-1: 3p14.2 (<i>FHIT</i>) DNA FISH Probu	50
Şekil 4-1: Adenokarsinom ve KHAK Olgularının ve Kontrol Grubu Bireylerinin Bütün Kromozomların Monozomisinin Hasta Sayısına göre Dağılımı.....	73
Şekil 4-2: A1 Olgusuna Ait Sayısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü.....	74
Şekil 4-3: A2 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüleri	75
Şekil 4-4: K1 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüleri	76
Şekil 4-5: A3 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü.....	77
Şekil 4-6: A4 Olgusuna Ait Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü	78
Şekil 4-7: A10 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüleri	79
Şekil 4-8: A11 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü	79
Şekil 4-9: A12 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüleri	80
Şekil 4-10: K5 Olgusuna Ait Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü	81
Şekil 4-11: K9 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü	81
Şekil 4-12: A16 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü	82
Şekil 4-13: K14 Olgusuna Ait Sayısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü.....	83
Şekil 4-14: K15 Olgusuna Ait Sayısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü.....	83
Şekil 4-15: A19 Olgusuna Ait Sayısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü.....	84
Şekil 4-16: K17 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü	85

Şekil 4-17: A24 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü	85
Şekil 4-18: K22 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü	86
Şekil 4-19: K23 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüleri.....	88
Şekil 4-20: A30 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüleri.....	89
Şekil 4-21: A4 Olgusuna Ait Monoallelilik (2Y1K) Delesyonu İçeren FISH Görüntüsü	99
Şekil 4-22: A6 Olgusuna Ait Biallelik (2Y) Delesyonu (a), Monozomi (1Y1K) (b) ve Monoallelilik (2Y1K) Delesyon (c) İçeren FISH Görüntüsü	100
Şekil 4-23: A9 Olgusuna Ait Monoallelilik (2Y1K) Delesyonu İçeren FISH Görüntüsü	100
Şekil 4-24: A16 Olgusuna Ait Yeniden Düzenlenmeyi (2K1Y) ve Normal (2K2Y) Hücreyi İçeren FISH Görüntüsü	101
Şekil 4-25: A29 Olgusuna Ait Yeniden Düzenlenmeyi (3K2Y) İçeren FISH Görüntüsü	101
Şekil 4-26: K8 Olgusuna Ait Biallelik (2Y) Delesyonu (a) ve Monoallelilik (2Y1K) Delesyonu (b) İçeren FISH Görüntüsü	102
Şekil 4-27: K9 Olgusuna Ait Monoallelilik (2Y1K) Delesyonu (a), Yeniden Düzenlenmeleri (2K1Y) (b), Normal Hücreyi (2K2Y) (c), Biallelik (2Y) Delesyonu (d) ve Monozomiyi (1K1Y) (d) İçeren FISH Görüntüsü	102
Şekil 4-28: K19 Olgusuna Ait Monozomiyi (1K1Y) (a) ve Yeniden Düzenlenmeleri (3K2Y) (b) İçeren FISH Görüntüsü.....	102
Şekil 4-29: K21 Olgusuna Ait Monoallelilik Delesyonu (2Y1K) (a), Monozomiyi (1K1Y) (b) ve Yeniden Düzenlenmeyi (3K2Y) (c) İçeren FISH Görüntüsü.....	103

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AAH: Atipik Adenomatöz Hiperplazi

AİS: Adenokarsinoma İn Situ

AK: Atipik Karsinoid

BT: Bilgisayarlı tomografi

BHNEK: Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom

BAK: Bronşioalveoler karsinom

CGH: Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon

DNA: Deoksiribo Nukleik Asit

DİPNEHH: Diffuz İdyopatik Pulmoner Nöroendokrin Hücre Hiperplazisi

EGFR: Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü

FISH: Floresan İn Situ Hibridizasyon

IASLC/ATS/ERS: Uluslararası Akciğer Kanseri Derneği/Amerikan Göğüs Derneği/
Avrupa Solunum Derneği

ISH: İn Situ Hibridizasyon

KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri

KHDAK: Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri

KİS: Karsinoma İn Situ

LOH: Heterozigosite Kaybı

MİA: Minimal İnvaziv Adenokarsinom

MRG: Manyetik Rezonans Görüntüleme

MGE: Mezenkimal Geçiş Epiteli

M-FISH: Multicolour - Floresan İn Situ Hibridizasyon

NE: Nöroendokrin

NLST: Ulusal Akciğer Tarama Denemesi

PAH: Polisiklik Aromatik Hidrokarbon

PET: Pozitron Emisyon Tomografi

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PCR-SSCP: Polimeraz Zincir Reaksiyonu – Tek İplikli Konformasyon Polimorfizmi

RB: Retinoblastom

RFLP: Restriksiyon Parçası Uzunluk Polimorfizmi

RNA: Ribo Nukleik Asit

RT-PCR: Tersine Transkripsiyon – Polimeraz Zincir Reaksiyonu

SEER: Gözlem Epidemiyoloji ve Sona Erme Sonuçları

SHK: Skuamöz Hücreli Karsinom

SVC: Superior Vena Cava

SKY: Spektral Karyotipleme (SKY)

TK: Tipik Karsinoid

TTF-1: Tiroid Transkripsiyon Faktörü-1

TNM: Tümör Nod Metastaz

TBG: Tümör Baskılayıcı Gen

TSNA: Tütüne özgül N –nitrozamin

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

ÖZET

Bakhshaliyeva, N. (2018). Küçük Hücreli ve Adenokarsinom Tanılı Akciğer Kanseri Olgularında Perifer Kan'da 3p Anomalilerinin Sitogenetik ve FISH Yöntemiyle İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Akciğer Kanseri, yılda 1,8 milyon yeni olgu tanısı konulan ikinci en yaygın kanser türüdür. Akciğer kanserinde sık görülen 3p14.2 bölgesi kaybına ve birkaç hücre hattında homozigot delesyonuna dayanarak, FHIT geninin akciğer kanseri için aday bir tümör supressor gen olabileceği ileri sürülmüştür. Bu çalışmanın amacı, KHAK ve adenokarsinom olgularında perifer kanında sitogenetik yöntemi ile anomalileri gösterip, FISH yöntemi ile de FHIT geninin kaybının incelenmesidir. Sitogenetik yöntemi ile incelenen 25 adenokarsinom ve 18 KHAK hastaları ile 20 kontrol grubu arasında X kromozomu dışında diğer kromozomların monozomi görülme ve ploidi seviyeleri oranları arasında anlamlı fark gözlenirken ($p<0,05$), adenokarsinom ve KHAK hastaları arasında anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$). FISH yöntemi ile incelenen 30 adenokarsinom ve 24 KHAK olgularında monoallelilik ve biallelik delesyonlar, monozomi ve yeniden düzenlenmeler gibi anomaliler açısından Adenokarsinom ve KHAK grubu arasında fark bulunamazken ($p>0,05$), biallelik delesyonlar dışında her iki grubdaki diğer anomaliler 20 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Biallelik delesyonlarda sadece adenokarsinom grubu kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Sonuç olarak, KHAK ve adenokarsinom hastalarında perifer kanında sitogenetik yöntemi ile anlamlı anomaliler saptana bildirilebilir ve FISH yöntemi ile de FHIT geninin anomalileri gösterilerek, perifer kanında bu yöntemleri kullanarak tanı yöntemlerine ek olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Küçük hücreli akciğer kanseri, adenokarsinom, sitogenetik, floresans in situ hibridizasyon, FHIT

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 23831

ABSTRACT

Bakhshaliyeva, N. (2018). Investigation of 3p Anomalies in Peripheral Blood by Cytogenetics and FISH in Small Cell and Adenocarcinoma Lung Cancer Cases. İstanbul University, Institute of Health Science, Genetics Department. Msc Thesis. İstanbul.

Lung Cancer is the second most common type of cancer with 1.8 million new cases diagnosed annually. Based on the loss of the common 3p14.2 region in lung cancer and homozygous deletion in a few cell lines, it has been suggested that the FHIT gene may be a candidate tumor suppressor gene for lung cancer. The aim of this study is to demonstrate anomalies by cytogenetic method in peripheral blood in cases of SCLC and adenocarcinoma and to examine the loss of FHIT gene by FISH method. The appearance of monosomy of other chromosomes except X chromosome among the 25 adenocarcinomas and 18 SCLC patients examined by cytogenetic method and 20 control groups and there was a significant difference between the ploidy levels ratio ($p < 0,05$), there was no significant difference between adenocarcinoma and SCLC patients ($p > 0,05$). There were no differences between adenocarcinoma and SCLC group in terms of anomalies such as monosomy and biallelic deletions, monosomy and rearrangements in 30 adenocarcinomas and 24 SCLC cases investigated by FISH method ($p > 0,05$), and other anomalies in both groups were found to be statistically significant compared to 20 control groups except for biallelic deletions ($p < 0,05$). Only adenocarcinoma group was found to be significant in biallelic deletions compared to control group ($p < 0,05$). As a result, significant abnormal anomalies were detected by cytogenetic method in peripheral blood in patients with SCLC and adenocarcinoma, and abnormalities of FHIT gene were detected by FISH method and it was thought that these methods could be added to diagnostic methods in peripheral blood.

Key Words: Small cell lung cancer, adenocarcinoma, cytogenetic, fluorescence in situ hybridization, FHIT

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 23831

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer kanserleri dünya çapında ölüme neden olan başlıca kanser türlerinden biridir [1].

Küçük Hücreli Akciğer Kanserleri (KHAK) tüm akciğer kanserlerinin %20-25'ini kapsar ve paraneoplastik sendrom, metastaza eğilim, agresif klinik süreç, kemoterapi ve radyasyona hassaslığı ile diğerlerinden farklı klinikopatolojik seyri vardır [1, 2]. Akciğer adenokarsinomları ise tüm akciğer kanserlerinin %40'a yakınına kapsar [3]. KHAK'ler ve adenokarsinomlarda 3p anomalileri en yaygın olan kromozom anomalileridir. Sitogenetik çalışmalarla 3p delesyonunun küçük hücreli ve adenokarsinom akciğer kanseri için karakteristik bulgu olduğu belirtilmiştir [4-9]. Hatta kromozom 3p anomalisi olmadığı halde, 3p'de heterozigosite kaybı analizi ile allelin kaybolduğu gösterilmiştir [5, 7, 10]. Sitogenetik ve moleküler genetik teknikleri ile, 3p'deki delesyon veya heterozigosite kayıplarının KHAK olgularının %100'ünde, Adenokarsinom vakalarının ise %80'ninde görüldüğü saptanmıştır [4, 7, 8, 10-13]. Son çalışmalarda, 3. kromozomun KHAK'ler ve adenokarsinomlar da delesyona uğrayan bölgelerinde karsinogeneze rol oynayan/oynayabilecek çeşitli tümör baskılayıcı genler (TBG) saptanmıştır [4, 5, 8, 9, 14]. Örneğin 3p14'de bulunan *FHIT*, 3p12'de bulunan *ROBO/DUTTI* ve 3p21'de bulunan *RASSF1alfa*, *H37*, *FUS1* ve *SEMA3B* gibi bir çok TBG bu delesyonlar sonucunda kaybolmaktadır [5, 8, 9, 15, 16]. *FHIT* geni (Frajilhistidintriadı) diadenosintetrafosfat akümülyasyonunda görev alır, böylelikle DNA sentezi ve proliferasyona neden olur. 3p14.2'de lokalizedir ve akciğer kanserinin patogeneğinde rol oynayan önemli bir TBG olduğuna inanılır [8, 9, 15, 16].

Bu sonuçlar, KHAK'lerin ve adenokarsinomların gelişimi süresince bir çok TBG kaybı ya da inaktivasyonunun, küçük hücreli ve adenokarsinom akciğer kanserinin klinik ve biyolojik olarak agresif olan fenotipinden sorumlu olduğunu düşündürmektedir [5, 17].

Perifer kanı lenfositlerini toplamak, kültür etmek ve analiz etmek kolaydır ve tekrarlayan çalışmalarda kullanım için uygundur. Bu hücrelerde kanserle ilişkili kromozom anomalileri gösterildiği takdirde, kanserin tanısı, gelişimi, prognozu ve olası metastazları hakkında bilgi verici olacağı düşünülmektedir. Az sayıda olmakla birlikte, literatürde perifer kanı lenfositlerinde KHAK'lere özgü 3p delesyonu gibi kromozom anomalilerinin görüldüğüne dair çalışmalar bulunmaktadır [7, 11, 18].

Bu çalışmalarda KHAK'lere özgü kromozom anomalilerinin kan örneklerinde görülebildiği gösterilmekle birlikte, bu bulguların hastalığın seyri hakkında bilgi edinmek amacıyla kullanılıp kullanılamayacağını anlamak için olgu sayıları yetersizdir.

Bu çalışmanın amacı, geniş bir olgu grubunda çalışarak, KHAK'e özgü 3p anomalilerinin hastalık prognozu ve metastaz izlemi amacıyla kullanılmasının olabilirliğini araştırmaktır. Ayrıca, literatürdeki bilgilere dayanarak akciğer adenokarsinomunun da 3p anomalileri taşıma ve agresif seyir gibi özellikleri bakımından KHAK'lere benzediği düşünülerek çalışmaya dahil edilmesi uygun görülmüştür. Çalışmada, perifer kanı kültürlerinde konvansiyonel sitogenetik teknikleriyle kromozom anomalileri incelenecek ve Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) yöntemiyle 3p14 bölgesinde bulunan *FHIT* geninin kaybı araştırılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Akciğer Kanseri

Akciğer kanseri, 20. yüzyılın başına kadar nadir görülen bir hastalıktı. O zamandan beri, neoplazm hızla arttı, çoğu ülkede erkeklerde en yaygın kanser haline geldi ve günümüzde dünya çapında kansere bağlı ölümlerde ilk sıra(lar)da yer almaktadır [19]. Akciğer kanserinin sıklığındaki bu artış dünya nüfusunun kronik şekilde tütün dumanına maruziyetine bağlı olarak meydana gelmiştir. Akciğer kanseri ölümlerinin bu yaygınlığı, tütün kontrolünün sigara kullanımını azalttığı bazı ülkelerde azalmaktadır, ancak diğerlerinde hızla artmaktadır [20]. Genellikle çevresel etkilere bağlı bir malinite örneği olarak gösterilir. Sigara kullananlar ve madencilik, gemi yapımı, petrol rafinasyonu gibi mesleklerde çalışanlar sahipleri hastalığa yakalanma açısından daha yüksek riskli bireylerdir. Aynı zamanda akciğer kanseri için ek risk faktörleri arasında pasif sigara dumanı, asbest, radon ve diğer çevresel faktörler de bulunur. Son yıllarda sigaraya karşı önlemlerin alınması ile birlikte insidansın biraz azalmış olmasına rağmen, akciğer kanseri halen en sık görülen kanser türü olmaya devam etmektedir. ABD'de her yıl akciğer kanserinden ölümlerin erkeklerde yaklaşık %90'ının ve kadınlarda ise %75-80'inin sigaradan kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Akciğer kanseri riski sigarayı bıraktıktan 5 yıl sonra azalmakta fakat yine de göreceli risk sigara içmeyenlere oranla daha yüksek olmaktadır. Bununla birlikte çok sayıda çalışma, genetik faktörlerin de etkisini göstermiştir [21-25]. Hem sigara içen, hem de içmeyen bireylerin birinci derece akrabalarında akciğer kanseri görüldüğünde bu kişiler için risk 2,5 kat daha artmış olmaktadır [26].

Akciğer kanseri oldukça heterojen bir hastalıktır [27]. Hem genetik, hem de epigenetik değişiklikler kanser gelişimine katkıda bulunur. Karsinogenez, aşamalı olan genetik değişikliklerden kaynaklandığı için, kanser hücrelerinde kromozom ve gen değişimlerini anlamak çok önemlidir [28]. Epigenetik proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonlar ve epigenetik regülasyondaki anomalilerin kanserle ilişkili olduğu bilinmektedir. Büyük çaplı genomik çalışmalar, akciğer kanserinde epigenetik regülatörlerin tekrar eden değişimlerini göstermiştir [29].

2.2.Akciğer Kanserinin Epidemiyolojisi

Akciğer Kanseri, yılda 1,8 milyon yeni olgu tanısı konulan ikinci en yaygın kanser türüdür. Kanser mortalitesinin hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde önde gelen sebebidir ve kanserle bağlı ölümlerin %19,4'ünden sorumludur [30].Dünyadaki akciğer kanseri insidansı ve mortalitesinde büyük bir farklılık vardır. Erkeklerde, en yüksek akciğer kanseri insidans oranları, Orta/Doğu ve Güney Avrupa'da sırasıyla 100.000'de 57 ve 49 Yaş Standartlaştırılmış Oran(YSO), Kuzey Amerika'da 100.000'de 48,5'lik YSO ve Doğu Asya'da 100.000'de 45 YSO olarak raporlanmıştır. Kadınlarda en yüksek akciğer kanseri insidans oranları ise Kuzey Amerika'da 100.000'de 35,8 YSO, Kuzey Avrupa'da 100.000'de 21,8 YSO ve Doğu Asya'da 100.000'de 19,9'luk YSO olarak belirtilmiştir [31]. 2002 yılında küresel ölçekte kanser dağılımı üzerine yapılan bir çalışma, 1985'den bu yana akciğer kanserinin yılda en sık tanısı konan kanser türü olduğunu ortaya koymuştur. Akciğer Kanserinin küresel dağılımı, gelişmiş ülkelerdeki vakaların sayısındaki azalma ile birlikte büyük değişiklikler geçirmiştir. Bununla birlikte, gelişmekte olan ülkelerdeki akciğer kanseri hastalarının oranı son yirmi yılda %31'den %49,9'a yükselmiştir [32, 33]. Akciğer Kanserlerinin en yüksek insidansı 40 ila 70 yaş arasında gözükmetedir, sadece %2'si 40 yaşından erken ortaya çıkmaktadır [34]. 2004-2008 yılları arasındaki Gözlem, Epidemiyoloji ve Sona Erme Sonuçları (SEER) verileri, akciğer kanseri tanısında ortalama yaşı 71 olarak bildirmiştir. 20 yaşın altındaki hastalarda herhangi bir vaka tespit edilmemiştir [35]. Akciğer Kanserinin teşhis sonrası 5 yıllık sağkalım oranı %15,6'dır ve bu meme, kolon ve prostat kanserindeki sağkalım oranlarından daha düşük bir yüzdendir. Tanıda lokalize hastalığı olan hastalarda 5 yıllık sağkalım oranı %52-dir. Bununla birlikte, uzak metastaz tanısı alan hastaların %52'sinden fazlasının, erken evre kanseri tespiti için daha iyi tarama yöntemlerine ihtiyaç duyulduğunu gösteren, %3,6'lık 5 yıllık sağkalım oranı vardır [35, 36].

Türkiye akciğer kanseri haritası proje verilerinde, akciğer kanseri insidansı kadınlarda 100.000'de 9,58, erkeklerde ise 100.000'de 75,8 olmakla birlikte yeni vaka sayısı 30.239'dur. Aynı zamanda 2008 yılının raporlarına göre vakaların %90'dan fazlasının erkek olduğu ve bunların da %90'nın sigara öyküsü bulunan 35.467 akciğer

kanseri hastasının hastaneye yatışı yapılmıştır. Ülkemizde hastaların %85’den fazlasına ileri evrede tanı konulabilmektedir [34].

2.3.Akciğer Kanserinin Etyolojisi

2.3.1.Sigara

Akciğer Kanseri gelişiminde en önemli risk faktörü sigara kullanımıdır ve ölümlerin %90’ından sorumludur [34, 35]. Akciğer Kanseri olan erkeklerin %80’inde, kadınların ise %50’sinde sigara öyküsü olduğu bildirilmiştir [31, 37]. Sigara kullanan bireylerde akciğer kanseri gelişimini sigaraya başlama yaşı, sigara içme süresi, içindeki tütün miktarı, içilen sigara sayısı, filtresiz olması ve yoğun katran içermesi gibi özellikler etkilemektedir [34, 38]. Pasif sigara içicilerinde de akciğer kanseri riski normal bireylere göre 3,5 kat artmıştır. Çünkü, sigara dumanında bulunan karsinogenler etrafa yayılmakta ve filtreden geçmediği takdirde daha çok hasara maruz bırakmaktadır [38-40]. Sigara dumanı, içeriğinde 4000’den fazla kimyasal bileşen ile birlikte serbest radikaller ve oksidanlar bulunduran, partikül ve gaz fazdan oluşan iki faza ayrılmaktadır. Bu radikaller akciğerlerdeki sıvı boyunca yayılarak, hücre içi organeller vasıtasıyla DNA’da tahribat oluştururlar. Tütüne özgül N-nitrozaminlerin (TSNA) topikal karsinogenik etkisi zayıftır, ancak metabolik olarak aktive oldukları zaman, potansiyel karsinogenlere dönüşebilirler. *K-RAS* mutasyonu sigarayı bırakmış olanlarda bile adenokarsinom gelişimine neden olur ve bu da hasarın geri dönüşümsüz olduğunu göstermektedir. Bu durum, bazı vakalarda akciğer kanseri gelişme riskinin sigarayı bırakmış olsalar bile neden yüksek olduğunu açıklar. Bunların yanı sıra sigara dumanında karsinogenitenin oluşumunda etkili olan radon, kurşun, bizmut ve polonyum gibi radyoaktif maddeler de bulunur [35, 38].

2.3.2. Sigara İçmeyenler

Sigara içmeyenler terimi, hayat boyu sigara içmeyenleri de içerecek şekilde yaşamları boyunca 100'den az sigara içen kişileri tanımlar. Bununla birlikte, genel küresel istatistikler, akciğer kanserine sahip olan erkeklerin %15'inin ve kadınların da %53 kadarının sigara içmediğini ve dünya genelindeki tüm akciğer kanseri vakalarının %25'ini sigara içmeyenlerin oluşturduğunu tahmin etmektedir [35, 41]. Sigara içmeyen akciğer kanseri ayrı olarak değerlendirilirse, servikal, pankreas ve prostat kanserinden önce dünya çapında kanserden ölümlerin en yaygın yedinci nedeni olarak sıralanabilir [42]. Güney Asya ülkelerinde, akciğer kanseri olan kadınların %80'i hiç sigara içmemektedir [43]. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir araştırmada, akciğer kanseri olan kadınların %19'unun, erkeklerin ise %9'unun sigara içmediği tahmin edilmektedir [35, 44-46].

2.3.3.İrk ve Etnik Köken

İrk, sıklıkla güçlü bir sosyoekonomik ilişkiye sahip olan karmaşık bir değişkendir. Bu farklılıklar başlangıçta farklı etnik ve ırksal gruplar arasındaki sigara içme modelindeki varyasyonlara dayandırılmıştır. Akciğer kanseri riskinde gözlemlenen bu ırksal veya etnik farklılıkların açıklaması bilinmemektedir. Siyah amerikalılar akciğer kanserinden beyaz amerikalılara göre daha yüksek mortalite oranlarına sahiptirler [35]. Mortalite oranındaki bu farklılık sadece insidans hızlarının yüksekliğine değil, aynı zamanda akciğer kanseri olan siyah hastaların beyaz hastalara göre daha kötü sağkalımına esaslandırılmıştır [47].

2.3.4.Yaş

Gelişmiş ülkelerdeki bir çok populasyonun yaş ortalaması artmaktadır ve kanser bir yaşlılık hastalığı olarak yer edinmektedir. Sigara içme prevalansı 65 yaş ve üzerindeki kişilerde (%9,3) 18 ila 24 yaş (%21,4) , 25 ila 44 yaş (%23,7) ve 45 ila 64 yaş (%22,6) arasındaki kişilerden daha düşük olmakla birlikte, akciğer kanserli hastaların %65'inden fazlası 65 yaşın üzerindedir. Yaşlı nüfusun düşük sigara içme prevalansı ile daha yüksek kanser oranı arasındaki bu fark, muhtemelen yaşlı popülasyondaki sigara içme öyküsünü yansıtmaktadır [35]. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, yaşlı hastalarda, özellikle fonksiyonel olarak formda olan yaşlı hastaların, akciğer kanserinin erken evre hastalıklar için cerrahi ve ileri hastalık için tek ajan kemoterapisi de dahil olmak üzere, daha genç hastalar için kullanılan birçok tedaviden yararlanabileceği sonucuna varmışlardır [48, 49].

2.3.5.Cinsiyet

Genel olarak akciğer kanseri insidansı erkeklerde kadınlardan daha yüksek olmasına rağmen, bu fark erkeklerde akciğer kanseri insidansında süregelen azalmaya bağlı olarak azalmaktadır. Sigara içimi, kadınlarda akciğer kanserinin gelişmesi için en önemli faktördür [50]. Kadınların sigara dumanının karsinogen etkilerine erkeklerden daha fazla veya daha az duyarlı olup olmadığı tartışmalıdır [35]. Bununla birlikte, diğer çalışmalar, kadınların tütün dumanındaki karsinogenlere karşı erkeklerden daha savunmasız olabileceğini öne sürmektedir[35]. Duyarlılıkta gözlenen cinsiyet farklılıkları, nikotin metabolizmasındaki cinsiyete bağlı farklılıklarla ve metabolik aktivasyon veya akciğer kanserojenlerinin detoksifikasyonu ile ilişkili olabilir [35]. Akciğer kanserli erkek ve kadınlarda moleküler düzeyde cinsiyete bağlı olarak gözlenen farklılıkları araştıran çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin, Ryberg ve meslektaşları, akciğer kanseri olan kadınların, erkeklerden daha fazla DNA eklentileri olduğunu belirtmişlerdir. Bu tür hastaların karsinogenlere daha duyarlı olması beklenebilir; bu da kadınların neden düşük yoğunluklu sigara maruziyetiyle akciğer kanseri geliştirdiğini açıklayabilir [51]. Ayrıca, hormonal faktörler de duyarlılıkta rol oynayabilir [35].

2.3.6.Genetik Faktörler

Bir çok çalışma akciğer kanserinde genetik faktörlerin etkisini göstermiştir. Takemiya ve meslektaşları [52] ile Yamanaka ve meslektaşları [53], akciğer kanseri ile Bloom ve Werner sendromları gibi nadir görülen mendeliyen kanser sendromları arasında ilişki olduğunu göstermişlerdir. Ailesel toplanma üzerine yapılan çalışmalar, akciğer kanseri riskinde kalıtsal bir bileşen olduğu hipotezini desteklemiştir. Çalışmayı içeren bir metaanaliz, ailesinde akciğer kanseri öyküsü olan kişilerde akciğer kanserine yakalanma riskinin, sigara içmeyenlerde de artmış bir risk ile birlikte, 2 kat artmış bir risk gösterdiğini ortaya koymuştur [35, 52-54].

Bailey-Wilson ve meslektaşları, aile bağlantısı yaklaşımlarını kullanarak, ailesel akciğer kanserlerinin kromozom 6q23–25 bölgesi ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Sigara içme öyküsünün bu kalıtımın etkisine eklenmesi, akciğer kanseri için 3 kat artış riski ile ilişkilendirilmiştir [21, 35].

Spitz ve arkadaşları, akciğer kanseri kombine riskinin, sigara içen veya mutagen duyarlılık özelliklerine sahip kişilerden daha fazla, hem sigara içen, hem de mutajen duyarlılığı olan bireylerde daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. DNA eklentileri, karsinogenez derecesini temsil eden biyobelirteçler olarak ölçülebilir. Akciğer kanseri duyarlılık genlerinin birkaçı, DNA eklentilerinin artan seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir. Bu olaylar, hepsi gen ifadesini etkileyebilen DNA metilasyonu, histon deasetilasyonu ve fosforilasyon gibi değişiklikleri içerir. Birçok genetik ilişkilendirme çalışmasına rağmen, akciğer kanseri riskinin artmasından sorumlu olan spesifik genler yeterince anlaşılmamıştır. Çevresel Karsinojenlere Karşı Genetik Duyarlılık ve Uluslararası Akciğer Kanseri Konsorsiyumu gibi işbirlikçi çalışmalarda daha büyük örneklem büyüklükleri elde etmek için bulguları bir araya getirme çalışmaları sürmektedir. Akciğer kanseri duyarlılığı en azından kısmen konak genetik faktörleri tarafından belirlenir. Bu nedenle genetik yatkınlığı olan kişiler tütün içtikleri takdirde daha yüksek risk altında olabilir. Teknoloji ilerledikçe, sigara bırakma, tarama ve önleme programlarında yoğun çabalar dahil olmak üzere, spesifik müdahaleler için genetik olarak yüksek akciğer kanseri riski olarak tanımlanan alt grupları hedeflemek mümkün olabilir [35, 55].

2.3.7. Diyet

Diyetin, tüm kanserlerin yaklaşık %30'undan sorumlu olduğu öne sürülmüştür [56]. Birçok çalışma, diyet faktörlerinin akciğer kanseri riskine katkıda bulunduğunu göstermiştir [57]. Örneğin, A, C ve E vitaminleri gibi antioksidanların düşük serum konsantrasyonları, akciğer kanseri gelişimi ile ilişkilendirilmiştir [35, 58-60].

2.4. Akciğer Kanseri Sınıflandırması

Akciğer kanseri birçok alt tipe ayrılmaktadır. Yapılan ilk sınıflama, KHAK (yaklaşık vakaların %15'i) ve küçük hücre dışı akciğer kanseri (KHDAK, yaklaşık vakaların %85'i) olmuştur [61, 62]. Bu sınıflama, terapiye verilen yanıt, başlıca klinik bulgulardaki farklılıklar ve metastazın yayılımıyla ilgili olarak yapılmıştır. Bununla birlikte, son on yılda, KHDAK tanısının yaklaşımında büyük bir değişiklik olmuştur, bu nedenle küçük biyopsilerde ve sitolojide kesin sınıflandırmaya daha fazla önem verilmektedir. Akciğer kanserlerinin %70'nin ileri evrelerde mevcut olması nedeniyle çoğu hasta anrezektabl olur ve teşhis küçük biopsileri ve sitolojiyi temel alır. KHDAK'nin sınıflandırmasına yönelik bu yeni önceliğin temel nedeni, terapi seçiminin artık histolojiye bağlı olmasıdır.

Dünya Sağlık Örgütü tarafından 2004'te yapılan ve 2011'de revize edilen yeni sınıflandırmada, rezeksiyon örnekleri, küçük biyopsi örnekleri ve sitoloji sınıflandırmaları için yeni bir terminoloji önerilmiştir. Bu sınıflamaya göre; akciğer kanserinin 4 önemli histolojik tipi bulunur: skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom, küçük hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinom. Bunlar da kendi içlerinde değişik alt gruplara ayrılmaktadır [62, 63]. Akciğer kanserinin histolojik olarak detaylı sınıflandırılması Tablo 2-1'de yer almaktadır.

Tablo 2-1: Akciğer Kanserinin Histolojik olarak Sınıflandırılması (62, 63)

- **Preinvaziv Lezyon**
 - ✓ Sküamoz Displaziya/Karsinoma İn Situ (KİS)
 - ✓ Atipik Adenomatöz Hiperplazi (AAH)
 - ✓ Adenokarsinoma İn Situ (AİS)
 - Nonmüsinöz
 - Müsinöz
 - Mikst nonmüsinöz/müsinöz
 - ✓ Diffüz İdyopatik Pulmoner Nöroendokrin Hücre Hiperplazisi (DİPNEHH)
- **Sküamoz Hücreli Karsinom**
 - ✓ Tipleri
 - Papiller
 - Berrak Hücreli
 - Küçük Hücreli
 - Bazaloid
- **Küçük Hücreli Karsinom**
 - ✓ Kombine Küçük Hücreli Karsinom
- **Adenokarsinom**
 - ✓ Minimal İnvaziv Adenokarsinom (MİA) [≤ 5 mm invazyon alanı taşıyan, ≤ 3 cm lepidik predominant tümör]
 - Nonmüsinöz
 - Müsinöz
 - Mikst nonmüsinöz/müsinöz
 - ✓ İnvaziv Adenokarsinom
 - Lepidik predominant [> 5 mm invazyon alanı gösteren, önceden nonmüsinöz

BAK paterni]

- Asiner predominant
- Papiller predominant
- Mikropapiller predominant
- Müsin üreten solid predominant

✓ İnvaziv Adenokarsinom Tipleri

- İnvaziv müsinöz adenokarsinom [önceden müsinöz BAK]
- Kolloid karsinom
- Fetal varyant (düşük ve yüksek dereceli)
- Enterik varyant

• **Büyük Hücreli Karsinom**

- ✓ Tipleri
- ✓ Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom (BHNEK)
 - Kombine Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom
- ✓ Bazaloid Karsinom
- ✓ Lenfoepitelyoma benzeri Karsinom
- ✓ Berrak Hücreli Karsinom
- ✓ Rabdoid fenotipli büyük hücreli karsinom

• **Adenosküamoz Karsinom**

• **Sarkomatoid karsinomlar**

- ✓ Pleomorfik Karsinom
- ✓ İğ Hücreli Karsinom
- ✓ Dev Hücreli Karsinom
- ✓ Karsinosarkom
- ✓ Pulmoner Blastom
- ✓ Diğer

- **Karsinoid tümör**
 - ✓ Tipik Karsinoid (TK)
 - ✓ Atipik Karsinoid (AK)
- **Tükürük Bezi tipinde Karsinomlar**
 - ✓ Mukoepidermoid Karsinom
 - ✓ Adenoid Kistik Karsinom
 - ✓ Epitelyal-mioepitelyal Karsinom

*2004 WHO Sınıflamasından ve Akciğer Adenokarsinomunun 2011 IASLC/ATS / ERS sınıflamasından modifiye edilmiştir.

2.4.1. PREİNVAZİV LEZYON

Preinvaziv lezyonlar tarihsel olarak Karsinoma İn Situ (KİS), Atipik Adenomatöz Hiperplazi (AAH) ve Diffüz İdyopatik Pulmoner Nöroendokrin Hücre Hiperplazisi (DİPNEHH) içermektedir. Bununla birlikte, yeni IASLC / ATS / ERS akciğer adenokarsinom sınıflandırmasında, AIS adenokarsinoma için yeni bir preinvaziv lezyon olarak eklenmiştir, çünkü bu hastaların %100'ü 5 yıl hastalıksız sağkalım oranına sahiptirler. Akciğer kanseri için preinvaziv lezyonların patolojisi son yıllarda, yüksek riskli hastaların floresan bronkoskopi ve spiral veya helezoni BT ile taranması ile akciğer kanserinin erken tespitinde gittikçe artan bir öneme sahiptir [63].

2.4.2. İnvazif Akciğer Kanseri

İnvazif lezyonlar Sküamoz Hücreli Karsinom (SHK), adenokarsinom, KHAK, Büyük Hücreli Karsinom (BHK), Adenosküamoz Karsinom (AK), Sarkomatoid

Karsinom (SK) ve Karsinoid Tümörler'den oluşmaktadırlar. Papiller, berrak hücre, küçük hücreli ve bazaloid alt tipleri de dahil olmak üzere, SHK'nin bazı alt tipleri bilinmektedir. Büyük hücreli karsinom, büyük hücreli nöroendokrin karsinom, bazaloid karsinom, lenfoepitelyal benzeri karsinom, berrak hücreli karsinom ve rabdoid fenotipi olan büyük hücreli karsinom dahil olmak üzere birçok varyant olarak ortaya çıkabilir. Adenoskuamöz karsinom, tüm akciğer kanserlerinin %0.3-5'inde ortaya çıkar ve en az %10 skuamöz hücre ve adenokarsinoma komponentinden oluşur. Karsinoid tümörler tüm invaziv akciğer malinitelerinin %1-2'sinde ortaya çıkar ve tipik ve atipik karsinoidleri içerir [63].

2.4.2.1. Adenokarsinom

Adenokarsinomlar, akciğer kanserlerinin %38'ini oluşturmaktadır. Bu kanserler, mukusa benzer madde salgılayan hücrelerde ortaya çıkarlar. Adenokarsinomlar, genellikle sigara içen yada eskiden sigara kullanımı bulunan bireylerde ortaya çıkar, ancak sigara içmeyenlerde rastlanan akciğer kanserinin en yaygın görülen tipidir. Akciğer adenokarsinomu epidemiyolojik ve klinik seyir açısından diğer KHDAK'lerden farklı özellikler gösteren bir tümördür [63, 64].

2.4.2.2. Küçük Hücreli Akciğer Kanseri (KHAK)

KHAK tüm akciğer kanserlerinin %14'ünü oluşturur ve Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl 30.000'den fazla yeni vaka görülmektedir. KHAK'lerinde, olguların yaklaşık üçte ikisinde merkezi kitle lezyonu vardır ve sıklıkla geniş lenf nodu metastazı bulunur. KHAK'lerinde olguların %5'inde izole lezyon mevcuttur. Eğer KHAK'lerin saf histolojisi varsa, basitçe küçük hücreli karsinom olarak sınıflandırılır. Kombine küçük hücreli karsinom tanısı, küçük hücreli dışı hücre oranı %10'un üzerinde olduğu zaman konmaktadır [63].

2.5.Akciğer Kanserinin Kliniği

Akciğer kanseri hastalarının çoğu doktora başvurdıkları zaman solunum semptomlarına sahiptirler. Genel olarak balgamlı ve ya balgamsız öksürük, nefes darlığı, göğüs ağrısı gibi semptomlar gözükür ilk başlarda. Semptomlar erken evrede minimaldir ve hastalık sinsi gelişir [65]. Çoğu zaman akciğer kanseri ileri evreye ulaştığı zaman teşhis konur, çünkü hastalığın kesin tanı koyduracak erken belirtileri yoktur [66]. Bronş erozyonu erken kanamaya yol açarken, parietal plevraya uzanan bir tümörün göğüs ağrısı üretme olasılığı daha yüksektir. Bu semptomlar nonspesifik olduğundan, ilk önce akut trakeobronşit, pnömoni, grip, tüberküloz, akciğer apsesi ve pulmoner infarktüs gibi daha sık ortaya çıkan diğer akciğer hastalıkları düşünülür. Bazı hastalarda ilk semptom metastazla ilişkili olabilir [65].

Akciğer kanseri ile ilgili laboratuvar testlerinde semptomlar, bulgular ve anormallikler primer lezyonla, intratorasik yayılımla, metastazla ve paraneoplastik sendromla alakalı olacak şekilde sınıflandırılmaktadır (Tablo 2-2) [67].

Tablo 2-2: Akciğer Kanserinin Klinik Seyrine göre Semptom ve Bulguları (67)

Primer Tümör	Balgamlı veya balgamsız öksürük, nefes darlığı, göğüs ağrısı, hemoptizi.
İntratorasik Yayılım	1) Sinirler; rekürren laringeal sinir – balgamlı öksürük, ses kısıklığı; frenik sinir – nefes darlığı; brakiyal plexus – sinir kökü boyunca ağrı, kütanöz sıcaklık değişimi, kas kaybı; sempatik sinir gövdeleri-ipsilateral yüz terlemesi eksikliği. 2) Göğüs duvarı – göğüs ağrısı; plevra – plevral göğüs ağrısı, nefes darlığı.

	3) Vasküler tutulum; superior vena cava (SVC) – yüz şişmesi, damar genişliği, baş ağrısı, baş dönmesi, uyku hali, görme bulanıklığı, öksürük, disfaji; perikardiyum ve kalp. 4) Özofagus dahil olmak üzere vissera - disfaji
Metastaz	Kemikler – kemik ağrısı; karaciğer, böbreküstü bezleri, intraabdominal lenf düğümleri – zayıflık ve kilo kaybı; beyin ve omurilik – baş ağrısı, bulantı, kusma, fokal nörolojik semptomlar, nöbetler, konfüzyon, kişilik değişiklikleri; lenf düğümleri ve cilt.
Paraneoplastik Sendrom	Hiperkalsemi – bulantı, kusma, karın ağrısı, kabızlık, poliüri, susama dehidratasyon, konfüzyon, sinirlilik; Cushing Sendromu – zayıflık, kas kaybı, uyuşukluk, konfüzyon ve psikoz, bağımlı ödem, hipokalemik alkaloz ve hipergliseminin klinik semptomları; Lambert-Eaton Sendromu – elektrolit dengesizliği, enfeksiyonlar, tedavi toksitesi; Dijital Clubbing ve Hipertrofik Osteoartropati – clubbing kemikler; Uygunsuz Antidiüretik Hormon Salınımı Sendromu – konfüzyon, açıklanamayan nöbetler, bilinç seviyesinin azalması, koma.

2.6.Akciğer Kanseri Tanı ve Evreleme

2.6.1.Akciğer Kanseri Tanı

Akciğer Kanseri tanısı hastanın öyküsünde ve muayenesinde klinik bulguları gösteren kişilere yapılan çeşitli tanı testlerinden sonra kesin olarak konur [66].

Akciğer Kanserinde tanı ve evrelemeyi belirlemek için aşağıdaki invaziv ve non-invaziv yöntemler kullanılmaktadır. İlk önce her zaman non-invaziv yöntemler uygulanır[68].

Non-invaziv yöntemler: laboratuvar testleri (tam kansayımı, biyokimyasal parametreler vb.), radyolojik tetkikler (akciğer grafileri, BT, MRG), nükleer görüntüleme yöntemleri (PET-BT, kemik sintigrafisi), genetik çalışmalar[69].

İnvaziv yöntemler: bronkoskopi, transbronşial biyopsi, transbronşial iğne aspirasyonu, transbronşial fırçalama, transtorasik ince iğne aspirasyonu, bronş lavajı, bronkoalveolar lavaj, floresan bronkoskopi, endobronşial ultrasonografik endoskopi, anterior mediastinotomi , mediastinoskopi, torakotomi, video yardımcı torakoskopik cerrahi, lenf bezi biyopsisi[70].

2.6.2.Akciğer Kanserinde Evreleme

Akciğer kanseri evrelemesinde kullanılan IASLC tarafından son düzenlenen 7.TNM (T-tümör, N-nod, M-metastaz) evrelenmesi tümörün yayılımını göstererek hem tanıya yardımcı olmakta hem de tedavinin planlanmasına katkı sağlamaktadır (Tablo 2-3). TNM bulgularına göre de akciğer kanseri evreleri belirlenir (Tablo 2-4). TNM evrelemesinde farklı alanlarda kullanılan 5 çeşiti vardır [66, 71-73]:

1. **cTNM** – klinik evre
2. **sTNM** – cerrahi evre
3. **pTNM** – patolojik evre
4. **rTNM** – tedavi sonrası yeniden evre
5. **aTNM** – otopsi evresi.

Tablo 2-3: Akciğer Kanseri 7.TNM Evrelemesi (71)

T: Primer Tümör

Tx: Primer tümörün tespit edilememesi

T0: Primer tümör yok

Tis: in situ kanser

T1: Tümörün en büyük çapı 3 cm ve ya daha düşük, akciğer veya visseral plevra ile çevrili, lobar bronştan daha proksimal da değil

T1a: Tümörün en büyük çapı 2 cm ve daha düşük

T1b: Tümörün en büyük çapı 2 cm'den daha büyük ama 3 cm'e eşit ve daha küçük

T2: Tümörün en büyük çapı 3 cm'den büyük ama 7 cm'e eşit ve daha küçük olmakla birlikte tüm akciğeri kapsamayan fakat hiler bölgeye ulaşmış atelaktazi veya obstrüktif pnömoniye neden olan; visseral plevra invazyonu oluşturan; karinadan 2 cm ve ya daha uzakta ana bronşu kapsamış şekilde; oluşan bu durumlardan birine sahip olur.

T2a: Tümörün en büyük çapı 5 cm'e eşit ve daha küçük fakat 3 cm'den daha küçük değil

T2b: Tümörün en büyük çapı 7 cm'e eşit ve daha küçük fakat 5 cm'den daha küçük değil

T3: Tümörün çapı 7 cm'den daha büyük olup; ya göğüs duvarına, mediastinal plevraya, diyaframa, frenik sinire, pariyetal perikarda direk invazyonu; ya ana bronşta olup, karinaya 2 cm'den yakın mesafede; ya akciğerin tamamına yerleşen atelektazi ve ya obstrüktif pnömoniye neden olarak; ya aynı lobda farklı tümör nodülleri ile birlikte oluşur.

T4: Kalbe, büyük damarlara, trakeaya, rekküren larengeal sinire, özofagusa, vertebra korpusuna, karinaya invazyon eden ve ya tümörün bulunduğu akciğerde farklı bir lobda farklı tümör nodülleri var olan herhangi bir büyüklükte ölçülere sahip tümörün olması.

N: Bölgesel Lenf Nodları

Nx: Bölgesel lenf nodlarının tespit edilememesi

N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok

N1: Tümörün direk yayılması ile intrapulmoner lenf nodlarında dahil olarak aynı

taraf peribronşiyal ve aynı taraf hiler lenf nodlarına metastazı

N2: Subkarinal lenf nodlarına ve aynı taraf mediastinal lenf nodlarına metastazı

N3: Aynı ve ya karşı taraf skalen ve supraklavikular lenf nodlarına; karşı taraf mediastinal ve hiler lenf nodlarına metastazı

M: Uzak Metastaz

Mx: Uzak metastaz tespit edilemedi

M0: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz var

M1a: Karşı taraf lobda ayrı tümör nodülleri; perikardiyal effüzyon, plevral nodüller ve malign plevral yayılım gösteren tümör

M1b: Uzak metastaz

Tablo 2-4: 7.TNM Bulgularına göre Akciğer Kanserin Evreleri (73)

Evre		T	N	M
Gizli karsinom		X	0	0
0		is	0	0
I	IA	1a,b	0	0
	IB	2a	0	0
II	IIA	1a,b	1	0
		2a	1	0
		2b	0	0
	IIB	2b	1	0
		3	0	0

III	IIIA	1,2	2	0
		3	1,2	0
		4	1,0	0
	IIIB	4	2	0
		herhangi	3	0
IV		herhangi	herhangi	1a,b

2.7. Akciğer Kanserinin Tedavisi

Akciğer kanseri, dünya çapında kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenidir. KHAK'ler akciğer kanseri vakalarının yaklaşık dörtte birini oluşturur. KHAK hastalarının çoğunda tanı anında metastaz vardır. KHAK'ler genellikle lenf nodlarına, adrenal bezlere, karaciğere, akciğere, beyine ve kemiğe erken metastaz yapar. KHAK'nin tedavisi için kullanılan radyoterapi ve kemoterapinin bir kombinasyonu, bu hastalığa sahip hastalar için ortalama hayatta kalma süresini uzatmıştır [1]. Yoğun araştırmalara ve çok sayıda klinik çalışmaya rağmen, KHAK için sağkalım oranı hala düşüktür ve son 30 yılda çok az değişmiştir. KHAK tümörlerinin çoğunluğu başlangıçta kemoterapiye cevap verse de, her zaman direnç gelişir. Direnç gelişiminin, muhtemelen, tümör ilerlemesi sırasında ortaya çıkan sonraki genetik olaylar olduğu tahmin edilmektedir. Akciğer kanserinin, yıllarca karsinojene maruz kaldıktan sonra kademeli olarak geliştiği düşünülmektedir, bu da çoklu genetik değişikliklerin birikmesine neden olur[4]. KHDAK'lerden daha agresif olan KHAK'ler daha kötü bir prognoza sahiptir ve genel 5 yıllık sağkalım oranı %5 civarındadır. Erken yayılım karakteristiktir ve sonuç olarak hastaların %90'ından fazlası III ve IV evrelerde tanı alır; yani lokal olarak ilerlemiş veya uzak metastatik hastalık vardır. Radikal tedavi sınırlıdır, nadiren hastalar evre I hastalığı ile tanımlanır ve bu durumda cerrahi yararlı görünmektedir. Bir çalışmada, tek başına rezeksiyon için %40 ve adjuvan kemoterapi / radyoterapi ile %52'lik 5 yıllık sağkalım oranları bildirilmiştir[61].

Lokal terapi yöntemleri cerrahi ve radyoterapidir. Sistemik tedavi için geleneksel kemoterapi ve giderek artan şekilde hedeflenmiş terapiler, yani moleküler düzeyde tümöre özgü yapıları etkileyen müdahaleler kullanılır. Akciğer kanseri tedavisi genellikle multimodaldır. Radyoterapi ve kemoterapi aynı anda radyokemoterapi olarak uygulanabilir. Kemoterapi, radyoterapi ve radyokemoterapi cerrahiden önce gelebilir (neoadjuvan tedavi) veya bunu takip edebilir (adjuvan tedavi). Karışık histolojiye sahip bir akciğer tümörü, küçük hücreli akciğer kanseri ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri kombinasyonunu içeriyorsa, küçük hücreli akciğer kanseri olarak tedavi edilmelidir[66].

2.8.Akciğer Kanseri Tarama ve Korunma

2.8.1.Akciğer Kanseri Tarama

Cerrahi, medikal ve radyoterapötik müdahaleler de dahil olmak üzere tedavideki ilerlemeler, primer akciğer kanseri tanısı almış hastaların uzun dönem hayatta kalma oranlarında çok az ilerleme sağlamıştır. Göğüs radyografisi ve balgam sitolojisi üzerine odaklanarak, taramayla akciğer kanserine bağlı ölümlerin azaltılmasına yönelik stratejiler on yıllar boyunca değerlendirildi [36]. Göğüs radyografisi ve balgam sitolojisini içeren randomize kontrollü çalışmalarda, erken evre akciğer kanserleri saptanmış ve bunların birçoğunun rezektabl olduğu bulunmuştur. Buna rağmen, erken evre kanser tespitinde mortalitenin azalması görülmediği için bu yöntemlerle taramanın faydasının olmadığı anlaşılmıştır. Yaklaşık 10 yıl boyunca yapılan gözlemsel çalışmalar bilgisayarlı tomografi (BT) diğer eski yöntemlere göre daha etkili bir tarama yöntemi olduğunu göstermiştir [74]. Bunun üzerine, Ulusal Kanser Enstitüsü 2002 yılında yüksek riskli bireyleri BT taraması veya göğüs radyografisi ile tarayan Ulusal Akciğer Tarama Denemesi (NLST) olarak adlandırılan bir klinik araştırma başlatmıştır [75]. Sonuçlar, BT ile tarananların mortalite hızlarında %20’lik bir azalma olduğunu göstermiştir [36]. Düzenli “düşük doz” BT ile yapılan çalışmalarda akciğer kanserleri erken evrelerde ve daha iyi prognozla teşhis edilmiştir [66].

2.8.2 Akciğer Kanserinden Korunma

Akciğer kanserinde koruma esasen primer ve sekonder şekilde olmaktadır. Akciğer kanserinin primer korumadaki en etkili yöntemi tütün kullanımının kontrol altına alınmasıdır. Çünkü, bir çok araştırma gösterdi ki, sigara kullanımının artışına göre hastalığın da insidansı arttı ve aynı şekilde azalmasına göre de hastalığın insidansı azaldı. Ek olarak, hava kirliliği ile mücadele, radyasyondan korunma, bazı metal ve kimyasal maddelere karşı tedbir alınması gibi önlemler de primer korumadır [35, 66].

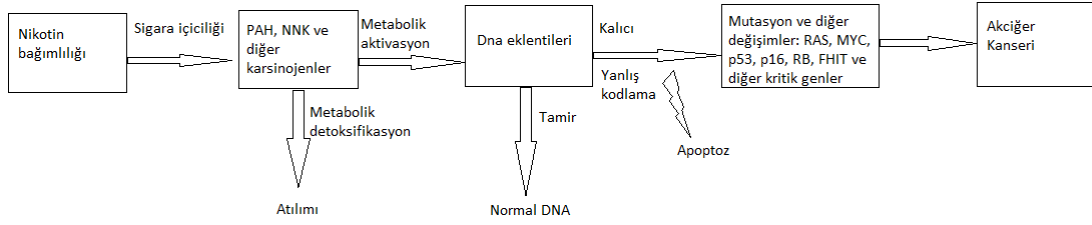
Sekonder koruma esasen taramaya dayanır. Burada amaç hastalığın morbidite ve mortalitesini azaltmak için asemptomatik bireylerde erken tanı olanağını oluşturmaktır [76].

Son olarak, akciğer kanserinde kemoprevensiyon koruma olarak bilinen farmakolojik koruma ve ya tersiyer korumada mevcuttur. Çok sayıda karsinojenlere maruziyet sonucu normal bir hücrenin kanser hücresine dönüşmeden önce farmakolojik ajanlar kullanılarak karsinogenez sürecini önlemek, baskılamak, durdurmak veya genomik değişikliğe uğrayan hücrelerin apoptoz ile ölümünü amaçlamaktadır [35, 77]. Kemoprevensiyon koruma, kendisi de primer, sekonder ve tersiyer kemoprevensiyon koruma şekillerine ayrılır. Primer kemoprensasyon kanser gelişimini geciktirmeyi amaçlayan koruma durumudur. Örneğin, hiçbir semptomatik belirtisi olmayan sigara içen bireylerde kemopreventif ilaç verilmesi. Sekonder kemoprensasyon, erken dönemde mikroskopik olarak hastalığın var olduğu fakat makroskopik olarak hastalığın olmadığı durumlarda uygulanan girişimler için tanımlanır. Tersiyer kemoprevensiyon ise var olan hastalığın morbiditesini azaltmaya yönelik uygulanan girişimleri ifade eder. Örneğin, tedavi görmüş hastalarda ikinci primer tümörün oluşmaması için kemopreventif ilaç verilmesi [78].

2.9. Akciğer Kanserinin Genetiği

İnsan kanserinin moleküler genetiğindeki son gelişmeler, akciğer kanseri karsinogenezinde birçok TBG'in rol oynadığını göstermiştir. TBG'ler, bir allelin mutasyonu ve diğer allelin kaybı gibi iki ayrı mutasyonel olay tarafından etkisiz hale getirilir [17]. Kanser gelişimi çok aşamalı bir süreçten oluşur. Bu süreçte tek bir nükleotid seviyesindeki değişikliklerden kromozomal değişikliklere kadar birçok genetik değişim, hücre büyümesi ve apoptozda köklü değişikliklere neden olabilir. Temel mekanizma protoonkogenlerin aktivasyonuna, TBG'lerin inaktivasyonuna dayanır. TBG'lerin (antionkogenler) mutasyon veya kayıp ile inaktivasyonunun, farklı insan tümörlerinin oluşumunda rol oynadığını gösteren kanıtlar bulunmaktadır. Bu genetik değişikliklere enzim polimorfizmleri gibi konakçı faktörleri ve anjiyogenez, invazyon ve metastazdan oluşan tümör konakçı etkileşim faktörleri de dahil olduğunda tümör kitlesi gelişir [27, 79-81]. Genetik değişiklikler invazyona, metastaza ve tedaviye dirençe neden olabilecek şekilde kanser oluşuktan sonra bile devam eder [82].

Akciğer kanseri gelişme olasılığının bazı genlerin çevresel maruziyetlerle etkilenmesi sonucu arttığı gösterilmiştir. Özellikle de karsinojen metabolizması ile bağlantılı olan genlerde daha çok gözlenmiştir[23]. Karsinojenler nikotin bağımlılığı ve akciğer kanseri arasındaki bağlantıyı oluştururlar. Nikotin bağımlılığı, insanların sigara içmeye devam etmelerinin sebebidir [83]. Nikotinin kendisi karsinojen olarak görülmesine de, her bir sigara, diğer akciğer karsinojenleri, tümör promotörleri ve ko-karsinojenler arasında az miktar da polisiklik aromatik hidrokarbon (PAHs) ve 4-(metilnitrozamino) - 1- (3-piridil) -1-butanon (NNK)'da dahil olmak üzere çeşitli karsinojenlerin karışımını içerir [84, 85]. NNK ve PAH gibi karsinojenler metabolik aktivasyonla karsinojenik etkilerini gösterirler. Bu etkilerle rekabet eden detoksifikasyon yolları vardır ve metabolik aktivasyon ile detoksifikasyon arasındaki denge, bireyler arasında farklılık gösterir. Bu da kanser oluşum riskini etkilemektedir [23]. Metabolik aktivasyon süreci DNA eklentilerinin oluşumuna yol açar, karsinojen metabolitler, genellikle guanin veya adenin'de DNA'ya kovalent olarak bağlanırlar [86]. DNA eklentileri uzun süre hücresel tamir mekanizmalarından kaçarsa yanlış kodlamaya neden olan kalıcı bir mutasyona neden olurlar. DNA'sı hasar görmüş hücreler apoptoz ile elimine edilebilir. Eğer bu yapılamazsa ve bir onkogen veya TBG'in kritik bir bölgesinde kalıcı bir mutasyon meydana gelirse, bu, onkogen aktivasyonuna veya TBG'in baskılanmasına yol açabilir. Bütün bu olayların sonucunda hücrelerde anormal büyüme meydana gelir ve akciğer kanseri oluşur (Şekil 2-2) [23].



Şekil 2-1: Nikotin Bağımlılığı ve Tütün Dumanı Karsinojenleri ile Birlikte oluşan Kritik Genlerdeki Mutasyonların Akciğer Kanseri Dönüşüm Şeması (23)

Bu etyolojik faktörlerin oluşturduğu değişiklikler toplumda sıklıkla olmasına rağmen çevresel değişimlere maruz kalan her kişide kanserin oluşmamasının nedeni tamir mekanizmalarındaki genetik farklılıklara dayanmaktadır. Çalışmalar kansere sigara kullanımına bağımlı veya bağımsız bir şekilde kalıtsal genetik yatkınlığının olduğunu göstermiştir. 1990'lı yıllarda yapılan segregasyon çalışmaları, sigara içiminden bağımsız olarak akciğer kanserine yatkınlık sağlayan ve mendeliyen kalıtım gösteren faktörlerin varlığına işaret etmektedir [87-92].

KHDAK vakaların yaklaşık %85'ini oluşturur ve *RAS* veya *EGFR* mutasyonları, *FGFR1* amplifikasyonu ile karakterize skuamöz hücreli karsinom, *PTEN* veya *PIK3CA* mutasyonları ve oldukça heterojen olan büyük hücre karsinomu ile karakterize adenokarsinomları içerir [93, 94]. Son zamanlardaki WHO sınıflandırması, özelliklerine bağlı olarak büyük hücreli karsinomu ya KHDAK'ye ya da KHAK'ye dağıtmaktadır. KHAK, akciğer tümörlerinin yaklaşık %15'ini oluşturur ve yüksek proliferasyon ve erken metastaz nedeniyle en agresif tümör tipleri arasındadır. Neredeyse sadece ağır sigara içicilerinde görülür ve NE belirteçlerin ekspresyonu ile birlikte *p53* (*TP53*) ve retinoblastomun (*RB1*) gen inaktivasyonu ile karakterizedir [95-98]. Metastaz, artmış hücrel migrasyon ve invazyon ile tetiklenir ve mezenkimal geçiş epitelinin (MGE) bu süreçte rol oynadığı düşünülmektedir [29].

Küçük farklılıklar dışında, akciğer kanseri için ana risk faktörleri tüm histolojik tipleri etkiler. Moleküler düzeyde, akciğer kanserlerinde en sık görülen somatik genetik

veya epigenetik değişiklikler tüm akciğer kanseri türlerinde yaygın olan *TP53* mutasyonları, daha çok adenokarsinomlarda görülen *KRAS* veya *EGFR* mutasyonları ve *CDKN2A / ARF / RB1* yolağındaki değişikliklerdir [19].

Son zamanlardaki çalışmalar, epidermal büyüme faktörü reseptörünün (*ErbB1* veya *HER1* olarak da bilinen *EGFR*), hücre büyümesini teşvik ederek çeşitli malin tümörlerin gelişmesinde ve ilerlemesinde kritik bir rol oynadığını ve mitojen ile aktive edilmiş protein kinaz, protein kinaz B, sinyal transdüseri ve transkripsiyon 3 aktivatörü gibi aşağı akış efektörlerin regölasyonu ile apoptozun önlendiğini göstermiştir [99]. *EGFR*'in ligand bağlanması veya mutasyon ile aktivasyonu, hücresel büyümeyi, proliferasyonu, invazyonu ve metastazı uyarır ve apoptozu inhibe eder [100]. Klinik alışmalarda *EGFR*'nin KHDAK'lerin %40-80'inde ve preneoplastik lezyonlarda aşırı eksprese edildiği gösterilmiştir [101, 102]. Aynı zamanda diğer çalışmalarda da, *EGFR* mutasyonlarının kadınlarda erkeklere göre ve adenokarsinomlarda diğer histolojik tiplerin tümörlerine göre daha sık olduğu bildirilmiştir [103, 104].

Akciğer kanseri de, çoğu epitelyal tümörde olduğu gibi, gen metilasyonundaki delesyon, mutasyon veya değişikliklerden kaynaklanabilen çoklu genetik değişikliklerin birikmesinden oluşur. Kromozomal delesyonlar, tümör baskılayıcı genlerin bölgeleri ile ilişkilidir [15]. Örneğin, kromozom 3p'nin delesyonları, akciğer kanserlerinin %90'ından fazlasında bulunur ve 3p14'de *FHIT*, 3p12'de *ROBO / DUTT1* ve 3p21'de *RASSF1A*, *H37*, *FUS1* ve *SEMA3B* dahil olmak üzere birçok gen lokusunu kapsar [105-107].Yaygın olarak akciğer kanserinde delesyona uğrayan kromozom bölgelerinde bulunan diğer TBG'ler arasında *APC* (5q21), *RB* (13q), *p53* (17p) ve *p16* (9p21) bulunur [15].

2.9.1.Akciğer Kanserinde Epigenetik

Epigenetik düzenleme normalde dinamik ve geri dönüşümlüdür, DNA sekanslarının modifikasyonu olmaksızın gen ekspresyonunun düzenlenmesi için kromatin yapısını etkiler. Histon varyantlarının dahil edilmesi, kovalent histon modifikasyonları, nükleozom yeniden konumlandırma, DNA metilasyonu, non-coding

RNA'ların ekspresyonundaki değişiklikler ve post-translasyonel modifikasyonları içerir. Epigenetik değişikliklerin kanserdeki etkisi değişmiş gen ekspresyonu, endojen retro elementlerin reaktivasyonu ve genomik instabilite ile yansıtılır [29].

Epigenetik proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonlar ve epigenetik düzenlemedeki anormalliklerin kanserle ilişkili olduğu bilinmektedir [108]. Bir çok çalışma akciğer kanseri için bu değişimleri göstermiştir [109-112].

Büyük ölçekli genomik çalışmalar akciğer kanserinde tekrarlayan epigenetik regülatör değişikliklerini tanımlamıştır (Tablo 2-5) [94, 95, 113-117].

Tablo 2-5: Akciğer Kanserlerinde Epigenetik Regülatörlerde Mutasyonlar (94, 95, 113-117)

AKCİĞER KANSERİ	GEN	FONKSİYON	MUTASYON
KHAK	KAT3A/CREBBP	histon asetiltransferaz	İnaktive edici mutasyon
	KAT3B/EP300	histon asetiltransferaz	İnaktive edici mutasyon
	KAT6B	H3K23 histon asetiltransferaz	Genomik kayıp
	KMT2D/MLL2	H3K4mel/2	Sık inaktivasyon

		histon metiltransferaz	
	KDM6A/UTX	H3K27 histon demetilaz	Az sayıda KHAK hastalarında görülen başlangıç ve ya sondan kesme mutasyonu
	PBRM1		mutasyon
	AR1D1A	Kromatin yeniden modelleme faktörü	mutasyon
	AR1D1B		mutasyon
KHDAK	KMT2D/MLL2	H3K4me1/2 histon metiltransferaz	Sküamoz hücreli karsinomda %20 mutasyon
	SETD2	H3K36 histon metiltransferaz	Adenokarsinomda %9
	DOT1L	H3K79 histon metiltransferaz	Adenokarsinomda %3
	AR1D1A	Kromatin yeniden modelleme faktörü	Adenokarsinomda %7
	AR1D1B		Adenokarsinomda %6
	AR1D2		Adenokarsinomda %7
	SMARCA4/BRG1		Adenokarsinomda

			%6
	BRD3	Bromodomain, hiperasetillenmiş kromatin bağlar	

2.9.2.Küçük Hücreli Akciğer Kanserinin Genetiği

Primer KHAK'lerde rezeksiyon örnekleri nadiren elde edilebilir ve sitogenetik analize uygun yeterli sayıda, yüksek kaliteli kromozom preparatlarının elde edilmesi zordur. Ek olarak, kromozom anomalileri komplekstir ve tanımlanması zor olan yeniden düzenlenmeler içerirler [4]. KHAK'lerde proto-onkogen aktivasyonu ve TBG'lerin kaybı veya inaktivasyonu dahil olmak üzere birçok önemli genetik ve moleküler değişiklik kaydedilmiştir [118].

KHAK'de *MYC* (*cMYC*, *nMYC* ve *lMYC*) proteinlerinin aşırı ekspresyonu büyük ölçüde gen amplifikasyonunun bir sonucudur [119]. *MYC* onkogenleri, gen transkripsiyonunu doğrudan düzenleyen, hücre büyümesini arttıran ve hücre döngüsü ilerlemesine neden olan nükleer fosfoproteinleri kodlar [120]. Çok aşırı ekspresyon daha hızlı proliferasyona ve terminal farklılaşmasının kaybına yol açar. *MYC* aşırı ekspresyonu, KHAK'nin %16-32'sinde ve kemoterapiden sonra hastalıkları ilerlemiş olan hastalardan elde edilen hücre hatlarının %40'ında meydana gelir [121, 122]. KHAK hücre hatlarının *MYC* antisens DNA ile tedavisinin, *cMYC* ekspresyonunun azalmasına neden olduğu ve hücre büyüme hızını yavaşlattığı bildirilmiştir [123]. Tersine, *cMYC* 'in küçük hücreli akciğer kanseri hücre hatlarına transfeksiyonu, hücre proliferasyonunda artışa ve hücre morfolojide değişikliğe neden olmuştur [124].

KHAK'de en sık bildirilen genetik anomali kromozom 3p'nin delesyonudur. İlk olarak Whang-Penn ve ark'nın yaptığı çalışmada gösterdikleri [125], KHAK hücrelerindeki tekrar eden bu kromozom anomalisi, daha sonra diğer çalışmalarda, konvansiyonel karyotipleme ve karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH) ile

saptanmış [6] ve KHAK tümörlerinde heterozigotluk kayıp analizleri de kromozom 3p anormalilerinin prevalansını doğrulamıştır [126]. Aynı zamanda KHAK'de, kromozom 3p delesyonu daha sonra restriksiyon parçası uzunluk polimorfizmi (RFLP) analizi ile de doğrulanmıştır ve 3p'de heterozigosite kaybı (LOH), KHAK'nin yaklaşık% 100'ünde gözlenmiştir [12].

KHAK'de sıklıkla 3p, 5q, 6p, 6q, 9p, 9q, 13q ve 17p üzerinde heterozigosite kaybının ve LOH ile 13q ve 17p'de inaktivasyon için hedef genlerin sırasıyla *RB* ve *p53* genleri olarak tanımlandığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar, birçok kromozom kolu üzerindeki çoklu TBG'nin inaktivasyonunun, KHAK'nin oluşumunda ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Tablo 2-6) [17, 118]. Kromozomal değişikliklerin bir sonucu olarak, heterozigotluk kaybı yaygın ve eşzamanlı olarak KHAK'lerin %100'ünde 3 farklı kromozomal bölgede gözlenir: 3p14-p24.1; 13q12-q22; ve 17p13. Bu 3 kromozomal bölgenin, diğer tümör tiplerinde de sık sık LOH göstermesi, ortak kromozomal bölgelerdeki resessif genetik lezyonların gelişimlerine katkıda bulunduğunu düşündürmektedir [12].

3p21.3'de lokalize olunan *RASSF1*alfa'nın ifade kaybı, KHAK tümörlerinin neredeyse %100'ünde gösterilmiştir. *RASSF1*alfa'nın inaktive edici mutasyonları, akciğer tümörlerinde nadirdir ve ekspresyon kaybının, genin CpG ada promoter sekansının yüksek seviyelerde metilasyonu ile ilişkili olduğu görülmektedir [127].

Tablo 2-6: Küçük Hücreli Akciğer Kanserlerinde Tümör Baskılayıcı Genler (118)

Gen	Lokus	Normal Gen Ürünü	KHAK'de Anomali Yüzdesi
FHIT	3p14.2	Diadenozin trifosfat hidrolaz	80
RASSF1A	3p21.3	Mikrotübül bağlayan protein	>90

RARB	3p24	Retinoik asit reseptörü	72
TP53	17p13.1	Nükleer transkripsiyon faktörleri	>75
RB1	13q14.11	Nükleer fosfoprotein, G1'den S fazına geçişini regüle eder	>90
PTEN	10q23.3	Tirozin ve lipid fosfataz	8

2.9.3. Akciğer Kanseri 3p delesyonu

3. insan kromozomunun kısa kolunu etkileyen delesyonlar ilk olarak KHAK'lerde sitogenetik analizle tanımlanmış, RFLP markerleri kullanılarak LOH çalışmaları ile teyit edilmiş ve daha sonra KHDAK'lerde de gösterilmiştir [12, 125, 126, 128-132]. Küçük hücre fenotipine sahip tümörlerde (nöron spesifik enolaz, kortikal granüller ve nöral hücre adezyon molekülünün ekspresyonu ile birlikte pulmoner NE hücreler) genel olarak 3p LOH oranları %100 iken, KHDAK'lerde %75 oranlarında görülmektedir. Toplu olarak bu çalışmalar, 3p'nin akciğer tümör gelişimi için kritik olan bir veya daha fazla TBG barındırabileceğine dair güçlü ipuçları sağlamaktadır [13].

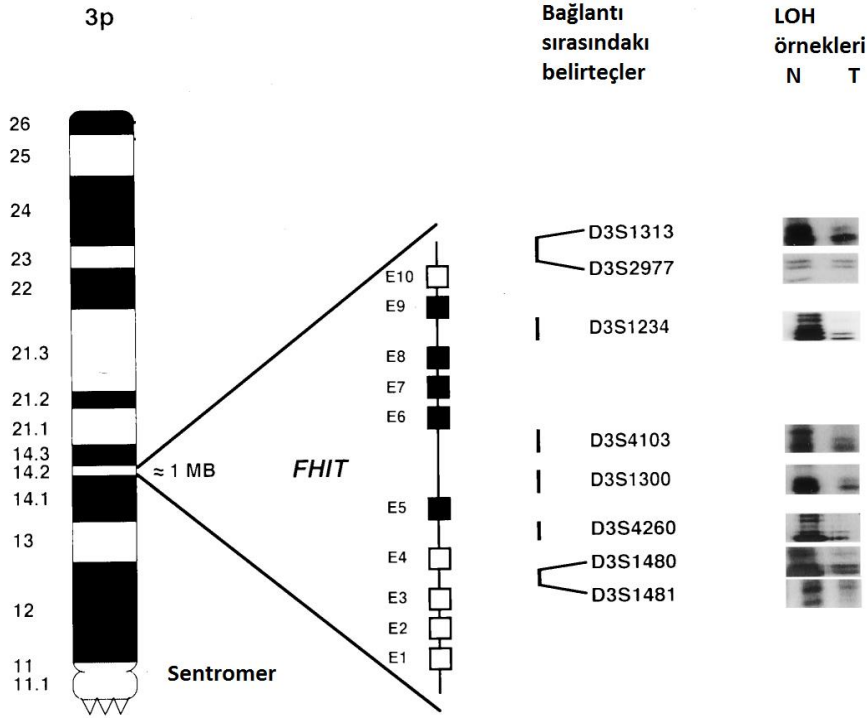
LOH ve kromozom 3p bölgesinin sitogenetik anormallikleri, akciğer kanseri dahil olmak üzere birçok insan kanserinin patogeneğinde önemli rol oynarlar. 3p'deki birçok bölgenin, akciğer ve diğer kanserlerde sıklıkla allel kayıpları gösterdiği tespit

edilmiştir. Detaylı allel tiplendirme çalışmalarına dayanarak primer akciğer kanserinde kromozom 3p üzerindeki kritik bölgelerin 3p25, 3p21.3, 3p14.2 ve 3p12-cen olduğu bildirilmiştir. Bu da kromozom 3 üzerinde birden fazla TBG'nin varlığını düşündürmektedir. Ayrıca, 3p21.3, 3p14.2 ve 3p12 bölgelerinde akciğer kanseri hücre hatlarında homozigot delesyonlar bulunmuştur. 3p21.3'ün her iki allelinin de kaybı, skuamöz hücreli akciğer kanserinin patogeneziinde erken bir bulgudur [4, 5]. Bu kayıp bölgelerinde birden fazla TBG olabileceği düşünülmüştür, ancak bugüne kadar, 3p21.3'teki *RASSF1alfa* geni, akciğer kanseri tümörogenezi ile pozitif ilişkili olduğu gösterilen tek gendir [127].

2.9.3.1. Akciğer Kanserinde 3p14.2'de FHIT Geni

FHIT geni, 3p14.2'de lokalizedir ve bir insan yaygın frajil bölgesi olan *FRA3B*'yi ve ailesel böbrek hücreli karsinomun t(3;8) translokasyonunu içeren yaklaşık 1 megabazlık genomik DNA'yı kapsar (Şekil 2-3). Akciğer kanserinde sık görülen 3p14.2 bölgesi kaybına (KHAK'lerin %100'ü, KHDAK'lerin %88'i) ve birkaç hücre dizisinde homozigot delesyonuna dayanarak, *FHIT* geninin akciğer kanseri için aday bir TBG olabileceği ileri sürülmüştür [9, 133, 134]. *FHIT* delesyonları, akciğer, baş ve boyun, mide, serviks, meme ve böbrekler dahil olmak üzere epitelyal primer insan kanserlerinde gösterilmiştir [135-138]. *FHIT* RNA ekspresyon analizi, bu tümör tiplerinde *FHIT* değişikliklerinin *FHIT* geni içindeki delesyonlarla korele olduğunu göstermiştir [16, 138]. KHAK ve KHDAK primer tümörlerinde ve hücre dizilerinde *FHIT* gen bölgesinde yapısal değişiklikler ve anormal mRNA ekspresyonu bildirilmiştir [16]. Aynı zamanda, *FHIT* proteini, primer KHAK'lerin büyük çoğunluğunda ve *FHIT* gen anormalliklerini gösteren tümörden türetilmiş hücre dizilerinde belirgin bir şekilde azalmıştır veya yoktur [139]. Akciğer kanseri hücrelerinin %40 ila %80'i *FHIT*'in anormal mRNA transkriptlerini eksprese etmesine rağmen, çok düşük seviyelerde normal tip *FHIT* transkriptlerini de ifade eder. Aynı zamanda, bu durum bütün incelenen KHAK hücre dizilerinde görülmüştür [9, 133]. Bununla birlikte, klasik TBG inaktivasyonundan farklı olarak, *FHIT* nokta mutasyonları nadirdir ve normal akciğer dokusunda birkaç anormal transkript bulunabilir [9, 133, 140]. *FHIT* proteininin

biyolojik işlevi hala bilinmese de, *FHIT*'in hücre proliferasyonu ve apoptotik yollaklarda bir rol oynadığı düşünülmektedir [16].



Şekil 2-2: FHIT Geninin Lokalizasyonu (N-normal, T-tümör, E-ekzon LOH-heterozigosite kaybı) (134)

2.10.Akciğer Kanserinde Genetik Tanı Yöntemleri

Geleneksel Giemsa bantlama (G - bantlama) tekniği, daha yüksek mitotik indekse sahip hücre örneğini saptamak için uygulanır, ancak akciğer kanseri hücreleri karyotipik analizi zorlaştıran daha düşük mitotik indekse sahiptir[28]. Moleküler sitogenetik tekniklerdeki son gelişmeler, tümör örneklerinin karyotipik analizi ile ilgili teknik zorlukların birçoğunun üstesinden gelmiştir. CGH yöntemi, bir tümörün tüm kromozom komplementinde meydana gelen DNA artış ve kayıp bölgelerinin tek bir

deneyde analiz edilmesine izin verir. DNA, doğrudan tümör dokusundan çıkarılır ve normal bir referans DNA'sıyla birlikte normal insan metafaz kromozomları üzerine, veya şimdilerde bir platform üzerindeki arraylere hibridize edilir. Böylece test ve referans DNA'larının karşılaştırmalı hibridizasyonu sonrası görüntüleme sistemleri ve bilgisayar programları yardımıyla kopya sayı değişim bölgeleri saptanır [141]. Multicolour-fluorescent in situ hibridizasyon (M-FISH), klasik sitogenetik bantlama analizini tamamlamak için geliştirilmiş bir tekniktir [4]. Kısa süreli kültüre tabi tutulan taze tümörlerden hazırlanan metafaz kromozomları, her kromozomun farklı bir renkte (renk karyotipleme) görüntülenmesini sağlayan tüm kromozom boyalarının bir kombinasyonu ile "boyanır". Bu metod, teknik olarak spektral karyotipleme (SKY) benzer şekilde olup, kompleks kromozomal yeniden düzenlemelerde yer alan kromozom materyalinin tanımlanmasını büyük ölçüde kolaylaştırmıştır [142].

2.10.1.Konvansiyonel Sitogenetik Yöntemi

Kanser hücrelerinde yapılan sitogenetik incelemeler, spesifik kromozom anomalilerinin tanımlanması, primer ve sekonder değişikliklerin ve kırık noktalarının tespitine ve bu noktalardaki ifadesi değişen ya da ifadesi kaybolan genlerin belirlenmesine izin verir. Bu sitogenetik tekniklerin amacı temel kanser araştırmalarına yönelik olup tümör oluşumundaki mekanizmaların belirlenmesine imkan sağlamaktadır. Aynı zamanda, belirli kanserlerdeki primer ve sekonder kromozom değişikliklerinin bilinmesi, tanının kesinleşmesinde, prognozunda, tedavinin düzenlenmesinde ve hastalığın takibinde büyük önem kazanmaktadır [143, 144].

Giemsa boyaması kullanılarak tripsin (proteolitik enzim) uygulamasına dayanan bir teknik olan G-bandı yöntemi, klinik ortamlarda rutin olarak kullanılan en yaygın sitogenetik yöntemidir[145, 146].

2.10.1.1. Kanser Sitogenetiği Terminolojisi

Kanser sitogenetiğinde çok sayıda ve çok farklı kromozom anomalileri olduğu için kanser sitogenetiği için bir terminolojiye ihtiyaç duyulmaktadır. ISCN (İnsan Sitogenetiği Nomenklaturası için Uluslararası Sistem)'nde ayrı bir bölümde incelenen [145] bu terminolojide yer alan başlıca terimler:

Klon: Bir klon, tek bir progenitörden türetilmiş bir hücre popülasyonu olarak tanımlanır. Birden fazla hücrede aynı ya da benzer kromozom anomalileri gözlenmesi klonal orijinin olduğunu gösterir. Tümör gelişimi sırasında alt klonlar oluşabilir ve bir klon tamamen homojen olmayabilir. Yapısal kromozom anomalilerinde ve kromozom artışlarında en az iki hücrede, kromozom kayıplarında ise en az 3 hücrede aynı anomalinin bulunması bir klon olarak kabul edilir. Karyotip yazılırken, aynı tümörde gözlenen farklı klonlar bölme (/) işaretiyle birbirinden ayrılır. Klonun kaç hücrede gözlendiğini belirtmek için, karyotip formülünde klonal anomalilerden sonra o klonu oluşturan hücrelerin sayısı köşeli parantez içinde [] yazılır[145].

Kompozit Karyotip: Birçok durumda, özellikle solid tümörlerde, tümör içinde büyük karyotipik heterojenite vardır, ancak farklı hücreler yine de aynı sitogenetik özellikleri paylaşırlar. Bu gibi durumlarda, kompozit karyotip (cp) oluşturulmalıdır. Kompozit karyotip, tüm klonal olarak ortaya çıkan anormallikleri içerir ve ayrıca klonal anormallikleri içeren metafaz hücrelerindeki kromozom sayılarını da vermelidir. Klonal değişikliklerin gözlendiği hücrelerin toplam sayısı karyotip formülünün sonunda, köşeli parantez içinde, cp [cp] kısaltmasının ardına yazılır. Bazı durumlarda, bir klonal anomalinin kaç hücrede görüldüğü de her anomaliden sonra yine köşeli parantez içinde yazılabilir[145].

2.10.2.Fluoresans In Situ Hibridizasyon Yöntemi (FISH)

Moleküler genetik ve sitogenetik tekniklerin birlikte kullanıldığı bir yöntem olan in situ hibridizasyon (ISH) kromozom preparatlarına yönelik ilk uygulamaları, hücrelerdeki veya kromozomlardaki spesifik nükleik asit sekanslarının yerini belirlemek ve tanımlamak girişimleridir [147, 148]. Sitogenetik çalışmalarda en çok kullanılan çeşidi Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) tekniğidir. Bu yöntem genellikle

kromozomal gen haritalamasında ve interfaz hücreleri veya metafaz kromozomlarında, neoplazmik veya genetik hastalıklarla ilişkili anomalilerin tespit edilmesinde uygulanmaktadır [146, 149].

FISH karyotipik anomalilerin saptanmasında sitogenetik yöntemlere göre daha hızlı, hassas ve güvenilir bir yöntemdir. FISH, submikroskopik seviyelerde kromozom yeniden düzenlenmelerinin tanımlanabildiği çözünürlüğü arttırmış ve bu tekniği hem klinik araştırma hem de tanı için uygulanabilir hale getirmiştir[146, 150].

FISH'in sitogenetik analizde yaygın kullanımı, genetik anormallikleri karakterize eden, genetik hastalık veya neoplazmik bozukluklarla ilişkili genetik anormallikleri belirleyen ve interfaz nükleus veya metafaz kromozomlarındaki viral genomları tespit eden kromozomal gen haritalamasıdır [151]. FISH yönteminde; hedef DNA/RNA ile hibrid oluşturabilen nükleik asitler 'prob' olarak adlandırılmaktadır ve bu proplar; flouresan boya gibi florokrom işaretleyicilerle direkt olarak veya biotin ve digoxigenin gibi heptanlarla indirekt olarak işaretlenebilmektedirler[149, 152].

FISH'in amacına uygun olarak esasen 4 prob çeşiti bulunmaktadır[153-155]:

1. Tüm kromozom boyama probları: İlgili kromozomun tümünü ya da kromozom kollarını boyamak için tasarlanmıştır. Homolog olmayan insersiyonlar ve translokasyonlar gibi yapısal ve sayısal aberasyonların belirlenmesinde kullanılır.
2. Lokusa özgü proplar: Kromozom üzerinde bulunan belirli dizileri hedeflemiştir. İnterfaz ve ya metafaz evrelerindeki kromozomlarda bulunan mikrolelesyon ve mikroduplikasyonu belirlemek için kullanılır.
3. Tekrarlayan Dizi (Alfa Satellit) probları: Kromozomların sentromerik ve perisentromerik bölgelerinde yer alan satellite DNA'ları kapsamaktadır ve binlerce kopyadan oluşan kısa ve tekrar dizileri içeren kromozom bölgelerini hedeflemektedir. Bu proplar kısa bir sürede metafaz ve interfaz evrelerinde bulunan sayısal anomalileri belirliyor. Telomerik ve subtelomerik proplarda bu gruba dahildir ve sadece metafaz FISH için kullanılır.
4. Tümör probları: Metafaz ve interfaz hücrelerine lokusa spesifik proplar kullanarak delesyonları, onkogen amplifikasyonları, inversiyonları ve kimerik gen füzyonlarını tespit etmek için kullanılır. Bu gruba onkogen amplifikasyon probları, delesyon probları, çift füzyon probları, tek füzyon probları, break-apart probları dahildir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Yöntem

3.1.1. Materyal seçimi

Çalışmada, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalında ve Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesinde takip edilmekte olan, 30'u adenokarsinom, 24'ü KHAK tanısı almış toplam 54 hastanın hastanın perifer kan materyalleri çalışılmıştır. Tedavi öncesinde toplanan kan örnekleri İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Sitogenetik Laboratuvarında konvansiyonel sitogenetik ve FISH yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Kontrol grubu olarak sigara içmeyen 30 yaş üstü 20 sağlıklı bireyden alınan perifer kan materyallerine de her iki yöntem kullanılarak inceleme yapılmıştır.

Çalışma için 1 Kasım 2016 tarihinde İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi etik kurulundan onay alındıktan sonra, hasta sayısını tamamlayabilmek için Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesinin çalışmaya ikinci merkez olarak dahil edilmesi gündeme gelmiştir. Hastane Bilimsel Kurulunun uygun görmesi ve 23 Nisan 2017 tarihinde TC Sağlık Bakanlığı Türkiye Kamu Hastaneleri Kurumu İstanbul İli Fatih bölgesi Kamu hastaneleri Birliği tarafından onaylanması ile sözkonusu merkez çalışmaya dahil edilmiş ve bu değişiklikten dolayı 2 Mayıs 2017 tarihinde Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulundan yeniden onay alınmıştır.

Çalışmaya dahil olan hastalar ve kontrol grubunu oluşturan olgulardan çalışma ile ilgili bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır.

Hastaların özellikleri Tablo 3-1'de görülmektedir.

Tablo 3-1: Olguların Cinsiyeti, Yaşı, Sigara Kullanımı, Metastazı, TNM'e göre Evresi ve Histopatolojik Tanısı

Olgu No	Cinsiyet	Yaş	Sigara Kullanımı	Metastaz	Evre	Histopatolojik Tanı
1	E	82	+	Karaciğer	IV	Adenokarsinom
2	E	48	+	Kemik	IV	Adenokarsinom
3	E	66	+	Karaciğer ve Kas	IV	KHAK
4	E	52	+	-	III	KHAK
5	E	61	+	-	III	Adenokarsinom
6	K	61	-	-	II	Adenokarsinom
7	K	56	-	-	II	Adenokarsinom
8	E	68	-	-	II	Adenokarsinom
9	E	65	+	-	III	Adenokarsinom
10	E	57	+	Karaciğer	IV	Adenokarsinom
11	K	71	-	Beyin	IV	Adenokarsinom
12	E	52	+	-	II	KHAK
13	K	46	-	-	I	Adenokarsinom
14	K	87	-	-	II	Adenokarsinom
15	E	62	+	Kemik	IV	Adenokarsinom
16	E	47	+	Beyin	IV	KHAK
17	K	48	+	-	III	KHAK
18	K	76	-	-	III	KHAK

19	E	66	-	-	III	KHAK
20	E	50	+	Beyin	IV	KHAK
21	E	53	-	Beyin	IV	KHAK
22	E	63	+	-	III	KHAK
23	E	60	+	-	II	Adenokarsinom
24	K	70	-	Karaciğer ve Kemik	IV	Adenokarsinom
25	E	67	-	-	III	KHAK
26	E	69	-	-	II	Adenokarsinom
27	E	74	+	Baş-boyun	IV	KHAK
28	K	78	-	Özafagus	IV	Adenokarsinom
29	E	62	+	Beyin ve Kemik	IV	KHAK
30	K	58	-	-	I	Adenokarsinom
31	E	60	+	-	III	KHAK
32	E	58	+	-	III	KHAK
33	E	49	+	-	III	KHAK
34	E	55	-	Özafagus	IV	Adenokarsinom
35	E	72	+	-	II	Adenokarsinom
36	K	49	-	-	I	Adenokarsinom
37	E	64	+	Beyin ve Kemik	IV	Adenokarsinom
38	K	71	-	Kemik	IV	Adenokarsinom
39	E	52	+	Beyin	IV	KHAK
40	E	57	+	Beyin	IV	Adenokarsinom

41	E	57	+	-	III	Adenokarsinom
42	E	90	+	-	III	KHAK
43	E	56	+	-	II	KHAK
44	K	49	+	-	II	KHAK
45	E	56	+	-	I	Adenokarsinom
46	E	60	-	-	III	Adenokarsinom
47	E	62	+	-	II	Adenokarsinom
48	E	54	+	Kemik	IV	KHAK
49	K	68	-	-	III	KHAK
50	E	71	+	-	III	KHAK
51	E	64	+	-	III	Adenokarsinom
52	E	53	+	-	III	KHAK
53	E	73	+	Kemik	IV	Adenokarsinom
54	E	53	+	Beyin	IV	Adenokarsinom

3.1.2.Konvensiyonel Sitogenetik Yöntemi

Çalışmamızda, 72 saatlik kültür yöntemi uygulanmış ve hazırlanan preparatlar GTL bantlama yöntemi ile boyanmıştır. Preparat hazırlığı ve boyama işlemleri aşağıda belirtilen protokole göre yapılmıştır. Boyanmış preparatlar ışık mikroskopunda incelenerek, ISCN 2016'a göre değerlendirilmiştir.

3.1.2.1.Perifer Kan Lenfosit Kültürü

1. Hastalardan ve sağlıklı bireylerden heparinle yıkanmış enjektöre alınan kan, içerisinde 5 ml kültür medyumunu bulunan vidalı kapaklı tüplere 10 damla ekilmiştir. Her olgu için dört kültür tüpü hazırlanmıştır.
2. Tüpler 37°C'lik etüve konularak 72 saat inkübe edilmiştir.
3. Kültür tüplerine ekimin 70. saatinde hücre bölünmesini metafaz safhasında durdurmak amacıyla, iğ ipliklerini bloke eden 50 µl colcemid (colchicine) eklenmiştir.
4. İki saat sonra kültür sonlandırılarak kromozom eldesi (harvest) işlemine geçilmiştir.

3.1.2.2.Harvest

1. Tüpler etüvden alınarak 1300 rpm'de 7 dakika santrifüj edilmiştir.
2. Bu sürenin sonunda supernatant atılarak pellet üzerine vorteks üzerinde her 3 tüpe 6 ml 0.075 M KCl eklenmiştir. Supernatant atılmış ve tüpler vorteks üzerinde karıştırılırken pellet üzerine 6 ml 0.075 M KCl eklenmiştir.
3. Tüpler hipotonik şok için 37°C'lik etüvde 8 dakika bekletilmiştir.
4. Hipotonik şok süresinin sonunda tüpler etüvden alınıp, tekrar 1300 rpm'de 7 dakika santrifüjlenmiş, supernatant atılıp pellet üzerine vorteks üzerinde 1:3 oranında taze hazırlanmış ve soğuk olan asetik asit: metanol (Carnoy fiksatif) fiksatifinden damla-damla ilave edilmiştir.
5. Carnoy fiksatifi ile fikse edildikten sonra tüpler bir gece +4°C'de bekletilmiştir.

6. Yıkama işlemi için tüpler tekrar 1300 rpm’de santrifüj edilmiş ve supernatant atıldıktan sonra vorteks üzerinde pellet üzerine Carnoy fiksatif eklenmiştir. Bu işlem her 4 tüp için 4 kez tekrarlanarak yayma işlemine hazırlanmıştır.

3.1.2.3.Yayma İşlemi

1. Santrifüj edilmiş ve supernatantı atılmış her 4 tüpdeki pellet üzerine birkaç damla Carnoy fiksatif damlatılmıştır. Vorteks üzerinde birkaç saniye döndürüldükten sonra, oda sıcaklığında %50-55 nem ortamında lam üzerine 3-4 damla örnek yayılmıştır.
2. Lam üzerinden fiksatif geçirilerek havada kurumaya bırakılmıştır.

3.1.2.4.GTL Bantlama İşlemi

1. İlk 3 tüpden hazırlanan lamalar 90°C’lik hotplate üzerinde 2 saat süreyle yaşlanmaya bırakılmıştır.
2. Yaşlanan lamalar, 65°C’deki 2xSSC’de 10 dakika bekletilmiştir.
3. Lamalar, içinde tripsin çözündürülmüş PBS’de 4-6 saniye bekletildikten sonra tampon solüsyonundan geçirilmiştir.
4. Lamalar 40-50 saniye boyunca 1:3 oranında Leishman boya : tampon solüsyon ile boyanmıştır.

5. Akan suda yıkanan lamalar havada kurumaya bırakılmıştır.

3.1.2.5.Sitogenetik İnceleme

1. Hazırlanan preparatlar, Nikon Eclipse E-600 ve Leica DM 2500 ışık mikroskopunda x10 objektifle taranarak, değerlendirilecek her hasta ve sağlıklı birey için 100 metafaz x100'lük immersiyon objektifi ile incelenmiştir.
2. Değerlendirilecek her olgu için ilk 20 metafazın otomatik görüntüleme sistemine (Ankagen/IMGESS/Karyotiping Gv2.5) aktarılarak analiz edilmesi, 30 metafazın mikroskopta göz analizine tabi tutulması, eğer analiz edilen bu 50 metafazda herhangi bir kromozom anomalisi saptanmamış ise, kalan 50 metafazın mikroskopta 3p anomalileri açısından skorlanarak değerlendirilmesi uygun görülmüştür. Skorlanan metafazlarda 3p ya da diğer kromozomlara ait bir anomali saptanırsa, görüntüleme sistemine aktarılarak analiz edilmesi planlanmıştır. Bununla birlikte, analiz edilen 50 metafazda bir ya da daha fazla 3p ya da başka kromozom anomalileri gözleendiğinde, analiz edilen metafaz sayısının arttırılması yoluna gidilmiştir.
3. Analiz edilen metafazlar ISCN 2016'ya göre değerlendirilmiştir.

3.1.3.Fluoresans İn Situ Hibridizasyon (FISH) Yöntemi

Perifer kan lenfosit kültürü, harvest ve yayma işlemi yapılmış olan 4.tüp'den hazırlanan preparatlara, özel sipariş üzerine tasarlanmış ve kalite-kontrolü yapılmış (Medimiks Medical Biotechnology Systems & Services Ltd.) olan 3p14.2 bölgesindeki *FHIT* genine özgü prob kullanılarak FISH yöntemi uygulanmıştır.

3.1.3.1.Hibridizasyon Öncesi Yıkamalar

1. Yıkama için 37°C'lik su banyosundaki 1 N HCl + 99 dH₂O solüsyonu içerisine 500 µl pepsin eklenmiş ve preparatlar yayma kontrolünde öngörülen süreye göre bu solüsyon içerisinde 3-4 dk bekletilmiştir.
2. Preparatlar oda sıcaklığında PBS'de 5 dk bekletilmiştir.
3. Daha sonra preparatlar post fiksasyonda 10 dk bekletilmiştir.
4. Preparatlar tekrar PBS'de 5 dk bekletilmiştir.
5. Sonra preparatlar 2 dk 2xSSC'de bekletilmiştir.
6. Preparatlar dehidratasyon işlemi için sırasıyla %70, %85 ve %100'lük alkol serileriyle 3'er dakika muamele edilmiştir.
7. Dehidratasyon sonrasında preparatlar oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

3.1.3.2.Prob Hazırlığı ve Denatürasyon

1. Prob, deney öncesinde -20°C 'den çıkarılarak ışık almayacak şekilde, oda sıcaklığında ısınmaya bırakılmıştır.
2. Prob solüsyonu pipetajla homojenize edilerek 1,5 ml'lik eppendorfa aktarılmıştır.
3. Dehidratasyon aşamasından sonra kurumuş olan lamalar ve prob içeren eppendorf tüpler 37°C 'de 15 dk bekletilmiştir.
4. Çalışılacak bölgeye prob dikkatlice damlatıldıktan sonra preparat lamel ile kapatılarak, yapıştırma solüsyonu (rubber cement) ile yapıştırılmış ve kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra hotplate üzerinde 74°C 'de 2 dk ısıtılarak denatüre edilmiştir.

3.1.3.3.Hibridizasyon

Preparatlar ışık geçirmeyen hibridizasyon cihazında 37°C 'de nemli bir ortamda 18 saat hibridizasyona bırakılmıştır.

3.1.3.4.Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar

1. Hibridizasyon süresi tamamlandıktan sonra, lamelin etrafındaki yapıştırma solüsyonu dikkatlice çıkarılmış ve lamel kaldırılmıştır.
2. Preparatlar 65°C'deki 0,4xSSC'de 2 dk bekletilmiştir.
3. Daha sonra 2xSSC'de 30 saniye bekletilmiştir.
4. Preparatlara 15 µl DAPI Antifade eklenmiş ve lamel ile kapatılmıştır.
5. Kapatılan preparatlar inceleme yapılana kadar kapalı bir kutuda +4°C'de bekletilmiştir.

3.1.3.5. Analiz

+4°C'den çıkarılan preparatlar karanlık bir ortamda 'Olympus BX51' floresans mikroskobunda x100'lük immersiyon objektifi ile Texas Red, FITC, DAPI filtreleri kullanılarak incelenmiş ve FISH görüntüleme sistemi (Isis FISH Imaging System) ile görüntülenmiştir. İncelenen interfaz ve metafazlarda kırmızı (K) ile işaretlenen 3p14.2 bölgesinde lokalize olunan *FHIT* geninden, yeşil (Y) ile işaretlenen 3. kromozomun sentromer bölgesinden oluşan, normal hücre (2K2Y) ve monoallelık delesyon (1K2Y), biallelik delesyon (2Y), monozomi (1K1Y) ve yeniden düzenlenmeleri (2K1Y, 2K3Y, 3K2Y) içeren çeşitli anomalili hücreler analiz edilmiştir.

3.1.4. İstatiksel Analiz Yöntemleri

Çalışmamızdaki verilerin istatistiksel analizi için, SPSS 20 paket programı kullanılmış ve istatistiksel anlamlılık sınırı olarak $p < 0,05$ kabul edilmiştir.

Sürekli verilere ilişkin tanımlayıcı istatistiklerde Ortalama Standart Sapma, Ortanca, Minimum, Maksimum değerleri, kesikli verilerde ise yüzde değerleri verilmiştir.

Ölçümle elde edilmiş verilerin üç grupta farklılığın test edilmesinde verilerin normal dağılıma uygunluğu test edilerek Kruskal Wallis Varyans Analizi / Anova kullanılmıştır. Farklılığın hangi gruplarda kümelendiğinin incelenmesinde Tukey ve çoklu karşılaştırma testlerinden faydalanılmıştır. Grupların nominal değişkenlerle karşılaştırılmasında Ki Kare / Fisher's Test kullanılmıştır. Ölçümle elde edilmiş verilerin iki grupta karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanılmıştır.

3.2. Gereç

Konvansiyonel Sitogenetik ve FISH yönteminde kullanılan gereçler aşağıda detaylı şekilde gösterilmiştir.

3.2.1.Konvansiyonel Sitogenetik ve FISH Yönteminde Kullanılan Gereçler

1. Buzdolabı (Arçelik 4042 T Plus +4°C)
2. Derin Dondurucu (Arçelik, Altus)
3. Etüv (Memmert BM400, Nüve FN400)

4. Enjektör
5. Pastör Pipeti
6. pH Çubuğu (Isolab)
7. Manyetik Karıştırıcı (Are Velp Scientifica)
8. Vorteks (Dragon Lab MX-S)
9. Hassas terazi (Precisa x B 220 A)
10. Hotplate (Selecta)
11. Mikropipet (Medispec Plus 10 (0,5-10µl), Discovery Comport (100-1000µl))
12. Mikrosantrifüj (Hettich Mikroliter)
13. Su banyosu (Memmert)
14. Mikroependorf Tüpü (500µl)
15. Mikrodalga Fırın (Arçelik)
16. Hibridizasyon Cihazı (ThermoBrite)
17. Termometre
18. Santrifüj (Hettich Rotafix 32A)
19. Pipet Uçları
20. Eldiven (TentyFlex)
21. Işık mikroskobu (Nikon Eclipse E-600)
22. Mikroskop (Leica DM 2500) (Ankagen/IMGESS/Karyotiping Gv2.5)
23. Flouresan mikroskobu (Olympus BX51)
24. Flouresan mikroskobu filtreleri (Texas Red, FITC, DAPI)
25. Görünteleme sistemi (Metasystem/İsis FISH programı)

3.2.2.Konvansiyonel Sitogenetik ve FISH Yönteminde Kullanılan Cam Malzemeler

1. Lam (Menzel-Glaser SuperFrost ground edges 90°)
2. Lamel (Menzel-Glaser 100 Deckglaser 22x22 mm)
3. Beher (50, 100, 250 ml)
4. Balon joje (250, 500, 1000 ml)
5. Erlenmayer (250, 500, 1000 ml)
6. Şale (100 ml)
7. Mezür (10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 ml)

3.2.3.Konvansiyonel Sitogenetik ve FISH Yönteminde Kullanılan Kimyasallar

1. Distille Su
2. Asetik Asit (Merck, Almanya)
3. Metanol (Merck, Almanya)
4. HCl (Merck, Almanya)
5. KCl (Merck, Almanya)
6. NaCl (Merck, Almanya)
7. Kolsemid (KaryoMAX, USA)
8. Ksilol (Merck, Almanya)
9. Pepsin (Sigma Aldrich, Almanya)
10. İmmersiyon Yağı (Merck, Almanya)
11. %96'lık Etanol (Merck, Almanya)
12. Magnezyum Klorür Hekzahidrat ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) (Merck, Almanya)
13. Potasyum Dihidrojen Fosfat (KH_2PO_4) (Merck, Almanya)
14. Di-Sodyum Hidrojen Fosfat Dihidrat ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) (Merck, Almanya)
15. Tri-Sodyum Sitrat Dihidrat ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$) (Appli Chem, Almanya)

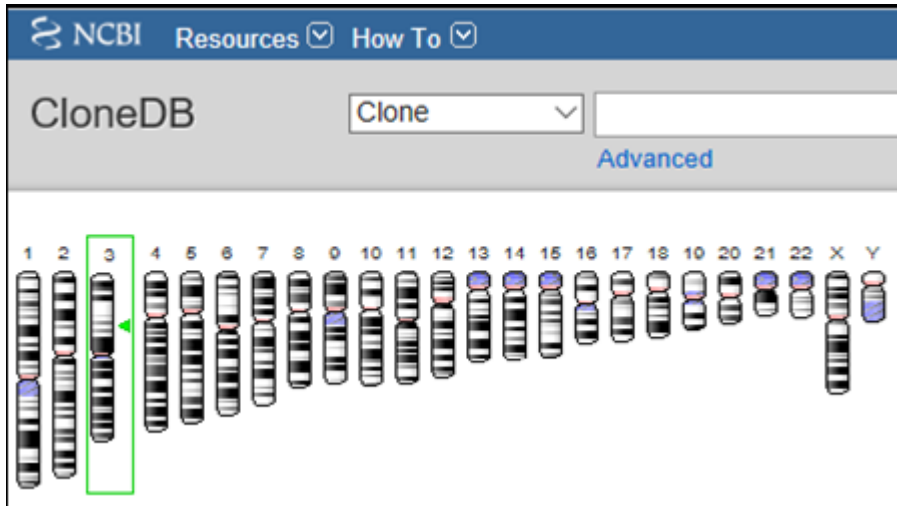
16. DAPI Antifade (Miksis, USA)
17. Parafilm
18. Rubber Cement (Marabu Fixogum)
19. RPMI 1640 (Biochrome, Almanya)

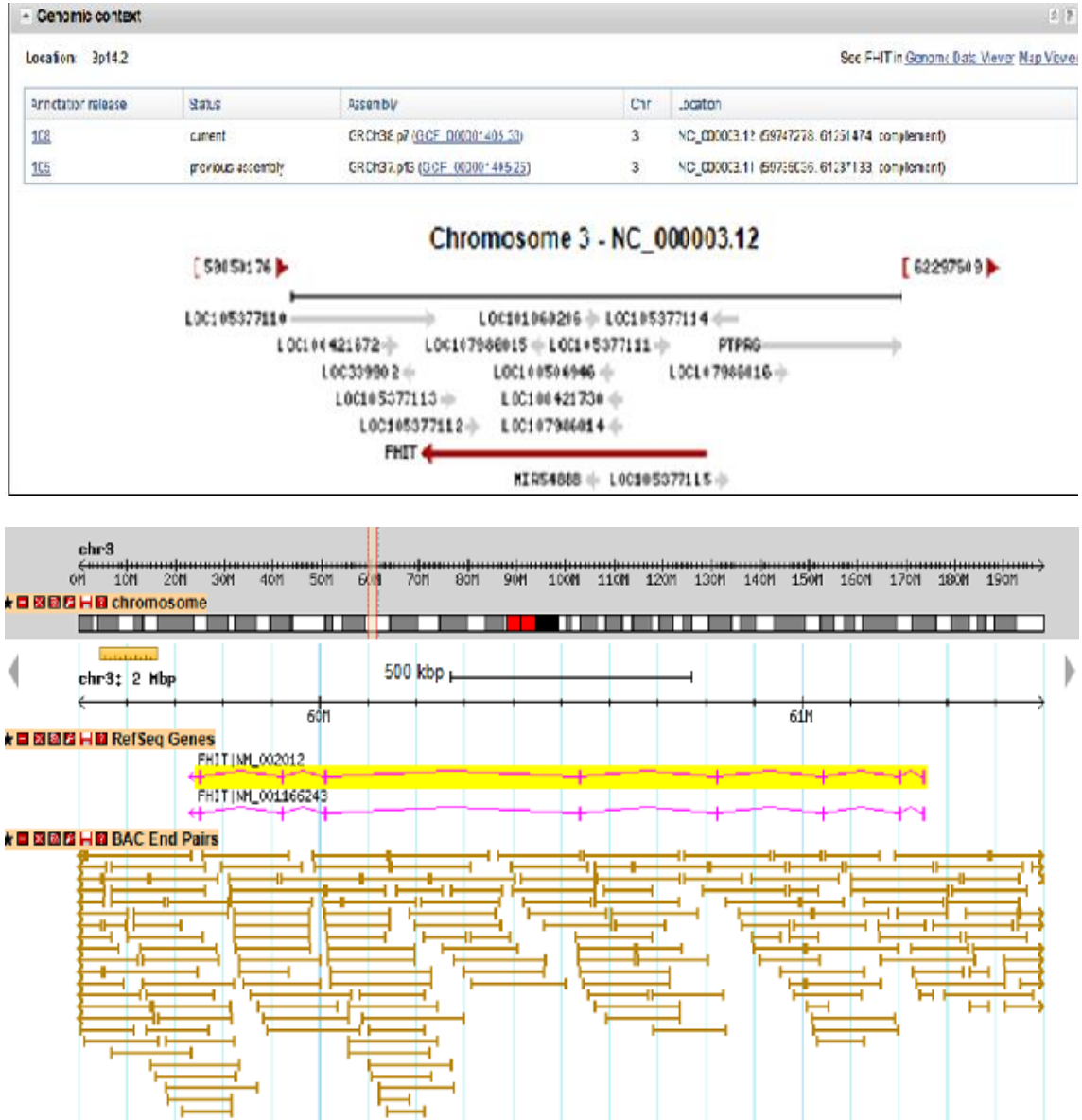
3.2.4.FISH Yönteminde Kullanılan Prob

Özel sipariş üzerine tasarlanmış ve kalite kontrolü yapılmış olan 3p14.2 *FHIT* DNA FISH probu' u (Medimiks Medical Biotechnology Systems & Services Ltd.) Şekil 3-1' de gösterilmiştir.

FHIT, 3p14.2 – Kırmızı

Sentromer, 3p11.1 – Yeşil





Şekil 3-1: 3p14.2 (*FHIT*) DNA FISH Probu

3.2.5. Konvansiyonel Sitogenetik ve FISH Yönteminde Kullanılan Solüsyonlar

Konvansiyonel Sitogenetik ve FISH yönteminde kullanılan solüsyonlar Tablo 3-2, Tablo 3-3 ve Tablo 3-4’de detaylı şekilde gösterilmiştir.

Tablo 3-2: Perifer Kanın Lenfosit Kültürü için Kullanılan Solüsyonlar

<u>Kültür Vasatı</u> %20 fetal bovin serum, L-glutamin, penisilin, streptomisin içeren RPMI – 1640 hazır kromozom medyum (Biochrome, Almanya)
<u>Kolsemid</u> 10 µg/ml kolsemid içeren hazır kolsemid solüsyonu (KaryoMAX, USA)
<u>Hipotonik Şok Solüsyonu</u> 0,075 M KCl solüsyonu
<u>Carnoy Fisatifi</u> Metanol : Asetik Asit (3:1)

Tablo 3-3: GTL (G-Bantlama, T-Tripsin, L-Leishmann) Boyama Yönteminde Kullanılan Solüsyonlar

<u>2xSSC</u> 50 ml 20xSSC 450 ml distille su (dH₂O) pH: 7

PBS (Phosphat Buffer Saline)

8 gr NaCl

0,2 gr KCl

1,4 gr Na₂HPO₄2H₂O

0,2 gr KH₂PO₄

1000 ml dH₂O

pH: 7

Tripsin

%9'luk NaCl solüsyonu içinde 0,15 mg tripsin çözülür

Tampon Solüsyonu

0,47 g/l Na₂HPO₄2H₂O ve 0,47 g/l KH₂PO₄' den oluşan karışım 1000 ml dH₂O'da çözülür

pH: 6,8

Leishman Stok Boya Solüsyonu

200 ml metanol içerisinde 0,3 gr toz Leishman boyası çözülür

Kullanılan Leishman Çözeltilisi

Leishman Stok Boyası : Tampon Solüsyonu (1:5)

Tablo 3-4: FISH Yönteminde Kullanılan Solüsyonlar

<u>PBS (Phosphat Buffer Saline)</u> 8 gr NaCl 0,2 gr KCl 1,4 gr Na₂HPO₄2H₂O 0,2 gr KH₂PO₄ 1000 ml dH₂O pH: 7
<u>20xSSC (Saline Sodium Citrate)</u> 43,8 gr NaCl 22,05 gr Tri-Sodyum Sitrat Dihidrat (C₆H₅Na₃O₇.2H₂O) 250 ml dH₂O pH: 7
<u>2xSSC</u> 50 ml 20xSSC 450 ml dH₂O pH: 7

0,4xSSC

10 ml 20xSSC

250 ml dH₂O

pH: 7

10 mM HCl

0.83 ml konsantre HCl

1000 ml dH₂O

Pepsin Solüsyonu

1 gr pepsin

50 ml dH₂O

Postfiksasyon Solüsyonu

1 ml, %1'lik Formamid

1,0165 gr MgCl₂·6H₂O

100 ml PBS

DAPI Solüsyonu**DAPI Buffer**

0,178 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

100 ml dH_2O

10 nM Na_2HPO_4

DAPI Stok Solüsyonu

DAPI Buffer 5mg/100 ml

Kullanma Solüsyonu

Stok Solüsyon 1:100

DAPI Buffer Stok Solüsyon 1:100

pH:7

%70'lik Etanol

70 ml Etanol

100 ml dH_2O

%85'lik Etanol

85 ml Etanol

100 ml dH_2O

%100'lük Etanol

100 ml Etanol

4. BULGULAR

Çalışmamıza, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalında ve Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesinde takipli olan 30'u adenokarsinom, 24'ü KHAK tanısı almış ve hiçbir tedavi uygulanmamış toplam 54 olgu dahil edilmiştir. Kontrol grubu, akciğer kanseri olmayan, sigara içmeyen ve 30 yaş üstü 20 sağlıklı bireyden oluşturulmuştur. Toplam 74 olgunun perifer kan örneklerine İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Sitogenetik Laboratuvarında Konvansiyonel Sitogenetik ve FISH yöntemleri uygulanarak elde edilen bulgular değerlendirilmiştir.

Bu tez çalışmasına dahil edilen 30'u adenokarsinom ve 24'ü KHAK'inden oluşan olguların cinsiyet, yaş, sigara kullanımı, metastaz ve TNM sistemine göre evre dağılım bilgileri Tablo 4-1 ve Tablo 4-2'de gösterilmiştir. Çalışmamıza dahil edilen 20 sağlıklı bireyin de cinsiyet ve yaşlarına ait bilgiler Tablo 4-3'te bildirilmiştir. Çalışmamıza dahil olan 30 adenokarsinom grubundaki hastanın %33,3'ü (n=10) kadın, %66,7'si (n=20) erkek; 24 KHAK grubundaki hastanın ise %16,7'si (n=4) kadın, %83,3'ü (n=20) erkektir. Çalışmamıza dahil olan 30 adenokarsinom grubundaki hastanın median yaşı $3,07 \pm 9,68$; KHAK grubundaki 24 hastanın ise $59,83 \pm 10,78$ 'dir.

Tablo 4-1: Adenokarsinom Olgularının Cinsiyet, Yaş, Sigara Kullanımı, Metastaz ve TNM Sistemine göre Evreleri (n=30)

Adenokarsinom No	Cinsiyet	Yaş	Sigara Kullanımı	Metastaz	Evre
A1	E	82	+	Karaciğer	IV
A2	E	48	+	Kemik	IV
A3	E	61	+	-	III
A4	K	61	-	-	II
A5	K	56	-	-	II

A6	E	68	-	-	II
A7	E	65	+	-	III
A8	E	57	+	Karaciğer	IV
A9	K	71	-	Beyin	IV
A10	K	46	-	-	I
A11	K	87	-	-	II
A12	E	62	+	Kemik	IV
A13	E	60	+	-	II
A14	K	70	-	Karaciğer ve Kemik	IV
A15	E	69	-	-	II
A16	K	78	-	Özafagus	IV
A17	K	58	-	-	I
A18	E	55	-	Özafagus	IV
A19	E	72	+	-	II
A20	K	49	-	-	I
A21	E	64	+	Beyin ve Kemik	IV
A22	K	71	-	Kemik	IV
A23	E	57	+	Beyin	IV
A24	E	57	+	-	III
A25	E	56	+	-	I
A26	E	60	-	-	III
A27	E	62	+	-	II
A28	E	64	+	-	III
A29	E	73	+	Kemik	IV
A30	E	53	+	Beyin	IV

Tablo 4-2: KHAK Olgularının Cinsiyet, Yaş, Sigara Kullanımı, Metastaz ve TNM Sistemine göre Evreleri (n=24)

KHAK No	Cinsiyet	Yaş	Sigara Kullanımı	Metastaz	Evre
K1	E	66	+	Karaciğer ve Kas	IV
K2	E	52	+	-	III
K3	E	52	+	-	II
K4	E	47	+	Beyin	IV
K5	K	48	+	-	III
K6	K	76	-	-	III
K7	E	66	-	-	III
K8	E	50	+	Beyin	IV
K9	E	53	-	Beyin	IV
K10	E	63	+	-	III
K11	E	67	-	-	III
K12	E	74	+	Baş-boyun	IV
K13	E	62	+	Beyin ve Kemik	IV
K14	E	60	+	-	III
K15	E	58	+	-	III
K16	E	49	+	-	III
K17	E	52	+	Beyin	IV
K18	E	90	+	-	III
K19	E	56	+	-	II
K20	K	49	+	-	II
K21	E	54	+	Kemik	IV
K22	K	68	-	-	III
K23	E	71	+	-	III
K24	E	53	+	-	III

Tablo 4-3: Kontrol Grubunun Cinsiyet ve Yaşları (n=20)

Kontrol Grubu No	Cinsiyet	Yaş
1	K	46
2	K	51
3	K	46
4	E	43
5	K	49
6	E	44
7	E	40
8	K	44
9	K	50
10	K	45
11	K	45
12	E	50
13	E	48
14	E	33
15	K	31
16	K	37
17	K	35
18	K	33
19	E	39
20	E	33

4.1. Adenokarsinom ve KHAK olgularının sigara kullanımına göre istatistiksel değerlendirilmesi

Adenokarsinom grubundaki olguların %46,7'si (n=14) sigara içmeyen, %53,3'ü (n=16) sigara içen, KHAK grubundaki olguların ise %20,8'i (n=5) sigara içmeyen, %79,2'si (n=19) sigara içenlerden oluşmaktaydı. İki gruptaki olguların sigara içme oranları arasında fark bulunmuştur ($p<0.05$). KHAK grubundaki olguların sigara

içme oranlarının adenokarsinom grubundaki olgulara göre anlamlı düzeyde fazla bulunmuştur (Tablo 4-4).

Tablo 4-4: Adenokarsinom ve KHAK Gruplarında Sigara İçme Durumlarının Karşılaştırılması ve Tanımlayıcı İstatistikleri

	SİGARA İÇEN		SİGARA İÇMEYEN		Test İstatistiği	p*
	n	%	N	%		
ADENOKARSİNOM	14	46,7	16	53,3	$\chi^2 = 3,902$	0,048
KHAK	5	20,8	19	79,2		

*Ki Kare Test

4.2. Adenokarsinom ve KHAK Olguların Metastaz ve Evre Dağılımlarına göre İstatistiksel Değerlendirilmesi

Çalışmamıza dahil olan 30 adenokarsinom olgusunun %43,3'ünde (n=13) 24 KHAK olgusunun ise %33,3'ünde (n=8) metastaz vardı. TNM evreleme sistemine göre adenokarsinom grubunda %13,3 (n=4) olgunun evre 1, %26,7 (n=8) olgunun evre 2, %16,7 (n=5) olgunun evre 3, %43,3 (n=13) olgunun evre 4 olduğu saptanmıştır, KHAK grubunda evre 1'de hiç bir olguya rastlanmamış, %12,5 (n=3) olgunun evre 2'de, %54,2 (n=13) olgunun evre 3'de, %33,3 (n=8) olgu evre 4'de teşhis edilmiştir.

Evrelerine göre adenokarsinom ve KHAK grupları değerlendirilmiş ve 3. ve 4. evrede olan KHAK grubundaki olguların oranı adenokarsinom grubundakilere göre anlamlı düzeyde daha fazladır. I ve II evredeki KHAK olgularının oranları da adenokarsinom grubundaki olgulara göre daha azdır (Tablo 4-5).

Adenokarsinom ve KHAK grupları arasında metastaz oranları arasında anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Çalışmamıza dahil olan her iki gruptaki olguların metastaz tutulumları farklılık göstermiştir.

Adenokarsinom grubundaki hastalar için ilk sırayı %30,8'le ($n=4$) oranla kemik metastazı alırken, ikinci sırada %23,1'le ($n=3$) oranla beyin metastazı görülmüştür. Olgularda %15,4 ($n=2$) oranla karaciğer metastazı, %15,4 ($n=2$) oranla özafagus tutulumu gözlenmiştir. Hem karaciğer hem kemik metastazının gözlemlendiği %7,7 ($n=1$) oranında olguya rastlanmış, aynı zamanda %7,7 ($n=1$) oranla hem beyin hem kemik metastazının görüldüğü olguya da rastlanmıştır.

KHAK grubunda en sık (%50, $n=4$) beyin metastazı gözlenirken; birer hastada (%12,5) kemik, baş-boyun, beyin ve kemik, karaciğer ve kas metastazına rastlanmıştır.

Adenokarsinom grubundaki hastalarda, KHAK grubundaki hastalardan farklı olarak karaciğer, özafagus, karaciğer+kemik metastazları gözlenirken, KHAK hastalarında adenokarsinom grubundan farklı olarak baş-boyun+karaciğer+kas metastazı gözlenmiştir (Tablo 4-6).

Tablo 4-5: Adenokarsinom ve KHAK Gruplarının Metastaz ve Evre Dağılımlarının Karşılaştırılması ve Tanımlayıcı İstatistikleri

	ADENOKARSİNOM		KHAK		Test İstatistiği	p*
	n	%	n	%		
Metastaz						
Yok	17	56,7	16	66,7	$\chi^2 = 0,561$	0,454
Var	13	43,3	8	33,3		
Evre						
Evre 1	4	13,3	0	0	$\chi^2 = 9,936$	0,013

Evre 2	8	26,7	3	12,5		
Evre 3	5	16,7	13	54,2		
Evre 4	13	43,3	8	33,3		

*Ki Kare Test/ Fisher'sExact Test

Tablo 4-6: Adenokarsinom ve KHAK Gruplarının Metastaz Tutulumlarının Dağılımları

Metastaz yeri	ADENOKARSİNOM		KHAK	
	n	%	n	%
Karaciğer	2	15,4	0	0
Kemik	4	30,8	1	12,5
Beyin	3	23,1	4	50
Özafagus	2	15,4	0	0
Karaciğer ve kemik	1	7,7	0	0
Beyin ve kemik	1	7,7	1	12,5
Karaciğer ve kas	0	0	1	12,5
Baş-boyun	0	0	1	12,5

4.3. Adenokarsinom ve KHAK Olgularının Konvansiyonel Sitogenetik Bulguları

30 Adenokarsinom ve 24 KHAK olgusunun perifer kanı materyallerinde yapılan G-bantlama sonucunda sırasıyla 5 adenokarsinom olgusunda (A13, A14, A20, A21, A22) ve 6 KHAK olgusunda (K6, K7, K8, K10, K11, K18) incelenen metafaz elde edilememiştir. Diğer 25 adenokarsinom, 18 KHAK olgusunda ve 20 kontrol grubunun hepsinde 100'er metafaz incelenmiştir. Adenokarsinom, KHAK ve kontrol gruplarının karyotip formülleri sırasıyla Tablo 4-7, Tablo 4-8 ve Tablo 4-9'de görülmektedir.

Hem adenokarsinom, hem de KHAK olgularında incelenen metafazlarda kompozit karyotipe sahip klonal anomaliler saptanmıştır. Her iki grupta da olguların hiç birinde 3p14.2 delesyonuna rastlanmamıştır. Fakat 25 adenokarsinom ve 18 KHAK'den oluşan toplam 43 hastanın 6'sında (A3, A16, A19, A24, K5, K9) 18p11 delesyonuna, 4'ünde (A2, A3, A11, K20) 6q15q21 delesyonuna, 2'inde de (A2, K22) 22q12 delesyonuna rastlanmıştır ve toplam 12 hastada farklı marker kromozomu gözlenmiştir. Aynı zamanda 10 adenokarsinom ve 6 KHAK olgusunda klonal yapısal anomaliler gözlenmiştir. Adenokarsinom olguları için 18. kromozomda 4 hastada, 6. kromozomda 3 hastada, 7. ve 10. kromozomda iki hastada, 3., 9., 11., 14., 16., 22. ve X kromozomunda bir hastada klonal yapısal anomaliler gözlenilmiştir ve 4 hastada farklı marker kromozomları saptanmıştır. KHAK olguları için ise 18. kromozomda iki hastada, 3., 6., 20. ve 22. kromozomda bir hastada klonal yapısal anomali görülmüştür ve 8 hastada farklı marker kromozomu saptanmıştır. Kontrol grubundaki bireylerde hiçbir yapısal anomali saptanmamıştır.

İncelenen bütün hastalarda (her iki grup için) sayısal klonal anomaliler saptanmıştır. Adenokarsinom vakaları için 21. kromozomda 4 hastada, 10. kromozomda 3 hastada, 11., 22. ve Y kromozomunda iki hastada ve 2., 6., 8., 13. ve 19. kromozomlarda bir hastada trizomi gözlenilmiştir. KHAK vakaları için ise 8., 21., 22. ve X kromozomunda bir hastada trizomi saptanmıştır. Kontrol grubundaki bireylerin kromozomlarında trizomi gözlenmemiştir.

Her iki gruptaki olgularda bütün kromozomların monozomisi görülmüştür (Tablo 4-10). Adenokarsinom ve KHAK grubundaki hastalarda gözlenen her kromozom için monozomi gözlenen olgu sayısı birbirine yakındır, fakat kontrol grubundaki bireylerden farklıdır (Şekil 4-1).

Adenokarsinom ve KHAK olgularının incelenen metafazlarında farklı ploidi seviyeleri (near-haploidi, hiperhaploidi ve near-diploidi) gözlenmiştir. (Tablo 4-11).

Adenokarsinom ve KHAK olgularına ait çeşitli anomalileri içeren karyogram örneklerine ait resimler aşağıda gösterilmiştir (Şekil 4-2’den Şekil 4-20’e kadar).

Tablo 4-7: Adenokarsinom Olgularının Konvansiyonel Sitogenetik Bulguları

Adenokarsinom Olgu No	Karyotip Formülü	AHS	3.krz. Skor Hücre Sayısı	İncelenen Metafaz Sayısı
A1	38~45,XY,-Y[6],-8[5],-9[3],-10[3],-11[5],-12[5],-13[3],-14[3],-17[3],-18[4],-19[5],-20[7],-21[6],-22[3][cp20]/18~28,X,+Y[2],+1[3],+9[2],+11[2],+13[2],-18[3][cp3]/46,XY[71]	25	4	100
A2	38~48,XY,+Y[2],-1[3],-2[4],+2[2],-3[3],-4[3],-5[3],del(6)(q15q21)[3],-8[5],dic(9;11)(q34;p15)[2],+10[2],add(10)(q26)[2],+11[3],-13[4],+13[2],-15[3],-17[6],-19[4],+19[2],-21[4],+21[3],-22[4]+22[2],del(22)(q12)[2],ace1[6],dmin[5][cp27]/17~31,X,+Y[3],+2[2],+9[2],+13[2][cp3]/46,XY[55]	33	12	100
A3	38~45,XY,-8[8],-11[4],-14[4],-16[4],-17[4],-18[4],del(18)(p11)[2],-19[6],-20[8],-21[8],-22[6][cp30]/46,XY,del(6)(q15q21)[2]/46,XY[55]	36	9	100
A4	32~45,XX,-X[9],chtg(16)(q21)[4][cp12]/47,XX,+21[2]/46,XY[74]	18	8	100
A5	40~46,XX,-X[9],+Y[2],-2[3],-3[3],-6[3],-7[3],-10[3],-15[3][cp15]/16~34,X,+1[3],+2[5],+3[4],+4[4],+5[6],+6[3],+7[4],+8[4],+9[4],+10[4],+11[6],+12[3],+13[3],-15[3],+15[3],+16[5],-17[3],+17[3],+19[2],+20[2],+21[4],-22[4],+22[2][cp10]/46,XX[68]	32	0	100
A6	35~45,XY,-Y[6],-4[4],-6[4],-7[5],-18[4],-21[3][cp14]/46,XY[78]	22	0	100
A7	36~45,XY,-5[3],-7[4],-10[6],-15[4],-16[5],-	24	8	100

	17[3],-22[7][cp17]/ 27~33,X,+1[3],+6[2],+7[2],+10[2],+15[2],+ 16[2],+17[2],+18[3] +19[2],+20[2],+21[2][cp3]/47,XY,+21[2]/4 6,XY[68]			
A8	39~45,XY,-Y[4],-2[3],-6[3],-14[4],-16[4],- 19[4],-20[5][cp15]/ 25~33,X,+2[3],+11[3],+12[2],+14[2],+15[3] [cp3]/46,XY[56]	19	25	100
A9	37~45,XX,-X[9],-2[3],-3[3],-5[3],-6[3],- 7[3],-8[4],-14[3],-18[3],-19[5],-21[5],- 22[6][cp25]/26~28,X,+6[2],+9[2],+10[2],+1 1[3],+12[4],+13[3],+15[3],+22[2][cp4]/46, XX[51]	31	18	100
A10	36~46,XX,-X[17],del(X)(p11)[2],- 3[3],add(3)(q29)[4],-5[4],-6[4],-7[3],-8[5],- 10[6],-13[3],-14[3],15[3],-18[3],-19[5],- 20[3],-21[3],- 22[3][cp37]/47,XX,+X[3]/47~48,XX,+8[3],+ 10[2][cp3]/28~32,X,+1[2],+3[2],+7[2],+12[2],+17[2][cp2]/46,XX[52]	48	0	100
A11	38~47,XX,-X[21],-4[3],-5[4],- 6[6],del(6)(q15q21)[4],-7[3],-8[7],-9[6],- 10[12],-11[6],-12[4],-13[6],-14[5],-15[5],- 16[7],-17[4],-19[4],-20[7],-21[7],- 22[6][cp50]/18~33,X,+X[3],+1[3],+2[3],+3[2],+4[3],+5[2],+6[3],+7[3],+8[2],+9[4],+10[3],+11[3],+12[4],+13[3],+14[3],+16[5],+17 [3],+18[4],+19[2],+20[5],+21[4],+22[4][cp 7]/46,XX[36]	61	3	100
A12	39~46,XY,inv(10)(q23q24)[5],del(14)(q24)[4],-18[4],-19[5],-20[4],-21[4],- 22[4][cp22]/27~32,X,+Y[2],+1[3],+4[2],+6[2],+7[2],+9[2],+12[2],+15[2],+16[2], +22[2][cp3]/46,XY[70]	28	2	100
A13	DMB	0	0	0
A14	DMB	0	0	0
A15	35~45,XY,-X[6],-Y[6],-1[4],-2[13],-3[16],- 4[9],-5[3],-6[16],-7[10],-8[15],-9[14],- 10[9],-11[10],-12[13],-13[18],-14[14],- 15[11],-16[11],-17[20],-18[4],-19[11],- 20[9],-21[13],-21[4],- 22[9][cp56]/26~33,X,- X[5],+Y[6],+1[9],+2[5],+3[11],+4[8],+5[10], +6[3],+7[7],-8[4],+8[3],+9[5],-	75	5	100

	10[3],+10[6],-11[3],+11[9],+12[11],-13[5],+13[9],+14[7],-15[6],+15[4],-16[3],+16[8],-17[4],+17[5],+18[11],+19[5],+20[4],-21[6],+21[9],-22[3],+22[9][cp18]/46,XY[20]			
A16	35~46,XX,-X[28],-2[9],-3[17],-4[6],-5[7],-6[8],-7[6],del(7)(p13)[3],-8[8],-9[4],-10[7],-11[4],-12[7],-13[4],-14[7],-15[11],-16[8],-17[9],-17[3],-18[9],del(18)(p11)[5],-19[20],-20[12],-21[9],-22[10][cp57]/21~33,X,-X[4],+X[2],+1[6],+2[4],-3[3]+3[4],+4[3],+5[6],+6[6],+7[4],+8[3],+9[5],+10[5],+11[4],+12[4],+13[5],-14[4],+14[4],+15[7],+16[2],+17[3],-20[3],+20[4],+21[5],+22[6][cp12]/46,XX[26]	70	4	100
A17	35~50,XX,-X[6],+X[5],-2[6],-3[4],-4[8],-6[8],-7[5],-7[3],-8[8],-9[3],-10[4],+10[2]-11[4],-13[5],-14[3],-15[4],-20[12],-21[9],-21[4],-22[12][cp43]/46,XX[44]	48	8	100
A18	35~45,XY,-3[5],-4[3],-5[3],-7[3],-9[5],-10[10],-12[4],-14[6],-17[8],-18[4],-20[6],-21[9],-22[5][cp27]/46,XY[50]	33	17	100
A19	36~46,XY,-Y[4],-1[4],-3[4],-8[8],-11[4],-12[6],-16[6],-17[4],-18[4],del(18)(p11)[2],-19[6],-20[6],-21[6],-22[6][cp32]/46,XY[46]	35	19	100
A20	DMB	0	0	0
A21	DMB	0	0	0
A22	DMB	0	0	0
A23	40~46,XY,-5[3],-8[13],-9[6],-13[7],-14[4],-15[4],-17[6],-18[4],-19[15],-20[6],-21[6],-22[8][cp43]/22~33,X,+Y[16],+1[9],-2[6],+2[5],+3[8],-4[3],+4[6],+5[6],+6[12],-7[4],+7[9],+8[2],+9[7],+10[6],-11[6],+11[5],-12[3],+12[6],-13[3],+13[8],-14[4],+14[3],-15[7],+15[6],+16[6],-17[5],+17[6],+18[5],-19[3],+19[3],+20[5],-21[3],+21[5],-22[6],+22[3][cp17]/46,XY[32]	65	3	100
A24	35~46,XY,-Y[3],-1[7],-3[7],-4[10],-5[11],-7[4],-9[8],-10[9],-11[4],-12[15],-13[8],-14[6],-16[6],-17[7],del(18)(p11)[5],-	65	6	100

	19[16],-20[8],-21[3],- 22[11][cp50]/22~34,X,- X[7],+Y[11],+1[5],+2[6],+3[4],+5[4],- 6[4],+6[6],+7[5],+8[3],- 9[6],+9[5],+10[6],+11[7],+12[6],- 13[4],+13[6],+14[9],+15[10],+16[7],- 17[3],+17[7],+18[6], del(18)(p11)[2],+20[3],- 21[3],+21[4],+22[6][cp14]/46,XY[29]			
A25	40~46,XY,-X[3],-3[5],-6[4],-7[4],-10[4],- 12[3],-13[6],-18[4],-19[5],- 20[3][cp21]/46,XY[64]	25	11	100
A26	35~45,XY,-Y[3],-1[6],-3[6],-4[4],-5[7],- 6[4],-7[4],-8[8],-9[7],-10[12],-11[5],- 12[3],-13[7],-15[4],-16[11],-16[4],- 17[10],-18[9],-19[4],-19[4],-20[12],- 21[12],- 22[8][cp42]/27~30,X,+Y[2],+1[2],+2[4],+4[2],+6[4],+7[2],+8[2],+9[2],+11[2],+12[2],+ 16[2],+17[2],+18[2],+19[2],+20[2][cp4]/46 ,XY[44]	47	9	100
A27	36~46,XY,-1[4],-3[4],-5[5],-6[4],-7[5],- 8[7],-9[5],-10[7],-13[4],-14[5],-15[6],- 17[4],-18[4],- 19[5],+21[4][cp25]/46,XY[57]	27	16	100
A28	36~45,XY,-X[5],-Y[10],-2[5],-3[9],-4[9],- 5[9],-6[6],-7[5],-8[15],-9[9],-10[11],- 11[9],-12[7],-13[9],-14[9],-15[7],-16[9],- 17[18],-18[10],-19[16],-20[19],-21[10],- 22[18],-22[7][cp50]/46,XY[32]	52	16	100
A29	35~45,XY,-1[4],-3[4],-8[4],-10[4],-11[4],- 12[8],-14[3],-15[3],-16[9],-17[8],-18[6],- 19[4],-20[12],-21[13],-22[8][cp29]/28- 34,X,+Y[3],+2[3],+3[4],+4[4],+8[4],+10[2], +11[3],+13[4],+15[2][cp4]/46,XY[31]	33	36	100
A30	35~48,XY,+X[2],-Y[4],-1[6],-3[7],+3[6],- 4[7],-5[5],- 6[8],+6[2],der(7)t(7;7)(p10;q10)der(7)(q10 ;q10)[5],i(7)(q10)[7],-8[10],-10[4],- 11[4],+11[2],-12[9],-13[10],-14[3],-15[7],- 16[8],-17[3],-18[6],-19[6],-20[9],-21[13],- 22[12],+22[3][cp34]/19~27,X,-X[5],+1[2],- 2[4],+4[2],+5[2],-8[3],- 13[3],+14[3],+16[3],- 18[3],+21[3],+22[2][cp6]/46,XY[23]	40	37	100

DMB: Değerlendirilecek Metafaz Bulunamadı, AHS: Anomalili Hücre Sayısı

Tablo 4-8: KHAK Olgularının Konvansiyonel Sitogenetik Bulguları

KHAK Olgu No	Karyotip Formülü	AHS	3.Kromo zom Skor Hücre Sayısı	İncele nen Metafaz Sayısı
K1	36~46,XY,-Y[7],-2[3],-4[3],-6[4],-8[3],-10[4],-11[4],-12[5],-15[6],-16[3],-17[3],-18[4],-20[6],-21[4],-22[3][cp23]/22~33,X,+Y[4],+1[3],+2[3],+3[3],+4[4],+5[3],+6[2],+6[2],+7[4],+8[2],+10[2],+11[2],+12[2],+13[2],+14[2],+16[3],+17[3],-18[3],+18[2],+19[2],+21[3],-22[5][cp6]/46,XY[61]	39	0	100
K2	36~45,XY,-X[3],-1[3],-3[4],-5[3],-10[5],-11[3],-12[5],-13[4],-18[7],-20[3],-22[3][cp18]/28~34,X,+Y[2],+2[4],+3[2],+4[3],+5[2],+6[2],+7[2],+8[3],+10[4],+12[2],+15[2],+16[4],+17[4],+18[2],+19[4],+20[3],+21[2],+22[3][cp5]/46,XY[61]	32	7	100
K3	36~45,XY,-1[5],-2[3],-4[5],-5[7],-6[4],-7[4],-8[9],-9[3],-10[6],-11[3],-12[4],-13[4],-15[3],-17[7],-19[10],-20[3],-21[3],-22[7][cp27]/28~33,X,+Y[3],+1[3],+3[2],+5[3],+7[3],+9[2],+10[2],+11[2],+13[2],+14[3],+15[4],+16[2],+17[3],+19[4],+20[2],+21[2],+22[3][cp5]/46,XY[64]	36	0	100
K4	42~45,XY,-Y[4],-3[3],-10[5],-12[3],-20[3],-22[5][cp19]/46,XY[59]	23	18	100
K5	41~46,XX,-X[3],-8[3],der(18)del(18)(p11)del(18)(q12q22)[7][cp11]/40~45,XX,-19[cp4]/46~47,XX,+8[cp2]/46,XX[69]	26	5	100
K6	DMB	0	0	0

K7	DMB	0	0	0
K8	DMB	0	0	0
K9	35~52,XY,-1[4],-3[5],-6[4],-6[3],-7[4],-8[3],-9[4],-10[5],-11[4],-13[3],-14[4],del(18)(p11)[9],-19[3],-20[6],-21[10],-22[5],+22[2][cp32]/19~30,X,+Y[2],+4[2],+6[2],+8[2],+9[2],+11[3],+14[2],+15[2],+20[2],-22[4][cp4]/46,XY[51]	39	10	100
K10	DMB	0	0	0
K11	DMB	0	0	0
K12	35~46,XY,-X[5],-Y[7],-1[6],-2[7],-3[4],-4[6],-5[9],-6[6],-7[7],-8[16],-9[9],-10[11],-11[4],-12[18],-13[7],-14[7],-15[5],-16[11],-17[5],-18[8],-19[19],-19[4],-20[15],-20[3],-21[8],-22[9][cp47]/24~33,X,+Y[5],+1[4],+2[10],+3[5],+4[6],+5[6],+6[7],+7[4],-8[3],+8[2],+9[3],+10[5],+11[8],+12[7],+13[8],+14[4],+15[8],+16[5],-17[4],+17[4],+18[5],+19[4],-20[3],+20[6],+21[7],-22[5][cp14]/46,XY[21]	63	16	100
K13	36~46,XY,-X[6],-1[4],-2[6],-7[4],-8[4],-9[6],-10[6],-11[7],-12[8],-13[4],-15[6],-16[5],-17[10],-18[13],-19[8],-20[6],-22[10][cp39]/33,X,+Y[4],+1[4],+2[4],+3[3],+4[4],+5[2],+7[3],+9[2],+11[4],+12[3],+14[2],+15[3],+16[4],+17[3],+20[3],+21[2][cp5]/46,XY[42]	46	12	100
K14	35~46,XY,-X[6],-Y[10],-1[14],-2[12],-3[10],-4[10],-5[14],-6[6],-7[6],-8[13],-9[6],-10[10],-11[4],-12[10],-13[12],-14[12],-15[12],-16[15],-17[10],-18[10],-19[20],-20[12],-20[6],-22[8][cp53]/20~23,X,+Y[4],+1[12],-2[4],+2[6],+3[13],+4[8],+5[5],-6[7],+6[4],-7[3],+7[7],+8[10],-9[7],+9[5],-10[4],+10[5],-11[3],+11[13],+12[9],-13[5],+13[6],-14[5],+14[7],-15[3],+15[4],-16[3],+16[10],-17[4],+17[8],+18[7],+19[7],-	71	1	100

	20[3],+20[5],-21[6],+21[3],- 22[4],+22[5][cp18]/46,XY[28]			
K15	36~45,XY,-1[3],-3[7],-4[9],-5[7],-6[8],- 7[5],-8[12],-9[7],-10[9],-12[5],-13[6],- 14[14],-15[11],-16[14],-17[9],-18[9],- 19[13],-19[4],-20[13],-21[14],- 22[6][cp45]/28~32,X,+Y[11],+1[7],+2[5], +3[9],+4[6],+6[3],- 7[3],+7[3],+8[8],+9[11],-10[4],+10[3],- 11[3],+11[3],+13[8],+14[6],+15[6],+16[6] ,+17[5],+18[2],-19[5],-20[4],+21[5],+ 22[10][cp12]/46,XY[37]	59	4	100
K16	40~45,XY,-3[4],-5[6],-11[4],-14[4],- 17[6],-19[7],-21[13],- 22[6][cp36]/32~34,X,+Y[3],+1[2],+2[3],+ 8[2],+9[2],+11[3],+12[2],+13[3],+16[2],+ 20[3],+21[3][cp3]/46,XY[51]	43	6	100
K17	38~47,XY,-2[4],-7[7],-8[4],-9[3],-10[4],- 11[4],-12[4],-14[6],-15[3],-19[4],- 20[10],del(20)(q13)[4],-21[12],+21[4],- 22[6][cp41]/30~34,X,+Y[6],- 1[3],+1[3],+3[6],+4[3],+5[3],+6[2],+7[2],- 8[3],+8[3],+9[3],+10[4],+11[2],+12[2],+1 3[3],+14[2],+15[2],+16[4],+ 18[3],+19[5],+21[3],+ 22[2][cp6]/46,XY[42]	49	9	100
K18	DMB	0	0	0
K19	35~46,XY,-3[7],-5[8],-6[3],-8[8],-9[8],- 10[8],-11[11],-11[4],-12[4],-13[3],- 14[8],-15[6],-16[11],-17[8],-18[7],- 19[8],-20[6],-21[4],- 22[8][cp38]/21~34,X,- X[5],+Y[3],+1[3],+2[3],-3[3],+4[4],- 6[3],+6[3],+7[5],+8[2],+9[2],+10[2],+12[3],+13[3],+14[3],+15[3],+17[6],+20[3],- 22[3],+ 22[2][cp6]/46,XY[47]	46	7	100
K20	33~46,XX,-X[8],-2[3],- 4[3],del(6)(q15q21)[5],-13[3],-13[3],- 16[4],-17[5],-19[6],-20[3],-21[4],- 22[5][cp32]/46,XX[51]	37	12	100
K21	37~47,XY,-Y[8],-6[6],-9[7],-10[3],- 12[11],-13[8],-14[5],-16[3],-17[3],- 18[6],-19[10],-20[6],-21[8],- 22[5][cp36]/46,XY[55]	36	9	100
K22	38~50,XX,-X[5],+X[3],-6[4],-7[4],-12[6],- 14[4],-17[8],-17[3],-18[6],-19[4],-	35	17	100

	22[4],del(22)(q12)[5],+mar2[3],+mar2x3[2][cp29]/22~32,X,+X[4],+1[2],+3[2]+4[2],+5[2],+6[3],+8[3],+9[2],+11[2],+12[3],+13[4],+15[3],+16[3],+19[2],+21[2][cp5]/46,XX[48]			
K23	36~46,XY,-1[3],-2[4],t(3;5)(p25;q31)[2],-4[7],-5[4],-6[4],-7[7],-8[13],-9[8],inv(9)(p12q13)[71],-10[4],-11[6],-12[10],-14[4],-15[3],-16[8],-17[8],-18[7],-18[3],-19[9],-20[6],-21[8],-22[5][cp84]/30~33,X,+Y[4],+1[4],+2[4],+3[4],del(3)(p22)[2],+4[2],+5[6],+6[4],+7[4],inv(9)(p12q13)[4],+10[4],+11[6],+12[2],+13[2],+14[4],+16[2],+17[6],+18[2],+20[2],+21[4],-22[4],+22[2][cp6]/46,XY[9]	91	0	100
K24	38~45,XY,-Y[4],-5[3],-7[3],-12[3],-16[3],-17[4],-19[5],-21[5][cp10]/46,XY[70]	13	17	100

DMB: Değerlendirilecek Metafaz Bulunamadı, AHS: Anomalili Hücre Sayısı

Tablo 4-9: Kontrol Grubunun Konvansiyonel Sitogenetik Bulguları

Kontrol Grubu No	Karyotip Formülü	AHS	3.Kromozom Skor Hücre Sayısı	İncelenen Metafaz Sayısı
1	46,XX[63]	5	32	100
2	37~44,XX,-9[3][cp3]/41~45,XX,-19[3][cp3]/46,XX[62]	10	28	100
3	41~44,XX,-X[4][cp4]/46,XX[64]	7	29	100
4	46,XY[64]	3	33	100
5	45,X,-X[3]/46,XX[64]	6	30	100
6	46,XY[69]	1	30	100
7	45,XY,-14[3]/46,XY[63]	7	30	100
8	46,XX[63]	2	35	100
9	46,XX[65]	5	30	100

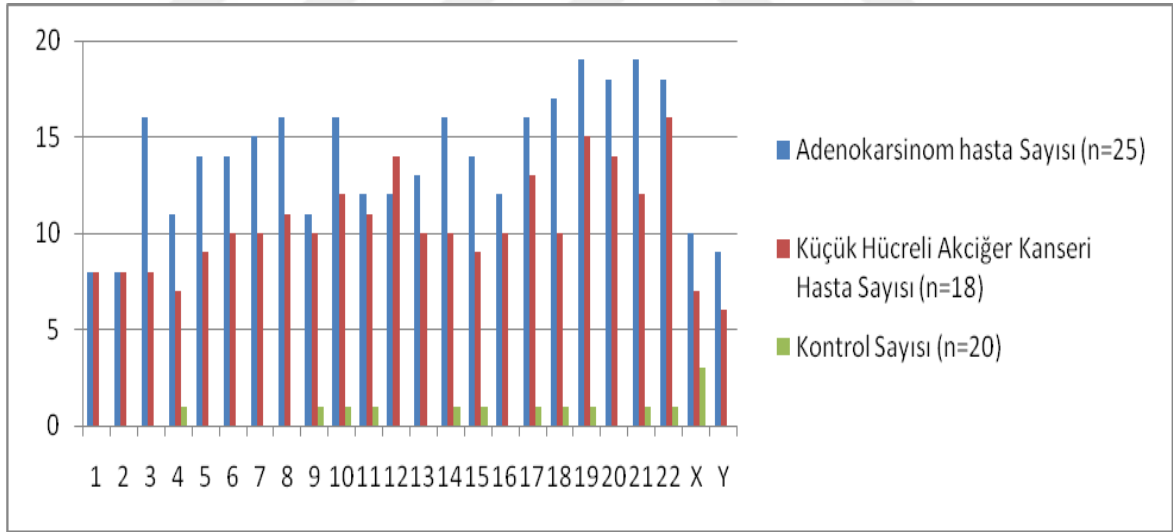
10	44~45,XX,-X[3][cp3]/46,XX[58]	8	34	100
11	44~45,XX,-22[3][cp3]/46,XX[63]	5	32	100
12	36~41,XY,-15[3],-18[3][cp4]/26~34,X,+Y[3],+5[3],+6[2],+15[2],+17[2],+18[2],+22[2][cp3]/46,XY[61]	9	30	100
13	46,XY[65]	4	31	100
14	46,XY[65]	2	33	100
15	46,XX[63]	5	32	100
16	35~45,XX,-17[3][cp3]/46,XX[60]	8	32	100
17	46,XX[61]	6	33	100
18	35~44,XX,-4[4],-10[4],-11[3],-21[3][cp7]/46,XX[62]	10	28	100
19	46,XY[65]	3	32	100
20	46,XY[62]	7	31	100

AHS: Anomalili Hücre Sayısı

Tablo 4-10: Adenokarsinom, KHAK ve Kontrol Grubunda Gözlenen Monozomiler

Kromozom Numarası	Adenokarsinom Olgu Sayısı (n=25)	KHAK Olgu Sayısı (n=18)	Kontrol Sayısı (n=20)
1	8	8	0
2	8	8	0
3	16	8	0
4	11	7	1
5	14	9	0
6	14	10	0
7	15	10	0
8	16	11	0

9	11	10	1
10	16	12	1
11	12	11	1
12	12	14	0
13	13	10	0
14	16	10	1
15	14	9	1
16	12	10	0
17	16	13	1
18	17	10	1
19	19	15	1
20	18	14	0
21	19	12	1
22	18	16	1
X	10	7	3
Y	9	6	0



Şekil 4-1: Adenokarsinom ve KHAK Olgularının ve Kontrol Grubu Bireylerinin Bütün Kromozomların Monozomisinin Hasta Sayısına göre Dağılımı

Tablo 4-11: Adenokarsinom, KHAK ve Kontrol Grubunda Gözlenen Ploidi Seviyeleri

Ploidi Seviyesi	Adenokarsinom Olgu Sayısı (n=25)	KHAK Olgu Sayısı (n=18)	Kontrol Sayısı (n=20)
Near-haploidi	8	5	0
Hiperhaploidi	8	8	1
Near-diploidi	25	18	9



Şekil 4-2: A1 Olgusuna Ait Sayısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü
38,X,-Y,-3,-6,-13,-14,-18,-19,-22

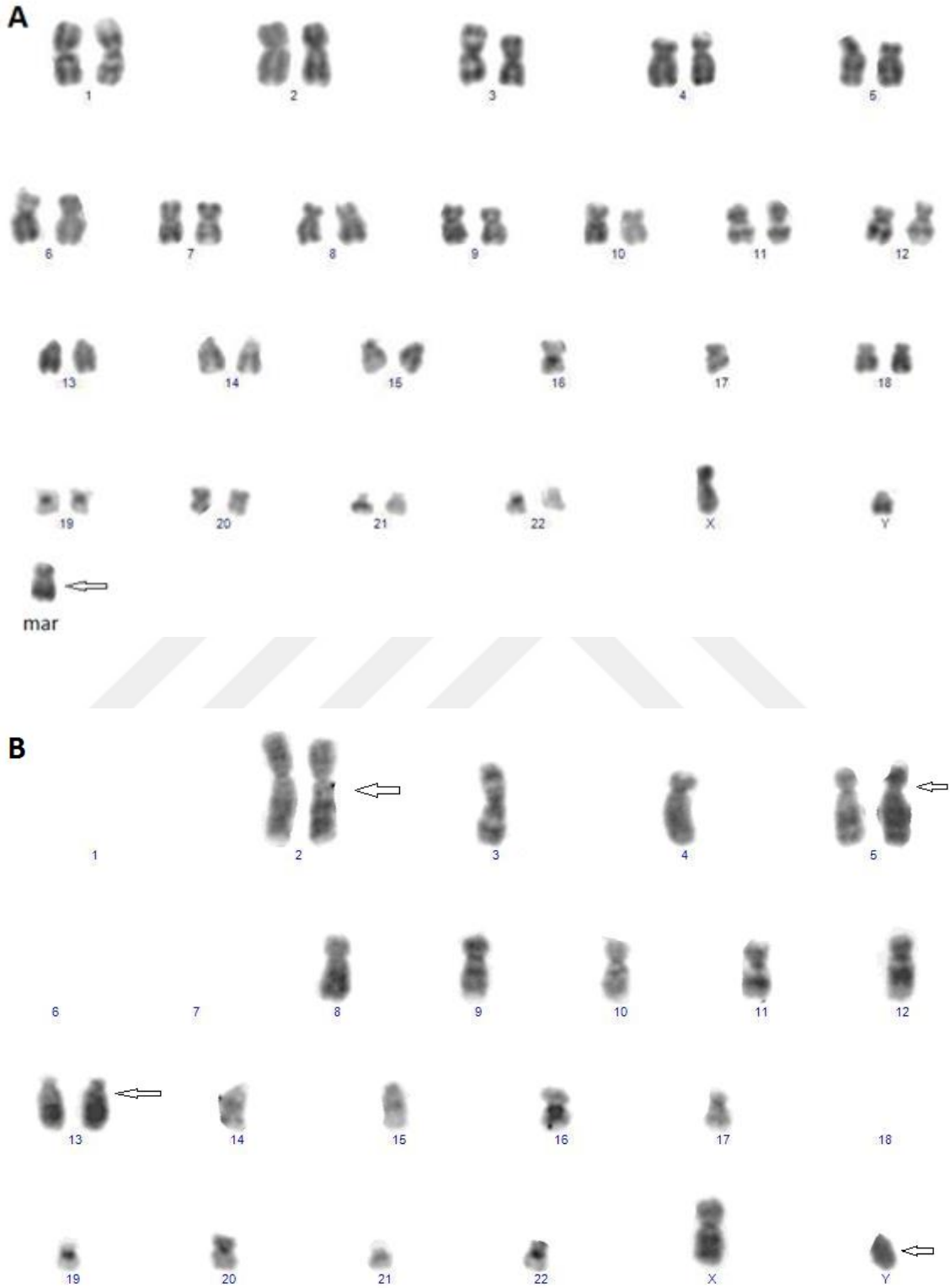


Şekil 4-3: A2 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüleri

A: 46,XY,+2,-4,dic(9;11)(q34;p15),-13,+21

B: 43,XY,+Y,dic(1;8)(q44;p23),add(1)(q11),+del(1)(q11),-2,+3,

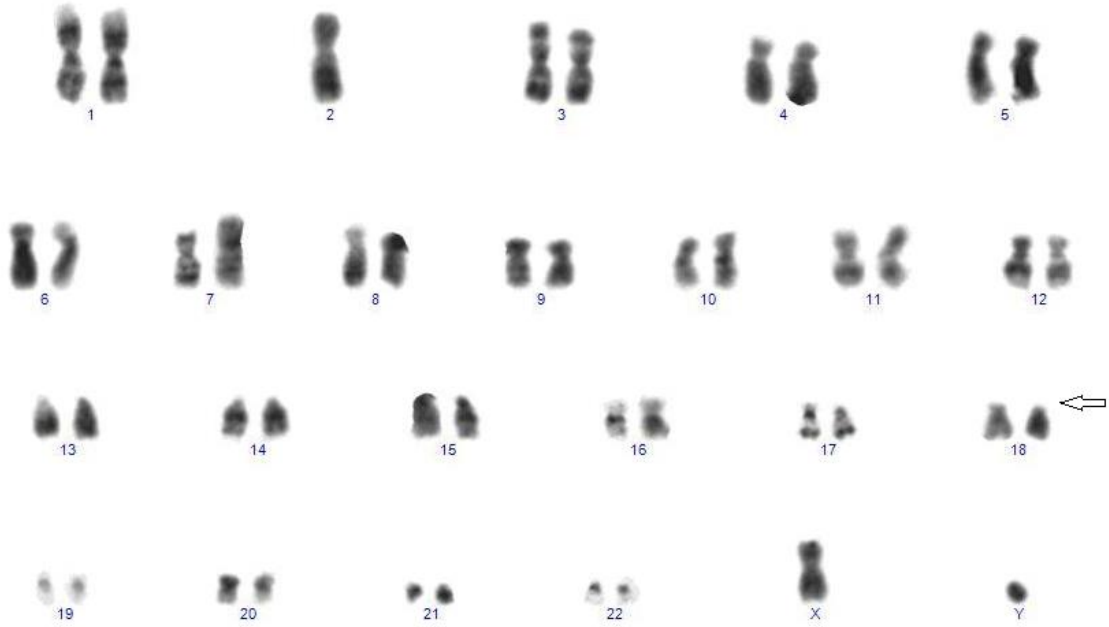
dic(3;6)(p26;p25),del(3)(q21),dic(7;8)(q36;p23),add(8)(p21),dic(9;19)(q34;p13),add(10)(q26),-13,-14,ace1,dmin



Şekil 4-4: K1 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüleri

A: 45,XY,-16,-17,+mar

B: 23,X,+Y,-1,+2,+5,-6,-7,+13,-18

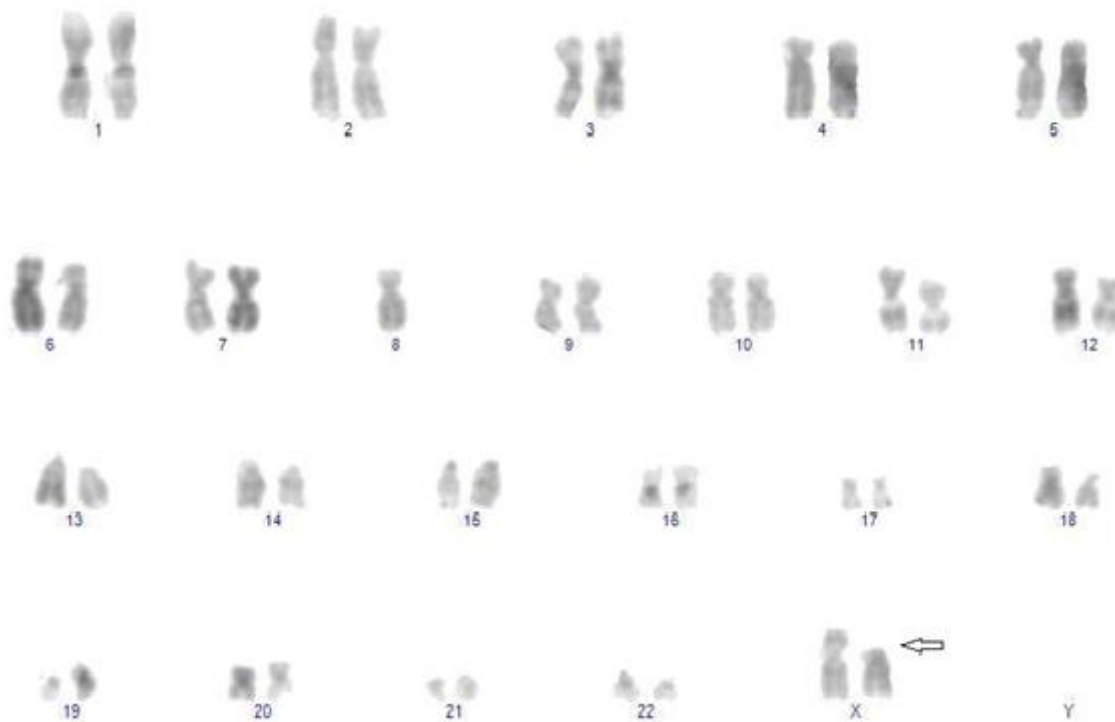


Şekil 4-5: A3 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü

45,XY,-2,del(18)(p11)

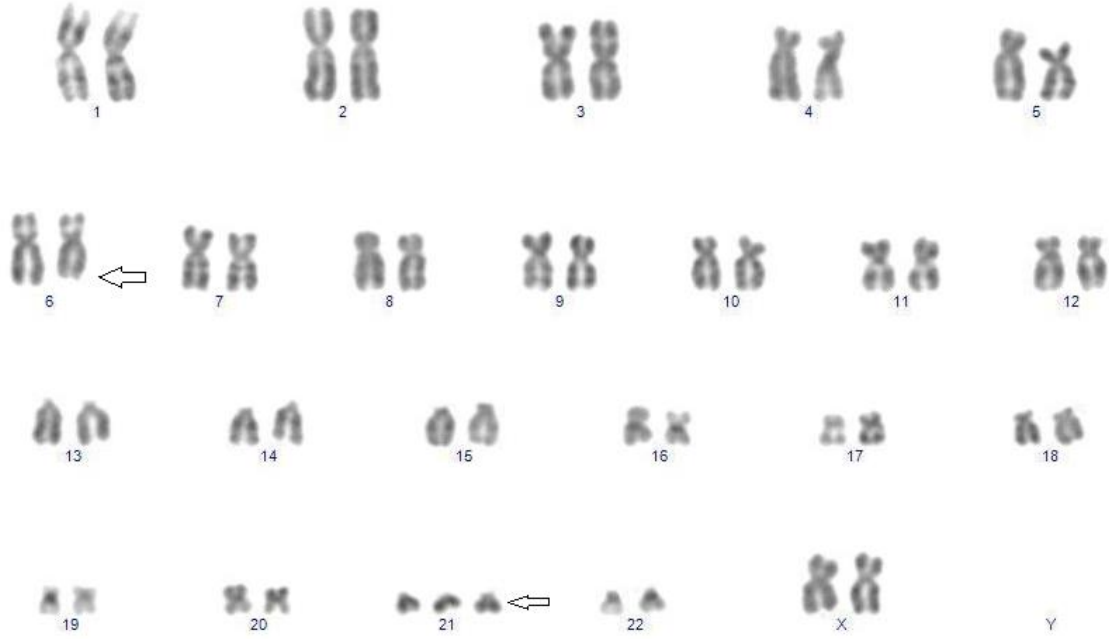


Şekil 4-6: A4 Olgusuna Ait Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü
46,XX,chs(16)(q22)



Şekil 4-7: A10 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüleri

45,XX,del(X)(p11),-8



Şekil 4-8: A11 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü

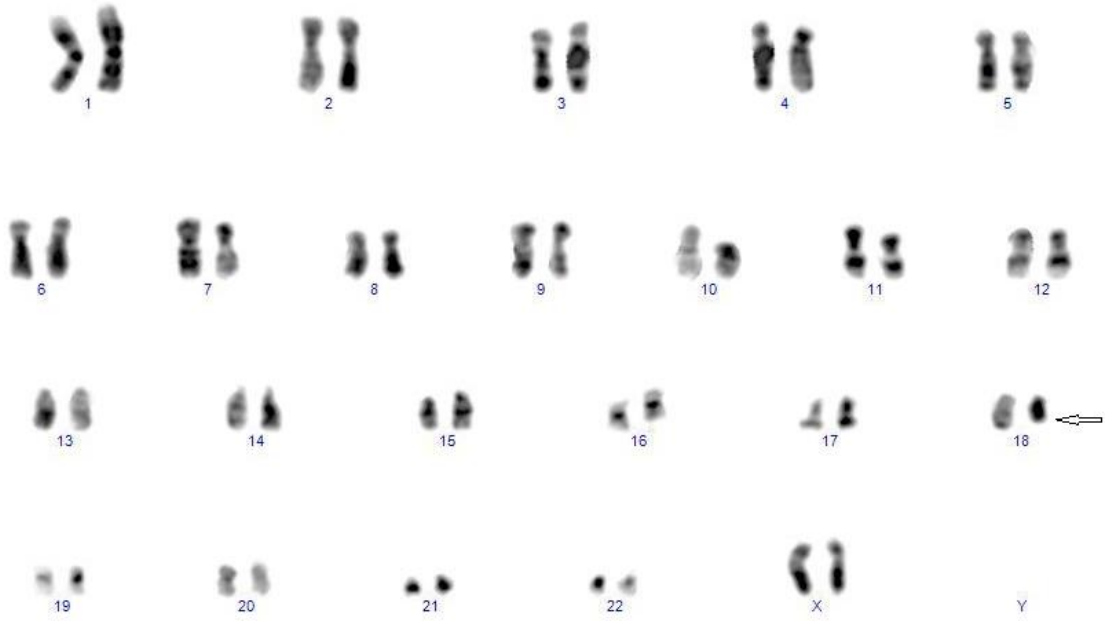
47,XX,del(6)(q15q21),+21



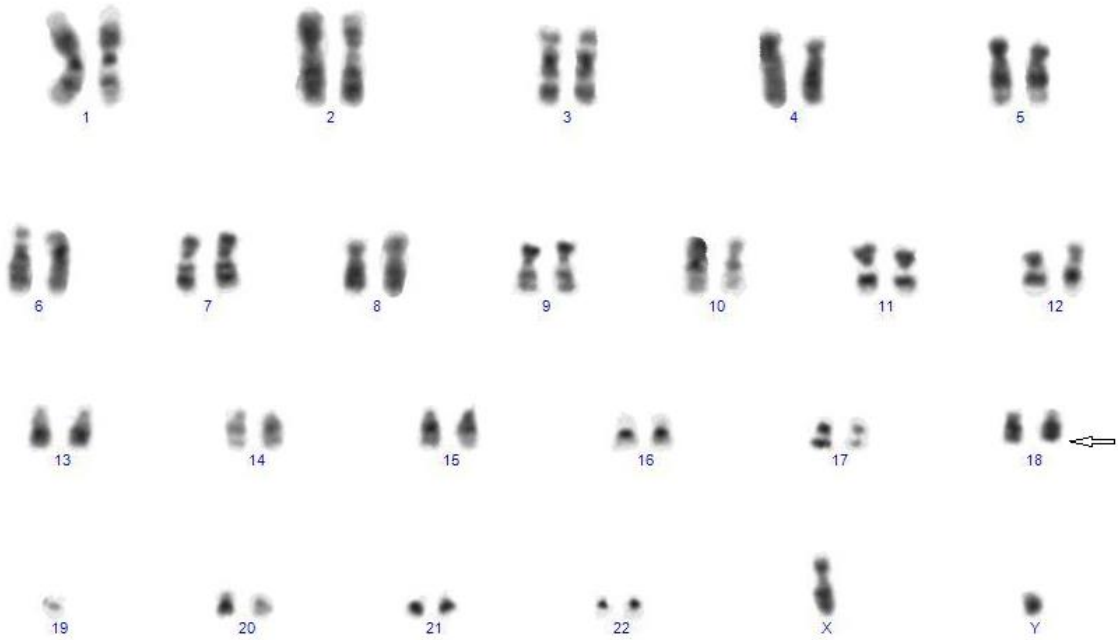
Şekil 4-9: A12 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüleri

A: 46,XY,add(7)(p22),del(13)(q22),del(14)(q24)

B: 44,XY,inv(10)(q23q24),-19,-21

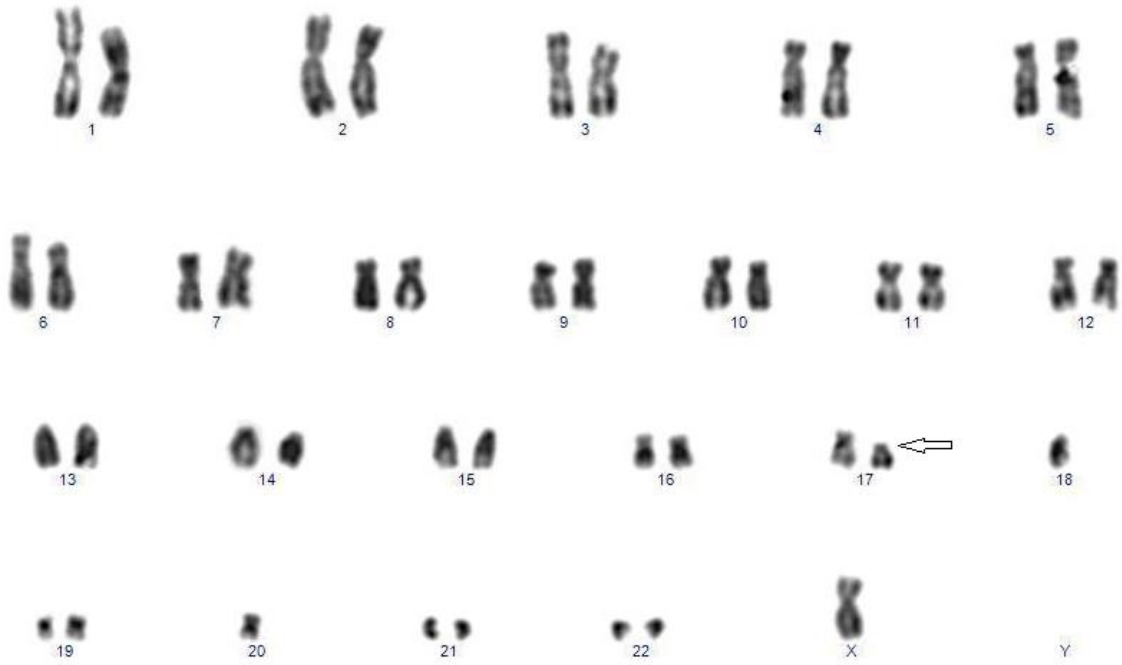


Şekil 4-10: K5 Olgusuna Ait Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü
46,XX,der(18)del(18)(p11)del(18)(q12q22)



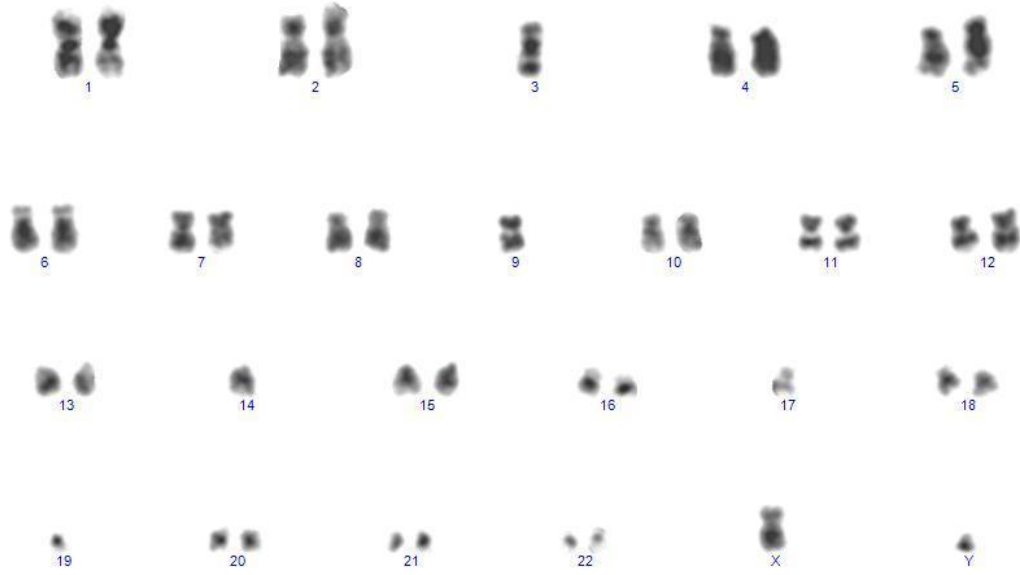
Şekil 4-11: K9 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü

45,XY,del(18)(p11),-19

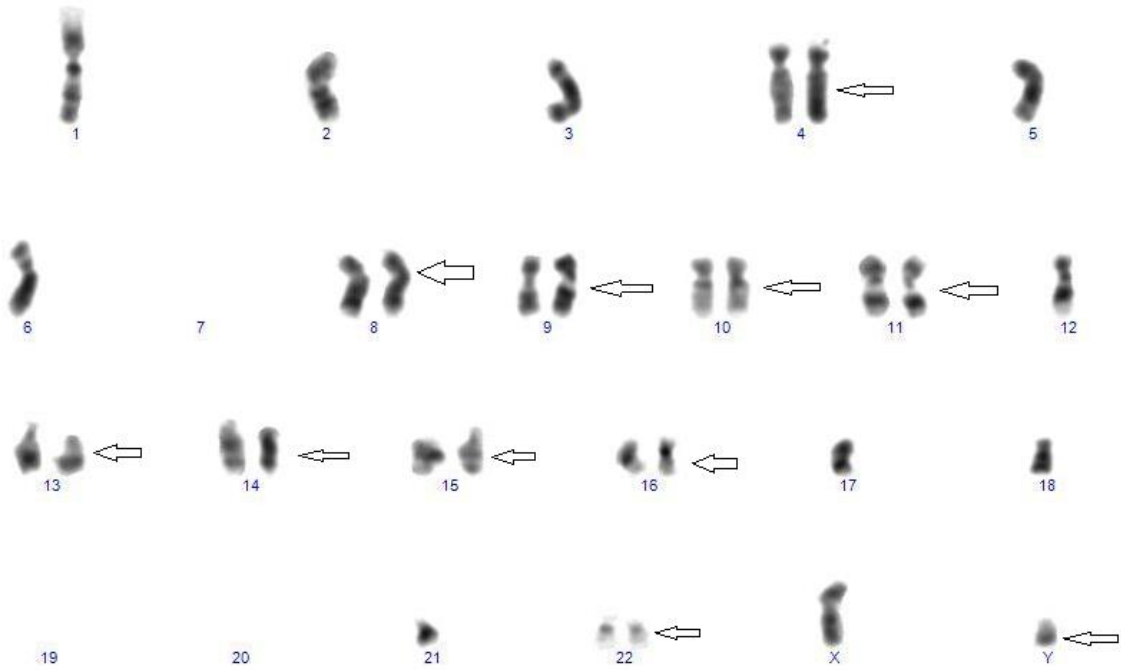


Şekil 4-12: A16 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü

43,X,-X,del(17)(p12),-18,-20

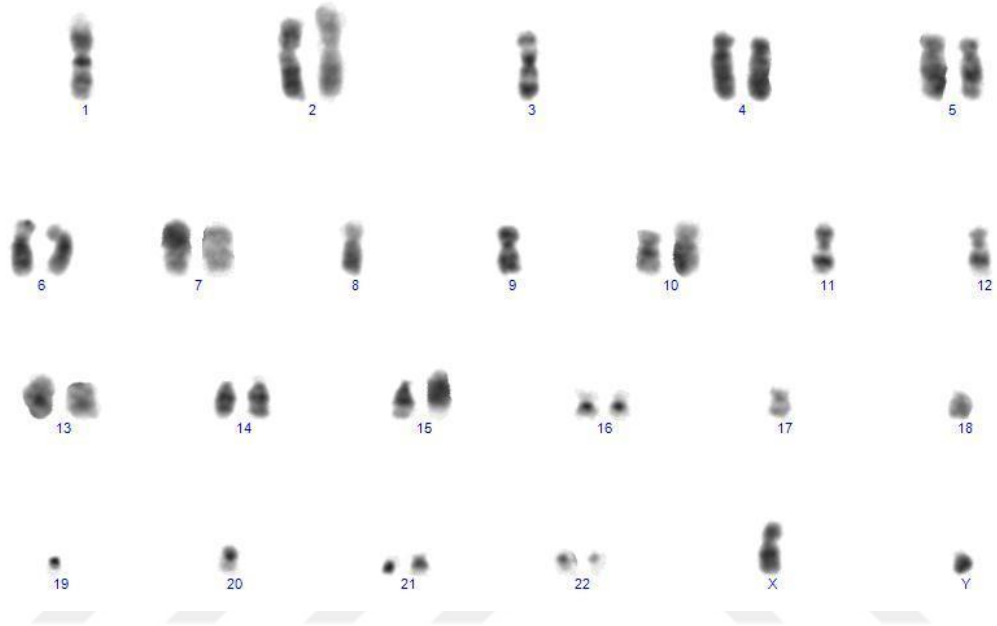


Şekil 4-13: K14 Olgusuna Ait Sayısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü
41,XY,-3,-9,-14,-17,-19



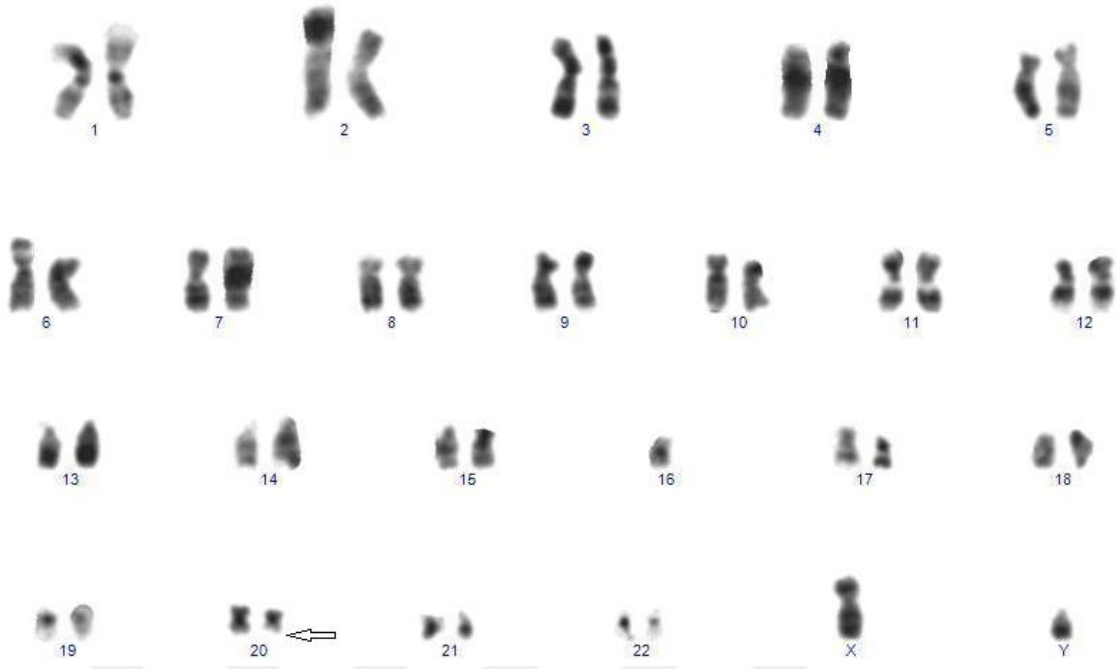
Şekil 4-14: K15 Olgusuna Ait Sayısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü

31,X,+Y,+4,-7,+8,+9,+10,+11,+13,+14,+15,+16,-19,-20,+22



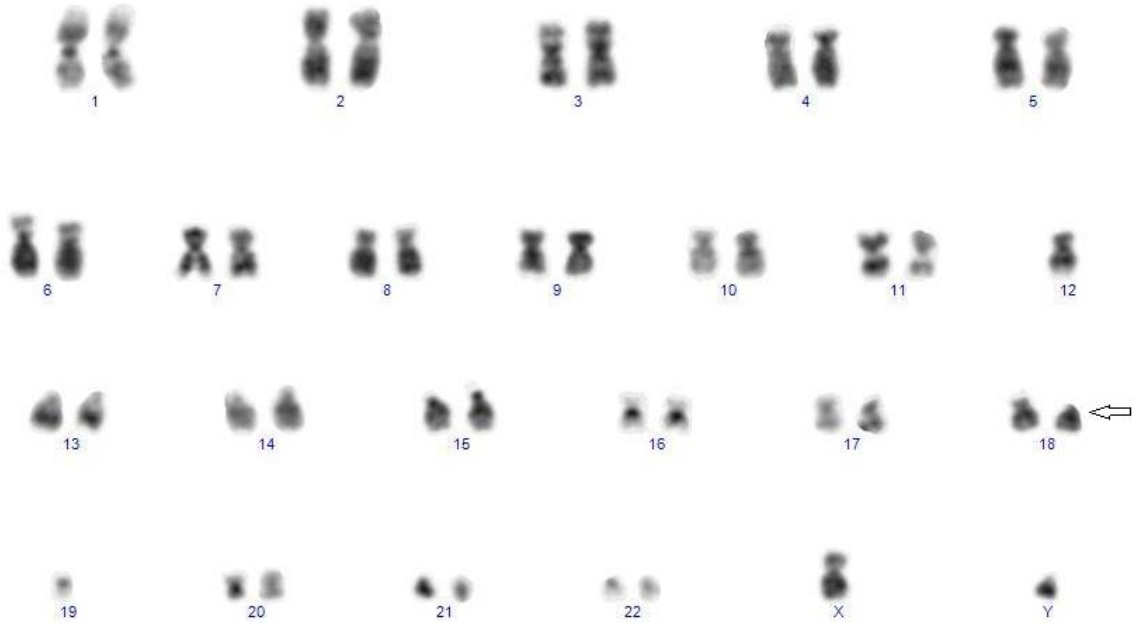
Şekil 4-15: A19 Olgusuna Ait Sayısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü

36,XY,-1,-3,-8,-9,-11,-12,-17,-18,-19,-20



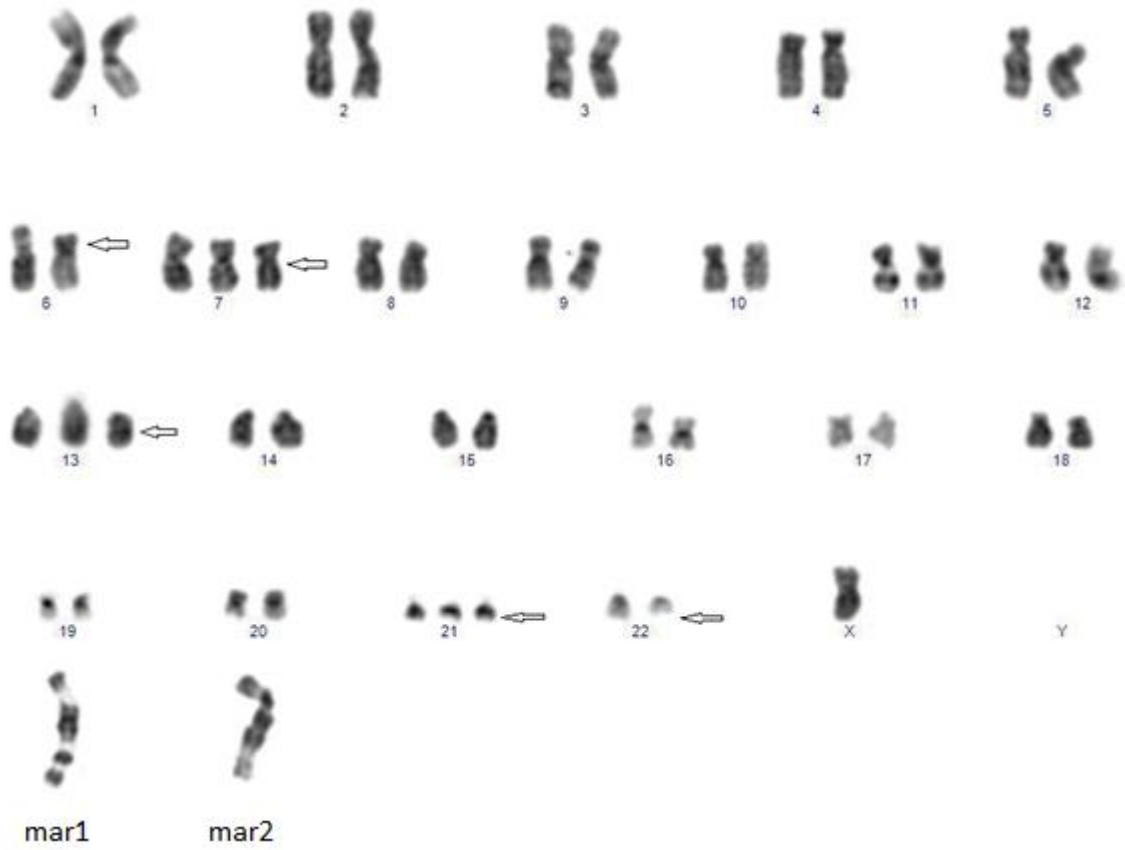
Şekil 4-16: K17 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü

45,XY,-16,del(20)(q13)



Şekil 4-17: A24 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü

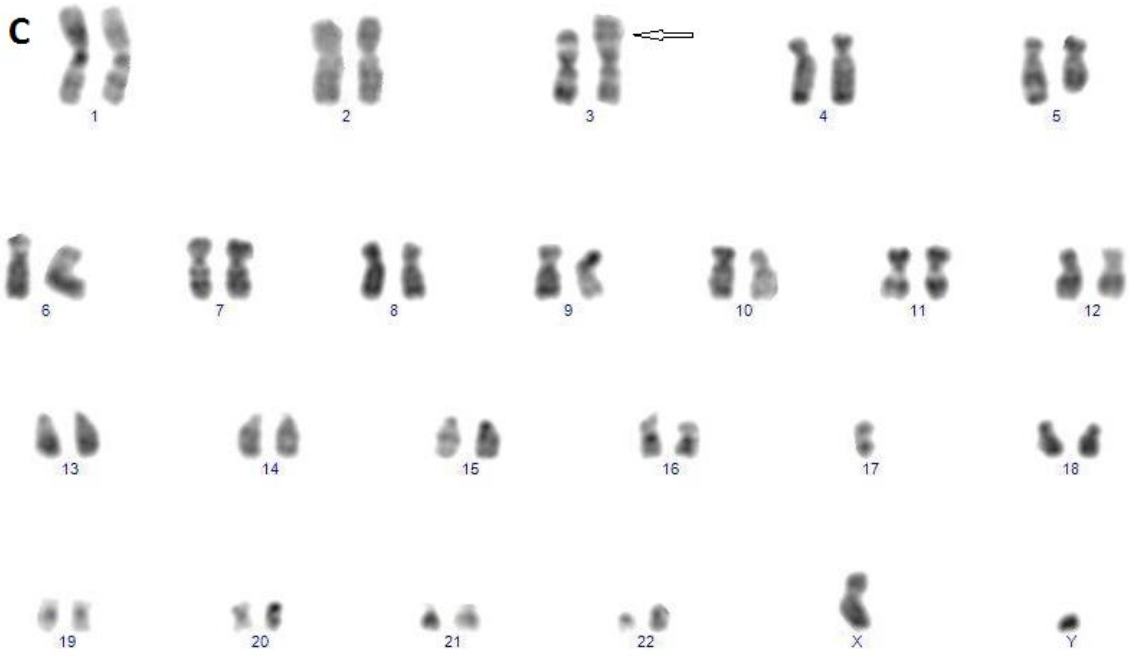
44,XY,-12,del(18)(p11),-19



Şekil 4-18: K22 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüsü

50,X,-X,del(6)(p12p21),+7,+13,+21,del(22)(q12),+mar1,+mar2



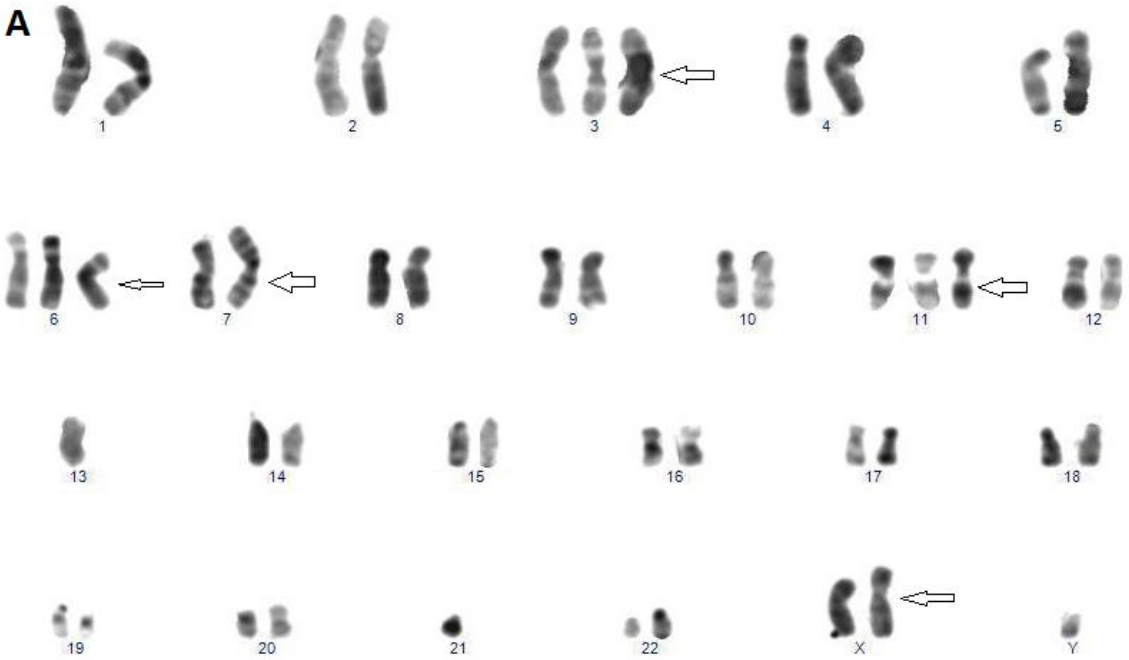


Şekil 4-19: K23 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüleri

A: 46,XY,+Y,der(7;11)t(7;11)(p11;q11),-13

B: 45,XY,del(1)(q32),inv(9)(p12q13),-16

C: 45,XY,t(3;5)(p25;q31),-17





Şekil 4-20: A30 Olgusuna Ait Sayısal ve Yapısal Anomali İçeren Karyogram Görüntüleri

A: 48,XY,+X,+3,+6,i(7)(q10),+11,-13,-21

B: 43,XY,+3,add(5)(p15),i(7)(p10),i(7)(q10),-8,-11,-12,-21

C: 47,XY,+3,i(7)(p10),i(7)(q10),-13,+22

4.3.1. Adenokarsinom ve KHAK Olgularının Konvansiyonel Sitogenetik Bulgularının İstatistiksel Analizi

Adenokarsinom ve KHAK gruplarında en sık gözlenen sitogenetik bulgular olan monozomiler ve ploidi değişiklikleri istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

4.3.1.1. Adenokarsinom ve KHAK Olgularının Monozomi Sonuçlarının İstatistiksel Analizi

Adenokarsinom, KHAK ve kontrol grubunda gözlenen monozomiler ve gözlenme oranlarının karşılaştırılması Tablo 4-12 ve Tablo 4-13'te yer almaktadır.

Tablo 4-12: Adenokarsinom, KHAK ve Kontrol Grubunda Monozomi Karşılaştırmaları

	ADENO KARSİNOM		KHAK		KONTROL		Test İstatistiği	p*
	n	%	n	%	n	%		
Monozomi 1							$\chi^2 = 10,831$	0,004
Var	8	32	8	44,4	0	0		
Yok	17	68	10	55,6	20	100		
Monozomi 2								
Var	8	32	8	44,4	0	0	$\chi^2 = 10,831$	0,004

Yok	17	68	10	55,6	20	100		
Monozomi 3								
Var	16	64	8	44,4	0	0	$\chi^2 = 19,729$	0,000
Yok	9	36	10	55,6	20	100		
Monozomi 4								
Var	11	44	7	38,9	1	5	$\chi^2 = 8,935$	0,011
Yok	14	56	11	61,1	19	95		
Monozomi 5								
Var	14	56	9	50	0	0	$\chi^2 = 17,011$	0,000
Yok	11	44	9	50	20	100		
Monozomi 6								
Var	14	56	10	55,6	0	0	$\chi^2 = 18,033$	0,000
Yok	11	44	8	44,4	20	100		
Monozomi 7								
Var	15	60	10	55,6	0	0	$\chi^2 = 19,364$	0,000
Yok	10	40	8	44,4	20	100		
Monozomi 8								
Var	16	64	11	61,1	0	0	$\chi^2 = 22,012$	0,000
Yok	9	36	7	38,9	20	100		
Monozomi 9								
Var	11	44	10	55,6	1	5	$\chi^2 = 12,158$	0,002
Yok	14	56	8	44,4	19	95		

Monozomi 10								
Var	16	64	12	66,7	1	5	$\chi^2 = 19,888$	0,000
Yok	9	36	6	33,3	19	95		
Monozomi 11								
Var	12	48	11	61,1	1	5	$\chi^2 = 14,372$	0,001
Yok	13	52	7	38,9	19	95		

*Ki Kare Test/Fisher's Exact Test

Tablo 4-13: Adenokarsinom, KHAK ve Kontrol Grubunda Monozomi Karşılaştırmaları Devam

	ADENO KARSİNOM		KHAK		KONTROL		Test İstatistiği	p*
	n	%	n	%	n	%		
Monozomi 12								
Var	12	48	14	50	0	0	$\chi^2 = 15,262$	0,000

Yok	13	52	14	50	20	100		
Monozomi 13								
Var	13	52	10	55,6	0	0	χ^2 =16,906	0,000
Yok	12	48	8	44,4	20	100		
Monozomi 14								
Var	16	64	10	55,6	1	5	χ^2 =17,453	0,000
Yok	9	36	8	44,4	19	95		
Monozomi 15								
Var	14	56	9	50	1	5	χ^2 =13,769	0,001
Yok	11	44	9	50	19	95		
Monozomi 16								
Var	12	48	10	55,6	0	0	χ^2 = 15,986	0,000
Yok	13	52	8	44,4	20	100		
Monozomi 17								
Var	16	64	13	72,2	1	5	χ^2 = 21,622	0,000

Yok	9	36	5	27,8	19	95		
Monozomi 18								
Var	17	68	10	55,6	1	5	$\chi^2 = 19,121$	0,000
Yok	8	32	8	44,4	19	95		
Monozomi 19								
Var	19	76	15	83,3	1	5	$\chi^2 = 30,560$	0,000
Yok	6	24	3	16,7	19	95		
Monozomi 20								
Var	18	72	14	77,8	0	0	$\chi^2 = 30,387$	0,000
Yok	7	28	4	22,2	20	100		
Monozomi 21								
Var	19	76	12	66,7	1	5	$\chi^2 = 24,950$	0,000
Yok	6	24	6	33,3	19	95		
Monozomi 22							$\chi^2 = 31,541$	0,000
Var	18	72	16	88,9	1	5		
Yok	7	28	2	11,2	19	95		
Monozomi X								
Var	10	40	7	38,9	3	15	$\chi^2 = 3,150$	0,150
Yok	15	60	11	61,1	17	85		
Monozomi Y								
Var	9	36	6	33,3	0	0	$\chi^2 = 10,931$	0,003

Yok	16	64	12	66,7	20	100		
------------	----	----	----	------	----	-----	--	--

*Ki Kare Test/Fisher's Exact Test

Adenokarsinom ve KHAK olgularının tamamında tüm kromozomların monozomisi gözlenmiş, ancak bu iki olgu grubu arasında gözlenme oranları arasında fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Her iki grupta gözlenen monozomi oranları kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Ki Kare Test/Fisher's Exact testi ile yapılan istatistik analizinde X kromozomu dışında diğer tüm kromozomlar için $p<0,05$ bulunmuştur. X kromozomu için adenokarsinom, KHAK ve kontrol grubunda monozomi görülme oranları arasında fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

4.3.1.2. Adenokarsinom ve KHAK Olgularının Ploidi Seviyelerinin İstatiksel Analizi

Adenokarsinom ve KHAK olgularında nearhaploidi, hiperhaploidi ve neardiploidi gibi ploidi seviyeleri gözlenilmiş ve istatiksel olarak incelenmiştir (Tablo 4-14).

Tablo 4-14: Adenokarsinom, KHAK ve Kontrol Grubunda Ploidi Seviyesinin Karşılaştırmaları

	ADENOKARSİNOM		KHAK		KONTROL		Test İstatistiği	p*
	n	%	n	%	n	%		
Nearhaploidi								
Var	8	32	5	27,8	0	0	$\chi^2 = 7,733$	0,021
Yok	17	68	13	72,2	20	100		
Hiperhaploidi								
Var	8	32	8	44,4	1	5	$\chi^2 = 8,010$	0,018
Yok	17	68	10	55,6	19	95		
Neardiploidi								
Var	25	100	18	100	9	45	$\chi^2 = 24,466$	0,000
Yok	0	0	0	0	11	55		

*Ki Kare Test/Fisher's Exact Test

Adenokarsinom, KHAK ve kontrol grubunda nearhaploidi ve hiperhaploidi görülme oranları arasında fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Adenokarsinom ve KHAK hastaları arasında nearhaploidi ve hiperhaploidi görülme oranları arasında fark bulunamamıştır ($p > 0,05$). İki hasta grubunda nearhaploidi ve hiperhaploidi görülme oranları ise kontrol grubundan anlamlı düzeyde fazladır.

Adenokarsinom ve KHAK hastalarının hepsinde neardiploidi bulunmuştur. Adenokarsinom ve KHAK grubundaki hastaların neardiploidi görülme oranları kontrol grubundan anlamlı düzeyde fazladır ($p < 0,001$).

4.4. Adenokarsinom ve KHAK Olgularının FISH Bulguları

Çalışmamıza dahil olan 30 adenokarsinom ve 24 KHAK olgusunun ve 20 kontrol grubunun hepsinin perifer kanı materyallerine FISH yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemle elde edilen sonuçlar; monoallelilik ve biallelik delesyon, monozomi ve yeniden düzenlenmeler olarak değerlendirilmiş ve Tablo 4-15, Tablo 4-16 ve Tablo 4-17’de özetlenmiştir

Adenokarsinom ve KHAK olgularına ait çeşitli anomalileri içeren FISH örneklerine ait resimler aşağıda gösterilmiştir (Şekil 4-21’den Şekil 4-29’a kadar).

Tablo 4-15: Adenokarsinom Olgularında FISH Bulguları

Adenokarsinom No	Toplam Hücre Sayısı	Normal Hücre Sayısı	Monoallelilik Delesyon	Biallelik Delesyon	Monozomi	Yeniden Düzenlenmeler
A1	217	198	4	0	1	12
A2	206	196	3	0	2	5
A3	209	200	2	0	2	3
A4	103	80	13	6	4	0
A5	116	79	9	20	8	0
A6	149	108	16	12	13	0
A7	100	70	11	8	6	5
A8	207	195	5	0	0	7
A9	301	285	16	0	0	0
A10	201	190	6	0	1	4
A11	108	89	9	3	6	1
A12	101	65	14	13	9	0
A13	115	71	14	18	11	1
A14	100	95	5	0	0	0
A15	264	258	3	0	3	0
A16	305	280	6	0	4	14
A17	300	281	7	0	5	7
A18	300	290	1	0	6	3
A19	202	188	6	0	5	3
A20	215	207	2	0	3	3
A21	209	155	28	24	2	0
A22	203	179	16	0	3	4
A23	207	197	5	2	0	3
A24	216	205	1	0	5	5
A25	301	285	3	0	5	8
A26	201	180	6	0	6	9

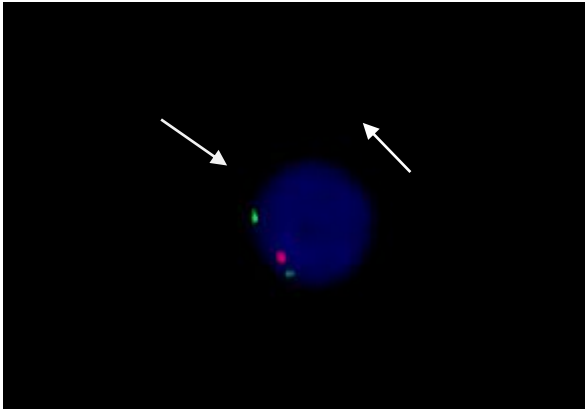
A27	264	245	7	0	4	8
A28	300	290	6	0	1	3
A29	219	200	4	0	5	10
A30	302	283	5	0	4	6

Tablo 4-16: KHAK Olgularında FISH Bulguları

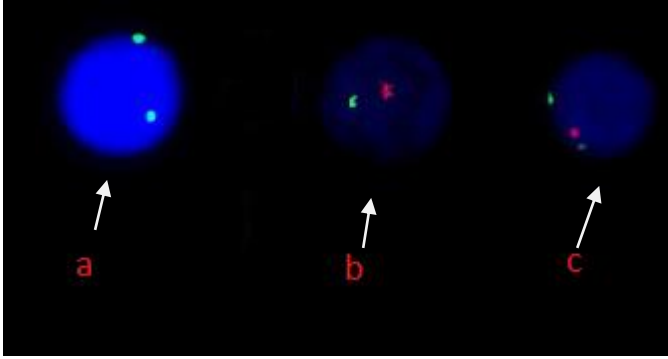
KHAK No	Toplam Hücre Sayısı	Normal Hücre Sayısı	Monoallelik Delesyon	Biallelik Delesyon	Monozomi	Yeniden Düzenlemeler
K1	203	195	2	0	1	5
K2	301	291	4	0	3	3
K3	116	100	9	0	6	1
K4	207	190	9	3	4	1
K5	200	189	9	0	0	1
K6	213	189	14	0	9	1
K7	203	190	4	3	4	2
K8	147	113	12	16	6	0
K9	147	125	6	6	6	3
K10	207	173	23	7	4	0
K11	201	180	11	0	5	5
K12	306	286	7	0	3	9
K13	299	280	11	0	4	4
K14	251	240	5	0	2	4
K15	315	290	5	0	8	12
K16	313	305	1	0	2	5
K17	210	195	2	0	5	8
K18	205	199	3	0	2	1
K19	257	235	1	0	7	14
K20	327	315	0	0	6	6
K21	301	281	6	0	4	9
K22	302	289	0	0	3	7
K23	310	298	3	0	5	4
K24	302	295	1	0	0	6

Tablo 4-17: Kontrol Grubunda FISH Bulguları

Kontrol No	Toplam Hücre Sayısı	Normal Hücre Sayısı	Monoallelik Delesyon	Biallelik Delesyon	Monozomi	Yeniden Düzenlenmeler
1	201	190	3	0	1	7
2	208	200	3	0	3	2
3	204	200	0	0	4	0
4	207	200	5	0	0	2
5	216	210	0	0	3	3
6	215	215	0	0	0	0
7	205	200	0	0	4	1
8	210	203	4	0	1	2
9	207	200	3	0	0	2
10	201	200	0	0	1	0
11	203	200	0	0	3	0
12	215	215	0	0	0	0
13	211	210	1	0	0	0
14	220	215	0	0	1	4
15	218	215	2	0	0	1
16	207	201	0	0	0	6
17	203	200	2	0	1	0
18	203	200	1	0	2	0
19	202	200	2	0	0	0
20	205	205	0	0	0	0

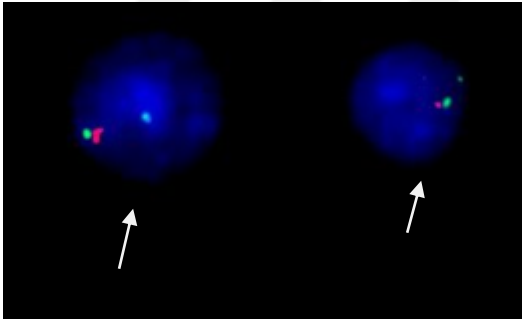
**Şekil 4-21: A4 Olgusuna Ait Monoallelik (2Y1K) Delesyonu İçeren FISH Görüntüsü**

Yeşil: 3.kromozomun sentromer bölgesi, kırmızı: 3.kromozomun *FHIT* gen bölgesi



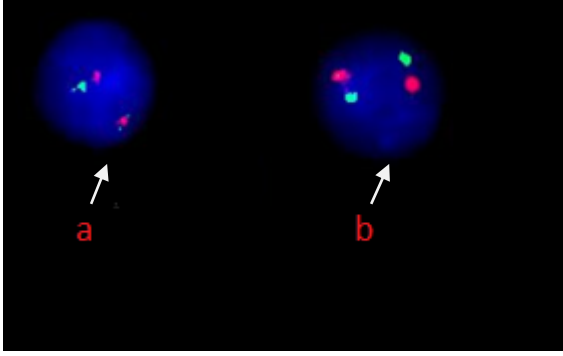
Şekil 4-22: A6 Olgusuna Ait Biallelik (2Y) Delesyonu (a), Monozomi (1Y1K) (b) ve Monoallelik (2Y1K) Delesyon (c) İçeren FISH Görüntüsü

Yeşil: 3.kromozomun sentromer bölgesi, kırmızı: 3.kromozomun *FHIT* gen bölgesi



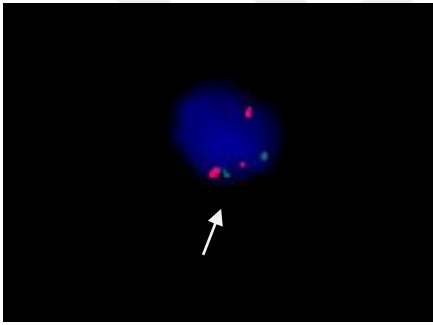
Şekil 4-23: A9 Olgusuna Ait Monoallelik (2Y1K) Delesyonu İçeren FISH Görüntüsü

Yeşil: 3.kromozomun sentromer bölgesi, kırmızı: 3.kromozomun *FHIT* gen bölgesi



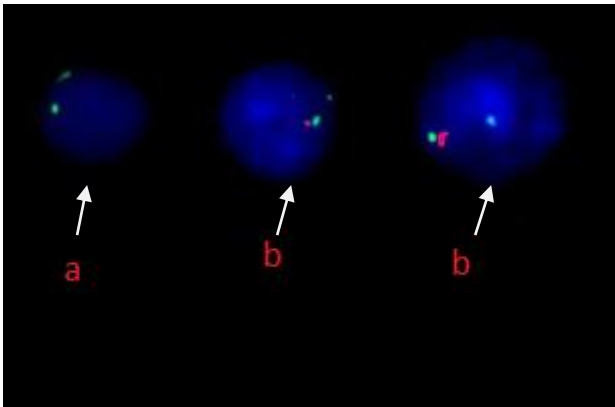
Şekil 4-24: A16 Olgusuna Ait Yeniden Düzenlenmeyi (2K1Y) ve Normal (2K2Y) Hücreyi İçeren FISH Görüntüsü

Yeşil: 3.kromozomun sentromer bölgesi, kırmızı: 3.kromozomun *FHIT* gen bölgesi



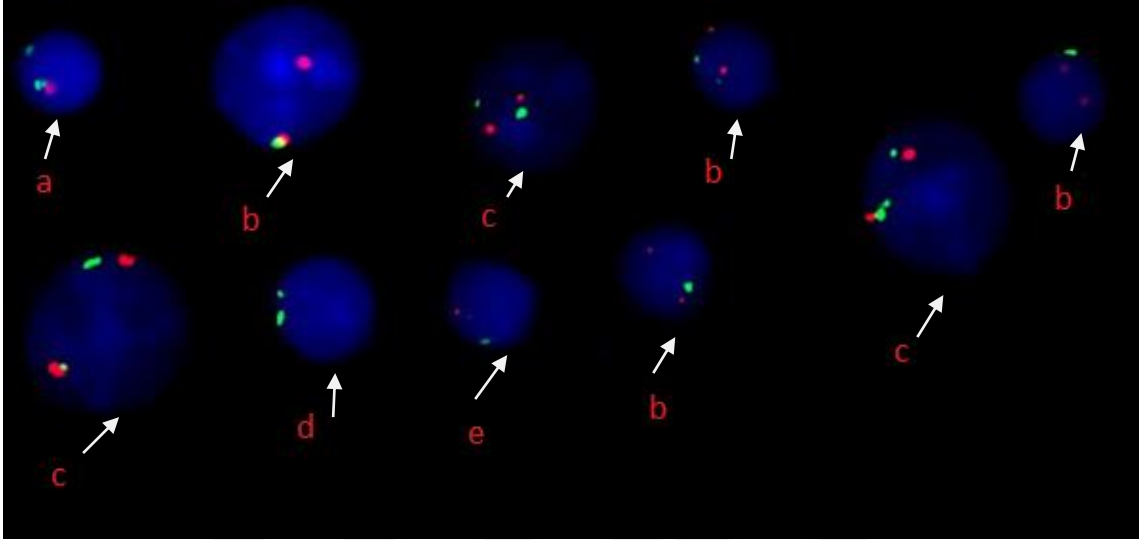
Şekil 4-25: A29 Olgusuna Ait Yeniden Düzenlenmeyi (3K2Y) İçeren FISH Görüntüsü

Yeşil: 3.kromozomun sentromer bölgesi, kırmızı: 3.kromozomun *FHIT* gen bölgesi



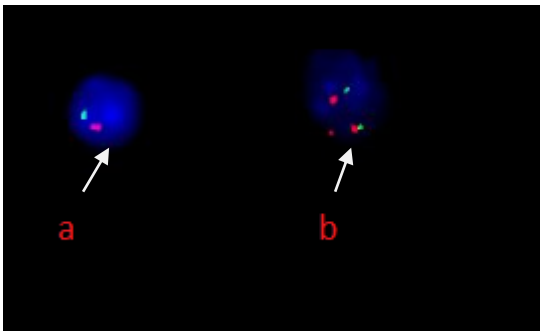
Şekil 4-26: K8 Olgusuna Ait Biallelik (2Y) Delesyonu (a) ve Monoallelik (2Y1K) Delesyonu (b) İçeren FISH Görüntüsü

Yeşil: 3.kromozomun sentromer bölgesi, kırmızı: 3.kromozomun *FHIT* gen bölgesi



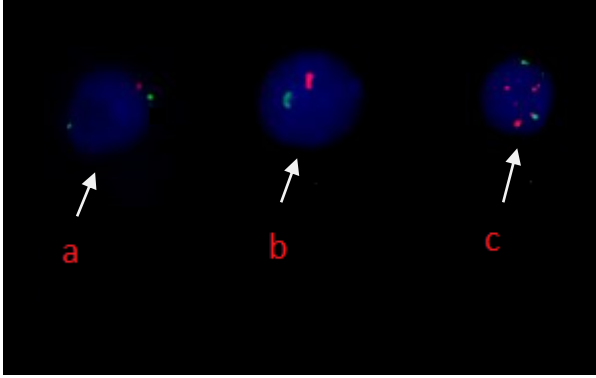
Şekil 4-27: K9 Olgusuna Ait Monoallelik (2Y1K) Delesyonu (a), Yeniden Düzenlenmeleri (2K1Y) (b), Normal Hücreyi (2K2Y) (c), Biallelik (2Y) Delesyonu (d) ve Monozomi (1K1Y) (d) İçeren FISH Görüntüsü

Yeşil: 3.kromozomun sentromer bölgesi, kırmızı: 3.kromozomun *FHIT* gen bölgesi



Şekil 4-28: K19 Olgusuna Ait Monozomi (1K1Y) (a) ve Yeniden Düzenlenmeleri (3K2Y) (b) İçeren FISH Görüntüsü

Yeşil: 3.kromozomun sentromer bölgesi, kırmızı: 3.kromozomun *FHIT* gen bölgesi



Şekil 4-29: K21 Olgusuna Ait Monoallelik Delesyonu (2Y1K) (a), Monozomi (1K1Y) (b) ve Yeniden Düzenlenmeyi (3K2Y) (c) İçeren FISH Görüntüsü

Yeşil: 3.kromozomun sentromer bölgesi, kırmızı: 3.kromozomun *FHIT* gen bölgesi

4.4.1. Adenokarsinom ve KHAK Olgularının FISH Bulgularının İstatistiksel Analizi

FISH yöntemiyle elde edilen bulgular Kruskal Wallis Varyans analizi ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4-18).

Tablo 4-18: Adenokarsinom ve KHAK Olgularında ve Kontrol Grubu Bireylerinde Hücre Sayılarının Karşılaştırılması ve Tanımlayıcı İstatistikleri

	Ort.±SS Ortanca (Min-Max)			Test İstatistiği	p*
	ADENOKARSİNOM (n=30)	KHAK (n=24)	KONTROL (n=20)		
Toplam Hücre Sayısı	208,03± 70,49 208 (100-305)	243,46± 6,58 232 (116-327)	208,05±5,92 207 (201-220)	3,816	0,148
Normal Hücre	188,13±76,00 196,5 (65-290)	226,79±65,26 217 (100-315)	203,95±6,97 200 (190-215)	3,808	0,149

Monoallelilik	7,77±5,97 6 (1-28)	6,17±5,41 5 (0-23)	1,30±1,59 0.5 (0-5)	28,819	0,000
Biallelik	3,53±6,83 0 (0-24)	1,46±3,36 0 (0-16)	0 (0-0)	7,202	0,027
Monozomi	4,13±3,20 4 (0-13)	4,13±2,33 4 (0-9)	1,20±1,44 1 (0-4)	18,658	0,000
Yeniden Düzenlenmeler	4,13±3,87 3 (0-14)	4,63±3,75 4 (0-14)	1,50±2,09 0,5 (0-7)	11,046	0,004

Ort-Ortalama, SS-Standart Sapma, Min-Minimum, Maks-Maksimum

*Kruskal Wallis Varyans Analizi

Adenokarsinom ve KHAK olgularında ve kontrol grubu bireyleri arasında incelenen toplam hücre sayıları bakımından fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Adenokarsinom ve KHAK olgularında ve kontrol grubu bireyleri arasında incelenen normal hücre sayıları bakımından fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Adenokarsinom ve KHAK grubu ile kontrol grubu arasında monoallelilik hücre sayıları farklı bulunmuştur (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,001$). Hem adenokarsinom hem de KHAK olgularında monoallelilik hücre sayıları kontrol grubundaki bireylere göre anlamlı düzeyde fazla bulunmuştur. Adenokarsinom ve KHAK hastaları arasında ise fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Adenokarsinom grubu ile kontrol grubu arasında biallellik hücre sayıları farklı bulunmuştur ($p<0,05$). Adenokarsinom olgularında biallellik hücre sayıları kontrol grubundaki bireylere göre anlamlı düzeyde fazla bulunmuştur (kontrol grubundaki bireylerin hepsinin biallellik hücre sayıları “0” dır.). Adenokarsinom ve KHAK hastaları arasında ise biallellik hücre sayıları bakımından fark bulunamamıştır ($p>0,05$). KHAK hastaları ile kontrol grubu arasında ise biallellik hücre sayıları bakımından istatistiksel olarak fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Adenokarsinom ve KHAK grubu ile kontrol grubu arasında monozomi hücre sayıları farklı bulunmuştur (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,001$). Hem adenokarsinom hem de KHAK olgularında monozomi sayıları kontrol grubundaki bireylere göre anlamlı

düzeyde fazla bulunmuştur. Adenokarsinom ve KHAK hastaları arasında ise fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Adenokarsinom ve KHAK grubu ile kontrol grubu arasında yeniden düzenlenmelerde hücre sayıları farklı bulunmuştur (sırasıyla $p<0,05$, $p<0,01$). Hem adenokarsinom hem de KHAK olgularında yeniden düzenlenmelerde hücre sayıları kontrol grubundaki bireylere göre anlamlı düzeyde fazla bulunmuştur. Adenokarsinom ve KHAK hastaları arasında ise fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

4.4.2. Adenokarsinom ve KHAK Olgularının FISH Bulgularının Değişkenlerle (Sigara Kullanımı, Metastaz, Evre) İstatiksel Analizi

Mann Whitney U testi ile yapılan istatistik analizinde adenokarsinom ve KHAK hastalarında sigara içenlerle içmeyenlerin toplam, normal, monoallelilik ve biallelik delesyon, monozomi ve yeniden düzenlenmelerdeki hücre sayıları arasında fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Adenokarsinom ve KHAK hastalarında FISH bulgularının metastazla ilişkili istatiksel analizi Tablo 4-19 ve Tablo 4-20’de gösterilmiştir.

Çalışmamıza dahil olan 30 adenokarsinom ve 24 KHAK olgularındaki FISH bulguları bakımından istatiksel olarak farklı bulunmadığı için, evre düzeylerine göre hücre sayılarının karşılaştırılması ve tanımlayıcı istatistikleri analizi iki grup birleştirilerek değerlendirildi (Tablo 4-21).

Tablo 4-19: Adenokarsinom Hastalarında Metastaz Olanlarla Olmayanların Hücre Sayılarının Karşılaştırılması ve Tanımlayıcı İstatistikleri

ADENOKARSİNOM	Ort.±SS Ortanca (Min-Max)		Test İstatistiği	p*
	Metastaz yok (n=17)	Metastaz var (n=13)		

Toplam Hücre Sayısı	197,88±72,30 202 (100-301)	221,31±68,56 209 (100-305)	U=84,500	0,281
Normal Hücre	178,0±80,28 190 (70-290)	201,38±70,92 197 (65-290)	U=97,500	0,592
Monoallelik	7,12±4,41 6 (1-16)	8,62±7,66 5 (1-28)	U=107,000	0,902
Biallelik	3,94±6,67 0 (0-20)	3,0±7,26 0 (0-24)	U=98,000	0,621
Monozomi	5,18±3,19 5 (1-13)	2,77±2,77 2 (0-9)	U=58,500	0,028
Yeniden Düzenlenmeler	3,53±3,06 3 (0-9)	4,92±4,73 4 (0-14)	U=97,000	0,592

Ort-Ortalama, SS-Standart Sapma, Min-Minimum, Maks-Maksimum

*Mann Whitney U Test

Adenokarsinom hastalarında metastaz olanlarla olmayanların toplam, normal, monoallelik, biallelik ve yeniden düzenlenmelerdeki hücre sayıları arasında fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Metastaz olanlarla olmayanların monozomi hücre sayıları arasında ise fark bulunmuştur ($p<0,05$). Metastazı olan hastaların monozomi hücre sayıları metastazı olmayanlara göre anlamlı düzeyde **DÜŞÜKTÜR**.

Tablo 4-20: KHAK Hastalarında Metastaz Olanlarla Olmayanların Hücre Sayılarının Karşılaştırılması ve Tanımlayıcı İstatistikleri

KHAK	Ort.±SS Ortanca (Min-Max)	Test İstatistiği	p*
-------------	--------------------------------------	-----------------------------	-----------

	Metastaz yok (n=16)	Metastaz var (n=8)		
Toplam Hücre Sayısı	251,44±61,13 254 (116-327)	227,50±66,51 208.5 (147-306)	U=47,500	0,320
Normal Hücre	236,12±63,56 237 (100-315)	208,13±68,84 195 (113-286)	U=46,500	0,291
Monoallelilik	5,81±6,17 4 (0-23)	6,88±3,72 6,5 (2-12)	U=45,500	0,264
Biallelik	0,63±1,86 0- (0-7)	3,13±5,64 0 (0-16)	U=47,500	0,320
Monozomi	4,13±2,65 4 (0-9)	4,13±1,64 4 (1-6)	U=62,000	0,928
Yeniden Düzenlenmeler	4,50±3,97 4 (0-14)	4,88±3,52 4,5 (0-9)	U=58,000	0,742

Ort-Ortalama, SS-Standart Sapma, Min-Minimum, Maks-Maksimum

*Mann Whitney U Test

KHAK hastalarında metastaz olanlarla toplam, normal, monoallelilik, biallelik, monozomi ve yeniden düzenlenmelerdeki hücre sayıları arasında fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4-21: Adenokarsinom ve KHAK Hastalarında (grupları ayırmadan) Evre Düzeylerine göre Hücre Sayılarının Karşılaştırılması ve Tanımlayıcı İstatistikleri

	Ort.±SS Ortanca (Min-Max)	Test İstatistiği	p*
--	--------------------------------------	-----------------------------	-----------

	Evre (1) (n=4)	Evre (2) (n=11)	Evre (3) (n=18)	Evre (4) (n=21)	Ki-Kare	
Toplam Hücre Sayısı	254,25±53,71 257,5 (201-301)	183,73±81,53 149 (103-327)	241,61±59,96 214,5 (100-315)	223,67±61,16 209(100-306)	3,742	0,291
Normal Hücre	240,75±49,30 244 (190-285)	160,73±89,15 108 (71-315)	226,25±64,18 202.5(70-305)	203,95±68,47 196 (65-290)	5,396	0,145
Monoallelilik	4,50±2,38 4.5 (2-7)	7,91±5,20 9 (0-16)	6,06±5,77 4,5 (0-23)	7,95±6,39 6 (1-28)	2,796	0,424
Biallelik	± 0 (0-0)	5,36±7,72 0 (0-20)	1,00±2,47 0 (0-8)	3,05±6,54 0 (0-24)	4,786	0,188
Monozomi	3,50±1,91 4 (1-5)	6,64±3,04 6 (3-13)	3,72±2,54 3,5 (0-9)	3,29±2,45 4 (0-9)	9,595	0,022
Yeniden Düzenlenmeler	5,50±2,38 5,5 (3-8)	3,09±4,50 1 (0-14)	4,22±3,02 4 (0-12)	4,90±4,22 4 (0-14)	3,423	0,331

Ort-Ortalama, SS-Standart Sapma, Min-Minimum, Maks-Maksimum

*Kruskal Wallis Varyans Analizi

Adenokarsinom ve KHAK grubundaki tüm hastalarda evre düzeylerine göre toplam, normal, monoallelilik, biallelik ve yeniden düzenlenmelerdeki hücre sayıları arasında fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Adenokarsinom ve KHAK grubundaki tüm hastalarda evre düzeyleri ile monozomi hücre sayıları arasında fark bulunmuştur ($p<0,05$). Çoklu karşılaştırma sonucunda;

1. Evre 1 – Evre 2: $p=0,520$; $p>0,05$ fark yok
2. Evre 1 – Evre 3: $p=1,000$; $p>0,05$ fark yok
3. Evre 1 – Evre 4: $p=1,000$; $p>0,05$ fark yok
4. Evre 2 – Evre 3: $p=0,073$; $p>0,05$ fark yok

5. Evre 2 – Evre 4: $p=0,018$; $p<0,05$ FARK VAR
6. Evre 3 – Evre 4: $p=1,000$; $p>0,05$ fark yok.

Adenokarsinom ve KHAK grubundaki tüm hastalarda 2. evrede olanlarla 4. evrede olanlar arasında monozomi sayıları farklı bulunmuştur ($p<0,05$).2.evrede olan hastaların monozomi sayıları 4.evredeki hastalara göre anlamlı düzeyde yüksektir.Diğer evreler arasında fark bulunamamıştır.



5. TARTIŞMA

Akciğer kanserinin oluşumu protoonkogenlerin aktivasyonuna, TBG'lerin inaktivasyonuna dayanmaktadır. Diğer malinite örneklerinde olduğu gibi akciğer kanseri de gen metilasyonundaki değişiklikler, mutasyonlar, kromozomal delesyonlar veya farklı genetik değişikliklerin birikimi sonucu ortaya çıkmaktadır. Kromozomal delesyonların, TBG bölgeleri ile ilişkili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Örneğin, üzerinde akciğer kanseri için önemli olan birçok TBG lokusunu (*FHIT*, *ROBO/DUTT1*, *RASSF1alfa*, *FUS1*, *SEMA3B*) bulunduran kromozom 3p'nin delesyonu, KHAK'lerde en sık gözlenen kromozom anomalisi olarak bildirilmektedir [8, 81, 106, 107, 118]. Kromozom 17p, 5q21, 13q, 9p21 delesyonları da barındırdıkları önemli TBG'lerin inaktivasyonları sonucu kanser oluşumuna neden olmaktadır [15, 17, 105].

Hem KHAK'lerde, hem de adenokarsinomlarda tümör dokusunda 3p delesyonu çeşitli çalışmalarda sitogenetik ve moleküler genetik yöntemleri ile gösterilmiştir. Özellikle 3p14.2 lokusunda bulunan *FHIT* geninin kaybının KHAK ve adenokarsinom oluşumunda önemli olduğu düşünülmektedir [4, 7, 8, 10].

Akciğer kanseri şüphesi olan her hastaya tanıyı kesinleştirmek amacı ile bronkoskopi yapılması zorluk çıkartabilmektedir. Örneğin, yaşlı hastalarda ek olarak kalp sorunlarının olması veya tutulumun lokalizasyonu açısından bronkoskopi işlemi uygun olmayabilir. Literatürde, az sayıda da olsa, perifer kanında 3p anomalilerinin de dahil olduğu sitogenetik anomaliler bulunan KHAK olguları bildirilmektedir [4, 5, 13, 127]. Bu olguların sporadik vakalar mı olduğu, yoksa bu bulguların hastalar arasında tekrarlanan bulgular mı olduğunu anlayabilmek için bu çalışmayı yapmayı kararlaştırdık. Eğer bu bulguların istatistiksel olarak anlamlı derecede tekrarlandığı saptanabilirse, kolay elde edilip çalışılabilen ve tekrarlanabilen perifer kan örneklerinde sitogenetik ve moleküler sitogenetik incelemelerin, hastalığın tanı ve takibinde yardımcı bir yöntem olarak önerilebileceği düşünüldü.

Adenokarsinomlar KHDAK grubunun alt grubu olmasına rağmen, metabolik aktivitesinin diğer KHDAK'lerden yüksek olmasından dolayı, biz çalışmamızda adenokarsinom ve KHAK'ne aynı yöntemleri uygulayıp, bu iki grubun genetik değişikliklerinin benzer olup olmadığını inceledik.

Çalışmamızda tedavi almayan 30 adenokarsinom ve 24 KHAK olgusu ve 20 sağlıklı bireyin perifer kanında konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle 3p ve diğer kromozom anomalileri ve FISH yöntemi ile de 3p14.2'de lokalize olan *FHIT* gen anomalileri incelenmiştir. Yaptığımız literatür araştırmasında, perifer kanında konvansiyonel sitogenetik yöntemi ile yapılan 3. kromozomun incelemesine dair çok az çalışma bulunmuştur [7, 18]. Adenokarsinom ve KHAK olgularının perifer kanında *FHIT* geninin FISH yöntemiyle incelenmesi ile ilişkili bir çalışma ise bulunamamıştır. Aynı zamanda her iki yöntemin her iki gruptaki olguların perifer kanına uygulanarak 3. kromozom anomalisi ve *FHIT* geninin incelendiği bir çalışmaya literatür taramasında rastlanmamıştır. Bu bakımdan, çalışmamız özgün bir çalışma olarak değerlendirilebilir.

Yapılan çalışmalarda, KHAK'lerin erkeklerde kadınlara göre daha fazla görüldüğü, bu farkın sigara içiliğindeki farka bağlı olduğu bildirilmektedir [35, 50]. Bununla birlikte, Govindan ve ark.'nın 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada KHAK hastalarının %58'ini erkek, %42'sini kadın hastaların oluşturduğu ve iki cins arasındaki farkın azalmasının son yıllarda erkeklerde sigara içiciliğinin azalmasına bağlı olduğu belirtilmiştir [156]. Bizim çalışmamızda KHAK grubundaki olguların cinsiyet dağılımı %83,3 erkek, %16,7 kadın şeklindedir. Adenokarsinom olgularımızdaki cinsiyet dağılımı ise %66,7 erkek, %33,3 kadın şeklindedir. Literatürde adenokarsinomlar için erkeklerde kadınlara göre daha fazla görüldüğü bildirilmektedir [35].

Literatürde KHAK ve adenokarsinom hastalarının yaş ortalaması 65 yaş olarak bildirilmektedir [35, 48, 49]. Çalışmamızdaki olgularda yaş ortalaması KHAK ve adenokarsinom için sırasıyla 60 ve 63 yaş olmuştur.

Ettinger ve ark.'nın 2006 yılında yaptıkları araştırmalarına göre KHAK hastaları adenokarsinomlara oranla daha ağır sigara içiciliğine sahiptirler [157]. Bizim çalışmamızda da, KHAK olgularının %79,2'si sigara içicisi iken, adenokarsinom olgularının ise %53,3'ü sigara içiyordu.

Beckles ve ark.'nın 2003 yılında yaptıkları bir yayına göre adenokarsinomlarda %25 oranında kemik metastazı görülürken, KHAK'lerde ise %70 oranında beyin metastazı görülmektedir [67]. Çalışmamızda adenokarsinom ve KHAK hastalarında metastaz yapma oranları (sırasıyla %43,3 ve %33,3) arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak adenokarsinom olgularında %30,8 oranla en sık kemik metastazı görülürken, KHAK olgularında ise %50 oranla beyin metastazı görülmüştür.

Hammerschmidt ve ark.'nın 2009 yılındaki yayınlarına göre, KHDAK hastaları %25-%35 oranla evre III ve %40-50 oranla evre IV'de, KHAK hastaları ise %60-70 oranla IV evrede tanı almaktadırlar [66]. Bizim çalışmamızda, KHDAK grubundan sadece adenokarsinomları incelediğimiz için, KHAK ile adenokarsinomların tanı sırasındaki evre düzeyine göre farkına baktık. KHAK olgularında III ve IV evrede tanı alma oranları adenokarsinom olgularına göre istatistik olarak daha yüksek iken, I ve II evrede tanı alma oranları adenokarsinomlardan daha az olmuştur (bkz. Tablo 4-5)

Çalışmamıza dahil olan tedavi almayan 30 adenokarsinom olgusunun 5'inde, 24 KHAK olgusunun ise 6'sında metafaz elde edilemediği için konvansiyonel sitogenetik inceleme yapılamamıştır. Bu hastaların TNM evreleme sistemine göre III. veya IV. evrede olan ve yoğun bakımda bulunan, ayrıca bir veya birkaç organda metastaz tutulumu olan hastalar oldukları, ve çalışmamıza dahil edildikten kısa süre sonra ex oldukları göz önünde bulundurulduğunda, kültür başarısının bu durumdan etkilenmiş olabileceği düşünülmektedir. Her iki grupta kültür başarısı açısından olgu sayıları arasında fark bulunamamıştır.

KHAK ve adenokarsinomlarda sayısal kromozom anomalileri çok yaygın görülsede, bunu tartışan çok az sayıda yayın vardır [7, 11, 18]. Bizim çalışmamızda da, kovansiyonel sitogenetik yöntemi ile incelenen toplam 43 hastanın hepsinde, 20 sağlıklı bireye göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede fazla sayısal kromozom anomalileri gözlenmiştir.

Serimizde kromozom kayıpları, kromozom artışları ve yapısal kromozom anomalilerinden çok daha fazla saptanmıştır. Perifer kanında sitogenetik analiz yapılan tüm hastalarda tüm kromozomların monozomileri gözlenmiştir. Adenokarsinom ve KHAK grupları arasında hiçbir kromozomun monozomisi istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmazken, X kromozomu dışında bütün kromozomların monozomileri her iki hasta grubunda da kontrol grubundan anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. X kromozomu monozomisi için ise hasta grupları ve kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır.

Görülme sıklıklarına göre çalışmamızda saptadığımız kromozom anomalileri adenokarsinom ve KHAK için sırasıyla Tablo 5-1 ve Tablo 5-2'de görülmektedir. Olgularımızın evrelerine, metastaz durumlarına, sigara kullanımı ve cinsiyetine göre monozomi sıklıkları ise adenokarsinom ve KHAK için sırasıyla Tablo 5-3 ve Tablo 5-

4'de görülmektedir. Tüm evrelerdeki olgularda anomalilere rastlanmakla birlikte, genel olarak ileri evrelerde daha fazla kromozom anomalisi gözlemlendiği görülmektedir.

Tablo 5-1: Adenokarsinom Olgularında Sitogenetik Anomalilerinin Görülme Sıklığı

Adenokarsinom Hasta Sayısı	Monozomi	Trizomi	Yapısal
19	-21,-19		
18	-22,-20		
17	-18		
16	-17,-14,-10,-8,-3		
15	-7		
14	-15,-6,-5		
13	-13		
12	-16,-12,-11		
11	-9,-4		
10	-X		
9	-Y		
8	-2,-1		
4		+21	Marker del(18)(p11)
3		+X,+10	del(6)(q15q21)
2		+Y,+22,+11	add(10)(q26) inv(10)(q23q24)

			der(7)t(7;7)(p10;q10)der(7)(q10;q10) i(7)(q10) del(7)(p13)
1		+19,+13,+8,+6 ,+2	del(X)(p11) del(22)(q12) chtg(16)(q21) del(14)(q24) dic(9;11)(q34;p15) add(3)(q29)

Tablo 5-2: KHAK Olgularında Sitogenetik Anomalilerinin Görülme Sıklığı

KHAK Hasta Sayısı	Monozomi	Trizomi	Yapısal
16	-22		
15	-19		
14	-20,-12		
13	-17		
12	-21,-10		
11	-11,-8		
10	-18,-16,-14,- 13,-9,-7,-6		
9	-15,-5		
8	-3,-2,-1		Marker
7	-X,-4		

6	-Y		
2			del(18)(p11) der(18)del(18)(p11)del(18)(q12q22)
1		+X,+22,+21,+8	del(6)(q15q21) del(22)(q12) del(20)(q13) t(3;5)(p25;q31) inv(9)(p12)(q13)

Tablo 5-3: Adenokarsinom Olgularında Değişkenlerine göre Monozomilerin Görülme Sıklığı

Monozomi	Adenokarsinom Evreye göre Hasta Sayısı				Adenokarsinom Metastaza göre Hasta Sayısı		Adenokarsinom Sigara Durumuna göre Hasta Sayısı		Adenokarsinom Cinsiyete göre Hasta Sayısı	
	I	II	III	IV	Var	Yok	Var	Yok	K	E
-21	2	4	4	9	9	10	10	9	5	14
-19	2	4	4	9	9	10	13	6	4	15
-22	2	2	5	9	9	9	11	7	4	14
-20	3	3	4	8	8	10	11	7	4	14
-18	2	4	3	8	8	9	10	7	3	14
-17		4	5	7	7	9	11	5	2	14
-14	2	3	3	8	8	8	9	7	5	11

-10	3	4	4	5	5	11	8	8	5	11
-8	2	4	3	7	7	9	9	7	5	11
-3	3	4	3	6	6	10	8	8	5	11
-7	3	5	4	3	3	12	5	10	6	9
-15	2	4	3	5	5	9	7	7	5	9
-6	3	5	2	4	4	10	5	9	6	8
-5	1	3	4	6	6	8	7	7	4	10
-13	2	3	3	5	5	8	7	6	3	10
-16		3	5	4	4	8	8	4	2	10
-12	1	3	3	5	5	7	7	5	2	10
-11	1	3	4	4	4	8	7	5	3	9
-9	1	3	3	4	4	7	5	6	3	8
-4	1	3	3	4	4	7	4	7	3	8
-X	3	4	1	2	2	8	2	8	7	3
-Y		2	2	5	5	4	7	2		9
-2	1	2	1	4	4	4	3	5	4	4
-1		3	2	3	3	5	6	2		8

Tablo 5-4: KHAK Olgularında Değişkenlerine göre Monozomilerin Görülme Sıklığı

Monozomi	KHAK Evreye göre Hasta Sayısı				KHAK Metastaza göre Hasta Sayısı		KHAK Durumuna göre Hasta Sayısı		KHAK Sigara göre Cinsiyete göre Hasta Sayısı	
	I	II	III	IV	Var	Yok	Var	Yok	K	E
-22		3	6	7	7	9	14	2	2	14
-19		3	6	6	6	9	13	2	2	13
-20		3	4	7	7	7	13	1	1	13
-12		2	6	6	6	8	13	1	1	13
-17		3	6	4	4	9	12	1	2	11
-21		3	4	5	5	7	11	1	1	11
-10		1	4	7	7	5	11	1		12
-11		2	4	5	5	6	10	1		11
-8		2	4	5	5	6	10	1	1	10
-18		1	5	4	4	6	9	1	1	9
-16		2	4	4	4	6	10		1	9
-14		1	5	4	4	6	8	2	1	9
-13		3	3	4	4	6	9	1	1	9

-9		2	3	5	5	5	9	1	10
-7		1	5	4	4	6	8	2	1 9
-6		2	4	4	4	6	8	2	1 9
-15		2	3	4	4	5	9		9
-5		2	5	2	2	7	9		9
-3		1	4	3	3	5	7	1	8
-2		2	2	4	4	4	8		1 7
-1		1	4	3	3	5	7	1	8
-X		1	4	2	2	5	6	1	3 4
-4		2	3	2	2	5	7		1 6
-Y		1	1	4	4	2	6		6

Çalışmamızda en sık gözlenen kromozom anomalileri her biri 34'er olguda gözlenen -19 (19 adenokarsinom ve 15 KHAK) ve -22 (18 adenokarsinom ve 16

KHAK) bulgularıdır. Literatüre bakıldığında, Lukeis ve ark.nın, 11 olgudan oluşan KHDAK serilerinde plevral efüzyon materyalinde, -19 ve -22 bulgularını aynı oranda, bir skuamoz hücreli ve 3 adenokarsinom olgusunda bildirdikleri görülmektedir [158]. Burholt ve ark. da, akciğerin andiferansiye büyük hücre karsinomasına ait plevral efüzyon materyalinden yaptıkları hücre hattında klonal evolüsyonu inceledikleri çalışmalarında, -19 ve -22'nin primer kültür ve tekrarlanan pasajlarda gözlemlendiğini bildirmişlerdir [159]. Sundareshan ve ark.da, üç adenokarsinom olgusuna ait ince iğne aspirasyon materyalinin tamamında -19 ve ikisinde -22 bulduklarını rapor etmektedirler [160]. Biz serimizde KHAK'lerde de bu anomalileri sık gözledik. Literatürde KHAK'lerde sitogenetik çalışmalar çok azdır. Yine de, De Fusco ve ark[18], 11 olgudan oluşan KHAK serilerinde metastatik bir hastanın mediastinal lenf nod örneğinde kompleks karyotip içinde -19 bulgusu olduğu –tartışmada sözü edilmemekle birlikte- karyotip tablosunda görülmektedir. Aynı çalışmada -22 ise, ikisi primer tümör kültüründe, bir de metastatik hastanın lenf nodu dokusunda olmak üzere üç hastada yine kompleks karyotipler içinde saptanmıştır. Fakat aynı çalışmada perifer kanı çalışılan 7 hastanın hiç birinde herhangi bir kromozomun kaybı gözlenmemiştir.

Çalışmamızda, her iki grupta -20 ve -21 de sık görülen anomalilerdendir. Adenokarsinom ve KHAK'leri aynı grupta değerlendirdiğimizde, toplam 43 hastadan 32'sinde -20 (18 adenokarsinom+14 KHAK) ve 31 hastada -21 (19 adenokarsinom+12 KHAK) saptanmıştır. Literatürdeki farklı çalışmalarda, adenokarsinom ve KHAK olgularında tümör dokularından alınan örneklerde yapılan incelemeler sonucunda -20 ve -21 anomalileri görülmüştür [18, 158, 159].

Çalışmamızda 29 hastada (16 adenokarsinom+13 KHAK) -17 gözlenmiştir. Literatürde adenokarsinom olgularında -17 bulgusunu tartışan bir yayına rastlanmamıştır. KHAK'lerde ise, De Fusco ve ark. [18], 11 olgunun dördünde üçü metastatik, biri primer tümör dokularında -17 gözlemişlerdir. Çalışmamızda sık gözlenen diğer bulgular 28 (16 adenokarsinom+12 KHAK) olguda gözlediğimiz -10, ve her ikisi de toplam 27'şer hastada tespit edilen -8 (16 adenokarsinom+11 KHAK) ve -18 (17 adenokarsinom+10 KHAK)dir. Literatürde çeşitli çalışmalarda KHDAK'larda tümör dokularında -10 [158, 159] ve -18 [158, 161] anomalileri bildirilmektedir. -8 ise, literatürde sözü edilmeyen bir bulgudur. KHAK'lerde De Fusco ve ark. [18], ikişer olguda -10 ve -18 gözlemişlerdir.

-12 (12 adenokarsinom+14 KHAK) ve -14 (16 adenokarsinom+10 KHAK) toplam 26'şar olguda gözlemlendi. Bu bulgulardan -12, Sundareshan ve ark. [160] tarafından KHDAK'lerde bildirilmiştir. -14'e literatürde rastlanmamıştır. KHAK'lerde ise bu bulgular De Fusco ve ark.'nın [18] birer olgusunun tümör materyallerinde gözlenmiştir.

-7 bulgusunu (15 adenokarsinom+10 KHAK) 25 olguda gözledik. Bu bulgu, KHDAK'ler için literatürde sözü edilmeyen bir bulgudur. KHAK'ler için ise De Fusco ve ark. [18] bir hastanın primer tümör kültüründe gözlemişlerdir.

-3 (16 adenokarsinom+8 KHAK) ve -6 (14 adenokarsinom+10 KHAK) serimizde 24'er olguda tespit edildi. 3p'den moleküler ya da sitogenetik tekniklerle saptanabilen materyal kayıpları sık olmakla beraber, monozomi 3 akciğer kanserlerinde sık görüldüğü bildirilmeyen bir bulgudur. -6 ise, Sundareshan ve ark. [160] tarafından KHDAK tanılı 6 olgunun dördünde De Fusco ve ark. [18] tarafından da KHAK tanılı bir olgunun tümör hücrelerinde gözlenmiştir.

Çalışmamızda -5 (14 adenokarsinom+9 KHAK), -11 (12 adenokarsinom+11 KHAK), -13 (13 adenokarsinom+10 KHAK) ve -15 (14 adenokarsinom+9 KHAK) 23'er olguda saptanmıştır. -5 bulgusu Burholt ve ark.'nın [159] plevral effüzyondan hazırladıkları örneklerde KHDAK tanılı hastalarda, De Fusco ve ark. [18] tarafından da KHAK'li iki hastanın tümör dokularında gösterilmiştir. --11 KHDAK'lerde bildirilen bir bulgular arasında değildir. De Fusco ve ark.'nın [18] serisinde ise bir KHAK vakasında saptanmıştır. 13'ünise literatür taramasında KHDAK'li hastalarda çok sık rastlanan bulgu olduğu görülmüştür [158, 161]. De Fusco ve ark.'nın [18] çalışmasında 11 KHAK hastasının üçünde de -13 bulunduğu görülmektedir. -15 ise Lukeis ve ark. [158] ve Testa ve ark. [161] tarafından KHDAK'de bildirilmiştir. De Fusco ve ark.da [18] 11 KHAK hastalarının dördünde -15 saptamışlardır.

Serimizde -16 (12 adenokarsinom+10 KHAK) 22 hastada, -9 (11 adenokarsinom+10 KHAK) 21 hastada saptandı. Lukeis ve ark. [158] ve Testa ve ark. [161] -16'yı KHDAK'lerde bildirmişlerdir. De Fusco ve ark. [18] ise bir KHAK vakasında -16 gözlemişlerdir. -9 ise KHDAK'lerde en sık kaybı bildirilen otozomdur [158-162].

-4 (11 adenokarsinom+7 KHAK) 18, -1 (8 adenokarsinom+8 KHAK), -2 (8 adenokarsinom+8 KHAK) 16 hastada gözlemlendi. -4 de daha önce KHDAK'lerde bildirilmiş [158, 159]. De Fusco ve ark. [18] da üç KHAK hastasında saptamıştır. -1 ve

-2 daha önce Sundareshan ve ark. [160] tarafından KHDAK'lerde bildirilmiştir. De Fusco ve ark. [18] ise bir KHAK vakasında -1 gözlemiştir.

Çalışmamızda X kromozomunda klonal olarak kayıplar gözlenilmiştir. Fakat X kromozomundaki klonal kayıplar kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. X kromozomu kayıplarının sağlıklı bireylerde yaşa bağlı olarak da gözlemlendiği bildirildiğinden[163], bu durum literatürdeki bilgilerle benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda, Y kromozom kaybına 25 adenokarsinom hastasından 9'unda, 18 KHAK hastasından 6'sında rastlanmıştır. Literatürde Y kromozom kaybı akciğer kanseri için çok sık rastlanan bir bulgu olarak gösterilmiştir [161, 162, 164, 165].

Çalışmamızda incelediğimiz 25 adenokarsinom ve 18 KHAK olgusunda klonal kromozom artışları da gözlenmiştir. Kontrol grubundaki bireylerin hiçbirinde hiçbir kromozomun artışı saptanmamıştır. Serimizde en sık gözlediğimiz kromozom artışı toplam 5 (4 adenokarsinom+1 KHAK) olguda saptanan +21 bulgusudur. Dört olguda (3 adenokarsinom+1 KHAK) +X, üç olguda +22 (2 adenokarsinom+1 KHAK), iki olguda +8 (1 adenokarsinom+1KHAK) görülmüştür. Sadece adenokarsinom grubunda görülen kromozom artışlarımız da olmuştur. Üç adenokarsinom olgusunda +10, ikişer olguda +11 ve +Y saptanmıştır. Birer adenokarsinom olgusunda gözlenen anomaliler ise +2, +6, +13 ve +19'dur.

Burholt ve ark.'nın ve Sunderashan ve ark.'nın yaptıkları çalışmalarda KHDAK tanılı hastaların tümör hücrelerinde yaptıkları çalışmalarda, +8 [159, 160] ve +11 [160] bulgusu saptanmıştır.

De Fusco ve ark.'nın KHAK tanısı almış 11 olguluk serilerinde periferik kanlarını inceledikleri 7 olgunun birinde +5, +8, +12 anomalisi olan hücreler gözlediklerini bildirmişlerdir. +8 bulgusunu üç olgunun tümör dokusunda da saptamışlardır [18]. Bizim çalışmamızda da, adenokarsinom ve KHAK olgularının perifer kanından hazırlanan örneklerde +8 anomalisi her iki grupta birer olguda görülmüştür. +8, hem KHDAK ve KHAK'ler için hem tümör hem de perifer kanında ortak olarak gözlenen ve literatürde en sık bildirilen anomali olduğundan, akciğer kanseri için önemli olduğu düşünülebilir.

Testa ve ark.'nın KHDAK tanısı almış 63 hastada yaptıkları çalışmada, Y kromozomunun artışı gözlenmiştir [161]. Bizim çalışmamızda ise sadece KHDAK grubunun alt grubu olan 2 adenokarsinom olgusunda +Y anomalisi saptanmıştır.

Çalışmamızda gözlediğimiz +2, +6, +10, +13, +19, +21, +22 ve anomalilerine literatürde rastlanmamıştır. Üç adenokarsinom ve bir KHAK olgumuzda gözlediğimiz +X ise sadece De Fusco ve ark.larının [18] bir olgusunda tümör hücrelerinde gözlenmiştir.

Bu çalışmada, konvansiyonel sitogenetik yöntemiyle olguların perifer kanı incelenmesinde yapısal kromozom anomalilerine de rastlanmıştır. Kontrol grubundaki bireylerde ise herhangi bir yapısal anomali gözlenmemiştir. 25 adenokarsinom ve 18 KHAK'den oluşan toplam 43 hastanın 6'sında (A3, A16, A19, A24, K5, K9) 18p11 delesyonuna, 4'ünde (A2, A3, A11, K20) 6q15q21 delesyonuna, 2'sinde de (A2, K22) 22q12 delesyonuna rastlanmıştır. Ayrıca her biri birer hastada olmak üzere farklı klonal yapısal anomalilerde görülmüştür. Adenokarsinom olgularında görülenler: dic(9;11)(q34;p15) (A2), add(10)(q26) (A2), chtg(16)(q21) (A4), del(X)(p11) (A10), add(3)(q29) (A10), inv(10)(q23q24) (A12), del(14)(q24) (A12), del(7)(p13) (A16), der(7)t(7;7)(p10;q10)der(7)(q10;q10) (A30), i(7)(q10) (A30). KHAK olgularında görülenler: der(18)del(18)(p11)del(18)(q12q22) (K5), del(20)(q13) (K17).

Tran ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada 23 adenokarsinom hastasına ait tümör dokularından 11'inde (%48) 18p11 delesyonu bulunmuştur [166]. Bizim çalışmamızda, bu delesyon, 25 adenokarsinom hastasının 4'ünde (%16) ve 2 KHAK olgusunda (%11) olmak üzere en sık gözlediğimiz yapısal anomalidir. Hem adenokarsinom, hem de KHAK'lerde gözlediğimiz bu sonuçları perifer kanından inceleme neticesinde elde ettiğimiz değerlendirildiğinde, del(18)(p11) bulgusunun akciğer kanseri oluşum ve gelişiminde önemli olabileceğini düşünmekteyiz.

18p11 delesyonu ile ilgili yaptığımız literatür taramasında, bu anomalinin, daha çok beyin tümörlerinde veya zihinsel gelişimi etkileyen kalıtsal hastalıklarda görülen nadir sendromlara neden olduğu görülmektedir. Örneğin, Pachajoa ve ark.'nın 2016 yılında yaptıkları çalışmada, konvansiyonel sitogenetik ve CGH yöntemi ile 18p11 delesyonu, mental retardasyon ve holoprozensefalisi olan bir olguda tespit edilmiştir [167].

Üç adenokarsinom ve 1 KHAK olgusunda rastladığımız 6q15q21 delesyonuna literatürde rastlanmamakla birlikte, akciğer kanserlerinde farklı kırık noktalarından materyal kayıpları literatürde bulunmaktadır [21].

Shwendel ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada karaciğer metastazına sahip 10 KHAK hastasından otopsi sırasında alınan tümör dokusundan elde edilen bir örnekte

22q12 delesyonuna rastlanmıştır [1]. Bizim çalışmamızda, perifer kanında inceleme yapılan 18 KHAK olgusundan, metastazı olmayan bir hastada (K22) 22q12 delesyonu saptanmıştır. 25 adenokarsinom olgusundan, kemik metastazı olan bir hastada (A2) 22q12 delesyonu tespit edilmiştir. Çalışmamız saptanan bulgu açısından bu çalışmayla benzerlik gösterebilir, incelenen materyaller ve adenokarsinom grubunda da saptanması açısından farklıdır.

Sundareshan ve ark., KHDAK tanılı 6 olguda yaptıkları çalışmalarında, 16q21 kırık noktasına rastladıklarını belirtmişlerdir [160]. Çalışmamızda, bir adenokarsinom olgusunda (A4) klonal olarak seyreden kromozom tipi kırıkta 16q21 kırık noktası görülmüştür.

Hayashi ve ark.'nın 2005 yılında yaptıkları çalışmalarında, 42 adenokarsinom olgusundan rezekte edilmiş örneklerde CGH yöntemi ile DNA dizilerinin incelenmesinde 10q26'da materyal artışı gözlenmiştir [168]. Bu çalışmada, sadece bir adenokarsinom olgusunda (A2) 10q26'da materyal artışı görülmüştür.

Petersen ve ark. beyin metastazı olan akciğer kanseri tanılı 42 hastanın merkezi sinir sistemlerindeki tümör hücrelerine CGH yöntemi uygulayarak vakaların %80'den çoğunda 20q13 bölgesinde materyal artışı gözlemişlerdir [169]. Fakat bizim çalışmamızda KHAK-IV evrede olan ve beyin metastazına sahip K17 olgusunda 20q13 bölgesinde delesyon, yani materyal kaybı görülmüştür.

Çalışmamızdaki diğer klonal olan yapısal anomalilerin bazılarını literatürde rastlanmadığı gibi, bazılarını ise farklı hastalık gruplarında rastlanılmıştır.

Lopez ve ark.'nın 2017 yılında yaptıkları çalışmada, hiperglisemisi, frontal serebral kavernomu ve dismorfik özellikleri olan bir vakada 7p13 delesyonu görülmüştür [170]. Bizim çalışmamızda ise IV evrede olan ve özafagus tutulumuna sahip bir adenokarsinom tanılı hastada (A16) bu anomali saptanmıştır.

Wang ve ark.'nın 2007 yılında yaptıkları çalışmada, T hücreli lenfoma hastalarında i(7)(q10) anomalisi saptanmıştır [171]. Bu çalışmada, adenokarsinom tanısı almış IV evrede olan ve beyin metastazına sahip hastada (A30) bu anomaliyi tespit ettik.

Thorstensen ve ark.'nın 2001 yılında yaptıkları çalışmada, 14q24 delesyonunu kolorektal karsinom hastalarında saptanmıştır [172]. Bizim çalışmamızda, aynı anomaliyi adenokarsinom tanısı almış IV evrede olan ve kemik metastazına sahip bir hastada (A12) tespit ettik.

Wu ve ark. 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada, Xp11 delesyonunu genç hastalarda böbrek hücreli karsinomlarda görüldüğünü belirtmişlerdir[173]. Bizim çalışmamızda ise bu anomali adenokarsinom tanısı almış 46 yaşında I evrede olan hastada (A10) saptanmıştır.

Çalışmamızda 25 adenokarsinom olgusundan 4'ünde ve 18 KHAK olgusundan 8'inde marker kromozomununa rastlanmıştır. Yaptığımız literatür taramasında marker kromozomlarını bildiren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamızda, adenokarsinom tanısı almış IV evrede olan kemik metastazına sahip 48 yaşındaki erkek hastada (A2) çok sayıda klonal olmayan yapısal anomaliler ve marker kromozomlara sahip hücreler gözlemlenmiştir. Aynı zamanda yukarıda tek tek incelediğimiz klonal yapısal anomalilere ve klonal sayısal anomalilere de sahipti. Bu olguda, literatürde rastlanmayan dic(9;11)(q34;q35) klonal yapısal anomalisi de gözlenmiştir. Bunun yanı sıra, 6 hücrede asentrik kromozomlara ve 5 hücrede double minute kromozomlara rastlanmıştır. Testa ve ark.'nın KHDAK tanısı almış 63 hastada yaptıkları araştırmada, 7 hastada double minute kromozomlara rastlanmıştır [161]. A2 olgusunun kromozomlarının klonal olmayan delesyonları, translokasyonları, inversiyonları, kırıkları, materyal artış ve kayıpları hastada geniş kromozom instabilitesi olduğunu gösteriyor. Karyotipin bu kadar kompleks olmasında, bu olgunun, hastalığın IV evrede olması, ağır sigara içicisi olması, genç yaşta (adenokarsinom'a yakalanma yaşı ortalama 63'dür) hastalığın daha hızlı ve agresif ilerlemesi, metastaz durumu gibi faktörlerin etkili olduğu düşünülebilir.

Bu çalışmada incelenen adenokarsinom ve KHAK olgularının perifer kanındaki hücrelerde değişik ploidi seviyeleri saptanmıştır. Ploidi seviyelerindeki değişiklikler haploid ve diploid düzeylerinde seyretmiştir. İncelenen 25 adenokarsinom ve 18 KHAK olgusunun tümünde near-diploidi seviyeleri gözlemlenmiştir. Adenokarsinom olgularından (n=25) 8'inde near-haploidi ve 8 hastada hiper-haploidi görülmüştür. KHAK olgularının (n=18) ise 5'inde near-haploidi ve 8 hastada hiper-haploidi saptanmıştır. Literatürdeki çalışmalarda haploidi seviyesi üzerinde çok durulmamıştır, kromozom sayılarının değişik ploidi seviyelerinde görülmekle birlikte, poliploidi seviyelerinin de çok görüldüğü belirtilmiştir [158-162].

Literatür taramasında KHAK'lerde ve adenokarsinomlarda özellikle 3p anomalilerine çok rastlanmıştır [4, 5, 11-13, 17, 18, 28, 118, 125-132]. Fakat biz çalışmamızda her iki grupta perifer kanından yaptığımız konvansiyonel sitogenetik

inceleme sonucunda toplam 43 hastanın analiz edilen 100'er metafaz hücresinin hiç birinde 3p anomalileri görülmemiştir. Konvansiyonel sitogenetik teknikleriyle 5Mb'dan daha küçük anomaliler tanımlanamayacağından, olgularda bulunabilecek daha küçük materyal kayıplarını FISH yöntemiyle araştırmaya karar verdik. Literatürdeki bilgilere dayanarak, akciğer kanseri olgularında gözlenen 3p delesyonlarının en küçük ortak bölgesinin içinde yer alan -ve KHAK ve adenokarsinomun patogenezinde önemli olduğu bildirilen [9, 16, 133]-*FHIT* genini bu çalışma için hedef almayı uygun bulduk. 3p14.2 bölgesinde lokalize olan bu gen, 30 adenokarsinom ve 24 KHAK olgusunun perifer kanına FISH yöntemi uygulanarak analiz edilmiştir. Bu yöntem için metafaz hücrelerine gerek duyulmadığından dolayı (interfaz hücrelerinde de inceleme yapılabildiği için) adenokarsinom ve KHAK grubundaki, kültürde üremesi olmayan sırasıyla 5 ve 6 hastanın da incelemesi yapılabilmektedir.

Bizim çalışmamızda, tedavi almamış 30 adenokarsinom ve 24 KHAK olgusunun ve 20 sağlıklı bireyin perifer kanına FISH yöntemi uygulanarak *FHIT* geni analiz edilmiştir. Adenokarsinom grubundaki olgularda ortalama 208, KHAK grubundaki olgularda ise 232 hücre sayılmıştır. Bu hücrelerde monoallelizm, biallelik delesyonlar, monozomi ve yeniden düzenlenmeler gibi *FHIT* geninin istatistiksel olarak anlamlı olan anomalileri saptanmıştır. İncelenen olgularda monoallelizm ve biallelik delesyonlar, monozomi ve yeniden düzenlenmeler gibi anomaliler açısından adenokarsinom ve KHAK grubu arasında fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Monoallelizm delesyona uğrayan hücre sayıları açısından bakıldığında, hem adenokarsinom hem de KHAK hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (her iki grup için $p<0,001$). Biallelik delesyonu olan hücrelere göre incelediğinde, adenokarsinom olgularında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). KHAK hastalarında ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p=0.292$). Kontrol grubundaki bireylerin tümünün biallelik sayılarının hepsi "0"dır. Monozomi hücre sayıları bakımından incelendiğinde, hem adenokarsinom hem de KHAK hastalarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,001$). İncelediğimiz olguların hücrelerinde *FHIT* geninde saptanan anomalilerden biri de yeniden düzenlenmeler olmuştur. Bu anomaliler açısından değerlendirildiği zaman ise, hem adenokarsinomlar hem de KHAK hastalarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p<0,05$, $p<0,01$).

Çalışmamızda 30 adenokarsinom ve 24 KHAK olgusundan elde edilen FISH sonuçlarının hastaların metastaz durumu, sigara kullanımı ve evre düzeyleri ile ilişkisine bakılmıştır. Sigara kullanımına göre değerlendirildiğinde her iki grupta incelenen toplam 54 hastada, analiz edilen anomalili hücre sayıları ile karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Olgularda saptamış olduğumuz anomalilerden sadece monozomili hücre sayılarına göre metastaz ve evre düzeyinde ilişkiye rastlanmıştır. 30 adenokarsinom olgusunda görülen monozomili hücre sayılarının, metastazı olmayan hastalarda daha yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$). KHAK grubunda böyle bir sonuç gözlenmemiştir ($p>0,05$). Evre düzeyine göre bakıldığında ise her iki grup arasında *FHIT* geninde görülen monoallelilik, biallelikdelesyon, monozomi ve yeniden düzenlenmeler açısından istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunmadığından, iki grubun sonuçları birleştirilerek değerlendirilmiştir ($p>0,05$). İncelenen 30'u adenokarsinom ve 24'ü KHAK olan toplam 54 olgudan II evrede olanlar ile IV evrede olanlar arasında monozomi hücre sayıları bakımından fark bulunmuştur. Buna göre, II evrede olan hastaların monozomi hücre sayıları IV evrede olan hastalara göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Bu sonuç da, hastaların evre düzeylerinde *FHIT* gen anomalilerinin önem taşıyabileceğini düşündürmektedir.

Literatürdeki çalışmaların hiç birinde *FHIT* geni perifer kanından FISH yöntemi uygulanarak incelenmemiştir. Akciğer kanserlerinde *FHIT* genini araştıran çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen, bu çalışmalar tümör dokularında, farklı moleküler genetik ve immünohistokimyasal teknikler kullanılarak gerçekleştirilmiştir[9, 174-183]. Tüm bu farklı tekniklerle de, -bizim de FISH ile gösterdiğimiz gibi- akciğer kanserlerinde *FHIT* geninin kayıpları, anomalileri ve inaktivasyonları bildirilmiştir.

Wali ve ark'nın 2006 yılında yaptıkları çalışmada, III evrede olan akciğer kanseri tanısı almış 30 olgudan bronkoskopi yoluyla alınan materyallerde immunohistokimya ve RT-PCR yöntemiyle *FHIT* proteininin ekspresyonunu incelemişlerdir. *FHIT* proteininin kaybını 30 olgunun tümünde görmüşlerdir. *FHIT* proteininin promoter bölgesinin tamamen metilasyonu vakaların %37'sinde, parsiyel metilasyonu vakaların %47'sinde gözlenmiş, %16 vakada ise hiç metilasyon bulunmamıştır. Bu çalışma, akciğer kanserinde bir TBG olan *FHIT*'in inaktivasyonunda hem genin kaybının, hem de promoter bölgelerindeki metilasyonun etkisi olduğunu göstermiştir [179].

Yichang ve ark.'nın akciğer kanserlerinde yaptıkları meta-analiz çalışmasında, inceledikleri 11 çalışmada, kanser dokusunda yapılan analizler sonucunda *FHIT* geninin promoter bölgesinde hipermetilasyonun bulunmasının akciğer kanserinin oluşumunda etkili olduğunu göstermişlerdir [180].

Chang ve ark.'nın 2006 yılında yaptıkları çalışmada, akciğer kanseri tanısı almış 298 olguda formalinle fikse edilmiş parafine gömülü tümör dokularında immunohistokimyasal yöntemle *FHIT* geninin ekspresyonunun azaldığını belirtmişlerdir. Ayrıca, *FHIT* geninin ekspresyonunun hastalığın evresiyle, metastaz tutulumuyla ve sigara durumuyla ilişkili olduğunu göstermişlerdir [175].

Toledo ve ark.'nın 2004 yılında yapmış oldukları çalışmada, 44 adenokarsinom hastasının formalinle fikse edilmiş parafine gömülü tümör dokularında immunohistokimyasal yöntemle yapılan incelemede, olguların %64,4'ünde *FHIT* proteininin kaybına rastlanmıştır [177].

Zöchbauer-Müller ve ark.'nın 2001 yılında yaptıkları çalışmada, 107 primer KHDAK'de ve malin olmayan akciğer dokusunda, 39 primer meme kanseri tümör dokusunda, 49 akciğer kanseri ve 22 meme kanseri hücre dizilerinde *FHIT* geninin 5'CpG metilasyonu, metilasyon-spesifik PCR testi ile analiz edilmiştir. Ek olarak kanser olmayan 35 ağır sigara içicisinde de bronşial epitel örnekleri incelenmiştir. Primer KHDAK vakalarının %37'si, primer meme kanserinin %31'i, akciğer kanseri hücre dizilerinin %65'inde ve meme kanseri hücre dizilerinin %86'sında *FHIT* geninin metilasyonu gözlenmiştir. Malin olmayan akciğer dokularında %9 ve ağır sigara içicilerinde %17 oranında *FHIT* geninde metilasyon bulunmuştur. Çalışmada ayrıca akciğer kanseri hücre dizilerinde Northern Blot analizi ile *FHIT* mRNA ekspresyon kaybının *FHIT* metilasyonu ile ilişkisi analiz edilmiştir. İmmunboyama ile KHDAK ve meme kanserinde *FHIT* proteininin yokluğu gösterilmiştir [182].

Zhou ve ark., yaptıkları çalışmada, 35 KHDAK vakasında tümör dokusunda, normal dokuda ve 4 akciğer kanseri hücre dizisinde ve 10 kontrol benin pulmoner lezyonu olan akciğer dokusunda PCR-SSCP ve DNA dizileme yöntemi ile *FHIT* geninin allelik değişimlerini incelemişlerdir. 35 tümörlü dokudan 22'sinde (%62,86) *FHIT* gen kaybı gözlenmiştir. KHDAK grubundan olan adenokarsinomlarda *FHIT* gen kaybı oranı (%38,89) sküamoz hücreli karsinomlardan (%88,24) daha düşük bulunmuştur ($p<0,01$). Sigara içen hastaların %76,19'unda *FHIT* geninin kaybı

gözlenirken, sigara kullanımı olmayan hastaların %42,86 oranında saptanmıştır ($p<0,05$) [181].

Chen ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, 35 KHDAK kanser dokusunda ve onlarla ilişkili parakanser dokuya ve normal dokuya, 4 akciğer kanseri hücre dizisine ve benin pulmoner lezyonu olan 10 kontrol grubuna nested RT-PCR yöntemi uygulanarak *FHIT* geninin transkripsiyon anomalilerini incelemişlerdir. 35 kanser dokusunun 14'ünde (%40) *FHIT* gen transkripsiyon anomalisi görülmüştür. *FHIT* gen transkripsiyon anomalileri olan 14 akciğer kanser dokusundan 5 parakanser dokusunda (%35,71) *FHIT* geninde transkripsiyon anomalileri gözlenmiştir. Bu anomaliler 4 akciğer kanseri hücre dizisinin tamamında görülmüştür. *FHIT* geninin bu anomalileri sküamoz hücreli karsinom dokularında (%58,82) adenokarsinom dokularından (%22,22) daha yüksek oranda görülmüştür ($p<0,05$) [176].

Tomizawa ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, KHDAK tanısı almış I evrede olan 105 hastaya immunohistokimyasal yöntem ve PCR analizi ile *FHIT* ekspresyonunun klinikopatolojik özellikleri ve allelik imbalansı incelenmiştir. 105 hastadan 36'sından (%34) *FHIT* ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir. Bu anomali sküamoz hücreli karsinomlarda (28 hastadan 24'ünde, %86) daha çok gözlenirken, adenokarsinom hastalarında daha az sayıda hastada 8 (67 hastadan 7'sinde, %10, $p<0,001$) gözlenmiştir. Sigara kullanımına göre ise *FHIT* ekspresyon azalması sigara kullanımı olan 80 hastadan 32'sinde (%40) görülürken, sigara içmeyen 25 hastanın 4'ünde (%16, $p=0,013$) görülmüştür. KHDAK'lerinin alt tiplerinden bağımsız olarak *FHIT* ekspresyon azalmasının I evre KHDAK hastalarında kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir [178].

Burke ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, KHDAK tanısı almış 116 hastada allelik delesyon analizi yöntemiyle *FHIT* geninin kaybı araştırılmıştır. 20 adenokarsinom hastasından 4'ünde (%20) *FHIT* geninin allelik delesyonu görülürken, adenokarsinom olmayan 22 hastadan 12'sinde (%55) bu anomali görülmüştür ($p=0,03$). Burke ve ark., *FHIT* gen kaybını kötü prognozla ilişkilendirmişlerdir [174].

Sozzi ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, KHAK ve KHDAK tanısı almış 59 tümör dokusunda RT-PCR yöntemi ile *FHIT* gen kaybı araştırılmıştır. KHAK vakalarının %80'inde, KHDAK vakalarının %40'ında *FHIT* gen kaybı gösterilmiştir [9].

Zhao ve ark., 2002 yılında yaptıkları çalışmada, formalinle fikse edilmiş parafine gömülü 52'si KHDAK ve 40'ı KHAK tanısı almış toplam 92 akciğer kanseri dokusunda immunohistokimyasal yöntemle FHIT proteininin kaybının klinikopatolojik analizlerini incelemişlerdir. KHDAK tanısı almış 52 hastadan 28'inde (%53,8), KHAK tanısı almış 40 hastadan ise 33'ünde (%82,5) FHIT proteininin kaybı saptanmıştır. FHIT proteininin ekspresyon kaybı, evre düzeyleri ($p=0,003$), lenf nodu metastazı ($p=0,029$) ve olguların histolojik sınıflandırması ile yakından ilişkilendirilmiştir ($p=0,003$). Evre I + II ile evre III arasında, lenf nodu metastazı olan ile olmayanlar arasında, skuamöz hücreli karsinom ile adenokarsinom arasında anlamlı fark bulunmuştur [183].

Sonuç olarak, çalışmamızı bir bütün olarak değerlendirdiğimizde, perifer kanında sitogenetik olarak 3p anomalilerinin nadiren ortaya çıkan bulgular olduğu, ve bu incelemelerin akciğer kanseri tanı ve takibinde rutinde kullanılmaya uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte, olgularımızda genel olarak kromozom anomali sıklığının kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulunması, perifer kanında gözlenen farklı sitogenetik bulguların kanser varlığına işaret edebileceğini düşündürmektedir. Yine de, belirli bir kanserle ilişkilendirilecek spesifik bir bulgu olmadığından, sitogenetik analizlerin uzmanlık gerektiren ve uzun sürebilen çalışmalar olduğu da göz önünde bulundurularak, rutin uygulamaya elverişli olmadığı kanaatine varılmıştır.

Çalışmamızda FISH yöntemiyle *FHIT* gen anomalileri kontrol grubundan anlamlı derecede fazla saptanmıştır. Kanda gözlenen bu anomalilerin akciğer kanseri ile ilişkisini daha detaylı araştırmak için, perifer kanı ile birlikte tümör dokusu, plevral efüzyon ve lavaj gibi materyallerde de FISH yöntemiyle *FHIT* geninin incelendiği çok sayıda çalışma yapılması yararlı olacaktır. Bu çalışma planlanırken FHIT gen bölgesine özgü ticari bir FISH probu bulunmamaktaydı. Çalışmamızda kullandığımız probu hizmet alımı ile tasarlatıp kalite kontrollerini yaptırarak ve kullandık. Şimdilerde FHIT genine özgü ticari problemler üretilmiştir. Bu nedenle bundan sonra yapılacak FISH çalışmaları daha da kolaylaşmış olacaktır.

İleride farklı materyallerle yapılacak çalışmalarda sonuçlarımızı desteklediği takdirde, yöntemin kolay uygulanırlığı ve hızı da dikkate alındığında, perifer kanında FISH ile incelenen FHIT geninin, akciğer kanserinde EGFR ve ALK gibi tanı için rutinde biyomarker olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

1. Schwendel, A., et al., *Primary small-cell lung carcinomas and their metastases are characterized by a recurrent pattern of genetic alterations*. Int J Cancer, 1997. **74**(1): p. 86-93.
2. Graziano, S.L., et al., *Small cell lung cancer cell line derived from a primary tumor with a characteristic deletion of 3p*. Cancer Res, 1987. **47**(8): p. 2148-55.
3. Chang, J.G., et al., *Uncovering synthetic lethal interactions for therapeutic targets and predictive markers in lung adenocarcinoma*. Oncotarget, 2016. **7**(45): p. 73664-73680.
4. Ashman, J.N., et al., *Chromosomal alterations in small cell lung cancer revealed by multicolour fluorescence in situ hybridization*. Int J Cancer, 2002. **102**(3): p. 230-6.
5. Iijima, H., et al., *Allelic losses on chromosome 3p are accumulated in relation to morphological changes of lung adenocarcinoma*. Br J Cancer, 2004. **91**(6): p. 1143-8.
6. Petersen, I., et al., *Small-cell lung cancer is characterized by a high incidence of deletions on chromosomes 3p, 4q, 5q, 10q, 13q and 17p*. Br J Cancer, 1997. **75**(1): p. 79-86.
7. Tarkan-Arguden, Y., et al., *3p abnormalities in peripheral lymphocytes in small cell lung cancer*. Tumori, 2009. **95**(4): p. 535-7.
8. Zabarovsky, E.R., M.I. Lerman, and J.D. Minna, *Tumor suppressor genes on chromosome 3p involved in the pathogenesis of lung and other cancers*. Oncogene, 2002. **21**(45): p. 6915-35.
9. Sozzi, G., et al., *The FHIT gene 3p14.2 is abnormal in lung cancer*. Cell, 1996. **85**(1): p. 17-26.
10. Balsara, B.R. and J.R. Testa, *Chromosomal imbalances in human lung cancer*. Oncogene, 2002. **21**(45): p. 6877-83.
11. Dave, B.J., et al., *Genetic susceptibility to lung cancer as determined by lymphocytic chromosome analysis*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 1995. **4**(7): p. 743-9.
12. Mori, N., et al., *Concordant deletions of chromosome 3p and loss of heterozygosity for chromosomes 13 and 17 in small cell lung carcinoma*. Cancer Res, 1989. **49**(18): p. 5130-5.
13. Todd, S., et al., *Homozygous deletions of human chromosome 3p in lung tumors*. Cancer Res, 1997. **57**(7): p. 1344-52.
14. Hurr, K., et al., *Microsatellite alteration at chromosome 3p loci in neuroendocrine and non-neuroendocrine lung tumors. Histogenetic and clinical relevance*. Am J Pathol, 1996. **149**(2): p. 613-20.
15. Khan, S., J.M. Coulson, and P.J. Woll, *Genetic abnormalities in plasma DNA of patients with lung cancer and other respiratory diseases*. Int J Cancer, 2004. **110**(6): p. 891-5.
16. Sozzi, G., et al., *Loss of FHIT function in lung cancer and preinvasive bronchial lesions*. Cancer Res, 1998. **58**(22): p. 5032-7.
17. Kawanishi, M., et al., *Allelotype and replication error phenotype of small cell lung carcinoma*. Carcinogenesis, 1997. **18**(11): p. 2057-62.

18. De Fusco, P.A., et al., *Cytogenetic studies in 11 patients with small cell carcinoma of the lung*. Mayo Clin Proc, 1989. **64**(2): p. 168-76.
19. Brennan, P., P. Hainaut, and P. Boffetta, *Genetics of lung-cancer susceptibility*. The lancet oncology, 2011. **12**(4): p. 399-408.
20. Organization, W.H., *WHO report on the global tobacco epidemic, 2011: warning about the dangers of tobacco*. 2011: World Health Organization.
21. Bailey-Wilson, J.E., et al., *A major lung cancer susceptibility locus maps to chromosome 6q23–25*. The American Journal of Human Genetics, 2004. **75**(3): p. 460-474.
22. Subramanian, J., et al., *Distinctive characteristics of non-small cell lung cancer (NSCLC) in the young: a surveillance, epidemiology, and end results (SEER) analysis*. Journal of Thoracic Oncology, 2010. **5**(1): p. 23-28.
23. Hecht, S.S., *Tobacco smoke carcinogens and lung cancer*. JNCI: Journal of the National Cancer Institute, 1999. **91**(14): p. 1194-1210.
24. Shopland, D.R., *Tobacco use and its contribution to early cancer mortality with a special emphasis on cigarette smoking*. Environmental health perspectives, 1995. **103**(Suppl 8): p. 131.
25. Basumallik, N. and M. Agarwal, *Cancer, Lung, Small Cell (Oat Cell)*, in *StatPearls*. 2018, StatPearls Publishing
StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL).
26. Schreiber, D., et al., *Survival outcomes with the use of surgery in limited-stage small cell lung cancer*. Cancer, 2010. **116**(5): p. 1350-1357.
27. Dong, J., et al., *Polymorphisms in EGFR and VEGF contribute to non-small-cell lung cancer survival in a Chinese population*. Carcinogenesis, 2010. **31**(6): p. 1080-1086.
28. Li, Y.-W., et al., *Chromosomal and genetic analysis of a human lung adenocarcinoma cell line OM*. Chinese medical journal, 2016. **129**(4): p. 405.
29. Roche, J., R.M. Gemmill, and H.A. Drabkin, *Epigenetic Regulation of the Epithelial to Mesenchymal Transition in Lung Cancer*. Cancers, 2017. **9**(7): p. 72.
30. Bennett, B.M., et al., *The Humanistic Burden of Small Cell Lung Cancer (SCLC): A Systematic Review of Health-Related Quality of Life (HRQoL) Literature*. Front Pharmacol, 2017. **8**: p. 339.
31. Zhou, W. and D.C. Christiani, *East meets West: ethnic differences in epidemiology and clinical behaviors of lung cancer between East Asians and Caucasians*. Chinese journal of cancer, 2011. **30**(5): p. 287.
32. Subramanian, J. and R. Govindan, *Lung cancer in never smokers: a review*. Journal of clinical oncology, 2007. **25**(5): p. 561-570.
33. Muers, M., I. Hunt, and J. Fox, *Epidemiology, risk factors and prevention*. Ian Hunt, 2009: p. 1.
34. Kumar, V., et al., *Robbins and Cotran pathologic basis of disease, professional edition e-book*. 2014: elsevier health sciences.
35. Dela Cruz, C.S., L.T. Tanoue, and R.A. Matthay, *Lung cancer: epidemiology, etiology, and prevention*. Clin Chest Med, 2011. **32**(4): p. 605-44.
36. Nanavaty, P., M.S. Alvarez, and W.M. Alberts, *Lung cancer screening: advantages, controversies, and applications*. Cancer Control, 2014. **21**(1): p. 9-14.
37. Tockman, M.S., et al., *Airways obstruction and the risk for lung cancer*. Annals of internal medicine, 1987. **106**(4): p. 512-518.

38. Müsellim, B., *Akciğer Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etyolojisi*. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi, 2007. **58**: p. 113-118.
39. Çavdar, T., et al., *Akciğer kanseri multidisipliner yaklaşım. 1. Baskı*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 1999: p. 17-22.
40. Temel, O., et al., *Sağlık Çalışanlarında, Aktif ve Pasif Sigara İçicilerde Nikotin Etkilenim Düzeyleri*. Turk Toraks Dergisi/Turkish Thoracic Journal, 2009. **10**(3).
41. Parkin, D.M., et al., *Global cancer statistics, 2002*. CA: a cancer journal for clinicians, 2005. **55**(2): p. 74-108.
42. Rudin, C.M., E. Avila-Tang, and J.M. Samet, *Lung cancer in never smokers: a call to action*. Clinical Cancer Research, 2009. **15**(18): p. 5622-5625.
43. Sun, S., J.H. Schiller, and A.F. Gazdar, *Lung cancer in never smokers—a different disease*. Nature Reviews Cancer, 2007. **7**(10): p. 778.
44. Harris, J.E., et al., *Cigarette tar yields in relation to mortality from lung cancer in the cancer prevention study II prospective cohort, 1982-8*. Bmj, 2004. **328**(7431): p. 72.
45. Wakelee, H.A., et al., *Lung cancer incidence in never smokers*. Journal of Clinical Oncology, 2007. **25**(5): p. 472-478.
46. Zell, J.A., et al., *Epidemiology of bronchioloalveolar carcinoma: improvement in survival after release of the 1999 WHO classification of lung tumors*. Journal of clinical oncology, 2005. **23**(33): p. 8396-8405.
47. Brooks, D.R., et al., *Menthol cigarettes and risk of lung cancer*. American journal of epidemiology, 2003. **158**(7): p. 609-616.
48. Blanchard, E.M., K. Arnaoutakis, and P.J. Hesketh, *Lung cancer in octogenarians*. Journal of Thoracic Oncology, 2010. **5**(6): p. 909-916.
49. Gridelli, C., et al., *Lung cancer in the elderly*. Journal of Clinical Oncology, 2007. **25**(14): p. 1898-1907.
50. Wingo, P.A., et al., *Annual report to the nation on the status of cancer, 1973-1996, with a special section on lung cancer and tobacco smoking*. Journal of the National Cancer institute, 1999. **91**(8): p. 675-690.
51. Ryberg, D., et al., *Different susceptibility to smoking-induced DNA damage among male and female lung cancer patients*. Cancer research, 1994. **54**(22): p. 5801-5803.
52. Takemiya, M., et al., *Bloom's syndrome with porokeratosis of Mibeili and multiple cancers of the skin, lung and colon*. Clinical genetics, 1987. **31**(1): p. 35-44.
53. Yamanaka, A., et al., *Lung cancer associated with Werner's syndrome: a case report and review of the literature*. Japanese journal of clinical oncology, 1997. **27**(6): p. 415-418.
54. Matakidou, A., T. Eisen, and R. Houlston, *Systematic review of the relationship between family history and lung cancer risk*. British journal of cancer, 2005. **93**(7): p. 825.
55. Spitz, M.R., et al., *Genetic susceptibility to lung cancer: the role of DNA damage and repair*. Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers, 2003. **12**(8): p. 689-698.
56. Willett, W.C. and D. Trichopoulos, *Nutrition and cancer: a summary of the evidence*. Cancer Causes & Control, 1996. **7**(1): p. 178-180.

57. Ruano-Ravina, A., A. Figueiras, and J. Barros-Dios, *Diet and lung cancer: a new approach*. European journal of cancer prevention, 2000. **9**(6): p. 395-400.
58. Boone, C.W., G.J. Kelloff, and W.E. Malone, *Identification of candidate cancer chemopreventive agents and their evaluation in animal models and human clinical trials: a review*. Cancer Research, 1990. **50**(1): p. 2-9.
59. Woodson, K., et al., *Serum α -tocopherol and subsequent risk of lung cancer among male smokers*. Journal of the National Cancer Institute, 1999. **91**(20): p. 1738-1743.
60. Buring, J.E. and C.H. Hennekens, *β -Carotene and cancer chemoprevention*. Journal of Cellular Biochemistry, 1995. **59**(S22): p. 226-230.
61. Blandin Knight, S., et al., *Progress and prospects of early detection in lung cancer*. Open Biol, 2017. **7**(9).
62. Travis, W.D., *Pathology of lung cancer*. Clin Chest Med, 2011. **32**(4): p. 669-92.
63. Travis, W.D., *Classification of lung cancer*. Semin Roentgenol, 2011. **46**(3): p. 178-86.
64. Clay, T.D., et al., *The clinical relevance of pathologic subtypes in metastatic lung adenocarcinoma*. J Thorac Oncol, 2014. **9**(5): p. 654-63.
65. Hyde, L. and C.I. Hyde, *Clinical manifestations of lung cancer*. Chest, 1974. **65**(3): p. 299-306.
66. Hammerschmidt, S. and H. Wirtz, *Lung cancer: current diagnosis and treatment*. Deutsches Ärzteblatt International, 2009. **106**(49): p. 809.
67. Beckles, M.A., et al., *Initial evaluation of the patient with lung cancer*: symptoms, signs, laboratory tests, and paraneoplastic syndromes*. Chest, 2003. **123**(1): p. 97S-104S.
68. Humphrey, L.L., S. Teutsch, and M. Johnson, *Lung cancer screening with sputum cytologic examination, chest radiography, and computed tomography: an update for the US Preventive Services Task Force*. Annals of Internal Medicine, 2004. **140**(9): p. 740-753.
69. Silvestri, G.A., et al., *Noninvasive staging of non-small cell lung cancer: ACCP evidenced-based clinical practice guidelines*. Chest, 2007. **132**(3): p. 178S-201S.
70. Rivera, M.P. and A.C. Mehta, *Initial diagnosis of lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines*. Chest, 2007. **132**(3): p. 131S-148S.
71. Detterbeck, F.C., D.J. Boffa, and L.T. Tanoue, *The new lung cancer staging system*. Chest, 2009. **136**(1): p. 260-271.
72. Rami-Porta, R., V. Bolejack, and P. Goldstraw. *The new tumor, node, and metastasis staging system*. in *Seminars in respiratory and critical care medicine*. 2011. © Thieme Medical Publishers.
73. Goldstraw, P., et al., *The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification of malignant tumours*. Journal of thoracic oncology, 2007. **2**(8): p. 706-714.
74. Bach, P.B., et al., *Benefits and harms of CT screening for lung cancer: a systematic review*. Jama, 2012. **307**(22): p. 2418-2429.
75. Team, N.L.S.T.R., *Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening*. New England Journal of Medicine, 2011. **365**(5): p. 395-409.

76. Swensen, S.J., et al., *CT screening for lung cancer: five-year prospective experience*. Radiology, 2005. **235**(1): p. 259-265.
77. Hong, W.K., *Chemoprevention of lung cancer*. Oncology-Huntington, 1999. **13**(5): p. 135-141.
78. Cohen, V. and F.R. Khuri, *Chemoprevention of lung cancer: current status and future prospects*. Cancer and Metastasis Reviews, 2002. **21**(3-4): p. 349-362.
79. Arifin, M., et al., *Carcinogenesis and cellular immortalization without persistent inactivation of p16/Rb pathway in lung cancer*. International journal of oncology, 2010. **36**(5): p. 1217-1227.
80. Tahara, E., et al., *Recent progress in carcinogenesis, progression and therapy of lung cancer: the 19th Hiroshima Cancer Seminar: the 3rd Three Universities' Consortium International Symposium, November 2009*. Japanese journal of clinical oncology, 2010. **40**(7): p. 702-708.
81. Ponder, B., *Gene losses in human tumours*. Nature, 1988. **335**(6189): p. 400-402.
82. Ohashi, K., et al., *Chemopreventive effects of gefitinib on nonsmoking-related lung tumorigenesis in activating epidermal growth factor receptor transgenic mice*. Cancer research, 2009. **69**(17): p. 7088-7095.
83. General, S., *Nicotine addiction*. A report of the Surgeon General. US Dept. of Health and Human Services, Washington DC Google Scholar, 1988.
84. Hoffmann, D. and S. Hecht, *Advances in tobacco carcinogenesis*, in *Chemical carcinogenesis and mutagenesis I*. 1990, Springer. p. 63-102.
85. Hoffmann, D.H., Ilse, *The changing cigarette, 1950-1995*. Journal of Toxicology and Environmental Health Part A, 1997. **50**(4): p. 307-364.
86. Geacintov, N.E., et al., *NMR solution structures of stereoisomeric covalent polycyclic aromatic carcinogen– DNA adducts: principles, patterns, and diversity*. Chemical research in toxicology, 1997. **10**(2): p. 111-146.
87. Bailey-Wilson, J., et al., *Segregation analysis of lung cancer using class A regressive models*. Am J Hum Genet, 1992. **51**: p. A145.
88. Gauderman, W.J., et al., *Analysis of gene-smoking interaction in lung cancer*. Genetic epidemiology, 1997. **14**(2): p. 199-214.
89. Sellers, T., et al., *Evidence for Mendelian factors in early onset lung cancer*. Origins of human cancer: a comprehensive review. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1991: p. 775-780.
90. Sellers, T.A., et al., *Evidence for mendelian inheritance in the pathogenesis of lung cancer*. JNCI: Journal of the National Cancer Institute, 1990. **82**(15): p. 1272-1279.
91. Sellers, T.A., et al., *Effect of cohort differences in smoking prevalence on models of lung cancer susceptibility*. Genetic epidemiology, 1992. **9**(4): p. 261-271.
92. Sellers, T.A., et al., *Segregation analysis of smoking-associated malignancies: Evidence for mendelian inheritance*. American Journal of Medical Genetics Part A, 1994. **52**(3): p. 308-314.
93. Heist, R.S. and J.A. Engelman, *SnapShot: non-small cell lung cancer*. Cancer cell, 2012. **21**(3): p. 448-448. e2.
94. Network, C.G.A.R., *Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma*. Nature, 2014. **511**(7511): p. 543.
95. George, J., et al., *Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer*. Nature, 2015. **524**(7563): p. 47.

96. Takahashi, T., et al., *p53: a frequent target for genetic abnormalities in lung cancer*. Science, 1989. **246**(4929): p. 491-494.
97. Travis, W.D., et al., *The 2015 World Health Organization classification of lung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification*. Journal of thoracic oncology, 2015. **10**(9): p. 1243-1260.
98. Wistuba, I.I., A.F. Gazdar, and J.D. Minna. *Molecular genetics of small cell lung carcinoma*. in *Seminars in oncology*. 2001. Elsevier.
99. Klapper, L.N., et al., *Biochemical and clinical implications of the ErbB/HER signaling network of growth factor receptors*, in *Advances in cancer research*. 1999, Elsevier. p. 25-79.
100. Miller, V.A., et al., *Bronchioloalveolar pathologic subtype and smoking history predict sensitivity to gefitinib in advanced non-small-cell lung cancer*. Journal of Clinical Oncology, 2004. **22**(6): p. 1103-1109.
101. Bunn, P.A. and W. Franklin. *Epidermal growth factor receptor expression, signal pathway, and inhibitors in non-small cell lung cancer*. in *Seminars in oncology*. 2002. Elsevier.
102. Franklin, W.A., et al. *Epidermal growth factor receptor family in lung cancer and premalignancy*. in *Seminars in oncology*. 2002. Elsevier.
103. Paez, J.G., et al., *EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy*. Science, 2004. **304**(5676): p. 1497-1500.
104. Pao, W., et al., *EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from "never smokers" and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004. **101**(36): p. 13306-13311.
105. Fong, K., et al., *Lung cancer• 9: Molecular biology of lung cancer: clinical implications*. Thorax, 2003. **58**(10): p. 892-900.
106. Oh, J.J., et al., *A candidate tumor suppressor gene, H37, from the human lung cancer tumor suppressor locus 3p21*. 3. Cancer research, 2002. **62**(11): p. 3207-3213.
107. Sundaresan, V., et al., *Homozygous deletions at 3p12 in breast and lung cancer*. Oncogene, 1998. **17**(13): p. 1723.
108. Pfister, S.X. and A. Ashworth, *Marked for death: targeting epigenetic changes in cancer*. Nature Reviews Drug Discovery, 2017. **16**(4): p. 241.
109. Balgkouranidou, I., T. Liloglou, and E.S. Lianidou, *Lung cancer epigenetics: emerging biomarkers*. Biomarkers in medicine, 2013. **7**(1): p. 49-58.
110. Liloglou, T., et al., *Epigenetic biomarkers in lung cancer*. Cancer letters, 2014. **342**(2): p. 200-212.
111. Mehta, A., et al., *Epigenetics in lung cancer diagnosis and therapy*. Cancer and Metastasis Reviews, 2015. **34**(2): p. 229-241.
112. Van Den Broeck, A., et al., *Lung cancer: a modified epigenome*. Cell adhesion & migration, 2010. **4**(1): p. 107-113.
113. Augert, A., et al., *Small cell lung cancer exhibits frequent inactivating mutations in the histone methyltransferase KMT2D/MLL2: CALGB 151111 (Alliance)*. Journal of Thoracic Oncology, 2017. **12**(4): p. 704-713.
114. Campbell, J.D., et al., *Distinct patterns of somatic genome alterations in lung adenocarcinomas and squamous cell carcinomas*. Nature genetics, 2016. **48**(6): p. 607.
115. Imielinski, M., et al., *Mapping the hallmarks of lung adenocarcinoma with massively parallel sequencing*. Cell, 2012. **150**(6): p. 1107-1120.

116. Simó-Riudalbas, L., et al., *KAT6B is a tumor suppressor histone H3 lysine 23 acetyltransferase undergoing genomic loss in small cell lung cancer*. Cancer research, 2015: p. canres. 3702.2014.
117. Van Haaften, G., et al., *Somatic mutations of the histone H3K27 demethylase gene UTX in human cancer*. Nature genetics, 2009. **41**(5): p. 521.
118. Jackman, D.M. and B.E. Johnson, *Small-cell lung cancer*. The Lancet, 2005. **366**(9494): p. 1385-1396.
119. Prins, J., E.V. De, and N. Mulder, *The myc family of oncogenes and their presence and importance in small-cell lung carcinoma and other tumour types*. Anticancer research, 1993. **13**(5A): p. 1373-1385.
120. Schmidt, E.V., *The role of c-myc in regulation of translation initiation*. Oncogene, 2004. **23**(18): p. 3217.
121. Brennan, J., et al., *myc family DNA amplification in 107 tumors and tumor cell lines from patients with small cell lung cancer treated with different combination chemotherapy regimens*. Cancer research, 1991. **51**(6): p. 1708-1712.
122. Johnson, B.E., et al., *myc family DNA amplification in small cell lung cancer patients' tumors and corresponding cell lines*. Cancer research, 1988. **48**(18): p. 5163-5166.
123. Akie, K., et al., *A combination treatment of c-myc antisense DNA with all-trans-retinoic acid inhibits cell proliferation by downregulating c-myc expression in small cell lung cancer*. Antisense and Nucleic Acid Drug Development, 2000. **10**(4): p. 243-249.
124. Johnson, B.E., et al., *Changes in the phenotype of human small cell lung cancer cell lines after transfection and expression of the c-myc proto-oncogene*. The Journal of clinical investigation, 1986. **78**(2): p. 525-532.
125. Whang-Peng, J., et al., *Specific chromosome defect associated with human small-cell lung cancer; deletion 3p (14-23)*. Science, 1982. **215**(4529): p. 181-182.
126. Naylor, S., et al., *Loss of heterozygosity of chromosome 3p markers in small-cell lung cancer*. Nature, 1987. **329**(6138): p. 451.
127. Dammann, R., T. Takahashi, and G.P. Pfeifer, *The CpG island of the novel tumor suppressor gene RASSF1A is intensely methylated in primary small cell lung carcinomas*. Oncogene, 2001. **20**(27): p. 3563.
128. Brauch, H., et al., *Molecular analysis of the short arm of chromosome 3 in small-cell and non-small-cell carcinoma of the lung*. New England Journal of Medicine, 1987. **317**(18): p. 1109-1113.
129. Brauch, H., et al., *Molecular mapping of deletion sites in the short arm of chromosome 3 in human lung cancer*. Genes, Chromosomes and Cancer, 1990. **1**(3): p. 240-246.
130. Kok, K., et al., *Deletion of a DNA sequence at the chromosomal region 3p21 in all major types of lung cancer*. Nature, 1987. **330**(6148): p. 578.
131. Whang-Peng, J., et al., *A nonrandom chromosomal abnormality, del 3p (14-23), in human small cell lung cancer (SCLC)*. Cancer Genetics, 1982. **6**(2): p. 119-134.
132. Yokota, J., et al. *Multiple genetic alterations in small-cell lung carcinoma*. in Princess Takamatsu symposia. 1989.
133. Fong, K.M., et al., *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 research, 1997. **57**(11): p. 2256-2267.
134. Velickovic, M., B. Delahunt, and S.K. Grebe, *Loss of heterozygosity at 3p14. 2 in clear cell renal cell carcinoma is an early event and is highly localized to the FHIT gene locus.* Cancer research, 1999. **59**(6): p. 1323-1326.
 135. Boldog, F., et al., *Chromosome 3p14 homozygous deletions and sequence analysis of FRA3B.* Human molecular genetics, 1997. **6**(2): p. 193-203.
 136. Kastury, K., et al., *Potential gastrointestinal tumor suppressor locus at the 3p14. 2 FRA3B site identified by homozygous deletions in tumor cell lines.* Cancer research, 1996. **56**(5): p. 978-983.
 137. Lubinski, J., et al., *Common regions of deletion in chromosome regions 3p12 and 3p14. 2 in primary clear cell renal carcinomas.* Cancer research, 1994. **54**(14): p. 3710-3713.
 138. Ohta, M., et al., *The FHIT gene, spanning the chromosome 3p14. 2 fragile site and renal carcinoma-associated t (3; 8) breakpoint, is abnormal in digestive tract cancers.* Cell, 1996. **84**(4): p. 587-597.
 139. Sozzi, G., et al., *Absence of Fhit protein in primary lung tumors and cell lines with FHIT gene abnormalities.* Cancer research, 1997. **57**(23): p. 5207-5212.
 140. Tokuchi, Y., et al., *Abnormal FHIT transcripts found in both lung cancer and normal lung tissue.* Genes, Chromosomes and Cancer, 1999. **24**(2): p. 105-111.
 141. Kallioniemi, A., et al., *Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors.* Science, 1992. **258**(5083): p. 818-821.
 142. Schröck, E., et al., *Multicolor spectral karyotyping of human chromosomes.* Science, 1996. **273**(5274): p. 494-497.
 143. Blakeslee, A.F. and A.G. Avery, *Methods of inducing doubling of chromosomes in plants: by treatment with colchicine.* Journal of Heredity, 1937. **28**(12): p. 393-411.
 144. Caspersson, T., et al., *Chemical differentiation along metaphase chromosomes.* Experimental cell research, 1968. **49**(1): p. 219-222.
 145. McGowan, J. and M. Schmid, *An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2016).* 2016, Karger: Basel, Switzerland.
 146. Riegel, M., *Human molecular cytogenetics: from cells to nucleotides.* Genetics and molecular biology, 2014. **37**(1): p. 194-209.
 147. Gall, J.G. and M.L. Pardue, *Formation and detection of RNA-DNA hybrid molecules in cytological preparations.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 1969. **63**(2): p. 378-383.
 148. John, H., M. Birnstiel, and K. Jones, *RNA-DNA hybrids at the cytological level.* Nature, 1969. **223**(5206): p. 582.
 149. Langer, P.R., A.A. Waldrop, and D.C. Ward, *Enzymatic synthesis of biotin-labeled polynucleotides: novel nucleic acid affinity probes.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 1981. **78**(11): p. 6633-6637.
 150. German, J. *Asynchronous thymidine uptake by human chromosomes.* in *JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION.* 1961. AMER SOC CLINICAL INVESTIGATION INC ROOM 4570 KRESGE I, 200 ZINA PITCHER PLACE, ANN ARBOR, MI 48109-0560.
 151. Jensen, E., *Technical review: In situ hybridization.* The Anatomical Record, 2014. **297**(8): p. 1349-1353.
 152. Pardue, M.L. and J.G. Gall, *Chromosomal localization of mouse satellite DNA.* Science, 1970. **168**(3937): p. 1356-1358.

153. Kearney, L., *Molecular cytogenetics*. Best Practice & Research Clinical Haematology, 2001. **14**(3): p. 645-668.
154. Liehr, T. and F. Pellestor, *Molecular cytogenetics: the standard FISH and PRINS procedure*, in *Fluorescence In Situ Hybridization (FISH)—Application Guide*. 2009, Springer. p. 23-34.
155. Wolff, D.J., *Fluorescence in situ Hybridization (FISH)*, in *The principles of clinical cytogenetics*. 2013, Springer. p. 415-439.
156. Govindan, R., et al., *Changing epidemiology of small-cell lung cancer in the United States over the last 30 years: analysis of the surveillance, epidemiologic, and end results database*. Journal of clinical oncology, 2006. **24**(28): p. 4539-4544.
157. Ettinger, D.S. and J. Aisner, *Changing face of small-cell lung cancer: real and artifact*. 2006, American Society of Clinical Oncology.
158. Lukeis, R., et al., *Chromosome abnormalities in non-small cell lung cancer pleural effusions: Cytogenetic indicators of disease subgroups*. Genes, Chromosomes and Cancer, 1993. **8**(4): p. 262-269.
159. Burholt, D.R., et al., *Karyotypic evolution of a human undifferentiated large cell carcinoma of the lung in tissue culture*. Cancer research, 1989. **49**(12): p. 3355-3361.
160. Sundareshan, T. and M. Augustus, *Cytogenetics of non-small cell lung cancer: simple technique for obtaining high quality chromosomes by fine needle aspirate cultures*. Cancer Genetics, 1996. **91**(1): p. 53-60.
161. Testa, J.R., et al., *Cytogenetic analysis of 63 non-small cell lung carcinomas: Recurrent chromosome alterations amid frequent and widespread genomic upheaval*. Genes, Chromosomes and Cancer, 1994. **11**(3): p. 178-194.
162. Testa, J.R., et al., *Advances in the analysis of chromosome alterations in human lung carcinomas*. Cancer genetics and cytogenetics, 1997. **95**(1): p. 20-32.
163. Chapiro, E., et al., *Sex chromosome loss may represent a disease-associated clonal population in chronic lymphocytic leukemia*. Genes, Chromosomes and Cancer, 2014. **53**(3): p. 240-247.
164. Center, R., et al., *Y chromosome loss and rearrangement in non-small-cell lung cancer*. International journal of cancer, 1993. **55**(3): p. 390-393.
165. D'Alessandro, E., et al., *Cytogenetic findings in primary non-small cell lung cancer*. Tumori, 1994. **80**(2): p. 151-156.
166. Tran, Y., et al., *Novel regions of allelic deletion on chromosome 18p in tumors of the lung, brain and breast*. Oncogene, 1998. **17**(26): p. 3499-505.
167. Pachajoa, H., *[Deletion on the short arm of chromosome 18 syndrome diagnosed by array comparative genomic hybridization. Presentation of one case with a mild phenotype]*. Arch Argent Pediatr, 2016. **114**(6): p. e448-e449.
168. Hayashi, M., et al., *Genomic alterations detected by comparative genomic hybridization in primary lung adenocarcinomas with special reference to the relationship with DNA ploidy*. Oncol Rep, 2005. **14**(6): p. 1429-35.
169. Petersen, I., et al., *Chromosomal imbalances in brain metastases of solid tumors*. Brain Pathol, 2000. **10**(3): p. 395-401.
170. Lopez, G.P., et al., *Dysmorphic Features, Frontal Cerebral Cavernoma, and Hyperglycemia in a Girl with a De Novo Deletion of 7.23 Mb in Region 7p13-p12.1*. J Clin Res Pediatr Endocrinol, 2017. **9**(4): p. 355-359.

171. Wang, H.Y., et al., *An extranodal nasal natural killer/T-cell lymphoma with isochromosome 7q10 as the sole cytogenetic aberration was initially diagnosed via bone marrow biopsy*. Arch Pathol Lab Med, 2007. **131**(11): p. 1709-14.
172. Thorstensen, L., et al., *Identification of two potential suppressor gene regions on chromosome arm 14q that are commonly lost in advanced colorectal carcinomas*. Scand J Gastroenterol, 2001. **36**(12): p. 1327-31.
173. Wu, A., et al., *Renal cell carcinoma in children and young adults: analysis of clinicopathological, immunohistochemical and molecular characteristics with an emphasis on the spectrum of Xp11.2 translocation-associated and unusual clear cell subtypes*. Histopathology, 2008. **53**(5): p. 533-44.
174. Burke, L., et al., *Allelic deletion analysis of the FHIT gene predicts poor survival in non-small cell lung cancer*. Cancer research, 1998. **58**(12): p. 2533-2536.
175. Chang, X., et al., *Expression of FHIT gene in precancerous lesions and primary lung cancer tissues*. Zhongguo fei ai za zhi= Chinese journal of lung cancer, 2006. **9**(4): p. 320-324.
176. Chen, J., et al., *A study on transcript abnormalities of FHIT gene in human non-small cell lung cancer*. Zhongguo fei ai za zhi= Chinese journal of lung cancer, 2000. **3**(4): p. 245-249.
177. Toledo, G., et al., *Loss of FHIT protein expression is related to high proliferation, low apoptosis and worse prognosis in non-small-cell lung cancer*. Modern pathology, 2004. **17**(4): p. 440.
178. Tomizawa, Y., et al., *Clinicopathological significance of Fhit protein expression in stage I non-small cell lung carcinoma*. Cancer research, 1998. **58**(23): p. 5478-5483.
179. Wali, A., et al., *Loss of fragile histidine triad gene expression in advanced lung cancer is consequent to allelic loss at 3p14 locus and promoter methylation*. Mol Cancer Res, 2006. **4**(2): p. 93-9.
180. Yichang, S., *The Relationship between FHIT Gene Promoter Methylation and Lung Cancer Risk: a Meta-analysis*. Chinese Journal of Lung Cancer, 2014. **17**(3).
181. Zhou, Q., et al., *A study on the allelic deletion and mutation of FHIT gene in human non-small cell lung cancer*. Zhongguo fei ai za zhi= Chinese journal of lung cancer, 2001. **4**(1): p. 10-14.
182. Zöchbauer-Müller, S., et al., *5' CpG island methylation of the FHIT gene is correlated with loss of gene expression in lung and breast cancer*. Cancer research, 2001. **61**(9): p. 3581-3585.
183. Zhao, P., et al., *Clinicopathological analysis of loss of fragile histidine triad expression in lung cancer*. Zhongguo fei ai za zhi= Chinese journal of lung cancer, 2002. **5**(5): p. 345-348.

ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Akciğer kanserleri dünya çapında yaygın olan kanser türlerinden biridir ve tüm kanser türlerinin yaklaşık üçte birini oluşturur. Yayılma hızı 75 yaşından sonra daha çok artmaktadır. Hastaların %90'ından fazlası erkek olup, ve yine nedeninde de %90 sigaranın rolü olduğu saptanmaktadır. Sigara tüketimini azaltan gelişmiş ülkelerde akciğer kanserine yakalanan kişi sayısı azalırken, sigara tüketimi artan gelişmiş ülkelerde bu sayı artmaktadır.

Akciğer kanserinin farklı iki türü olan Küçük Hücreli Akciğer Kanseri (KHAK) tüm akciğer kanserlerinin %20-25'ini, Adenokarsinomlar ise %40'a yakını kapsar. KHAK'ler ve Adenokarsinomlarda 3. Kromozomun küçük kolunun anomalileri (3p) en yaygın olan kromozom anomalileridir.

Bu çalışmada amaç; 50 hastanın perifer kanı kültürlerinde İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Sitogenetik laboratuvarında konvansiyonel sitogenetik teknikleriyle kromozom anomalileri incelenecek ve Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) yöntemiyle 3p14 bölgesinde bulunan FHIT geninin kaybı araştırılacaktır.

Bu çalışma için, rutin tetkik amacıyla verdiğiniz kan materyaliniz araştırma amacıyla laboratuvarımızda kullanılacaktır. Yurtdışına herhangi bir materyal gönderilmeyecektir.

Kabul etmeniz halinde katılacağınız bu çalışma bir araştırmadır. Araştırmacının amacı hastalığınız ile ilişkili olduğu düşünülen 3. kromozom anomalileri ile FHIT geninin kaybolmasını incelemektir. Sizden alınan kan materyalinde meydana gelen kromozom anomalileri konvansiyonel sitogenetik yöntemiyle, FHIT geninin kaybolması ise floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemi ile tespit edilecektir.

Gönüllü olarak katıldığınız bu araştırma üzerinde sizin herhangi bir sorumluluğunuz bulunmamaktadır. Araştırma boyunca sizden hiçbir maddi katkı talebi olmayacak ve bağlı olduğunuz sağlık kurumuna da (SGK) herhangi bir ücret ödetilmeyecektir. Bu çalışma sizin için herhangi bir rahatsızlık veya risk oluşturmayacaktır. Kısa dönemde size bir fayda sağlamayacak ancak uzun dönemde hastalığınızın prognozunu, olası metastaz durumunun kan hücrelerinde öngörülmesini ve alternatif tedavi geliştirebilmesi bakımından yarar sağlayacaktır.

Araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlı olup araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz. Reddetmeniz halinde tedavinize engel ya da cezai bir durum ortaya çıkmayacaktır. İzleyiciler, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar size ait tıbbi bilgilere ulaşılabilir ancak bu bilgiler gizli tutulacaktır.

Siz veya yasal temsilciniz 'Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu' nu imzalamakla bunu kabul etmiş olacaksınız. Kimliğinizi ortaya koyacak kayıtlar gizli tutulacaktır. Araştırma esnasında sizi ilgilendirecek bir bilgi söz konusu olduğunda size veya yasal temsilcinize derhal haber verilecektir.

esnasında sizi ilgilendirecek bir bilgi söz konusu olduğunda size veya yasal temsilcinize derhal haber verilecektir.

Sizin araştırma hakkında veya araştırmayla ilgili herhangi bir konu hakkında daha fazla bilgi temin edebilmeniz için temasa geçebileceğiniz kişiler ve/veya araştırmacılara günün içinde erişebileceğiniz telefon numarası; (0212) 414 30 00 / 21801'dir. Araştırmada yer alacağınız öngörülen süre maksimum 1 buçuk yıl olacaktır. Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı 70'dir.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum, dinledim, anladım, istediğim soruları sordum ve cevapları aldım. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi biliyorum. Bu klinik araştırmaya, gönüllü olarak, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

“Küçük hücreli ve adenokarsinom tanılı akciğer kanseri olgularında perifer kanda 3p anomalilerinin sitogenetik ve FISH yöntemiyle incelenmesi” adlı çalışma kapsamında alınan kan materyalimin;

Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum. ☐

İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum. ☐

Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum. ☐

Hasta/ hasta yakını Adı, Soyadı

İmzası

Tarih

Açıklama yapan araştırmacı Adı, Soyadı

İmzası

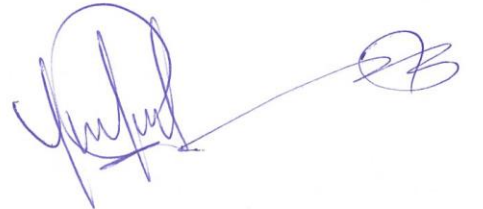
Tarih

Olur alma işlemine tanık olan kişinin

İmzası

Tarih

Adı, Soyadı

ETİK KURUL KARARI

Tarih ve Sayı: 02/11/2016-395435



T.C.
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı :83045809-604.01.02-
Konu :Yüks.Lis.Öğr. Narmin
Bakhshaliyeva'nın etik kurul kararı
A-49

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi :21.10.2016 tarih, 66018902-050.99-380580 sayılı yazı

Anabilim Dalınız öğretim üyesi **Doç.Dr.Yelda Tarkan ARGÜDEN**'in danışmanlığında Yüksek Lisans Öğrencisi **Narmin BAKHSHALİYEVA**'nın yürütücülüğünde **Prof.Dr.Gül ÖNGEN**'in yardımcılığında "**Küçük Hücreli ve Adenokarsinom Tanılı Akciğer Kanseri Olgularında Perifer kanda 3p Anomalilerinin Sitogenetik ve FISH Yöntemiyle İncelenmesi**" başlıklı Yüksek Lisans Tezi hakkında ilgi yazınız ve ekleri **01 Kasım 2016** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup;Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Başkan

EK :
1 dosya elden teslim edilecektir.

Doğrulamak için:<http://194.27.128.66/envision.Sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BE6ELR9H0>

Ayrıntılı bilgi için irtibat : Güler SOYDANER Dahili : 22300

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/ İSTANBUL

Tel : 0 (212) 414 30 00 21107- 21108 Fax : 0 (212) 632 00 33

e-posta : ctfpersonel@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : www.istanbul.edu.tr

Tarih ve Sayı: 11/05/2017-179700



T.C.
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı :83045809-604.01.02-
Konu :Yük.Lis.Öğr. Narmin
BAKHSHALİYEVA H-02 Etik
Kurul Kararı

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi :30.03.2017 tarih, 66018902-050.99-124008 sayılı yazı

Anabilim Dalınız öğretim üyesi **Doç.Dr.Yelda Tarkan ARGÜDEN**'in danışmanlığında **Yüksek Lisans Öğrencisi Narmin BAKHSHALİYEVA**'nın yürütücülüğünde **Prof.Dr.Gül ÖNGEN**'in yardımcılığında "**Küçük Hücreli ve Adenokarsinom Tanılı Akciğer Kanseri Olgularında Perifer kanda 3p Anomalireninin Sitogenetik ve Fish Yöntemiyle İncelenmesi**" başlıklı Yüksek Lisans Tezi (Araştırma Fonu) çalışmasına **Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesinde görevli Doç.Dr.Esin Bil TUNCAY**'ın yardımcı araştırmacı olarak katılması hakkında yazı yazı eklerinin **02 Mayıs 2017** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup; etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Başkan

Doğrulamak için:<http://194.27.128.66/envision.Sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BENUNESAC>

Ayrıntılı bilgi için irtibat : Arzu KARA

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/ İSTANBUL
Tel : 0 (212) 414 30 00 21107- 21108 Fax : 0 (212) 632 00 33
e-posta : ctfpersonel@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : www.istanbul.edu.tr

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

KÜÇÜK HÜCRELİ VE ADENOKARSİNOM TANILI AKCİĞER KANSERİ OLGULARINDA PERİFER KANDA 3P ANOMALİLERİNİN SİTOGENETİK VE FISH YÖNTEMİYLE İNCELENMESİ

ORIJİNALLIK RAPORU

%2	%1	%1	%1
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<%1
2	adnanaydiner.com İnternet Kaynağı	<%1
3	Submitted to Konya Necmettin Erbakan University Öğrenci Ödevi	<%1
4	library.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
5	Submitted to Middle East Technical University Öğrenci Ödevi	<%1
6	Submitted to Gaziantep Aniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
7	NURSAL, Ayşe Feyda. "KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİNDE MET GENİNİN	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Narmin	Soyadı	Bakhshaliyeva
Doğ.Yeri	Azerbaycan	Doğ.Tar.	03.04.1994
Uyruğu	Azerbaycan	TC Kim No	99155171536
Email	b.narmin@hotmail.com	Tel	05366577667

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	Azerbaycan Tıp Üniversitesi	2015
Lise	25 Numaralı Okul	2009

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(YDS) Puanı
İngilizce	İyi	Orta	İyi		55
Rusca	İyi	Orta	İyi		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	68	67	63
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

