

T. C.
ACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TİBBİ BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

284543

MENİNGİOM HÜCRE KÜLTÜRLERİNDE
SİTOGENETİK ÇALIŞMALAR

TIBBİ BİYOLOJİ PROGRAMI
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

SERAP EMRE

Ankara 1984

T.C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MENİNGİOM HÜCRE KÜLTÜRLERİNDE
SİTOGENETİK ÇALIŞMALAR

TIBBİ BİYOLOJİ PROGRAMI
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

SERAP EMRE

REH. ÖĞR. ÜYESİ : Doç. Dr. MERAL SAKIZLI

Ankara 1984

I Ç İ N D E K İ L E R

	Sayfa
1. Giriş ve Amaç.....	1
2. Genel Bilgiler.....	4
3. Gereç ve Yöntemler.....	20
4. Bulgular.....	26
5. Tartışma.....	50
6. Özet.....	57
7. Kaynaklar.....	59

Ö N S Ö Z

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Pediatrik Viroloji ve Tıbbi Biyoloji Bölümlerinde yapılmıştır.

Araştırmaların planlanmasında, yürütülmesinde ve değerlendirilmesinde katkıda bulunan Sayın Prof.Dr. Altan Günalp'e, tez yöneticim Sayın Doç.Dr. Meral Sakızlı'ya, çalışmalarımda yakın ilgi gördüğüm bütün hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

GİRİŞ ve AMAÇ

Çok eski zamanlardan günümüze kadar insanlar kanseri oluşturan nedenleri öğrenmeye çalışmışlardır. İnsan kanserlerinde dış etkenlerin rol oynayabileceği anlaşılınca araştırmalar bu ajanların saptanması ve etki mekanizmalarının açıklanmasına yönelmiştir. Sitogenetik yöntemler bu konuda en önemli çalışma alanlarından biri olmaktadır.

Çeşitli santral sinir sistemi tümörlerinin ortaya çıkmasında çevredeki fiziksel, kimyasal ve viral etkenlerin rol aldıkları bilinmektedir. Çok farklı nitelikte olan bu etkenlerin nasıl olupta hücrede aynı yönde bir biyolojik değişmeye yol açtığı konusu çok geniş tartışmalara neden olmaktadır. Son yıllarda bu olayı açıklamak amacıyla farklı dış etkenlerin hücrede doğuştan var olan genetik mekanizmaları etkilemesine dayanan hipotezler ileri sürülmüştür.

Çeşitli deney hayvanlarında kimyasal karsinojenlerle ve viruslarla tümörler oluşturulmuştur. Oluşan tümörlerde, tümör dokusuna özgü bazı antijenlerin ortaya çıktığı gösterilmiştir. Bunlar TATA (Tümör-associated-transplantation antigen) veya TSSA (tümör specific surface antigen) olarak adlandırılan yüzey antijenleri ile T-antijeni veya tümör antijeni olarak bilinen sitoplazmada yada nukleus içerisinde yer alan antijenlerdir.

Viral etkenle ortaya çıkan tümörlerin antijenik ve sitogenetik özellikleri üzerine araştırmalar yapılmaktadır. Elde edilen bulgular virusla uyarılmış tümörlerde özgül antijenlerin ve kromozom anomalilerin ortaya çıktığını göstermektedir. İnsan santral sinir sistemi tümörlerinden olan meningiomlarda C-tipi RNA viruslarının ve papova grubundan virusların rolü olabileceğine dair bulgular vardır. Ayrıca viral etiyojolojiye dayandığı düşünülen tümörlerde kromozom bozukluklarının belirli kromozomlarda lokalize olduğunda çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir. Ancak meningiom gibi iyi huylu tümörlerin sitogenetik özellikleri hakkında bildiklerimiz çok az yer tutmaktadır. Tümör üzerine yapılan sitogenetik araştırmalar kanser konusunda gerek tanı ve tedavi gerekse kanserin moleküler esası yönünden faydalı olmaktadır. Bu nedenle tümörün sitogenetik özelliklerinin tanınmasının, kanser nedenini saptamada tanıyı kolaylaştırma ve tedavi şekline önemli derecede katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

Kanserli hastalarda kromozom analizleri 1960 yıllarından bu yana yapılmaktadır. Çeşitli kanser tiplerinde çeşitli anomaliler saptanmış fakat o yıllarda tekniklerin yeterli olmaması nedeniyle kromozomların tek tek tanımlamaları ve anomali nedenlerinin saptanması mümkün olmamıştır. 1970-71 yıllarında, kromozom bandlama yöntemleri geliştirilmiştir. Bandlama yöntemleri ile çeşitli kanser kromozomlarında sayısal ve yapısal anomalileri saptamak mümkün olmuştur.

Yukarıda belirtilen nedenlerle çalışmamız iyi huylu bir merkezi sinir sistemi tümörü olan meningiomlarda viral etiyolojiyi destekleyebilecek kanıt bulabilmek ve tanıda yardımcı olabilecek özgül bir kromozomal anomali bulunup bulunmadığını saptamak amacıyla planlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

Sitoloji bilimi, Robert Hook'un 1665 'de hücreyi ilk defa mikroskopla görmesi ile başlamıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarla, hücrelerin çekirdek ve sitoplazma olarak iki kısımdan oluştukları ve çekirdeğin "kromozom" adı verilen organellerde bulunan genetik materyali taşıdığı anlaşılmıştır.

1950 yıllarına kadar çalışmalar daha çok bitki ve hayvan grupları üzerine olmaktadır. İnsan diploid kromozom sayısı tam saptanamamıştır. 1917 yılında Wieman insan X ve Y kromozomlarını tesbit etmiş fakat total kromozom sayısı 1956 yılına kadar doğru olarak saptanamamıştır. Uzun süre 48 olarak bilinen insan kromozomlarının sayısının 46 olduğu ilk defa 1956 yılında Tjio ve Levan tarafından insan somatik hücre kültürlerinden yapılan preparatlarda gösterilebilmiştir (Tjio ve Levan, 1956).

Hayflick ve arkadaşları (1961) hücre kültürü tekniğini geliştirmeleri ile insan kromozomlarını daha kolay incelenmesini sağlamıştır. Kan hücrelerinden kromozom elde edilmesi için gerekli en önemli buluşu 1960 yılında Nowell ortaya koymuştur (Nowell, 1960).

İnsan kromozom sayısı saptandıktan sonra tiplendirilmesi ve sınıflandırılması yapılmıştır. Değişik konferanslarda alınan karar ile sentromer pozisyonlarına ve büyüklüklerine göre sıralanmıştır. Daha sonra insan kromozomları A,B,C,D,E,F,G olmak üzere 7 gruba ayrılmıştır. Fakat B,C,D grubu kromozomlar kendi aralarında birbirlerine boy bakımından çok benzedikleri için tam anlamıyla tanımlamak mümkün olamamıştır. 1970-1971 yıllarında yeni sitogenetik metotlar geliştirilmiştir (Chicago Conference, 1966). Sonradan Paris'te toplanan uluslararası bir konferansta yeni sınıflandırma esasları saptanmıştır (Paris Conference, 1972). Buna göre insan kromozomları sentromer pozisyonlarına göre, metasentrik (sentromer ortada), submetasentrik (sentromer bir uca yakın), akrosentrik (sentromer tamamen bir uçta) olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca terminoloji yanlışlıklarını ortadan kaldırmak için sentromer "c", sentromerin yukarısında kalan kısa kol "p" ve aşağıda kalan uzun kol ise "q" olarak belirlenmiştir.

Kromozomları tek tek tanımlamak için bazı boyama teknikleri geliştirilmiştir. Bu teknikler Q bandlama tekniği (Kinakrin boyası ile floresan bandlar meydana gelmesi), C bandlama tekniği (sadece heterokromatik bölgelerin boyanması), G bandlama tekniği (Giemsa boyası ile kromozom boyunca açık ve koyu boyanmış bandlar meydana getirilmesi) olarak gruplara ayrılabilir (Pei-yu Liao, 1981). Boyama tekniklerinin gelişmesi ile kromozomların ayırt edilmesi bir çok genetik hastalıkta teşhise yardımcı olmaktadır. Sitogenetik tekniklerin gelişmesi, araştırmacıları daha moleküler düzeyde çalışmalara yönlendirilmiştir. Rowley (1974) son yıllarda yaptığı araştırmalarda 1912 yılında Boveri'nin ileri sürdüğü gibi tümör etiyojisinde kromozom değişikliklerinin çok önemli olduğunu vurgulamaktadır.

Kanser yapıcı etkenler, kimyasal ajanlar, fiziksel ajanlar ve viruslardır (Cervenka ve Koulischer, 1973). Etken ne olursa olsun kanserleşmenin başlangıçta tek bir hücreden başladığı saptanmıştır. Değişim kalıcı ve kalıtsal bir özellik olarak bütün yavru hücrelere iletilmektedir. Şu halde olay genetik materyalde meydana gelmektedir. Bilinen bütün karsinogen maddelerin hücrenin genetik materyalini direkt veya dolaylı olarak etkiledikleri anlaşılmaktadır (Cervenka ve Koulischer, 1973 ; Morinella ve Giemprero, 1976).

İlk defa 1908 'de Ellerman ve Bang'ın tavuklarda myeloblastosis hastalığını yapan virusu göstermesinden bu yana hayvanlarda tümöre yol açan 200 den fazla virus belirlenmiştir. Tek hücrenin kanserleşmesinden hastada tümörün belirli duruma gelmesine kadar geçen olaylar iyi anlaşılammaktadır. Bu nedenle araştırmalar kanser dokularında immunolojik, biyokimyasal ve sitogenetik çalışmalara yönelmişlerdir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda kanserleşmiş hücrelerin fizyolojik koordinasyonunu kaybedip sınırsız çoğaldıkları saptanmıştır (Küçüksu ve Ruacan, 1978). Çeşitli karsinogenlerin etkisiyle oluşan transforme hücreler bir takım yeni özellikler kazanmaktadırlar. Bu yeni özellikler hücrenin genetik materyalindeki genlerden farklı yeni ürünlerin ortaya çıkması nedeniyle meydana gelmektedir (Law ve arkadaşları., 1980). Transformasyon mekanizması ile ilgili çok çeşitli görüşler öne sürülmüştür. Embriyonel safhada fonksiyonel olup sonra farklılaşmış hücrede fonksiyonunu yitirmiş genlerin tekrar işlevlik kazanmaları, çeşitli mutajenlerin hücrede yol açtığı mutasyonlar ve onkojenik virusların hücre DNA sına kendi DNA larını katarak hücre genomunu değiştirmeleri kanser konusunda halen geçerliliğini koruyan hipotezlerdir (Busch, 1974 ; Stryer, 1981).

Transforme hücrelerde sitogenetik ve immunolojik yönden yapılan araştırmalarla yeni özellikler tesbit edilmiştir. Transforme hücrede normal hücrede bulunmayan yeni antijenik özellikler ortaya çıkmaktadır (Fudenberg ve arkadaşları.,1976). Bunların bir kısmı karsinoembriyonik antijenler olarak belirlenmiştir (Embleton, ve Boldwin, 1980 ; Fudenberg ve arkadaşları,1976).

Son yıllarda kanser ile kromozom yapısı arasındaki ilişkileri açıklığa kavuşturmak için çok yoğun çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. En fazla araştırılan konu kanserleşmeye yol açan değişikliklerin boyutları ve türleridir. Fiziksel, kimyasal ajanlar ve virusların hücrelerde özgül kromozom anomali meydana getirip getirmediikleri araştırılmıştır (Saksela ve arkadaşları., 1965 ; Tsuda ve arkadaşları, 1977).

Çok sayıda teratogenik veya kanserojenik etkili ajanın varlığı bilinmektedir. Fiziksel, kimyasal ajanlar ve viruslar kromozomlarda anomali meydana getirmektedir (Cervenka ve Koulischer,1973 ; Nichols,1966). Kimyasal karsinojenlerin hücredeki temel hedefleri hücrenin kalıtsal materyali olan DNA dır. Karsinojen kimyasal yapısına göre DNA ile etkileşmesi farklı olmaktadır. En iyi tanımlanan kimyasal karsinojen benzendir (Cervenka ve Koulischer,1973). Benzene tabii tutulan hücrelerde kromozom kırıklarının arttığı saptanmıştır. 22 yıl benzenle karşılaşmış insanların kemik iliği hücre çalışmalarında ortalama kromozom sayısınının 47 olduğu saptanmıştır (Cervenka ve Koulischer , 1973). Diğer anomalilerden

kırıklar, gâpler (aralık) ve çok sayıda küçük kromozom parçalarının arttığı görülmüştür. Diğer bir çalışmada hamster embriyonik hücreleri in vitro olarak potasyumdikromat ile muamele edildiği zaman konsantrasyonuna bağlı olarak kromozomlarda kırıklar ve morfolojik transformasyonlar meydana gelmiştir (Tsuda ve Kota, 1977).

Yapılan araştırmalar sonucunda kimyasal karsinojenlerin hayvan ve insan hücre kültürlerinde kromozomlar üzerine özgül olmayan bozukluklar meydana getirdiği saptanmıştır (Sandberg ve Yamada, 1965).

1961 yılından bu yana virusların somatik mutasyonda rol oynadıkları saptanmıştır. In vitro olarak, deney hayvanlarında normal ve transforme hücrelerde virusların kromozom üzerine etkisi çalışılmaktadır. Çeşitli virusların en az üç tip kromozomal değişimi yol açabildikleri gösterilmiştir (Cervenka ve Koulischer, 1973).

a) Tek kırık b) Pulverizasyon c) Füzyon ve iğ ipliklerin anomalisi

Hampar ve Ellison, (1961), Herpes simplex virusu ile Chinese hamster hücrelerini enfekte etmişlerdir. Hücrelerde çok sayıda ve çeşitli kromozom anomalileri gözlenmiştir. Rous sarkom virusu (Nichols, 1963), kızamık virusu (Fjelde ve Holterman, 1962), Sendai virusu (Saksela ve arkadaşları, 1965)

gibi çeşitli virusların kromozomlarda kırıklıklar meydana getirdikleri saptanmıştır. Adeno tip 12 virusu ile enfekte edilen insan embriyosu böbrek hücre kültürlerinde enfeksiyondan 24 saat sonra No:1 ve No:17 kromozomların belirli segmentlerinde kırılmalar görülmektedir (zur Hausen ,1967). Corpus uteri (Auersperg ve arkadaşları,1966), servikal karsinoma üzerine yapılan çalışmalarda onkojenik virusların kanser nedeninde sıklıkla rol oynadığı saptanmıştır. Buna bağlı olarakta kromozomal bozukluklar ortaya çıkmaktadır (Burch,1963). Spesifik kromozom anomalisi gösteren malign hastalıklar belirlenmiştir (Mitelman ,1974). Testiküler tümörlerde çok büyük belirli markır kromozomlar taşıdığı saptanmıştır (Martineau,1966). Bazı serviks uteri kanserlerinde çok büyük submetasentrik markırlar saptanmıştır (Auersperg ve ark, 1966). Ovarion kanserlerinde de B kromozom ölçüsünde akrosentrik markırlar gözlenmiştir (Cervenko ve Koulisher, 1973).

Özgül bir kromozom anomalisi gösteren ilk kanser kronik myeloid lösemidir (Nowell,1960). Philadelphia kromozomu (Ph^1) olarak adlandırılan ve bu hastaların % 90 nın da bulunan bu anomali G grubundan 22 nolu kromozomun uzun kolunun terminal (uç) bölgesinin kopmasından meydana gelmiştir (Gasperson ve Gahrton,1970; O Riordon ve ark.,1971).No:17 kromozomun uzun koluna benzer izokromozom(Lobb,1972;Prigogina, 1975) ve trizomi 8 'in ortaya çıktığı çeşitli araştırmacılar

tarafından gösterilmiştir (Gahrton ve ark., 1974). Diğer bir özgül anomali örneği Burkitt lenfomasıdır (Kohn ve ark., 1967). 1964 yılında Burkitt lenfomalı hastalarda yapılan araştırmalarda Epstein-Barr Virus (EBV) nun varlığı gösterilmiştir. 1964-1968 yıllarında bazı araştırmacılar Burkitt lenfoması suspansiyon kültürlerinde pseudodiploide benzer karyotipler saptamışlardır (Kohn ve ark., 1967). 1966 da Rabson ve arkadaşları bu karyotipe markır kromozomların olduğunu göstermişlerdir. Bu tümörde özgül bir kromozom anomalisi olarak genellikle No: 14 kromozomlardan birinde uzun kolda fazla bir band olduğu gözlenmiştir (Manolov, 1972). Daha sonrayapılan çalışmalarda bu olguların bir kısmında 14 nolu kromozomun ucundaki fazladan bandlı bölgenin, 8 nolu kromozomlardan birinin uzun kolunun ucundan kopan parça olduğu saptanmıştır (Mitelman, 1974, 1976).

İnsan kanser hücrelerinde görülen bu kromozomal anomaliler tesadüfi olmayan kayıplarla veya gruplara özgü kazançlarla ortaya çıkmaktadır (Miles, 1967). Kanser hücrelerinde genellikle en çok rastlanan anomali tipi endoreduplikasyondur. Kromozom homologları çok miktarda yoğunlaşmış heterokromatin bandlamaya sahiptirler. Bu bölgeler delesyon için uygun yerlerdir (Yunis, 1977, 1981). Çeşitli kanser hücrelerinde görülen yapısal anomali tipleri translokasyon, delesyon, inversiyon, duplikasyon, ring, kırık ve gap (aralık) olarak belirtilebilir.

MENİNGİOM

Santral sinir sistemi tümörlerinden olan meningiomlar iyi huylu tümörlerdir. İyi huylu tümörler genellikle çıktıkları dokuda belirli bir noktada kalırlar. Meningiomlar neuroektodermal orjinli olup intraspinal veya intrakranial bölgede gelişebilmektedir. Meningiom beyin içine sızmayan ayrı bir kitle şeklinde gelişmektedir. Çok yavaş gelişmesine rağmen çevredeki dokuları, itmekte beyin üzerine baskı yaparak patolojik bozukluklara neden olmaktadır (Rubinstein, 1970 ; Biggart,1961).

Son yıllarda akut ve kronik bir çok nörolojik hastalığın etiyolojisinde virusların rolü üzerindeki çalışmalar yoğunluk kazanmaktadır. Bugüne kadar beyin tümörlerinin viral etiyolojisi üzerindeki çalışmalar sınırlı kalmıştır.

Santral sinir sistemi tümör dokusundan hazırlanan hücre kültürlerinde RNA virusların rol oynayabileceği sınırlanmıştır. Hazırlanan hücre kültürlerinde 70S RNA ve RNA ya bağlı DNA polimeraz (reverse transkriptaz) aktivitesine sahip partiküller gösterilmiştir (Cuatoco ve Spiegelman,1973,1976,1977). Thorasik kord meningiom dokusundan elde edilen hücre kültürlerinde spontan olarak molekül ağırlığı 90S - 95S olan ve C- tipi onkorna viruslara benzer yoğunlukta RNA partiküllerinin ortalama salındığı saptanmıştır (Benaheim ve Pinowitz, 1977). Cuatoco ve arkadaşları glioblastom

ve medulloblastom dokusundan hazırlanan hücre kültürlerinin bir çoğunda biyokimyasal olarak yapılan çalışmalarda RNA tümör viruslarına ait kriterler göstermişlerdir. Bazı DNA viruslarının santral sinir sistemi tümörleri ile ilişkili olabilecekleri konusunda şüpheler mevcuttur. Herpes virusların çeşitli tümörlere neden oldukları gösterilmesi son yıllarda önem kazanmaktadır (Kaleli ve Ustaçelebi,1981). Meningiomlu hastadan alınan dokudan hazırlanan hücre kültürlerinden Herpes simpleks virus tip I (HSV tip I) izole edildiği belirtilmektedir. PML (progressive multifokal leuko encephalopathy) de DNA papova virusuna morfolojik olarak benzer partiküller bulunmuştur (Weitman,1978). İmmunolojik olarak yapılan çalışmada çeşitli santral sinir sistemi tümörlerinde virusa ait belirtiler saptanmıştır. Örneğin IIF (indirekt immun floresan) yöntemi ile meningiom hücrelerinde SV-40 (simianvirus-40) ve T antijeni gösterilmiştir (Weiss ve ark.,1975; Fagan ve ark.,1979; Tabuchi ve ark.,1978).

Santral Sinir Sistemi Tümörlerinde Sitogenetik

Çalışmalar :

Son on yıl içinde insan malignan tümörlerinde kromozom çalışmaları ve bu konuda elde edilen bilgiler çok artmıştır. Fakat insan iyi huylu tümörlerin sitogenetik özellikleri hakkında bildiklerimiz çok az yer tutmaktadır.

Zankl ve Singer (1971), malignant nörojenik tümör hücrelerinde kromozom sayıları ve şekilleri bakımından büyük değişim gösterdiğini saptamışlardır. İnsan meningiom hücre kültürü üzerine yapılan sitogenetik araştırmalarda farklı kromozom anomalilerine rastlanmaktadır (Mark,1973 ; May ve ark.,1979). İnsan meningiom hücre kültürlerinde en sık rastlanan sayısal anomali tipi akrosentrik kromozom kaybıdır (Zankl ve Zang,1972). Akrosentrik kromozom kaybı içermeyen hücrelerde de bu kromozomlarda yapısal bozukluklar saptanmıştır (Mark,1973). Meningiom hücre kültürlerinde Ph¹ (Philedelphia 1) kromozomuna benzer kromozoma rastlanmaktadır (Zankl ve Zang,1971 ; Zankl,1975). Bu kromozomların G grubundaki bir kromozomundan delesyon sonucu ortaya çıktığı sanılmaktadır (Mark,1970). 1960 yılında Nowell ve Hungerford kronik myelositik lösemili olguda G grubundan 22 nolu kromozomun uzun kolunun uç bölgesinin kopmasından Ph¹ kromozomun ortaya çıktığını göstermişlerdir (Casperson, ve ark.,1970 ; O'Riordan ve ark.,1971). Bazı meningiom hücre hatlarında No:22 kromozomun uzun kolun üçüncü distalden delesyon olurken bazı hücrelerde uzun kolun yarısı hatta fazlası delesyona uğramaktadır (Mark ve arkadaşları.,1972).

1967 yıllarında yapılan çalışmalarda meningiom hücre kültürlerinde bandlama yapılmaksızın kromozomlar incelenmiş ve G grubu kromozom kaybı gözlenmiştir. Ayrıca C grubu kromozom sayısında artış saptanmıştır (Miles, 1967 ;

Mark,1970 ; Zankl,1971). Normal kromozom sayısı ve yapısı gösteren meningiom hücrelerinin çoğunlukta olduğunu belirten çalışmalarda vardır (Mark,1969 ; Zankl,1972 ; Miles, 1974). Yapılan diğer bir çalışmada aneuploidi, hypodiploidi hücre hattı saptanmıştır (Mark,1969). Daha çok C grubu kromozomlarında kayıp görülmektedir. Meningiom hücre hat- tında küçük markır kromozomlar saptanmıştır (Mark,1969, 1970). Bunların büyüklüğü "Y" kromozomu ve 21,22 nolu kromo- zomlardan daha küçük bulunmuştur (Mark,1969). Bandlama ça- lışması yapılmadığı için küçük markır kromozomlar tam tesbit edilememiştir.

Meningiom hücre kültürlerinde çalışmalar son yıllar- da artış göstermektedir. Yapılan bu çalışmalarda hücrelerde kromozom sayılarında farklılık gözlenmiştir. Bandlama olmaksızın yapılan çalışmalarda 38,44,45 kromozom içeren hücre- lerin çoğunlukta olduğu ve G grubundan bir kromozom kaybı saptanmıştır (Mark,1970 ; Benedict,1970). Tahminen 1 ve 5 nolu kromozomların kaybıda gözlenmektedir. Bu çalışmalarda en fazla C,D ve G grubu kromozom kaybı bulunmuştur (Mark, 1970 ; Zankl ve ark.,1971). Mark ve Miles (1970-71-74)'ın yap- tıkları bu çalışmada ayrıca akrosentrik markır kromozomlar ve orjini belirsiz bir ring kromozomu saptanmıştır. Yalnız markır kromozomlar G ve C grubu kromozomlardan köken aldığı saptanmıştır. Bir kaç hücrede de F grubu kromozomlardan bir tanesinin kaybı görülmektedir. Zankl ve ark., (1971) yılında yaptığı

çalışmada meningiom hücrelerinde hyperdiploidi gözlenmiştir. Bandlama çalışması olmaksızın yapılan değerlendirmede en fazla G kromozom kaybı gözlenmiştir. Aynı yıllarda yapılan diğer bir çalışmada triploid ve tetraploid hücre hattından söz edilmektedir (Mark,1971). Bu çalışmada en önemli özellik ring kromozomun bulunmasıdır. Bu kromozomun orjini tam bilinmemekle beraber kaybolan 1 nolu kromozomdan düzenlendiği veya kaybolan B grubu kromozomdan orjin alabileceği tahmin edilmektedir. Triploid ve hypotetraploid meningiom hücre hatlarında duplikasyon gözlenmektedir.

Meningioma hücre kültürlerinde akrosentrik kromozom kaybı ile birlikte nükleolar yapıda da azalma gözlenmiştir (Zankl ve ark.,1972). Bu çalışmaya göre akrosentrik olmayan kromozomların kaybı nükleoli sayısının kaybını etkilememektedir. Poliploidi meningioma hücre hattında ilave olmuş akrosentrik kromozomlar, nükleolar organizasyonun sayısına etkili olmamıştır (Zankl ve arkadaşları, 1972).

Buraya kadar, bandlama tekniği kullanılmadan meningioma hücre kültürlerinde yapılmış kromozom analizi çalışmalarından söz edildi. Daha sonra bandlama tekniklerinin gelişmesiyle meningioma hücre kültürlerinin kromozomlarının incelenmesinde de uygulanmaya başlanmıştır.

Floresan bandlama tekniği uygulanarak yapılan çalışmalarda G kromozom kaybı ayrıca A,E,C grubu kayıpları gözlenmiştir (Mark,1972 ; Zankl,1975). Meningiom hücrelerinde aynı teknikle yapılan diğer çalışmalarda en fazla C grubunda kayıp gözlenmiştir (Mark ve Mitellman, 1972). Bir olguda 22 nolu kromozom sayısında artış saptanmıştır. Submetasentrik markır kromozomlar bu olguda tespit edilmiştir (Mark ve Mitellman, 1972). Diğer çalışmada hypodiploid ve pseudodiploid hücre hattı saptanmıştır. Pseudodiploid hücre hattında 22 nolu kromozomda yapısal değişiklikler saptanmıştır (Mark ve Mitellman, 1972). Meningiomlarda 22 nolu kromozomun kaybıda gözlenmiştir (Miles,1974). 1,6,7,11 nolu kromozomların kayıpları saptanmıştır. Akrosentrik markır kromozomlar ve ring kromozom saptanmıştır (Mark,1970 ; 1971 ; Miles, 1974). Akrosentrik markır kromozom 1 numaralı kromozoma benzemektedir. Bu markırın kısa kolu 22 nolu kromozomun uzun kolunun floresan yoğunluğuna ve ölçüsüne benzemektedir. Diğer hücrelerde, 8 nolu kromozomun kaybı ile birlikte 22 nolu kromozom kaybıda gözlenmektedir. Normal kromozom sayısına sahip hücrelerde saptanmıştır (Mark ve Mitellman,1972). Floresan bandlama ile 1973 yılında yapılan bir çalışmada 22 nolu kromozomun özgül olarak hypotetraploid hücre hattında kaybolduğu açıklanmıştır (Paul ve Porter, 1973). 21 nolu kromozomun bazen sentromerin aşağısında koyu band, 22 nolu kromozomun sentromerinde soluk band görülmektedir.

Giemsa bandlama ile yapılan bir çalışmada meningiom hücrelerinde G grubunda sayısal ve yapısal sapmalar saptanmıştır. En fazla 1,5,14,18 ve 22 nolu kromozomlarda kayıp gözlenmiştir (Mark,1973b,1973). Ayrıca 9 nolu kromozomun uzun kolunda translokasyon gözlenmiştir. Markır kromozom olarak 5 nolu kromozomdan türediği düşünülen ring kromozom saptanmıştır. 22 nolu kromozomdan kaybolan parça kısmi translokasyon gibi herhangi bir kromozoma komplemente olmaktadır. Ayrıca yapılan bir çalışmada 2 nolu kromozomun uzun kolunda delesyon saptanmıştır (Mark,1973), Giemsa, Q ve C bandlama ile yapılan bir çalışmada 22 nolu kromozomun geç replikasyonu gözlenmiştir. Bunun genetik materyalin inaktivasyonu nedeni ile ortaya çıkabileceği düşünülmektedir (Yamada,1977).

Son çalışmalardan elde edilen sonuçlarda diğer araştırmacıların sonuçlarına benzemektedir. G grubu kromozomlar ya tamamen yada kısmen kaybolmaktadır(May ve ark.,1979). Normal kromozom sayısına sahip hücrelerde 22 nolu kromozomun uzun kolunda delesyon gözlenmiştir. Bu parçanın Ph¹ benzeyen kromozom fragmenti olabileceği düşünülmektedir.

Zang ve Singer (1971,1975) bu araştırmalardan elde edilen verilere dayanarak meningiom hücre kültürlerinde herhangi bir kromozomda önemli yapısal bir anomalinin yer almadığını bununla birlikte hücre hatlarında % 50 den

fazla markır kromozom içerdığını ifade etmişlerdir. Küçük akrosentrik kromozomlar meydana gelmekte ve C grubu kromozomlarda yeni yapısal düzenlemeler ortaya çıkmaktadır.

Meningiom hücre kültürlerinde genellikle G kromozom kaybının bölünme sırasında oluşan ayrılmama (non-disjunction) olayı ile ilgili olabileceği düşünülmektedir (Mark, 1972). 22 nolu kromozomun uzun kolunun üçüncü distalden kaybı mitozun bozulmasına veya tamamen G22 nin kaybına neden olmaktadır. Zang ve Singer (1971), yaptıkları bir çalışmada meningiömları markır taşıyan ve markır taşımayan meningiömlar olmak üzere gruplandırmışlardır. Markır taşımayan hücre hatlarında G grubu kromozom kaybı olmakta, D grubu kromozomlarda kayıp daha az olmaktadır. C grubu kromozomlarda kayıp oranı fazla olmaktadır. F grubu kromozomlarda farklılık görülmemektedir. Markır taşıyan meningiömlarda ise G grubu kromozom kaybı daha yüksek olmakta, D ve F grubu kromozomlarda bir farklılık saptanamamıştır. C grubu kromozomlarda da kayıp görülmektedir. Hücrelerde belirlenen markır kromozomlar daha çok G ve C grubu kromozomlardan köken almaktadır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Sitogenetik İncelemeye Alınan Hücrelerin Kaynağı :

Hücreler, Hacettepe Hastanesinde meningiom tanısı ile ameliyata alınan hastalardan elde edildi. Alınan doku materyalinin bir kısmı kesin tanı için patoloji bölümüne gönderildi, bir parçasından da laboratuvarımızda hücre kültürü hazırlandı. Her hücre kültürü hazırlanan olgunun kesin patoloji tanısı öğrenildi. Araştırma süresince kontrol olarak fötüs meninks hücre kültürleri kullanıldı.

Kültürlerin Hazırlanması :

Tümör dokusu Hacettepe Hastanesi ameliyathanesinde steril olarak serumsuz hücre kültürü ortamına MEM (Minimal Essential Medium Flow Laboratories Kat No. 1F-222c) alındı. Daha sonra doku steril olarak bir petri kabı içinde makasla küçük parçalar haline gelinceye kadar doğrandı. Petri kabı içine % 30 fötal dana serumu içeren MEM ilave edildi. Bu parçalar steril pastör pipetleri ile her biri 25 cm² üreme

yüzeyle küçük doku kültürü kaplarına (Arthur H. Thomas Company. Philadelphia. P.A., USA. Kat No. 3401-T10) 4-5 parça düşecek şekilde dağıtıldı. % 30 oranında fetal dana serumlu 1-2cc MEM besi ortamı içeren kültür kaplarının ağzı sıkıca kapatıldı ve 37 °C de etüve bırakıldı. Kültürler 2-3 gün hareket ettirilmeden parçaların yapışması için bekletildi. Daha sonra üreme olup olmadığı doku kültürü mikroskopunda incelendi. 3-4 gün arayla üremeyi hızlandırmak için % 30 fetal dana serumu içeren MEM ile ortam değiştirildi.

Doku kültürü kaplarında tek katlı hücre tabakası oluştuktan sonra pasaj işlemi yapıldı. Bunun için doku kültürü kabına 3-4cc Tripsin-EDTA (etilen diamin tetra asetik asit, % 0,005 tripsin, % 0,002 EDTA. Fisher Scientific Company, New Jersey. USA. S-3111) solusyonu ilave edildi. Bu işlem iki defa tekrarlandı. Son tripsinize işleminde tripsin tamamen çekildikten sonra 5 dakika etüve bırakıldı. Bu işlemle hücrelerin kap yüzeyinden ve birbirinden ayrılması sağlandı. Doku kültürü mikroskopunda hücrelerin tamamen kalktığını gördükten sonra kültür kabı içine fetal dana serumu içeren MEM ilave edildi ve hücrelerin iyi bir şekilde dağılmasını sağlamak için çok yavaş pipetleme yapıldı. Hücrelerin iyi bir şekilde dağılmasını sağladıktan sonra hücrelerin sıklığına ve üreme hızlarına göre iki veya üç adet yeni hücre kültür kabına dağıtıldılar. Hücre pasajı işlemi, hücre kültürü

kaplarında tek tabaka hücre üremesi sonucu tekrarlandı. Hücrelerin pasaj işlemleri ile özelliklerini yitirebilecekleri düşünülerek kromozom analizleri ilk pasajlarda yapıldı.

Kromozomların Elde Edilmesi :

Hücrelerin doku kültürü kaplarında üremeye devam ederken zaman zaman mikroskop altında gözlenerek mitoz sıklığı kontrol edildi. Objektif büyütmesi 10X, oküler büyütmesi 100 olan mikroskopta mitozdaki hücreler yuvarlak ve parlak görülmesi ile kromozomları metafaz devresinde durdurmak için hücre kültür kabına 1 µg/ml olacak şekilde Kolçisin (Sigma Chemical Company, No. c-9754) ilave edildi. Daha sonra 37 °C de etüvde iki saat bekletildi. Tripsin uygulaması ile daha önce pasaj yapılması kısmında anlatıldığı şekilde hücreler kaldırılarak tripsin içerisinde konik tüpe alındı. Santrifügasyon ile elde edilen çökelti üzerine hücrelerin şişmesini sağlamak üzere hipotonik bir solüsyon olan 0,075M KCl 6-7cc ilave edildi. Pastör pipeti ile çok yavaş bir şekilde hücrelerin dağılımı sağlandıktan sonra 15 dakika 37 °C de etüvde bekletildi. Tekrar 900 rpm de 4 dakika santrifüj (International Centrifuge, No.AA0743) edildi. Dökelti atıldı. Çökelti üzerine 3 kısım mutlak metanol ve 1 kısım glasiyal asetik asit karışımını içeren fiksatif solüsyonundan 5-6cc ilave edildi.

Tekrar santrifüj yapıldı. Dökelti atıldıktan sonra çökelti fiksatif ile 2 kere yıkandı. Bütün santrifüjler aynı süre ve "rpm" de yapıldı. Son santrifüjden sonra çökelti üzerinde hücre miktarına göre fiksatif bırakılarak fazlası atıldı. Çökelti süspansiyon haline getirildikten sonra temizlenmiş kuru lamalar üzerine pastör pipeti ile bir damla halinde damlatıldı. Havada kurutulularak ışık mikroskopunda incelendi ve güzel metafaz kromozomları bulunan preparatlar işaretlendi.

Kromozomları Bandlama Tekniği :

Her olgu için ayrı ayrı elde edilen kromozom preparatları oda sıcaklığında 10-15 gün bekletildiler. Bandlama işleminde kullanılacak stok tripsin (Difco, 0152-13) solüsyon hazırlanarak -10°C de saklandı (Seabright, 1971). Çalışma yapılacağı gün stoktan %0,0125 lik solüsyon hazırlandı. Hazır kromozom preparatları beherin içine daldırılarak 1-1,5 dakika bekletildi. Bu süre bandların oluşmasına göre ayarlandı. Beherden çıkarılan preparatlar distile suda çalkalanarak Giemsa boya solüsyonunda (Merck Giemsa Lösung 5cc-95cc distile su) 5 dakika boyandı ve tekrar distile suda çalkalanarak basınçlı hava ile kurutuldu ve mikroskopta incelendi.

Fotografik İşlemler :

Boyanmış kromozom preparatları Zeiss Universal Araştırma Mikroskobu ile incelendi. İyi dağılmış metafazların, 100 objektif ve immersiyon yağı kullanılarak Zeiss İkon Fotoğraf Makinesi ile fotoğrafları çekildi. Fotoğraf filmi olarak OR-WO panchromatic (22 din, 125 Asa 135-36) filmi kullanıldı. Filmler hazırlanan developer ve sodium hiposülfid (fiksatif) solüsyonları kullanılarak banyo edildi. Fotoğraflar Forte BHO kontrast kağıtlar üzerine basıldı. Fotoğraflardan metafaz kromozomların karyotip analizleri yapıldı. Karyotiplerin değerlendirilmesinde 1972 yılında Paris Konferansında saptanan kriterler kullanıldı.

Anomalilerin Değerlendirilmesi :

Kromozomların kısa kolu "p" uzun kolu "q" sentromer "c" harfleri ile gösterildi. Anomaliler sayısal ve yapısal anomaliler olarak saptandı. Sayısal anomali değerlendirilmesinde; insan türü için kromozom sayısı 46 olduğuna göre bu sayının üzeri hiperploidi altı ise hipoploidi olarak değerlendirildi. Hücre bölünmesi olmadan kromozomların bölünme olayı "endore duplikasyon" olarak değerlendirildi. Yapısal anomaliler, belli bir kromozom segmentinin diğer bir kromozom üzerine yer değiştirmesi "Translokasyon", kromozomun bir parçasının kaybolması "Delesyon", kromozomun iki ucunda birer kırığın meydana gelmesi ve bu uçların yapışkan özellik kazanarak halka şeklinde birleşmeleri sonunda oluşan yapı "Ring"

(Halka) kromozom olarak adlandırıldı. Ayrıca kromozomların tek kromatit veya her iki kromatitte kırıklar ve aralıklar (gap) yapısal anomali olarak değerlendirildi.

B U L G U L A R

İnsan santral sinir sistemi tümörü, olan meningiom materyalinden hazırlanan doku kültüründe sitogenetik çalışmalar yapılarak karyotipler hazırlandı. Kontrol grubu olarak normal meninks zarı hücre kültürü kromozomları değerlendirildi.

Meningiom hücrelerinin in vitro koşullarda yavaş ve güç üremeleri, mitozdaki hücre oranının azlığı nedeniyle olgu sayısı ve metafaz sayısı kısıtlı kaldı.

Olgularda kromozom analizleri sonuçları tek tek değerlendirildi.

OLGU I (Protokol No: 1383075Erkek)

Altı hücrenin metafaz kromozomları incelendi.

Normal diploid kromozom sayısına hiç bir hücrede rastlanmadı. Altı hücrede metafaz kromozomları anomalilerin değerlendirmek için karyotip hazırlandı.

I. Hücre Kromozom Analizi :

Kromozom sayısı 49 olarak saptandı.

Sayısal Anomaliler :

No.1, No.13, No.15, No.17 kromozomlarda triploidi gözlenmiştir. No.2 kromozomda tetraploidi gözlemlendi. No.6, No.18, No.19 kromozomlarda monosomi bulundu.

Yapısal Anomaliler :

No.2, No.4, No.5, No.21, No.13 kromozomların kısa kolunda translokasyon gözlenmiştir.

Ayrıca 16 adet tanımlanamayan markır kromozomlar bulunmaktadır.

II. Hücre Kromozom Analizi

Kromozom sayısı 55 olarak saptandı.

Sayısal Anomaliler :

No.3, No.6, No.9, No.10, No.12, No.13, No.14, No.15, No.21 kromozomlarda triploidi, No.20 kromozomda tetraploidi gözlenmiştir. No.8 kromozoma hiç rastlanmamıştır.

Yapısal Anomaliler :

No.10 kromozomun homologunun uzun kolunda delesyon gözlemlendi. t(19;21), t(13;14) şeklinde iki transkolasyona rastlandı.

14 adet tanımlanamayan markır kromozomlar saptanmıştır.

III. Hücre Kromozom Analizi :

Kromozom sayısı 50 olarak saptandı (Şekil 2).

Sayısal Anomaliler :

No.3, No.12, No.16 ve X kromozomlarında triploidi gözlenmiştir. No.20 kromozomda ise monosomi saptanmıştır.

Yapısal Anomaliler :

Bir translokasyon $t(9;18)$ ve tanımlanamayan markır kromozom gözlenmiştir 11 nolu kromozomda belirlenmeyen bir parça transloke olmuştur (Şekil 10 ; IF).

IV. Hücre Kromozom Analizi :

Kromozom sayısı 23 olarak saptandı (Şekil 3).

Sayısal Anomaliler :

No.2, No.4, No.5, No.8, No.9, No.11, No.13, No.15, No.17, No.18, No.19, No.21 ve X kromozomunda monosomi gözlenmiştir. No.10, No.12, No.15, No.20, No.22 kromozomlara hiç rastlanmamıştır.

Yapısal Anomaliler :

No.8 kromozomun yapısında deformasyon vardır. No.2 kromozomun uzun kolunda delesyon gözlenmiştir.

V. Hücre Kromozom Analizi :

Kromozom sayısı 45 olarak saptandı. (Şekil 4).

Sayısal Anomaliler :

No.22 kromozomda monosomi saptandı.

Yapısal Anomaliler :

No.12 kromozomunda daralma (secondary constriction) şeklinde anomali saptanmıştır.

VI. Hücre Kromozom Analizi :

Endore duplikasyon gözlenmektedir. (Şekil 5).
Kromozom sayısı 70 olarak saptandı.

Sayısal Anomaliler :

No.16, No.17, No.18 kromozomlar hiç tesbit edilememiştir.

Yapısal Anomaliler :

No. 4 kromozomda translokasyon görülmektedir. Diğer incelenen metafazlar karyotipe uygun olmadığı için sayısal olarak değerlendirildi. Bütün metafazlarda poliploidi ve aneuploidi gözlemlendi.

Bu olguda en fazla sayısal anomali No.16, No.17, No.18 kromozomlarda saptanmıştır. Hücrelerde monosomi şeklinde veya hiç rastlanmamaktadır. No.13, No.14, No.15 kromozomlarda da en fazla sayısal anomali saptanmıştır. No.20 ve No.22 kromozomları genellikle monosomi şeklinde veya hiç rastlanmamaktadır.

Yapısal anomali olarak en fazla translokasyon ve delesyon gözlenmiştir.

OLGU II (M.A. Protokol No:1388850. Erkek)

Sekiz hücrenin metafaz kromozomları incelendi. Normal diploid kromozom sayısına hiç bir hücrede rastlanmadı. Sekiz hücrede metafaz kromozomları anomalilerini değerlendirmek için karyotip hazırlandı.

I. Hücre Kromozom Analizi :

Kromozom sayısı 37 olarak saptandı (Şekil 6).

Sayısal Anomaliler :

No.2, No.3, No.4, No.9, No.10, No.13, No.14, No.18, No.21 kromozomlarda monosomi gözlenmiştir.

Yapısal Anomaliler :

No.2 kromozomun uzun kolunda kırılma, (Şekil 10 ; ID) No.7 kromozomun kısa ve uzun kolunda delesyon, No.12 kromozomun uzun kolunda delesyon saptanmıştır.

II. Hücre Kromozom Analizi

Kromozom sayısı 36 olarak saptandı.

Sayısal Anomaliler :

No.3, No4, No.14, No.17 kromozomlarda monosomi saptandı. No.5, No.12 kromozomlara hiç rastlanmadı. No.6 kromozomlarında triploidi gözlemlendi.

Yapısal Anomaliler :

No.1 kromozomda sentromer bölgesinden kısa kolun her iki-
sinde delesyona uğramıştır. No.20 kromozomun uzun koluna
belirlenemeyen bir parça transloke olmuştur (Şekil 10;IIF).

Ayrıca tanımlanamayan markır kromozomlar saptanmıştır.

III. Hücre Kromozom Analizi :

Kromozom sayısı 16 olarak saptandı.

Sayısal Anomaliler :

No.2, No.3, No.4, No.5, No.6, No.7, No.10, No.15, No.19,
No.21, kromozomlarında monosomi gözlenmiştir. No.8, No.9,
No.11, No.13, No.16, No.17, No.18, No.20, No.22, X ve Y
kromozomları hiç gözlenmemiştir.

Yapısal Anomaliler :

Hiç bir yapısal anomaliye rastlanmamıştır.

Ayrıca tanımlanamayan 5 adet markır kromozom saptanmıştır.

IV. Hücre Kromozom Analizi :

Kromozom sayısı 34 olarak saptandı.

Sayısal Anomaliler :

No.4, No.8, No.10, No.11, No.12, No.14, No.16, No.18, No.19
kromozomlarında monosomi gözlenmiştir. No.9 ve Y kromozom-
lara hiç rastlanmamıştır.

Yapısal Anomaliler :

No.13 kromozomun uzun ve kısa kolunda kırık gözlenmiştir.
Tanımlanamayan 5 adet markır kromozom saptanmıştır.

V. Hücre Kromozom Analizi :

Kromozom sayısı 41 olarak saptandı.

Sayısal Anomaliler :

No.5, No.18, No.21, No.22 kromozomlarda monosomi, No.10 kromozomda triploidi gözlenmiştir. No.9 kromozoma hiç rastlanmamıştır.

Yapısal Anomaliler :

Hiç bir yapısal anomali saptanamamıştır. Tanımlanamayan 3 adet markır kromozom saptanmıştır.

VI. Hücre Kromozom Analizi :

Kromozom sayısı 42 olarak saptandı (Şekil 7).

Sayısal Anomaliler :

No.11 kromozomda triploidi, No.18, No.19 kromozomda monosomi gözlenmiştir. No.10 kromozom ve X kromozomu hiç saptanamamıştır.

Yapısal Anomaliler :

No.1 kromozomun sentromer bölgesinden kısa ve uzun kolları birbirinden ayrılmıştır (Şekil 10;IC) No.5 kromozomun sentromer bölgesinden kısa kolunda kırık saptanmıştır (Şekil 10 ; IIA).

Tanımlanamayan 5 adet markır kromozom gözlenmiştir.

VII. Hücre Kromozom Analizi :

Kromozom sayısı 29 olarak saptandı.

Sayısal Anomaliler :

No.4, No.7, No.8, No.13, No.15, No.18, No.21 kromozomlarda monosomi gözlenmiştir. No.6, No.10, No.14, No.16, No.22 kromozomlara hiç rastlanmamıştır.

Yapısal Anomaliler :

No.5 kromozomun kısa kolunda delesyon, No.12 kromozomun uzun kolunda translokasyon gözlenmiştir.

Tanımlanamayan 1 adet markır kromozom saptanmıştır.

VIII. Hücre Kromozom Analizi :

Kromozom sayısı 41 olarak saptandı.

Sayısal Anomaliler :

No.7, No.19, No.21, No.22 kromozomlarda monosomi gözlenmiştir. Y kromozomuna hiç rastlanmamıştır.

Yapısal Anomaliler :

Bir translokasyon t(21:22) ve tanımlanamayan 1 adet markır kromozom saptanmıştır.

Diğer incelenen 9 hücrenin metafazları karyotip yapmaya uygun değildir. Sayısal olarak değerlendirilmede poliploidy ve aneuploid gözlenmiştir.

Bu olguda özellikle No.3, No.14, No.10, No.18, No.21 kromozomlarda monosomi gözlenmiştir. No.22 kromozom monosomi şeklinde veya hiç saptanamamıştır. Ayrıca X ve Y kromozomlarında hiç rastlanmamaktadır. Hücrelerdeki kromozom sayısı normal kromozom sayısından daha az sayıda saptanmıştır.

Yapısal anomali olarak özellikle No.1 kromozomda kırılma ve No.22 kromozomda translokasyon gözlenmiştir. Ayrıca yapısal anomali gözlenemeyen hücrelerde saptanmıştır.

OLGU III (M.A; Protokol No:1418884, Erkek)

İki hücrenin metafaz kromozomları incelendi. Normal diploid kromozom sayısına hiç bir hücrede rastlanmadı. İki hücrede metafaz kromozomları anomalilerini değerlendirmek için karyotip hazırlandı.

I. Hücre Kromozom Analizi :

Kromozom sayısı 30 olarak saptandı.

Sayısal Anomaliler :

No.3, No.8, No.9, No.10, No.12, No.13, No.14, No.15, No.16, No.19, No.20 kromozomlarda monosomi gözlenmiştir. No.4, No.5, kromozomuna ve Y kromozomuna hiç rastlanmamaktadır.

Yapısal Anomaliler :

No.3 kromozomun kısa koluna belirlenmeyen bir parçanın translokasyonu $t(3;?)$ ve No.8 kromozomun kısa kolunda delesyona rastlanmaktadır.

II. Hücre Kromozom Analizi :

Kromozom Sayısı 40 olarak saptandı.

Sayısal Anomaliler :

No.2, No.3, No.10, No.12, No.14, No.17, kromozomlarda monosomi, No.9 kromozomda trisomy gözlenmiştir. X kromozomu gözlenememektedir.

Yapısal Anomaliler :

İki translokasyon $t(1;3)$, $t(1;11)$ gözlenmiştir (Şekil 10 ; IA, IB).

Tanımlanamayan 2 adet markır kromozom saptanmıştır.

Diğer incelenen 5 hücrenin metafazları karyotipe uygun olmadığı için sayısal olarak değerlendirildi. Bu hücrelerde aneuploidi gözlemlendi.

Bu olguda özellikle No.3, No.14 kromozomlarda monosomi saptanmıştır. Yapısal anomali olarak No.3 kromozomda translokasyon, No.8 kromozomda delesyon gözlemlenmiştir.

OLGU IV (I.A; Protokol No:1417726,Erkek)

Bir hücrenin metafaz kromozomları incelendi. Normal diploid kromozom sayısına rastlanmadı. Bu hücrede metafaz kromozomları anomalilerini değerlendirmek için karyotip hazırlandı.

I. Hücre Kromozom Analizi :

Kromozom sayısı 84 olarak saptandı (Şekil 8).

Sayısal Anomaliler

No.1, No.5, No.6, No.9, No.10, No.14, No.18 kromozomlarında triploidi, No.2, No.3 kromozomdan 6 adet, No.4, No.19 kromozomdan 5 adet, No.11, No.12, No.13, No.15, No.17 kromozomdan 4 adet, No.20 kromozomdan 8 adet ve Y kromozomundan 2 adet saptanmıştır.

Yapısal Anomaliler :

No.1 kromozomun uzun kolunda delesyon, No.6 kromozomun uzun kolunda delesyon saptanmıştır.

Ayrıca 8 adet tanımlanamayan markır kromozom saptanmıştır.

Diğer incelenen hücrelerde modal kromozom sayısı aneuploidir.

OİGU V (O.K. Protokol No:1391081, Erkek)

İki hücrenin metafaz kromozomları incelendi. Normal diploid kromozom sayısına hiç bir hücrede rastlanmadı. İki hücrede metafaz kromozomları anomalilerini değerlendirmek için karyotip hazırlandı.

I. Hücre Kromozom Analizi :

Kromozom sayısı 44 olarak saptandı.

Sayısal Anomaliler

No.3, No.18 kromozomlarda monosomi gözlenmiştir.

Yapısal Anomaliler :

Hiç bir yapısal anomali ve markır kromozomuna rastlanmamıştır.

II. Hücre Kromozom Analizi

Kromozom sayısı 45 olarak saptandı (Şekil 9).

Sayısal Anomaliler :

No.2, No.22 kromozomlarda monosomi; No.20 kromozomda triploidi gözlenmiştir.

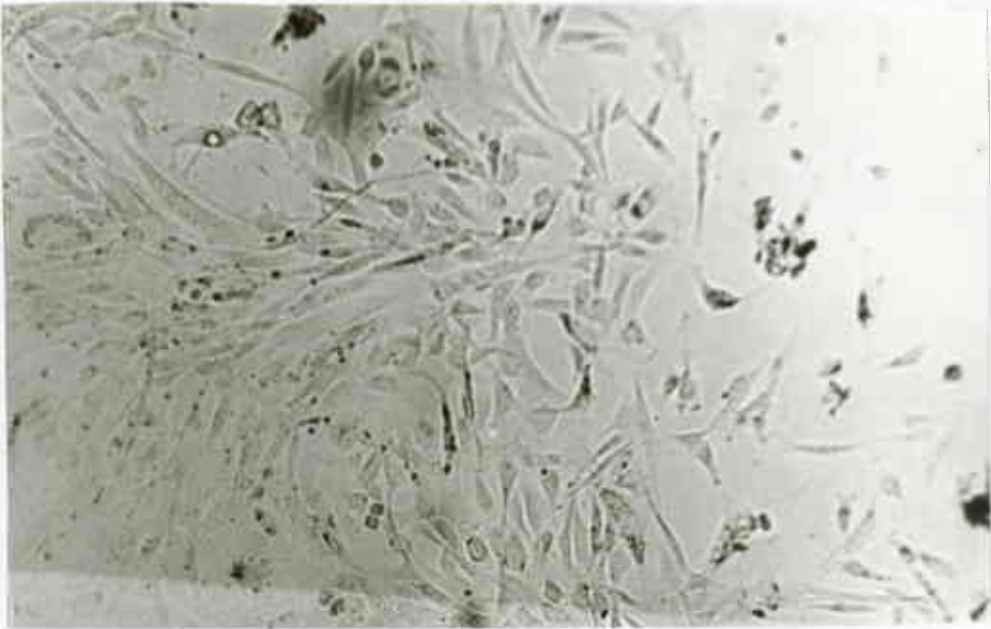
Yapısal Anomaliler :

No.12 kromozomun kısa kolunda gap (aralık) gözlenmiştir (Şekil 10 ; IIE).

Diğer incelenen hücrelerde sayısal olarak değerlendirildiğinde poliploidi gözlenmiştir. Bu olguda özellikle 22 nolu kromozomda monosomi gözlemlendi. Genellikle markır kromozom ve yapısal anomaliye rastlanmaktadır.

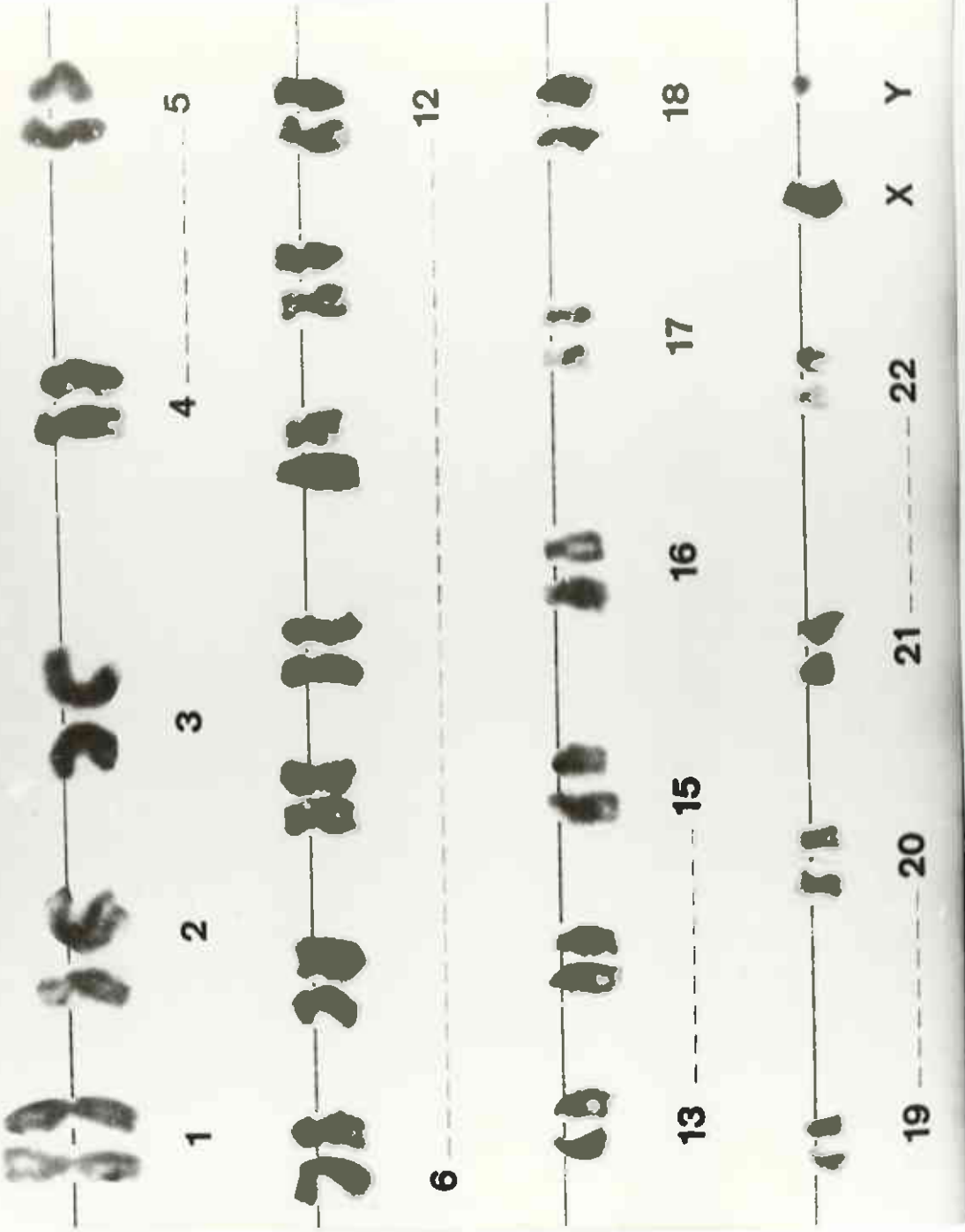


Resim 1 : Primer meninks hücre kültürü (10 x 10)

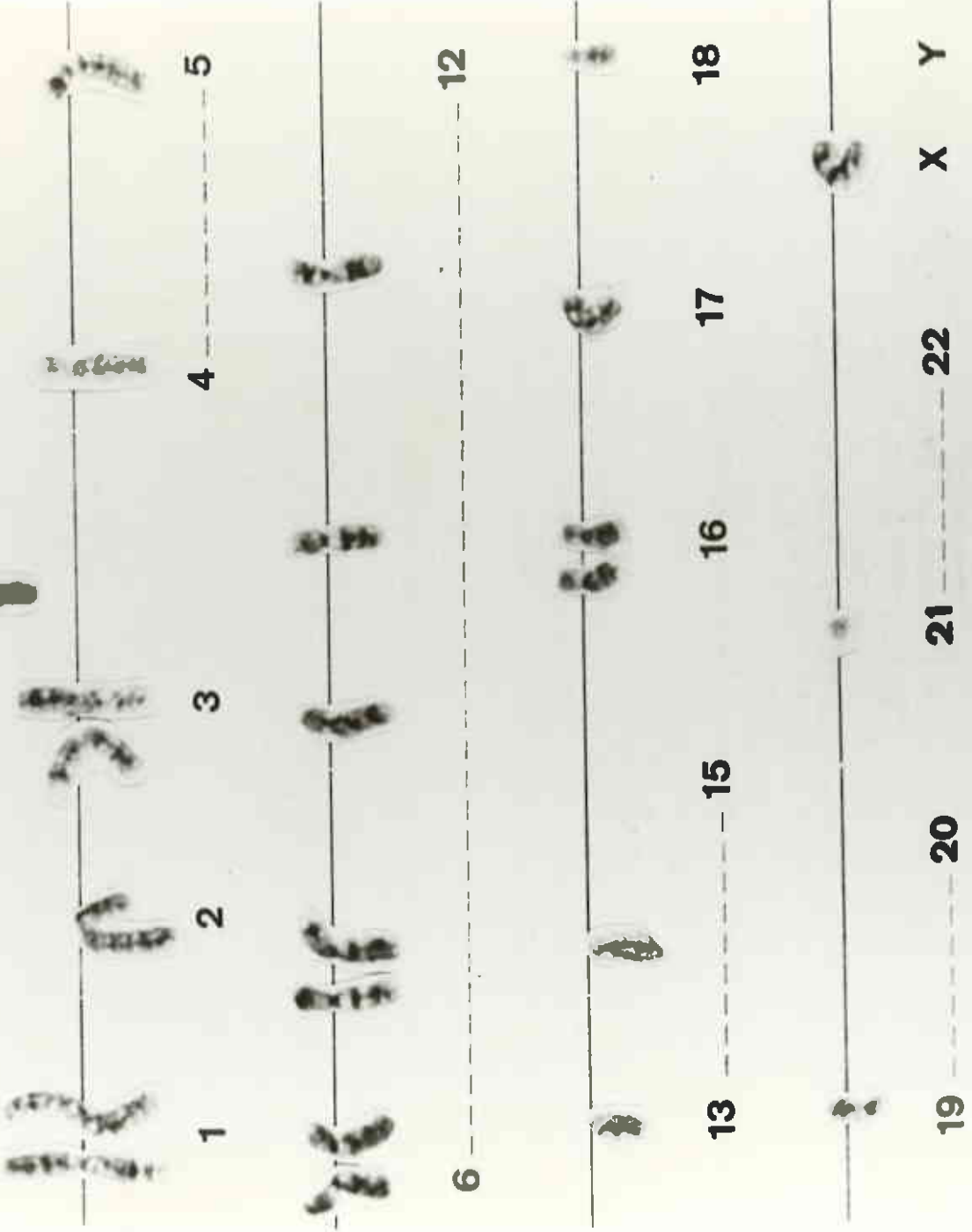


Resim 2 : Meningiom hücre kültürü (pasaj 3) (10x10)

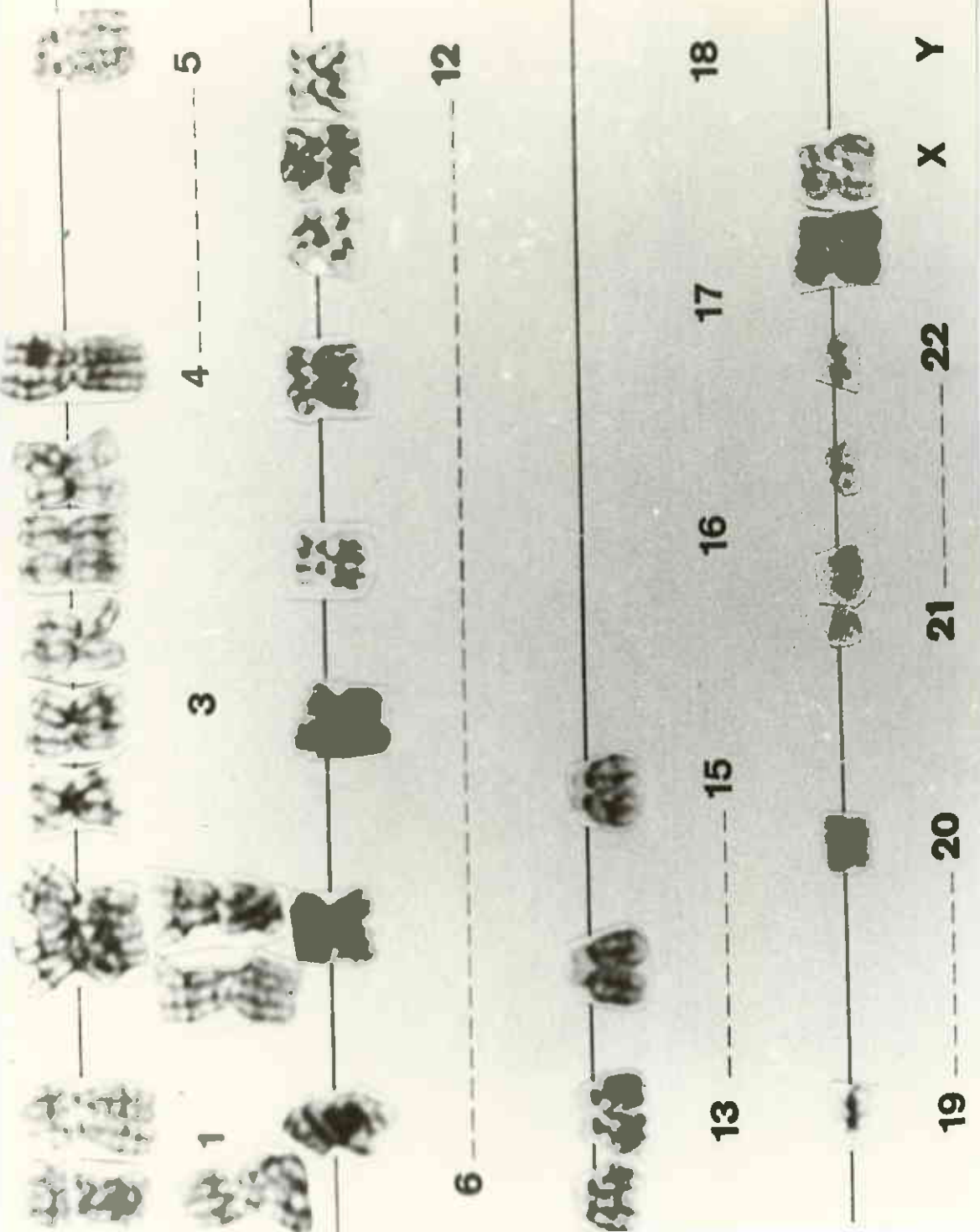
Şekil 1: Kontrol meninks hücrelerin-
den hazırlanmış normal bir
karyotip örneği.



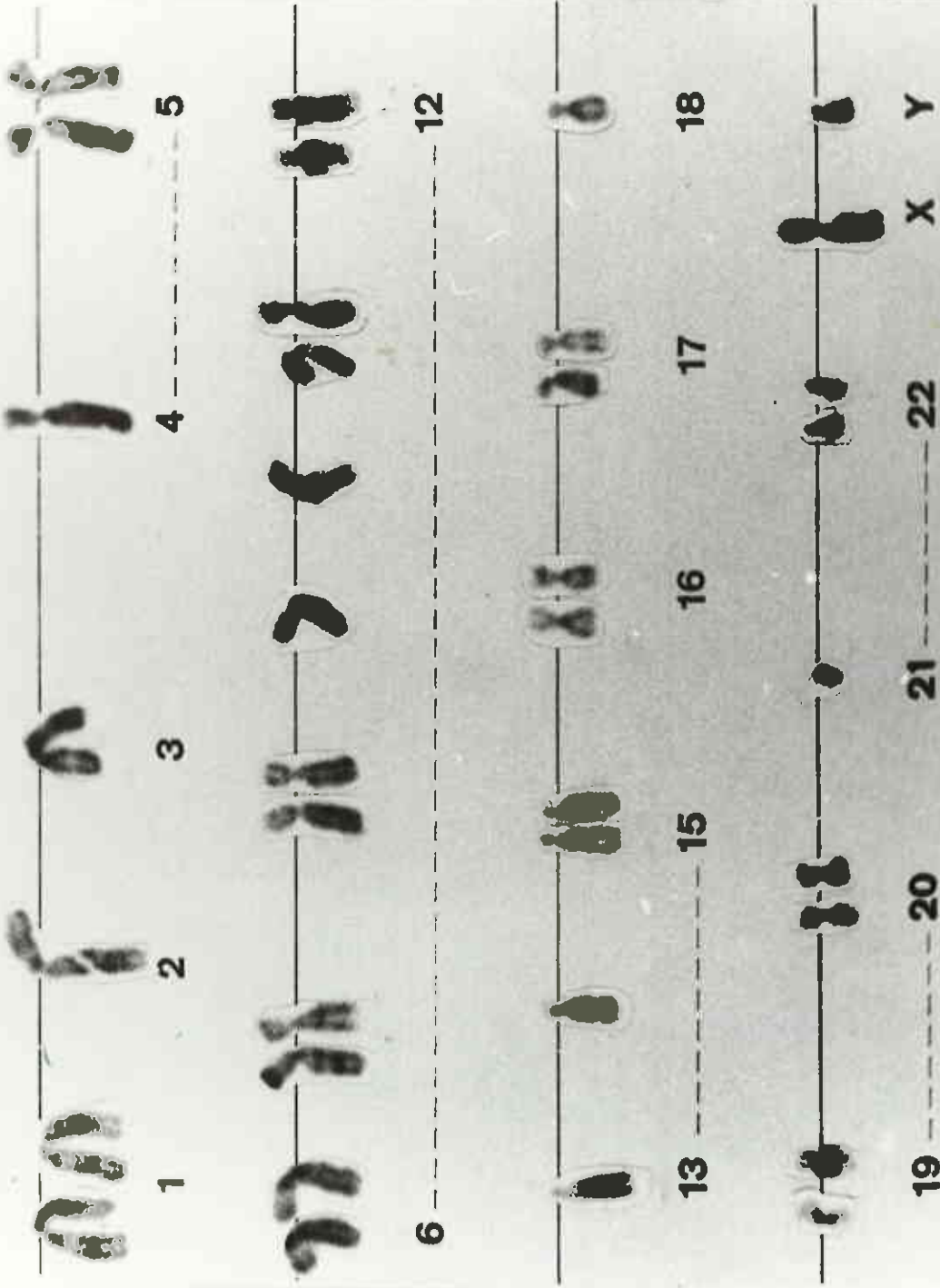
Şekil 3: Olgu I meningiom hücrele-
rinden hazırlanmış bir
karyotip örneği. 2,4,5,8,
9,11,13,14,17,18,19,21 nolu
kromozomlarda monosomi,
10,12,15,20,22 nolu kromo-
zomlara hiç rastlanmamış-
tır. Ayrıca tanımlanmayan
bir korozom gözlenmiştir.



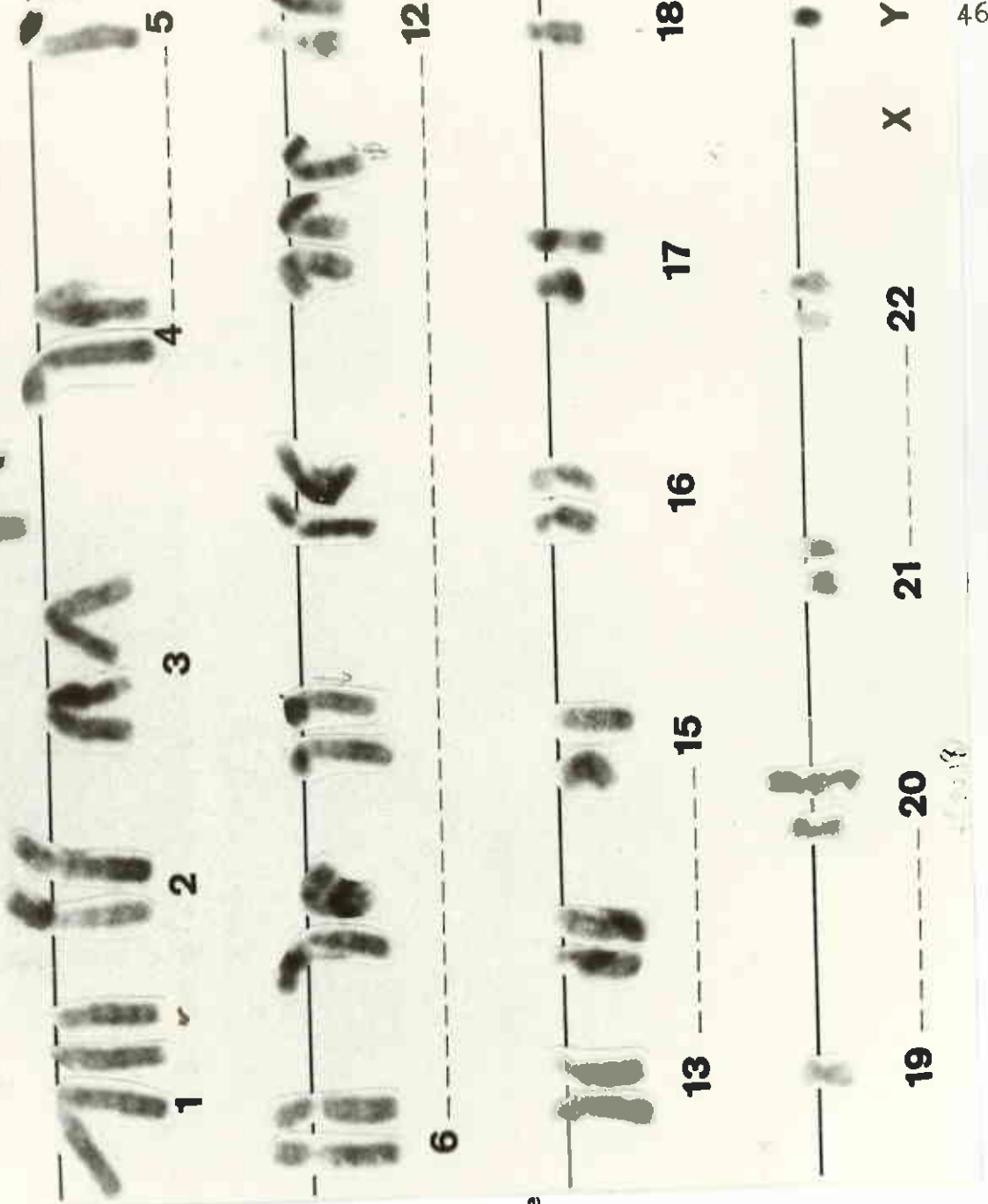
Şekil 5: Olgu I meningiom hücrelerinin hazırlanmış bir karyotip örneği. Endereduplikasyon gözlenmiştir.

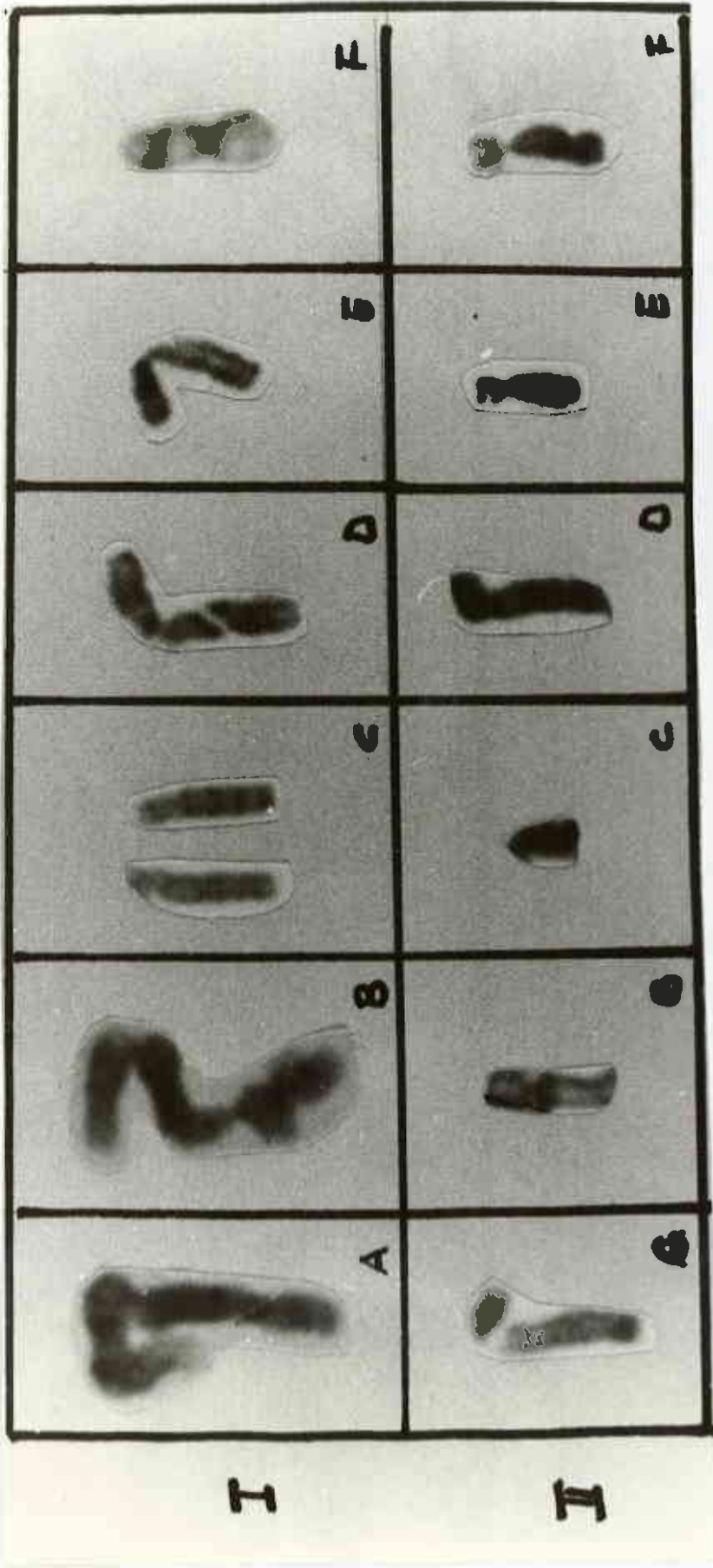


Şekil 6: Olgu II meningeiom hücrele-
rinden hazırlanmış bir kar-
yotip örneği. 2,3,4,9,10,
13,14,18,21 nolu kromozom-
larda monosomi gözlenmiş-
tir. Ayrıca No:2q da kı-
rık septanmıştır.



Şekil 7: Olgu II meningiom hücrelerinin hazırlanmış bir karyotip örneği. 11 nolu kromozomda triploidi, 18 ve 19 nolu kromozomda monosomi gözlenmiştir. 10 nolu kromozoma ve X kromozomu saptanamamıştır. 1 ve 5 nolu kromozomlarının sentromerinden kırık, 11q⁻ ve t(20:18) gözlenmiştir. Ayrıca tanımlanamayan kromozom fragmentleri saptanmıştır.





Şekil 10: IA : t(1:3)

IB : t(1:11)

IC : No:1 sentromerden kopma

ID : No:2q kırık

IE : No :2q kırık

IF : t(11:?)

IIA : No:5 sentromerden kırık

IIB : No:5p⁻

IIC : No:13q⁻

IID : No:4p kırık

IIE: No:12p (gap)

IIF: t(20:?)

T A R T I Ő M A

Son yıllarda araştırma yöntemlerinin gelişmesi ile kanserin nedenini saptamaya yönelik araştırmalara hız verilmiştir. Kanserın dış etkenler ile oluşabileceği anlaşıldıktan sonra bu olayın mekanizmasını açıklamak amacıyla çeşitli hipotezler ileriye sürülmüştür.

Araştırıcılar kanseri dış uyarıcılara karşı hücrede beliren bir patolojik yanıt olarak görmüşlerdir. Daha sonraları kanser hücrelerinin giderek dokuda anaplastik tiplere dönüşmeleri metabolik ve biyokimyasal fonksiyonlarında gerilemeler görülmesi, bu fonksiyonları sağlayan hücre içi faktörlerin kaybı ile açıklamak istenmiştir. Radyasyon, kimyasal karsinojenler ve onkojenik virusların hücrenel onkojenleri işler duruma getirerek hücrenin kanserleşmesine yol açtıkları düşünülmektedir.

Kanser üzerine yapılan bir çok araştırmalardan son yıllarda en çok dikkati çekenler sitogenetik konusundaki çalışmalardır (Yunis,1981). Bu çalışmaların bir çoğunda tümör hücrelerinin genellikle anormal kromozom sayısına sahip oldukları saptanmıştır.

Kromozom metodlarının gelişmesini izleyen yıllarda, birbiri ardına değişik kromozom aberasyonları ile birlikte giden birçok klinik sendrom tanımlanmıştır. Sitogenetik tekniklerde ilerleme devam etmektedir (Casperso ve ark.,1970; Arrighi Hsu,1971). Özel Giemsa bandlama teknikleri, insan karyotipindeki bütün kromozomların tek tek tanınabilmelerini mümkün kılmıştır. Tümör hücrelerinde saptanan anomalilerin, bu metotla, hangi kromozoma ait oldukları gösterilebilmiştir. Kanser hücrelerinde kromozom değişikliği olabileceği düşünülerek kanserleşmeye yol açan değişikliklerin kanserlere özgül kromozom anomalileri olup olmadığı araştırılmıştır (Miles,1974).

1960 yıllarında Nowell ve Hungerford tarafından bulunan Ph^1 kromozomu kronik miyelositik lösemili hastaların % 90 nında ilik hücrelerinde gözlenebilir. 1973 yıllarında başlıyarak Sandberg ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalar akut lösemilerde kromozom bulguları ile prognoz arasındaki ilişkileri ortaya koymuşlardır.

Solid tümörler ve lenfomalarda yapılan geniş sitogenetik çalışmalar karakteristik ve özgül kromozom bozukluklarının bulunmadığını göstermiştir. Genel olarak kromozom sayılarında artma, şekil bozuklukları kırıklar ve kromozom sayılarında geniş bir dağılım incelenmektedir.

Solid tümörler grubundan olan meningiom iyi huylu bir tümördür. Yavaş ve genişleyici tarzda büyüyen, çoğu iyi kapsüllü oluşumlardır. Histolojik olarak iyi huylu tümörler köken aldıkları dokunun özelliklerini yakından taklit ederler. Atipik hücrelere rastlanmamaktadır.

Meningiom doku kültürlerinde yapılan çalışmalarda 70S RNA ve RNA ya bağlı DNA polimeraz aktivitesine sahip partiküller gösterilmiştir (Bensaheim ve arkadaşları.,1977 ; Cautico ve arkadaşları., 1973). Virusa benzer partiküllerin bulunması bu olgunun viral etiyoloji ile ilgili olduğunu göstermektedir. Ayrıca immunolojik olarak yapılan çalışmalarda da virusa özgül antiijenler saptanmıştır (Weiss ve arkadaşları.,1975,1976 ; Tabuchi ve arkadaşları., 1978 ; May ve arkadaşları.,1979). Bu araştırmaların yardımı ile araştırmacılar tümör-kromozom-virus arasındaki ilişkiyi açıklamak için sitogenetik araştırmalara yönelmişlerdir. Meningiom tümöründe sitogenetik çalışma yapmanın güçlüğü nedeniyle diğer kötü huylu tümörlere kıyasla daha az çalışılmıştır. Meningiom biyopsi materyalinden doku kültürü

çalışmaları oldukça güç olmaktadır. Hazırlanan doku kültüründe hücrenin tek tabaka şeklinde üremesi için, mitoz giren hücrelerin sayısının azlığı nedeniyle uzun zaman gerekmektedir. Mitoza giren hücreleri belirleyip kromozom analizi yapmak zor olmaktadır.

Meningiom doku kültüründe yapılan sitogenetik çalışmada genellikle G grubu kromozom üzerine varyasyonlar saptanmıştır. En sık görülen 22 nolu kromozomun sayısındaki değişmelerin bölünme sırasında ayrılmama (non-disjunction) dan dolayı ortaya çıkabileceği düşünülmektedir (Rowley,1974).

Zang ve Singer, (1971); meningiom doku kültüründe herhangi bir kromozomda yapısal önemli bir anomalinin bulunmadığını bununla birlikte % 50 den fazla markır kromozom bulunduğunu göstermişlerdir. Küçük akrosentrik kromozomlarda ve C grubu kromozomlarda yeni düzenlemeler meydana gelmektedir. Bizim çalışmamızda da incelenen hücrelerin çoğunda tanımlanamayan markır kromozomlara rastlanmış ve özellikle C grubu kromozomlarda yapısal anomaliler saptanmıştır.

Ayrıca çalışmamızda meningiom doku kültürlerinde en çok sayısal anomali A,C,G grubu kromozomlarda gözlenmiştir. D grubundan 13,14 nolu kromozomlarda E grubundan 18 nolu kromozomda en sık anomali gözlenmiştir. En az anomali gösteren F grubu kromozomlarıdır. Diğer araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda da aynı şekilde en fazla C,D,G grubu kromozomlarda anomali saptamışlardır (Zankl ve arkadaşları.,1971,1972). Olgu II farklı hücrelerde X ve Y kromozomları saptanamamıştır. Aynı şekilde hypodiploid hücre hatında yapılan bir çalışmada da X kromozom kaybı sıklıkla gözlenmiştir.

Çalışmamda saptanan diğer sayısal anomaliler A grubundan 2 nolu ve 3 nolu kromozomlarının monosomi özelliğini göstermesidir. Diğer araştırmacıların yaptığı çalışmalarda da No.2 kromozomda kayıp gözlemişlerdir (Mark,1970). Ayrıca çalışmamda en fazla C grubunda No. 10 kromozomda monosomi gözlenmiştir. Diğer araştırmacıların yaptığı çalışmalarda ise No.3 ve No.12 de monosomi gözlemişlerdir.(Zankl ve Zang, 1971,1972). B grubunu oluşturan No.4 ve No.5 kromozomlarda da anomali saptanmıştır. G grubundan No.21 ve No.22 kromozomların ya homoloğu ya da bütünüyle kaybolması şeklinde anomali göstermişlerdir. Olgu II de incelenen mitoz hücrelerin de G grubundan No.21 ve No.22 kromozom kaybı sıklıkla gözlenmiştir. Mark ve Mitelman (1972) yaptıkları çalışmada G 22 + ~~10~~ına sıklıkla rastlamışlardır. Ancak kaybolan bu No.22 kromozom herhangi bir kromozoma

transloke olmamaktadır. Diğer araştırmacıların yaptığı kromozom çalışmalarında da No. 22 kaybı çoğunlukla saptanmıştır.

Araştırmamda meningiom doku kültürlerinde yapısal anomalilerde saptanmıştır. A, B, C ve G grubu kromozomlar arasında translokasyon görülmektedir. Bu çalışmada kırıklar, translokasyon, gap, (aralık) gibi yapısal anomaliler hemen hemen her hücrede tesbit edilmiştir. Diğer araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda daha çok sayısal anomali gözlenmiştir. (Mark ve Mitelman , 1974). Yapısal anomali olarak değerlendirilen fakat tam olarak tanımlanamayan markır kromozomlar saptanmıştır. Her hücrede markır kromozomlar değerişim göstermektedirler. Belirli bir markır kromozom saptanamamıştır. Ayrıca ring kromozom gözlenememiştir. Mark (1971) yaptığı çalışmada ring kromozom saptamıştır.

Tümör hücrelerinde markır kromozomlar sıklıkla saptanmaktadır. Bu araştırmada, markır kromozomların daha çok B grubu kromozomlarından ve akrosentrik kromozomların değerişimlerinden dolayı olduğu düşünülmektedir.

Yapılan bu araştırmada alınan sonuçlar literatürden elde edilen sonuçlarla uygunluk göstermektedir(Mark ve ark., 1972). G grubu kromozom değerişimleri hemen hemen bütün hücrelerde saptanmıştır.

Meningiom hücre kültüründe oluşan G kromozom delesyonu uzunluğu hücreden hücreye değişim göstermektedir. Bu çalışmada yapısal anomali oranı çok yüksektir. En fazla gözlenen anomaliler delesyon ve translokasyondur. Mitelman ve arkadaşları meningiom doku kültürlerinde normal karyotip gösteren hücreler saptamışlardır. Fakat bu araştırmada normal karyotip gösteren hiç bir hücre gözlenememiştir.

Anomalilerin çok değişken olması, meningiomlarda onkojenik ajanların etkisinin kalıtsal materyal üzerine daha az özgül bir şekilde olduğunu düşündürmektedir. Meningiom dokusunda görülen No.22 kromozom kaybı genlerde kayba neden olmaktadır. Ancak bu kayıp tümörün kökeninde mi etkindir yoksa tümörleşmeden sonra bölünme bozuklukları nedeniyle ortaya çıkmıştır. Bu konuda kesin bir şey söylemek şu an için mümkün değildir.

İnsan santral sinir sistemi tümörlerinde yapılan sitogenetik çalışmaların, tümörlerin etiyolojisinde, tümörün ortaya çıkış nedenini belirlenmesinde, tanıyı kolaylaştırmada ve tedavi şeklinin saptanmasında önemli derecede katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

Ö Z E T

İnsan santral sinir sistemi tümörlerinden olan meningiom dokusundan hazırlanmış hücre kültürlerinde kromozom analizi yapılmıştır. Hazırlanan karyotiplerde özgül kromozom anomalileri olup olmadığı araştırılmıştır. Kontrol olarak normal meninks hücre kültürleri kullanılmıştır. Kromozomların tanımlanması ve tiplendirilmesi için Giemsa bandlama yönteminden faydaniılmaktadır.

Çalışılan olgularda sayısal ve yapısal anomaliler gözlenmiştir. Hücrelerde modal kromozom sayısı değişmekte olup aneuploidi, poliploidi, hipoploidi, hiperploidi ve endoreduplikasyon gözlenmiştir.

Sayısal anomali, A,B,C,E gruplarından 3,4,10,18 nolu kromozomlarda en fazla saptanmıştır. Bir olguda X kromozomu gözlenmemiştir. Diğer farklı iki olguda ise Y kromozom kaybı saptanmıştır. G grubundan 22 nolu kromozomun kaybı diğer kromozomlara göre daha fazla olmaktadır.

Yapısal anomali olarak delesyon, translokasyon, kırık gibi anomalilere rastlanmaktadır. Translokasyon A,C,G grubu kromozomları arasında, delesyon A,C,D, grup kromozomlar arasında olmaktadır. Olguların bir çoğunda tanımlanamayan kromozomlar ve belirlenemeyen kromozom fragmentleri saptanmıştır.

İnsan santral sistemi tümörü olan meningiom üzerine yaptığım çalışmamda, bazı hücrelerde sıklıkla görülen kromozom anomalisi ile birlikte tam virusa özgül kromozom anomalisi saptanamamıştır. Daha kesin sonuç elde edebilmek için ileri düzeyde araştırma yapılması gerekmektedir.

	U	M	A
	13	14	15
	Trizomi 13p		Trizomi
idi	Triploidi t(13;14)	Triploidi	Triploidi
idi			
	Monosomi		Kayıp
er			
ksiyon			
	Monosomi	Monosomi	
		Monosomi	
	Kayıp		Monosomi
i	13p ⁻ , 13q ⁻	Monosomi	
	Monosomi	Kayıp	Monosomi
i	Monosomi	Monosomi	Monosomi
		Monosomi	
b-	Tetraplo- idi	Triploidi	Tetraplo- idi
)			

K A Y N A K L A R

- 1- Arrighi F.E., Hsu T.C : Localization of heterochromatin in human chromosomes. Cytogenetics, 10 :81-86, 1971.
- 2- Auersberg N., Corey M.J., Austin G. : Chromosomes in cervical lesions. Lancet, 1: 604, 1966.
- 3- Benaheim P.E., Pinowitz M. : Particles resembling oncornoviruses spontaneous release from cultured meningioma cells. Arch Neurol, 34:105-8, 1977.
- 4- Benedict W.F., Porter I.H., Brown C.D., Eloquentin R.A. : Cytogenetic diagnosis of malignancy in recurrent meningioma. Lancet, 971-973, 1970.
- 5- Biggart J.H. : Pathology of the Nervous System : (Third Ed). The Williams Wilkins Company Baltimore 1961.

- 13- Cuatico W., Cho Y.R., Spiegelman S. : Molecular evidence for a viral etiology of human CMS tumors. *Acta Neurochirurg*, 35 : 149-160, 1976.
- 14- Cuatico W., Woldron R.Yr., Tyshen ko W. : Biochemical evidence for viral like characteristics in cerebrospinal fluids of brain tumor patients. *Cancer*, 39 : 2240-2246, 1977.
- 15- Embleton M.J., Boldwin R.W. : Antigenic changes in chemical carcinogenesis. *Br. Med. Bull*, 36 : 83-88, 1980.
- 16- Finaz C., Grouchy J. : Identification of individual Chromosomes in the human karyotype by their banding pattern after proteolytic digestion. *Humangenetik*, 15: 249-252, 1972.
- 17- Fjelde A., Holtermann O.A. : Chromosome studies in HE'p - 2 tissue culture cell line during infection with measles virus. *Life Sci*, 12 : 683, 1962.
- 18- Fudenberg H.H., Stites P.P., Coldwell J.L., Wells J.V. : Tumor Immunology in Basic and Clinical Immunology. Lange Medical Publications, p. 242-259, 1976.

- 19- Gahrton G., Lendsten J., Zech L. : Involvement of chromosomes 8,9,19 and 22 in Ph¹ negative chronic myelocytic leukemia in the chronic or blastic stage. Acta Med Scand, 196 : 355, 1974.
- 20- Grawford L.V. : Transforming genes of DNA tumor viruses. Cold spr. Horb. Symp. Quant. Biol, 44 : 9-11, 1979.
- 21- Hampar B., Ellison S.A. : Chromosomal aberrations induced by an animal virus. Nature, 192 : 145, 1961.
- 22- Hayflick L., Moorhead P.S. : The serial cultivation of human diploid cell strains. Exp. Cell Res., 25:585, 1961.
- 23- Kaleli M., Ustaçelebi Ş. : Meninjiom etiyojosisinde virusların rolü üzerine bir araştırma. Türk Viroloji Dergisi. Sayı 1, S:13-20, 1981.
- 24- Kohn G., Mellman W.J., Moorhead P.S., Loftus J., Henle G. : Involvement of C. group chromosome, in five Burkitt lymphome cell lines. J. Natl Cancer Ints, 38 : 209, 1967.
- 25- Kruse P.F., Patterson M.K. : Tissue culture methods and applications. Academic Press, p.39, 1963.

- 26- Küçüksu R., Ruacan Ş., : Klinik Onkoloji, Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu Yayınları 1978, S:1-16, 479-488.
- 27- Law L.W., Rogers M.J., Appela E. : Tumor antigens on neoplasms induced by chemical carcinogens and by DNA- and RNA- containing viruses. Properties of the solubilized antigens. Adv Cancer Res, 32 : 201-235, 1980.
- 28- Lewandowski R.C., Yunis J.J. : New Chromosomal Syndromes. Am. J. Dis. Child. 129, 515-529, 1975.
- 29- Lia O. Pei - Yu : A hand book of Human cytogenetics. (First Edition). Shen Shih Colors Printing Inc, 1981.
- 30- Lobb D.S., Reeves B.R., Lowler J.D. : Identification of isochromosome 17 in myeloid leukemia. Lancet, 849, 1972.
- 31- Manolov G., Manolov Y. : Marker band in one chromosome 14 from Burkitt. Lymphomas. Nature (London), 237 : 33, 1972.
- 32- Mark J. : Two Benign Intracranial Human Tumors with an Abnormal Chromosomal picture. Acta Neuropath, 14 : 174-184, 1963.

- 33- Mark J. : Chromosomal patterns in human meningiomas.
Europ J. Cancer, 6 : 689-498, 1970.
- 34- Mark J. : The chromosomal aberration of double minutes
in three human gliomas. Acta neuropath, 194 : 204,
1970 c.
- 35- Mark J. : Chromosomal aberrations and their relation
to malignancy in meningiomas. A meningioma with ring
chromosome. Acta path microbial scand, 78 : 193-200,
1971.
- 36- Mark J., Mittelman F. : On the specificity of the G.
abnormality in human meningiomas studied by the
fluorescence technique. Acta path microbial scand,
80 : 812-820, 1972.
- 37- Mark J., Levan G., Mittelman F. : Identification by
fluorescence of the G. chromosome lost in human
meningioma. Hereditas, 71 : 163-168, 1972.
- 38- Mark J. : Karyotype patterns in human meningiomas
A. comparison between studies with G- and Q banding
techniques. Hereditas, 75 : 213-220, 1973.

- 39- Mark J. : Origin of the ring chromosome in a human recurrent meningioma studied with G- and technique. Acta path microbial scand Sectio A, 81 : 588-590, 1973b.
- 40- Martineau M. : A similiar marker chromosome in testicular tumors. Lancet, 1 : 839, 1966.
- 41- May G., Fischer H., Zang K. D. : SV40 related T-antigen expression in human meningiomas with normal and G-22 monosomic karyotype. J. Gen.Virol, 43 : 697-700, 1979.
- 42- Miles C.F. : Chromosome analysis of solid tumors. Cancer, 20 : 1253-1287, 1967.
- 43- Miles C.P. : Non. Random chromosomes changes in human cancer. Br. J. Cancer, 30 : 73, 1974.
- 44- Mitellman F., Mark J., Levan G., Levan A. : Tumor etiology and chromosome pattern. Science, 176:1340, 1972.
- 45- Mitellman F. : Differet chromosome morphology of diploid and aneuploid malignant cells. Journal of the National Cancer Institute, 52(2), 1974.
- 46- Mitellman F., Levan G. : Clustering of aberrations to specific chromosomes in human neoplasm. A survey of 287 neoplasms. Hereditas, 82: 167, 1976.

- 47- Morinella F., Giamprero M. : Occurrence of BK virus DNA in DNA obtained from certain human tumors. Proc. Natl. Acad. Sci, 73 : 4662-4666, 1976.
- 48- Nichols W.W. : Relationship of viruses chromosomes and carcinogenesis. Hereditas, 50:53, 1963.
- 49- Nichols W.W. : The role of viruses in the etiology of chromosomal abnormalities. Amer J. Hum. Genet, 18:81, 1966.
- 50- Nowell P.C., Hungerford D.W. : A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. Science, 132: 1497, 1960.
- 51- Nowell P.C. : Phytohemagglutinin an initiation of mitoses in cultures of normal human leukocytes. Cancer Res, 20: 462, 1960.
- 52- O' Riordan M.L., Robinson J.A., Buckton K.E. : Distinguishing between the chromosomes involved in Down's Syndrome (trisomy 21) and chronic myeloid leukemia (Ph¹) by fluorescence. Nature (London), 230 : 167, 1971.
- 53- Paris Conference : Standardization in human cytogenetics. Birth Defects : Original Article Series VIII, No. 7, 1972.

- 54- Paul B., Porter I.H. : Giemsa Banding in an Established Line of a Human Malignant Meningioma. Humangenetik 18 : 185-187, 1973.
- 55- Prigogina E.L., Fleisvhman E.W. : Certain patterns of karyotype evaluation in chronic myelogenous leukemia. Humangenetik, 30 : 113, 1975.
- 56- Rowley J.D. : Do human tumors show a chromosome pattern specific for each etiologic agent. Journal of the National Cancer Institute, 52, (2), 1974.
- 57- Rubinstein L.J. : Tumors of the Central Nervous System (Third Ed). Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C., p.169-204, 1970.
- 58- Saksela E., Aula P., Catell K. : Chromosomal damage of human cells induced by Sendai Virus. Ann Med Exp Biol, 43 : 132, 1965.
- 59- Sandberg A.A., Yamada K. : Chromosomes and Cancer. Cancer, 15 : 58, 1965.
- 60- Sandberg A.A., Sakurai M. : The missing Y chromosome and human leukemia. Lancet, 1 : 375, 1973.

- 61- Seabright M. : A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet*, 2 : 971, 1971.
- 62- Stryer L. : *Biochemistry* : Freeman and Company San Francisco (Second Edition), 1981.p. 740.
- 63- Tabuchi K., Kirsch W.M., Law M., Gaskin D., Buskirk J.V., Mao S. : Screening of human brain tumors for SV-40 related T-antigen. *Int. J. Cancer*, 21 : 12-17, 1978.
- 64- Tjio, J.H., and Levan H. : The chromosome number of man. *Hereditas*, 42 : 1, 1956.
- 65- Tsuda H., Kato K. : Chromosomal aberrations and morphological transformation in hamster embryonic cells treated with potassium dichromate in vitro. *Mutation Research*, 46 : 87-94, 1977.
- 66- Verma R.S., Dook H.: Simultaneous G - and C - banding for human chromosomes, *Journal of Medical Genetics*, 17 : 72-73, 1980.

- 67- Weiss A.F., Zang K.D., Birkmayer G.D., Miller F. :
SV-40 related papova - Viruses in human meningiomas.
Acta neuropath (Berl). In press 34 : 171-174, 1976.
- 68- Weiss A.F., Portmenn R., Fischer H., Simian J., Zang
K.D. : Simian virus 40 related antigens in three
human meningiomas with defined chromosome loss. Proc.
Natl. Acad. Sci. USA, 72 : 609-613, 1975.
- 69- Weitman S. : Simultaneous fungal and viral infection
of the central nervous system. Am. J. Med Sci, 276(1):
127-132, 1978.
- 70- Wyandt H.E., Anderson R.S., Patil S.R., Hecht F. :
Mechanisms of Giemsa Banding. Giemsa Components and
other variables in G - banding. Hum. Genet, 53 : 211-
215, 1980.
- 71- Yamada K : 14 q⁺ marker and a late replicating
chromosome 22 in a brain tumor. Brief communication.
J. Natl. Cancer Inst, 5g : 1193-5, 1977.
- 72- Yunis J.J., Chandler E.M. : The chromosome of man.
Clinical of Biological Significance. American Journal
of Pathology, 8(2), 1977.

- 73- Yunis J.J. : Chromosomes and Cancer. New nomenclature and future directions. Human pathology, 12(6), 494-503, 1981.
- 74- Zankl H., Zang K.D. : Cytological and cytogenetical studies on brain tumors. Humangenetik, 12 : 42-49, 1971.
- 75- Zankl H. Singer H., Zang K.D. : Cytological and cytogenetical studies on brain tumors. Humangenetik, 11 : 253-257, 1971.
- 76- Zankl H., Zang K.D. : The role of acrocentric chromosomes and a decrease in the number of nucleoli in meningioma cell culture. Virchows Arch Abt. B. Zellpath, 11: 251-256, 1972.
- 77- Zankl H., Zang K.D. : Cytological and cytogenetical studies on brain tumors. IV. Identification of the missing G- chromosome as no: 22 by fluorescence technique. Humangenetik, 14 : 167-169, 1972.
- 78- Zankl H. : Cytological and cytogenetical studies on brain tumors. Humangenetik, 30(4) : 343-8, 1975.

79- zu Zur Hausen H. : Induction of specific chromosomal aberrations by adenovirus type 12 in human embryonic kidney cells. J. Virol, 1 : 1174, 1967.

