

44159

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

AKCİĞER KARSİNOMLARINDAN KURULAN DOKU  
KÜLTÜRLERİNDE SİTOGENETİK ÇALIŞMALAR

T-44159

DOKTORA TEZİ

Sibel BERKER-KARAÜZÜM

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr.Güven LÜLECİ

"Tezimden kaynakça gösterilerek yararlanılabilir."

ANTALYA - 1995

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

# İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tümörlerin Sınıflandırılması	3
2.2. Kanserde Somatik Mutasyon Teorisi	4
2.3. Tümör Gelişiminde Rol Oynayan Genler	8
2.4. Kanserde Kromozomal Abnormaliteler	17
2.5. Akciğer Karsinomlarının Sınıflandırılması	21
2.6. Akciğer Karsinomlarında Kromozomal Abnormaliteler	25
3. MATERYAL VE METOD	29
3.1. Kültürlerin Kurulması	30
3.2. Kromozom Analizi	32
3.2.1. Primer Doku Kültüründen Kromozom Eldesi	34
3.2.2. Periferik Kan Kültüründen Kromozom Eldesi	34
3.3. GTG Bantlama Tekniği	35
3.4. Mikroskopik Analiz ve Fotoğrafik İşlemler	36
4- BULGULAR	37
4.1. Yalnız Yapısal Anormallik Gözlenen Olgular	43
4.2. Yalnız Sayısal Anormallik Gözlenen Olgular	43
4.3. Sayısal ve Yapısal Anormalliklerin Birlikte Görüldüğü Olgular	45
5- TARTIŞMA	63
ÖZET	76
SUMMARY	78
6- KAYNAKLAR	80

## TEŞEKKÜR

1987 yılından beri bilimsel düşünebilme , bu düşünceleri uygulayabilme ve aktarabilme yollarını bana öğreten doktora tez konumun seçimi, deney aşaması ve yazımı sırasında her zaman en büyük destek ve değerli katkılarını gördüğüm, saygıdeğer hocam yöneticim Prof.Dr.Güven LÜLECİ'ye,

Anabilim Dalımız öğretim üyeleri Doç.Dr.Gülseren BAĞCI ve Doç.Dr.Hüseyin BAĞCI'ya,

Tüm asistan arkadaşlarıma , özellikle bilgisayarda teknik işleri üstlenen Arş.Gör.Özgül ALPER'e, ve İbrahim AÇIKBAŞ'a, tez resimlerimin basımında yardımcı olan Arş. Gör. İbrahim KESER'e,

Patoloji Anabilim dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Nadir PAKSOY'a ve öğretim görevlisi Dr.Gülay ÖZBİLİM'e,

Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Abid DEMİRCAN'a, aynı Anabilim Dalında Arş.Gör.Dr.Abdullah ERDOĞAN'a, Dr.Akın KUZUCU'ya,

Teknisyenimiz Ali Osman KETENCİ'ye, ve sabırla yazım işlerini üstlenen sekreterimiz Neriman GALİN'a,

Tez çalışmalarım süresince desteğini benden esirgemeyen rahmetli beybam İrfan BERKER'e teşekkür ederim.

## GİRİŞ

Bugün, kanser dünyanın pek çok bölgesinde, erken ölüm oranı ve ekonomik kayıplara yol açması yönünden, kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer almakta ve tüm dünyada bir yılda altı milyon insan kanserden ölmektedir.

Kanserlerin % 70-80' inin çevresel faktörlerden kaynaklandığı kabul edilirken, bireysel genetik yapısında, kanserin gelişiminde temel rol oynadığı bilinmektedir. Kanser ve genetik instabilitenin birbiriyle yakın ilişkide olması, bilim adamlarını kanserde kromozom değişikliklerinin incelenmesine doğru yönlendirmiştir. İlk ve yoğun sitogenetik çalışmalar hematolojik malignansilerde gerçekleşmiş, bunu lenfomalar ve daha sonrada solid tümörler izlemiştir. Tüm kanserlerin büyük bir kısmını solid tümörler oluşturmasına rağmen, lösemilerle kıyaslandığında, çalışılan olgu sayısı ve bildirilen özgül kromozom anormallikleri oldukça sınırlı sayıda kalmıştır. Bunun başlıca nedenleri; solid tümörlerin genetiğinin çalışılmasında karşılaşılan teknik zorluklar ve hematolojik malignansilere göre çok daha yavaş bölünmeleri olmuştur. Son yıllarda solid tümörlerin üremesini indükleyecek özel besi ortamlarının geliştirilmesi, ileri teknik donanımların sağlanması ile solid tümörlerle yapılan sitogenetik çalışmaların sayısında belirgin bir artış olmuştur.

Toplumumuzda sık gözlenen beş kanserden biride akciğer kanseridir. Günümüze kadar oldukça heterojen hücre popülasyonuna sahip akciğer tümörlerinden yalnızca küçük hücreli akciğer karsinomlarına özgül primer kromozomal değişiklik belirlenmiştir. Küçük hücreli olmayan diğer akciğer tümörlerinde ise özellikle adenokarsinomlarda sıklıkla izokromozom tipi kromozom anormallikleri gözlenmiş ancak diğer kanser tiplerinde de aynı tip yapısal anormallikler gözleendiğinden özgüllük sözkonusu olmamıştır. Ayrıca Y kromozomunun kaybı, trizomi 7 gibi aneuploidi tarzında sayısal değişikliklerde pekçok akciğer tümöründe görülmüştür. Çoğu olguda, tümöre özgül olan ve tek kromozom değişikliği olarak kabul edilen primer abnormalitelerden ziyade, klinik olarak hastalığın tanısı konulduğunda hastalık geç dönemde semptom verdiğinden ve hastalığın ilerlemiş dönemde olmasından dolayı, total kromozom sayısında poliploidi tarzında sayısal artış ve çoklu sekonder kromozom değişiklikleri gözlenmiştir.

Bu çalışmada ülkemizde ilk kez toplumumuzda oldukça sık görülen akciğer karsinomlarından primer doku kültürü kurularak, akciğer tümörlerinin tüm alt gruplarında sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin gözlenmesi, özellikle küçük hücreli olmayan diğer akciğer tümörlerine özgül kromozomal değişikliklerin bulunması ve hastalığın etiyojisinde klinisyenleri yönlendirici sonuçların alınması amaçlanmıştır.

## **GENEL BİLGİLER**

Hücre çoğalmasında kontrolün ortadan kalkması, hücrelerarası ve bu hücrelerin çevreleri ile etkileşimlerindeki bozukluklar sonucunda ortaya çıkan anormal hücre yapısı "neoplazm" yada "tümör" adı verilen kitleyi oluşturur. Bu kitle belirli bir bölgede lokalize ve kapsüle formda olup, normal hücre gibi fonksiyon gördüğü zaman "iyi huylu" yada "benign" tümör olarak adlandırılır. Eğer tümör bulunduğu bölgeye invaze olup daha uzaktaki doku ve organlara metastazı söz konusu ise "kötü huylu" yada "malign" tümör olarak isimlendirilir (1).

### **TÜMÖRLERİN SINIFLANDIRILMASI**

Benign ve malign tüm tümörler iki temel komponent içerirler.

- 1- Çoğalan neoplastik hücrelerin meydana getirdiği parankimal komponent öncelikle tümörlerin sınıflandırılmasında esas alınmaktadır.
- 2- Bağ dokusu ve kan damarlarından oluşan stroma komponenti.

### **Benign Tümörler**

Benign mezenşimal tümörler; hücre orijinine göre sınıflandırılırlar. Örn. Lipom, Fibrom, Angiom (1).

Benign epitelyal tümörler; Genel olarak "adenom" olarak tanımlanırlar. Bunların bir kısmı hücre orijinine bir kısmı ise mikroskopik yapı ve makroskopik görünümüne göre sınıflandırılırlar. Örn.Papillom (epitelyal yüzeyden parmak şeklinde çıkıntı yapan neoplastik yapı), kistadenom gibi (1).

### **Malign tümörler**

Malign tümörlerin sınıflandırılmasında da benign neoplazmlar için kullanılan şema takip edilir (1,2).

Sarkom; mezenşimal doku kökenli kanser tipi olup, çok az bağ dokusu içerir. Örn.Liposarkom, fibrosarkom.

Karsinom; epitel hücre kökenli malign tümör tipi olup, 3 embriyonik tabakanın birinden ortaya çıkar.

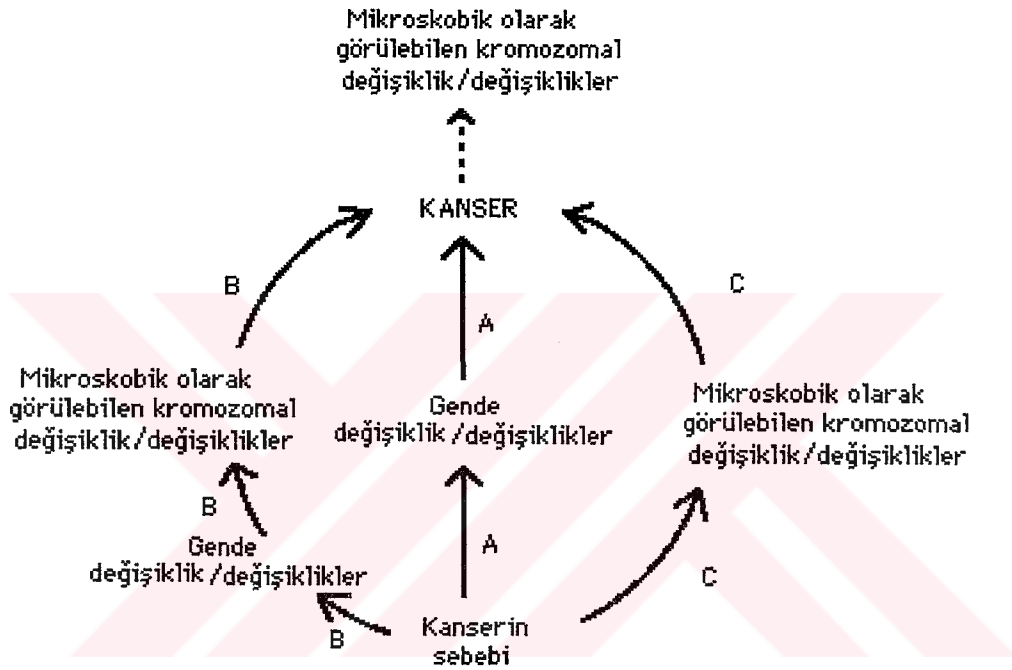
Lösemiler; hemopoetik sistem orijinli neoplazmlardır

Lenfomalar:lenfoid kökenli neoplazmlardır.

### **KANSERDE SOMATİK MUTASYON TEORİSİ**

İlk kez Von Hansemann (1890) somatik hücre genomundaki abnormaliteler ile kanser arasında bir ilişki olabileceğini ileri sürmüştür. Daha sonra bu görüşe paralel olarak 1914'de Boveri, bugün de geçerliliğini koruyan, kanserde somatik hücre mutasyon teorisini ortaya atmıştır(3). İki spermle döllenmiş deniz kestanesi yumurtalarında anormal mitotik bölünmelerin, kardeş hücrelerde kromozom kayıplarına ve gastrula evresinde atipik kitlelere neden olduğunu gözleyen Boveri, bu anormal dokuların tümörlerde görülen differensiyasyon geçirmiş doku kitlelerine benzediğini düşünmüştür. Böylece genetik materyaldeki somatik bir değişikliğin kansere neden olabileceğini ileri sürmüştür. Bu teoriye göre, kanser hücresi monoklonaldır yani tek bir hücreden orijin almıştır.

Sonuçta karsinogeneziste hücresel teori, genetik terimlere dayandırılmış olur. Boveri'nin somatik mutasyon teorisi ile kanserin ilk defa genetik bir hastalık olduğuna dikkat çekilmiştir. Normal bir hücrenin neoplastik transformasyonu için gerekli olan genetik değişiklikler çoğunlukla kromozomal değişikliklerdir (Şekil 1)(4)



Şekil 1. Kanser ve kromozom ilişkisi, Sandberg,A. .The chromosome in human cancer and leukemia. 1990,s: 753.

### TÜMÖR KLONALİTESİ

Somatik mutasyon teorisi ile neoplazmların parankim hücrelerinin klonal orijini ilk kez gündeme gelmiş ve son yıllarda özellikle üç ana çalışma ile çoğu tümörlerin monoklonal olduğu desteklenmiştir.



1- Neoplazmlarda izoenzim çalışmaları; X kromozomu üzerinde Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz enzimini kodlayan gen lokusu için heterozigot uterus leiomyomlu kadınlarda iki G-6-PD varyantlarından yalnızca birinin ifade edildiği gösterilmiştir (GdA, GdA<sup>-</sup> veya GdB). Buna karşılık nonneoplastik miyometriyumda bu izoenzimlerin ikisinin birlikte bulunduğu saptanmıştır (5). X kromozomu üzerinde moleküler düzeyde yapılan RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) çalışmaları ile birkaç farklı tümör tipinin monoklonal orijinli olduğu gözlenmiştir. Klonaliteyi tesbit etmek için 2 farklı restriksiyon endonükleaz enzimi kullanılmıştır. Bu enzimlerden birincisi heterozigot bireyde bir genin allellerinin maternal ve paternal orijinini belirlemekte, ikinci enzim ise metilasyon farklılıklarını tanımakta ve böylece kromozom üzerindeki aktif ve inaktif bölgeleri ayırt etmektedir. Poliklonal dokulardan elde edilen DNA'da hücrelerin bir kısmında maternal, bir kısmında ise paternal X kromozomu inaktif bulunmuştur. Bu durumda her iki allel aynı derecede etkilidir. Oysa ki monoklonal hücre populasyonlarında tüm hücrelerde aynı X kromozomunun inaktif olduğu gösterilmiştir (6).

2- Lenfoid B hücre neoplazmlarında; Kemik iliği orijinli lenfositler (B lenfositler) yüzey immunoglobulinlerin büyük kısmını taşımaktadırlar. Neoplastik lenfositlerle yapılan çalışmalarda, hücre yüzeyinde reseptörün ya kappa ya da lamda olacak şekilde tek tip hafif zincir izotipini bulundurduğu gözlenmiştir (7). İmmunoglobulin ve T hücre reseptör genleri ile yapılan çalışmalarda da tüm neoplastik hücrelerin yüzeyinde aynı genetik yapıya sahip olduklarının bulunması ile lenfositik neoplazmların da monoklonal orijinli olduğu gösterilmiştir (8).

3- Tümör sitogenetiği: Sitogenetik olarak incelenmiş tümörlerin çoğunda, bu tümörlerin klonal orijinli olduğunu gösteren kromozomal değişiklikler bulunmuştur. Bununla birlikte sözü edilen bu çalışmalar, tümörün yalnızca çalışıldığı anda monoklonal olduğunu gösterir. Tümörün gelişiminin daha erken dönemlerinde bunlar poliklonal olabilir. Çoğu hücre pekçok çevresel ajana maruz kalarak değişikliklere

uğrar ve tümörün başlamasına neden olabilir (9). Böyle bir durumda tümör herhangi bir hücreden köken alabilir ve tüm doku alanı kanser eğilimli gibi görünebilir (10).

Pekçok histolojik ve klinik gözlemler, özellikle kanserli hastalarda bu görüşte birleşmektedir. Örneğin; dışı genital sisteminde hem fundus hem tuba hemde ovaryumda birden fazla malignansinin gelişmesi; morfolojik, histolojik ve mekanik olarak bu alanlarda tümör dokusunun lenf yada kan yoluyla taşınmadığını, aksine dışı genital sistemindeki bu farklı bölgelerde görülen birden fazla primer tümörün, multisentrik odaktan orijin aldığını düşündürmektedir(11). Aynı şekilde ağız bölgesindeki epidermoid kanserlerle yapılan çalışmada kanserin tek bir hücrede aniden ortaya çıkmadığını, önce henüz bilinmeyen bir ajana bir epitel alanın belirli bir süre maruz kalmasından sonra [ki buna "field cancerization denilmektedir] prekanseröz değişikliklerin ortaya çıktığı ifade edilmektedir. Bu geri dönüşü olmayan değişikliklerle ortaya çıkan malign hücrelerin multifokal alanlarda görülmesi kanserin poliklonal olduğu görüşünü desteklemektedir (12). Mesane mukozasında geniş bir biçimde invaze olan bir karsinom, üreter ve üretraya kadar yayılabilir. Mukozal ve bazal membran boyunca kendiliğinden yayılma olmaksızın bu yayılmayı tek bir klonun gerçekleştirmesi mümkün olmayabilir ve böyle intraepitelyal prekanseröz lezyonlar, poliklonal olarak değerlendirilmektedir (13). Squamöz hücre tümörlerinde birbiri ile ilişkisiz çok sayıda klona ait son yıllardaki sitogenetik bulgularda bazı tümörlerin multisentrik orijinli olabileceği ileri sürülmektedir (14-19).

### TÜMÖRÜN İLERLEMESİ

Neoplazmların orijini tek hücreli yada çok hücreli olsun, incelendiği zaman çoğunluğu heterojendir. Bunlar morfoloji, fonksiyon, büyüme potansiyeli ve ilaca dirençlilik gibi çok farklı karakterli hücrelerden oluşur. Gözlenen bu heterojenite dinamiktir. Zamanla çoğu tümör daha agresif davranır, invaze olur ve metastaz gözlenir. Tümörlerde kendiliğinden ortaya çıkan bu doğal gelişim işlemi (tümör ilerlemesi)

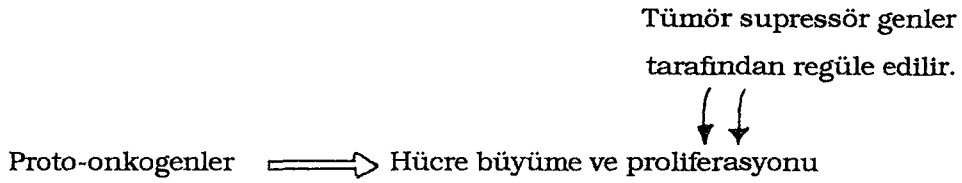
"tümör progresyonu" olarak tanımlanır (20). Bu ilerleme basamak tarzı bir sistemle oluşur. Her bir ilerleme basamağından bir yada birkaç genetik değişiklik sorumludur

Tek hücre orijinli neoplazmlarda değişikliğin meydana gelmesi, klonların gelişimi sırasında sonradan kazanılmış genetik instabilitenin sonucudur. Zaman ilerledikçe ardışık seçicilik, hem genotipik hemde fenotipik olarak anormal klonların gelişimine olanak verir. Darwin'in evrim teorisi benzeri bu işlem, gen kompozisyonundaki rastgele ortaya çıkan değişikliklerle yürütülür. Böyle bir evrimsel tümör ilerleme hipotezinden şöyle bir sonuç çıkarılabilir. Ele alındığı anda oldukça heterojen olan tümörler, daha sonraki ilerlemiş safhada tümörde çok agresif bir klonun yada subklonun aşırı büyümesi sonucunda homojen hale gelebilirler (21,22).

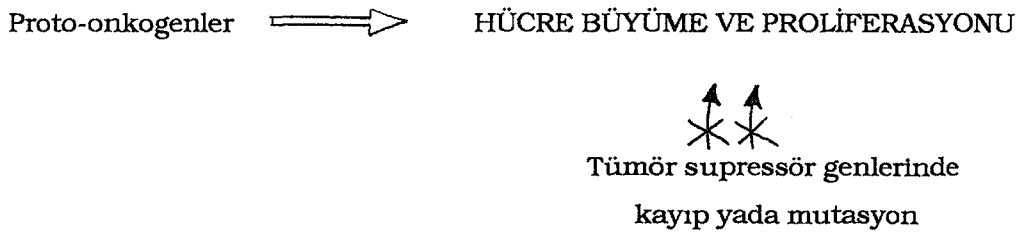
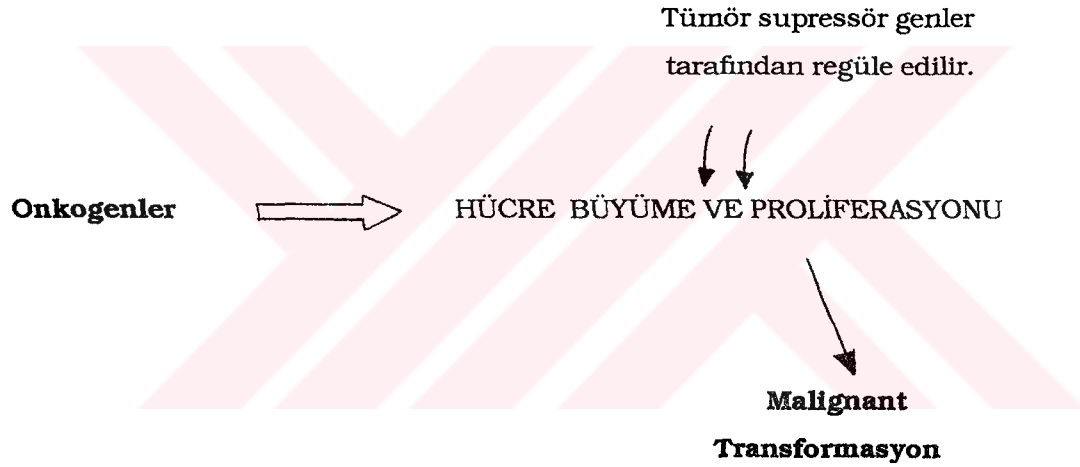
### **TÜMÖR GELİŞİMİNDE ROL OYNAYAN GENLER**

Onkogenler ve tümör supressör genler olmak üzere 2 önemli gen grubu onkogeneziste rol oynamaktadır. Onkogenlerin aktive olmadan önceki şekilleri proto-onkogen olarak adlandırılır ve bunlar normal hücre büyüme ve gelişmesinde, hücre çoğalma ve farklılaşmasının kontrolünde görev alırlar. Çeşitli etkenlerle aktive olan yada aşırı derecede ifade edilen veya mutasyona uğramış onkogen, hücre büyümesi ve gelişme-sindeki kontrolü ortadan kaldırır ve malignant transformasyon ortaya çıkar. Onkogenlerde bir allelin mutasyonu dominant özellik göstererek kanser oluşumu için yeterli olmakta ve protein ürün "gain of function" denilen olayla malign özellik kazanmaktadır. Onkogen mutasyonları embriyonel ve fötal gelişime imkan vermediğı için kansere kalıtsallıkta veya yatkınlıkta rolleri hemen hemen hiç yoktur. Onkogenlerin tersine, tümör supressör genlerdeki mutasyonlar resesif özelliktedir ve tümör supressör geninde her iki alleldeki mutasyonlarla malignansi gözlen-mektedir (23).

Normal Hücrede



Kanser hücresinde



Şekil 2: Kanser genlerinin aracılık ettiği onkogenezin mekanizmasını gösteren genel şema. Thompson M.W., Genetics in Medicine, 1991, s:366.

## A) Onkogenler

Onkogen aktivasyonunda çeşitli mekanizmalar rol oynamaktadır.

### 1) Nokta mutasyonu ile onkogen aktivasyonu

Çeşitli tümörlerden elde edilen DNA'lar immortal ancak non tümörjenik NIH 3T3 hücrelerine transfer edildiği zaman NIH 3T3 hücrelerinde tümörjenite meydana gelmiştir. Bu neoplazi gelişimi transformasyon yapan genlerin aktivasyonuna neden olan dominant genetik değişikliklerle ilgilidir. Bu yapısal değişiklikler yalnızca tek bir aminoasit değişimi ile ortaya çıkabilmektedir.

Nokta mutasyonu ile onkogen aktivasyonunun en iyi örneklerinden biri ras aktivasyonudur. Ras gen ailesi H-ras, K-ras, N-ras olmak üzere 3 fonksiyonel gen içerir. Mesane, akciğer, kolon, pankreas, myeloid lösemi gibi çok farklı tip tümörlerde yapılan incelemelerde bu 3 ras geninden bir tanesinde nokta mutasyonunun işe karıştığı gözlenmiştir (24). Akciğer adenokarsinomlarında ras onkogeninde nokta mutasyonu görülme sıklığı % 30 olarak belirlenmiştir. Sonuçta nokta mutasyonu sonucu aktive olan ras onkogeni tümör gelişiminde rol oynamaktadır (25).

### 2- Kromozomlarda yeniden düzenlenmelerle onkogen aktivasyonu

Kanserde sıklıkla görülen translokasyon, inversiyon, insersiyon ve pozisyon efekti gibi kromozom yapısındaki değişiklikler proto onkogenlerin ifadesini yada primer yapısını değiştirerek onkogen aktivasyonuna neden olurlar (26).

Bir translokasyon sonucunda gen ifadesindeki değişiklik ilk Burkitt lenfomada gösterilmiştir. Bu hastalıklı bireylerin hemen hepsi 3 özgül translokasyondan birini taşır: t(2;8)(p12;q24), t(8;14)(q24;q32), t(8;22)(q24;q11). Tüm aberasyonlardaki ortak özellik 8q24'deki kırılma noktasıdır. Bu band bölgesinde myc onkogeni lokalizedir (27). 14 nolu kromozomda immünglobulin ağır zincir geni, 2 nolu kromozomda kappa

hafif zincir geni ve 22 nolu kromozomda da lamda hafif zincir geni yer alır. t(8;14) sonucunda myc normal pozisyonundan 14q32 deki immüoglobulin ağır zincir lokusuna transloke olur. Oysaki diğer translokasyonlarda myc onkogeni yerinde kalırken immüoglobulin hafif zincir dizileri 8q24 deki myc lokusunun distaline yerleşir. Böyle bir lokalizasyon sonucunda myc geninin aşırı ifadesi söz konusudur. Bu yüksek seviyede bulunan myc proteininin, DNA replikasyonunda iş görerek, hücre proliferasyonun kontrolünün kaybına neden olduğu ileri sürül-müştür (28). Onkogen ve onkogen ürününde değişikliğe yol açan kromo-zomal düzenlemeye örnek ise, kronik myeloid lösemiye karakterize 9 ve 22 nolu kromozomlar arasındaki resiprokal translokasyondur t(9;22) (29). Bu translokasyon sonucunda normalde exon 2'nin distal ucunda bulunan abl proto-onkogeni , 9q34 bölgesinden 22q11'deki 5.8 kb'lık bcr gen bölgesine hareket eder. Bu translokasyon abl ve bcr elementlerini şimerik bir gen tarzında birleştirir. Bu gen tek bir anormal 8.5 kb'lık mRNA'ya transkribe olur. Bu hibrid abl-bcr mRNA'sı artmış tirozin kinaz aktivitesi olan yeni bir 210 kb'lık birleşik defektif bir proteinini şifreler (30,31). Bu kromozomal düzenlenme sonucunda değişen ürün onkogeneziste rol oynar.

### 3- Gen Amplifikasyonu

Gen amplifikasyonunun sitogenetik bulguları olan homojen boyanan bölgeler (HSR) ve/veya double minutler (dmin), tümör hücresinde sıklıkla görülür. İnsan tümörlerinde amplifiye olmuş DNA dizileri çoğunlukla onkogenleri içerir (32). Onkogen aktivasyon seviyesi genellikle klinik sonuçların tersiyle korelasyon gösterir. Nöroblastomda N-myc amplifikasyonu hastalığın klinik evresi ile ilişkili olup ters prognostik parametredir (33). Meme ve ovaryum adenokarsinomlarında erb-b2/Her 2/Neu amplifikasyonları hastalığın daha ilerlemiş döneminde ortaya çıkar ve hastalar daha kısa ömürlüdür (34). Küçük hücreli akciğer karsinomlarında, her üç tip myc onkogen amplifikasyonu bulunur ve bunlar tipik olarak çok agresif seyreden tümörlerdir (35).

#### 4-Retroviral onkogenler ve inserisyonel mutagenesis

Retroviruslarla yapılan çalışmalar tümör oluşumunda rol oynayan hücresel genlerin tanımlanmasında büyük kolaylık sağlamıştır. Diploid viral genomun tek zincir RNA' sı revers transkriptaz enzimi aracılığıyla DNA' ya transkribe olur. Viral DNA daha sonra kromozomal DNA içine integre olur.

Retroviruslar akut transforming ve slow transforming viruslar olarak iki grupta toplanırlar. Akut transformasyonla kazanılan viral genom içindeki hücresel genler ve revers transkripsiyon sırasında viral ve hücresel RNA arasındaki rekombinasyon, konakçı hücre içinde viral onkogenlerin bulunmasına neden olurlar. Slow transforming viruslar ise onkogen içermezler. Ancak viral genomun integrasyonu oldukça mutajeniktir. Hücresel bir proto-onkogenin kodlayıcı bölgesine veya bu bölgenin yakınına provirus inserasyonu söz konusudur. Retroviruslar kuvvetli regülatör elementleriyle genoma katılarak hücresel genlerin aşırı oranda ifade edilmesine yada ifadenin uygunsuz zamanda gerçekleşmesi ile hücre transformasyonuna neden olmaktadır (36).

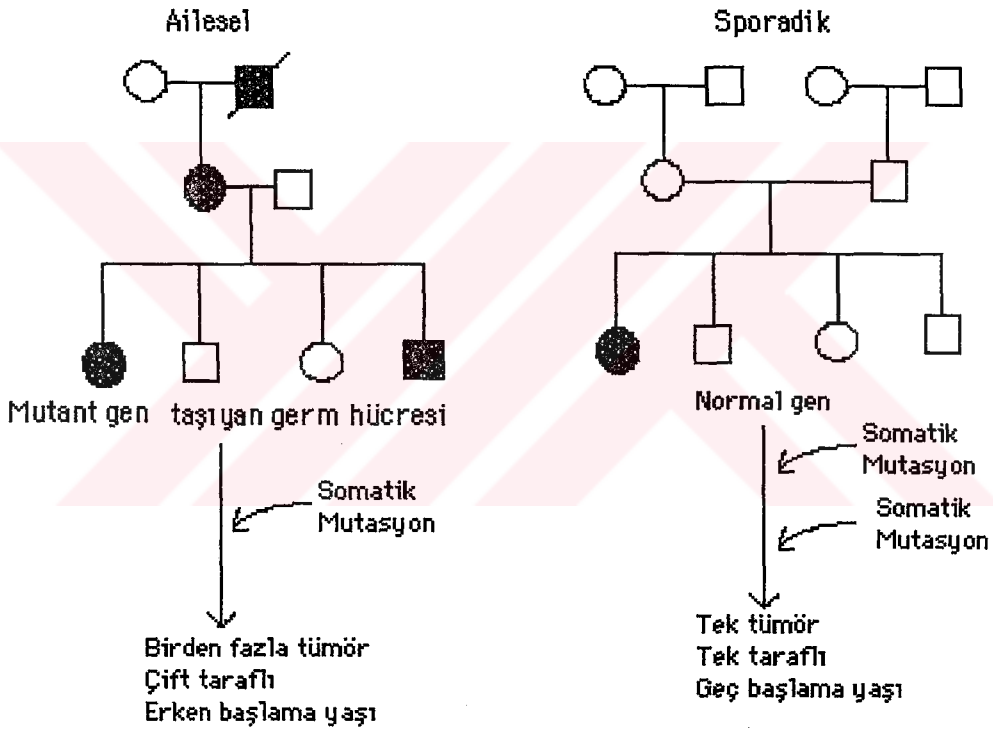
Bugüne kadar 20 retroviral onkogenin neoplazmlarla ilişkili olduğu bunların içinde de 9 retroviral onkogenin (v-abl, v-erb B, v-ets, v-mos, v-myb, v-myc, v-H-ras, v-K-ras, ve v-sis) hücresel proto-onkogenlerinin tümör oluşmasında daha büyük öneme sahip olduğu düşünülmektedir (37,38).

#### **B) Tümör Supressör Genler**

Lösemi ve lenfomalarda somatik hücrelerdeki spesifik kromozomal bozuklukların, dominant olarak fonksiyon gören onkogenlerle regülasyonu ortadan kaldırdığı gözlenirken, solid tümör gelişiminde genetik materyalin tam kaybı yani resesifliğin daha yaygın bir mekanizma olduğu görülmektedir (39). Resesif mutasyonların kansere neden

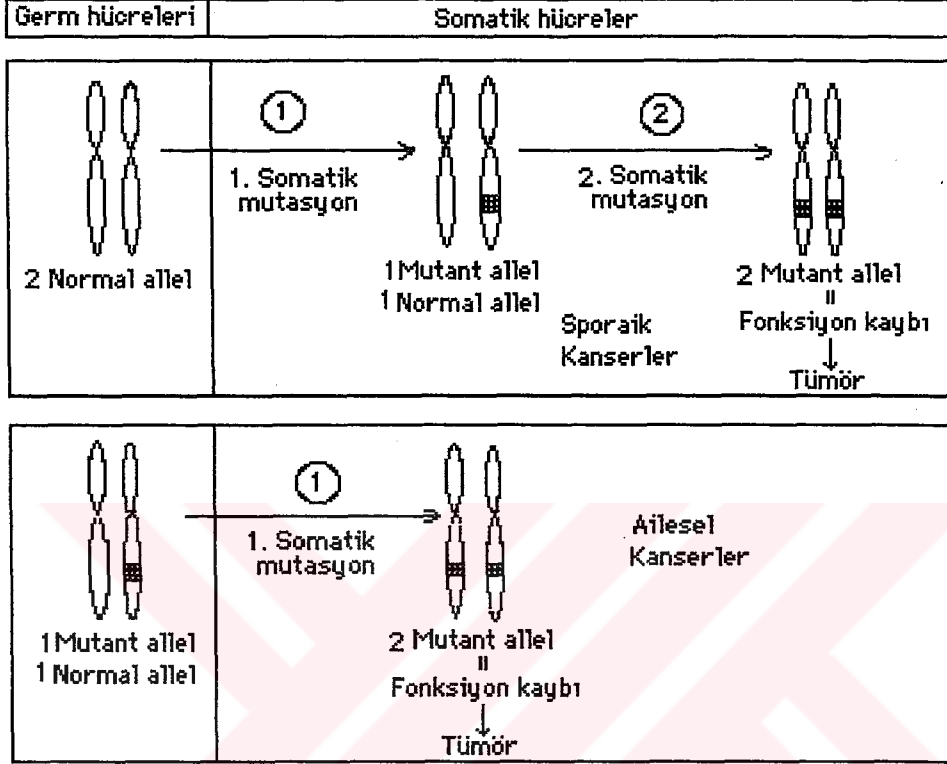
olabileceği ilk olarak 1960' larda Demars tarafından ileri sürülmüş daha sonra Knudson (1971) "two hit" hipotezini gündeme getirmiştir (40).

Retinoblastom gibi hem kalıtsal hem de sporadik formları olan kanserlerin temel mekanizmasını açığa kavuşturan bu hipoteze göre, kanserin kalıtsal tipinde ilk mutasyon germ hücresinde görülürken ikinci mutasyon somatik olarak gerçekleşir (Şekil 3a). Sporadik tipte ise; her iki mutasyon da aynı somatik hücrede ortaya çıkar (Şekil 3b).



Şekil 3a. Ailesel ve sporadik kanserlerin karşılaştırmalı olarak pedigrinde gösterilmesi. Thompson M.W., Genetics in Medicine, 1991, s: 373





Şekil 3b. Ailesel ve sporadik kanserlerde mutasyonların ve tümörün ortaya çıkışının gösterilmesi, Öztürk M, European School of Oncology "Tumor Suppressor Genes", 1995, s: 3.

Böylece bütün bir organizma düzeyinde tümöre yatkınlık otozomal dominant bir özellik olarak kalıtılmasına rağmen, hücresel seviyede neoplastik özellik resesiftir ve homozigot gen inaktivasyonunu gerektirir. Önceleri sadece çocukluk çağında gösterilen tümör supressör genlerindeki inaktivasyon veya kaybın, daha sonra yapılan çalışmalarla erişkin tümörlerinde de, ortaya çıkabileceği görüşü ağırlık kazanmaktadır (41,42). Retinoblastom ile yapılan çalışmalarla, tümör gelişiminde tümör supressör genlerin kaybında yada inaktivasyonundaki genetik mekanizmalar ortaya çıkarılmıştır. Kalıtsal konumda 13 nolu kromozom çiftinden birinde retinoblastom (RB) lokusunda germ hücresinde bir mutasyon vardır. Bu mutasyon kromozomal bir delesyon yada submikroskobik bir lezyon olabilir. Bu kalıtılan mutasyonun varlığı tümör oluşumu için yeterli değildir.

Ayrıca kalıtsal mutasyon taşıyan allelin homologunda ikinci somatik bir mutasyonla inaktivasyonu gereklidir (43).

Retinoblastomun sporadik formunda ise herhangi bir RB lokusundan birinde ard arda iki somatik mutasyonla inaktivasyon gerçekleşir. İlk lokus inaktive olduktan sonra, ister ailesel ister sporadik olsun geriye kalan normal RB lokusunda meydana gelebilecek genetik bozukluklar şunlardır:

1. Normal RB lokusunu taşıyan 13 nolu kromozom tamamen kayıp olabilir.

2. Mitotik rekombinasyon sonucunda defektif RB lokusu homozigot hale gelebilir.

3. Kromozomal delesyon veya dengesiz translokasyonlarla wild type lokusun kaybı veya inaktivasyonu söz konusu olabilir

4. Normal RB lokusunda insersiyon yada nokta mutasyonları meydana gelebilir. Retinoblastom geninin inaktivasyonu, retinoblastom dışında osteosarkom, akciğer kanseri, mesane ve prostat karsinomlarında da gözlenir.

İlk keşfedilen RB1 tümör supressör geninden sonra bugüne kadar 10 dan fazla değişik tümör supressör geni tanımlanmıştır (Tablo 1) (44).

Tümör Genin Adı	Supressör	Kromozom Yerleşim Bölgesi	Üzerindeki Ailesel Kanseler	Sporadik Kanseler
RBI		13q	Ailesel Retinoblastom	Retinoblastom Osteosarkom Akciğer Meme Mesane
p53		17p	Li-Fraumeni sendromu, çoklu primer kanseler	Karaciğer Pek çok tipinde
WT1		11p	Wilms tümörü	-
NF1		17q	Nörofibromatozis Tip I	Kolon
Myelodispl.				Sendromu, Anaplastik astrositom
NF2		22q	Nörofibromatozis Tip II	-
APC		5q	Ailesel adenomatöz polipozis	Kolon -
DCC		18q	-	Kolon
MCC		5q	-	Kolon
MLH1		3p	Ailesel nonpolipozis kolon kanseri	?
MSH2		2p	Ailesel nonpolipozis kolon kanseri	?
VHL		3p	Von Hippel-Lindau send, Ailesel renal kanser	Renal
BRCA1		17q	Ailesel meme kanseri	?
p16/INK4/ CKDN2/MTS1		9p	Ailesel melanoma	Pankreas Özafagus

Tablo 1. İnsan kanselerinde bulunan tümör supressör genler

## **Onkogen Ve Tümör Supressör Gen Ürünlerinin Etkileşimi**

Hücre çoğalmasında önemli olan tümör supresor genlerin her iki allelinin inaktivasyonu bu genlerin büyümeyi baskılayıcı fonksiyonlarını bozmaktadır (45). RB gen ürünü p105-RB 110 kd büyüklüğünde, DNA'ya bağlanarak aktivite gösteren nükleer bir fosfoproteindir. RB gen ürününün normal hücrede ifade olduğu ve bunların hücre siklusunun regülasyonunda rol oynadığı yapılan son çalışmalarla gösterilmiştir (46). RB proteini normal hücrelerin G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> evresinden S fazına geçişini bloke eder (47). Hücreler, RB proteininin fosforilasyonu ile bu engellemeden geçici olarak kurtulurlar (48) veya SV40 T antijeni, adenovirus E1A proteini veya insan papillomavirusu E7 onkoproteini gibi belirli tip viral transforme edici proteinlerle kompleks oluşturarak kalıcı tarzda bu blokajdan kurtulurlar (49,50). Bu bulgular viral nükleer onkoproteinlerin tümör supressör gen ürününü inaktive ederek yada bunların fonksiyonlarını bozarak neoplastik transformasyonda işe karıştığını göstermiştir (51).

### **KANSERDE KROMOZOMAL ABNORMALİTELER**

İnsan neoplazmlarında bugüne kadar pekçok sitogenetik çalışma yapılmış olup bunların çoğunluğunu iyi geliştirilmiş laboratuvar teknikleri ve yeterli materyal nedeni ile hematolojik malignansiler oluşturmaktadır. Solid tümörler neoplastik hastalıkların en büyük kısmını oluşturmalarına rağmen kromozomal abnormaliteleri göstermek için yapılan çalışmalar, lösemilerle kıyaslandığında oldukça sınırlı sayıda kalmaktadır. Bunun nedeni, öncelikle, solid tümörlerden primer doku kültürünün kurulmasındaki güçlükler ve elde edilen kromozomların sitogenetik abnormaliteyi gösterebilecek kalitede olmayışı gibi teknik imkanların yetersizliği olmuştur. Ayrıca tümör materyalinin nekrotik, yağ dokusu ve fibrotik doku gibi heterojen bir yapı içermesi de elde edilen sitogenetik verilerin gerçekten tümör hücresine özgü olup olmadığı konusunda tereddüte ve bilimsel hataların doğmasına neden olabilmektedir.

Ancak son yıllarda yoğun çalışmalar ve teknik imkanların ilerlemesi ile tümöre özgül besi ortamları geliştirilmiş, hücre süspansiyonunu sağlayacak mekanik ve enzimatik işlemlere yönelinmiş ve sonuçta solid tümörlerden elde edilen sitogenetik veriler önemli oranda artmıştır. 1994 yılına kadar tüm neoplazmlar için 20.000'den fazla klonal kromozom abnormalitesi çeşitli bantlama teknikleri ile karakterize edilmiştir. Bu klonal kromozom yeniden düzenlenmelerinin % 63'ünü hematolojik hastalıklar, % 10'nunu lenfomalar ve % 27'sini solid tümörler oluşturmaktadır. Solid tümörler, kendi içinde orijin aldığı hücre tipi ve olgu sayısına göre sınıflandırılmaktadır (52).

<u>Orijin aldığı hücre</u>	<u>Olgu sayısı</u>	<u>Yüzde</u>
Epitelial	2.797	% 48
Mezenşimal	1.736	% 30
Nörojenik	895	% 15
Germ hücresi	254	% 4
Melanositik	188	% 3
Toplam:	5.870	

Yukarıda görüldüğü gibi bugüne kadar sitogenetik bozukluk gözlenen olan 5870 solid tümörlü olgudan epitelyal kökenli tümör içeren olgu sayısı 2797 olup, bunların 205 tanesi ise akciğer tümörlerine ait sitogenetik bulguları içermektedir (52).

Biyolojik öneminin anlaşılabilmesi için tümörlerde karşılaşılan sitogenetik abnormaliteler 3 ana grupta toplanır (53).

1. Primer abnormaliteler: Tümör oluşumunda oldukça önemlidir ve erken basamağı yansıtır. Bunlar genellikle tek tip anormalliklerdir ve tümöre özgüdürler.

2. Sekonder abnormaliteler: Tümörün ilerlemesinde (progresyonunda) önemlidir. Neoplastik hücrelerde genetik insitabilitenin sonucu olarak ortaya çıkarlar. Primer abnormalitelerden daha sonra görülmelerine rağmen, hastalığın ilerleyen evrelerinde dominant pozisyona geçerler. Bunların özgüllüğü, primer değişikliklerden daha azdır.

3. Sitogenetik noise: Kromozomal aberasyonların ,tümör hücresinin artmış genetik insitabilitesinden kaynaklandığı düşünülür. Özgüllük söz konusu olmadığından tümörün ilerlemesinde önemli değildir. Ancak tümör hücre popülasyonunda çok sayıda oldukları zaman karyotipinde dominant hale geçerler ve patogenetik olarak önemli değişikliklerin belirlenmesini güçleştirirler.

Hem primer hemde sekonder aberasyonların non-random oluşu, bunların patogenetik olarak önemini gösterir. Primer kromozom abnormalitelerinin dağılımı 329 bandlık genomda 71 band bölgesini kapsar. Bunun yanında lokalizasyonu tesbit edilmiş 41 onkogenden, 27'si yeniden düzenlemelerle ilişkili band bölgelerinde yerleşmiştir (53).

## KROMOZOM NOMENKLATÜRÜ

Kromozomlar büyüklüklerine, sentromer pozisyonlarına ve bantlama şekillerine göre sınıflandırılırlar (ISCN,1985)(54). Otozomal kromozomlar 1 den 22 ye kadar büyükten küçüğe doğru sıralanır. Seks kromozomları ise X ve Y olarak tanımlanır. Her kromozom kısa ve uzun kol olmak üzere iki koldan oluşur. Kısa kol "p", uzun kol ise "q" ile simgelenir. İki kol sentromer ile birleşir. Bantlar, kromozomlar üzerinde belirli sınırlar içerisinde kalan kromozom bölgeleri olarak ayrılırlar. Her band kromozom numarası, kol sembolü, bölge numarası ve bölge içindeki band numarasını içerir.

Bir karyotipte önce kromozom sayısı verilir. Bunu seks kromozom çiftinin yazılışı takip eder ve sonunda varsa sayısal ve yapısal kromozom aberasyonları ifade edilir. Tüm bir kromozomun kaybı yada fazlalığı - ve + işaretleri ile kromozom numarasının önünde tanımlanır. Kromozom kolundaki azalma yada artmalar ise kromozom kolunun sembolünden sonra - ve + işaretleri ile ifade edilir.

Modal kromozom sayısı; analiz edilen metafazlarda en fazla görülen kromozom sayısını gösterir. Klon; tek bir atasal hücreden türemiş hücre popülasyonunu tanımlar. Bir aberasyonun "klonal" diye tanımlanabilmesi için, en az iki hücrenin aynı yapısal aberasyonlu kromozomu taşıması veya en az üç hücrede aynı kromozomun kaybı yada fazlalığının olması gereklidir. Minüt; tek bir kromatid genişliğinden daha küçük asentrik fragmenti simgeler. (ISCN 91)(55).

#### En yaygın görülen sayısal anormallikler

Near haploidi ( $23\pm/n\pm$ )	>34
Hipohaploidi ( $n-$ )	>23
Hiperhaploidi ( $n+$ )	24-34
Near diploidi ( $46\pm/2n\pm$ )	35-57
Hipodiploidi ( $2n-$ )	35-45
Hiperdiploidi ( $2n+$ )	47-57
Near triploidi ( $69\pm/3n\pm$ )	58-80
Hipotriploidi ( $3n-$ )	58-68
Hipertriploidi ( $3n+$ )	70-80
Near tetraploidi ( $4n\pm/92\pm$ )	81-103
Hipotetraploidi ( $4n-$ )	81-91
Hipertetraploidi ( $4n+$ )	93-103

#### En yaygın görülen kromozomal yeniden düzenlenmelerin sembolleri ve açıklamaları

- t (translokasyon) : İki veya daha fazla kromozom materyali arasında parça alışverişi
- del (delesyon) : Kromozom materyalinin kaybı
- inv (inversiyon) : Kromozomun kendi içinde  $180^\circ$  dönüp tekrar aynı materyalin aynı bölgeye yerleşmesi (Bu rotasyon sentromeri kapsıyorsa "perisentrik", kapsamıyorsa "parasentrik" olarak tanımlanır)
- ins (insersiyon) : Bir kromozom materyalinin, diğer bir kromozoma dahil olması
- i (izokromozom) : Bir kromozomda iki kolun birbirinin aynı olması
- dup (duplikasyon) : Bir kromozom segmentinin aynen tekrarı

r (ring)	: Telomerik materyal kaybı ile p ve q kollarının birleşmesi
mar (marker)	: Hangi kromozom orijinli olduğu tanımlanamayan yapısal olarak anormal kromozom
der (derivatif)	: İki veya daha fazla kromozomun yeniden düzenlenmesi ile ortaya çıkan bilinen kromozomlara uymayan kromozomal materyal

### **AKCİĞER KARSİNOMLARININ SINIFLANDIRILMASI**

Diğer malignitelerdeki hafif artışa yada hiç artış olmamasına karşın akciğer kanserlerinde son 50 yıldır belirgin bir artış dikkati çekmektedir. Bu artış yalnızca radyolojik, bronkoskopik ve sitogenetik tekniklerdeki ilerlemelere bağlanamayacak sayıdadır. Amerika Birleşik Devletlerinde son 35 yıl içinde erkeklerde akciğer karsinomlarından ölüm oranında 15 misli, kadınlarda ise iki misli artış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu yüzyılın başlarında sigara alışkanlığının giderek artışı seks insidansını kabaca eşit hale getirmiştir. Yaş sınırları genellikle 40-70 olup, ortalama 60 yaş civarında görülmektedir. Bir grup araştırmacı sigara içimi ve hücrel anormallikler arasında kuvvetli ilişki olduğunu göstermiştir. (56) Buna göre sigara içmeyen grupta bronşial sistem % 0.9 atipik hücreye sahipken, sigara içenlerde bu sayı % 96.7 dir. Sigara içenlerde silli hücrelerin kaybı, bazal hücre hiperplazisi, yassı epitel metaplazisi ve atrofisi bulunmaktadır. Sigaranın yanında yaş ve şehir yaşantısı da etkili faktörlerdir. Ayrıca uranyum, kobalt, kromat, nikel, arsenik, demir tozu ve asbest ile çalışan iş yerlerinde de akciğer kanseri riski belirgin oranda yükselmektedir (56).

Makroskobik olarak bronş tümörleri, % 60-70 oranında ana bronş, bifurkasyon yada karina civarında yerleşmektedir. Adenokarsinomlar ise 3/4 oranında periferik bulunmakta, buna karşın, yassı epitel karsinomlarının ancak 1/3'ü ve küçük hücreli karsinomların da 1/5'i periferik bulunmaktadır. Bronş tümörleri önce mukoza yüzeyinde sert bir



kalınlaşma şeklinde başlamakta, lümen içine ilerlerken, bir yandan da çevre akciğer dokusuna yayılmaktadır. Daha sonra tümör, büyümüş hiler lenf nodüllerindeki metastazları ile karışarak büyük kitleler oluşturmakta özellikle yassı hücreli karsinom hızla büyümekte ve bunun sonucunda nekroz, kanama gibi sekonder değişiklikler sıklıkla görülmektedir. Fakat makroskopik görüntüye bakarak tümör tipini saptamak genellikle olası değildir. Akciğer karsinomlarının histopatolojik özelliklerine göre mikroskobik olarak sınıflandırılması şu şekildedir (57).

### **1) Yassı epitel hücreli (epidermoid) karsinom**

En sık gözlenen karsinom tipi olup % 80'ni erkeklerde görülür. Çoğunluğu segmental bronşun merkezinde yer alır ve bu yüzden radyografide hiler veya perihiler kitleler halinde görülürler. Genellikle merkezde ve büyük bronşlarda bulunduğu için endoskopide rahatlıkla görülür ve bazı diğer tümör tiplerinden daha kolay bir şekilde tanı konulabilir. Bu tümörlerde nekroz ve kavitasyon sıklıkla gözlenir. Mikroskobik olarak squamöz hücre tipinin teşhisi için yassı epitel hücrelerine özgü hücrelerarası bağlantıların ve keratin oluşumunun gözlenmesi gerekir. Kendi içinde de üç gruba ayrılır.

- a) İyi differensiyasyon
- b) Orta derecede differensiyasyon
- c) Kötü differensiyasyon

### **2) Adenokarsinom**

Kadınlarda görülen tüm akciğer neoplazmlarının yaklaşık yarısı adenokarsinomdur. Makroskobik olarak, kötü sınırlanmış gri yeşilimsi lezyonlar şeklindedirler. Kavitasyon çok nadir görülür.

Mikroskopik olarak geniş differensiyasyon gösterir ve iki alt sınıfta toplanırlar.

- a) Bronşioalveoler olmayanlar
- b) Bronşioalveoler adenokarsinomlar

Bez hücrelerindeki farklılaşmanın belirtisi olan tübül veya papiller oluşum ile mün sekresyonu sıklıkla birlikte bulunur. Bu tümörlerin kronik pnömoni, skar dokusu bal peteği akciğeri, difüz intersisiyel fibrozis ve progresif sistemik sklerozla da ilişkili olabileceği saptanmıştır.

### **3) Adenosquamöz karsinom**

Aynı neoplazmda hemen hemen eşit miktarlarda yassı hücreli ve bez hücrelerinin differensiyasyonunun görüldüğü karsinom tipidir. Akciğer kanserlerinin % 10' undan daha azını kapsar. Çoğunluğu periferde lokalizedir.

### **4) Küçük hücreli karsinom**

Tüm akciğer karsinomlarının % 10-20' sini küçük hücreli karsinomlar oluşturur. Hastaların % 80'ni erkek olup bunların % 85'inden fazlası da sigara içen olgulardır. Tümör genellikle akciğerin merkezinde lokalizasyon gösterir. Nadiren de periferde yerleşir. Genellikle solid tarzda büyüme gösterirler. Sitolojik olarak incelendiğinde üç tipi vardır.

1. Lenfosit benzeri veya yulaf tipi hücre (% 42)
2. Fusiform yani gergin mekik gibi uzamış hücre (% 29)
3. Poligonal hücre (% 29)

Mikroskopik olarak oval-yuvarlak, hiperkromatik nükleuslu, nükleolusları belirsiz, genellikle çok dar sitoplazmalı, lenfositten daha büyük uniform küçük hücrelerin oluşturduğu düzensiz adacıklar tarzında görülürler. Arada bağ dokusundan oluşan stroma ile birbirinden ayrılırlar. Bu tümörlerin özelliği, erken metastaz yapmaları

ve çok çabuk yayılma göstermeleridir. Kliniğe başvurduklarında sıklıkla kemik iliği yayılımı da saptanır. Yulaf hücreli tipte kan plazması ve tümör dokusunda ACTH yüksek seviyede bulunur. Ayrıca serotonin, ADH, kalsitonin, büyüme hormonu, melanosit stimüle edici hormon ve östrojen düzeyleride yüksek bulunabilir.

### **5) Undifferansiye büyük hücreli karsinom**

Polimorfik epitelyal hücrelerin oluşturduğu bu karsinomda, tümör hücreleri diğer tiplerle ve özellikle küçük hücreli ile karşılaştırıldığında daha büyüktür. Varyantları şunlardır:

#### **a) Dev Hücreli Karsinom**

Çoğunluğu periferalde lokalizedir. Bazı otörler dev hücreli karsinomu, adenokarsinomun kötü differansiye bir varyantı olarak tanımlarlar. Mikroskopik olarak ileri derecede pleomorfik ve multinükleer dev hücre oluşumları izlenir.

#### **b) Berrak (Clear) hücreli karsinom:**

Berrak sitoplazmalı, büyük hücrelerden oluşur. renal hücreli karsinom metastazı ile karıştırılabilir.

### **6) Karsinoid tümör**

Kultschitsky tip hücrelerden gelişen endokrin sistemin bir tümörüdür. Sıklıkla merkezde lokalizedirler. Düzgün oval nükleuslu, berrak veya granüler eozinofilik sitoplazmalı poligonal hücrelerin trabeküler düzenlenmesi şeklinde görülürler. Asiner yapıda olabilirler ve musin sekresyonu gözlenebilir. Bu tümörler vasküler bir stromaya sahiptirler. Multiple olabilirler. Nekroz seyrek görülür. Stromada neoplastik kemik oluşumu nadiren olabilir. Ayrıca bazen amiloid birikimi de izlenir. Pulmoner karsinoid tümörler, low-grade malignite olarak ele alınırlar.

## **AKCİĞER KARSİNOMLARINDA KROMOZOMAL ABNORMALİTELER**

**1 numaralı kromozom:** Akciğer neoplazmlarında sıklıkla 1 numaralı kromozomun kısa kolunda delesyonlar ve izokromozom tipi değişiklikler gözlenir. Bu kromozomdaki değişiklikler daha çok adenokarsinom tipinde gösterilmiştir (58,59). Majör kırılma noktası 1p11-q12 arasındaki heterokromatik bölgedir. Aynı kromozoma ait yapısal ve sayısal değişiklikler diğer pek çok solid tümörde de görüldüğünden, 1 numaralı kromozoma ait yeni düzenlenmeler akciğer kanserlerine özgül olmayabilir (60).

**3 numaralı kromozom:** Tüm akciğer kanserlerinin % 10-20'ni oluşturan küçük hücreli akciğer karsinomlarının % 90'ında 3 numaralı kromozomun kısa kolunda 3p14-p23 bölgesinde ara delesyon bulunur. Bu delesyon hem primer doku kültüründe, hem cell-line'larda hemde metastatik küçük hücreli akciğer tümörlerinde gösterilmiştir (61-63). Küçük hücreli akciğer tümörüne özgü olan 3p14-23 bölgesindeki aynı ara delesyon daha az oranda da olsa yassı hücreli akciğer karsinomlarında da gözlenmiştir.

**6 numaralı kromozom:** Küçük hücreli olmayan diğer akciğer kanserlerinde sıklıkla 6 numaralı kromozomun uzun kolunda yapısal yeni düzenlenmeler saptanmıştır. Bu anormallik, pekçok solid tümörde ve lösemide de görüldüğünden akciğer tümörlerine özgül olmadığı düşünülmektedir (64).

**7 numaralı kromozom:** En çok gözlenen sayısal anormallik olarak 7 numaralı kromozomun ekstra kopyeleri, trizomi ve tetrazomi şeklinde görülür. Bunun yanında inversiyon, delesyon tipi yapısal değişikliklerde gözlenir. Trizomi 7, pekçok neoplastik dokuda gösterilmekle kalmayıp aynı zamanda akciğer beyin ve meme kanserlerinde tümör çevresindeki sağlıklı dokularda da bulunmuştur (65,66). Hem tümürlü hemde tümör içermeyen dokularda trizomi 7'nin varlığı , bu aneuploidinin tümör

oluşumunda erken basamağın belirteci olarak bulunduğunu düşündürmektedir.

**8 numaralı kromozom:** Özellikle 8 numaralı kromozomun uzun kolunda izokromozom tipi yapısal değişiklik adenokarsinom tipi akciğer tümörlerinde gözlenir. Diğer akciğer tümörlerinde benzer anormalliğin olmaması, bu yapısal değişikliğin adenokarsinom tipine özgü olabileceğini düşündürmektedir (67).

**9 numaralı kromozom:** Resiprokal olmayan translokasyonlar, delesyonlar ve kromozom kayıpları ile ortaya çıkan 9 numaralı kromozomun p kolundaki yapısal anormallikler klonal değişiklikler olarak, küçük hücreli olmayan diğer akciğer tümörlerinde görülür (59,68). Özellikle de adenokarsinomlarda 9 numaralı kromozomun uzun kolunun izokromozom tipi anormallik görülür (67). Akut lenfositik lösemide de 9 nolu kromozoma ait benzer anormallikler non-random değişiklikler olarak belirlenmiştir (69). Ayrıca adenokarsinomlarda 9 ve 15 numaralı kromozomlar arasında translokasyon saptanmış ancak aynı translokasyon renal hücreli karsinomda, testiküler germ hücresi ve epitelyal hücre karsinomlarında da gösterildiğinden özgüllük söz konusu değildir. (70) Fakat 9p21-22 bölgesinde lokalize olan alfa ve beta interferon genlerinin kanser gelişiminde koruyucu rol oynayan aday tümör supressör genleri olduğuna inanılmaktadır.

**12 numaralı kromozom:** Pek çok malignanside olduğu gibi akciğer tümörlerinde de genellikle bu kromozomun trizomisi gözlenir (71).

**19 numaralı kromozom:** Küçük hücreli olmayan akciğer tümörlerinde 19 numaralı kromozomun kısa kolunda yeni düzenlenmeler gözlenmiştir.

Bu bölgenin insülin reseptör geni ile ilişkili olup tümör oluşumunda rol oynadığı düşünülmektedir (59).

**Y kromozomu:** Genellikle Y kromozomunun kaybı yalnızca akciğer tümörlerinde değil pekçok tip malignanside gözlenmiş olup, tümöre spesifik bir anormallik değildir (72).

**HSR ve double minütler:** HSR'ler ve double minütlerin varlığı onkogen amplifikasyonu ile ilişkili olup, akciğer tümörlerinden küçük hücreli karsinomda, büyük hücreli akciğer kanserinde ve adenokarsinom cell-line'larında gösterilmiştir (73,74).

### **Akciğer Karsinomlarında Onkogen Ve Tümör Supressör Genler**

Belirli kromozom abnormaliteleri olarak tümörlerde tanımlanmış olan translokasyonlar, delesyonlar, HSR'ler, double minütler, daima olmasa bile, sıklıkla hücrel proto-onkogen aktivasyonu veya tümör supressör gen kaybı ile ilişkilidir.

Akciğer karsinomlarında yapılan çalışmalarda özellikle adenokarsinom tipinde K-ras onkogen aktivasyonunun 12. kodondaki nokta mutasyonlarına bağlı olarak ortaya çıktığı ve bununda hastalığın prognozu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Meme, ovaryum karsinomlarında da görülen HER 2/neu reseptör onkogeninin aşırı ifadesi akciğer adenokarsinomlarında ve primer yassı hücreli karsinomların 1/3'ünde gözlenmiştir (75,76). 11 numaralı kromozomun uzun kolunda DNA amplifikasyonu, yassı hücreli ve adenokarsinomlarda bulunmuştur. (77). Bu kromozom bölgesinde bcl-1, int-2, hst, PRAD-1 onkogenleri lokalizedir. Akciğer kanserleri ile birlikte pek çok tip tümörde bu onkogenlerin amplifikasyonu söz konusudur. myc onkogen ailesinin her üç tipinde (C-myc, N-myc, L-myc) amplifikasyonu küçük hücreli akciğer kanserlerinde bulunmuştur (78). Akciğer kanserlerinde RFLP analizleri ve PCR (Polimerase Chain Reaction) tekniği kullanılarak tümör supressör gen kaybına bakıldığında, 13q14 kromozom bölgesinde lokalize RB genindeki mutasyonel inaktivasyon, küçük hücreli akciğer tümörlerinden kurulan

cell line'ların % 95'inden fazlasında bulunmuştur (79,80). Ayrıca küçük hücreli akciğer karsinomlarında en sık rastlanan moleküler değişiklik 3p14'deki heterozigosite kaybı (LOH) dır (81,82).

Özellikle yassı hücreli akciğer kanserlerinde, Wilm's tümör lokusunu içeren 11p13-11p15 bölgesinde heterozigosite kaybı gözlenmiştir (83-85). 17p13 kromozom bölgesinde lokalize olan p53 tümör supressör geninde pek çok malignanside görüldüğü gibi akciğer tümörlerinin % 70' inde hot-spot bölgelerde nokta mutasyonu gözlenmiştir (86-89). Görüldüğü gibi akciğer neoplazmlarının gelişebilmesi değişik kromozomal abnormaliteleri, çok sayıda onkogen aktivasyonunu ve tümör supressör genlerinde inaktivasyonunu gerektirmekte ve karsinogenezdeki çok basamaklılık prensibine uygunluk göstermektedir.

## **MATERYAL VE METOD**

Kasım 1993 - Mayıs 1995 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında yürütülmüş olan bu çalışmada; Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalından 23, Antalya Sosyal Sigortalar Hastanesi Göğüs Cerrahisi Bölümünden 1 ve Ankara Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Merkezinden 7 akciğer karsinomu tanısı konmuş ve operasyon kararı alınmış toplam 31 olgu ele alındı. Ameliyat sırasında alınan tümör dokusu, araştırmanın materyalini oluşturdu. Kontrol olarak Antalya Tıp Fakültesinden gelen hastaların 16 tanesinin periferal kanı incelenmeye alındı.

Antalya'da ameliyat edilen 23 olgudan ameliyat sırasında tümör materyali alındı ve sterilitesi korunarak patolojik tanı amacı ile frozen yapıldı. Malignite tespit edildikten sonra doku antibiyotik içeren özel besi ortamı içinde mümkün olduğunca çabuk doku kültürü laboratuvarına transfer edildi. Ankara Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Merkezinden alınan diğer 7 tümör materyali yine aynı besi ortamında +4°C de korunmaya çalışılarak 24 saat içinde Anabilim Dahimize ulaştırıldı. Yine malignitesi frozen yapılarak teşhis edildi.



**KÜLTÜRLERİN KURULMASI****I) PRİMER KÜLTÜR:****KULLANILAN SOLÜSYONLAR:****A) Primer Doku Kültüründe Besi Ortamı**

RPMI 1640 Medium	(Gibco) 100 ml
% 10 Fötal Kalf Serum	(Gibco) 10 ml
% 1 Penisilin-Streptomisin	(Gibco) 1 ml
% 0.1 Epidermal Growth Faktör	(Sigma) 0.1 ml
% 0.1 Fibronektin	(Sigma) 0.1 ml
% 0.1 L-Glutamin (200 mmol/lt)	(Sigma) 1 ml
% 0.5 İnsülin	(Sigma) 0.15 ml

**Epidermal Growth Faktörün (EGF) Hazırlanması:**

100 mg'lık liyofilize EGF'ün (Sigma) üzerine steril distile su ilave edildikten sonra, final konsantrasyonu 20 ng/ml olacak şekilde herbiri 0,1 ml EGF içeren küçük steril tüplere (Falcon) konularak -20°C'de saklandı.

**Fibronektinin Hazırlanması:**

1 mg'lık liyofilize haldeki fibronektinin (Sigma) üzerine 10 ml steril distile su ilave edilerek final konsantrasyonu 100 ng/ml olacak şekilde herbiri 0.1 ml fibronektin içeren steril tüplere bölündü.-20°C'de saklandı.

### İnsülinin hazırlanması:

100 mg'lık lyofilize insülinin üzerine 10 ml steril distile su ilave edildi. Bu stok solusyondan herbir steril tüpe 0.15 ml konuldu ve -20°C'de saklandı.

### **B) Kollajenazın Hazırlanması**

Kollajenaz tip II (Sigma) 0.029 mg tartıldıktan sonra 10 ml RPMI 1640 (Gibco) besi ortamı içinde çözüldükten sonra 0.22 µm'lık filtreden geçirilerek final konsantrasyon 1400 u/ml olacak şekilde 1 ml' lik küçük steril disposable tüplere (Falcon) bölündü. -20 °C'de saklandı.

### **İşlemler:**

Doku örnekleri kültüre edilmek için önceden steril edilmiş makas ve pens yardımı ile doku kültürü laboratuvarında bulunan safety kabin (Forma Scientific) içerisinde ufak parçalar haline getirildi. 4 ml yıkama ortamı (RPMI 1640 + Penisilin-Streptomisin) ve 1 ml kollajenaz II içeren ortamda 37°C de CO<sub>2</sub>'li etüvde (Heraus), mekanik çalkalama işlemi ile 2.5 saat inkübe edildi.

İnkübasyonu takiben 1000 rpm'da 10 dakika santrifügasyondan sonra dökelti uzaklaştırıldı. 8 cc yeni yıkama vasatı konduktan sonra 15 dakika kendiliğinden çökmesi sağlandı. Üstte kalan kısım yeni steril disposable santrifüj tüpüne konulduktan sonra çökeltinin üzerine medium ilave edilerek 1000 rpm'de tekrar 10 dakika santrifüj edildi. Dökelti uzaklaştırıldı. Her iki tüpe 5 cc besi ortamı konularak iyice karıştırılıp iki ayrı steril ve disposable doku kültür kabına (Falcon 25 cm<sup>2</sup>) ekim yapılarak 37°C'de CO<sub>2</sub>'li etüve konuldu (90-92). Kültürlere ilk 24 saat hücrelerin tutunması için hiç dokunulmadı. Bu süre sonunda ve her gün düzenli olarak inverted mikroskopta (Nikon) kontrol edildi. Hücrelerin kap yüzeyine tutunma kapasitelerine, proliferasyonuna ve

mitoz oranına bağlı olarak, belirli aralıkla besi ortamı değiştirildi. Uygun sayıda mitozla ulaşıldığı gün (5-10 gün) kromozom analizi yapıldı.

## **II) PERİFERAL KAN KÜLTÜRÜ:**

### **Periferal Kan Kültüründe Besi Ortamı**

Mc Coy's 5A Medium	(Gibco) 100 ml
% 15 Fötal Calf Serum	(Gibco) 15 ml
% 3.4 Fitohemaglutinin	(Gibco) 3.4 ml
% 0.1 Penisilin-Streptomisin	(Gibco) 0.1 ml

### **İşlemler**

Moorhead ve arkadaşlarının yöntemi modifiye edilerek uygulandı (93,94). Mc Coy's 5A kültür ortamından 5 ml içeren steril (Falcon 15x1) deney tüpüne, operasyon öncesi hastadan kontrol amacı ile heparinli enjektör kullanılarak alınan venöz kandan 15 damla (0.7 ml) damlatılarak ekim gerçekleştirildi. Tüplerin ağızları, hava ile teması önlemek için parafilm ile sıkıca sarıldı ve 72 saat 37°C'de etüvde bırakıldı.

## **KROMOZOM ELDESİ**

### **KULLANILAN SOLÜSYONLAR**

#### **A) Kolçisin Solüsyonu**

1 mg'lık kolçisin tableti (colcemide CIBA) 10 ml bidistile suda çözüldü. Elde edilen bu stoktan 1 ml alındı ve 9 ml bidistile su ilave edilerek final konsantrasyonunun 10 mg/ml olması sağlandı. +4 C° buzdolabında saklandı

**B) Tripsin solüsyonu**

Yüzeğe tutunan hücreleri kaldırmak amacı ile 0.25 gr tartılan tripsin (Difco) 100 ml bidistile suda eritildi. 0.22 µm'lik sterile filtreden geçirilerek steril kültür kabında, +4 C°de buzdolabında saklandı.

**C) İzotonik Tri Sodyum Sitrat Solüsyonu**

2.51 gr tri sodyum sitrat (2 sulu) (Merck) tartılarak 9.75 ml su ile çözülmesi sağlandı. 0.22 µm'lik steril filtreden geçirilerek steril kültür kabında, +4 C°de buzdolabında saklandı.

**D) Hipotonik solüsyonu**

**Primer Doku Kültürü İçin:** 0.06 M KCL (Merck) olacak şekilde 0.4470 gr KCL tartılarak 100 ml bidistile suda çözüldü. Kullanımdan hemen önce taze hazırlanmasına dikkat edildi.

**Periferel Kan Kültürü İçin:** 0.075 M KCL (Merck) olacak şekilde 0.5592 gr tartılarak 100 ml bidistile suda çözüldü. 37°C'de etüvde saklandı. Kullanımdan önce 37°C de bekletildi.

**E) Fiksatif solüsyonu**

3 kısım metanol (Merck) ve 1 kısım glasiyal asetik asit (Merck) kullanmadan hemen önce karıştırılarak, taze hazırlandı.

**Lamların Temizliği:**

Kromozom eldesinden birgün önce, her bir lam (Menzel glasser) tek tek beyaz sabun, gazlı bez ve bol akar su ile iyice yıkandı. Çalışma anına kadar distile su içinde buzdolabında saklandı.

## **İşlemler:**

### **Primer Doku Kültüründen Kromozom Eldesi**

İnverted mikroskopta kontrol edilen doku kültür kapları, 6 µl kolçisin solusyonu ilave edildikten sonra 3.5 saat 37°C etüvde bekletildi. Bu süre sonunda kültür kabındaki medium steril disposable 10ml'lik santrifüj tüpüne aktarıldı. Kültür kabı 3 ml izo-Na-sitrat solüsyonu ile çalkalandıktan sonra 0.7 ml tripsin ilave edilerek 37°C'de maksimum 15 dakika bekletildi. İnverted mikroskopta yüzeyden tüm hücrelerin kalktığı gözlemlendikten sonra bu hücreler de santrifüj tüpüne konuldu. Kültür kabı tekrar izotonik solüsyon ile yıkanarak, bu da santrifüj tüpüne aktarıldıktan sonra 1000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Dökelti atıldıktan sonra çökelti nazik bir şekilde çalkalanarak üzerine 8-10 ml hipotonik solusyonu damla damla ilave edildi. Oda ısısında 15 dakika bekletildi. Süre sonunda 8 dakika aynı rpm'da santrifüj edildi. 1 ml hipotonik tüpün dibinde bırakılarak dökelti atıldı. Çökelti elle nazikçe çalkalandı. Üzerine yaklaşık 3 ml fiksatif solüsyonu damla damla 5 ml. olacak şekilde ilave edildi. 1000 rpm'da 8 dakika santrifügasyon sonunda bu fiksasyon işlemi 3 kez tekrarlandı. Son yıkamada çökeltinin miktarına göre bir miktar fiksatif bırakılarak gerisi atıldı ve iyice çalkalandı. Buzdolabından yeni çıkmış ıslak lam üzerine çok yüksekten iki damla damlatılarak, kendiliğinden kuruması sağlandı. İlk preparat diyafram kapalı olarak ışık mikroskopunda (Nikon) kontrol edildi. Metafaz plağında stoplazmik kalıntı fazla ise bir gece +4°C de buzdolabında bekletilerek ertesi sabah yayma yapıldı. Preparatların bir kısmı 60°C'lik etüvde (Heraeus) bekletilerek ertesi sabah bantlama yapıldı. Preparatların bir kısmı 37°C'lik etüvde 3 gün bekletilerek yaşlandırıldı.

### **Periferal Kan Kültüründen Kromozom Eldesi**

70 'inci saatte deney tüpüne son konsantrasyon 0.1 mgr/ml olacak şekilde 0.05 ml kolçisin ilave edildi. 72. saatte besi ortamı ve hücreler pastör pipeti ile karıştırılarak kültür tüpünden santrifüj tüplerine

aktarıldı. 7 dakika 900 rpm'da santrifüj edildi. Dökelti atılarak, çökelti pastör pipeti ile hafifçe karıştırıldı. Üzerine yaklaşık 8 ml, oda ısısında bekletilmiş hipotonik solüsyonu ilave edilerek 10 dakika 37°C de etüvde bekletildi. Daha sonra 7 dakika aynı devirde santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve çökelti pipetle hafifçe karıştırıldı. Yaklaşık 3 ml fiksatif solüsyonu hızla ilave edilerek hemen pipetaj yapıldı. 900 rpm da 5 dakika santrifüj edildi. Fiksatif ile yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı. Son yıkamada çökeltinin miktarına göre çok az fiksatif bırakılarak gerisi atıldı ve iyice karıştırıldı. Soğuk temiz gazlı bezle kurulanmış ve hohlama yöntemi ile nemlendirilmiş lam üzerine çökeltiden bir damla damlatılarak havada kurutuldu. Preparatlar 37°C'lik etüve kaldırılarak üç gün yaşlandırıldı (96).

### **GTG BANTLAMA TEKNİĞİ**

Seabright'ın modifiye GTG bantlama tekniği kullanılarak tüm preparatlar bantlandı (94,95).

#### **KULLANILAN SOLÜSYONLAR:**

##### **A) Fosfat Tamponu**

4.5 gr NaCl (Merck) ve 6 tablet pH 7 fosfat tampon tableti (Russell) 500 ml bidistile suda çözüldü.

##### **B) Tripsin solüsyonu**

0.1 gr tripsin (Difco) tartılıp 100 ml fosfat tamponunda çözüldü.

##### **C) Sörensan Tamponu**

**A Solüsyonu:** 9.08 gr.KH<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Merck) 1000 ml bidistile suda çözüldü.

**B Solüsyonu:** 11.98 gr Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Merck) 1000 ml bidistile suda çözüldü.

A solüsyonundan B solüsyonuna ekleyerek pH 6.8'e gelene kadar her iki solüsyon karıştırıldı.

#### **D) Giemsa Boya Solüsyonu:**

4 ml Giemsa (Merck) boya solüsyonu 96 ml Sörensan tamponu (pH 6.8) ile 100 ml'ye tamamlandı.

#### **İşlemler:**

Preparatlar yayılan metafazın açık yada koyu görünümüne ve preparat yaşına bağlı olarak 10-40 saniye süreyle tripsin solüsyonunda tutuldu. Akan musluk suyunda iyice yıkandıktan sonra Giemsa boyasında 5 dakika boyandı. Bu süre sonunda tekrar musluk suyundan geçirilen preparatlar kademeli olarak kurutma kağıdı (Whatman 40) ile kurutuldu. Preparatlar 20 dakika Xylol'de tutularak Kanada balsamı (Entellan, Merck) ile kapatıldı.

### **MİKROSKOPİK ANALİZ VE FOTOĞRAFİK İŞLEMLER**

Her olgudan elde edilen tüm preparatlardaki metafazlar ışık mikroskopunda (Nikon) 100'lük objektifte en az 5 en çok 30 metafaz incelenerek analiz edildi. Gözlenen yapısal anormallikler ISCN 1985'e göre değerlendirildi. Ayrıca bazı olgulardan ameliyat öncesi alınan periferel kan örneğinde, her olgudan ortalama 20 metafaz mikroskopik olarak analiz edildi. Klonal olarak sayısal ve yapısal kromozomal anormallik taşıyan olgulardan iyi kalitedeki metafazların 100x objektifte immersiyon yağı altında Nikon Fx35 fotoğraf makinesi ile 50 ASA'lık Ilford PANF film kullanılarak fotoğrafları çekildi. Basım işlemleri için Ilford Ilfobrom 4.IP kontrast kağıdı kullanıldı. Kısmi ve gerektiğinde tam karyotipleri yapıldı.

## **BULGULAR**

Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı tarafından akciğer kanseri teşhisi ile ameliyat edilen 44 olguya ait ameliyat materyalinden primer doku kültürü kurulmuştur. Bunlardan yüzeye tutunamama nedeni ile 4; Patoloji Anabilim Dalı tarafından frozen sonucunda ameliyat materyalinde tümörlü alanın görülmemesi nedeni ile 8; ve enfeksiyon sebebi ile 1 olgu olmak üzere toplam 13 olgu değerlendirme dışı bırakılmıştır. Geriye kalan 31 olgu ise çalışma grubunu oluşturmuştur.

31 olgudan 4'ü (% 13) kadın, 27'si (% 87) erkek olup, yaşları 20-70 arasında değişkenlik göstermiş ve ortalama yaş 60 civarında bulunmuştur.

Sigara içme alışkanlıklarına göre bu bulgular değerlendirildiğinde, 24 olgunun (% 77.4) sigara kullandığı, kullanım süresinin 20-65 yıl arasında değiştiği ve kullanılan miktarın günde en az bir paket olduğu gözlenmiştir.



31 olguya ait tümör materyalinin patolojik incelenmesi sonucunda 16 olguda yassı hücreli karsinom (% 48.4), 6 olguda adenokarsinom (% 19.4), 4 olguda adenosquamöz karsinom (% 16.1), 3 olguda büyük hücreli (% 9.7), 1 olguda küçük hücreli karsinom (% 3.2) ve bir olguda da benign tümör benzeri yapı olan hamartom (% 3.2) tanısı konulmuştur (Tablo 2).

KANSERLİ HÜCRE TİPİ	OLGU SAYISI	YÜZDESİ (%)	Anormal Karyotip	Normal Karyotip
			+	-
Yassı hücreli	16	51.6	15	1
Adenokarsinom	6	19.4	3	3
Adenosquamöz	4	12.9	4	-
Büyük hücreli	3	9.7	3	-
Küçük hücreli	1	3.2	1	-
Hamartom	1	3.2	1	-
<b>Toplam</b>	<b>31</b>	<b>100</b>	<b>31</b>	<b>-</b>

Tablo 2 . Olguların hücre tipine göre dağılımları

Frozen tekniği ile materyalin malign olduğu tespit edildikten sonra (Hamartom hariç), kurulan kültürlerden yapılan kromozom analizi sonucunda 31 olguda en az iki farklı preparatta en az 4, en çok 30 metafazda mikroskopik inceleme yapılmıştır. Bulunan yapısal veya sayısal anormalliklerin anlamlı olabilmesi için klonal olup olmadığının tespit edilmesi gerekmektedir. Bu nedenle aynı sayısal anormallikleri taşıyan en az 3 hücre, aynı yapısal anormallikleri taşıyan en az 2 hücre bulunduğu bu kromozomal bulgular "klonal" olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, yalnızca 4 olguda normal karyotip (% 13) gözlenirken, geriye kalan 27 olguda sayısal ve yapısal kromozom anormallikleri (% 87) bulunmuştur (Tablo 3).

KARYOTİP	HASTA SAYISI	YÜZDESİ(%)
Normal	4	13
Anormal	27	87
<b>Toplam</b>	<b>31</b>	<b>100</b>

Tablo 3 .Normal ve Anormal karyotipe sahip olguların sonuçları ve dağılımları.

Kromozomal incelemeye alınan 31 olgunun cinsiyeti, yaşı, klinik ve patolojik tanısı, tümör materyalinden elde edilen kromozom bulguları, periferal kandaki kontrol değerleri ve sigara içme alışkanlıkları tablo 4 de, kromozomal anormallik gözlenen 27 olgunun ayrıntılı karyotipi ise tablo 5 de verilmektedir (Tablo 4 ve 5).

No	Seks	Yaş	Klinik tanı	Patolojik tanı	Tümör Materyalinde Kromozomal Bulgular	Periferik Kan Örneklerinde Kromozomal Bulgular	Sigara Kullanımı (+/-)
1	K	38	Coin lezyon	Hamartom	Yapısal Anormallik	N	-
2	E	66	Coin lezyon	YHK	Aneuploidi	N	+
3	E	55	Bronş ca	BHK	Hipotetraploidi + YA	N	+
4	E	55	Bronş ca	BHK	Hipotetraploidi / YA	N	+
5	E	62	Bronş ca	BHK	Aneuploidi	N	+
6	E	63	Bronş ca	AK	46,XY	N	+
7	E	55	Bronş ca	YHK	Hipotetrap + YA Aneup + YA	N	+
8	E	68	Bronş ca	YHK	Aneuploidi/ Yapısal A	N	+
9	E	50	Bronş ca	ASK	Hipotriploidi + YA	N	+
10	E	64	Bronş ca	ASK	Hipertriploidi + YA	N	+
11	E	70	Bronş ca	YHK	Aneuploidi Hipotetrap + YA	N	+
12	E	44	Bronş ca	AK	Aneuploidi / YA	N	+
13	K	44	Bronş ca	YHK	Aneuploidi	N	-
14	E	48	Bronş ca	ASK	Aneuploidi + YA	Çalışılmadı	-
15	K	65	Bronş ca	PAK	46,XX	Çalışılmadı	-
16	E	57	Bronş ca	KHK	Aneuploidi+ Hipertriploidi	Çalışılmadı	+
17	E	61	Bronş ca	YHK	Hipotriploidi+YA	N	+
18	E	43	Bronş ca	AK	Aneuploidi	Çalışılmadı	+
19	E	50	Bronş ca	YHK	Neartetraploidi+YA	Çalışılmadı	+
20	E	61	Bronş ca	YHK	46,XY	Çalışılmadı	+
21	E	49	Bronş ca	YHK	Aneuploidi/YA	Çalışılmadı	+
22	E	58	Bronş ca	YHK	Aneup.+YA/N.trip.+YA	N	-
23	E	66	Bronş ca	YHK	Hipertetrap+YA/N.hep +YA	Çalışılmadı	+
24	E	62	Bronş ca	YHK	Hipertetraploidi	Çalışılmadı	-
25	K	66	Bronş ca	ASK	Hipertetraploidi+YA	N	-
26	E	51	Bronş ca	AK	Hipotetraploidi	Çalışılmadı	+
27	E	63	Bronş ca	YHK	YA/Hipertriploidi+YA	Çalışılmadı	+
28	E	75	Bronş ca	YHK	Hipotriploidi+YA/ Hiperpentaploidi+ YA	Çalışılmadı	+
29	E	62	Bronş ca	YHK	Aneuploidi/Aneuploid +YA/Hipertriploidi +YA	Çalışılmadı	+
30	E	52	Bronş ca	YHK	Heteromorfizm	inv ( 9)	+
31	E	20	Bronş ca	AK	46,XY	Çalışılmadı	+

Bronş ca : Bronş karsinomu, AK: Adenokarsinom, PAK: Papilleri adenokarsinom, YHK: Yassı hücreli karsinom, BHK: Büyük hücreli karsinom, KHK: Küçük hücreli karsinom, ASK: Adenosquamöz hücreli karsinom, YA: Yapısal anormallik, Aneup: Aneuploidi, Hipertetrap: Hipertetraploidi, Hipotetrap: Hipotetraploidi N.hep: Nearheptaploidi, N.trip: Neartriploidi, N: Normal.

Tablo 4. 31 olgunun seks,yaş,klinik ve patolojik tanı, kromozom bulguları ve sigara içme alışkanlıklarının gösterimi.

OLGU NOKARYOTİP

- 1 46,XX,add(6)(p21)[25]/46,XX[5]
- 2 48,XXY,+20[17]/46,XY[13]
- 3 78-90,X,der(X)t(X;14)(q21;q12),-Y,i(1p),i(1q),del(1)(q12),i(2p), del(3)(q11), del(3)(p11),+3,-4,-5,i(6p),del(6)(p21),der(6)t(6;6)(q16;q16),del(7)(q21),-8,i(9q), t(9;10;10)(p23;q11;q11),-10,del(11)(q13),-13,t(14;15)(q11;q11),i(17q),-18,-19, +21,i(21q),-22,+M1,+M2[23]/t(X;12)(q11;q11),del(9)(q12),add(14)(q32), t(3;14)(q11;q12),t(8;16)(q21;q23),t(17;20)(q24;p12),add(20)(q13)[7farklı hücrede]
- 4 84-88,XXYY,+M1,+M2,+M3[16]/46,XY,del(7)(q32),i(9p),+9,-10,+der(14)t(14;?), -18[14]
- 5 45,X,-Y[23]/46,XY[7]
- 7 45,X,-Y,t(4;7)(q24;q32),del(6)(q13),+15,-17x2[3]/84,XXXY, +1x3,del(3)(q11)x2,-5,i(6p),-7,i(7p),del(9)(q22),+10,del(10)(q23),-11,-13, -14x2,-15x2,-16,-17,-19x2,-21,-22,+M1x2,+M2,+M3
- 8 45,X,-Y[5]/46,XY,del(6)(q22)[3]/46,XY[7]
- 9 62-68,XY,del(1)(p11),-4,i(11p),add(15)(q26),-16,der(19)t(8;19)(p23;q13), der(20)t(X;20)(q21;q13)[4]/46,XY[26]
- 10 74-75,XXY,+Y,del(3)(p11),del(3)(q11),del(5)(q31),der(13)t(5;13)(q23;q14)x2, -21x2[30]
- 11 45,XY,del(7)(q32),-18[3]/88,XX,del(X)(q13),Y,+1x2,+2,-3,-4x2,-5,-7,del(7)(q32), -8,+9x2,-10,-12,-14x2,+15,+17x2,-20x2,-22[5]/46,XY[22]
- 12 47,XY,+11[3]/47,XY,+13,del(13)(q14)[5]/46,XY[10]
- 13 47,XXX[5]/46,XX[3]
- 14 44-48,X-Y,del(1)(p10),-3x2,+4,+5,+i(7p),+del(7)(q22),del(8)(q13q21),+9, del(9)(q11),-10,+12x2,+add(12)(q24),-16x2,del(17)(p11),-20[5]
- 16 46,X,-Y,+7,+9,-11[6]/79,XXY,+X,+Y,+1,+2,+3,+4,+5,+6,+10,+11,+14,+15,-16, -18,+19,+20,-22x3[7]
- 17 65,XX,del(X)(q22),Y,+1x2,del(1)(p31),+2,+4x2,+5,+7x2,tas(7;16)(q36;q24), i(7p),-8x3,-9,-14,-15x2,+16,der(16)t(5;16)(q12;q24)x2,-17,-18,-20,-21, i(21q),-22x2[3]/46,XY[9]
- 18 48,XY,+9,+15[12]/46,XY[18]
- 19 87-93,XXYY,-5,-8,-11,-12,+13,-14,-17,-18,+19,-20,+21[6]/93,XXXY,+X,+1, del(1)(q12), +4,+6x2,del(6)(q12),-8,-9,+10x2,-11x2,-12x3,-13,-14, +18,-19,-20,+21,-22x2[4]
- 21 45,X,-Y[8]/46,XY,del(1)(q11),del(2)(p14)[4]/46,XY[3]
- 22 46,XY,+2,del(2)(p16),+3,+8,del(8)(q22),+9,del(9)(q22),-10,+13,-15, -16x2,-20,+21,-22[3]/76,X,del(X)(q24),Y,+1x2,del(1)p(35),+2,del(2)(p16),+3, +6,+8,del(8)(q12)x2,+11,-13,-14,+15,+17,-18,+20x2,-21,-22[5]/46,XY[22]

- 23 153,XXX,-Xx2,-Y,del(1)(p22),t(1;22)(q25;q13),i(2p)del(3)(p14),dup(4)(q31q35),  
-5x4,-6,del(7)(q11),del(10)(q24)der(11)t(8;11)(p11;q11),  
der(12)t(11;12)(q11;q11),inv(13)(q13q22),der(13)t(13;13)(q11;p11),  
der(14)t(7;14)(q11;q11),der(15)t(7;15)(p11;q11)[19]/  
94,XXXY,+X,+Y,+3,-4,+5,+der(7)t(7;20)(q36;p13),+9,10x3,der(10)t(7;10)(p11;q11)  
-11x2,+13,-14,+15,+16,-17x2,+18x2,-19,-20x2[11]
- 24 93-101, XXYY[4]/46,XY[26]
- 25 98,XX,del(X)(q21),-Y,+1x2,-2,-4x2,+5,-6,del(6)(q23)x2,i(7p),+10,+11,-13x2,  
-14,-15,-17,+18x2,+19x5,+20x2,+21,+22[5]/88,XX,del(X)(q12),-Y,+5,-8x4,-9,  
+10x2,+11x2,-12x2,-13,+17,-18x2,-21,+22[25]
- 26 81-91, XXYY[22]
- 27 46,XY,t(2;11)(q11;q25)[8]/70,X,del(X)(q24),Y,+1x2,del(1)(q11),  
del(1)(q22),der(1)t(1;3)(q11;p11),+3x2,der(3)t(3;7)(p21;p21),  
der(3)t(3;10)(q11;q11),+4,-5,del(7)(q22),+der(8)t(1;8)(q23;q24),-11,  
der(11)t(11;12)(q11;q11),+12,der(12)t(X;12)(q24;q11),-13,-14x2,  
der(15)t(6;15)(p21;p11),+16,+17,-18x2,-19,-20,-21x3,i(21q),  
der(21)t(19;21)(p13;q11)x3,+M1,+M2[15]/46,XY[7]
- 28 119,XXYY,+1x4,del(1)(p11),i(2q),i(2p),-4,-6x3,+7x4,der(7)t(3;7)(q11;q36)x2,  
del(7)(q22),del(8)(q22),i(9q),del(9)(q22),+10x4,+11x3,-12x2,  
der(12)t(5;12)(q31;q24),-13x4,der(14)t(13;14)(q11;q11),  
der(14)(14;14)(q11;q11),der(14)t(14;15)(q11;q11),-15,der(15)t(15;15)(q11;q11),  
+16x2,-17x2,-18x3,+19,-20,+22x4[25]/66,X,del(X)(q23),Y,-1x2,del(1)(p32),-2,  
t(2;10)(p11;q11),-3,t(3;7)(q11;q11),-5,del(5)(p15q13),del(6)(q16),+7x2,  
der(7)t(3;7)(q11;q11),+9,i(10p)x2,der(12)t(5;12)(q31;q24)x2,-13x2,  
der(13)t(8;13)(q11;q11),der(15)t(15;15)(q11;q11),-16,-17x2,-18,+19x3,+20,  
-21,+22,+M[5]
- 29 46,XY,inv(9)(p11;q13)[3]/47,XY,del(1)(p12),+7x2,der(7)t(4;7)(q12;q36),-11[7]  
/73,XXY,+1x2,del(1)(p12),i(2p),+3,+7x3,del(7)(q11)x3,der(7)t(4;7)(q12;q34),+  
8x2,del(8)(q12),-10x2,der(11)t(10;11)(q21;q14),+13x2,-14,-15,-16x2,+20,  
-22[16]/46,XY[4]
- 30 46,XY,inv(9)(p11q13)[30]

**Tablo 5 :** Kromozomal anormallik saptanan 27 olgunun karyotipik bulguları.

Bulunan anormallikler yalnız yapısal, yalnız sayısal ve hem yapısal hem de sayısal kromozom bulgularını içeren üç ana başlıkta toplanmıştır.

### **YALNIZ YAPISAL ANORMALLİK GÖZLENEN OLGULAR**

Olgu no 1 : Patolojik tanısı hamartom olan bu olguda incelenen 30 metafazın 25'inde, 6 numaralı kromozomun uzun kolunda mevcut sitogenetik yöntemlerle tanımlanamayan ancak moleküler sitogenetik ile çözümlenebilecek bir ilave yapı gözlemlendi.

Karyotipi : 46,XX,add(6)(p21)/46,XX.

Olgu no 30: Patolojik tanısı yassı hücreli karsinom olan olguda 30 metafaz incelendi. Hepsinde de heteromorfizm olarak değerlendirildiğimiz 9 numaralı kromozomun perisentrik inversiyonu bulundu. Periferal kanından yapılan incelemede de aynı inversiyon gözlemlendi.

Karyotipi : 46,XY,inv(9)(p11q13)

### **YALNIZ SAYISAL ANORMALLİK GÖZLENEN OLGULAR**

#### **Aneuploidik sayısal anormallikler**

Olgu no 2 : Patolojik tanısı yassı hücreli karsinom olan olgunun incelenen 30 metafazının 17'sinde sayısal artış görüldü (Şekil 4).

Karyotipi : 48,XXY,+20/46,XY

Olgu no 5 : Patolojik tanısı büyük hücreli karsinom olan olgunun 30 metafazı incelendi. 23 metafazda Y kromozom kaybına rastlandı.

Karyotipi: 45,X,-Y/ 46,XY

**Olgu no 13:** Patolojik tanısı yassı hücreli karsinom olan olguda 30 metafaz tarandı ,ancak tam analiz yapılabilecek kalitede 8 metafaz elde edildi ve 5'inde triple X gözlemlendi.

**Karyotipi:** 47,XXX/46,XX

**Olgu no 18:** Patolojik tanısı adenokarsinom olan hastanın incelenen 30 metafazının 12'sinde 9 ve 15 nolu kromozomlarda sayıca artış görüldü.

**Karyotipi:** 48,XY,+9,+15/ 46,XY

### **Poliploidik sayısal anormallikler**

**Olgu no 24:** Patolojik tanısı yassı hücreli karsinom olan olguda , incelenen 30 metafazdan 4'ünde hipertetraploidi tarzında sayısal artış görüldü.

**Karyotipi :** 93-101, XXYY/46,XY

**Olgu no 26:** Patolojik tanısı adenokarsinom olan hastada oldukça seyrek mitoz nedeni ile tüm preparatlarda 22 metafaz değerlendirildi. Total kromozom sayısı 81-91 arasında değişen hipotetraploidi tarzında sayısal artış gözlemlendi.

**Karyotipi :** 81-91, XXYY

### **Aneuploidik+poliploidik sayısal anormallikler**

**Olgu no 16:** Patolojik tanısı küçük hücreli karsinom olan bu olguda 13 metafaz incelendi. 6 metafazda Y kaybı, 11' in monozomisi ve 7 ve 9 unda trizomisi gözlenirken, 7 metafazda ise hipertriploidi tipi, sayı artışı görüldü.

**Karyotipi:** 46,X,-Y,+7,+9,-11/79,XXY,+X,+Y,+1,+2,+3,+4,+5,+6,+10,+11,+14,+15,-16,-18,+19,+20,-22x3

## **SAYISAL VE YAPISAL ANORMALLİKLERİN BİRLİKTE GÖRÜLDÜĞÜ OLGULAR**

### **Aneuploidi ve Yapısal anormalliklerin birlikte görüldüğü olgular**

**Olgu no 8 :** Patolojik tanısı yassı hücreli karsinom olan olguda 30 metafaz sayıldı ,ancak kalitenin kötü olmasından dolayı 15 metafaz incelenebildi. 5 metafazda Y kaybı, 3 metafazda ise 6 nolu kromozomda delesyon gözlemlendi.(Şekil 6).

**Karyotipi :** 45,X,-Y/46,XY,del(6)(q22)/46,XY

**Olgu no 12 :**Patolojik tanısı adenokarsinom olan ve mitoz sıklığının az olması nedeni ile toplam 15 metafaz incelenen olguda, 3 metafazda 11 nolu kromozomda sayısal artış, 5 metafazda da 13 nolu kromozomda hem sayısal hem yapısal anormallik gözlemlendi.

**Karyotipi :** 47,XY,+11/47,XY,+13,del(13)(q14)/46,XY

**Olgu no 14:** Patolojik tanısı adenosquamöz karsinom olan hastadan elde edilen metafazların kaliteli olmaması nedeni ile ancak 5 metafazda tam analiz yapılabilirdi. Bazı kromozomlarda sayısal bazılarında ise klonal yapısal anormallik gözlemlendi (Şekil 8).

**Karyotipi :** 44-48, X,-Y, +1,del(1)(p10),+3x2,+4,+5,+1(7p),+del(7)(q22), del(8)(q13q21),+9, del(9)(q11),-10,+12, add(12)(q24),-16x2, del(17)(p11)-20

**Olgu no 21:** Patolojik tanısı yassı hücreli karsinom olan olguda incelenen 15 metafazın 4'ünde yapısal anormallik, 8'inde ise Y kaybı bulundu (Şekil 10).

**Karyotipi :** 45,X,-Y/46,XY,del(1)(q11),del(2)(p14)/46,XY



### **Poliploidi ve yapısal anormalliklerin birlikte görüldüğü olgular**

**Olgu no 3 :** Patolojik tanısı büyük hücreli karsinom olan hastanın incelenen 30 metafazın tümünde hipotetraploidi tarzında sayısal artışla beraber 18 metafazda klonal ve 12 metafazda klonal olmayan yapısal anormallikler gözlemlendi.

**Karyotipi :** 78-90, X,der(X)t(X;14)(q21;q12),-Y,i(1p),i(1q),del(1)(q12), i(2p),del(3)(q11),del(3)(p11),+3,-4,-5 ,i(6p),del(6)(p21), der(6)t(6;6)(q16;q16),del(7)(q21),-8,i(9q), t(9;10;10)(p23;q11;q11),-10,del(11)(q13),-13, t(14;15)(q11;q11),i(17q),-18,-19,+21,i(21q),-22,+M1,+M2

Aynı olguda klonal olmayan

t(X;12)(q11;q11),del(9)(q12), add(14)(q32), t(3;14)(q11;q12), t(8;16)(q21;q23), t(17;20)(q24;p12), add(20)(q13) şeklindeki kromozom anormallikleri bulundu.

**Olgu no 9:** Patolojik tanısı adenosquamöz karsinom olan olguda incelenen 30 metafazın yalnızca 4'ünde hipotriploidi ve klonal yapısal anormallikler gözlemlendi.

**Karyotipi :** 62-68,XY,del(1)(p11),-4,i(11p),add(15)(q26),-16, der(19)t(8;19)(p23;q13),der(20)t(X;20)(q21;q13)

**Olgu no 10 :** Patolojik tanısı adenosquamöz karsinom olan hastanın incelenen 30 metafazında hipertriploidi ile birlikte klonal yapısal kromozom anormallikleri bulundu (Şekil 7a ve 7b).

**Karyotipi:** 74,XXY,+Y,del(3)(q10),-5,+7,+8,-9,+10,-11,+12x2, der(13)t(5;13)(q23;q14)x2,+14x2,-16,-18,+20x4,-21x2 /75,XXY,+X,del(3)(p11),-4,del(5)(q31),+6,+7,+9x2,+11,+12,-13,-14,-15,-18,-19,+20x5,-21,+22

Olgu no 17 : Patolojik tanısı yassı hücreli karsinom olan olguda, ancak 12 metafaz incelenebildi. 12 metafazın 3'ünde hipotriploidi ve yapısal anormallikler gözlemlendi (Şekil 9).

Karyotipi : 65,XX,del(X)(q22),Y,+1x2,del(1)(p31),+2,+4x2,+5,-6+7x2, tas(7;16)(q36;q24),i(7p),-8x3,-9,-14,-15x2,+16, der(16)t(5;16)(q12;q24)x2,-17,-18,-20,-21,i(21q),-22x2

Olgu no 19: Patolojik tanısı yassı hücreli karsinom olan olguda 10 metafaz incelendiğinde, 6 metafazda yalnızca neartetraploidi gözlenirken, 4 metafazda ise neartetraploidinin yanında klonal yapısal anormallik tespit edildi.

Karyotipi : 87-93,XXYY,-5,-8,-11,-12,+13,-14,-17,-18,+19,-20,+21/93, XXXXY,+1,del(1)(q12),+4,+6x2,del(6)(q12),-8,-9,+10x2, -11x2,-12x3,-13,-14,+18,-19,-20,+21,-22x2

Olgu no 23: Patolojik tanısı yassı hücreli karsinom olan olguda 30 metafaz incelendiğinde, 19 metafazda hipoheptaploidi ve klonal yapısal anormallik, 11 metafazda ise hipertetraploidi ve yapısal anormallik olmak üzere iki farklı anormal kromozom yapısı gösteren klon bulundu (Şekil 11).

Karyotipi : 153,XXX,-Xx2,-Y,del(1)(p22),t(1;22)(q25;q13),i(2p)del(3)(p14), dup(4)(q31q35),-5x4,-6,del(7)(q11),del(10)(q24) der(11)t(8;11)(p11;q11),der(12)t(11;12)(q11;q11), inv(13)(q13q22)der(13)t(13;13)(q11;p11), der(14)t(7;14)(q11;q11),der(15)t(7;15)(p11;q11),+M/94,XXXXYY,+3,-4,+5,+der(7)t(7;20)(q36;p13),+9,-10x3, der(10)t(7;10)(p11;q11),-11x2,+13,-14,+15,+16, -17x2,+18x2,19,-20x2

Olgu no 25 : Patolojik tanısı adenosquamöz karsinom olan bu hastada, incelenen 30 metafazın 5'inde hipertetraploidi ve klonal yapısal anormallikler gözlenirken, 25'inde hipertetraploidinin yanında yapısal anormallik olarak yalnızca X'in uzun kolunda delesyon bulundu.

Karyotipi: 98,XX,del(X)(q21),-Y,+1x2,-2,-4x2,+5,-6, del(6)(q23)x2,i(7p), +10,+11,-13x2,-14,-15,-17,+18x2,+19x5,+20x2+21,+22/88,XX, del(X)(q12),-Y,+5,-8x4,-9,+10x2,+11x2,-12x2,-13,+17,-18x2,-21,+22

Olgu no 28:Patolojik tanısı yassı hücreli karsinom olan olguda 30 metafaz incelendi. 25 metafazda hiperpentaploidi ve yapısal anormallik, 5'inde ise hipotriploidi ve yapısal anormallik olmak üzere iki farklı klon elde edildi (Şekil 13).

Karyotipi : 119,XXYY,+1x4,del(1)(p11),i(2q),i(2p),-4,-6x3,+7x4, der(7)t(3;7)(q11;q36)x2,del(7)(q22),del(8)(q22),i(9q), del(9)(q22),+10x4,+11x3,-12x2,der(12)t(5;12)(q31;q24),-13x4, der(14)t(13;14)(q11;q11),der(14)(14;14)(q11;q11), der(14)t(14;15)(q11;q11),-15,der(15)t(15;15)(q11;q11), +16x2,-17x2,-18x3,+19,-20,+22x4/66,X,del(X)(q23),Y,-1x2, del(1)(p32),-2,t(2;10)(p11;q11),-3,t(3;7)(q11;q11), -5,del(5)(p15q13), del(6)(q16)+7x2,der(7)t(3;7)(q11;q11),+9, i(10p)x2,der(12)t(5;12)(q31;q24)x2,-13x2, der(13)t(8;13)(q11;q11), der(15)t(15;15)(q11;q11),-16, -17x2,-18,+19x3,+20,-21,+22,+M

### **Aneuploidi, poliploidi ve yapısal anormalliklerin birlikte görüldüğü olgular**

**Olgu no 4** : Patolojik tanısı büyük hücreli karsinom olan olguda incelenen klonal 30 metafazın 16'sında hipotetraploidi ve birbirine benzemeyen ufak marker kromozomları gözlenirken, 14 metafazda total kromozom sayısı 46 olmasına rağmen, klonal kromozomların monozomisi ve ayrıca çeşitli yapısal anormallikler görüldü .

**Karyotipi** : 84-88,XXYY,+M1,+M2,+M3/46,XY,-del(7)(q32),i(9p),+9,-10,+der(14)t(14;?),-18.

**Olgu no 7** : Patolojik tanısı yassı hücreli karsinom olan olguda 14 metafaz incelendi. İki farklı klon tespit edildi. 11 metafazda hipotetraploidi ve yapısal anormallik gözlenirken,3 metafazda ise 15 nolu kromozomun trizomisi,17 nolu kromozomun her iki homologunun kaybı ve çeşitli yapısal anormallikler,3 farklı metafazda görüldüğünden klonal kabul edildi (Şekil 5).

**Karyotipi**: 45,XY,t(4;7)(q24;q32),del(6)(q13),+15,-17x2/84,XXXYY,+1x3,del(3)(q11)x2,5,i(6p),7,i(7p),del(9)(q22)+10,del(10)(q23),-11,-13,-14x2,-15x2,-16,-17,-19x2,-21,-22,+M1x2,+M2,+M3

**Olgu no 11** : Patolojik tanısı yassı hücreli karsinom olan hastada incelenen 30 metafazdan 3'ünde yalnızca 7 nolu kromozomda delesyon ve 18 nolu kromozomda ise sayısal anormallik söz konusu iken 5 metafazda 7nolu kromozomdaki delesyona ilaveten hipotetraploidi tarzında sayısal anormallik gözlemlendi.

**Karyotipi** : 45,XY,del(7)(q32),-18/88,XX,del(X)(q13),Y,+1x2,+2,-3,-4x2,-5,-7,del(7)(q32),-8,+9x2,-10,-12,-14x2,+15,+17x2,-20x2,-22/46,XY

Olgu no 22: Patolojik tanısı yassı hücreli karsinom olan olguda 30 metafaz incelendi. 3 metafazda aneuploidi ve yapısal anormallik, 5 metafazda ise neartriploidi ve yapısal anormallik gözlemlendi.

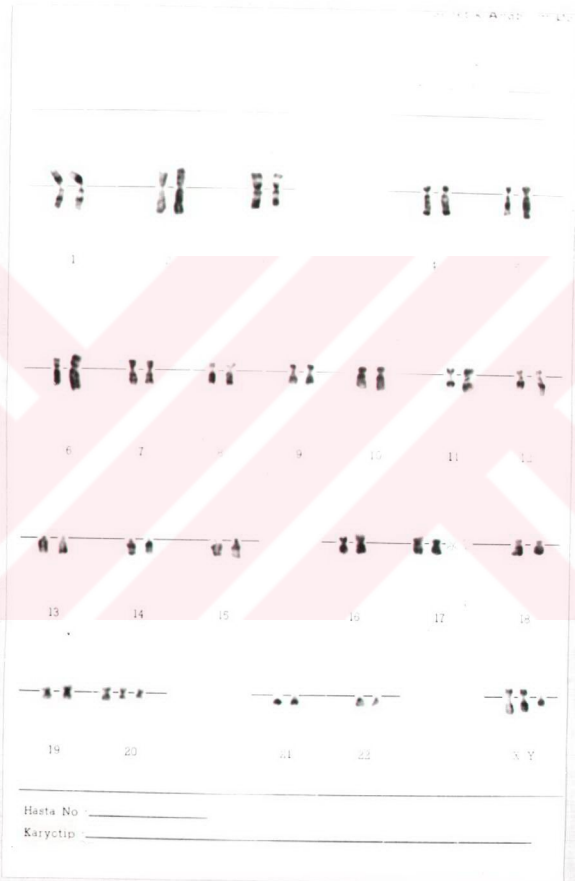
Karyotipi : 46,XY,+2,del(2)(p16),+3,+8,del(8)(q22),+9,del(9)(q22)-10,+13,-15,-16x2,-20,+21,-22/76,X,del(X)(q24),Y,+1x2,del(1)p(35),+2,del(2)(p16),+3,+6,+8,del(8)(q12)x2,+11,-13,-14,+15,+17,-18,+20x2,-21,-22/46,XY

Olgu no 27 : Patolojik tanısı yassı hücreli karsinom olan olguda 30 metafaz incelendi. 8 metafazda yalnızca klonal yapısal anormallik gözlenirken 5 metafazda ise hipertriploidi ile birlikte yapısal kromozom anormallikleri bulundu (Şekil 12).

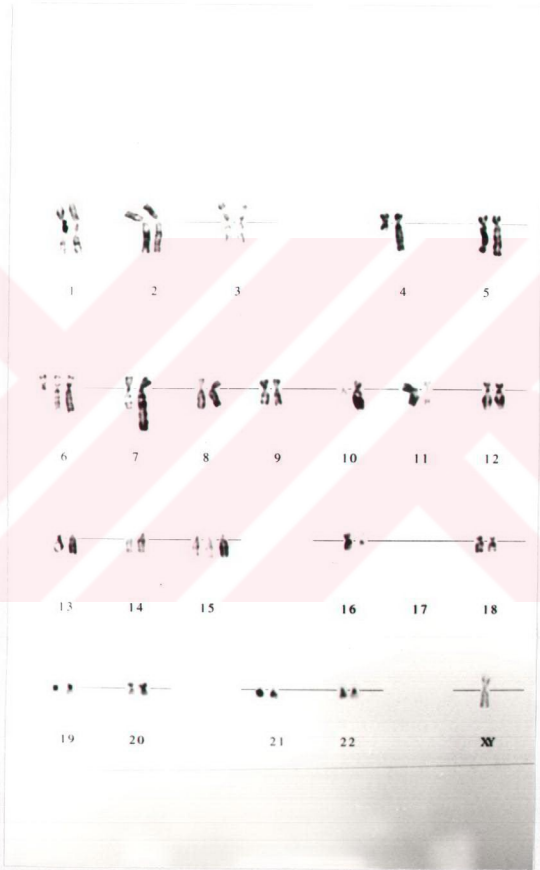
Karyotipi : 46,XY,t(2;11)(q11;q25)/70,X,del(X)(q24), Y,+1x2,del(1)(q11),del(1)(q22),der(1)t(1;3)(q11;p11),+3x2,der(3)t(3;7)(p21;p21),der(3)t(3;10)(q11;q11),+4,-5,del(7)(q22),+der(8)t(1;8)(q23;q24),-11, der(11)t(11;12)(q11;q11),+12,der(12)t(X;12)(q24;q11),-13,-14x2,der(15)t(6;15)(p21;p11)+16,+17,-18x2,-19,-20,-21x3,i(21q),der(21)t(19;21)(p13;q11)x3,+M1,+M2

Olgu no 29 : Patolojik tanısı yassı hücreli karsinom olan olguda 30 metafaz incelendiğinde,3 metafazda 9 nolu kromozomun perisentrik inversiyonu,7 metafazda aneuploidi ile beraber klonal yapısal anormallik, 16 metafazda ise hipertriploidi ile beraber klonal yapısal kromozom anormallikleri gözlemlendi (Şekil 14).

Karyotip : 46,XY,inv(9)(p11;q13)/47,XY,del(1)(p12),+7x2,der(7)t(4;7)(q12;q36),11/73,XXY,+1x2,del(1)(p12),i(2p),+3,+7x3,del(7)(q11)x3,der(7)t(4;7)(q12;q34),+8x2,del(8)(q12),-10x2,der(11)t(10;11)(q21;q14),+13x2,-14,-15,-16x2,+20,-22



Şekil 4. 2.Olguya ait karyotip örneği.  
Karyotip: 48,XXY,+20.



Şekil 5.

7.Olguya ait karyotip örneği.  
Karyotip:45,X,-Y,t(4:7)(q21;36),del(6)(q13),+15,-17x2.



Şekil 6. 8. Olguya ait karyotip örneği.  
Karyotip:46,XY,del(6)(q22).





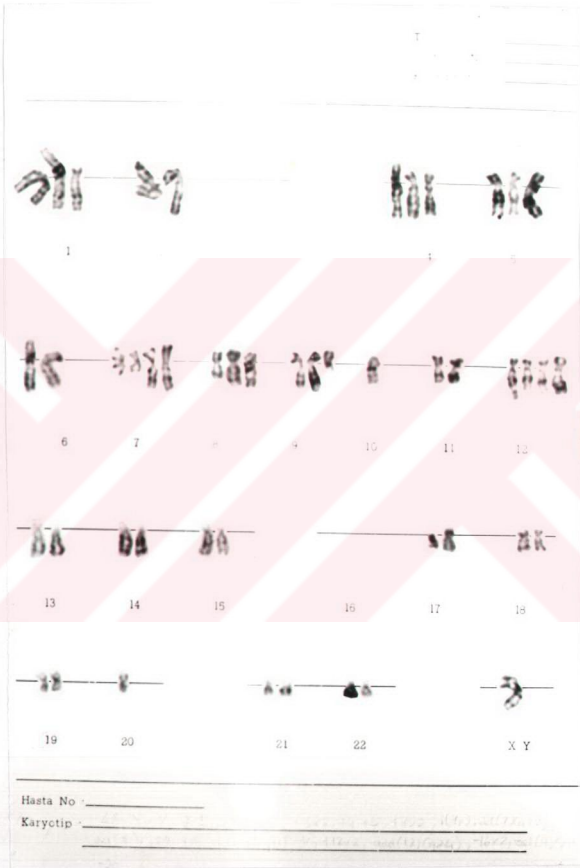
Şekil 7a. 10.Olguya ait karyotip örneği  
 Karyotip:74,XXY,+Y,del(3)(q10),-5,+7,+8,-9,+10, -11,  
 +12x2,der(13)t(5;13)(q23;q14)x2,+14x2,-16,-18,+20x4,-21.x2



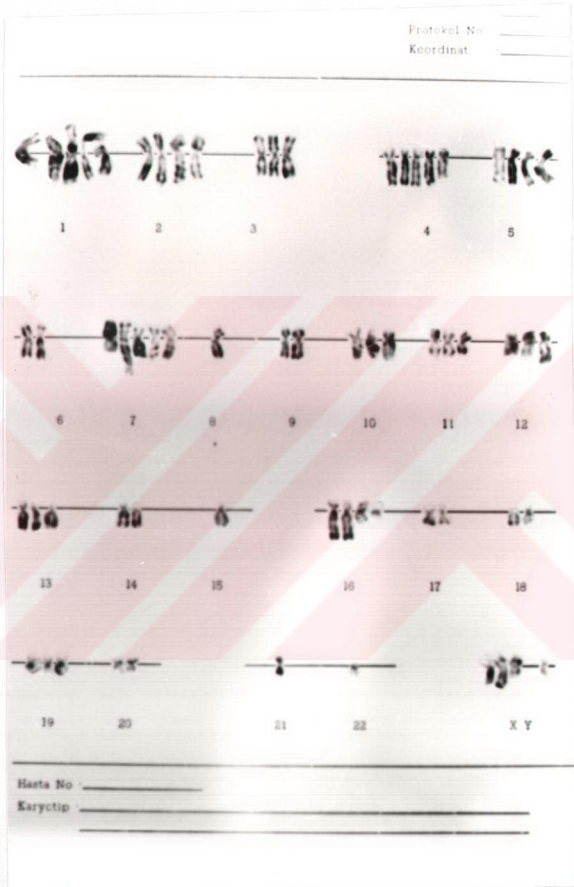
Şekil 7b.

10.Olguya ait karyotip örneği.

Karyotip:75,XXY,+X,del(3)(p11),-4,del(5)(q31),+6,+7,  
+9x2,+11,+12,-13,-14,-15,-18,-19,+20x5,-21,+22.



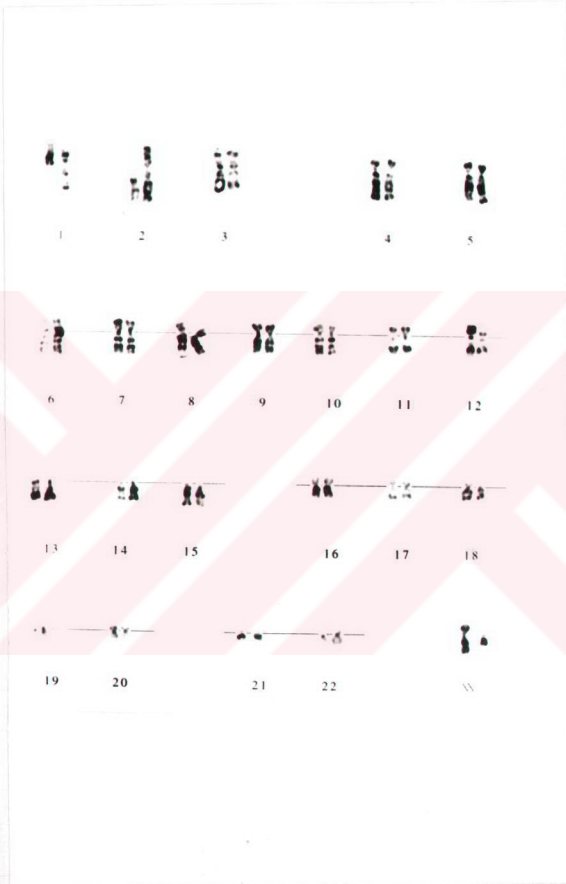
Şekil 8: 14.Olguya ait Karyotip Örneği.  
Karyotip:44,X,-Y,+1,del(1)(p10),-3x2,+4,+5,+i(7p),  
+del(7)(q22),del(8)(q13q21),+9,del(9)(q11),-10,+12,  
add(12)(q24),-16x2,del(17)(p11),-20



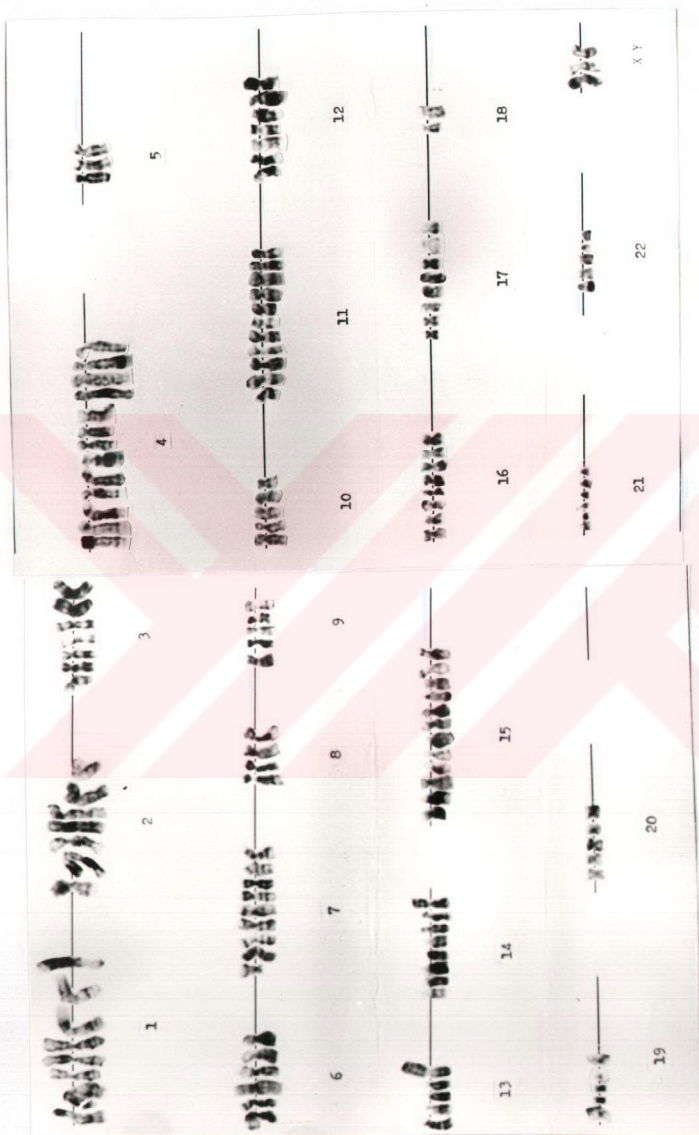
Şekil 9.

17.Olguya ait Karyotip Örneği.

Karyotip:65,XX,del(X)(q22),Y,+1x2,del(1)(p31),+2,+4x2,+5,  
+7x2,tas(7;16)(q36;q24),i(7p),-8x3,-9,-14,-15x2,  
+16,der(16)t(5;16)(q12;q24)x2,-17,-18,-20,-21,i(21q),-22x2



Şekil 10. 21.Olguya ait karyotip örneği.  
Karyotip:46,XY,del(1)(q11),del(2)(p14).

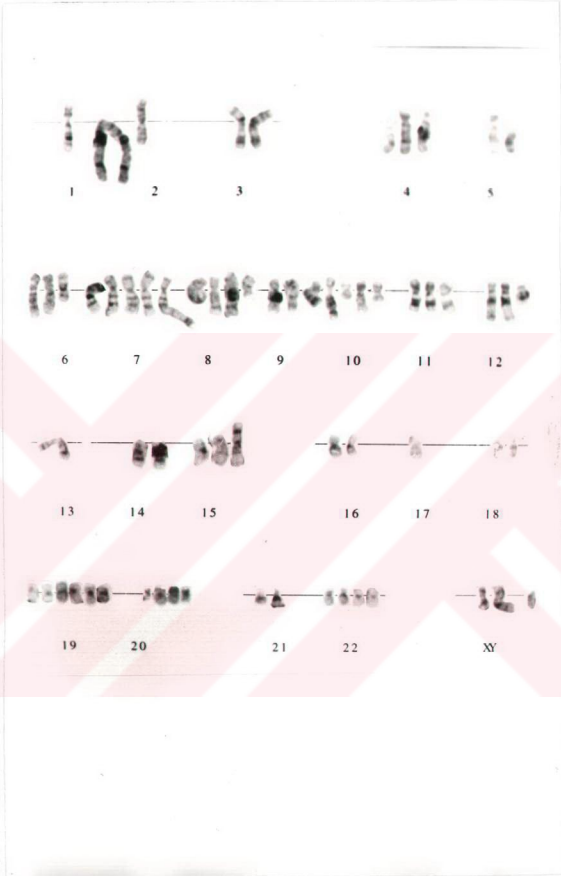


Şekil 11. 23.Olguya ait Karyotip örneği.

Karyotip: 153,XXX,-Xx2,-Y,del(1)(p22),t(1;22)(q25;q13),i(2p),del(3)(p14),dup(4)(q31,q35),-5x4,6,del(7)(q11),del(10)(q24),der(11)t(8;11)(p11;q11),der(12)t(11;12)(q11;q11),inv(13)(q13q22),der(13)t(13;13)(q11;p11),der(14)t(7;14)(q11;q11),der(15)t(7;15)(p11;q11).



Şekil 12. 27.olguya ait karyotip örneği.  
Karyotip: 46,XY,t(2;11)(q11;q25)

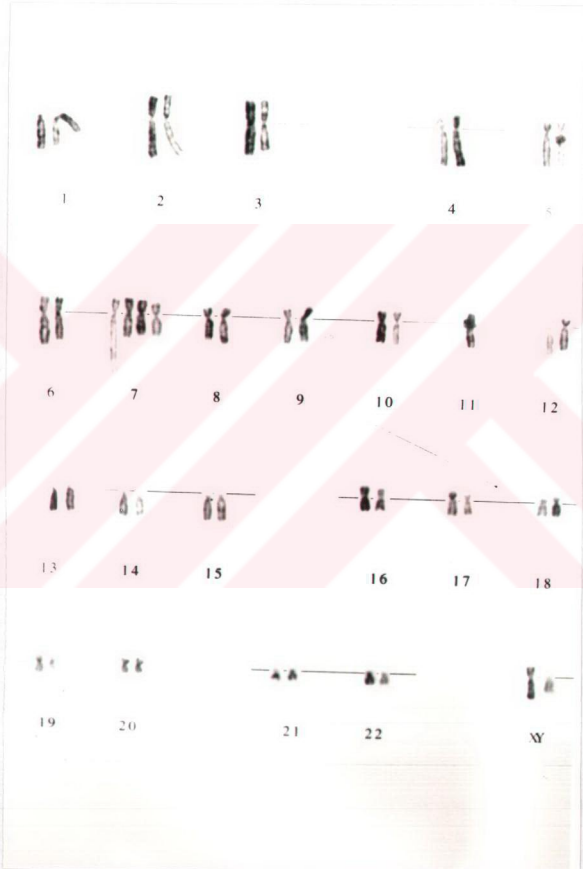


Şekil 13

28. olguya ait karyotip örneği.

Karyotip:66,X,del(X)(q23),Y,1x2,del(1)(p32),2,t(2;10)(p11;q11),-3,t(3;7)(q11;q11),5,del(5)(p15q13),del(6)(q16),+7x2,der(7)t(3;7)(q11;q11),+9,i(10p)x2,der(12)(5;12)(q31;q24)x2,13x2,der(13)t(8;13)(q11;q11),der(15)t(15;15)(q11;q11),-16,-17x2,-18,+19x3,+20,-21,+22,+M





Şekil 14. 29.olguya ait karyotip örneği.  
Karyotip: 47,XY,del(1)(p12),+7x2,der(7)t(4;7)(q12;q36),-11

## TARTIŞMA

1914 yılında Boveri'nin kanser gelişiminde kromozomal değişikliklerin rol oynadığı hipotezini ileri sürmesini takiben, kanser genetiğine karşı yoğun ilgi başlamıştır. Esas amaç da kanserin gelişiminde kromozomal değişikliğin birincil mi yoksa ikincil olay mı olduğunu çözmek için temel mekanizmaların üzerinde durulması olmuştur. Kromozom değişikliğinde pekçok temel mekanizma olmasına rağmen hepside malign transformasyona neden olan genlerdeki dengesizliğin sonucunda meydana gelmektedir (4).

Şekil 1'de görüldüğü gibi kansere sebep olabilecek olası üç yolun üçüde kromozom değişikliği ile ilişkilidir. A'da kanserin direkt sebebi gen fonksiyonunun değişmesidir ve neoplazmın geliştiği bu durumda kromozom değişikliği ikincil olarak gerçekleşmektedir. B'de kromozomal anormallik, genin fonksiyonel olmayışı ile indüklenir, ancak, kanserin oluşumundan birincil sorumlu kromozomal değişiklik olmaktadır. C'de ise intergenik bir ilişki olmaksızın herhangi bir ajan kromozom üzerinde yapısal veya sayısal değişikliğe neden olmakta ve bu kromozomal değişiklik de daha sonra kanserin oluşumunu indüklemektedir. Şekilde açıklandığı gibi B ve C de direkt, A'da ise ikincil olarak kanser gelişiminde rol oynayan kromozomal değişikliklerin, belirli tümörlerde spesifik olduğu bilinmektedir (4). Bu kromozomal bulguların pek çoğu tüm kanserlerin % 10' nunu oluşturan hematolojik malignansilerde gözlenmiştir (53). Diğer taraftan kanserlerin % 90'nını oluşturan solid tümörlerle ilgili veriler sınırlı sayıda kalmıştır.

Solid tümörlerin genellikle bakteri ve diğer kontaminantlarla enfekte olması, hematolojik malignansilere göre hücre bölünmelerinin çok yavaş olması, heterojen ve kompleks kromozom değişikliklerinin varlığı , solid tümörlerle yapılan çalışmaları zorlaştıran ve sınırlı kılan etmenler olmuştur.1980'li yıllardan başlayarak teknolojinin ilerlemesi, hücre süspansiyonunun sağlanması ve yalnızca tümör hücresinin büyümesini indükleyen üreme ortamlarının geliştirilmesi ile 1994 yılına gelindiğinde solid tümörlerin sitogenetiği ile ilgili veriler oldukça artmış, sitogenetik anormallik saptanan olgu sayısı 5000'i geçmiştir.

Bugüne kadar akciğer tümörlerinin sitogenetiği ile ilgili çeşitli araştırmacılar tarafından toplam 205 olguda kromozom bulguları bildirilmiştir (52). Bizim çalışmamızda,16 olguda yassı hücreli karsinom, 6 olguda adenokarsinom, 4 olguda adenosquamöz, 3 olguda büyük hücreli, 1 olguda küçük hücreli akciğer karsinomu ve 1 olguda da hamartom tanısı konulmuş olan toplam 31 olgu ele alınmıştır.

Pek çok neoplazmda işe karışan kromozomlardan biri 1 nolu kromozom olmuştur. Zech ve arkadaşlarının 1985 yılında adenokarsinom tipi cell line ile yaptıkları çalışmada 1p delesyonu ve i(1q) tipi yapısal anormallik bulunmuştur (96). Daha sonra primer gelişim organı akciğer olan ve beyin dokusuna metastazı görülen adenokarsinomlu iki olguda metastatik lezyonlarla yapılan çalışmada 1 nolu kromozomda p13 ve p22 bölgesinde delesyon görülmüştür (97). Büyük hücreli akciğer tümörünün beyin dokusuna metastaz yaptığı bir olguda yapılan diğer bir çalışmada ise 1p36.1 bölgesinde delesyon saptanmıştır. (98). Ronne ve arkadaşları, yassı hücre karsinomlu bir olgunun hem tümörlü dokusunda hemde periferik kanında 1 nolu kromozomda pter q11::q21 qter bölgesinde delesyon (99), yine yassı hücreli akciğer kanserlerini içeren iki çalışmada 4 olguda; 1 nolu kromozomda kısa ve uzun kolda delesyonlara rastlanmıştır (58,99) .

9 adenokarsinomu kapsayan iki ayrı çalışmada ise olguların 4'ünde 1 nolu kromozomun kısa ve uzun kolunda delesyonlar gözlenmiştir (57,100). 1991 yılında Peng ve arkadaşları 30 küçük hücreli olmayan akciğer tümörlü olguya ait cell line ve taze doku materyalinde yaptıkları çalışmada 18 olguda 1 nolu kromozomun kısa ve uzun kollarında çeşitli kırık noktalarında delesyonlar bulmuşlardır(101). 1994 yılında 67 adenokarsinomlu olguda kromozom aberasyonlarının olduğu bildirilmiştir (102). Bu klonal kromozom değişikliklerinin bir kısmı 1 nolu kromozomdaki değişiklikleri içermektedir. Üç olguda 1 nolu kromozomda p22 bölgesi, 2 olguda p13, 2 olguda q21 bölgesinde ve üç ayrı olguda q11,q23,q42 bölgelerinde delesyonlar, bir olguda da i(1q) tipi yapısal değişiklik görülmüştür.

Bizim çalışmamızda 7 yassı hücreli karsinomlu olguda (olgu no:17, 19,22, 23,27,28 ve 29) ve adenokarsinomlu bir olguda (olgu no:9) 1 nolu kromozomun kısa ve uzun kollarında p11,p12,p22,p23,q11,q22 kırılma noktalarında delesyonlar gözlenirken, büyük hücreli karsinomlu bir olguda (olgu no:3) 1 nolu kromozomun hem uzun hemde kısa kolunun izokromozom tipi yapısal anormallikler bulunmuştur. Nadiren görülen izokromozomlara karşın, 1 numaralı kromozomda bu kadar sık delesyonların görülmesi 1) 1 nolu kromozomlardaki kayıplarla bu kromozomda lokalize tümör supressör genlerin kaybına bağlı olarak tümör gelişiminin indüklendiği 2) 1 nolu kromozomdaki delesyon ve izokromozom tipi yapısal değişikliklerle ortaya çıkan dengesizliğin tümör oluşumunda önemli rol oynadığı şeklinde açıklanabilir.

Küçük hücreli olmayan diğer akciğer tümörleri ile yapılan olgu sayısının az olduğu ilk çalışmalarda, 2 nolu kromozomun kısa ve uzun kolundaki delesyonlar yalnızca iki olguda gözlenirken, daha sonra yapılan çalışmalarda bu delesyonlara ilave klonal kromozom bulguları olarak çeşitli translokasyonlar t(1;2), t(2;3), t(2;5), t(2;7), t(2;8), t(2;21), gösterilmiştir (59,62,67,100,101,102,103,104). Bizim çalışmamızda ise iki yassı hücreli karsinomlu olguda (olgu no:27 ve 28) iki farklı

translokasyon [t(2;10) ve t(2;11)] bulunurken, bir yassı hücreli karsinomlu olguda (olgu no 28) 2 nolu kromozomun hem kısa hemde uzun kolunun izokromozomu, büyük hücreli karsinomlu olguda (olgu no:3) ve yassı hücreli karsinomlu diğer bir olguda da yalnızca i(2p) saptanmıştır. Geriye kalan 2 olguda (olgu no:21 ve 22) ise 2 nolu kromozomun kısa kolunda delesyon gözlenmiştir. Bu bulgular bize 2 nolu kromozomdaki değişikliklerin primer değişiklik olmadığını, ancak tümörün ilerlemesi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Üzerinde en çok çalışılan akciğer kanseri tipi, küçük hücreli akciğer karsinomu olup, % 90'ından fazlasında spesifik kromozom bulgusu olarak belirtilen 3 nolu kromozomun kısa kolunda p14p23 bölgesinde ara delesyon gözlenmiştir (61-63). Küçük hücreli akciğer karsinomlarının % 10'nunda bu spesifik ara delesyonun görülememesinin nedeni teknik yetersizlikler, tümör yerine destek dokusunu oluşturan fibroblastların üremesi, aynı bölgede sitogenetik olarak tespit edilemeyecek bir delesyonun varlığı yada bilinmeyen başka etmenler olabilir. İnce iğne aspirasyon tekniğinin gelişmesi ile sitolojik olarak tanımlanabilen küçük hücreli akciğer karsinomları ameliyat edilmediğinden, bu çalışmadaki 31 olgudan yalnızca biri (olgu no16) küçük hücreli akciğer karsinom tanımlı olup, bu olguda spesifik delesyon (3p14p23) gözlenmemiştir. Bunun yanında Y kromozom kaybı ile birlikte trizomi 7 'nin görüldüğü bir klon, bir diğer klonda ise yapısal kromozom anormalliksi olmaksızın hipertriploidi tarzında sayısal artış bulunmuştur. 3p14p23'de delesyon olmaksızın diğer kromozomal bulguları elde etmiş olmamız, bizim olgumuzda spesifik delesyonu görmememizin nedeninin teknik yetersizliklere bağlanamayacağını, belkide mikroskopik olarak görülemeyecek kadar küçük bir delesyon olabileceğini yada bugüne kadar belirlenemeyen başka bir nedeni olabileceğini düşündürmektedir. Son yıllarda yapılan sitogenetik ve moleküler genetik çalışmalarda, 3p'deki ara delesyonun yalnızca küçük hücreli akciğer karsinomlarında değil aynı zaman da küçük hücreli olmayan diğer tip akciğer kanserlerinde de olduğu gösterilmiştir (96). Aday bir tümör supressör geni taşıdığı düşünülen bu kromozom bölgesinde delesyon hiçbir

olgumuzda gözlenmezken, büyük hücreli karsinomlu 3 nolu olguda, 3 numaralı kromozomun hem p hemde q kolunda sentomerden terminale kadar delesyonun olduğu iki farklı klon tespit edilmiştir. Adenosquamöz karsinomlu 10 nolu olguda 3 nolu kromozomun uzun kolunda (3q21), 23 nolu yassı hücreli karsinomlu olgununda 3 numaralı kromozomunun kısa kolunda (3p14) delesyon gözlenmiştir. Daha önceki araştırmacıların bulgularına eş kırık noktasında delesyon görülmemesine rağmen , en azından 3 nolu kromozomun yalnızca küçük hücreli akciğer tümörlerinde değil aynı zamanda diğer tip hücrelerinin tümörleşmesinde de işe karıştığı hipotezini desteklemektedir.

Malignansilerde sıklıkla değişikliğe uğrayan kromozomlardan bir diğeri de 6 nolu kromozomdur. Akciğer tümörleri ile yapılan çalışmalarda en çok uzun kolda delesyon bulunmuştur. (59,64,96,97,101,102). Sıklıkla adenokarsinomlarda gözlenen 6 nolu kromozomun uzun kolundaki delesyon, metastatik dokularla yapılan bir çalışmada da görülmüştür (97). Çalışmamızda daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak küçük hücreli olmayan diğer akciğer kanserinde 6 nolu kromozomun kısa kolunda delesyona rastlanmıştır. Bu bulgu bize 6 nolu kromozomunda tümörün ilerlemesinde rol oynadığını düşündürmektedir. 6 nolu kromozomun, 10q,2q,16q,14p11 gibi diğer kromozom bölgeleriyle yaptığı translokasyonlarda özgüllük gözlenmezken (102,103), adenokarsinomlarla ilgili üç farklı çalışmada sadece 6 ve 17 nolu kromozomlar arasında translokasyon bulunmuştur. İki çalışmada da kırık noktaları aynı olup, diğer üçüncü çalışmada farklıdır. (59,105,102). Belki de bu translokasyon, akciğer tümörlerinden adenokarsinom için primer değişiklik olabilir.

Hamartom, akciğer kanserinde en sık rastlanan benign tümör tipi olup, bugüne kadar 12 olgu bildirilmiştir (106-108). Bu çalışmada 1 nolu olguda hamartom tanısı konulmuş ve tümör materyalinin sitogenetik incelenmesi sonucunda, 6 nolu kromozomun kısa koluna, orijini bilinmeyen bir kromozom materyalinin eklendiği gözlenmiştir [add(6)(p21)]. Daha önceki hamartomlu olgularda sıklıkla 6p21, 14q24, 12q12-15 ve 17p kromozom bölgelerinde yeni düzenlenmeler dikkati

çekmiştir. Çalışmamızda da ilgili kromozom bölgesi 6p21 olduğundan, bu bölgede, benign dokuların neoplastik yapıya dönüşümünde rol oynayabilecek onkogen aktivasyonu düşünülebilir.

Trizomi 7, akciğer kanserlerinde ve pek çok tümör dokusunda ve ayrıca tümörlü bölgedeki normal hücrelerde de gözlenmiştir (65,66,109, 110,111). Bizim bir olgumuzda (olgu no:16) Y kaybı ile birlikte trizomi 7 bulunmuştur. Diğer kromozom anormallikleri olmaksızın tek başına trizomi 7 nin varlığı, tümörün erken evrede olduğunun göstergesi olabilir. Tümörlü dokunun dışında normal dokuda da görülmesi ise ,bu kromozomun kansere yatkınlığının habercisi olarak değerlendirilmesine neden olmaktadır. Akciğer kanserli olguların çoğunda trizomi 7' nin yanında, 7 nolu kromozomun izokromozomu, uzun kolda delesyon ve translokasyon tipi değişiklik gözlenmiştir. Daha önce adenokarsinom ve küçük hücreli akciğer karsinomlarıyla yapılan çalışmalarda 7 nolu kromozomun uzun kolunda 7q22 delesyonu bulunmuştur (67,102,112). Bu çalışmada iki yassı hücreli karsinomlu olguda(olgu no:27 ve28 ) ve bir adenokarsinomlu olguda (olgu no14) da aynı kırık noktasında delesyon saptanmıştır. Ayrıca iki yassı hücreli ve bir büyük hücreli akciğer tümörlü 3 olguda (olgu no:4,11,23) 7 nolu kromozomda q11 ve q32 bölgelerinde delesyon bulunmuştur. 1989 yılında Burholt ve arkadaşları (104) büyük hücreli karsinomlu bir olguda i(7p) tipi yapısal değişiklik saptamışlardır. 21 küçük hücreli olmayan akciğer tümörüyle yapılan bir çalışmada büyük hücreli karsinomlu bir olguda i(7p), küçük hücreli akciğer karsinomlu bir olguda ise i(7q) gözlenmiştir (59). Yassı hücreli karsinomlu 7 olgu ile yapılan bir başka çalışmada delesyon 7(q31), trizomi 7, i(7q) şeklinde 7 nolu kromozomla ilişkili anormallikler bulunmuştur (99). Bizim çalışmamızda da adenosquamöz karsinomlu bir olguda(olgu no:14) delesyon 7q22, trizomi 7, i(7p) gözlenirken, ayrıca üç olguda da (olgu no: 7,17,25) i(7p) bulunmuştur. Lukeis ve arkadaşları, küçük hücreli olmayan akciğer karsinomlu 10 olgunun 4'ünde 7p22 bölgesindeki translokasyonları ve 4 olguda da trizomi 7 nin varlığını göstermişlerdir (113). 30 olguyu içeren başka bir çalışmada ise biri büyük hücreli, 5'i adenokarsinom olan toplam 6 olguda 7 nolu kromozomda 7q22,

7q31, 7q31.2, 7q32x2 ve 7p12 kırık noktalarında delesyonlar, ve i(7p), iki adenokarsinomlu, bir büyük hücre karsinomlu 3 olguda 3 ve 7 nolu kromozomlar arasında translokasyon ve büyük hücreli karsinom içeren olguda 4 ve 7 nolu kromozomlar arasında ikinci bir translokasyon gözlenmiştir (95). Bu çalışmada iki yassı hücreli karsinomlu olguda (olgu no:7 ve29) aynı translokasyon (t(4;7) ve ayrıca t(3;7),t(7;10), t(7;14), (7;15),t(7;20) translokasyonlar bulunmuştur. Sozzi ve arkadaşlarının hem küçük hücreli olmayan akciğer tümörlü dokularda hem de periferik kan örneğinde yaptıkları çalışmada, tümör dokusunda spesifik olmayan pek çok sayısal ve yapısal anormallik bulunurken, periferik kan hücrelerinde ise 7p13p12 delesyonuna ve 4 ve 7 nolu kromozomlar arasındaki translokasyona rastlanmıştır (114). Hem tümörlü dokuda hemde çevre normal dokuda bu translokasyonun varlığı, hücre tipi gözetmeksizin bronşial tümörlerin gelişmesinde 4 ve 7 nolu kromozomlar arasındaki translokasyonun tetiği çeken yapısal değişiklik olduğunu düşündürmektedir. 7 nolu kromozomdaki ekstra kopyeler, delesyonlar ve translokasyonlar ve izokromozom tipi yapısal değişiklikler 7 nolu kromozomun kısa kolunda (p12-13) lokalize olan EGFR (epidermal growth faktör reseptör) geninde ifade değişikliğine yol açabilir ve EGFR gen ifadesinin artışı ile hücreler daha hızlı çoğalabilir. Ayrıca 7 nolu kromozomun üzerinde A-raf2, erbB-1 ve c-met gibi onkogenlerin bulunması, 7 nolu kromozomun katıldığı translokasyonlarla aktif olarak tümörleşmeye neden olabilir.

Adenokarsinomlarda gözlenen en sık kromozom değişikliği, izokromozom tipi yapısal değişikliklerdir. 1991 yılına kadar yalnızca adenokarsinomlu olgularda gösterilen i(8q) (67,97,105,115), yassı hücreli karsinomda da bulunmuştur (101). 1994 yılında 67 adenokarsinomla yapılan çalışmada yalnızca tek bir olguda i(8q) gösterilmiştir (102). Çalışmamızda 31 olgunun hiçbirinde i(8q) tipi yapısal anormallik gözlenmemiştir. Bu bulgular i(8q) nun akciğer adenokarsinomlarına özgül olmadığını desteklemektedir. Ayrıca i(8q) kalın barsak kanserinde, rektosigmoidal adenokarsinomda, mesane kanserinde ve lösemilerde de bulunmuştur (54,108-110). Özgül olmaksızın bu anormalliklerin pek çok tümörde



görülüyor olması, i(8q) içeren hücrelere heterojen hücre popülasyonunda büyüme avantajı sağlıyor olabilir. Bunun yanında çalışmamızda 3 yassı hücreli (olgu no:22,28,29) ve bir adenosquamöz kanserli (olgu no:14) olguda 8q22 ve 8q12 bölgelerinde delesyonlar gözlenmiştir. 8q delesyonuna daha önceki çalışmalarda rastlanmamıştır. Bu bulgu, delesyon bölgesinden itibaren kaybolan kromozom materyalinde aday bir tümör supressör geni olabileceğini düşündürmektedir.

Kanserde sık gözlenen kromozom anormalliklerinden biri de 9 numaralı kromozom olmuştur. 9 nolu kromozomu içeren anormalliklerin başında izokromozom tipi yapısal değişiklik gelmektedir. Genellikle akciğer adenokarsinomlarında i(9q) gözlenmiştir (67,97,101,102). Bunu takiben en sık gözlenen diğer yapısal değişiklik, 9 nolu kromozomun p ve q kolundaki kayıplar olmuştur (59,67,99,100,101,111). Üç farklı çalışmada 9 ve 15 nolu kromozomlar arasındaki translokasyon, hem adenokarsinom, hem adenosquamöz karsinom, hemde yassı hücreli karsinomda olmak üzere toplam 6 olguda gösterilmiştir. Bu çalışmamızda bir adenokarsinomlu olguda (olgu no:18) tek değişiklik olarak 9 nolu kromozomun trizomisi bulunmuştur. İki büyük hücreli karsinomlu olguda (olgu no:3 ve 4), i(9p) ve i(9q) saptanmıştır. Üç yassı hücreli akciğer tümörlü olguda (olgu no:7,22,28) 9q22'de delesyon gözlenirken, iki yassı hücreli olguda da (olgu no:29 ve 30) inversiyon tipi (inv 9) yapısal değişiklik bulunmuştur. İversiyon 9, daha önce yapılan iki çalışmada da bildirilmiştir (102,112). Çalışmamızda inv(9) bulunan iki olgudan da ameliyat öncesi kan alınamadığından, ameliyat sonrası her iki olguya ulaşılmaya çalışılmıştır. 30 nolu olgudan ameliyattan 2 ay sonra kan alınabilmiştir. Hastanın periferal kanında da aynı inversiyon gözlenmiştir. Bu olgunun periferal kanında inv(9)' un dışında, ring kromozom , pek çok asentrik fragmentler de bulunmuştur. Ameliyattan sonra uzun süreli terapi gördüğü için, ilave kromozom bulgularının terapi kaynaklı olduğu düşünülürken, heteromorfizm olarak değerlendirilen inv(9)' un ise kanserin gelişiminde yatkınlık ile ilişkili olmadığı düşünülmektedir.

10 nolu kromozomla ilgili özgül bir bulgu bugüne kadar bildirilmemiş olmasına rağmen çalışmamızda büyük hücreli karsinomlu bir olguda (olgu no:3) kompleks translokasyon  $t(9;10;10)(p23;q11;q11)$ , iki yassı hücreli karsinomlu olguda sırasıyla (olgu no:28 ve 29)  $t(2;10)(p11;q11)$  ve  $t(10;11)(q21;q14)$  translokasyonları gözlenmiştir. Ayrıca iki ayrı yassı hücreli karsinomlu olguda (olgu no7 ve23) 10 nolu kromozomun uzun kolunda delesyon bulunmuştur. 10 nolu kromozom ile ilgili bulgularda özellikle q11 kırık noktası dikkat çekici olmasına rağmen, bu kromozomdaki değişikliklerin küçük hücreli olmayan akciğer tümörlerinde sekonder değişiklik olabileceği düşünülebilir. Bu konuda yayınlar arttıkça daha sağlıklı sonuçlar elde edilebilecektir.

Akciğer kanserlerinde sıklıkla işe karışan kromozomlardan biri de 11 numaralı kromozom olup, küçük hücreli olmayan çoğu akciğer tümörlerinde 11 nolu kromozomda delesyonlar, duplikasyonlar ve çeşitli kromozomlarla yaptığı translokasyonlar gözlenmiştir(59,101,102). Çalışmamızda ise iki yassı hücreli karsinomlu olguda (olgu no:23 ve 27) 11 ve 12 nolu kromozomlar arasındaki translokasyon  $t(11;12)(q11;q11)$  bulunmuştur. Diğer akciğer tümörlerinde görülmeksizin yalnızca yassı hücreli karsinomlarda bu translokasyonun görülmesi, bu kromozomal değişikliğin yassı hücreli karsinoma özgül primer bir değişiklik olabileceğini düşündürmektedir.

Diğer bir dikkati çeken kromozom grubu akrosentrik kromozomlardır. Bunların içinde en çok üzerinde durulanı ise RB1 genini taşıdığından 13 numaralı kromozom olmuştur. Akciğer tümörleri ile yapılan çalışmalarda sıklıkla 13 nolu kromozomda izokromozom tipi yapısal değişiklik, 13q'da delesyon, D grubu kromozomlarının birbiri ile yaptığı translokasyonlar ( $t(13;14)$ ,  $t(14;15)$ ,  $(13;15)$ ,  $t(14;14)$ ,  $t(15;15)$ ) görülmüştür (59,99,100-102,116). Çalışmamızda daha önceki araştırmalarla uyumlu olarak, bir adenokarsinomlu olguda (olgu no:12)  $del(13)q14$ , iki yassı hücreli karsinomlu olguda (olgu no:14 ve 23)  $t(13;13)$  , bir büyük hücreli akciğer karsinomlu olguda (olgu no:3)  $t(14;15)$  translokasyonu, bir yassı hücreli olguda da (olgu no:28)  $t(15;15)$

translokasyonu bulunmuştur. 13 nolu kromozomun 5, 8, 13 ve 20 numaralı kromozom-larla yaptığı translokasyonlarda kırık noktaları q11 ve q14 olmuştur. Gerek bu translokasyonların görüldüğü olgularda (olgu no:10,28,23,14), gerekse 13q14 delesyonu olan olguda, kaybolan bölgede RB1 geni lokalize olduğundan akciğer tümörlerinin gelişimindeki rolü bu sitogenetik verilerimizle desteklenmektedir. Daha önce iki çalışmada (66,117) belirtilen 15 nolu kromozomun trizomisi, bu çalışmada 18 nolu olguda (adenokarsinom) trizomi 9 ile beraber sayısal kromozom değişikliği olarak gözlenmiştir. Akrosentrik küçük kromozom grubundan 21 nolu kromozomun diğer kromozomlarla translokasyonları t(2;21), t(14;21), t(5;21), t(1;21) akciğer tümörlerinde gözlenmiştir (59,99,101). Çalışmamızda bir tek olguda (olgu no:27), 19 ve21 nolu kromozomlar arasında translokasyon gözlenmiştir. Ayrıca iki yassı hücreli karsinomlu olguda (olgu no:17 ve 27) ve bir büyük hücreli tümörlü olguda (olgu no: 3) 21 numaralı kromozomun izokromozom tipi yapısal değişikliğin görülmesi önemli olabilir. Yassı hücreli ve büyük hücreli karsinomlarla yapılan çalışmaların sayısı arttıkça bu translokasyonun önemi tartışılır hale gelebilir.

1987 yılına kadar, solid tümörlerde X kromozomu ile ilişkili primer bir değişiklik bulunamazken, Carel ve arkadaşları 4 sinovial sarkomlu olguda X ve 18 nolu kromozomlar arasında translokasyon t(X;18)(p11.2;q11.2) olduğunu göstermişlerdir (118). Akciğer tümörleri ile yapılan daha sonraki çalışmalarda X'in uzun kolunda q23,q24,q26 bölgelerinde delesyonlar ve X kromozomunun katıldığı translokasyonlar [t(X;1),t(X;3),t(X;6),t(X;15)] ve izokromozom tipi yapısal anormallikler görülmüştür (59,67,101,102,113,). Bizim çalışmamızda, üç yassı hücreli karsinomlu olguda (olgu no:11,22,28), q13,q23,q24 bölgelerinde delesyon gözlenirken, iki adenosquamöz karsinomlu olgudan birinde (olgu no:29) Xq21 bölgesinde delesyon, diğerinde ise (olgu no:9) X ve 20 nolu kromozomlar arasında [t(X;20)(q21;q13)] translokasyonu bulunmuştur. Bir büyük hücreli karsinomlu olguda (olgu no:3) iki farklı klonda iki farklı translokasyon bulunmuştur. Bunlardan biri t(X;14)(q21;q12), diğeri ise t(X;12)(q11;q11) translokasyonudur. X;12 translokasyonuna diğeri bir yassı hücreli karsinomlu olguda da (olgu no: 27) rastlanmıştır.

Bu kadar yapısal değişikliğin olması, X kromozomunda p21-q11 bölgesinde lokalize ARAF 1 onkogen grubunun aktivasyonunu düşündürmektedir. X kromozomu ile ilgili olarak sayısal anormallikler de bulunmaktadır. Büyük hücreli karsinomlu bir erkek olguda (olgu no:2), iki X kromozomu ve yassı hücreli akciğer karsinomlu bir kadın hastada (olgu no: 13) üç X gözlenmiştir. Erken replike olan X kromozomunda sayısal artış, X'e bağlı genlerin ifadesinin iki katı olması ile meydana gelecek dengesizliğin kanserin gelişimine neden olduğu düşünülebilir. Daha önce kolon, anüs ve mesane tümörlerinde X kromozomunun artışı gözlenmiş ve bu artışın erken replike olan X kromozomu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (119-122). Akciğer tümörlerinde ise Y kromozomu dışında X kromozomunda primer değişiklik olarak sayı artışı bugüne kadar belirtilmemiştir. Fakat, kesin bir sonuca varmak için şimdilik sayı yetersiz olabilir.

Y kaybı görülen toplam 5 olgunun bir tanesi küçük hücreli (yukarıda bahsedilen 16 nolu olgu) iki tanesi büyük hücreli (3 ve 5 nolu olgular), iki tanesi yassı hücreli (8 ve 23 nolu olgular) akciğer tümörüne sahiptir. Tümör hücresinde Y kromozomunun kaybı akciğer karsinomunun tüm tiplerinde daha önce yapılan çalışmalarla da gösterilmiştir (119-122). Tümöre özgülüğü söz konusu olmamasına rağmen, Y kaybının tümör gelişiminde ikincil bir olay olduğu ve hatta tümörün ilerlemesi ile ilişkili bir bulgu olabileceği düşünülmektedir. İleri yaştaki erkek bireylerde Y kromozom kaybı görüldüğünden bu bulgunun gerçekten tümöral olup olmadığı konusunda açık noktalar bulunmaktadır. Ancak, çalışmamızda Y kaybı görülen 55-66 yaş arasındaki 5 olgudan 4'ünün periferel kanından yapılan sitogenetik incelemede Y kaybı görülmediğinden, sonuçlarımız Y kaybının tümöre bağlı olduğunu desteklemektedir.

Tablo 3'de görüldüğü gibi 17 olguda poliploidi gözlenmiştir. Yapısal anormallik olmaksızın yalnızca sayısal artışın olması, genomik instabilitenin kanserin temel mekanizması olduğundan, beklenen bir bulgu olmuştur ve şimdiye kadar yapılan çalışmalarda da gündeme bile

getirilmemiştir. Ancak bazı tümörlerde poliploidinin prognostik önemi olduğundan, akciğer tümörlerinin progresyonu ve tedavisinde de klinikte önemli olmaktadır.

Araştırmamızdan çıkan sonuçlar değerlendirildiğinde akciğer tümörleri, fonksiyonları, histolojik ve mikroskopik yapıları birbirinden farklı oldukça heterojen hücre popülasyonuna sahip olsa da, orijinde tek bir atasal hücreden geldikleri açıkça belli olmaktadır. Çünkü ilk çalışmalarda 3p'deki ara delesyonun küçük hücreli akciğer karsinomlarına özgül olduğu ve diğer küçük hücreli olmayan akciğer tümörlerinde bulunmadığı ileri sürülmüştür. Ancak, teknik ilerlemeler ve çalışılan olgu sayısındaki artış ile bu bulgu diğer akciğer tümörlerinde de gösterilmiştir. Aynı şekilde 1(8q), 1(9q) tipli yapısal anormalliklerin yalnızca adenokarsinoma özgül olduğu bildirilirken son yıllardaki çalışmalarda bu bulgu diğer karsinomlarda da gösterilmiştir. Bu durumda kromozomal bulguların özgüllüğünden ziyade, primer yada sekonder değişiklik olmaları ve tümörün sonraki seyri ile ilgili klinisyeni bilgilendirici ve tedavide yönlendirici olmaları önemlidir.

Sonuç olarak, tümör benign yada malign olsun, hücrede kontrolsüz üremenin başlaması, genomik instabilite ile birlikte gideceğinden, kromozomda yapısal yada sayısal değişiklikler ortaya çıkabilecektir. Ancak, sitogenetik olarak tespit edilemeyecek kadar küçük delesyonlar ya da moleküler genetik çalışmalarla açığa çıkabilecek nokta mutasyonları, onkogen aktivasyonu veya tümör supressör gen kaybınında gösterilebilmesi için, sitogenetik ve moleküler genetik çalışmaların birlikte yürütülmesi açık noktaların giderilmesinde yarar sağlayacaktır.

Bugün artık kanserin çok basamaklı, genetik bir hastalık olduğu kabul edildiğinden çevresel etmenler göz ardı edilemez. Akciğer kanserlerinde en sık karşılaşılan çevresel faktör sigara içme alışkanlığıdır. Çalışmamızda da 24 olguda günde en az bir paket olmak üzere sigara içme alışkanlığının olduğu tespit edilmiştir.

Çevresel faktörlerle genetik etkileşimin en iyi örneğini, sigara kullanan akciğer kanserli hastalarda p53 gen mutasyonlarının incelenmesi ile ilgili çalışmalar göstermiştir(123). p53 geninde pek çok kanser tipinde ve pek çok farklı bölgede mutasyonlar gözlenirken, sigara kullanan bireylerde p53 geninde hep belirli bölgede mutasyonun bulunması, çevresel faktörlerin genetik yapı üzerindeki seçici etkisini göstermektedir. Ayrıca her bireyin etkilendiği çevresel faktörlerin farklı olması, bu çevresel faktörlere bireysel yanıtta çeşitlilik, yani immünogenetik yapının bireyden bireye değişkenlik göstermesi ve bunun da saptanmasındaki güçlükler nedeni ile kalıtım ve çevrenin bir arada kompleks etkilerinin görüldüğü kanserin nedenlerinin araştırılmasında daha fazla çalışmaya ve araştırmaya ihtiyaç olduğu inancındayız.

## ÖZET

16 yassı hücreli karsinom, 6 adenokarsinom, 4 adenosquamöz karsinom, 3 büyük hücreli, 1 küçük hücreli ve 1 de hamartom tanılı toplam 31 olguya ait tümör materyalinden primer doku kültürü kuruldu. GTG bantlama tekniği kullanılarak yapılan sitogenetik incelemede 27 olguda klonal kromozom anormallikleri gözlemlendi.

Yalnız sayısal anormallik saptanan 3 yassı hücreli karsinomlu olguda sırasıyla hipertetraploidi, trizomi 20 ile birlikte X kromozomunda sayısal artış ve 3 tane X kromozomu bulundu. Geriye kalan 12 yassı hücreli karsinomlu olguda en fazla 1 nolu kromozomun p ve q kolları olmak üzere 2,3,6,7,8,9,10 ve X kromozomlarında p ve/veya q da delesyonlar ve iki olguda da Y kromozom kaybı görüldü. Ayrıca 3 ve 7, 4 ve 7, 11 ve 12 nolu kromozomlar arasında translokasyonlar,  $i(2p)$ ,  $inv(9)$  ve  $i(21q)$  en az 2 farklı yassı hücreli karsinomlu olguda gözlemlendi. Bundan başka klonal olmayan translokasyonlar, izokromozomlar, duplikasyonlar şeklinde yapısal kromozom anormallikleri bulundu.

6 adenokarsinomlu olgudan 3'ünde herhangi bir anormallik gözlenmezken birinde hipotetraploidi, birinde 9 ve 15 nolu kromozomlarda sayısal artış diğerinde ise trizomi 11 ve 13q delesyonlu iki farklı klon tespit edildi.

4 adenosquamöz karsinomlu olgudan 2'sinde  $i(7p)$ , diğerlerinde  $1p$ ,  $3p$  ve  $q$ ,  $5q$ ,  $6q$ ,  $7q$ ,  $8q$ ,  $Xq$  da delesyonlar gözlemlendi.

3 büyük hücreli karsinomlu olguda birinde Y kromozom kaybı diğer ikisinde de 7 nolu kromozomda delesyonlar (q21, q32), i(9) (p veya q) şeklinde yapısal anormallikler bulunurken klonal fakat her olguda gözlenmeyen translokasyonlar, izokromozomlar, delesyonlar saptandı. Küçük hücreli karsinomlu tek olguda Y kaybı ve trizomi 7 gibi sayısal değişiklikler gözlenirken hamartomlu olguda 6 nolu kromozomda yapısal değişiklik bulundu.

Özellikle yassı hücreli karsinomlu olgularda 3 farklı tip translokasyon klonal olarak görüldüğünden, bu bulgular primer kromozom değişiklikleri; belli bir gruba özgülük göstermeyen kromozomal delesyon ve izokromozom tipi yapısal anormallikler ise sekonder değişiklikler olarak tümör oluşumunda rol oynayabilirler .





## **SUMMARY**

Primary tissue cultures of tumour materials were prepared from 31 cases of which 16 diagnosed as squamous cell carcinoma, 6 adenocarcinoma, 4 adenosquamous carcinoma, 3 large cell carcinoma, 1 small cell carcinoma and 1 hamartoma. Chromosomal abnormalities were observed in 27 cases by cytogenetic studies with GTG banding technique.

Hypertetraploidy, trisomy 20 with a numerical increase in X chromosome and 3 X chromosomes were found (are in each case) in three squamous cell carcinoma cases that have only numerical abnormalities. In the remaining 12 squamous cell carcinoma cases, deletions of p and/ or q arms of chromosome 1 that is most markedly affected and loss of chromosome Y in two cases were observed. In addition, translocation between chromosome 3 and 7, 4 and 7, 11 and 12, i(2p), inv(9) and i(21q) were identified in at least two different squamous cell carcinoma cases. Moreover, structural chromosomal abnormalities in the form of nonclonal translocation, isochromosomes and duplication were also found.

No abnormalities were observed in 3 out of 6 adenocarcinoma cases. But in the remaining 3 we observed are hypotetraploidy in one case, a numerical increase in chromosomes 9 and 15 in the other case and two different clones with trisomy 11 and 13q deletion in the third case.

Of 4 adenosquamous carcinoma cases, two had  $t(7p)$  and the other 3 had deletion at  $1p$ ,  $3p$  and  $q$ ,  $5q$ ,  $6q$ ,  $7q$ ,  $8q$ ,  $Xq$ .

Among 3 large cell carcinoma cases there was the loss of chromosome Y in one case and the other two cases had deletion in chromosome 7( $q21$ ,  $q32$ ) and structural abnormalities in the form of  $t(9)(p \text{ or } q)$  together with translocations, isochromosomes deletions that were clonal but not seen in all of the cases. In small cell carcinoma case there was the loss of chromosome Y and structural changes such as trisomy 7 while in the hamartoma case structural change of chromosome 6 was observed.

Since three different types of translocations were seen clonally particularly in squamous cell carcinoma, these translocation may play a role in tumor development as primary chromosomal changes while chromosome type that are not specific for a particular group may be involved as secondary changes in tumour formation.



## **KAYNAKLAR**

1- Thompson MW., McInnes RR., Willard HF.: Thompson and Thompson: Genetics in Medicine, Fifth Edition, 1991. W.B.Saunders Company U.S.A.

2- Cotran RS., Kumar V., Robbins SL.: Robbins Pathologic Basis of Disease. Fourth edition. 1989. W.B.Saunders Company U.S.A.

3- Boveri T.: Zur Frage der Entstehung Maligner Tumoren. 1914. Gustav Fiseher, Jena

4- Sandberg A.: The chromosome in human cancer and leukemia. Second edition 1990-USA

5- Linder D., Gartler SM.: Glucose-6 phosphate dehydrogenase mosaicism: Utilisation as a cell marker in the study of leiomyomas. Science, 1965.150: 67-69.

6- Vogelstein B., Fearon ER., SR., Preisinger AC., Willard HF., Michaelson AM., Riggs AD., Orkin SH.: Clonal analysis using recombinant DNA probes from the X chromosome. Cancer Res., 1987, 47: 4806-4813.

7- Aisenberg AC., Bloch KJ.: Immunoglobulins on the surface of neoplastic lymphocytes. N.Eng.J.Med., 1972, 287: 272-276.

8- Arnold A., Cossman Y., Bakshi A., Yaffe ES., Waldmann TA., Korsmeyer SF.: Immunglobulin gene rearrangements as unique clonal markers in human lymphoid neoplasms. N.Engl.J.Med., 1983,309: 1593-1599.

9- Rubin H.: Cancer as a dynamic developmental disorder. Cancer Res., 1985, 45: 2935-2942

10- Willis RA.: The mode of origin of tumors. Solitary localized squamous cell growth of the skin. *Cancer Res.*, 1944, 4: 630-644

11- Woodruff JD. and Julian CG.: Multiple malignancy in the upper genital tract. *Am.J.Obstet.Gynecol.*, 1969. 103: 810-822

12- Slaughter DP., Southwick HW., Smejkal W.: "Field cancerization" in oral stratified squamous epithelium. Clinical implications of multicentric origin. *Cancer.*, 1953, 6: 963-968

13- Richie JP, Shipley WU, Yagoda A.: Cancer of bladder. In: V.T. De Vita, S. Hellman and SA, Rosenberg. (eds). *Cancer-principles and Practice of Oncology Philadelphia*; 1989.

14- Heim S, Jin Y., Mandahl N., Biörklund A., Wennerberg J., Jonsson N., Mitelman F.: Multiple unrelated clonal chromosome abnormalities in an in situ squamous cell carcinoma of the skin. *Cancer Genet.Cytogenet.*, 1988. 36: 149-153

15- Jin Y., Heim S., Mandahl N., Biörklund A., Wennerberg J., Jonsson N., Mitelman F.: Multiple apparently unrelated clonal chromosome abnormalities in a squamous cell carcinoma of the tongue. *Cancer Genet Cytogenet.*. 1988. 32: 93-100

16- Jin Y., Heim S., Mandahl N., Biörklund A., Wennerberg J., Willen R, Mitelman F.: Two unrelated clonal chromosome rearrangements in a nasal papilloma. *Cancer Genet Cytogenet.* ,1989, 39: 29-34

17- Jin Y., Heim S., Mandahl N., Biörklund A., Wennerberg J., Willen R, Mitelman F.: Multiple clonal chromosome aberrations in squamous cell carcinomas of the larynx. *Cancer Genet Cytogenet.* ,1990, 1:209-215

18- Jin Y., Heim S., Mandahl N., Biörklund A., Wennerberg J., Willen R, Mitelman F.: Unrelated clonal chromosomal aberrations in carcinomas of the oral cavity. *Gen.Chrom.Cancer.*, 1990, 1: 209-215.

19- Mertens F., Heim S., Mandahl N., Jhansson B, Mertens O., Persson B, Salemark L, Wennerberg J, Jonsson N., Mitelman, F.: Cytogenetic analysis of 33 basal cell carcinomas. *Cancer Res.*, 1991, 51: 954-957.

20- Foulds L.: The natural history of cancer. *J.Chronic.Dis.*, 1958, 8: 2-37

- 21- Heim S, Mandahl N., Mitelman F.: Genetic convergence and divergence in tumor progression. *Cancer Res.*, 1988, 48: 5911-5916
- 22- Kerbel RS., Waghorne C., Korczak B., Lagarde A., Breitman ML.: Clonal dominance of primary tumours by metastatic cells genetic analysis and biological implications. *Cancer Surv.*, 1988., 7: 597-629
- 23- Levine AJ.: The tumor supressor genes, *Ann. Rev. of Biochem.*, 1993., 3: 623-651
- 24- Bos JL.: Ras oncogenes in human cancer. A review. *Cancer Res.*, 1989, 49: 4682-4689
- 25- Kodenhuis S., Van de Vetering ML., Mooi WJ., Evers SG., Van Zandwijk N., Bos JL., Mutational activation of the K-ras oncogene, a possible pathogenetic factor in adenocarcinoma of the lung, *N.Engl.J.Med.*, 1987, 317: 929-935
- 26- Bishop JM.: The molecular genetics of cancer, *Science*, 1987, 235: 305-311.
- 27- Studzinski GP, Brelvi ZS, Feldman SC, Watt RA.: Participation of c-myc protein in DNA synthesis of human cells. *Science*, 1986, 234: 467-470
- 28- Crece CM, Erikson J, Tsujimoto Y, Croce CM.: Molecular basis of human B and T cell neoplasia. *Adv. Viral Oncol.*, 1987, 7: 35-51
- 29- Rowley JD.: A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature*. 1973, 243: 290-293
- 30- Kurzrock R., Gutterman DV., Talpaz M.: The molecular genetics of Philadelphia chromosome positive leukemias. *N.Engl.J.Med.*, 1988, 319: 990-999.
- 31- Haluska FG, Tsujimoto Y, Croce CM.: Oncogene activation by chromosome translocation in human malignancy. *Ann. Rew Genet.*, 1987, 21: 321-345
- 32- Schwab M, Amler LC.: Amplification of cellular oncogenes: a predictor of clinical outcome in human cancer. *Genes Chrom. Cancer.* 1990, 1: 181-193

33- Seeger RC, Brodeur GM, Sather H, Dalton A, Siegel SE, Wong KY, Hammond D.: Association of multiple copies of the N-myc oncogene with rapid progression of neuroblastomas. *N.Engl.J.Med.*1985, 313: 1111-1116

34- Slamon DJ., Godolphin W., Jones LA., Halt JA., Wang SG., Keith DE., Levin WJ, Stuart SG, Udove J, Ulrich A, Press MF.: Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science*, 1989.244: 707-712

35- Makela,TP., Mattson,K. and Alitalo,K.: Tumour markers and oncogenes in lung cancer. *Eur.J.Cancer*, 1991, 27(10): 1323-1327

36- Lewin,B.: *Genes V.*,Oxford University Press 1994. New York

37- Hhausein ,HZ.: Viruses in human cancer. *Science*, 1991, 254: 1167-1172

38- Weinberg RA.: Oncogenes, anti-oncogenes and the molecular basis of multiple carcinogenesis. *Cancer Res.*,1989, 49: 3713-3721

39- Stanbridge EJ.: A genetic basis for tumor suppression. *Ciba Found.Symp.* 1989, 142-158

40- Knudson AG.Jr.: Mutation and cancer statistical study of retinoblastoma. *Proc.Natl.Acad.Sci.,USA*, 1971, 68: 820-824

41- Sager R.: Genetic supression of tumor formation. *Adv.Cancer Res.*,1985, 44: 43-68

42- Knudson AG.Jr.: A two mutation model for human cancer. *Adv.Viral.Oncol.*,1987, 7: 1-17

43- Knudson AG.Jr.: Hereditary cancer, oncogenes and anti-oncogenes. *Cancer Res.*,1985, 45: 1437-1443

44- Sparkes,RS.: Tumor supressor genes. *The West.J.of Medicine.*, 1991, 154(1): 92-93

45- Sager R.: Tumor supressör genes: The puzzle and the promise. *Science*,1989, 246: 1406-1412

46- Lee WH, Shew JY, Hang FD, Sery TW, Donoso LA, Young LJ, Bookstein R, Lee EYHP.: The retinoblastoma susceptibility gene encodes a nuclear phosphoprotein associated with DNA banding activity. *Nature*, 1987, 329: 642-645

- 47- Chen PL., Schully P., Shew JY., Wang JYJ., Lee WH. Phosphorylation of the retinoblastoma gene product is modulated during the cell cycle and cellular differentiation. *Cell*, 1989, 58: 1193-1198
- 48- Buchkovich K Duffy LA, Harlow E.: The retinoblastoma protein is phosphorylated during specific phases of the cell cycle. *Cell*, 1989, 58: 1097-1105
- 49- Dyson N, Howley PM, Münger K, Harlow E.: The human papilloma virus 16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science*, 1989, 243: 934-937
- 50- Whyte, P., Buchkovich, J., Horowitz, J.M., Friend, S.H., Raybuck, M., Weinberg, R.A. and Harlow, E.: Association between an oncogene and an antioncogene. the adenovirus E1A proteins bind to the retinoblastoma gene product. *Nature*, 1988, 334(14):124-128
- 51- Green MR.: When the products of oncogenes and anti-oncogenes meet. *Cell*. 1989, 56: 1-3
- 52- Mitelman F.: Catalog of chromosome aberrations in cancer , Fifth edition , 1994, Wiley-Liss, Inc, New York
- 53- Mitelman F., Heim S.: Chromosome abnormalities in cancer. *Cancer Detect. and Prevent.* 1990, 14: 527-537
- 54- Harnden, D.G., Klinger, H.P., Jensen, J.T., Kaelbling M.: An international system for human cytogenetic nomenclature ISCN 1985, Karger, New York
- 55- Mitelman, F.: Guidelines for Cancer Cytogenetics, !SCN 1991, Karger, New York
- 56- Juan R.: Ackerman's Surgical Pathology. Seventh edition. The C.V. Mosby company 1989, USA
- 57- Kreyberg L, et al.: Histological typing of lung tumours. World Health Organization (International Histological classification of Tumors No: 1). Second ed. 1981. Geneva
- 58- Bello MJ., Moreno, S., Rey JA.: Involvement of chromosomes 1, 3 and i(9q) in lung adenocarcinoma. *Cancer Genet Cytogenet.* 1989, 38, 133-135
- 59- Miura I., Siegfried, J.M., Resau, J., Keller, S.M., Zhou, J-Y and Testa, J.R.: Chromosome alterations in 21 non small cell lung carcinomas. *Genes Chrom. Cancer*, 1990, 2: 323-333.

60- Teyssier JR.: Nonrandom chromosomal changes in human solid tumors: Application of an improved culture method: J.Nath cancer Inst.,1987, 79: 1189-1198.

61- Whang-Peng,J., Bunn,PA., Jr.,Kao-Shan,Ş., Lac,EC.,Carney DN., Gazdar A., Minna JD.: A nonrandom chromosomal abnormality, del 3p(14-23) in human small cell lung cancer. (SCLC) Cancer Genet.Cytogenet: 1982, 6: 119-134

62- Folar W.H., Ward-Skinner,R.,Wegiyn,S.,A 3 p deletion in small cell lung cancer,Cancer Genet Cytogenet. 1985, 16: 175-177

63- Whang-Peng,J.: 3p deletion and small cell lung carcinoma. Mayo Clin.Proc.:1989,64:256-260.

64- Van der Rie-Fox MF., Retief, A, E., Van Niekerk, WA.: Chromosome changes in 17 human neoplasms studies with banding. Cancer, 1979, 44: 2108-2119.

65-Teysier JR., Sadrin R, Nou JM., Barcau, G., Adnert JJ, Bajolle,F., Pigeon F.: Trisomy 7 in a lung carcinoid tumor., Precocious index of malignant transformation. Cancer Genet Cytogenet. 1985, 15: 277-282

66-Lee,J.S.,Pathak,S.,Hopwood,V.,Tomasoviç,B.,Mullins, T.D.,Baker,F.L.,Spitzer,Gary and Neidhart,J.A.: Involvement of chromosome 7 in primary lung tumor and nonmalignant normal lung tissue. Cancer Research, 1987, 47: 6349-6352.

67- Jin,Y., Mandahl,N., Heim.S.,Schuller H, Mitelman F.: Isochro-mosom i(8q) and i(9q) in three adenocarcinomas of the lung. Cancer Genet Cytogenet.1988, 33:11-17

68- Higashi, Koichiro., Jin,Y., Jhansson,M., Heim,S., Mandhl,N., Biorklund,A., Wennerberg,J., Hambraeus,G., Johansson, L. and Mitelman F: Rearrangement of 9p13 as the primary chromosomal aberration in adenoid cytic carcinoma of the respiratory tract.Genes,Chrom. Cancer, 1991, 3: 21-23

69- Santa,Sì et al.: Chromosomes and causation of human cancer and leukemia. XX Banding patterns of primary tumors.J.Natl.Cancer.Inst.: 1977, 53: 49-59.



70- Zhou,JY., Taguchi,T., Siegfried JM., Jhanwar,SC., Resau,J. and Testa,JR.: Characterization of 9q;15q whole arm translocation derivatives in non - small cell lung carcinomas by fluorescence in situ hybridization. *Cancer Genet,Cytogenet*, 1993,69:1-6.

71-Liang J.C., Kurzrock,R., Gutterman,J.U., Gallick,G.E.: Trisomy 12 correlates with elevated expression of p 21 ras in a human adenocarcinoma of the lung. *Cancer Genet Cytogenet*. 1986, 23: 183-188

72-Center,R., Lukeis,R., Vrazas,V and Garson,O.M.:Y chromosome loss and rearrangement in non-small cell lung cancer. *Int.J.Cancer*.1993, 55: 390-393

73- Barker,PE.: Double minutes in human tumor cell.. *Cancer Genet Cytogenet*,1982. 5: 81-94.

74-Kiefer,PE., Bepler,G., Kubosch,M., Havemann K.: Amplification and expression of protooncogenes in human small cell lung cancer cell lines. *Cancer Res*.1987, 47: 6236-6242

75- Miyaki, M., Sato,C., Matsui,T., Koike,M., Mori,T.,Saki,G., Takai,S., Tonomura,A., Tsuchida N.: Amplification and enhanced expression of cellular oncogene ki-ras 2 in a human epidermoid carcinoma of the lung.*Gonn*,1985, 76: 260-265

76- Dosaka,H., Harada,M., Kuzumaki,N., Kobayashi, H., Miyamoto,H., Kawakami,Y.: The relationship of clinical classification to ras p21 expression in human non-small cell lung cancer. *Oncology*, 1988, 45: 396-400.

77- Schwab,M.: Oncogene amplification in neoplastic development and progression of human cancers.*Oncogenesis* 1990,2: 35-51.

78- Alitalio,K.,Schwab,M.: Oncogene amplification in tumour cells. *Adv. Cancer Res*. 47:235-281.

79- Kaye,F.J., Kratzke, R.A., Gerster,J.,L., Lin,P.S.: Recessive onco-genes in lung cancer. *Am.Rev.Respir.Dis*. 1990, 142:44-47

80- Weston,A., Willey,J.C., Modali,R., Sugimura,H.,McDowell, E.M., Resau,J., Light,B., Haugen,A., Mann,D.L., Trump,B.F. and Harris,C.C. Differential DNA sequence deletions from chromosomes 3,11,13 and 17 in squamous cell carcinoma,large cell carcinoma of the human lung.*Proc.Natl.Acad.Sci.USA*. 1989,86:5099-5103.

81- Brauch H., Johnson,B., Hovis, J., Yano,T., Gozdar,A., Pettengibl, O.S., Graziano, S., Sorensan,G.D., Poiesz BJ., Minna,J.,Linehan,M., Zbar,B.: Molecular analysis of the short arm of chromosome 3 in small cell and non small cell carcinoma of the lung. *N.Engl.J.Med.*1987, 317: 1109-1113

82- Naylor,SL.,Johnson,BE.,Minria,JD.,Sakaguchi,AY. Loss of heterozygosity of chromosome 3p markers in small cell lung cancer.*Nature*,1987,329:451-454.

83- Ludwig,CU.,Raefle,G.,Dalaven,P.,Stulz,P.,Stahel,R., Obrecht, JP.: Allelic loss on the short arm of chromosome 11 in non-small cell lung cancer. *Int.J. Cancer* 1991,49:661-665.

84- Naylor,SL., Johnson,BE., Minna JD., Sakaguchi,AY.: Loss of heterozygosity of chromosome 3 p markers in small cell lung cancer.*Nature* 1987, 329: 451-454

85- Moobroek, H., Osinga,J., Postmus,PA., Carritt,B., Buys, C.H.C.M.: Loss of heterozygosity for a chromosome 3 sequence presumably at 3p21 in small cell lung cancer. *Cancer Genet Cytogenet* .1987, 27: 361-365

86-De Fromentel,CC., Soussi,T.: TP53 Tumour suppressor gene a model for investigating human mutagenesis. *Genesom.Chrom.Cancer* 1992,4:1-15.

87-Takahashi, T., Nau, MM., Chiba, I., Birrer, MJ., Rosenberg, RK., Vinocour, M., Levitt, M., Pass, H., Gazdar, AF., Minna, JD.: p53 A frequent target for genetic abnormalities in lung cancer.*Science*,1989,246:491-484.

88- Burn, JE., Baird, MC., Clark,LJ., Burns, PA., Edington, K., Chapman,C., Mitchell, R., Robertson,G., Soutar,P., Parkinson,EK.: Gene mutations and increased levels of p53 protein in human squamous cell carcinomas and their cell lines, *Br.J.Cancer*, 1993,67,1274-1284.

89- Sundaresan,V., Ganly,P., Hasleton,P., Rudd,R., Sinha,G., Bleehen, N.M., Rabbits,P. p53 and chromosome 3 abnormalities, characteristic of malignant lung tumours are detectable in preinvasive lesions of the bronchus: *Oncogene* 1992,7:1989-1997.

90 - Wake N. et al.: Chromosomes and causation of human cancer and leukemia. XIV.A method for chromosome analysis of solid tumors. *Cancer Genet Cytogenet.* 1981, 3: 1-10

91- Mandahl N.: Methods in solid tumor cytogenetics. In:Rooney DE,Czepulowski BH(eds), 1992

92- Pandis N., et al.: Improved technique for short term culture and cytogenetic analysis of human breast cancer.Genes, Chr-Cancer,1992,4: 1-7

93- Moorhead PS., Nowel PC., Mellman WJ., et al.: Chromosome preparation of leucocytes cultured from human peripheral blood. Exp.Cell Res, 1961, 60: 613-616

94- Lüleci,G., Başaran S., Bağcı,G., Keser,İ.: Sitogenetik Uygulama Yöntemleri. Meteksan Lt Şti.I.Baskı, 1990, Ankara

95- Seabright, M.: A rapid banding technique for human chromosomes.Lancet,1971, 2:971

96- Zech,L.et al.: Karyotypic characterization of established cell lines and short term cultures of human lung cancer. Cancer Genet.Cytogenet. 1985, 15: 335-347.

97- Rey,JA., Bello,M.J.de Campos JM., Kusak M., Moreno,S., Benitz,J.: Deletion 3 p in two lung adenocarcinomas metastatic to the brain. Cancer Genet Cytogenet . 1987, 25: 355-360.

98- Selypes,A. and Laszlo,A.: Chromosome changes in a brain metastasis of a large cell lung cancer. Cancer Genet Cytogenet. 1989, 39: 181-184

99- Viegas-Pegitnot,E.,Flüry-Herard,A., De Cremoux,H., Chlecq, C., Bignon, J and Dutrillaux,B.: Recurrent chromosome aberrations in human lung squamous cell carcinomas.Cancer Genet Cytogenet. 1990,49:37-49.

100- Flüry-Herard,A., Viegas-Pequignot,E., De Cremoux,H., Clecq,C., Bignon,J. and Dutrillaux,B.: Cytogenetic study of five cases of lung adenosquamous carcinomas. Cancer Genet Cytogenet. 1992, 59: 1-8

101- J.Whang-peng, Knutsen,T., Gazdar,A., Steinber,SM., Oie,H., Linnoila,I., Mulshine,J., Nau,N.and Minna,JD.: Nonrandom structural and numerical chromosome changes in non small-cell lung cancer. Genes,Chrom.Cancer 1991, 3: 168-188

- 102- Johansson,M., Berker,Karaüzüm,S., Dietrich,C., Mandahl,N., Hambræus,G., Johansson,L., Clausen,P.P., Mitelman, F.and Heim,S.: Karyotypic abnormalities in adenocarcinomas of the Lung. *Int. J. Oncology*,1994, 5: 17-26
- 103- Pickthall,VJ.: Detailed cytogenetic study of a metastatic bronchial carcinoma. *Br.J.Cancer*.1976, 34:272-278
- 104- Burholt,DR., Shackney, SE., Ketterer, DM., Pollice,AA., Smith,CA., Brown, KA., Giles,HR. and Schepart,BS.: Karyotypic evolution of a human undifferentiated large cell carcinoma of the lung in tissue culture. *Cancer Res.*1989, 49: 3555-3561
- 105- Miura,I., Resau,J., Tomiyasu,T.and Testa,JR.: Isochromosome (8q) in four patients with adenocarcinoma of the lung. *Cancer Genet Cytogenet.* 1990 ,48: 203-207
- 106- Koutras,P.,Urschil,HC,Jr., Paulson,DL.: Hamortoma of the lung. *J.Thorac Cardiocasc.Surg*.1971, 61: 768-768
- 107- Johanssson,M., Heim,S., Mandahl,N., Johansson,L., Hambræus, G., Mitelman,F.: t(3;6;14)(q21q24) as the sole clonal chromosome abnormality in a Hamartoma of the lung. *Cancer Genet,Cytogenet.* 1992; 60: 219-220
- 108- Johansson, M., Dietrich, C., Mandahl, N., Hambræus, G., Johansson, L., Clausen, PP., Mitelman, F., Heim,S.: Recombinations of chromosomal bands 6p21 and 14q24 characterise pulmanory hamartomas. *Br.J.Cancer*, 1993, 67: 1236-1241
- 109- Ronne,M., Elberg,JJ.,Shibasaki,Y., Andersen,K.: A case of squamous cell lung cancinoma with tetrasomy 7 and chromosome 1 C-band polymorphism. *Anticancer Res.* 1989, 9: 1101-1104
- 110- Pejovic, T., Heim,S., Örndal,C., Jin,Y.,Mandahl,N., Willen,H. and Mitelman,F.: Simple numerical chromosome aberrations in well-differentiated malignant epithelial tumors. *Cancer Genet Cytogenet* 1990, 49: 95-101
- 111- Erdel,M., Peter,W., Spiess,E., Treftz,G. and Ebert, W.: Karyotypic chraracterization of established cell lines derived from a squamous cell carcinoma and an adenocarcinoma of human lung cancers. *Cancer Genet Cytogenet.*, 1990, 49: 185-198
- 112- De Fusco,P.A., Frytak,S., Dahl,R.J., Weiland, L.H., Unni,K.K., Dewald, G.W.: Cytogenetic studies in 11 patients with small cell carcinoma of the lung. *Mayo Clin.Proc.*1989,64:168-176

113- Lukeis,R., Irwing,L., Garson,M. and Hasthorpe,S.: Cytogenetics of non-small cell lung cancer. Analysis of consistent non-random abnormalities. *Genes,Chrom. and Cancer*. 1990, 2: 116-124

114- Sozzi, G., Miazzo, M., Tagliabue, E., Calderone, C., Lambardi, L., Pilotti, S., Pastorino,U., Pierotti, M.A., Porta,G.D.: Cytogenetic abnormalities and overexpression receptors for growth factors in normal bronchial epithelium and tumour samples of lung cancer patients.*Cancer Res*.1991,51:400-404.

115- Cagle,PT., Caylor,LD., Schwartz,MR., Ramay,Ì., Elder FFB.: Cytogenetic abnormalities common to adenocarcinoma metastatec to tha plevra. *Cancer Genet Cytogenet*. 1989, 39: 219-225

116- Bridge,J.A.,Sanger,WG., Neff,JR and Hess,MM.: Cytogenetic findings in a primary malignant fibrous histiocytoma of bone and the lung metastasis.*Pathology*. 1990, 22: 16-19

117- Clerici,M., Lavezzi,AM., Vergani,C.,Pezzuoli,G., Luporini,G. and Maturri,L.: Cytogenetic analysis in 28 radically operated non-small-cell lung cancer. Preliminary consideration. *Tumori*,1989, 75: 483-485

118- Carel,CT., Dal-Cin,P., Limon,J., Rao,U.,Li,FP., Corsan,JM., Zimmerman,R., Involvement of chromosome X in primary cytogenetic change in human neoplasia: Nonrandom translocation in synovial sarcoma. *Proc.Natl.Acad. Sci.USA*, 1987, 84: 1981-1985

119- Dutrillaux, B., Muleris,M. and Gerbault Seureau,M.: Imbalance of sex chromosome, with gain of early replicating X, in human solid tumors. *Int,J.Cancer*, 1986.38: 475-479.

120- Muleris,M., Salmon,R.J., Zafrani,B., Girodet,J., Dutrillaux,B.: Consistent deficiencies of chromosome 18 and of the short arm of chromosome 17 in eleven cases of human large bowel cancer: A possible recessive determinism. *Ann.Genet.*, 1985, 28: 206-213

121- Ferti,AD., Panani,AD., Raptis,S.: Cytogenetics study of rectosigmoidal adenocarcinomas. *Cancer Genet Cytogenet*. 1988, 34: 101-109

122- Gibas,Z., Praut,GR., Connolly,JG., Pontes,JE., Sandberg,AA.: Nonrandom chromosomal changes in transitional cell carcinoma of the bladder. Cancer Res. 1984, 44: 1257-1264

123- Suzike,H., Takashi,T., Kuroishi,T., Suyama,M.,Ariyoshi,Y., Takahashi,T.: p53 Mutation in non small cell lung cancer in japan: Assocuation between mutations and smoking ,CancerRes., 1992,52:734-736.

