

T. C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
Tıbbi Biyoloji Anabilim
Dalı
Anabilim Dalı Başkanı
Doç. Dr. Turgay BUDAK

Malignite ile Tek Gen Mutasyonları ve
Kromozom Düzensizliklerinin İlişkisi
Üzerine Araştırmalar

(DOKTORA TEZİ)

Araş. Gör. M. Nail ALP

DOKTORA YÖNETİCİSİ
Doç. Dr. Nurettin BAŞARAN

DİYARBAKIR, 1983

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

TE Ő E K K Ū R

Gerek yetiřmemde, gerekse çalıřmalarım sŪresince bŪyŪk yardım ve desteklerini gŪrdŪğŪm doktora yŪneticim sayın Doç. Dr. Nurettin BAŐARAN'a, yakın ilgilerini ve yardımlarını esirgemiyen Anabilim Dalı Bařkanımız sayın Doç. Dr. Turgay BUDAK, ųğretim ųyeleri sayın Doç. Dr. Ali KELLE ve sayın Doç. Dr. Ferhan PAYDAK'a, hasta takibinde ve materyal alımında her tŪrlŪ kolaylıđı gŪsteren, daima yardımcı olan FakŪl - temiz klinikleri sayın ųğretim ųyelerine, arařtırma gŪrevlilerine, hemřirelerine ve tŪm mesai arkadařlarıma Őukranlarımı sunarım.

Arař. GŪr. M. Nail ALP

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
GİRİŞ	1 - 8
GEREÇ VE YÖNTEM	9 - 24
BULGULAR	25 - 48
TARTIŞMA	49 - 59
SONUÇ	60
ÖZET	61 - 64
KAYNAKLAR	65 - 77
EKLER	

G İ R İ Ő

Son yıllarda sitogenetik analiz yöntemleri, toplum sağlığı açısından en önemli ve onulması güç sağlık sorunlarından biri olan malign insan tümörlerine ilişkin çalışmalarda, artan bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır.

Günümüzde varılmış bulunan bu noktaya nasıl gelindiğine bakıldığında, 1890 yılında Hanseman tarafından birçok insan tümör hücrelerinde asimetrik (multipolar) hücre çekirdeği bölünmelerinin tarif edilmesi ve anormal mitozlu hücrelerin anöploid malign karakteristikli hücrelere değişebileceği konusunda bir teori ileri sürülmesi ile sitolojik düzensizliklerin malignite oluşturabileceği fikrinin gelişmesine neden olan ilk adımların atılmış bulunduğu görüldü (54).

Fenotipik niteliklerin kromozomlarla ilişkisini incelemeyi konu edinen sitogenetik, sitoloji ve genetik bilimlerinin birleşmesiyle oluşmuş, bu birleşme, özellikle Mendel ilkelerinin yeniden keşfedilmesine ve kalıtımı kromozomal düzeye oturtan Sutton-Boveri Hipotezinin ortaya atılmasına neden olmuştur (8).

Mendel yasalarının yeniden keşfi ve de Vries'nin başkalaşım (mutation) ile ilgili teorisinden sonra, normal hücrelerde başkalaşım sonucu, neoplastik karakterlerin oluşabileceği fikrini daha da geliştirmiştir.

Boveri, 1914 yılında yayınladığı kanserogenezis konusundaki teorisıyla, insan dokularında malign hücrelerin, kromozomlarında değişikliğe, anormal hücre bölünmesine ya da herhangi bir kromozomdaki kırılmalara (ya da kopma) bağlı olarak gelişebileceğini söylemiş, kromozom yapısındaki değişikliklere neden olan etmenler arasında termal etki, iyonize ışınım (radyasyon) ve kimyasal bileşiklere bağlı kronik iritasyon

yonu belirtmiştir. Bauer ise 1928 de malign hücrelerin, orijinleri bakımından önemli olabilecek 3 tip başkalaşım tanımlamıştır (54):

1- Tek gendeki değişiklikler.

2- Bir kromozomun özel bir bölgesindeki bir gen grubunda ortaya çıkan değişiklikler.

3- Delesyon (eksilme), düplikasyon (artma) gibi kromozomun bir bölümünün ya da tümünün yapısını etkileyen kromozomal değişiklikler.

Değişik yazarlarca, değişik şekillerde sınıflandırılan başkalaşım, genetik yapının bir değişmiyen durumdan diğer bir değişmiyen duruma geçmesidir. Bir genin etkisi, içerdiği nükleotid bazlarından birinin değişmesiyle başkalaşabilir. Bu gene ilişkin m-RNA molekülüne de yansıyan başkalaşma, kodlanan polipeptid zincirinin amino asit kuruluşunun da değişmesine, dolayısıyla bir gen başkalaşımının ortaya çıkmasına neden olur (8).

1963 yılında Burch yalnız tek gen başkalaşımının değil, görülebilir kromozom düzensizliklerinin de maligniteden sorumlu sayılabileceğini bildirmiş, 1965 te Sandberg ve Yamada malign hücrenin oluşumunun, değişmiş DNA yapı ve görevine bağlı bir olgu olarak düşünülmesi gerektiğini belirtmişlerdir (97).

Fiziksel (iyonize ışınlar), kimyasal (farmakolojik ürünler, pestisidler) ve biyolojik (virüsler) etkenlerin, memeli hayvanlarda ve insanlarda başkalaştırıcı (mutajenik) etkiye sahip olmaları nedeniyle kromozom düzensizlikleri oluşturdukları birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (14,31,78,97,99).

Teşhis ve tedavi amacı ile kullanılan radyasyonun kromozom düzensizliklerine neden olduğu (95), malignite ve kromozom ilişkisini de etkilediği belirtilmektedir (48).

Hiroshima ve Nagasaki'ye atılan atom bombasının insanlar üzerindeki kanser yapıcı etkilerinin kuşaktan kuşağa süregeldiği, açığa çıkan

radasyonun hücrelerde bulunan kromozomlar üzerinde değişiklikler oluşturduğu ve bölgede 1945 yılından bu yana özellikle lösemi türü kanser insidansının yüksek oranda izlendiği belirtilmektedir (15).

Gerek ağır radyasyon alan ankilozin spondilitisli (ankylosing spondylitis) hastalar (12), gerekse atom bombasından kurtulup yaşayanlar üzerinde yapılan araştırmalar (10), kalıcı olan ve olmayan kromozomal düzensizliklerin radyasyon sonucu oluştuğunu gösterirken, radyasyondan 5 yıl sonra ortaya çıkan löseminin ve bazı hallerde 20 yıl sonra ortaya çıkabilen malign tümörlerin, kalıcı düzensizliklerle ilişkili olabileceği belirtilmektedir (48). Ayrıca, kimyasal etkenlerin kromozomlarda düzensizliklere, biyolojik etkenlerden bazı virüslerin (SV-40, EB) hem kromozom düzensizliklerine neden olduğu hem de kanser etyolojisinde rol oynadıkları bilinmektedir (99). Böylece fiziksel, kimyasal ve viral kanserojenlerle yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre hücresel düzeyde kanserin kalıtsal bir hastalık olduğu düşünülmüştür (96).

Kalıtsal özellik ya da hastalıklar etyolojilerindeki kalıtsal etkenin türüne göre 3 gruba ayrılabilir (8): 1- Tekli mutant (başka - laşmış) genlere bağlı olanlar, 2- Poligenik olanlar ve 3- Kromozomal olanlar.

Bu hastalıklardan tekli mutant genlerin etkisine bağlı olanların kalıtım biçimleri, ancak dolaylı yöntemlerle (8,98,99,100) ortaya konabilir. Bu hastalıklar, Mendel kurallarına uyar biçimde davranırlar ve belirli kalıtım kalıpları gösterirler. Yine bu hastalıklar, gen düzeyindeki bir bozukluk sonucu ortaya çıktıklarından, bugünkü teknik olanaklarla kromozomlar üzerindeki ilgili bozukluk ortaya konamamaktadır.

Poligenik kalıtsal olanlardaki kalıtsal işleyişi, aile ağacı (pedigri) yöntemi ile ortaya koymak oldukça güçtür. Çünkü bu hastalık-

larda hem kalıtsal hem çevresel etkenler karşılıklı etkileşim gösterirler. Kromozomal olanlarda ise düzensizlik mikroskopik olarak izlenebilir.

Bilindiği gibi, insanda 46 tane kromozom bulunmaktadır. Bunlardan 44 tanesi otozomal kromozomlar ve bunların üzerindeki genler de otozomal genlerdir. Kadında (XX), erkekte (XY) biçiminde bulunan diğer 2 kromozoma, cinsiyet (seks) kromozomları ya da gonozom, bunlarda bulunan genlere de gonozomal genler adı verilir. Buna göre insandaki kalıtım biçimleri şöyle sıralanabilir.

A. Otozomal Kalıtım

- 1) Otozomal dominant
- 2) Otozomal resesif

B. Gonozomal Kalıtım

- 1) X'e bağlı dominant
- 2) X'e bağlı resesif
- 3) Y kromozomal

Günümüzde kanserin, familiyal birikim (retinoblastoma, nörofibromatozis ve familiyal kolon polipozisi gibi) ve klasik Mendel kalıtım modelleri (otozomal dominant, otozomal resesif ve X-kromozomal gibi) gösteren ya da kanser patogeneğinde kalıtımın spesifik bir etkisi bulunduğunu destekleyen birçok örnekleri bulunmaktadır (19,46,65).

Kanserin bir kalıtsal yönü olduğu ve kanser gelişimi için önce kalıtsal bir duyarlılığın bulunması gerektiği konusu araştırmacıların çoğu tarafından her geçen gün daha da desteklenir duruma gelmektedir (100).

Aynı ailenin kuşaklar boyu birden çok bireyinde kanser olgusu görülmesine ilişkin çok sayıda örnekler bulunmaktadır (16,111,112). Bu da kanserin kalıtsallığı konusundaki inançları pekiştirmektedir.

Kanserin kalıtsal yatkınlığı olan ve olmayan tüm insanlarda oluşabil-
diği, ancak, her iki grupta görülebilme sıklığının çevresel etkenle-
re bağlı olarak arttığı konusunda birçok araştırmacı görüş birliğine
varmaktadır (58).

Mendel yasalarına göre anne-babadan çocuklara geçen Fanconi
anemisi, Bloom sendromu ve ataksi telanjiektazi (ataxia telangiec -
tasia) gibi bazı otozomal resesif kalıtsal hastalıklar gerek spontan
gerekse viral etkenlerle oluşan kırılmalar ve yeniden düzenlenmelerle
karakteristikler (kromozom kırık sendromları) (43,80). Bunlarda
gözlenen malignite eğiliminin, kromozom düzensizlikleriyle ilgili
olabileceği belirtilmektedir (5,16,43,47,75,89,90,97,99).

Bazı ailelerde kalıtsal temele sahip olduğu sanılan Werner
sendromunda ve Waldenström makroglobulinemisinde (65) çeşitli kromo-
zom düzensizlikleri saptanmıştır (9,39). Gerek sözkonusu bu iki send-
romun gerekse kromozomal düzensizlik örnekleri olan mongolizm (Down
sendromu), Turner sendromu, Klinefelter sendromu ve Patau sendromunun
(8,82,99), neoplastik hastalıklarla asosiasyon gösterdikleri bildi -
rilmektedir (57,65,75,97).

Mitelman ve Levan (73) yaptıkları geniş bir araştırma sonucun-
da, insan kanserlerinde gözlenebilen kromozom düzensizliklerinin kan-
ser gelişimi için birinci derecede dikkate alınması gerektiğini be -
lirtmektedirler. Son yıllarda yapılan çalışmalar, değişik tümör tip -
lerinde kromozomların çoğunun etkilenmediğini ve anlamlı sapmaların
bazı kromozomların çevresinde yoğunlaştığını göstermiş, bu da malig-
nite gelişmesinde özel öneme sahip genlerin, bazı özel kromozomlarda
lokalize olduğunu düşündürmüştür (63,96).

Bugün kalıtsal faktörlerin kromozomlara ve kromozomların yapı-
sını oluşturan genlere bağlı olduğu, karakterin kuşaklar arasında
değişmeden aktarılmasını kromozomların sağladığı bilinmektedir. Bu

kalıtsal devamlılık hücre bölünmeleriyle gerçekleşmektedir.

İnsan kromozomlarının ilk kez 1857 yılında Virchow tarafından görülmesine karşın, kromozom ile kalıtım olayı arasındaki ilgi bu tarihten ancak çeyrek yüzyıl kadar sonra Weissman (1883), Strasburger (1884) ve von Köllicker (1885) tarafından ortaya konabilmiştir (99). Daha sonraları insan kromozomlarını elde etmek için birçok çalışma yapılmış, ancak kesin sayıyı öğrenebilmek için 1956 yılına kadar beklemek gerekmiştir. 1929 yılında Kemp'in doku kültürü tekniğini geliştirmesi, 1952 de Hsu ve Hughes'ın hücreleri hipotonik bir eriyikte bırakıp kromozomların iyice açılmasını sağlamalarından sonra (54), 1956 da Tjio ve Levan (101) insan fötüsü akciğer fibroblastlarıyla yaptıkları kültürde kolşisin (colchicine) kullanarak insan kromozom sayısının 46 olduğunu ortaya koydular (8,94,97,99). Aynı yıl bu bulgu Ford ve Hamerton (35) tarafından doğrulandı. Daha sonraki yıllarda modern sitogenetik yöntemlerinin uygulanmasıyla 1958 yılında Ford ve arkadaşları (36), Tjio ve Puck, 1959 da Chu ve Giles, 1960 da Moorhead ve arkadaşları (74) somatik hücrelerde diploid sayının 46 olduğunu ($2n=46$), dolayısıyla Tjio ve Levan'ın bulgularının doğruluğunu kesin olarak ortaya koydular (29).

Somatik hücrelerde kromozom sayısının 46 olduğunun saptanmasından, 1959 yılında Lejeune ve arkadaşlarının Down sendromunun hücre bölünmesindeki bir hataya bağlı olarak oluştuğunu ve aynı yıl Jacobs ve Strong'ın Klinefelter sendromunda bir başka kromozom düzensizliği bulunduğunu bildirmelerinden (97) sonra, mikroskopik olarak tanılabilen bir kromozom düzensizliğinin insanda hastalık nedeni olabileceği fikri, yoğun araştırmaların başlamasına neden olmuş, sonuçta özel bir kromozomal düzensizlikle ilgili çok sayıda sendromlar saptanmıştır (82). Böylece, değişik sendromlarda kromozomların incelenmesi klinik olarak da anlam ve önem kazanmıştır.

1958 yılında Ford, Jacobs ve Lajtha'nın (36), akut lösemili bir hastanın kemik iliği hücrelerinde anormal kromozom kuruluşu saptamalarından sonra, 1960 da Nowell ve Hungerford (76) kronik miyeloid lösemili olgularında, malign hastalıkların özgül kromozom düzensizliği ile korelasyonunu ortaya koymada uzun süre tek düzensizlik olarak kalan (63) ve daha sonra Philadelphia kromozomu adı verilen anormal bir kromozom bildirdiler. 1962 de Gunz ve arkadaşlarının (44) kronik lenfoid lösemiye özgü bir düzensizliğin varlığını duyurmalarından sonra, yüzyılımızın başından beri birçok araştırmacının ilgisini çeken kromozom düzensizlikleri ve malignite arasındaki ilişki konusunda çalışmalar daha da yoğunlaşmıştır.

1958, 1960 ve 1962 yıllarında yayınlanan bu raporlardan günümüze değin, çeşitli kanser olgularıyla kromozom düzensizliği ilişkisi araştırılmış, sonuçta, normal popülasyonda da izlenebilen düzensizliklerin yanı sıra normalde pek rastlanılmayan değişik pek çok düzensizlikler de saptanmıştır (4,23,46,48,59,62,63,66,67,72,73,86,110). Çoğunda kronik miyeloid lösemideki gibi belli özel kalıplar bulunmamış, bazılarında (retinoblastoma, lenfoma gibi) o kanser türüne özgü sayılabilecek düzensizlik ipuçlarına rastlanılmıştır (40,41,49,71,79).

Sonuç olarak yapılan araştırmalar, kronik miyeloid lösemideki Philadelphia kromozomu gibi kromozom düzensizliklerinin, insanlardaki malign hastalıklarla asosiasyon gösterdiğini (113) ve akut lösemili hastaların % 50 kadarının kemik iliğinde kromozom düzensizliklerinin bulunduğunu ortaya koymaktadır (54,59,97).

Yukarıda belirtilen bulgulara daha başkalarının eklenebileceği umuduyla şu amaçları gerçekleştirmek üzere bu araştırma planlanmıştır:

1- Malignite gelişiminde kalıtımın etken olup olmadığının araştırılması.

2- Tek gen başkalaşımına bağlı olgularda, hastalığın pedigri analizi ile kalıtım kalıbının ortaya konması.

3- Kromozom düzensizliğinin malignite ile ilişkisinin araştırılması.

4- Lösemi formlarında ve diğer malign hastalıklarda görülebilecek kromozom düzensizliklerinin ortaya çıkartılması.

5- Saptanabilen kromozom düzensizliklerinin tipinin belirlenmesi.

6- Normal ve hasta gruplarında, sayısal ve yapısal kromozom düzensizliği gösteren hücre sıklıklarının karşılaştırılmalarının yapılması.

GEREÇ VE YÖNTEM

A. GEREC

Malignitenin kromozomal düzensizlikler ve tek gen mutasyonu ile ilişkisi, 1980-1983 yılları arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi kliniklerinde malign tanısı konmuş 42 kadın, 61 erkek toplam 103 hasta da araştırılmıştır. Ayrıca 10 kadın ve 10 erkek olmak üzere toplam 20 sağlıklı kişi kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- a. TC Medium 199 (Difco, 5477-72-6)
- b. TC Fetal Calf Serum Dessiccated (Difco, 5065-67)
- c. Bacto Phytohemagglutinin M (Difco, 0528-57)
- d. KH_2PO_4 ve Na_2HPO_4
- e. Colchicine krist. reinst (Merck)
- f. Colchicine injection (Lilly)
- g. KCl
- h. Acetic Acid Glacial (Merck)
- ı. Methanol (Merck)
- i. Giemsa-Lösung (Merck)
- j. Xylol (Merck)
- k. Heparin (Liquémine, Roche)
- l. Penicilline-G Potassium (I.E.)
- m. Streptomycine Sulfate (I.E.)
- n. Kanada Balzamu (Rhenohistol, Merck)

2. Solüsyonlar

- a. Tampon solüsyonu (pH 7)

$6,6 \times 10^{-3}$ M KH_2PO_4 19,2 ml

$6,6 \times 10^{-3}$ M Na_2HPO_4 80,8 ml

b. Kolşisin solüsyonu (I)

Colchicine (Lilly) (0,5 µg/ml) 1,0 ml

c. Kolşisin solüsyonu (II)

40 mg colchicine (Merck) + 100 ml triple distile su

d. Hipotonik solüsyon

0,075 M KCl

e. Tespit solüsyonu

3 kısım methanol : 1 kısım acetic acid glacial

f. Penisilin solüsyonu

1.000.000 Ü penicilline-G potassium + 10 ml steril

triple distile su

g. Streptomisin solüsyonu

1 gram streptomycine sulfate + 10 ml steril triple

distile su

h. Fitohemaglutinin solüsyonu

Phytohemagglutinin M, Bacto (Difco) + 5 ml steril

triple distile su

1. Serum solüsyonu

TC fetal calf serum dessiccated + 30 ml steril triple

distile su

i. Boya solüsyonu

1 ml giemsa-lösung + 19 ml distile su

3. Kültür Ortamları

a. Kemik iliği için

Kullanma solüsyonu (pH 7)

Tampon solüsyonu (sol. a) 13,3 ml

Kolşisin solüsyonu (sol. I)	1,0 ml
Serum fizyolojik (% 0,9)	20,0 ml

b. Periferik kan için

Stok solüsyonu	
TC Medium 199	85 ml
TC Fetal Calf Serum Sol.	15 ml
Phytohemagglutinin Sol.	3 ml
Penicilline Sol.	0,1 ml
Streptomycine Sol.	0,1 ml

4. Aygıtlar ve Gereçler

- a. Zaman ayarlı santrifüj (Hettich Universal II)
- b. Etüv (Heraeus)
- c. Kuru hava sterilizatörü (Köttermann)
- d. Mikroskop (Bausch-Lomb)
- e. Mikrofotografi aygıtı (Ernst Leitz Wetzlar Germany

Mikroskop + Reichert Austria Kam ES-Electronic Camera System for Photomicrography)

- f. Elektronik duyarlı terazi (0,1 mg'a kadar hassas, Bosch)
- g. Değişik çapta enjektörler ve pipetler
- h. 10 ml'lik kültür şişeleri
- ı. Şaleler
- i. 15 ml'lik konik santrifüj tüpleri
- j. Mezürler
- k. Lamel (24x32 mm)
- l. Film (Orwo, siyah-beyaz, 15 DIN 25 ASA)

B. YÖNTEM

I. Pedigri (aile ağacı) Yöntemi

Belirli bir hastalık ya da niteliğin etyolojisinde genetik etkenlerin olup olmadığını anlamak için kullanılan yöntemlerden (8,98,99,100) biri olan pedigrri yöntemiyle hasta grubunu oluşturan olgulardan aile soruşturması yapılabilenlerin pedigrileri, çeşitli simgeler (Şekil 1) kullanılarak çizilmiş ve değerlendirilmiştir. Bunun için, aile hakkında bilgi veren ve propositus (proband) olarak adlandırılan kişiden başlayıp daha ön ve daha sonraki kuşaklara gidilerek propositusun bütün yakınlarını içine alacak şekilde çizilen aile ya da aileler ağacında; a) diğer aile bireylerinde benzer ya da değişik bir hastalığın bulunup bulunmadığına, b) incelenen hastalığın familial bir birikim gösterip göstermediğine ve c) belli bir kalıtım yolu izleyip izlemediğine bakılmıştır. Ancak, yeterli bilgi verilmemesi ya da bilgi vermekten kaçınılması gibi nedenlerle olguların tümünde bu yöntem gerçekleştirilememiştir.

II. Kromozom Elde Etme Yöntemleri

1. Kemik İliği Yöntemi

Ford ve arkadaşları (36) tarafından 1958 yılında geliştirilen yöntem, laboratuvar koşullarına göre bazı modifikasyonlar yapılarak kullanılmaktadır (8,18,97,99,102).

Laboratuvarımızdaki uygulama aşağıda verilmiştir.

a. İçi heparinle ıslatılmış enjektörle sternal (büyüklerde) ya da vertebral (çocuklarda) ponksiyonla alınmış olan 0,1 - 0,5 ml kadar kemik iliği, içersinde 5 ml kullanma solüsyonu bulunan ağız kapalı 2 kültür şişesine konularak oda ısısında 2,5 saat bekletilir (inkübasyon).

b. Süre bitiminde şişelerdeki kültürlerin her biri bir santrifüj tüpüne boşaltılır ve 10 dakika 800 rpm de santrifüj edilir.

c. Üstteki sıvı (süpernatant) atılır. 5 ml hipotonik solüsyon kültür şişelerine konularak pipetaj (pipetle süspanse etme) yapıldıktan sonra kültür şişesi altında ve kenarlarında kalmış olacak hücrelerin solüsyonla karışımı sağlanır ve bu solüsyon tüplerin altında kalan çöküntü (sediment) üzerine eklenir. Hafif pipetajla hücrelerin karışması sağlanarak yarım saat oda ısısında bekletilir.

d. Tüpler 10 dakika 800 rpm de santrifüj edilerek üstteki sıvı atılır.

e. Hafif darbelerle çözülen çöküntü üzerine 5 ml tespit solüsyonu, sallanılan tüp kenarından damla damla kaydırılarak bırakılır. Hemen pipetaj yapılarak yarım saat oda ısısında bekletilir.

f. 10 dakika 800 rpm de santrifüj edilerek üstteki sıvı atılır.

g. Çöküntü üzerine 5 ml tespit solüsyonu konularak pipetaj yapılır ve 10 dakika 800 rpm de santrifüj edilir, üstteki sıvı atılır.

h. (g) aşamasındaki işlem tekrarlanır.

1. Tüpteki çöküntü üzerine çöküntüyü örtecek kadar tespit solüsyonu konularak hafif pipetajla hücreler dağıtılır.

i. İçi distile su ile dolu şalede saklanan temizlenmiş ve hiç kullanılmamış ıslak bir lam üzerine, hücre karışımından 1 - 2 damla konularak hafifçe üflenir. Böylece hücrelerin lam üzerinde dağılması sağlandıktan sonra alevden geçirilerek kurumaya bırakılır.

2. Periferik Kan Kültürü Yöntemi

Moorhead ve arkadaşlarının (74) geliştirmiş olduk-

ları standart ya da makrokültür tekniğinin modifiye edilmiş şekli olan ve mikroteknik ya da tüm kan tekniği olarak bilinen yöntem (8,13,26,52,99) uygulanmıştır.

Bu yöntemin aşamaları şöyle olmaktadır;

a. Aseptik koşullarda ve steril malzeme kullanılarak hazırlanmış olan stok kültür ortamı solüsyonundan beşer ml yine aseptik koşullarda kültür şişelerine konur, ağzı kapatılır ve dondurulur. Kullanılacağı zaman oda ısısında bekletilerek çözülmesi sağlanır.

b. Kuru hava sterilizatörü ile steril edilmiş, içi heparinle iyice ıslatılmış bir enjektörle alınan venöz kan, aseptik koşullarda ağzı açılan kültür şişesine konur (her bir kültür şişesine 1 nolu enjektör iğnesiyle 8 damla). Ağzı alevden geçirilerek kapatılan kültür şişeleri, üzerine protokol numarası yazılarak etüvde 3 gün süreyle 37°C de inkübe edilir.

c. 70 saat sonra etüvden çıkarılan kültür şişelerinin her birine kolşisin solüsyonundan (sol. II), 2 nolu enjektör iğnesiyle 5 damla konur ve hafifçe karışımı sağlanır. Etüve yerleştirilerek 2 saat beklenir.

d. Çıkarılan kültür şişelerindeki ortam ve kan karışımı santrifüj tüplerine aktarılır, 10 dakika 800 rpm de santrifüj edilir.

e. Üstteki sıvı atılır. Çöküntü üzerine 5 ml hipotonik solüsyon konur (daha önce kültür şişelerinde kalan hücreler bu solüsyonla alınır). Hafif pipetaj yapılarak 8 dakika bekletilir.

f. 10 dakika 800 rpm de santrifüj edilir. Üstteki sıvı atılır. Çöküntü üzerine 5 ml tespit solüsyonu damla damla tüp kenarından kaydırılarak konur ve hemen pipetaj yapılarak yarım saat oda ısısında bekletilir.

g. 10 dakika 800 rpm de santrifüj edilir. Üstteki sıvı atılır. Çöküntü üzerine 5 ml tespit solüsyonu konarak pipetaj yapılır ve

10 dakika 800 rpm de santrifüj edilir.

h. Aynı işlem iki kez daha tekrarlanır.

ı. Üstteki sıvı atılarak kalan çöküntü üzerine onu örtecek kadar tespit solüsyonu konulur ve pipetaj yapılır.

i. Islak ve temiz lamalar üzerine 1 - 2 damla hücre süspansiyonu damlatılarak hafifçe üflenir ve alevden geçirilerek kurumaya bırakılır.

Boyama

Kemik iliği ve periferik kan kültürü yöntemleri ile hazırlanan ve kurumaya bırakılan lamalar;

a. 20 dakika süreyle üzerlerine boya solüsyonu dökülerek boyanır.

b. Distile su ile iyice yıkanan lamalar kurumaya bırakılır.

c. Ksilol içinde 5 dakika tutulur. Kanada balzamu ile lamel kapatılır.

d. Preparatlar, üzerine ait olduğu kişinin protokol ve preparat numarası yazılarak incelenmek üzere saklanır.

Değerlendirme

Üzerine ait olduğu kişinin protokol ve preparat numarası yazılmış preparatlar, mikroskopta incelenmeye alınır. Önce küçük büyütme objektifiyle taranarak iyi nitelikli hücreler (metafaz plakları) önceden hazırlanmış bilgi işlem formuna yazılır. Hücreler daha sonra immersiyon objektifi ile incelenerek sırayla şunlar yapılır;

a. Her olgu için yeter sayılan 25 - 50 hücredeki (8,97) kromozomlar sayılarak varsa yapısal düzensizlikleriyle birlikte bilgi işlem formundaki özel bölümlerine yazılır.

b. Mikroskop incelemesiyle ortaya çıkan bilgi işlem formun-

daki tablo değerlendirilir. Kusurlu hücrelerin sayısına, kromozom kusurlarının sayısına, tipine ve oranına bakılır. İncelenen kişinin durumu normal görünüyorsa inceleme bu aşamada bırakılır. Bazı kusurlar saptanmışsa bir diğer aşama olan fotoğraf çekimi işlemine geçilir.

c. Seçilen hücrenin (metafaz plağının) fotoğrafı, immersiyon objektifi ve 25 ASA lı bir film kullanılarak çekilir. Her pozdan ikişer adet fotoğraf kartına basılır. Kart üzerinde sayısal ve yapısal düzensizlik değerlendirilmesi tekrarlanır. Biri kontrol olarak bırakılır. Diğeriyle karyotip yapılarak düzensizliğin hangi grup kromozomu tuttuğu saptanmaya çalışılır.

Kromozomların Morfolojik Özellikleri

Kromozomlar ışık mikroskopu kullanılarak mitoz bölünmenin metafaz evresinde incelenirler. Normal kromozomlarda görülen bazı morfolojik özellikler şunlardır (Şekil 2,3);

a) Sentromer. Kromozomların en soluk boya alan kesimidir (Şekil 2,A). Kromozomlar sentromerlerinin lokalizasyonuna göre üç gruba ayrılırlar ve bunların dışındaki örnekler genellikle normal sayılmazlar.

1) Median (metasentrik) kromozom. Sentromeri ortada ve iki kolu birbirine eşit olan kromozomlar (Şekil 2,B).

2) Submedian (submetasentrik) kromozom. Sentromeri merkezden uzak ve iki kolu birbirine eşit olmıyan kromozomlar (Şekil 2,C).

3) Akrosentrik kromozom. Sentromeri kromozomun bir ucuna çok yakın olan kromozomlar (Şekil 2,D).

İnsan kromozomları 34 metasentrik ve submetasentrik, 10 akrosentrik otozom ile 1 submetasentrik (X) ve 1 akrosentrik (Y) gonozomdan oluşur (50).

b) Satellit (uydu). İnce bir sapla belirli bazı kromozomların kısa kollarına bağlanan, yuvarlak düğme biçimindeki kromatin materyalidir. D (13-15) ve G (21-22) grubu kromozomlarının tümünün kısa kollarında bir satellit bulunur (Şekil 3).

c) Sekonder darlık. Bu oluşum sentromerden başkadır ve ayrı özelliklere sahiptir. Sentromerin tüm kromozomlarda bulunmasına karşın bu oluşumlar ancak belirli bazı kromozomlarda (özellikle 1,3,6,9-11 ve 16 nolu kromozomlar) görülürler. Satellitler gibi bunların da çekirdekçik oluşumu ile ilgili oldukları sanılmaktadır (Şekil 3,A).

Kromozomların Adlandırma Sistemi

Giriş bölümünde belirtildiği gibi, 1956 yılında Tjio ve Levan (101) tarafından insan kromozomlarının tam sayısının ($2n=46$) ortaya konmasından sonra, tanımlanan kromozomal hastalıkların sayısında belirgin bir artma görülmüştür. Fakat yayınlar arasında bir belli sisteme uyma durumu olmadığından giderek karışıklıklar ortaya çıkmaya başlamış; bunun üzerine bulguları standartlaştırmak ve belli ilkeleri saptamak için önce 1960 yılında Denver'de (A.B.D.) bir toplantı yapılmıştır. Bu toplantıda kabul edilen sisteme Denver Klasifikasyonu denilmektedir (61,81). Ancak, ortaya konan sistemin eksikliklerini tamamlamak üzere daha sonra bir dizi toplantılar yapılmıştır (1963 Londra, 1966 Chicago ve 1971 Paris konferansı) (8,97,99). Böylece Denver sistemi daha da geliştirilmiş ve insan kromozomları standardizasyona tabi tutularak ortak bir adlandırma sistemi kabul edilmiştir. Buna göre tüm bilgi bir formülle verilmektedir. Formülde önce total kromozom sayısı yazılmakta, sonra cinsiyet kromozomlarının yapısı ve daha sonra da varsa kromozom düzensizlikleri belirtilmektedir.

Kabul edilen sisteme göre insan kromozomları 7 gruba ayrıl -

makta (A,B,C,D,E,F,G) ve cinsiyet kromozomları dışındaki kromozomlar en büyükten başlamak üzere 1 - 22 arasında numaralanmaktadır. Bazı kriterler esas alınarak ayrılan kromozomlar Denver Sistemine göre sıralanarak karyotip hazırlanmaktadır (Şekil 4,5).

Kromozom Düzensizlikleri

Karakterlerin kuşaktan kuşağa değişmeden aktarılmasını sağlayan kromozomlar şekil, büyüklük ve sayı bakımından her canlı türü ve o tür içindeki ait olduğu birey bakımından sabit ve karakteristiktir. Normalde 46 olan insan kromozomları bazen hem sayı, hem şekil ve hem de yapı bakımından değişiklikler gösterebilir.

Bu çalışmada saptanan kromozom düzensizliklerinin belirtilmesinde kullanılan deyimler ve tanımları (8,13,38,97,99) aşağıda verilmiştir.

A. Sayısal Düzensizlikler

1) Öploidi (euploidy). Kromozom sayısındaki artış ya da azalmaların temel kromozom sayısının ($n=23$) tam katları kadar olması.

a) Triploidi. Temel sayının 3 katı kromozom bulunması (Ek-14, Şekil 38).

b) Tetraploidi. Temel sayının 4 katı kromozom bulunması (Ek-3, Şekil 16. Ek-4, Şekil 17,18).

c) Yüksek poliploidiler. Karyotipte $4n$ den daha fazla kromozom bulunması (Ek-3, Şekil 15. Ek-5, Şekil 19).

d) Endoredüplikasyon. Sitoplazma bölünmesinin gerçekleşmemesi nedeniyle katı kadar artmış kromozomların ikişer kromatidli kromozom çiftleri halinde olması (Ek-23, Şekil 55).

2) Anöploidi (aneuploidy). Temel sayının tam katları kadar olmıyan artma ya da eksilmelerdir.

a) Hiperploidi (hyperploidy, hyperdiploidy). $2n+1$ ve $2n+2$ gibi kromozom sayısındaki artmalar (Ek-10, Şekil 30. Ek-11, Şekil 31,32).

b) Hipoploidi (hypoploidy). $2n-1$, $2n-2$ şeklindeki kromozom sayısındaki azalmalar (Ek-6, Şekil 22. Ek-7, Şekil 23,24).

B. Yapısal Düzensizlikler

1) Eksilme (deletion). Kromozomun küçük bir parçasının kopup ayrılması (Ek-1, Şekil 11,12).

2) Artma (duplication). Homolog (eş) olan ya da olmıyan iki kromozomdan birinden kopan bir parçanın diğer kromozoma eklenmesi (Ek-21, Şekil 51. Ek-28, Şekil 66).

3) Gap (aralık). Kromozomun her hangi bir bölgesinde, kromatidin enini geçmiyen ve kromozom ekseninden sapmamış, boya almıyan bir bölgenin görülmesi.

a) Kromatid gap. Gap'in kromozomun bir kromatidinde görülmesi (Ek-24, Şekil 57).

b) İzokromatid gap. Gap'in kromozomun her iki kromatidinde görülmesi (Ek-5, Şekil 20. Ek-24, Şekil 58).

4) Kırık. Kromozomun herhangi bir bölgesinde, bir kromatid enini aşan ve kromozom ekseninden sapan boyanmamış bölgeler.

a) Kromatid kırığı. Kırık olarak değerlendirilen düzensizliğin, kromozomun bir kromatidinde görülmesi (Ek-25, Şekil 59).

b) İzokromatid kırığı. Kırık olarak belirtilen bozukluğun, kromozomun her iki kromatidinde ve eş kesimlerde görülmesi (Ek-27, Şekil 63. Ek-30, Şekil 70).

5) İki sentromerli kromozom (dicentric). Kromozomda bir yerine iki sentromerin bulunması (Ek-16, Şekil 42. Ek-26, Şekil 62).

6) Sentromersiz kromozom (asentrik kromozom, asentrik fragment). Biribirine paralel duran, sentromerleri görünmeyen ya da bulunmayan kromozomlar (Ek-26, Şekil 62).

7) Minik kromozom (minute). Sentromersiz kromozomlardan daha küçük kromatid çiftleridir. Görünüşlerinden dolayı kromozom ya da kromatin damlacığı olarak tanımlanırlar (Ek-25, Şekil 60).

8) Halka (yüzük, ring) kromozom. Kromozom iki ucunun birleşerek yüzük görünümü oluşturması (Ek-15, Şekil 39,40).

9) Yapışkanlık. Kromozomların yığın haline gelmesi (Ek-28, Şekil 65).

10) Satellit asosiasyonu. Büyük ve küçük akrosentrik kromozomların metafaz plaklarında beklenenden daha sık olmak üzere kısa kollarındaki uyduları biribirine çevirmiş biçimde biraraya gelerek, rozet biçimi toplanmaları (Ek-8, Şekil 25,26. Ek-14, Şekil 38. Ek-21, Şekil 52).

11) İri satellitler. D ve G grup kromozomlardaki satellitlerin normalden büyük görülmeleri (Ek-20, Şekil 49,50).

12) Sentromer bölünmesinde asenkroni. Sentromerlerin aynı zamanda bölünmemesi (Ek-18, Şekil 45).

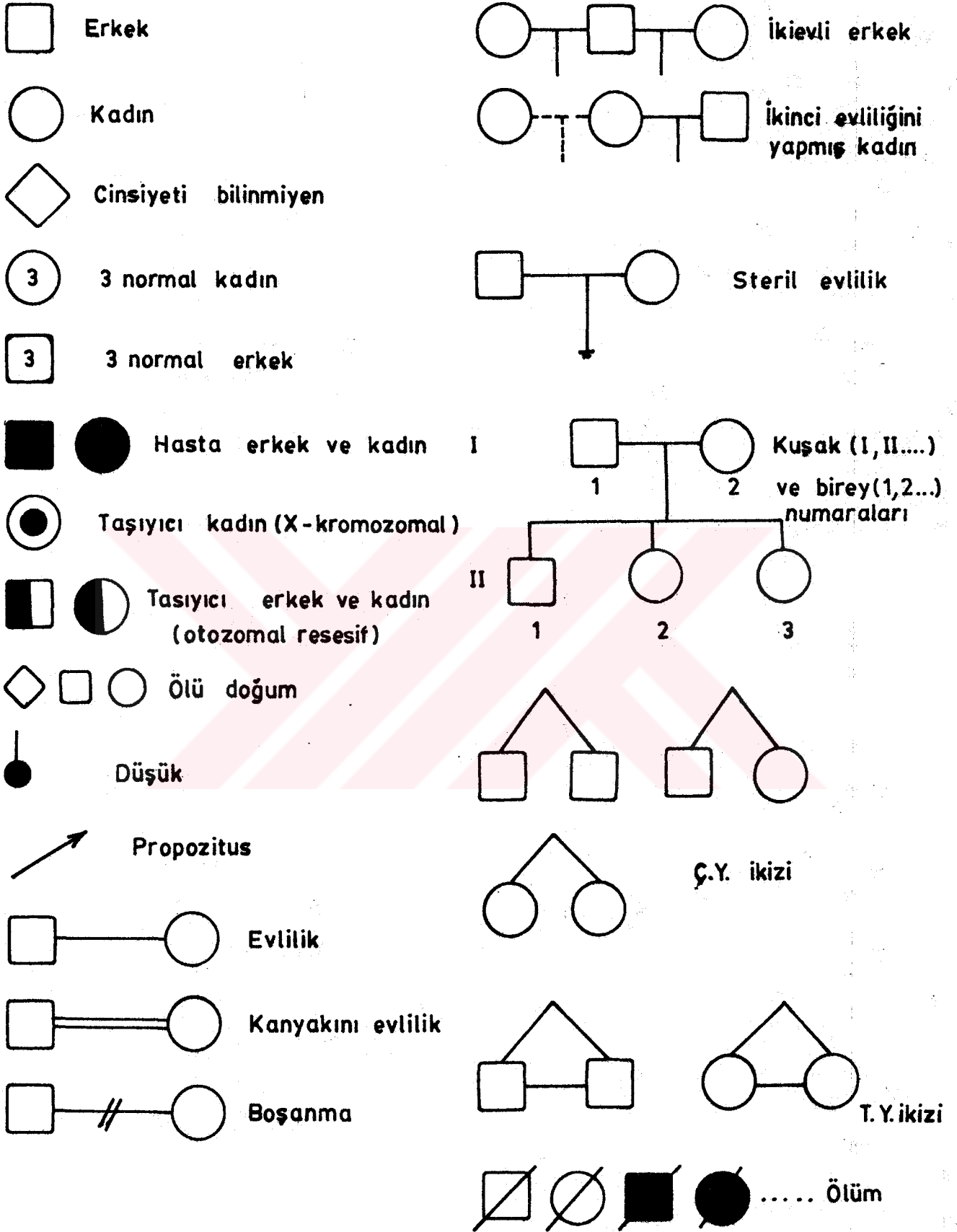
İstatistik Değerlendirme

Kromozomların sayısal ve yapısal düzensizliklerini içeren hücre sıklıkları arasındaki farkın istatistik olarak anlamlı olup olmadıkları, Student's t testi'nin iki örnekten elde edilen oranlar arasındaki farklılığın önem kontrolü yapılarak değerlendirilmiştir. Bunun için aşağıdaki formüller kullanılmıştır (30).

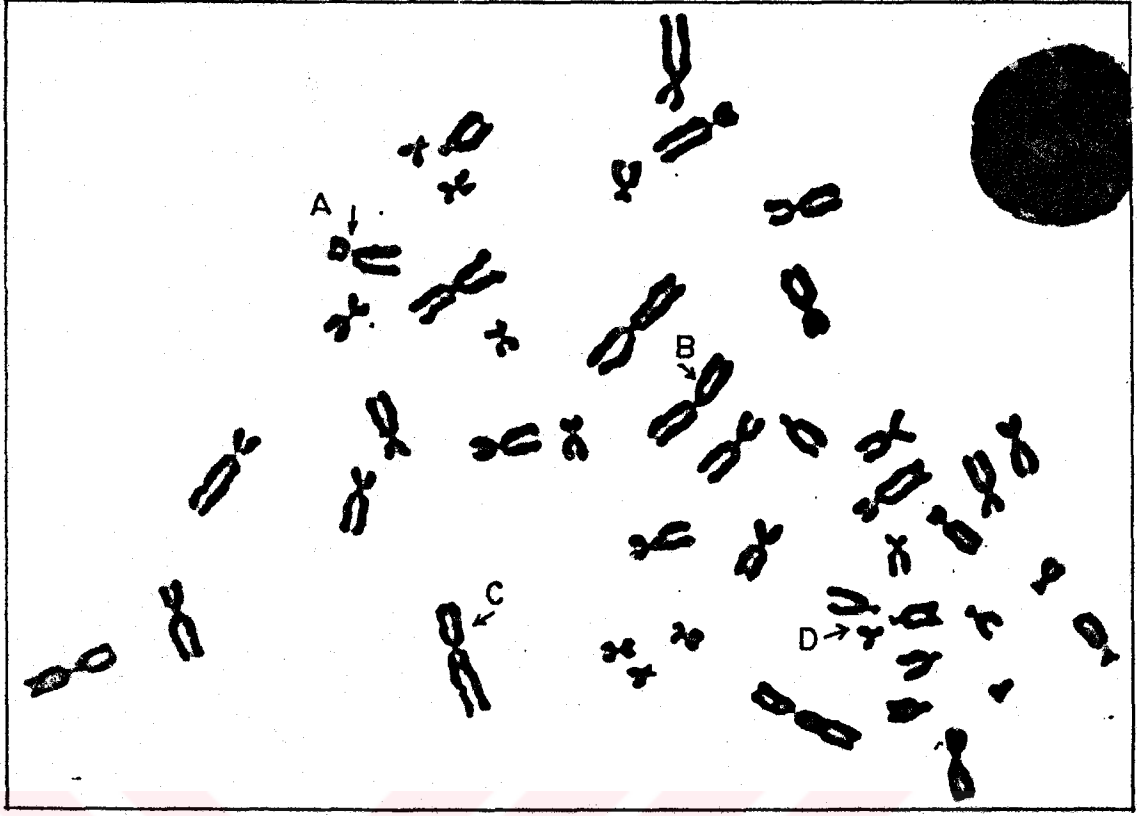
$$t = \frac{P_1 - P_2}{\sqrt{\frac{P_q}{n_1} + \frac{P_q}{n_2}}}$$

$$SD = n_1 + n_2 - 2$$

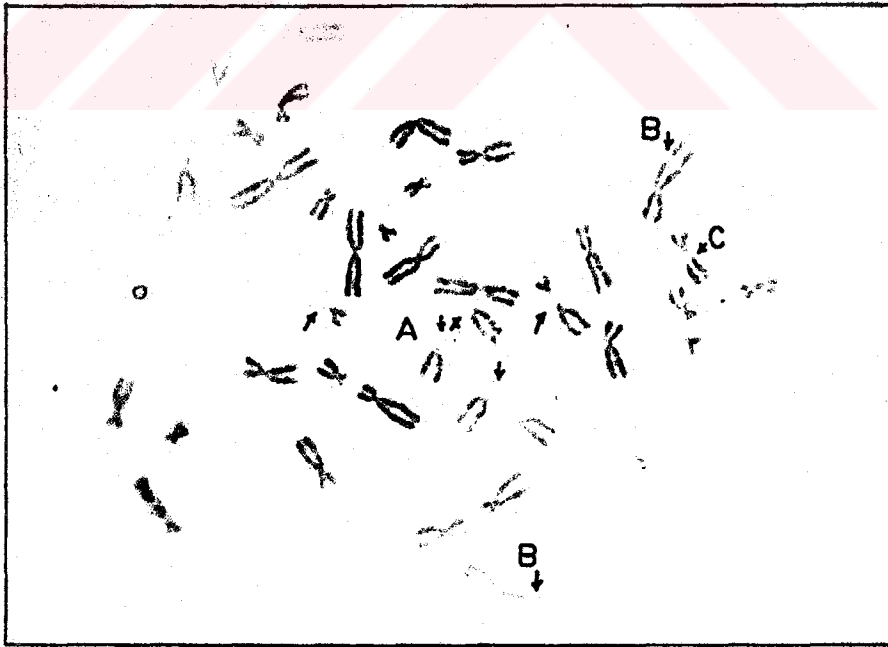
$$q = 1 - p$$



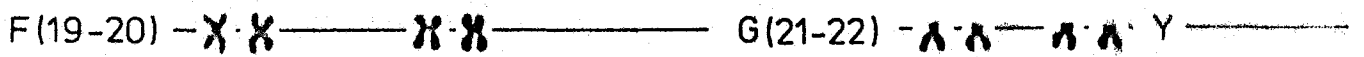
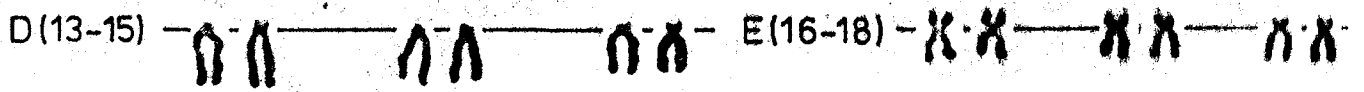
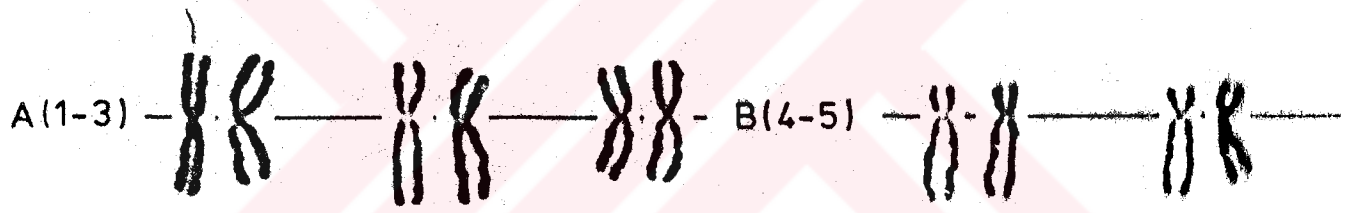
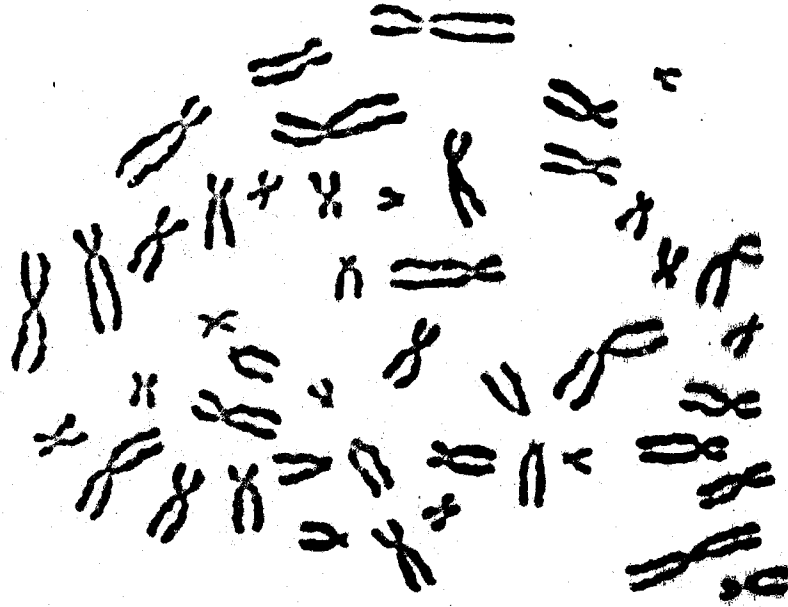
ŞEKİL 1. Pedigri yönteminde kullanılan simgeler.



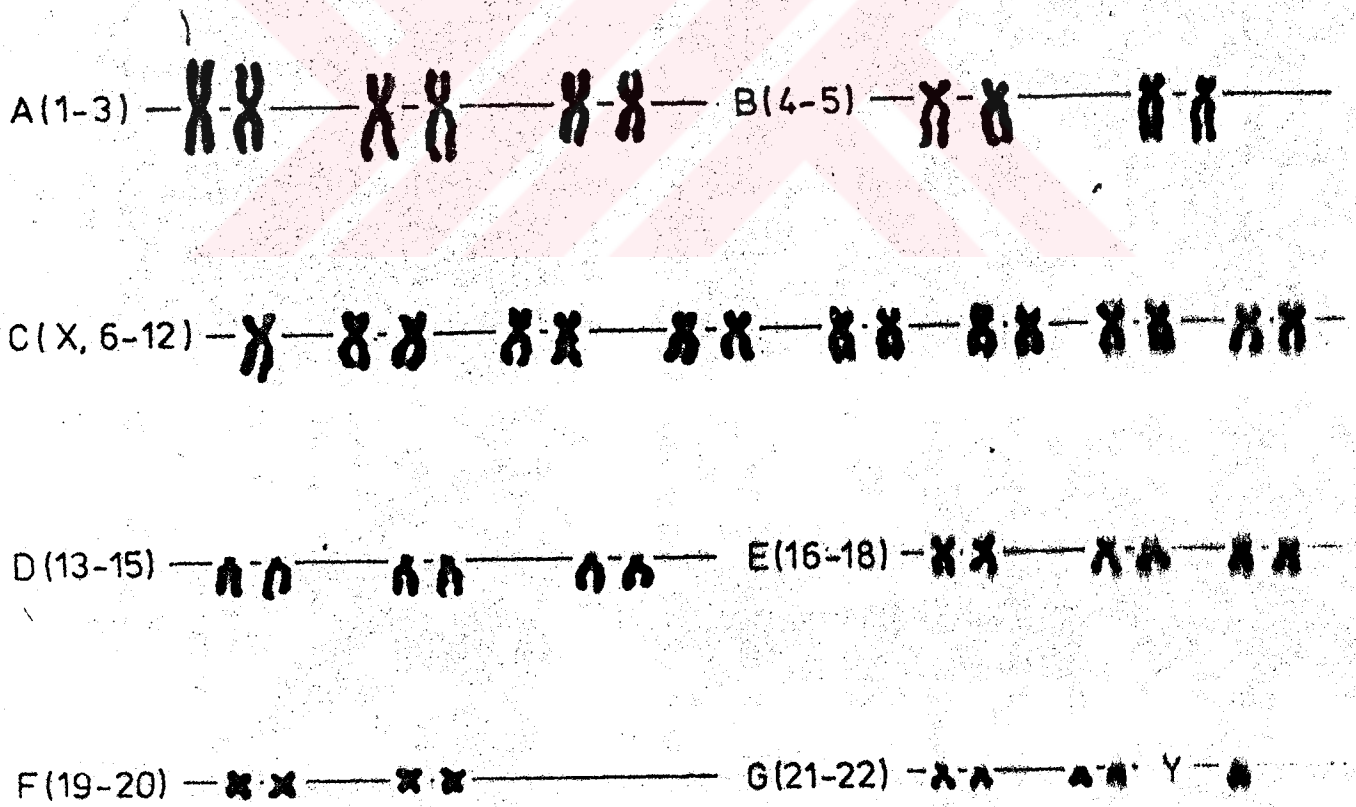
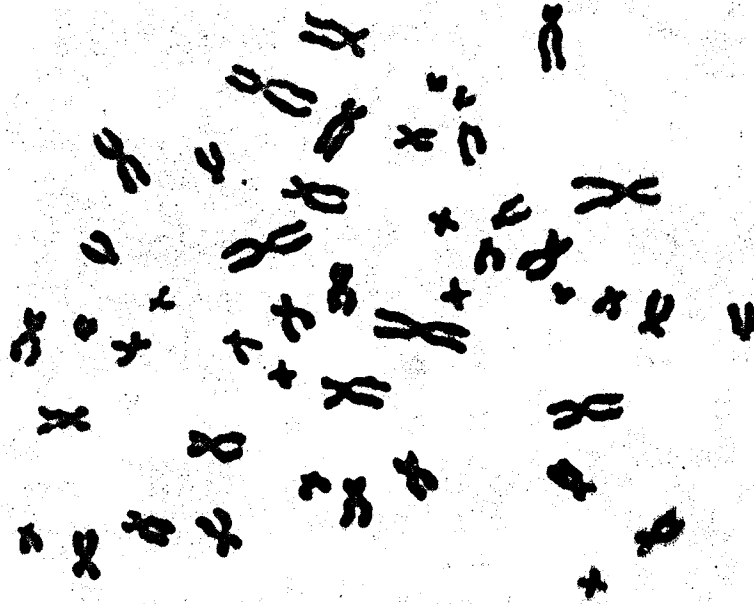
Şekil 2. A. Sentromer, B. Metasentrik kromozom, C. Submetasentrik kromozom, D. Akrosentrik kromozom.



Şekil 3. A. D ve G grup kromozomlarda satellitler, B. A grup kromozomda izokromatid kırık, C. Sekonder darlık.



Şekil 4. Denver sistemine göre hazırlanmış normal bir kadına ait karyotip.



Şekil 5. Denver sistemine göre hazırlanmış normal bir erkeğin alt karyotipi.

B U L G U L A R

1980-1983 yılları arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi kliniklerinde malign tanısı konmuş, 42 kadın (% 40,8), 61 erkek (% 59,2) olmak üzere toplam 103 olguda (Şekil 6) malignitenin tek gen mutasyonu ve kromozom düzensizliği ile ilişkisi araştırılmıştır. Bunun için pedigrî analizi ve sitogenetik yöntemlerle kromozom çalışması yapılmıştır. Ayrıca, kontrol olarak alınan 20 sağlıklı kişide (10 kadın ve 10 erkek) saptanan sayısal ve yapısal kromozom düzensizliği içeren hücre sıklığı, hasta grubunda saptananlarla karşılaştırılmıştır (Çizelge 3,4,5,6,7).

Çalışmaya alınan 103 hastadan 62 olguda (% 60,2) pedigrî yöntemi ile aile ağaçları çıkarılmıştır. Kindredde benzer ya da farklı hastalıklar tarif eden olgulardan, çeşitli simgeler kullanarak çıkarılan aile ağaçlarından ilginç bulunanları Şekil 7,8,9 ve 10 da verilmiştir.

Lenfomalı ve 36 yaşındaki bir kadının pedigrîsi Şekil 7 de verilmiştir. Çizim için gerekli bilgi IV-2 deki propositustan alınmıştır. Propozitus, annesinde (III-6) meme kanseri, halasında (III-3) kolon kanseri, üvey halasında (III-1) lenfoma ve dedesinde (II-6) larinks kanseri olduğunu belirtmiştir.

Şekil 8 de 60 yaşındaki serviks kanseri tanısı konmuş bir olguya ait pedigrî verilmektedir. Bilgi propositusdan (II-8) ve aynı şikayetlerle gelen III-6 dan alınmıştır. Bilgi alınan II-8 ve III-6, ailelerinin yörede kanserli aile olarak tanındığını ve geçmiş kuşaklarda da benzer durumların olduğunu belirtmişlerdir. Pedigrîdeki III-5 de böbrek kanseri, II-5 de gırtlak kanseri, II-6 ve II-13 de

propozitusun hastalığına benzer bir hastalığın varlığı belirtilmiştir. II-3, II-4, III-10 ve IV-4 deki hastaların kanserden öldüğü bildirilmiş fakat hastanede konulan tanı tam olarak hatırlanamamıştır. Örneğin, II-4 için idrar yolları kanserinden öldüğü söylenmiştir. Ayrıca I-6, III-16, III-17 ve III-18 deki bireylerin doğuştan sakat olduğu belirtilmiştir.

Şekil 9 da 2 yaşındaki retinoblastoma tanısı konmuş bir kız çocuğuna ait pedigril verilmiştir. Bilgi, propozitusun (V-3) anne ve babasından alınmıştır. Bilgi vericiler (IV-6 ve IV-7), propozitusun erkek kardeşinde (V-2) herhangi bir hastalığın olmadığını belirtmişlerdir. III-3 de lenfoma, III-5 de kan kanseri olduğu ve ayrıca III-7, IV-13 ve IV-14 ün gözlerinden doğuştan rahatsız oldukları, iyi göremedikleri söylenmiştir.

Şekil 10 da retinoblastomalı ve 4 yaşındaki bir erkek çocuğa ait pedigril verilmiştir. Aile ağacının çizimi için gerekli bilgi propozitusun (V-1) babasından alınmıştır. Baba (III-3) birinci yeğen evliliği yaptığını (dayısı kızı ile evli), 13 yaşındaki (V-1), 8 yaşındaki (V-2), 6 yaşındaki (V-3) ve 2 aylık (V-5) olan diğer çocuklarının sağlıklı olduklarını, propozitusa benzer şikayetlerinin olmadığını belirtmiştir. Ayrıca soyda benzer ya da farklı hastalıkların olmadığını söylemiştir.

Karşılaştırma amacıyla çalışmaya alınan 10 kadın ve 10 erkekten oluşan toplam 20 sağlıklı kişiyi içeren kontrol grubunda, periferik kan kültürü yöntemi ile yapılan sitogenetik çalışma sonuçları Çizelge 1 de verilmiştir.

Çizelgenin incelenmesinden görüleceği gibi, 13 kişide (%65) herhangi bir kromozomal düzensizlik saptanamamıştır. Geriye kalan 7 kişide (%35) gap, kırık, fragment, minik kromozom ve endoredüpli-

kasyon gibi düzensizliklerin yanı sıra bugün için genel kural olarak bir düzensizlik gibi değerlendirilmeyen ancak anöploidilerin genesinde temel mekanizmalardan biri gözü ile bakılan (97) satellit asosiasyonlarının çeşitli tipleri (DG, DDG, DGG ve DDGG gibi) saptanmıştır. İncelenen 631 hücrenin % 93,8 i sayısal, % 94,3 ü yapısal kromozom düzensizliği açısından normal bulunmuştur.

KML (Kronik Miyeloid Lösemi) tanısı konmuş altısı kadın (% 42,9) ve sekizi erkek (% 57,1) toplam 14 olguya ait bulgular topluca Çizelge 2A da verilmiştir.

Philadelphia kromozomu (22 nolu akrosentrik kromozomlardan birinin uzun kollarının eksilmesi sonucu oluşmuş küçük kromozom) olguların 10 tanesinde (% 71,4) görülmüştür (Ek-1, Şekil 11,12. Ek-2, Şekil 13). Philadelphia pozitif hücrelerin, 10 olgunun incelenen 503 hücrenin 364 tanesini (%72,4) oluşturduğu ve Philadelphia kromozomunun sıklığının olgularda % 56,7 ile % 86,0 arasında değiştiği saptanmış, bir olguda iki küçük kromozom içeren hücre görülmüştür (Ek-2, Şekil 14). İki olguda yüksek oranda görülen poliploid hücrelerde birden fazla Philadelphia kromozomu saptanmıştır (Ek-3, Şekil 15,16. Ek-4, Şekil 17,18. Ek-5, Şekil 19).

Hipoploid hücrelerin (Ek-6, Şekil 20,21) bazılarında C-, G-saptanmıştır (Ek-7, Şekil 23,24). Ayrıca bir olguda CDD asosiasyonunun yanı sıra elde mevcut kaynaklarda tanımlanmamış, B grup bir sub-metasentrik kromozomun kısa kollarında satellit benzeri oluşum şeklindeki bir düzensizlik görülmüştür (Ek-5, Şekil 20). Bazı olgularda ilginç karşılıklı burada verilmesi uygun görülen satellit asosiasyonu (Ek-8, Şekil 25,26), kontrollerde rastlanılmamıştır.

KML li olgularda Philadelphia kromozomu dışında özgül bir kromozom düzensizliği saptanamamıştır. Olgular arasında olduğu gibi,

aynı olgunun düzensiz hücreleri arasında da sık tekrarlıyan ve aynı kromozomu tutan bozukluklara rastlanılmamıştır. Sayısal düzensizlik gösteren hücrelerde (% 19,3) hipoploid olanların sıklığı % 10,1, hiperploid ve poliploid olan hücrelerin sıklığı % 9,2 olarak saptanmıştır. Yapısal düzensizlik (% 65,9) olarak eksilme, gap, asentrik kromozom (fragment), kırık, disentrik kromozom ve minik kromozom (minute) görülmüştür. Halka kromozom (yüzük, ring) ve artma olguların hiçbirinde saptanamamıştır.

KLL (Kronik Lenfoid Lösemi) tanısı konmuş 3 olgudan birinde (Çizelge 2A) eksilme, artma, gap, fragment ve kırık gibi düzensizlikler görülmüş (Ek-9, Şekil 28), bir hücrede büyük bir akrosentrik kromozom saptanmıştır (Ek-10, Şekil 29). Olguların incelenen hücrelerinin % 91,2 si sayısal, % 93,9 u yapısal olarak normal bulunmuştur.

ALL (Akut Lenfoblastik Lösemi) tanısı konmuş 28 olgunun 16 sında (% 57,1) çeşitli düzensizlikler saptanmıştır (Çizelge 2A,2B,2C). Sayısal kromozom düzensizliği gösteren hücrelerin % 54,4 nün hiperploid ve poliploid, % 45,6 sının hipoploid olduğu ve 16 olgunun incelenen 689 hücresinden % 27,9 unun çeşitli yapısal düzensizlikler içerdiği saptanmıştır.

Hiperploid hücrelerde daha çok C+ (Ek-10, Şekil 30. Ek-11, Şekil 31), G+ (Ek-11, Şekil 31) görülürken, hipoploid hücrelerde C- (Ek-12, Şekil 33), Y- (Ek-12, Şekil 34) ve E- (Ek-13, Şekil 35) görülmüştür. Ayrıca, değişik sayıda kromozom içeren poliploid hücrelere de sık rastlanılmıştır (Ek-13, Şekil 36. Ek-14, Şekil 37,38). Bütün olgularda sayısal kromozom düzensizliği içeren hücrelerin sıklığı % 24,3, yapısal kromozom düzensizliği içerenlerin sıklığı ise % 18,8 olarak bulunmuştur. Bir olguda sayılan hücrelerin % 27,5 i gibi yüksek bir oranda tekrarlıyan halka kromozom görülmüştür (Ek-15,-

Şekil 39,40. Ek-16, Şekil 41). Bunun dışında hiçbir olguda bu kadar sık tekrarlıyan bir diğer düzensizliğe rastlanılmamıştır. Düzensizliklerin disentrik (Ek-16, Şekil 42), kırık, gap (Ek-17, Şekil 43,44), minik kromozom (Ek-11, Şekil 32. Ek-18, Şekil 45), fragment (Ek-13, Şekil 35. Ek-18, Şekil 46), sentromer bölünmesinde asenkronizasyon (Ek-18, Şekil 45,46), haç biçimi kromozom (Ek-19, Şekil 47,48) ve satellit asosiasyonları şeklinde oldukları saptanmıştır.

Malignitenin kalıtımla ilişkisini araştırmak için çalışmaya alınan diğer kanserli olgularda da kromozomal düzensizlik sıklığının kontrolden farklı olup olmadığını saptayabilmek için periferik kan kültürü yöntemi ile kromozom çalışması yapılmış, bulgular topluca Çizelge 2C,2D,2E,2F ve 3 te verilmiştir.

Lenfoma tanısı konmuş 15 olgunun değerlendirilen 503 hücre-sinin % 12,5 inde sayısal düzensizlikler, % 11,7 sinde ise gap, kırık, iri satellit (Ek-20, Şekil 49,50), A grubundaki 1 numaralı kromozomda satellit benzeri oluşum ya da gap (izokromatid) (Ek-20, Şekil 50), D grup kromozomda artış (Ek-21, Şekil 51), satellit asosiasyonu (Ek-21, Şekil 52), sentrik ve asentrik fragmentler (Ek-22, Şekil 53,-54) ve endoredüplikasyon (Ek-23, Şekil 55) gibi çeşitli yapısal düzensizlikler saptanmıştır.

Beyin tümörlü 3 olguda % 29,7 oranında sayısal, % 31,2 oranında yapısal düzensizlikler saptanmıştır. Sayısal düzensizlik gösteren hücrelerde hipoploidi baskın görülmüştür. Yapısal düzensizlik olarak, gap (Ek-24, Şekil 57,58), kırık (Ek-25, Şekil 59), iri satellit (Ek-25, Şekil 59), disentrik kromozom (Ek-23, Şekil 56), sentrik, asentrik fragmentler ve minik kromozomlar (Ek-25, Şekil 60) gibi düzensizlikler saptanmış ayrıca bir olguda 1 numaralı kromozomu tutan ilginç bir düzensizlik görülmüştür (Ek-24, Şekil 58).

Retinoblastomalı olguların birinde gap, kırık ve yapışma

(Ek-26, Şekil 61) gibi düzensizlikler görülmüş, sayısal düzensizlik içeren hücrelerin sıklığı % 7,7, yapısal kromozom düzensizliği içeren hücrelerin sıklığı % 10,2 olarak saptanmıştır.

Larinks kanseri tanısı konmuş 3 olgunun ikisinde, simge disentrik kromozom, asentrik kromozomlar (Ek-26, Şekil 62), izokromatid kırık (Ek-27, Şekil 63) gibi çeşitli düzensizlikler saptanmış, sayısal kromozom düzensizliği içeren hücre sıklığı % 16,0, yapısal düzensizlik içeren hücre sıklığı ise % 21,3 olarak bulunmuştur.

Bronş kanserli olgularda, büyük A grup kromozom (Ek-27, Şekil 64), yapışma (Ek-28, Şekil 65), izokromatid gap, kırık ve fragment gibi yapısal düzensizlikler ile C-, E- gibi sayısal düzensizlikler görülmüştür. Sayısal kromozom düzensizliği içeren hücre sıklığı % 13,5, yapısal düzensizlik sıklığı % 7,0 olarak bulunmuştur.

Akciğer kanseri tanısı konmuş 7 olguda incelenen 228 hücrenin % 7,4 kadarının sayısal, % 4,8 kadarının yapısal düzensizlik içerdiği saptanmıştır. Hipoploid hücreler hiperploid hücrelerden fazla bulunmuştur. Büyük A grup kromozom (Ek-28, Şekil 66), disentrik kromozom, asentrik fragment, kırık, gap ve minik kromozom gibi çeşitli yapısal düzensizlikler ile G-, C- şeklinde sayısal düzensizlikler görülmüştür.

Malign mezotelyomlu olguların % 50 sinde fragment, gap, minik kromozom (Ek-29, Şekil 67), kırık (Ek-29, Şekil 68) ve A grup kromozomu tutan izokromatid kırık (Şekil 3) gibi yapısal düzensizlikler görülmüştür. Tüm olgular için sayısal kromozom düzensizliği içeren hücre sıklığı % 12,7, yapısal düzensizlik içeren hücre sıklığı % 6,6 olarak bulunmuştur.

Meme kanserli olguların birinde terminal delesyon, yapışma (Ek-30, Şekil 69), fragment ve minik kromozom gibi düzensizlikler görülmüş, düzensiz hücre sıklığı % 6,2 (sayısal) ve % 7,8 (yapısal)

olarak saptanmıştır.

Mide kanseri tanısı konmuş 2 olguda çeşitli düzensizlikler görülmüştür. Sayısal kromozom düzensizliği içeren hücre sıklığı % 18,8, yapısal düzensizlik içerenlerin sıklığı ise % 24,7 olarak bulunmuştur. Olgularda, izokromatid kırık (Ek-30, Şekil 70), fragmentler (Ek-31, Şekil 72), A grup kromozomun eşinden büyük görülmesi (Ek-31, Şekil 71), kırık ve asenkronize kromatid bölünmesi gibi düzensizlikler saptanmıştır.

Kolon kanserli 4 olgunun 3 ünde, disentrik kromozom, izokromatid kırık (Ek-32, Şekil 73), gap, terminal delesyon, minik kromozom, sentromersiz kromozom (Ek-32, Şekil 74) ve kırık gibi düzensizlikler görülmüştür. İncelenen 152 hücrenin % 21,0 kadarında sayısal, % 17,1 kadarında da yapısal düzensizlikler saptanmıştır. Hipoploid hücreler daha sık görülmüştür.

Prostat kanserli 3 olguda incelenen 95 hücrenin yalnızca dördünde asentrik kromozom görülmüş, diğer düzensizliklere rastlanılmamıştır. Sayısal düzensizlik sıklığı % 6,3, yapısal düzensizlik içeren hücre sıklığı da % 4,2 olarak saptanmıştır.

Aynı şekilde, testis tümörlü 2 olgunun birinde % 3,0 kadar kırık görülmüş, diğer düzensizliklere rastlanılmamıştır.

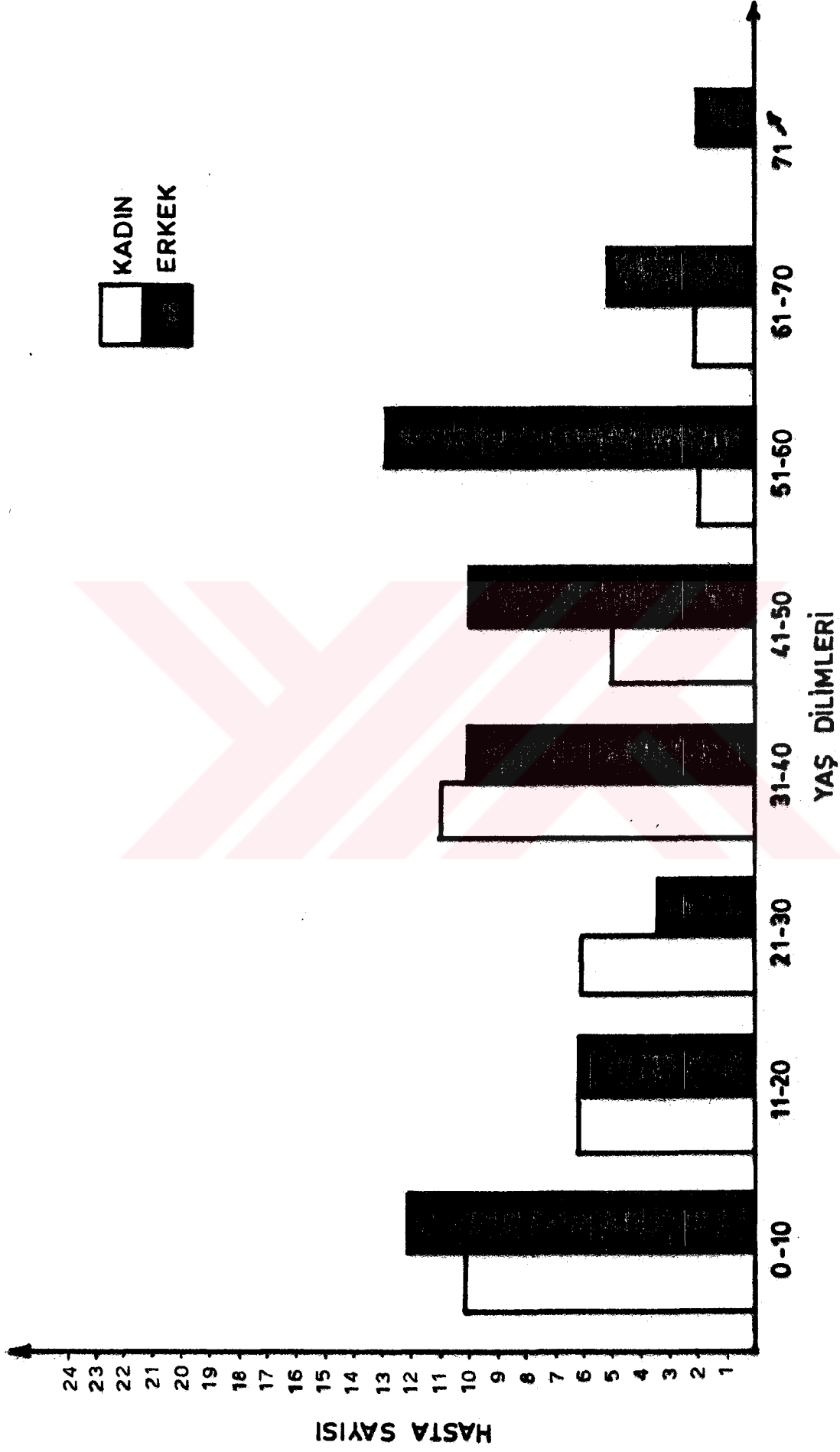
Serviks kanseri tanısı konmuş olgularda, gap, kırık ve asentrik kromozom gibi düzensizliklerin yanı sıra bir olguda E- (Ek-33, Şekil 75) içeren hipoploid hücre saptanmıştır. İncelenen 95 hücrenin % 9,8 i sayısal, % 7,4 ü yapısal yönden düzensiz görülmüştür.

Tüm malign olgularda incelenen 3790 hücrede saptanan sayısal (% 17,0) ve yapısal (% 22,3) kromozom düzensizliği içeren hücrelerin sıklığı ile kontrol grubunda incelenen 631 hücrede saptanan sayısal (% 6,2) ve yapısal (% 5,7) kromozom düzensizliği içeren hücre sıklığı

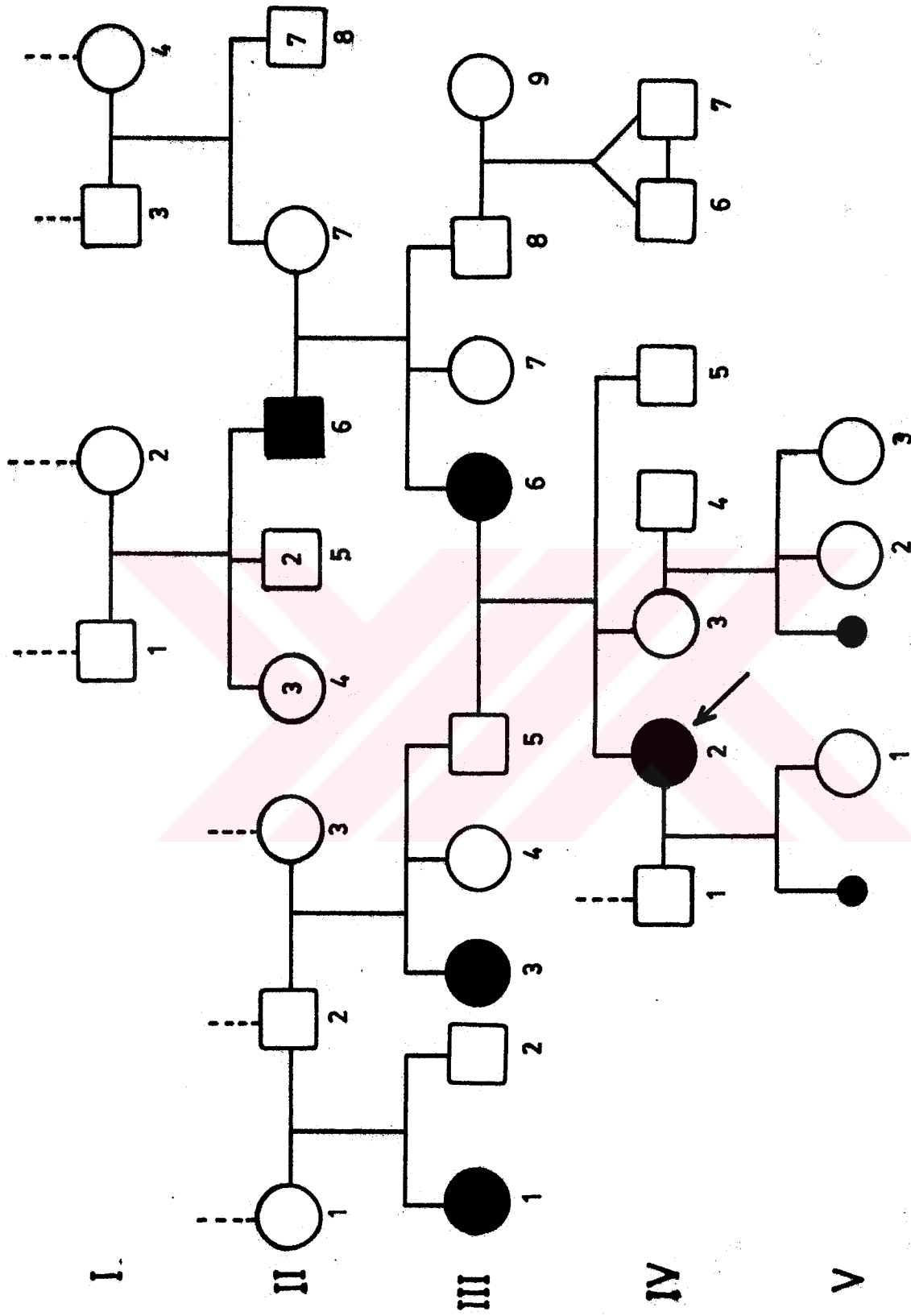
karşılaştırılmış (Çizelge 3), sıklıklar arasında görülen farkın istatistik olarak anlamlı olup olmadığı Student's t testi'nin iki örnekten elde edilen oranlar arasındaki farklılığın önem kontrolü yapılarak değerlendirilmiş, sıklıklar arasındaki farklar anlamlı bulunmuştur ($P < 0,01$).

Lösemili olguların incelenen 1809 hücresinde gözlenen sayısal (% 21,3) ve yapısal (% 34,5) kromozom düzensizliği içeren hücrelerin sıklığı kontrollerde saptanan sıklıklarla karşılaştırılmış (Çizelge 4,5), sıklıklar arasındaki fark anlamlı ve önemli bulunmuştur ($P < 0,01$). Aynı şekilde malignitesi olan, lösemili olguların dışındaki 58 olgunun incelenen 1981 hücresinde gözlenen sayısal (% 13,1) ve yapısal (% 11,3) kromozom düzensizliği içeren hücrelerin sıklığı kontrollerde saptanan sıklıklarla karşılaştırılmış (Çizelge 6,7), sıklıklar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($P < 0,01$).

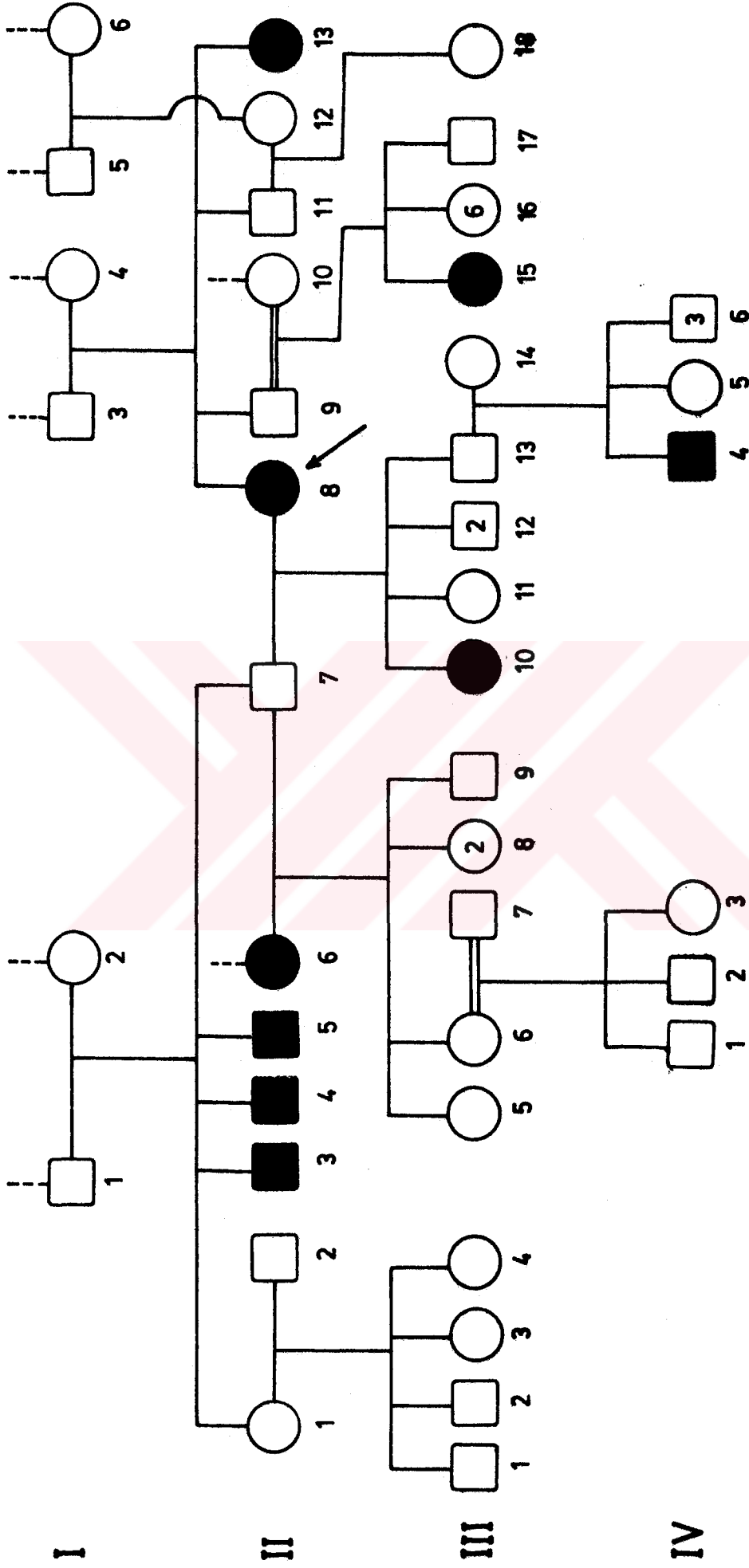
B U L G U L A R I N
Ş E K İ L V E Ç İ Z E L G E L E R İ



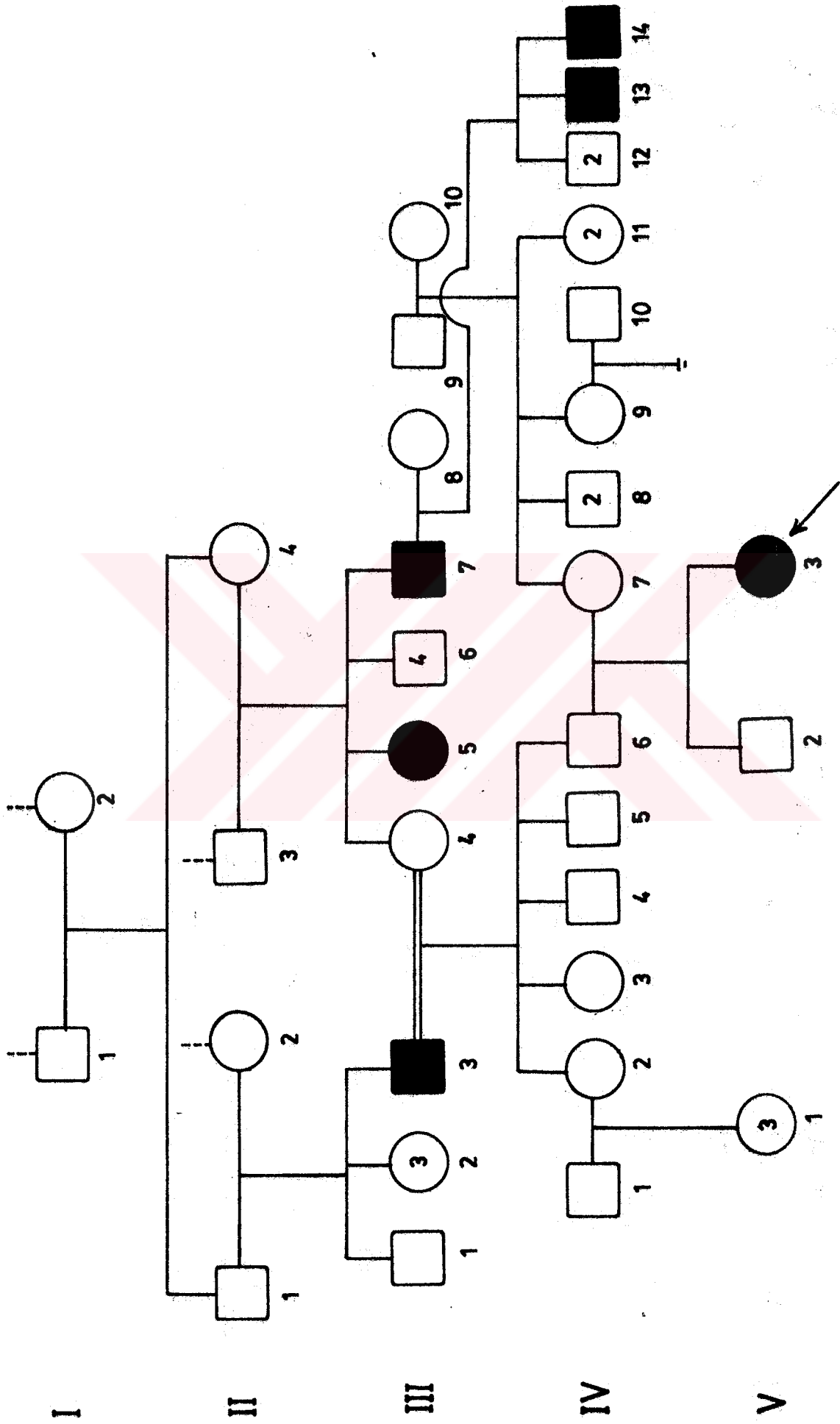
ŞEKİL 6. Hastaların yaş ve cinse göre dağılımı.



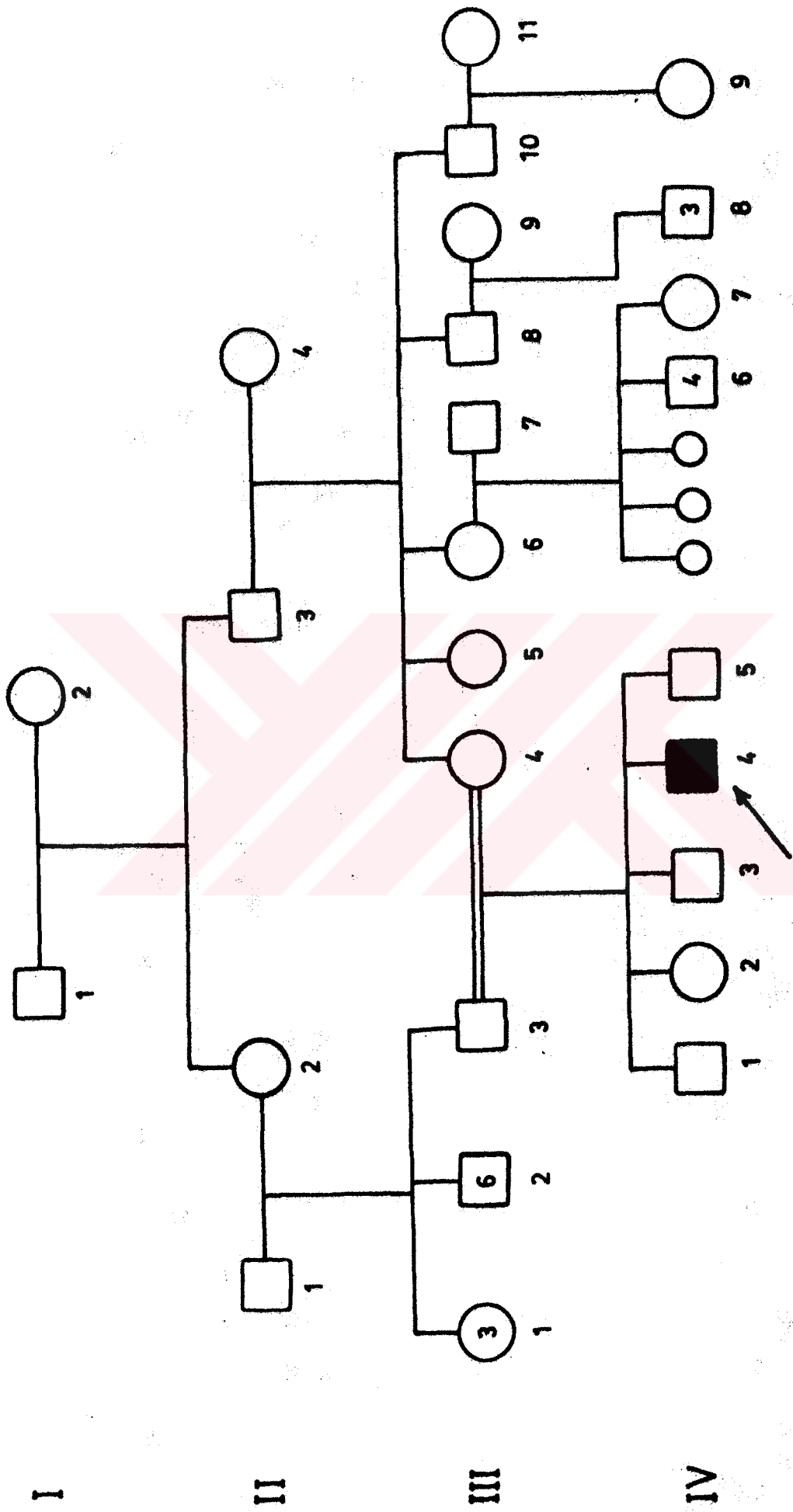
ŞEKİL 7. Lenfomalı bir olguya ait pedigrisi.



ŞEKİL 8. Serviks kanserli bir olguya ait pedigrisi.



ŞEKİL 9. Retinoblastomalı bir olguya ait pedigrisi.



ŞEKİL 10. Retinoblastomalı bir olguya ait pedigri.

Çizelge 2 B. ALL li olgulara ait bulguların devamı.

TANI	SIRA NO	YAŞI	CINSİYETİ		KROMOZOMLARIN SAYISAL DAĞILIMI							İNCELENEN TOPLAM HÜCRE	GÖZLENEN YAPISAL DÜZENSİZLİKLER									
			K	E	>45	45	46	47	47>	Eksilme	Artma		Kromatid Gap	Izokromatid Gap	Kromatid Kırık	Izokromatid Kırık	Disentrik Kromozom	Asentrik Kromozom	Minik Kromozom	Halka Kromozom		
ALL	4	3		+	-	1	69	16	10	96	-	+	-	+	-	+	+	+	+			
	5	8		+	5	3	40	-	-	48	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	6	4		+	3	2	17	-	2	24	-	-	+	-	+	-	-	+	-			
	7	1		+	-	-	13	-	-	13	-	+	-	-	-	-	-	-	-			
	8	5	+		2	-	31	2	3	38	-	+	+	-	+	-	+	-	-			
	9	7		+	1	1	23	-	-	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	10	12		+	3	2	18	1	8	32	-	+	-	-	-	+	-	-	-			
	11	5	+		4	5	18	-	-	27	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	12	16		+	3	-	39	-	2	44	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	13	5		+	-	-	19	-	-	19	-	-	-	-	-	+	-	-	+			
	14	8	+		-	1	22	-	-	23	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	15	7		+	9	4	66	-	7	86	-	+	-	-	-	+	-	-	-			
	16	12	+		4	3	21	-	6	36	-	+	-	-	-	+	-	-	-			
	17	4	+		1	-	21	1	3	26	-	-	-	-	-	+	-	-	-			
	18	5		+	-	-	25	-	-	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	19	12	+		3	1	26	-	-	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	20	6		+	-	-	18	-	-	18	-	-	-	-	-	+	-	-	+			
	21	7	+		1	5	18	-	1	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	22	8		+	-	3	17	-	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	23	13	+		1	1	28	-	1	31	-	+	-	-	-	+	-	-	+			

Çizelge 2 E. M.M., M.K., Mi.K., K.K., P.K. ve T.T. lü olguların incelenen hücrelerinde kromozomların sayısal dağılımı ve yapısal düzensizlikler.

TANI	SIRA NO	YAŞI	CİNSİYETİ		KROMOZOMLARIN SAYISAL DAĞILIMI							İNCELENEN TOPLAM HÜCRE	GÖZLENEN YAPISAL DÜZENSİZLİKLER								
			K	E	> 45	45	46	47	47>	Eksilme	Arıma		Kromatid Gap	izokromatid Gap	Kromatid Kırık	izokromatid Kırık	Disentrik Kromozom	Asentrik Kromozom	Minik Kromozom	Halka Kromozom	
																					GÖZLENEN YAPISAL DÜZENSİZLİKLER
M.M.	2	40	+		1	-	20	-	-	-	-	21	-	+	-	-	-	+	-	-	-
	3	40		+	-	-	24	-	-	2	26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	65		+	-	-	31	-	-	1	34	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
	5	50		+	2	-	29	-	-	-	31	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
	6	50	+		1	-	17	-	-	-	19	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	7	45	+		-	-	23	-	-	-	23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	58		+	17	2	31	-	-	-	50	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
	1	39	+		-	3	23	-	-	-	26	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
M.K.	2	48	+		-	-	37	-	-	1	38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	50		+	11	1	43	-	-	2	57	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Mi.K.	2	75		+	1	-	26	-	-	-	28	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
	1	35	+		6	-	44	1	-	6	57	-	-	+	-	-	-	+	-	-	
	2	15		+	3	-	20	-	-	-	23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	3	35		+	1	4	27	1	-	1	34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
P.K.	4	28	+		6	1	29	-	-	2	38	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
	1	65		+	1	-	37	-	-	-	38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2	68		+	-	2	24	-	-	-	26	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
T.T.	3	53		+	3	-	28	-	-	-	31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1	32		+	2	4	87	-	-	3	96	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
	2	39		+	-	-	36	-	-	1	37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

M.M.: Malign Mezotelyum M.K.: Meme Kanseri Mi.K.: Mide Kanseri K.K.: Kolon Kanseri P.K.: Prostat Kanseri T.T.: Testis Tümör

Çizelge 3. Hasta ve kontrol grubunda sayısal ve yapısal kromozom düzensizliği içeren hücre sıklıklarının karşılaştırılması.

SIRA NO	TANI	OLGU SAYISI				İNCELENEN TOPLAM HÜCRE	SAYISAL YÖNDEN		YAPISAL YÖNDEN	
		Yaş Grubu	CİNSİYETİ		TOPLAM		NORMAL HÜCRE %	DÜZENSİZ HÜCRE %	NORMAL HÜCRE %	DÜZENSİZ HÜCRE %
			K	E						
1	KML	25-55	6	8	14	642	80,7	19,3	34,1	65,9
2	KLL	35-60	2	1	3	148	91,2	8,8	93,9	6,1
3	ALL	1-23	14	14	28	1019	75,7	24,3	81,2	18,8
4	Lenfoma	15-65	5	10	15	503	87,5	12,5	88,3	11,7
5	BT	9-69	2	1	3	128	70,3	29,7	68,8	31,2
6	R	2-4	1	1	2	39	92,3	7,7	89,8	10,2
7	LK	60-75	-	3	3	75	84,0	16,0	78,7	21,3
8	BK	28-57	1	3	4	156	86,5	13,5	93,0	7,0
9	AK	25-55	1	6	7	228	92,6	7,4	95,2	4,8
10	MM	40-65	3	5	8	228	87,3	12,7	93,4	6,6
11	MİK	39-48	2	-	2	64	93,8	6,2	92,2	7,8
12	MK	50-75	-	2	2	85	81,2	18,8	75,3	24,7
13	KK	15-35	2	2	4	152	79,0	21,0	82,9	17,1
14	PK	53-68	-	3	3	95	93,7	6,3	95,8	4,2
15	TT	32-39	-	2	2	133	92,5	7,5	97,0	3,0
16	SK	35-65	3	-	3	95	90,2	9,8	92,6	7,4
GENEL TOPLAM			42	61	103	3790	83,0	17,0	77,7	22,3
KONTROL GRUBU			10	10	20	631	93,8	6,2	94,3	5,7

Sayısal düzensizlik için : $t = 6,9717$ $SD = 4419$ $P < 0,01$

Yapısal düzensizlik için : $t = 9,6866$ $SD = 4419$ $P < 0,01$

Çizelge 4. Kontrol grubu ile lösemili olguların sayısal kromozom düzensizliği içeren hücre sıklığının karşılaştırılması.

	İncelenen hücre sayısı	Sayısal düzensizlik içeren hücre sayısı	%
Kontrol	631	39	6,2
Lösemi	1809	385	21,3
	2440	424	17,4

t = 8,8823 SD = 2438 P < 0,01

Çizelge 5. Kontrol grubu ile lösemili olguların yapısal kromozom düzensizliği içeren hücre sıklığının karşılaştırılması.

	İncelenen hücre sayısı	Yapısal düzensizlik içeren hücre sayısı	%
Kontrol	631	36	5,7
Lösemi	1809	624	34,5
	2440	660	27,0

t = 14,0174 SD = 2438 P < 0,01

Çizelge 6. Kontrol grubu ile lösemi dışındaki kanserli olguların sayısal kromozom düzensizliği içeren hücre sıklığının karşılaştırılması.

	İncelenen hücre sayısı	Sayısal düzensizlik içeren hücre sayısı	%
Kontrol	631	39	6,2
Lösemi dışı kanserliler	1981	243	12,3
	2612	282	10,8

t = 4,2872 SD = 2610 P < 0,01

Çizelge 7. Kontrol grubu ile lösemi dışındaki kanserli olguların yapısal kromozom düzensizliği içeren hücre sıklığının karşılaştırılması.

	İncelenen hücre sayısı	Yapısal düzensizlik içeren hücre sayısı	%
Kontrol	631	36	5,7
Lösemi dışı kanserliler	1981	223	11,2
	2612	259	9,9

t = 4,1417 SD = 2610 P < 0,01

T A R T I Ő M A

Malignitenin kalıtım ve kromozomal düzensizliklerle ilişkisini araştırmayı amaçlayan bu çalışmada, son çeyrek yüzyılda birçok klinik sendromların yanı sıra, yoğun olarak insanın malign tümörlerine ilişkin çalışmalarda da kullanılmaya başlanan sitogenetik analiz yöntemlerinden pedigri (8,98,99,100), kemik iliği (8,18,36,97,99,102) ve periferik kan kültürü yöntemleri (8,13,26,52,74,99) uygulanmıştır.

Çalışmaya alınan hasta grubunda, çeşitli malign kondisyonların kalıtsallığı pedigri yöntemi ile araştırılmıştır. Mendel kurallarına uyar davranış ve belirli kalıtım kalıpları gösteren tekli mutant (başkalaşmış) genlere bağlı olan hastalıklar, gen düzeyindeki bir bozukluk sonucu ortaya çıktıklarından bunların kalıtım biçimleri ancak pedigri gibi dolaylı yöntemlerle ortaya konabilmektedir (8).

Kısa süreli kültüre sokularak kemik iliği hücrelerinden kromozom elde edilmesi olanağını sağlıyan ve ençok kullanılan kemik iliği yöntemi, yalnızca lösemi tanısı konmuş hastalarda uygulanmış, periferik kan kültürü ile kromozom çalışması yapılmamıştır. Lösemili hasta kanından hazırlanan uzun süreli kültürlerin nadiren başarılı olduğu bazı araştırmacılar tarafından rapor edilmektedir (86).

Periferik kan alımına göre verici açısından daha güç olan kemik iliği ponksiyonunu kişilerin kolay kolay kabul etmeyeceği göz önüne alınarak, lösemi formları dışındaki kanserli diğer olgularda ve kontrol grubunu oluşturan sağlıklı kişilerde kromozom çalışması periferik kan kültürü yöntemi ile yapılmıştır. Periferik kandan kromozom elde etmek için de tüm kan yöntemi (52) uygulanmıştır. Moorhead ve arkadaşlarının (74) 1960 yılında geliştirdiği makrokültür

yönteminde olduğu gibi lenfositlerin ayrılması gerekmediğinden, çok az miktarda ayrılmamış kanla kolayca kültür yapıldığından ve periferik kanın uzun süre bekletilmesi, santrifüj edilmesi elle oynanması gibi sakıncalı olabilecek durumları ortadan kaldırdığından bu yöntem tercih edilmiştir.

Yeterli bilgi verilmemesi ya da bilgi vermekten kaçınılması gibi nedenlerle, çalışmaya alınan 103 hastadan ancak 62 olguda (%60,2) pedigri yöntemi ile aile ağaçları çıkarılmıştır. Şekil 7 ve 8 in incelenmesinden görüleceği gibi, iki kanser ailesinin 3 kuşağında benzer ve farklı maligniteler saptanmış, bu da ailede, çoğu araştırmacının (100) belirttiği gibi, kalıtsal bir yatkınlığın olabileceğini düşündürmüştür. Nitekim, Wurster-Hill ve arkadaşları (112) bir ailenin 4 bireyinde 3 farklı malignite saptamış ve malignitenin kalıtsal yatkınlıkla ilgisi olabileceğini belirtmişlerdir. Aynı şekilde Williams (111), dört kuşağında 8 farklı malignite saptadığı bir kanser ailesi rapor etmiş, ailede kolon ve uterus karsinomalarının sık tekrarladığına dikkati çekmiştir. Meisner ve arkadaşları da (70), iki kuşağında 5 farklı malignite saptadıkları bir aile bildirmişlerdir.

Yine Şekil 7 ve 8 in incelenmesinden görüleceği gibi, pedigride hastalık kuşak atlamamakta ve otozomal dominant kalıtım kalıbı göstermektedir. Nitekim Lynch de (65) kanser ailesi sendromunun (cancer family syndrome) otozomal dominant bir kalıtım kalıbı gösterdiğini belirtmektedir.

Şekil 9,10 da verilen, tek gen mutasyonuna bağlı bir hastalık olan ve otozomal dominant kalıtım kalıbı gösteren (65) retinoblastoma ile ilgili iki pedigride, belirtilen kalıtım kalıbı saptanmamıştır. Bu da, olguların sporadik olabileceğini yani hastalığın propozitusda muhtemelen taze başkalaşım ile ailede ilk kez ortaya çıktığını düşündürmüştür.

Çocukluk çağı kanserlerinden biri olan retinoblastomayı, Howard ve arkadaşları (49) ile Francke (40) kalıtsal olan ve olmayan diye iki gruba ayırmaktadırlar. Yine Howard'a göre (49), retinoblastoma olgularının bir kısmı (% 4-6) otozomal dominant etkili bir genle oluşturulmaktadır. Kalıtsal olmayan ya da sporadik retinoblastomalar, olguların % 94-96 sını teşkil etmektedir.

Kromozom düzensizlikleri ile fenotip arasında belirli bir ilişkinin bulunup bulunmadığını söyleyebilmek ve hasta grubunda gözlenen düzensizliklerin normal kişilerde ne sıklıkta bulunduğunu saptamak düşüncesi ile çalışmaya kontrol olarak alınan 20 sağlıklı kişinin incelenen toplam 631 hücresinde sayısal düzensizlik içeren hücrelerin sıklığı % 6,2, yapısal kromozom düzensizliği içerenlerin sıklığı ise % 5,7 olarak bulunmuştur. Gap sıklığı % 2,7, kırık sıklığı % 0,6, asentrik fragment sıklığı da % 0,5 olarak saptanmıştır. Aynı amaçla yapılmış bazı araştırmaların sonuçları gözden geçirilirse, şöyle bir tablo ortaya çıkmaktadır.

Emerit ve arkadaşlarının (27) 1972 de çalışmalarına aldıkları 15 sağlıklı kişiden oluşan kontrol gruplarında, incelenen 674 hücrede yapısal kromozom düzensizliği içerenlerin sıklığı % 8,3 olarak bulunmuştur. Gap sıklığı % 4,3, kırık % 2,5, fragment sıklığı da % 0,4 olarak saptanmıştır.

Littlefield ve Goh (64) tarafından 1973 de 10 kontrol erkekte 11 950, 21 kontrol kadında 17 759 olmak üzere toplam 29 709 hücre, 305 kültür yapılarak değerlendirilmiştir. Yapısal kromozom düzensizliği içeren hücrelerin sıklığı erkeklerde % 5,6, kadınlarda % 6,5 olarak bulunmuştur.

Czeizel ve arkadaşlarının (22) 1974 de yaptıkları çalışmada 15 sağlıklı çocukta 1363 hücre incelenmiş, sayısal yönden düzensiz

hücre sıklığı % 8,6, yapısal düzensizlik içerenlerin sıklığı % 4,5 dolayında bulunmuştur. Gap sıklığı % 2,3, kırık sıklığı % 0,3, asentrik fragment sıklığı ise % 0,2 olarak saptanmıştır.

Evans'a (31) göre, çevresel mutajenler ya da radyasyonlara maruz kalmamış kişilerin periferik kan lenfositlerindeki düzensizlik sıklıkları laboratuvaradan laboratuvara farklılık göstermektedir. Buna neden olarak da kırık ve gap'lerin ayırdedilme güçlüğünü göstermiştir. Bu araştırmacının değişik yaşlardaki kadın ve erkeklere ait 12.420 hücrede saptadığı sıklık gap için % 2,2, kırık için ise % 0,3 olmuştur.

İnsanda tümörlere özgü ya da başka bir deyişle, tümöral gelişmelerle beraber gibi görünen kromozom düzensizliklerinin başında Philadelphia kromozomu gelmektedir. Söz konusu kromozom, birçok araştırmacı tarafından kronik miyeloid lösemili hastaların % 50-100 kadarında görülmüştür (32,45,76,77,91,103,104,105,106,108). Philadelphia negatif KML olgularının sıklığının farklı laboratuvarlardaki değişkenliği teşhis kriterlerindeki farklılıklara bağlanmaktadır(86).

KML tanısı konmuş altısı kadın ve sekizi erkek toplam 14 olguya ait bulgular bazı araştırmacıların bulguları ile karşılaştırılırsa şöyle bir tablo ortaya çıkmaktadır.

KML ile ilgili ilk rapor, Nowell ve Hungerford (76) tarafından 1960 yılında verilmiştir. İncelenen 7 KML li olguda küçük bir akrosentrik kromozom dışında hücreler normal bulunmuştur.

Baikie ve arkadaşları (6) tarafından 1960 da 5 KML li olgunun incelenen 143 hücresinin % 80,4 kadarı 46 kromozomlu bulunmuş, 44 ve 45 kromozomlu hücreler sıkça görülmüştür. Anılan çalışma sonuçlarına uygunluk gösteren bu çalışmada da 14 KML li olgunun incelenen 642 hücresinde 46 kromozomlu olanların sıklığı % 80,7 olarak bulunmuş,

44 ve 45 kromozumlu hücreler sıkça görülmüştür.

Nowell ve Hungerford (77) tarafından 1961 de incelenen 10 KML li olgunun 9 unda (% 90) Philadelphia kromozomu saptanmıştır. Hücreler bu düzensizlik dışında normal bulunmuştur.

Tough ve arkadaşları (104) tarafından 1961 yılında incelenen 15 KML li olgunun 12 sinde (% 80) Philadelphia kromozomu saptanmış, iki olguda disentrik kromozom, fragmentler ve halka kromozom gibi düzensizlikler görülmüştür. Bu çalışmada, olguların hiçbirinde halka kromozom saptanamamış, sabit olmayan ve değişik kromozomları tutan disentrik kromozom ile fragmentlere olguların birçoğunda rastlanılmıştır.

Tough ve arkadaşları (105) tarafından 1962 de çalışmaya alınan 18 KML li olgunun 17 sinde (% 94,4) Philadelphia kromozomu görülmüştür. Philadelphia kromozomunun, incelenen hücrelerin % 40-100 kadarında bulunduğu belirtilmiştir. Hipoploid hücrelere sık, hiperploid hücrelere seyrek rastlanılmıştır. Ayrıca olgularda, disentrik kromozom ve C- saptanmıştır. Çalışmamızda, olguların % 71,4 kadarında Philadelphia kromozomu görülmüş, Philadelphia kromozumlu hücre sıklığı % 56,7-86,0 arasında bulunmuştur. Ayrıca, C- li hipoploid hücreler görülmüş, hipoploid hücre sıklığı % 10,1, hiperploid ve poliploid hücre sıklığı % 9,2 olarak bulunmuştur.

Yine Tough ve arkadaşları (106) tarafından 1963 de incelenen 27 KML li olgunun 25 inde (% 92,6) Philadelphia kromozomu saptanmıştır. Philadelphia kromozomu hücrelerin % 85-100 ünde görülmüş, iki Philadelphia'lı poliploid hücrelere bir olguda sıkça rastlanılmıştır. Çalışmamızda da iki Philadelphia kromozomu içeren poliploid hücrelere 2 olguda sıkça rastlanılmıştır.

Tjio ve arkadaşları (103) tarafından 1966 da incelenen 73

KML li olgunun 60 ında (% 82,2) Philadelphia kromozomu bulunmuştur. Hiperploidi baskın bulunmuş, bir olguda 2 Philadelphia kromozomu içeren hücre saptanmıştır. Çalışmamızda, Philadelphia kromozomu olduğu görünümünü veren 2 küçük kromozom içeren hücre görülmüşse de, bunlar Philadelphia kromozomu olarak yorumlanmamıştır. Olguların anöploid hücrelerinden hipoploid olanların sıklığı biraz daha yüksek bulunmuştur.

Khan ve Martin (55) tarafından 1967 de KML li bir olguda CDD ve CG asosiasyonunun sıklığı belirtilmiştir. Benzer asosiasyon bu çalışmada da bir olguda saptanmıştır. Ayrıca aynı olguda, kaynaklarda tanımlanmayan ve B grup bir kromozomun kısa kollarını tutan ilginç bir düzensizlik saptanmıştır (Ek-5, Şekil 20).

Ezdinli ve arkadaşları (32) tarafından 1970 yılında 61 KML li olguda yapılan sitogenetik çalışma sonunda, 43 olguda (% 70,5) Philadelphia kromozomu görülmüştür. Çalışmamızda Philadelphia kromozomu sıklığı, anılan araştırmacılarınkine yakın değerde (% 71,4) bulunmuştur.

Wagner-Capodano (108) 1972 de çalıştığı 7 KML li olgunun altısında (% 85,7) Philadelphia kromozomu görmüş, 5 olguda hiperploidin baskınlığını saptamıştır. Çalışmamızda hiperploidi baskınlığı 2 olguda saptanabilmiştir.

Sandberg ve Sakurai (87) tarafından 1973 yılında, Lawler ve arkadaşları (60) tarafından 1974 yılında ve Sonta ile arkadaşları (91) tarafından 1976 yılında KML li hastalarda yaptıkları çalışmalarda, hücrelerde Y kromozom eksikliği saptamışlardır. Bu çalışmada incelenen 8 KML li erkek hastada Y kromozom eksikliği saptanamamıştır.

Anılan birçok araştırmacının saptadığı bulgular ile çalışmamızda saptanan ve çoğu araştırmacının bulgularıyla yakın benzerlik

göteren bulgulardan da anlaşılacağı gibi, KML li olgularda Philadelphia kromozomu dışında özgül bir düzensizlik saptanamamıştır.

KLL (Kronik Lenfoid Lösemi) tanısı konmuş 3 olgunun birinde eksilme, artma, gap, fragment ve kırık gibi düzensizlikler görülmüş, bir hücrede büyük bir akrosentrik kromozom saptanmıştır. Ayrıca, bir hücrede eşinden büyük submetasentrik kromozom görülmüşse de simge kromozom olarak yorumlanmamıştır. Nitekim, kromozom boyutlarındaki farklılığın kromozomların hazırlanışı sırasında bir artefakt olarak oluştuğu ve homolog (eş) kromozomların nadiren aynı boyutta olabildikleri hatta aynı kromozomun kromatidlerinin bile farklı boyutta olabileceği belirtilmektedir(83). Oysa, Baserga ve Castoldi (7) ve Ducos ile Colombies (25) KLL li olgularında böyle bir, eşinden büyük submetasentrik kromozomun varlığını bildirmektedirler.

KLL li olgularla ilgili ilk düzensizlik raporu Gunz ve arkadaşları (44) tarafından 1962 de verilmiştir. Araştırmacılar KLL li olgularında, Christchurch kromozomu adı verilen anormal bir kromozomun varlığını bildirmişlerdir. Bunun da Philadelphia kromozomu gibi G grup bir kromozom olduğu ve kısa kollarının eksildiği belirtilmiştir.

Daha sonraları Court-Brown(20), Abbott (1), Ducos ve Colombies (25) böyle küçük bir kromozomun varlığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda da KLL li bir olguda böyle küçük bir G grup kromozom saptanmıştır.

Baikie ve arkadaşları (6), Gunz ve Fitzgerald (45), Baserga ve Castoldi (7) ve Fitzgerald (34) KLL tanısı konmuş olgularında böyle bir düzensizlik saptamamışlardır. KLL li olgularda görüldüğü birçok araştırmacı tarafından rapor edilen ve Christchurch kromozomu denen küçük akrosentrik kromozom bulgusunun desteklenmediği ve bu

kromozomun normal ve sağlıklı bireylerde de görüldüğü, bazı ailelerde simge kromozom halinde kuşaktan kuşağa geçirildiği belirtilmektedir (97). Çalışmamızda, bir olguda saptanan küçük kromozomun simge olup olmadığı, ailenin diğer bireyleri incelenemediğinden saptanamamıştır.

Çalışmamızda saptanan büyük akrosentrik kromozom, Ducos ve Colombies (25) tarafından da bildirilmiştir.

Sonuç olarak, KML li olgularda olduğu gibi özgül bir kromozom düzensizliği, KLL li olgularda saptanamamıştır.

ALL (Akut Lenfoblastik Lösemi) tanısı konmuş 28 olgunun 16 sında (% 57,1) çeşitli düzensizlikler saptanmıştır. Sayısal kromozom düzensizliği gösteren hücrelerin % 54,4 kadarının hiperploid ve poliploid, % 45,6 sının hipoploid olduğu saptanmıştır. Yapısal düzensizlik sıklığı ise % 27,9 olarak bulunmuştur. Hiperploid hücrelerde C+ ve G+ daha çok görülürken, hipoploid hücrelerde C-, Y- ve E- daha sık görülmüştür. Yapısal düzensizlik olarak halka kromozom, disentrik kromozom, kırık, gap, minik kromozom, fragment ve haç biçimi kromozom gibi düzensizlikler saptanmıştır. ALL li olgularla yapılmış bazı araştırmaların sonuçları gözden geçirilirse, şöyle bir tablo ortaya çıkmaktadır.

Lösemnin akut formunda ilk düzensizlik, 1958 yılında Ford ve arkadaşları (36) tarafından bildirilmiş, olguların birinde hipoploid hücrelerin saptandığı belirtilmiştir. Aynı şekilde, Hungerford (51), 1961 de ALL li 4 çocukta hipoploid hücrelerin baskınlığını saptamıştır. Aynı araştırmacı, hipoploidiye neden olan eksikliğin C, D ve E grup kromozomlardan kaynaklandığını belirtmiştir. Çalışmamızda da C- ve E- içeren hipoploid hücre görülmüş fakat D- saptanamamıştır. Yine, Chitham ve McIver (17) tarafından 1964 yılında, ALL li bir çocukta yaptığı çalışmada, D grup kromozomu tutan izokromatid gap,

kırık ve fragment gibi yapısal düzensizlikler bildirmiştir.

Reisman ve arkadaşları (84) tarafından incelenen 8 ALL li olgunun tümünde (% 100) düzensiz hücreler saptanmıştır.

Sandberg ve arkadaşları (85) tarafından 1964 de 41 ALL li olgunun 21 inde (% 51,2) düzensiz hücreler saptanmıştır. Bu çalışmada da 28 ALL li olgunun 16 sında (% 57,1) çeşitli düzensizlikler içeren hücreler saptanmıştır.

Kiossoglou ve arkadaşları (56) tarafından 1965 yılında , 7 si ALL olan 65 olguda yapılan çalışmada, ALL li 7 olgunun 3 ünde (% 42,8) düzensizlikler saptanmıştır. Yapısal düzensizlik olarak disentrik kromozomlar, kırıklar, gap'ler ve asantrik fragmentler görülmüştür. Sayısal düzensizlik olarak, hipoploid (C-) ve hiperploid (C+) hücreler saptanmıştır. İki olguda hipoploidi, bir olguda da hiperploidi baskın bulunmuştur. Çalışmamızda da benzer sayısal ve yapısal düzensizlikler birçok olguda saptanmıştır.

Jensen (53) 1967 de altısı ALL olan 30 olguda çalışmış, 6 olgunun yalnızca birinde (%16,7) düzensizlik saptamıştır. Yine, Jensen (54) lösemnin akut formlarında sıkça gözlenen düzensizliklerin fragment, disentrik kromozom, gap, kırık ve halka kromozom olduğunu belirtmektedir. Bu çalışmada da anılan düzensizlikler birçok olguda saptanmış, bir olguda yüksek sıklıkta (%27,5) tekrarlayan halka kromozom görülmüştür.

Whang-Peng ve arkadaşları (109) tarafından 1969 da 45 ALL tanısı konmuş olguda yapılan çalışmada, olguların 13 ünde (% 28,9) çeşitli sabit olmayan düzensizlikler saptanmıştır. İki olguda hipoploidi, 8 olguda hiperploidi baskın görülmüştür. Hipoploid hücrelerde B-, C- ve Y- saptanmıştır.

Garson ve Milligan (42) tarafından 1974 de 17 yaşlı ALL tanısı konmuş bir kızda B/D translokasyonu görülmüştür. Böyle bir düzensizlik bu çalışmada saptanamamıştır.

Schmidt ve arkadaşları (88) tarafından 1975 yılında, ALL li zenci bir çocukta Philadelphia kromozomu ve Y- saptanmıştır.

Whang-Peng ve arkadaşları (110) tarafından 1976 yılında 331 ALL li olgu üzerinde sitogenetik çalışma yapılmıştır. Dört olguda anormal genotip bulunmuştur. Hiperploidi baskın görülmüş, iki olguda Philadelphia kromozomu varlığı düşünülmüştür. Tedavi öncesi çalışılan 115 olgunun 66 sında (% 57,4) normal, 49 unda (% 42,6) düzensiz hücreler saptanmıştır. Düzensiz hücrelerde hiperploidi sıklığı % 68,2 olarak bulunmuştur. Yedi olguda yüksek tetraploidi, üç olguda yüksek kromozom kırıkları bulunmuştur. Çalışmamızda, anormal genotip ve Philadelphia kromozomu görülememiştir. Olguların % 57,1 kadarında kromozomal düzensizlik içeren hücreler saptanmış, hiperploidinin düzensiz hücrelerin % 54,4 kadarını teşkil ettiği görülmüştür. Yalnızca iki olguda sık poliploid hücreler saptanmıştır.

Cervenka ve arkadaşları (16) tarafından 1977 yılında ALL li bir olguda haç biçimi figür tanımlanmıştır. Benzer figür, çalışmamızda da iki olguda görülmüştür.

ALL li olgularda, anılan çalışmalarla özgül bir kromozomal düzensizliğin bulunmadığı, çoğu araştırmacının bulgularına yakın benzerlik gösteren bu çalışmaya ait bulgulardan da görüleceği gibi değişik kromozomal düzensizliklerin bulunduğu ortaya konmuştur.

Lösemi dışında kalan insanın diğer malign hastalık tiplerinin bir kısmında periferik kan kültürü yöntemi ile kromozom çalışması yapılmış, özgül olmayan birçok düzensizlik saptanmıştır. Birkaç hastalık dışında (lenfoma, retinoblastoma ve testiküler tümör gibi)

diğer tiplere ilişkin benzer çalışma yapılan kaynağa rastlanamamıştır. Mevcut kaynakların daha çok hasta doku hücreleri ile yapılan çalışmaları içerdiği ve bu çalışmalarda tümör hücrelerinde sık olarak kromozom şekil bozuklukları görüldüğü, ayrıca kromozom sayılarında geniş bir dalgalanmanın olduğu belirtilmektedir (2,3,4,11,21,28,33,66,71,93,113).

Spiers ve Baikie (92) lenfomalı bir olguda, C+ ve G+ olan hiperploid hücreler saptamış, yine lenfomalı hastalarla çalışan Fukuhara ve arkadaşları (41), beş olguda büyük bir D grup kromozom gördüklerini bildirmişlerdir. Böyle D grup kromozomu tutan bir düzensizlik bu çalışmaya alınan 15 lenfomalı olgunun birinde görülebilmektedir.

Retinoblastomalı hastalarda da yine D grup (13 numaralı) bir kromozomu tutan ve uzun kolda eksilme ile karakteristik bir düzensizlik görülmüştür (22,49,79). Çalışmamızda sözkonusu düzensizlik gözlenmemiştir.

Testis tümörlü hastalarla yapılan çalışmalarda özgül bir kromozomal düzensizlik saptanamamıştır (24,69).

Gerek anılan araştırmacıların bulguları gerekse bu çalışmada saptanan bulgular, KML dışındaki kanserlerde özgül bir kromozom düzensizliği bulunmadığını, ancak, kontrollerden farklı sıklık ve tipte düzensizliklerin olduğunu göstermiştir.

S O N U Ç

Malignitenin kalıtım ve kromozomal düzensizliklerle ilişkisini araştırmayı konu alan bu çalışma:

1. Malignite gelişiminde, çevresel mutajenlerin yanı sıra kalıtsal yatkınlığın da etken olabileceğini (Şekil 7,8),
2. Retinoblastoma gibi tek gen başkalaşımına bağlı hastalıkların sporadik olarak da görülebileceğini (Şekil 9,10),
3. KML li olguların % 71,4 ünde özgül bir kromozom düzensizliği (Philadelphia kromozomu) bulunduğunu (Çizelge 2A),
4. Löseminin akut formunda sayısal ve yapısal kromozom düzensizlikleri içeren hücrelerin oldukça yüksek olduğunu (Çizelge 2A,2B,-2C),
5. Kemik iliği yöntemi ile çalışılan, KML dışındaki lösemi formlarında ve periferik kan kültürü yöntemi ile çalışılan diğer malign hastalık tiplerinde, özgül kromozom düzensizliklerinin bulunmadığını,
6. Gerek sayısal gerekse yapısal kromozom düzensizliklerinin, hasta grubundaki farklı olgularda ve aynı olgunun farklı hücrelerinde belirli bazı kromozomlarda yoğunlaşmadığını, ancak D ve F grup kromozomlarda düzensizliğin daha seyrek görüldüğünü,
7. Kanserli olguların büyük bir bölümünde, kontrollerden çok yüksek sıklık ve tipte, sayısal ve yapısal kromozom düzensizliği içeren hücrelerin olduğunu (Çizelge 3),
8. Hasta ve kontrol grubunda saptanan düzensiz hücre sıklıkları arasındaki farkın istatistik olarak anlamlı ($P < 0,01$) olduğunu (Çizelge 3,4,5,6,7) ve
9. Malignite ile kromozom düzensizliği arasında bir ilginin var olabileceğini, ilginin daha da açıklığa kavuşturulması için bu konudaki çalışmaların sürdürülmesi gerektiğini ortaya koymuştur.

Ö Z E T

Bu çalışmada, 1980-1983 yılları arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi kliniklerinde malign tanısı konmuş 42 kadın, 61 erkek toplam 103 olguda, malignitenin tek gen mutasyonu ve kromozomal düzensizliklerle ilişkisi araştırılmıştır. Bunun için pedigrî analizi ve sitogenetik çalışma yapılmıştır. Ayrıca 10 kadın ve 10 erkek olmak üzere toplam 20 sağlıklı kişi kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

Dolaylı yöntemlerden pedigrî yöntemi (8,98,99,100) ile hasta grubunda, malignitenin kalıtımla ilişkisi araştırılmıştır. Kromozom çalışması için sitogenetik laboratuvarlarında rutin olarak kullanılan temel yöntemlerden kemik iliği yöntemi (8,18,36,97,99,102) ve periferik kan kültürü yöntemi (13,26,52,74) uygulanmıştır. Elde edilen preparatlardaki hücreler, sayısal ve yapısal kromozom düzensizliği yönünden değerlendirilmiş, incelenmeye değer görülenlerde karyotip analizi yapılarak düzensizliğin hangi grup kromozomu tuttuğu saptanmaya çalışılmıştır. Ayrıca hasta grubu ile kontrol grubundan elde edilen, sayısal ve yapısal kromozom düzensizliği içeren hücre sıklığı arasındaki fark istatistik yöntemle değerlendirilmiştir.

Çalışma sonucunda, özet olarak aşağıdaki bulgular elde edilmiştir.

1. Kanser ve kalıtım arasında bir ilişki olabileceği kanısına varılmıştır.
2. KML (Kronik Miyeloid Lösemi) tanısı konmuş olguların % 71,4 kadarında özgül bir kromozom düzensizliği (Philadelphia kromozomu) saptanmıştır.
3. Kronik lenfoid lösemili ve akut lenfoblastik lösemili

olgularda özgül bir kromozom düzensizliği bulunamamıştır. Ancak, akut lenfoblastik lösemili olguların % 57,1 kadarında çeşitli kromozomal düzensizlik içeren hücreler saptanmıştır.

4. Periferik kan kültürü yöntemi ile kromozom çalışması yapılan lösemi formları dışında kalan malign olgularda da özgül kromozom düzensizliği saptanamamıştır.

5. Gerek lösemili olgulardan gerekse diğer malign olgulardan elde edilen sayısal ve yapısal kromozom düzensizliği içeren hücre sıklığının, kontrollerden elde edilen sıklıklardan farklı ve anlamlı olduğu görülmüştür.

6. Malignite ile kromozomal düzensizlikler arasında bir ilişkinin var olabileceği kanısına varılmıştır.

S U M M A R Y

INVESTIGATIONS ON THE RELATIONSHIP BETWEEN MALIGNANCY AND A SINGLE GENE MUTATION AND CHROMOSOMAL ABNORMALITIES.

In this study, between the years of 1980 and 1983 the relationship between the malignancy and a single gene mutation and chromosomal aberrations was investigated in a total number of 103 patients, 61 males and 42 females, diagnosed as malignant at different clinical wards in Medical School, Dicle University. To do this, analysis of pedigree and cytogenetic studies have been carried out. In addition, a total number of 20 healthy people, 10 males and 10 females, are used as control group.

The relationship between malignancy and hereditary factors have been studied in those patients using the pedigree method (8,98,-99,100) which is one of the common indirect techniques. For the chromosomal studies, the basic procedures which are routinely practiced in cytogenetic laboratories as bone-marrow (8,18,36,97,99,102) and peripheral blood culture methods (13,26,52,74) have been used.

The cells in the preparations obtained have been evaluated in term of numerical and structural chromosomal aberrations and have been tried to determine which group of chromosomes are affected by aberrations in those which worth investigation by carrying out karyotype analysis. Also, the difference between the cell incidence obtained from the patients and the control group and containing numerical and structural chromosomal aberrations is evaluated using statistical methods.

At the end of this study, we came to the following conclusions;

1. We believe that; there is a relationship between the carcinoma and the hereditary factors.

2. A specific chromosomal aberration (Philadelphia chromosome) in about 71,4 % of patients suffering from chronic myeloid leukemia is found.

3. Any specific chromosomal aberrations hasn't been found in cases having chronic lymphocytic leukemia and acute lymphocytic leukemia but cells containing various chromosomal aberrations, have been detected in about 57,1 % of patients, with acute lymphocytic leukemia.

4. No specific chromosomal aberrations has been found, in malignant patients, falling outside of leukemic forms, in whom chromosomal studies have been carried out by peripheral blood culture.

5. The incidence of cells, containing numerical and structural chromosomal aberrations, obtained from both leukemic and other malignant cases, has implicated that; it is different and meaningful from those obtained from the control group.

6. We believe that; there may be a relationship between the carcinoma and chromosomal aberrations.

K A Y N A K L A R

1. Abbott, C. R.: The Christchurch chromosome. *Lancet*, 1: 1155, 1966.
2. Atkin, N. B.: High chromosome numbers of seminomata and malignant teratomata of the testis. *Br. J. Cancer*, 28: 275, 1973.
3. Atkin, N. B., Baker, M. C.: Chromosome 1 in 26 carcinomas of the cervix uteri. *Cancer*, 44: 604, 1979.
4. Auersperg, N., Wakonig-vaartaja, T.: Chromosome changes in invasive carcinomas of the uterine cervix. *Cytologica*, 14: 495, 1970.
5. Ayraud, N., Rey, C., Roustan, J.: Chromosome D en anneau dans un cas de sarcome embryonnaire. *Arch. Anat. Path.*, 19: 91, 1971.
6. Baikie, A. G., Court-Brown, W. M., Jacobs, P. A.: Chromosome studies in leukemia. *Lancet*, 1: 280, 1960.
7. Baserga, A., Castoldi, G. L.: Chromosomes in chronic lymphatic leukemia. *Lancet*, 2: 1299, 1965.
8. Başaran, N.: Tibbi genetik. Anadolu Üniversitesi ESBAY Yay., No:2, Eskişehir, 1983.
9. Benirschke, K., Brownhill, L., Ebaugh, F. G.: Chromosomal abnormalities in Waldenström's macroglobulinaemia. *Lancet*, 1: 594, 1962.

10. Bloom, A. D., Neriishi, S., Kamada, N., Iseki, T., Keehn, R.-
J.: Cytogenetic investigation of survivors of
atomik bombings of Hiroshima and Nagasaki.
Lancet, 2: 672, 1966.
11. Bodor, F., Hakanson, C. H., Norgren, A.: Pseudodiploid karyo-
type in a breast carcinoma. Acta Path. Microbiol.,
82: 386, 1974.
12. Buckton, K. E., Jacobs, P. A., Brown, W. M. C., Doll, R.: A
study of the chromosome damage persisting after
X-ray therapy for ankylosing spondylitis. Lancet,
2: 676, 1962.
13. Buckton, K. E., Evans, H. J.: Méthodes d'analyse des aberra-
tions chromosomiques humaines. Organisation Mon-
diale de la Santé, Genève, 1973.
14. Budak, T.: Güneydoğu Anadolu Bölgesinde sıklıkla kullanılan
insektisidlerden Malathion ve Lindane'nin fare
kromozomları üzerine in vivo etkilerinin araştı-
rılması (Doçentlik tezi). D.Ü. Tıp Fak., Diyar-
bakır, 1981.
15. Canda, M. Ş.: İnsan ve kanser. Sivas Kanser Savaş Derneği,
Yayın No:2, Bornova, 1981.
16. Cervenka, J., Anderson, R. S., Nesbit, M. E., Krivit, W.:
Familial leukemia and inherited chromosomal aber-
ration. Int. J. Cancer, 19: 783, 1977.
17. Chitham, R. G., McIver, E. J.: Chromosome abnormality with
lymphoid leukemia. Lancet, 1: 1044, 1964.

18. Cohen, M. M., Hirschhorn, K.: Cytogenetic studies in animals. Plenum-Press, New York, 2: 515, 1971.
19. Comings, D. E.: A general theory of carcinogenesis. Proc. Nat. Acad. Sci., 70: 3324, 1973.
20. Court-Brown, W. M.: Chromosomal abnormality and chronic lymphatic leukemia. Lancet, 1: 986, 1964.
21. Cruciger, Q. V. J., Pathak, S., Cailleau, R.: Human breast carcinomas: Marker chromosomes involving 1q in seven cases. Cytogenet. Cell Genet., 17: 231, 1976.
22. Czeizel, A., Csösz, L., Gardonyi, J., Remenar, L., Ruziscka, P.: Chromosome studies in twelve patients with retinoblastoma. Humangenetik, 22: 159, 1974.
23. Dartnall, J. A., Mundy, G. R., Baikie, A. G.: Cytogenetic studies in myeloma. Blood, 42: 229, 1973.
24. Doll, D. C., Kandzari, S., Jenkins, J. J., Amato, S., Jones, B.: Seminoma in a 12-year-old male with 46,XY/-45,XO karyotype. Cancer, 42: 1823, 1978.
25. Ducos, J., Colombies, P.: Chromosomes in chronic lymphocytic leukemia. Lancet, 1: 1038, 1968.
26. Edwards, J. H., Young, R. B.: Chromosome analysis from small volumes of blood. Lancet, 2: 48, 1961.
27. Emerit, I., Emerit, J., Tosoni-Pittoni, A., Bousquet, O., Sarrazin, A.: Chromosome studies in patients with ulcerative colitis. Humangenetik, 16: 313, 1972.

28. Enterline, H. T., Arvan, D. A.: Chromosome constitution of adenoma and adenocarcinoma of the colon. *Cancer*, 20: 1746, 1967.
29. Erçikan, C.: Konjenital göz anomalilerinde sitogenetik araştırmalar. İstanbul, 1977.
30. Etiz, S., Özdamar, K.: Biyoistatistik. D.Ü. Tıp Fakültesi Yayını, No:22, Diyarbakır, 1981.
31. Evans, H. J.: Population cytogenetics and environmental factors, 191-216. In: Jacobs, P. A., Price, W. H., Law, P.: Human population cytogenetics. Pfizer medical monographs 5. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1970.
32. Ezdinli, E. Z., Sokal, J. E., Cross White, L., Sandberg, A. A.: Philadelphia chromosome positive and negative CML. *Ann. Intern. Med.*, 72: 175, 1970.
33. Falor, W. H.: Chromosomes in bronchial adenomas and in bronchogenic carcinomas. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 104: 198, 1971.
34. Fitzgerald, P. H.: Abnormal length of the small acrocentric chromosomes in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Res.*, 25: 1904, 1965.
35. Ford, C. E., Hamerton, J. L.: The chromosomes of man. *Nature*, 178: 1020, 1956.
36. Ford, C. E., Jacobs, P. A., Lajtha, L. G.: Human somatic chromosomes. *Nature*, 181: 1565, 1958 (Kaynak 37 den alınmıştır).

37. Ford, C. E.: The chromosomes of normal human somatic and leukemic cells. Proc. Roy. Soc. Med., 53: 491, 1960.
38. Ford, E. H. R.: Human chromosomes. Academic Press. London, New York, 1973.
39. Fraccaro, M., Bott, M. G., Calvert, H. T.: Chromosomes in Werner's syndrome. Lancet, 1: 536, 1962.
40. Francke, U.: Retinoblastoma and chromosome 13. Cytogenet. Cell Genet., 17: 231, 1976.
41. Fukuhara, S., Shirakawa, S., Uchino, H.: Specific marker chromosome 14 in malignant lymphomas. Nature, 259: 210, 1976.
42. Garson, O. M., Milligan, W. J.: Acute leukemia associated with an abnormal genotype. Scand. J. Haemat., 12: 256, 1974.
43. Grouchy, J.: Genetic diseases, chromosome rearrangements and malignancy. Ann. Int. Med., 65: 603, 1966.
44. Gunz, F. W., Fitzgerald, P. H., Adams, A.: An abnormal chromosome in chronic lymphocytic leukemia. Brit. M. J., 2: 1097, 1962 (Kaynak 45 den alınmıştır).
45. Gunz, F. W., Fitzgerald, P. H.: Chromosomes and leukemia. Blood, 23: 394, 1964.
46. Gündüz, M.: Fizyopatoloji (Genetik, Endokrin, Kan). Ege Ü. Tıp Fak. Yay., No:109, Bornova, 1977.
47. Hecht, F., Koler, R. D., Rigas, D. A., Dahnke, G. S., Case, M. P., Tisdale, V., Miller, R. W.: Leukemia and lymphocytes in ataxia telangiectasia. Lancet, 2: 1193, 1966.

48. Hirschhorn, K.: Chromosomes and cancer. Birth Defects Orig. Art. Ser., 12: 113, 1976.
49. Howard, R. O., Breg, W. R., Albert, D. M., Lesser, R. L.: Retinoblastoma and chromosome abnormality. Arch. Ophthalmol., 92: 490, 1974.
50. Hsu, T. C., Benirschke, K.: An atlas of mammalian chromosomes. Volume I. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg, New York, 1967.
51. Hungerford, D. A.: Chromosome studies in human leukemia. I. Acute leukemia in children. J. Nat. Cancer Inst., 27: 983, 1961.
52. Hungerford, D. A.: Leukocytes cultured from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl. Stain Techn., 40: 333, 1965.
53. Jensen, M. K.: Chromosome studies in acute leukemia. III. Chromosome constitution of bone marrow cells in 30 cases. Acta Med. Scand., 182: 157, 1967.
54. Jensen, M. K.: Chromosome studies in acute leukemia. Munksgaard, Copenhagen, 1969.
55. Khan, M. H., Martin, H.: Chromosomal satellite association. Lancet, 1: 567, 1967.
56. Kiosoglou, K. A., Mitus, W. J., Dameshek, W.: Chromosomal aberrations in acute leukemia. Blood, 26: 610, 1965.
57. Knudson, A. G., Strong, L. C., Anderson, D. E.: Heredity and cancer in man. Prog. Med. Genet., 9: 113, 1973.

58. Knudson, A. G.: Mutation and cancer in man. *Cancer*, 39: 1882, 1977.
59. Küçüksu, M. N., Ruacan, Ş. A.: Klinik onkoloji. Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu Yayınları. Ankara, 1978.
60. Lawler, S. D., Lobb, D. S., Wiltshaw, E.: Philadelphia chromosome positive bone-marrow cells showing loss of the Y in males with chronic myeloid leukemia. *Br. J. Haematol.*, 27: 247, 1974.
61. Lejeune, J., Levan, A.: Proposed standard system of nomenclature of human mitotic chromosomes. *Lancet*, 1: 1063, 1960.
62. Levan, G., Mitelman, F.: Clustering of aberrations to specific chromosomes in human neoplasms. *Hereditas*, 79: 156, 1975.
63. Levan, A., Levan, G., Mitelman, F.: Chromosomes and cancer. *Hereditas*, 86: 15, 1977.
64. Littlefield, L. G., Goh, K. O.: Cytogenetic studies in control men and women. *Cytogenet. Cell Genet.*, 12: 17, 1973.
65. Lynch, H. T.: Genetic factors in carcinoma. *Med. Clinic of North America*, 53: 923, 1969.
66. Makino, S., Sasaki, M. S., Tonomura, A.: Cytological studies of tumors. XL. Chromosome studies in fifty-two human tumors. *J. Nat. Cancer Inst.*, 32: 741, 1964.

67. Mark, J.: The chromosomal findings in seven human neurinomas and one neurosarcoma. Acta Path. Microbiol. Scand. Section A, 80: 61, 1972.
68. Martin, P., Levin, B., Golomb, H. M., Riddell, R. H.: Chromosome analysis of primary large bowel tumors. Cancer, 44: 1656, 1979.
69. Martineau, M.: Chromosomes in human testicular tumors. J. Path., 99: 271, 1969.
70. Meisner, L. F., Gilbert, E., Ris, H. W., Haverly, G.: Genetic mechanisms in cancer predisposition report of a cancer family. Cancer, 43: 679, 1979.
71. Millard, R. E.: Chromosome abnormalities in the malignant lymphomas. Europ. J. Cancer, 4: 97, 1968.
72. Mitelman, F., Levan, G.: Clustering of aberrations to specific chromosomes in human neoplasms. II. A survey of 287 neoplasms. Hereditas, 82: 167, 1976.
73. Mitelman, F., Levan, G.: Clustering of aberrations to specific chromosomes in human neoplasms. III. Incidence and geographic distribution of chromosome aberrations in 856 cases. Hereditas, 89: 207, 1978.
74. Moorhead, P. S., Nowell, P. C., Mellman, W. J., Battips, D. M., Hungerford, D. A.: Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. Exptl. Cell Res., 20: 613, 1960.
75. Müller, Hj., Stalder, G. R.: Chromosomes and human neoplasms. Europ. J. Pediat., 123: 1, 1976.

76. Nowell, P. C., Hungerford, D. A.: A minut chromosome in human CML. *Science*, 132: 1497, 1960.
77. Nowell, P. C., Hungerford, D. A.: Chromosome studies in human leukemia. *J. Nat. Cancer Inst.*, 27: 1013, 1961.
78. Ortakaya, C.: Kanamisin'in tavşan (Oryctolagus cuniculus) kromozomları üzerine in vivo etkilerinin araştırılması (Doktora tezi). Diyarbakır, 1982.
79. Orye, E., Delbeke, M. J., Vandenabecle, B.: Retinoblastoma and D chromosome deletions. *Lancet*, 2: 1376, 1971.
80. Oxford, J. M., Harnden, D. G., Parrington, J. M., Delhanty, J. D. A.: Specific chromosome aberrations in ataxia telangiectasia. *J. Med. Gen.*, 12: 251, 1975.
81. Patau, K.: Chromosome identification and Denver report. *Lancet*, 1: 933, 1961.
82. Polani, P. E.: Chromosome anomalies. *Annual Review of Medicine*, 15: 93, 1964.
83. Priest, J. H.: Cytogenetics. Lea and Febiger, Philadelphia, 1969.
84. Reisman, L. E., Mitani, M., Zuelzer, W. W.: Chromosome studies in leukemia. I. Evidence for the origin of leukemic stem lines from aneuploid mutants. *New Eng. J. Med.*, 270: 591, 1964.

85. Sandberg, A. A., Ishihara, T., Kikuchi, Y., Cross-White, L. H.: Chromosome differences among the acute leukemias. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 113: 663, 1964.
86. Sandberg, A. A., Hossfeld, D. K.: Chromosomal abnormalities in human neoplasia. *Ann. Rev. Med.*, 21: 379, 1970.
87. Sandberg, A. A., Sakurai, M.: The missing Y chromosome and human leukemia. *Lancet*, 1: 375, 1973.
88. Schmidt, R., Dar, H., Santorineou, M., Sekine, I.: Philadelphia chromosome and loss and reappearance of the Y chromosome in acute lymphocytic leukemia. *Lancet*, 1: 1145, 1975.
89. Schroeder, T. M., Kurth, R.: Spontaneous chromosomal breakage and high incidence of leukemia in inherited disease. *Blood*, 37: 96, 1971.
90. Schroeder, T. M.: Relationship between chromosomal instability and leukemia. *Haematol. Bluttransfus*, 14: 94, 1974.
91. Sonta, S., Oshimura, M., Sandberg, A. A.: Chromosomes and causation of human cancer and leukemia. XXI. Cytogenetically unusual cases of leukemia. *Blood*, 48: 697, 1976.
92. Spiers, A. S. D., Baikie, A. G.: Cytogenetic studies in the malignant lymphomas. *Lancet*, 1: 506, 1966.
93. Spriggs, A. I., Boddington, M. M., Clarke, C. M.: Chromosomes in human cancer cells. *Brit. Med. J.*, 2: 1431, 1962.

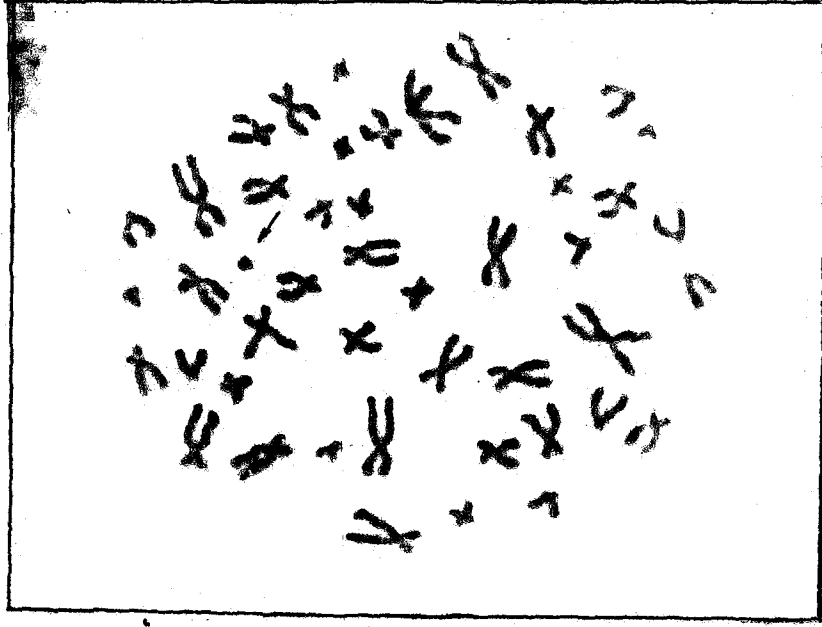
94. Srivastava, P. K., Lucas, F. V.: Evolution of human cytogenetics: An encyclopedic essay. *Journal de Génétique Humaine*, 24: 235, 1976.
95. Stewart, J. S. S., Sanderson, A. R.: Chromosomal aberration after diagnostic X-irradiation. *Lancet*, 1: 978, 1961.
96. Strong, L. C.: Genetic etiology of cancer. *Cancer*, 40: 438, 1977.
97. Şaylı, B. S.: Medikal genetik: 1. Teorik ve klinik sitogenetik. Dördüncü baskı, Ankara Üniv. Tıp Fak. Yayınlarından, Sayı:381, Ankara, 1979.
98. Şaylı, B. S.: Medikal genetik: 2. Temel medikal genetik. Dördüncü baskı, Ankara Üniv. Tıp Fak. Yayınlarından, Sayı:430, Ankara, 1982.
99. Tayşi, K., Say, B.: Tıbbi genetik. Hacettepe Üniv. Yayınları, A 12, Ankara, 1975.
100. Tezok, Ö. F.: Genetikte temel prensipler ve insan genetiğindeki değerlendirilmeleri. Bursa Üniv. Tıp Fak., Bursa, 1977.
101. Tjio, J. H., Levan, A.: The chromosome number of man. *Hereditas*, 42: 1, 1956.
102. Tjio, J. H., Whang, J.: Chromosome preparations of bone marrow cells without prior in vitro culture or in vivo colchicine administration. *Stain Technology*, 37: 17, 1962.
103. Tjio, J. H., Carbone, P. P., Whang, J., Frei III, E.: The Philadelphia chromosome and CML. *J. Nat. Cancer Inst.*, 36: 567, 1966.

104. Tough, I. M., Court-Brown, W. M., Baikie, A. G., Buckton, K. E., Harnden, D. G., Jacobs, P. A., King, M. J., McBride, J. A.: Cytogenetic studies in chronic myeloid leukemia and acute leukemia associated with mongolism. *Lancet*, 1: 411, 1961.
105. Tough, I. M., Court-Brown, W. M., Baikie, A. G., Buckton, K. E., Harnden, D. G., Jacobs, P. A., Williams, J. A.: Chronic myeloid leukemia. *Lancet*, 2: 115, 1962.
106. Tough, I. M., Jacobs, P. A., Court-Brown, W. M., Baikie, A. G., Williamson, E. R. D.: Cytogenetic studies on bone-marrow in chronic myeloid leukemia. *Lancet*, 1: 844, 1963.
107. Turpin, R., Lejeune, J.: Les Chromosomes humains (caryotype normal et variations pathologiques). Gauthier-Villars, Paris, 1965.
108. Vagner-Capodano, A. M.: Aspects chromosomiques des leucémies myéloïdes chroniques en acutisation. *Nouvelle Revue Française d'Hématologie*, 12: 87, 1972.
109. Whang-Peng, J., Freireich, E. J., Oppenheim, J. J., Frei III, E., Tjio, J. H.: Cytogenetic studies in 45 patients with acute lymphocytic leukemia. *J. Nat. Cancer Inst.*, 42: 881, 1969.
110. Whang-Peng, J., Knutsen, T., Ziegler, J., Leventhal, B.: Cytogenetic studies in acute lymphocytic leukemia. *Medical and Pediatric Oncology*, 2: 333, 1976.

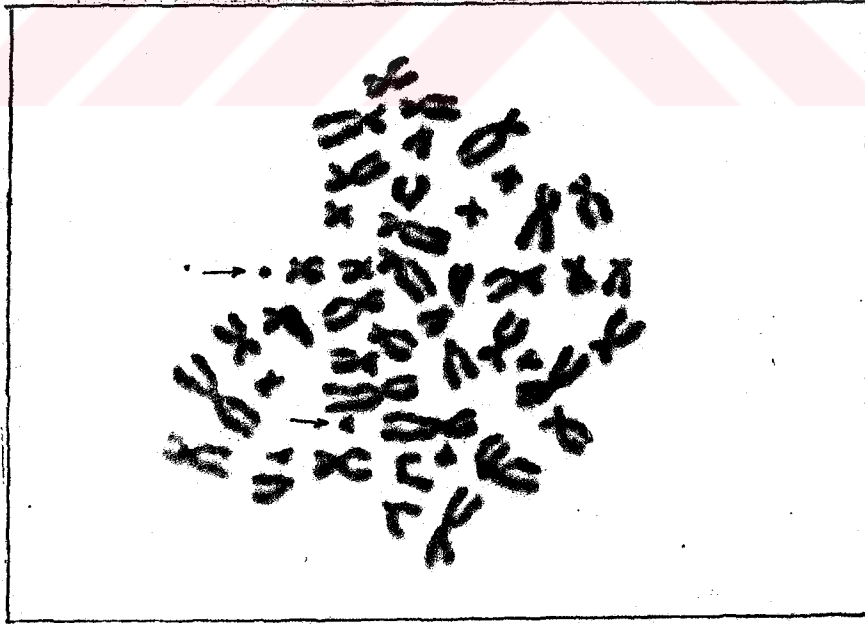
111. Williams, C.: Management of malignancy in "cancer families".
Lancet, 1: 198, 1978.
112. Wurster-Hill, D. H., Cornwell III, G. G., McIntyre, O. R.:
Chromosomal aberrations and neoplasm- A family
study. Cancer, 33: 72, 1974.
113. Yamada, K., Yoshioka, M., Oami, H.: A 14q+ marker and a late
replicating chromosome 22 in a brain tumor: Brief
communication. J. Natl. Cancer Inst., 59: 1193,
1977.

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

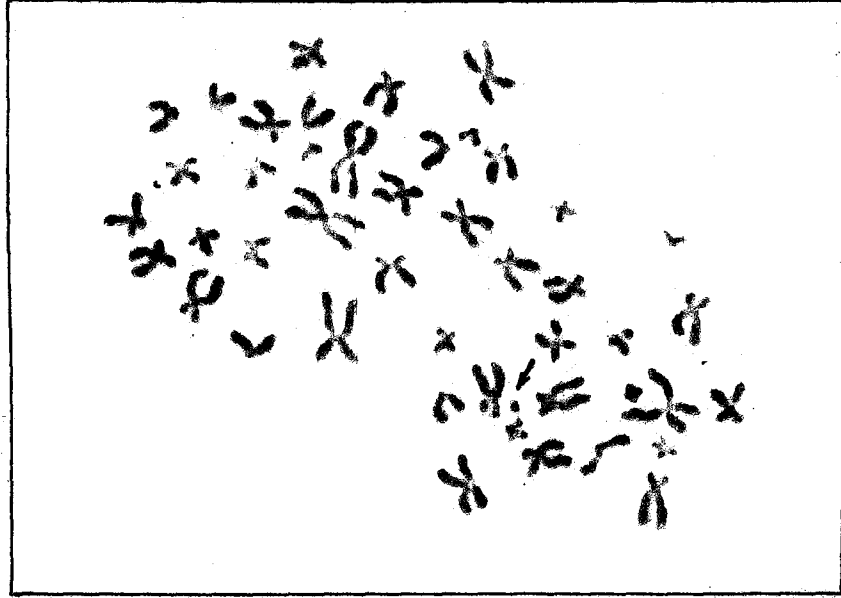
E K L E R



Şekil 11. $2n=46,XX$ bir KML li olguda Philadelphia kromozomu.



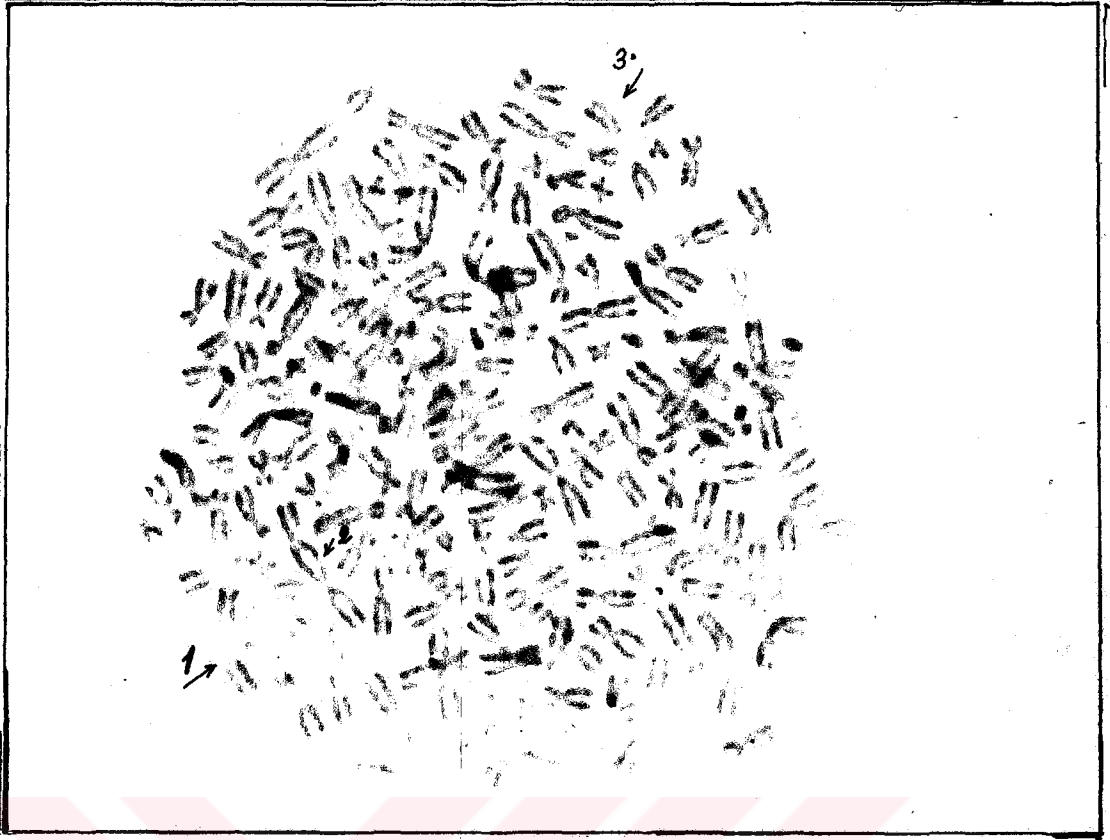
Şekil 12. $2n=46,XX$ bir KML li olguda Philadelphia kromozomu ve kromozom damlacığı.



Şekil 13. $2n=46,XY$ bir KML li olguda Philadelphia kromozomu



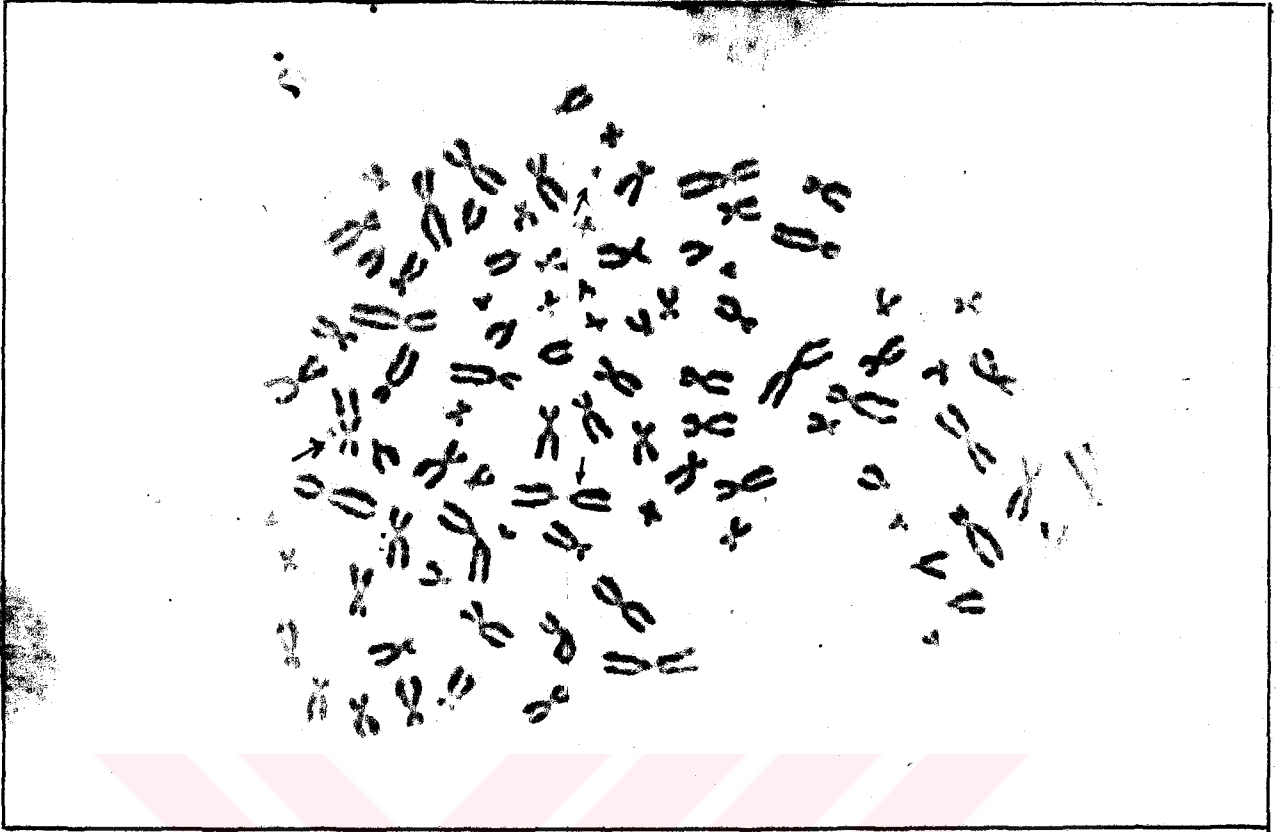
Şekil 14. $2n=47,XY,E-,G+$ ve minik kromozom.



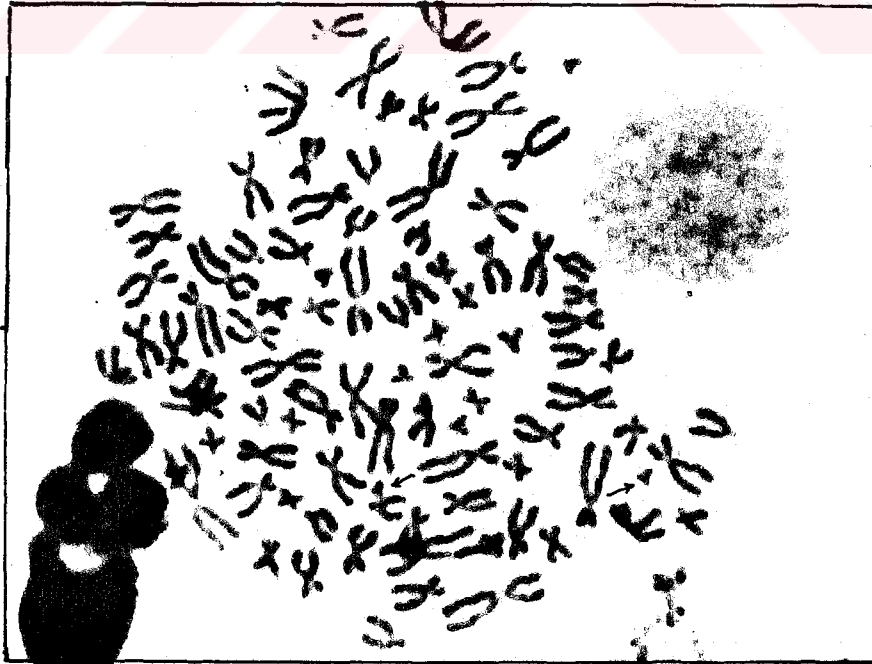
Şekil 15. Poliploid bir hücre (8n). 1. sekonder darlık
2. Disentrik kromozom 3. 3D asosiasyonu.



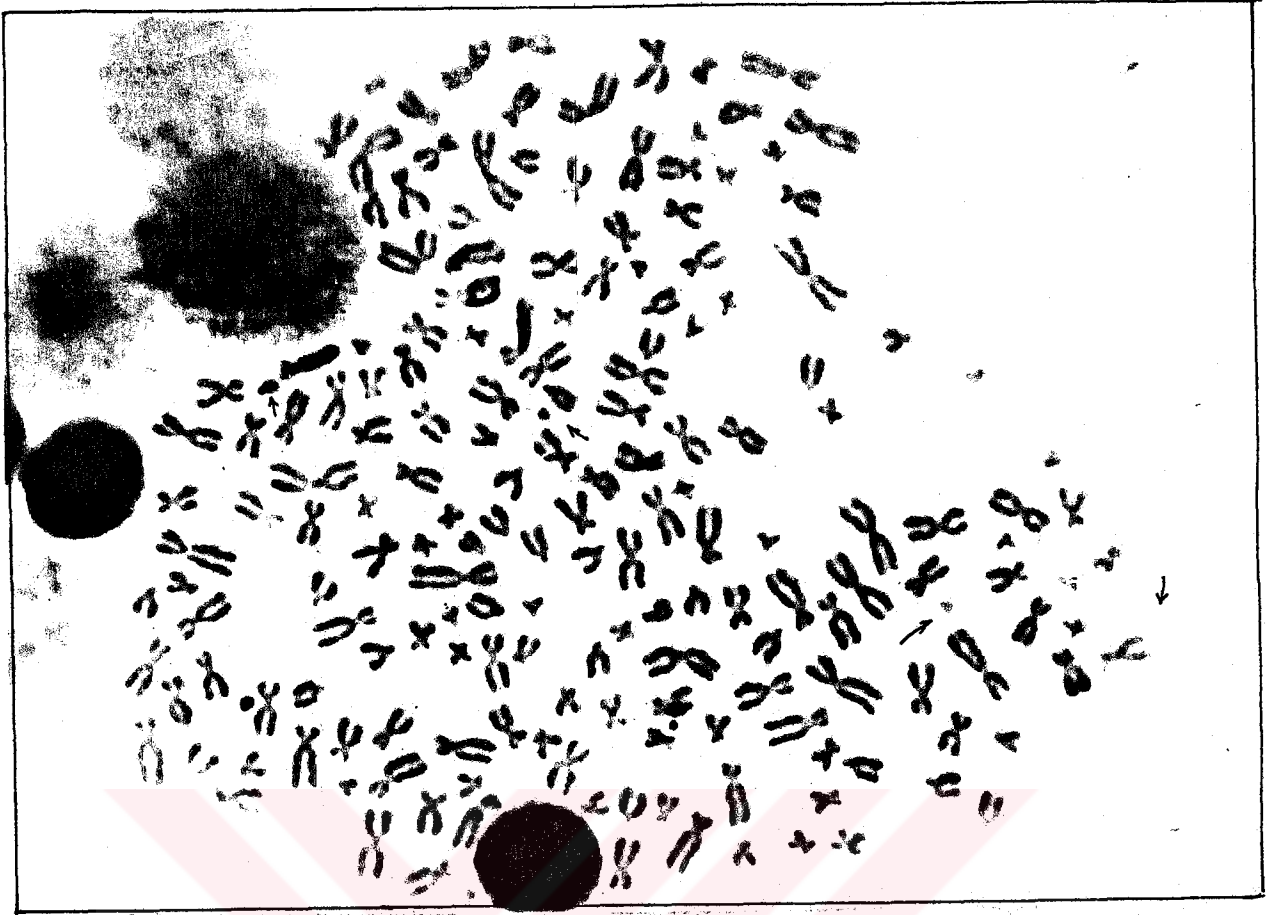
Şekil 16. Poliploid bir hücre (4n). A grup kromozomda
gap ve Philadelphia kromozomları.



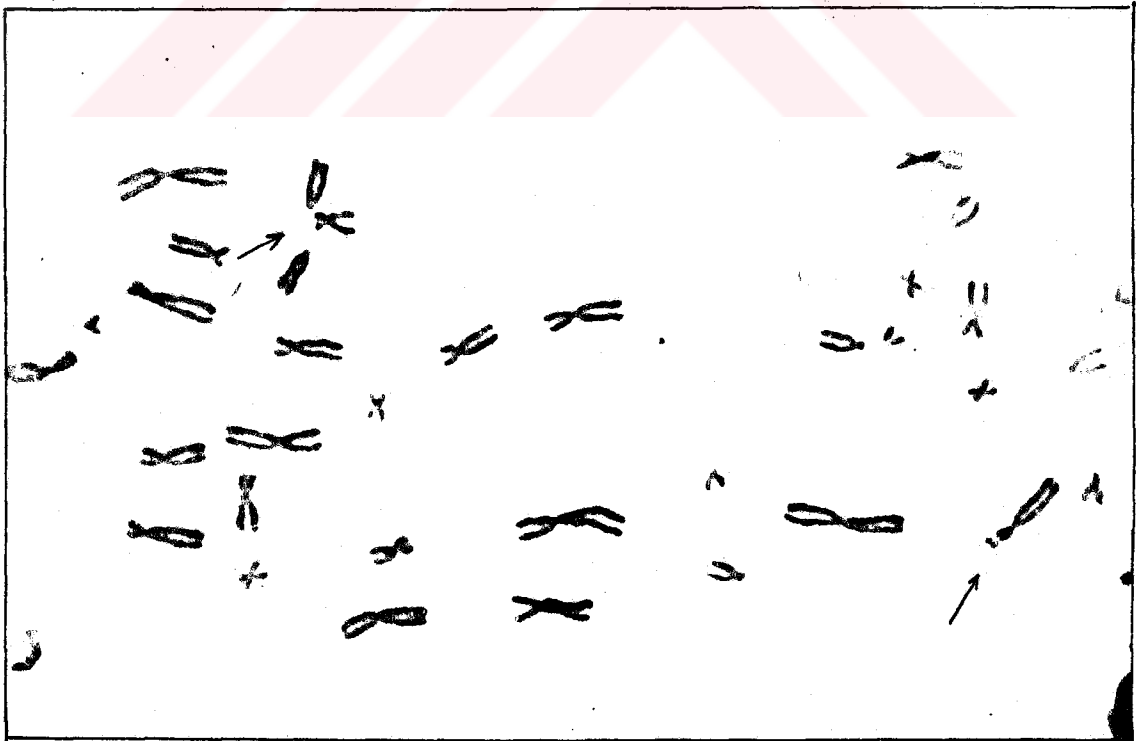
Şekil 17. 4n li poliploid hücre. Sentromersiz kromozom ve Philadelphia kromozomu.



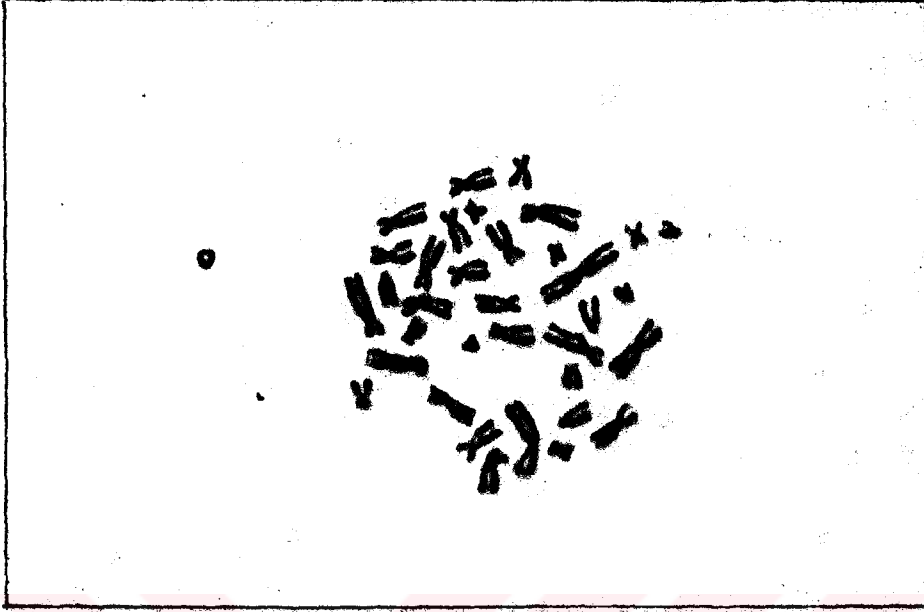
Şekil 18. 4n li ve iki Philadelphia kromozomu içeren poliploid hücre.



Şekil 19. 8n li ve dört Philadelphia kromozomu içeren poliploid hücre.



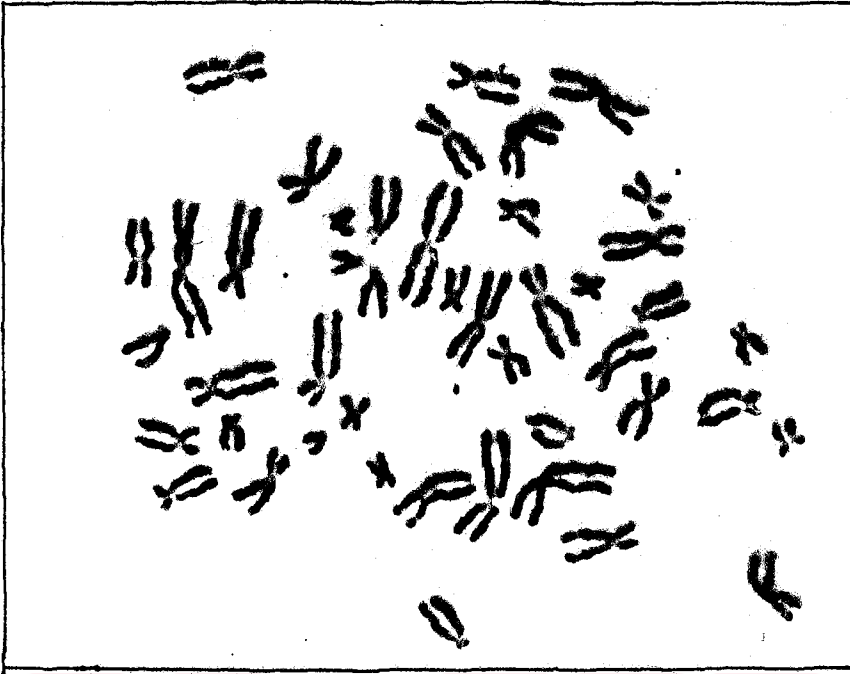
Şekil 20. CDD asosiasyonu, B grup kromozomda satellit.



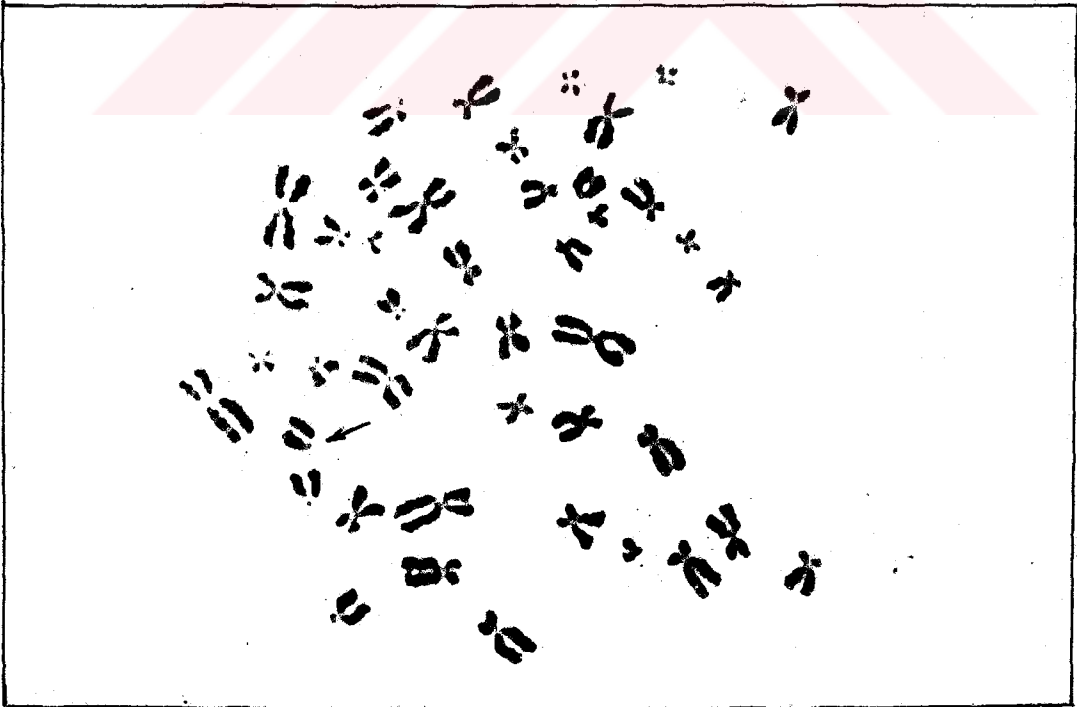
Şekil 21. $2n=35$ kromozomlu hipoploid hücre.



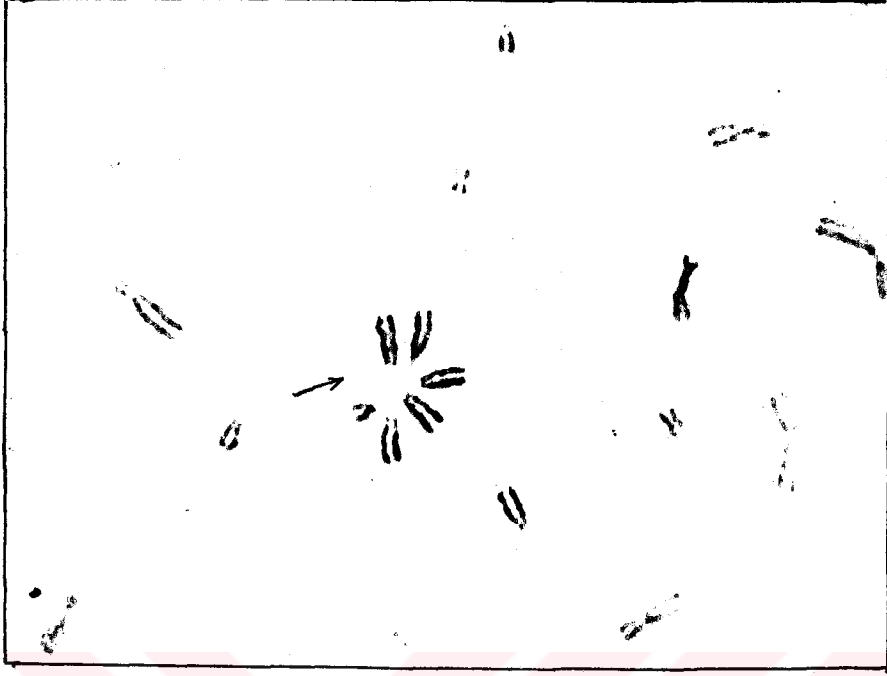
Şekil 22. $2n=44$ kromozomlu hipoploid hücre.



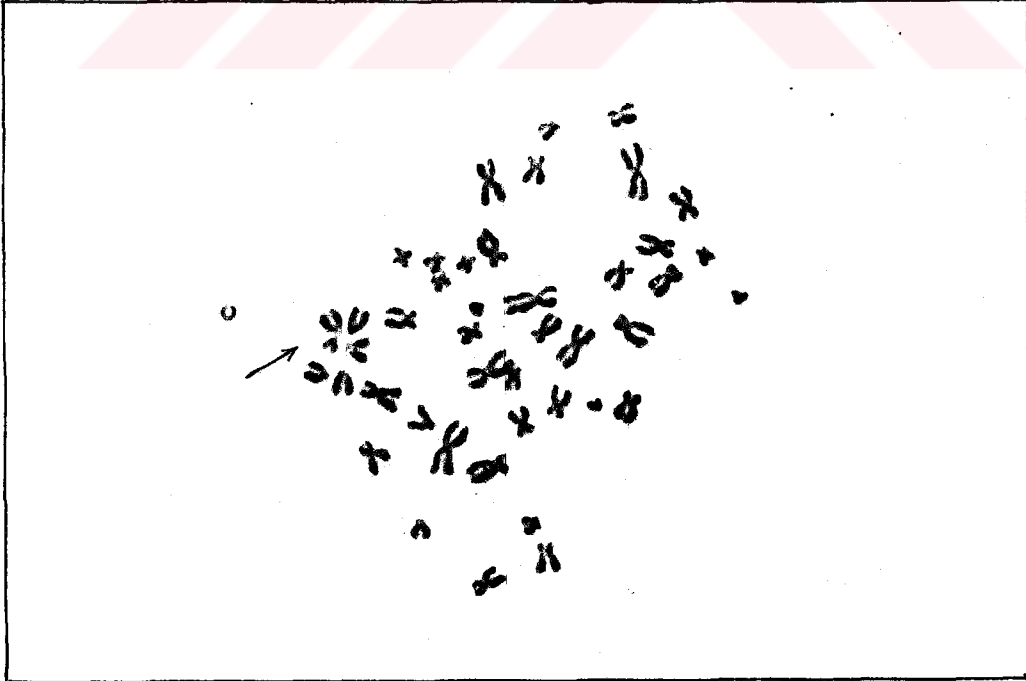
Şekil 23. 2n=45,XX,G-.



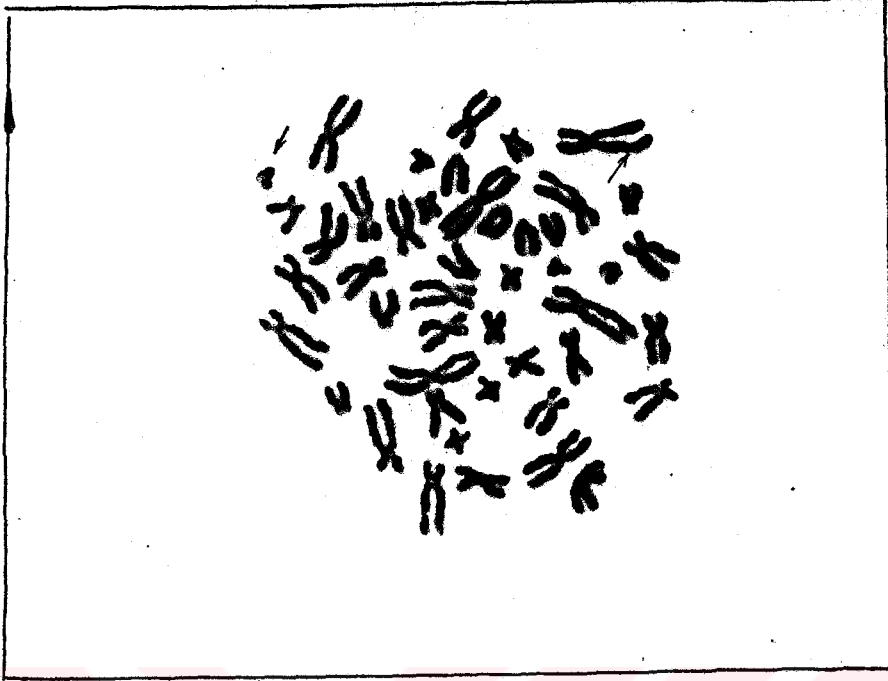
Şekil 24. 2n=45,XX,C-. Sentromersiz kromozom.



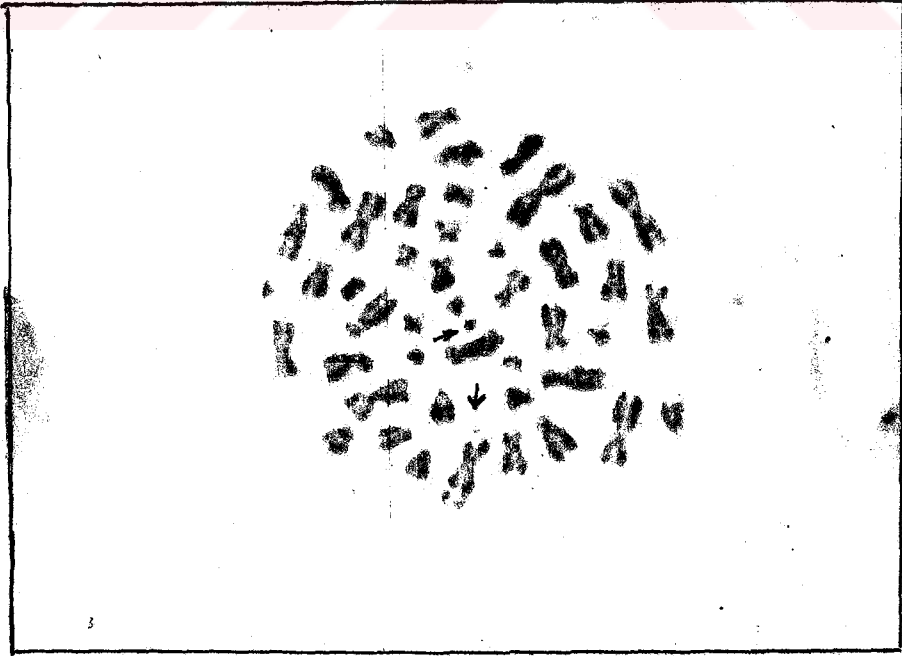
Şekil 25. Satelit asosiasyonu.



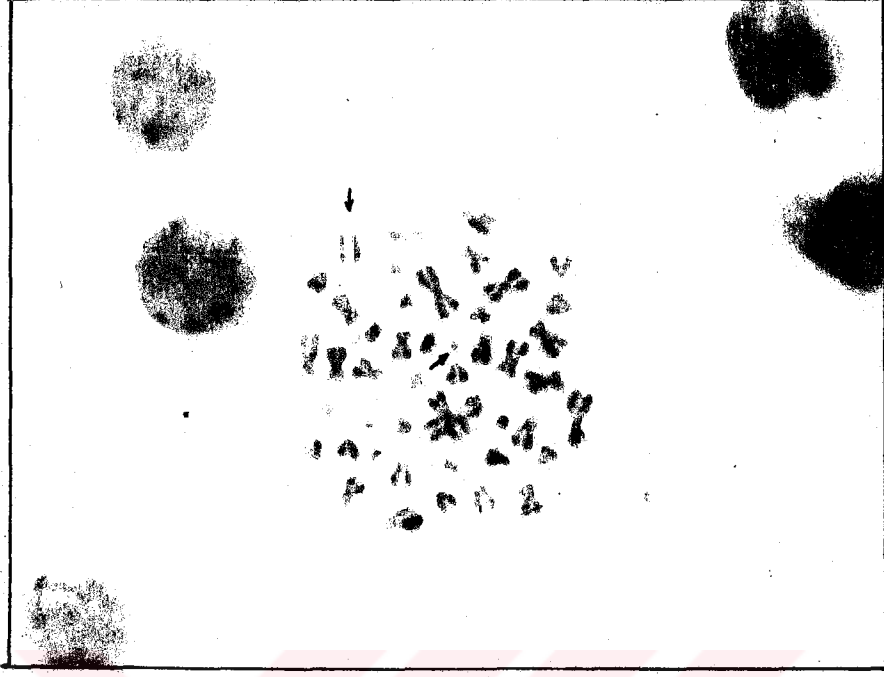
Şekil 26. Satelit asosiasyonu.



Şekil 27. Kırık ve minik kromozom.



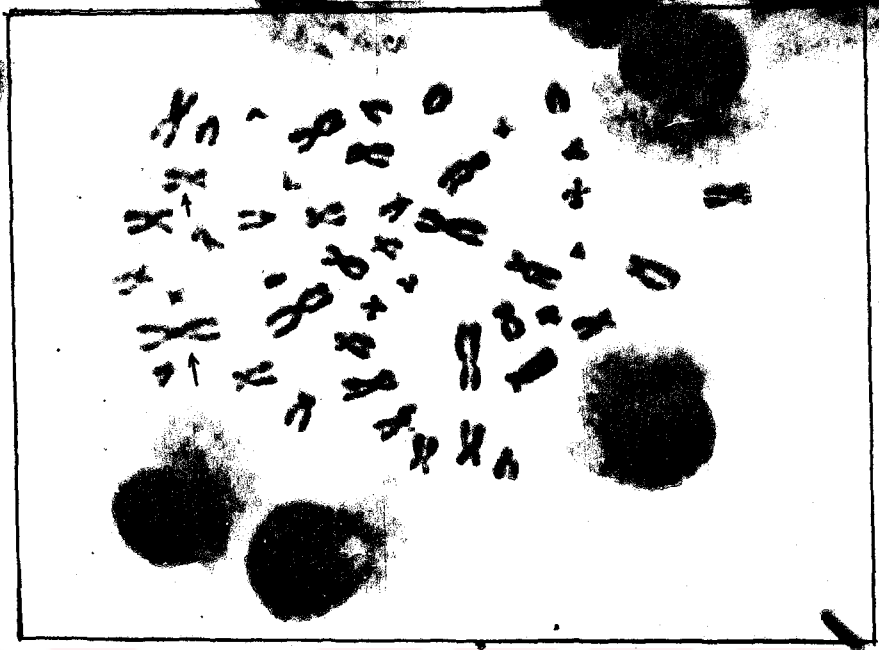
Şekil 28. A grup kromozomda kırık ve küçük G grup kromozom.



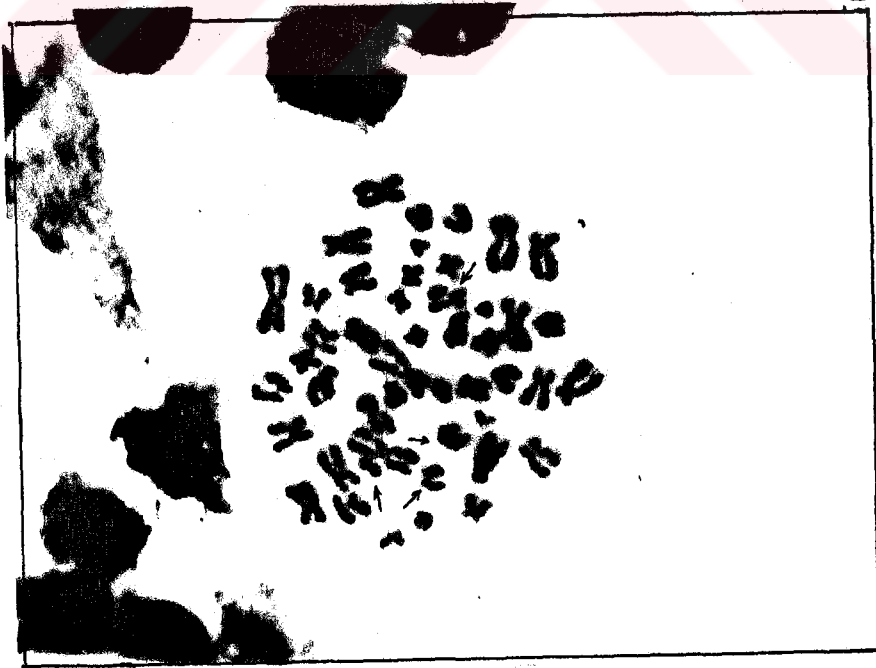
Şekil 29. Büyük akrosentrik kromozom ve G grup küçük kromozom.



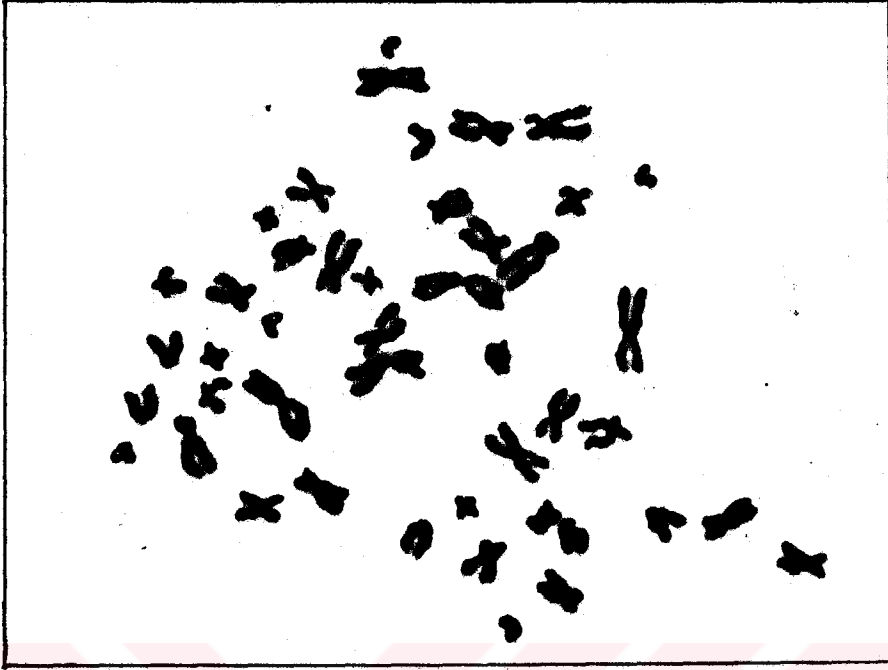
Şekil 30. 47 kromozomlu ($2n=47,XY,C+$) hiperploid hücre ve gap ile kromatid kırıkları.



Şekil 31. $2n=47, XY, C+$ olan hiperploidy hücre ve büyük A grup kromozom.



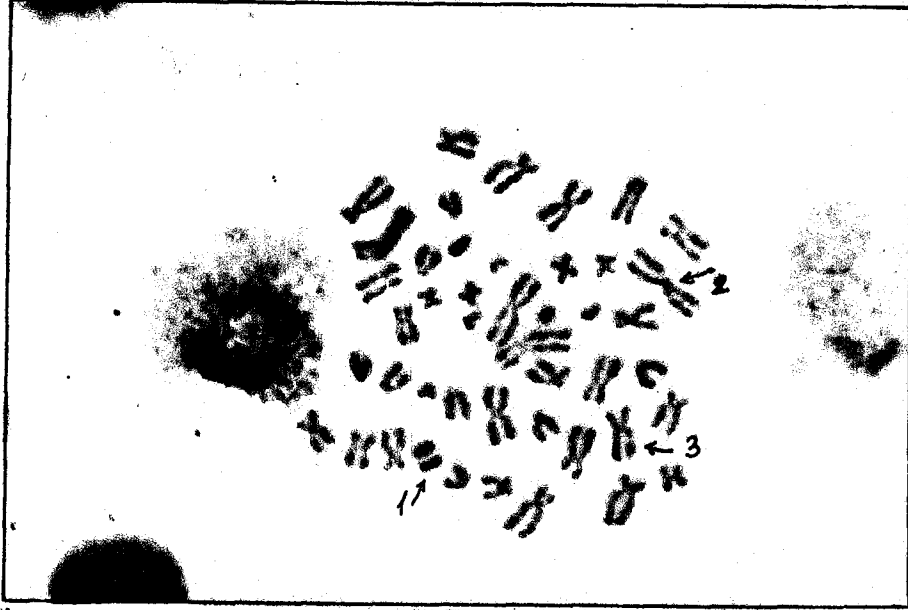
Şekil 32. $2n=47, XY, G+$ olan hiperploidy hücre. C grup kromozomda kromatid kırık, sentromersiz ve minik kromozom.



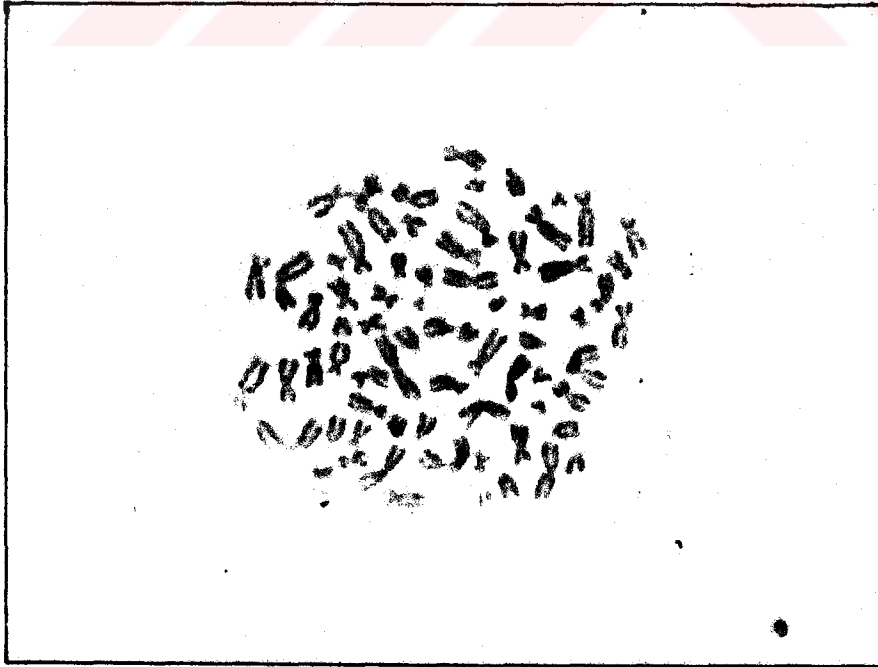
Şekil 33. $2n=45, XY, C-$ olan hipoploid hücre.



Şekil 34. $2n=45, X$ olan (Y-) hipoploid hücre.



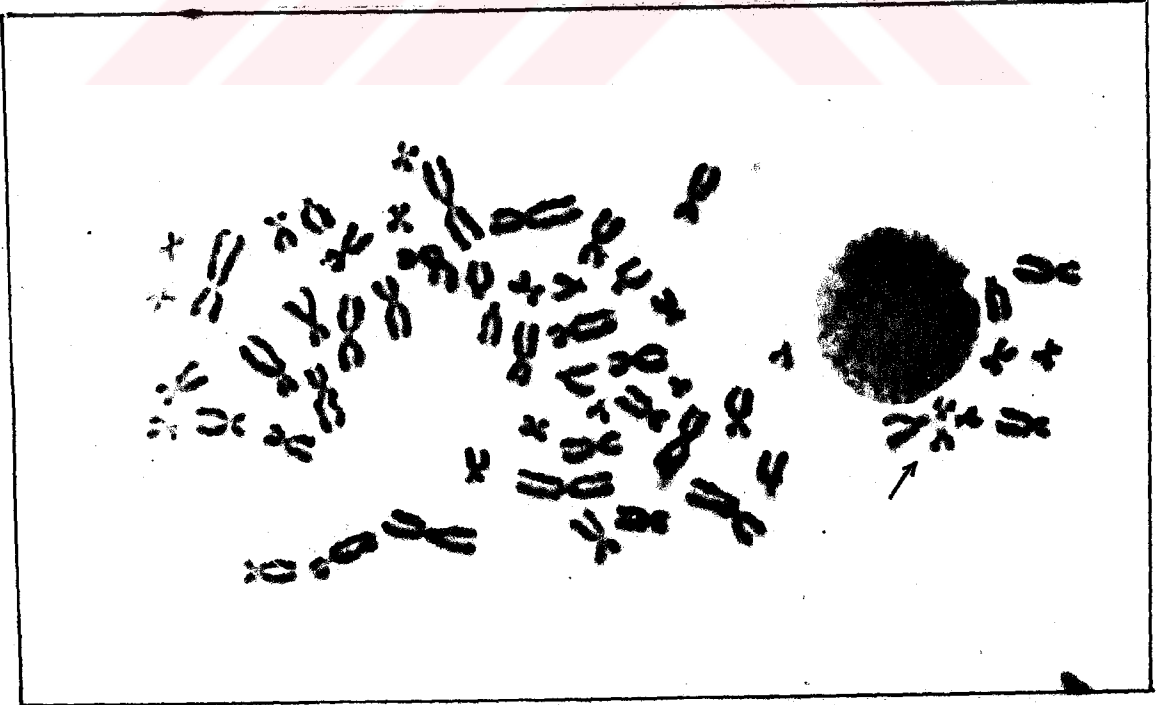
Şekil 35. $2n=45, XY, 7E-$ olan hipoploid hücre. 1. Asentrik fragment, 2. A grup kromozomda kırık, 3. C grup kromozomda kromatid gap.



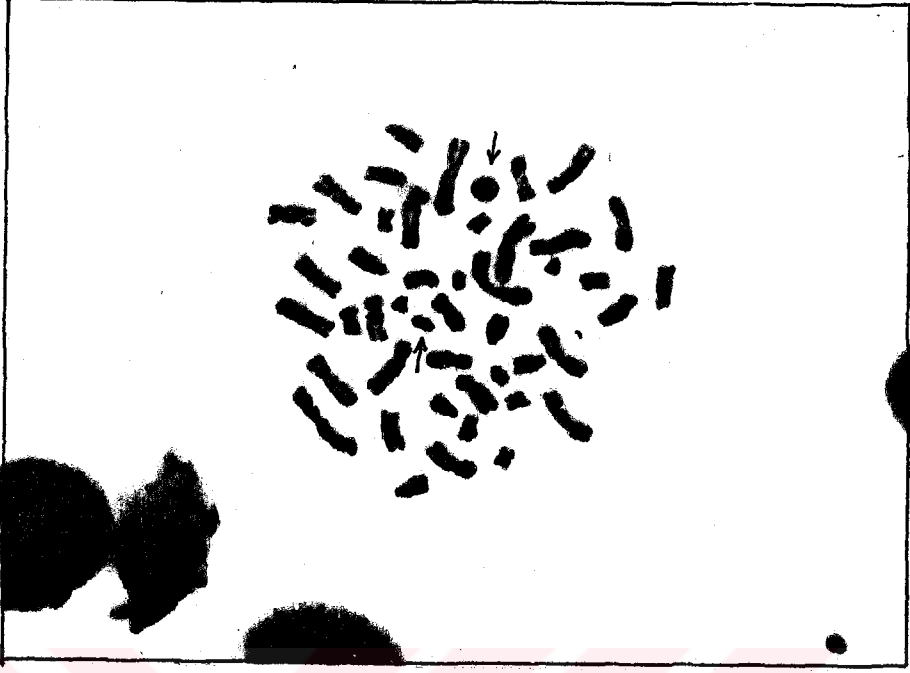
Şekil 36. $4n=72$ kromozomlu poliploid hücre.



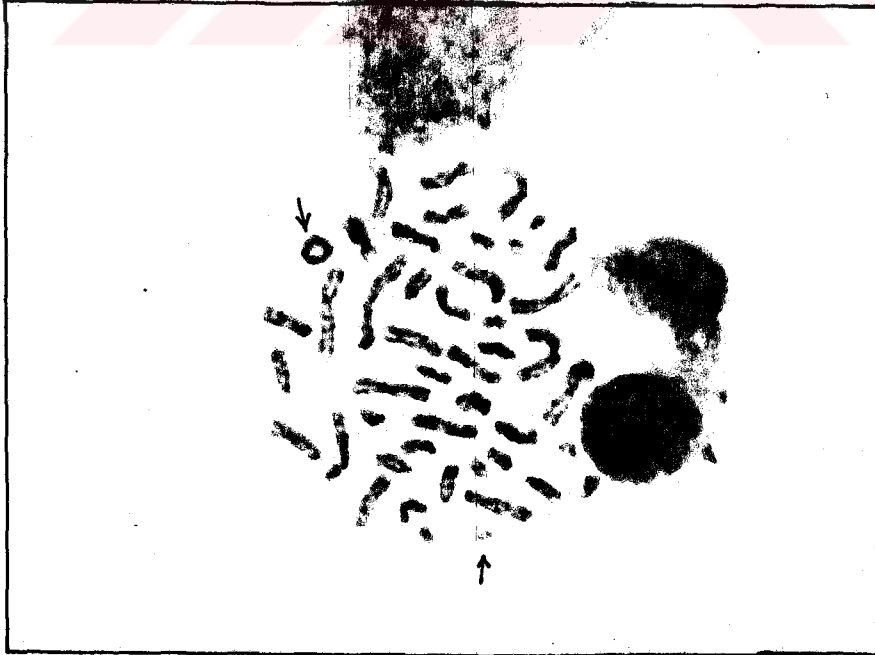
Şekil 37. $4n=89$ kromozomlu poliploid hücre.



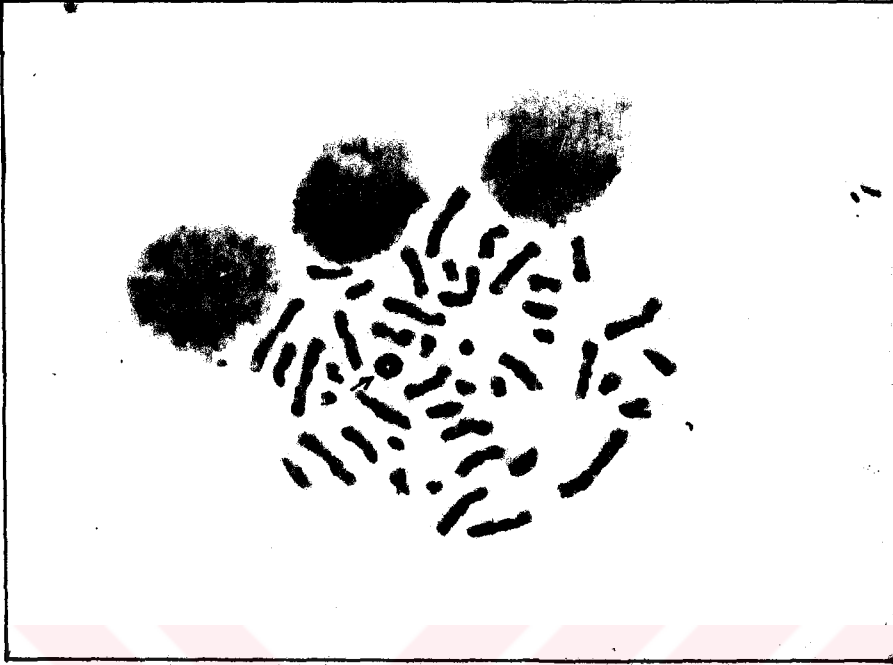
Şekil 38. $3n=58$ kromozomlu hücre ve 3GD asosiasyonu.



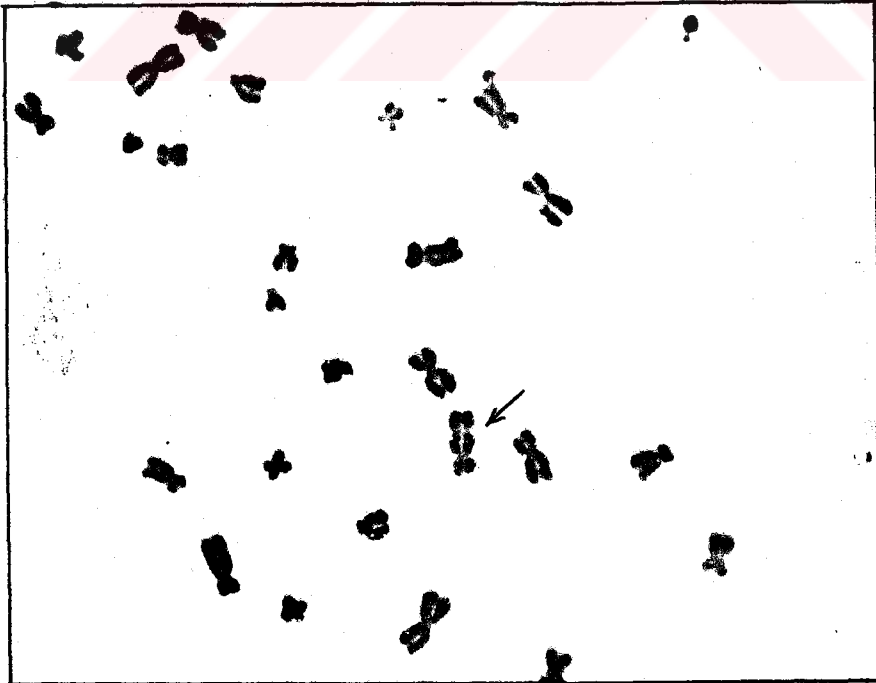
Şekil 39. Ring (halka, yüzük) kromozom ve minik (minut) kromozom.



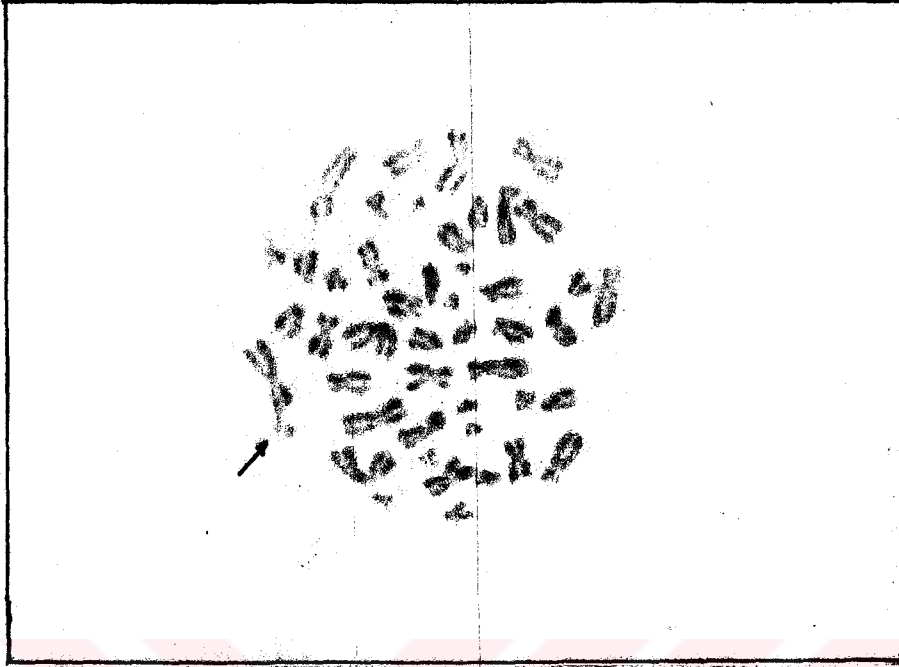
Şekil 40. Ring ve minik kromozom.



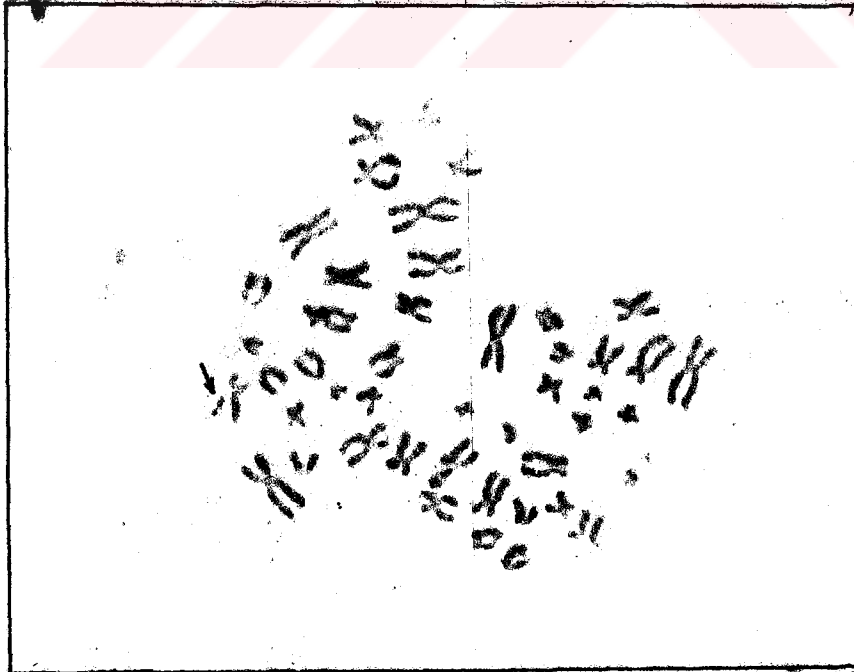
Şekil 41. Ring kromozom.



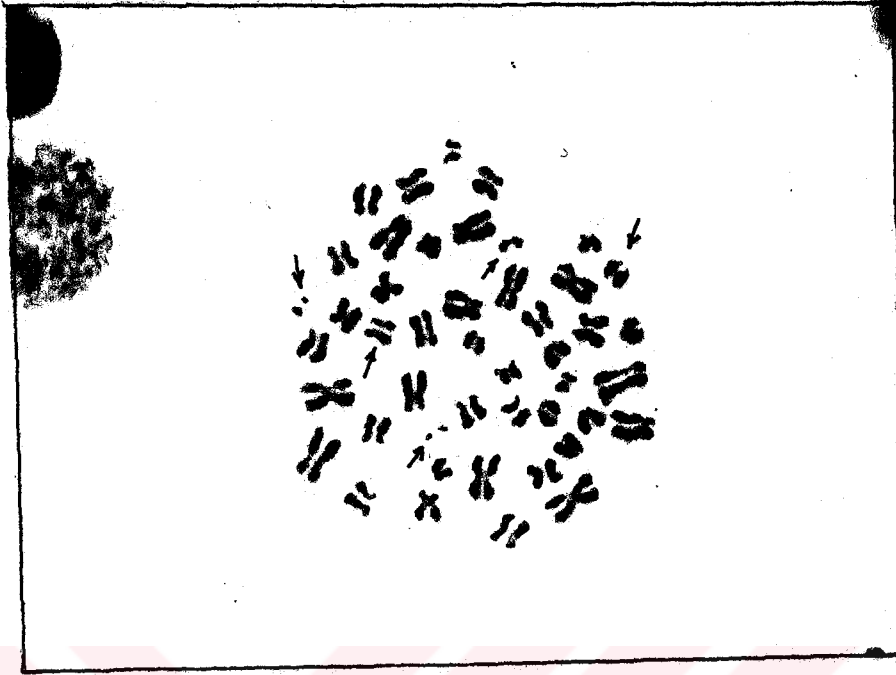
Şekil 42. Disentrik kromozom.



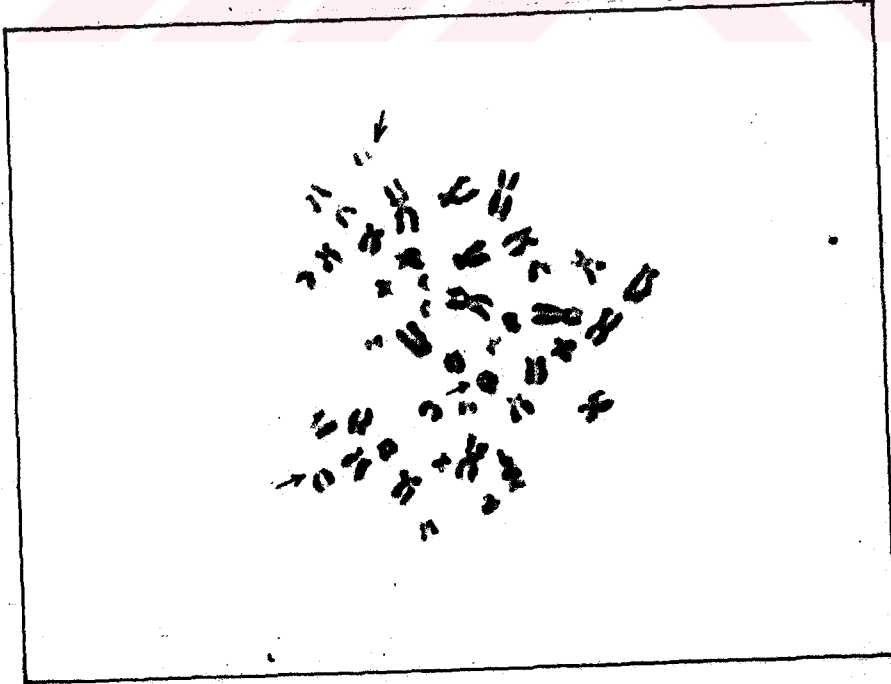
Şekil 43. A grup kromozomda kromatid kırık.



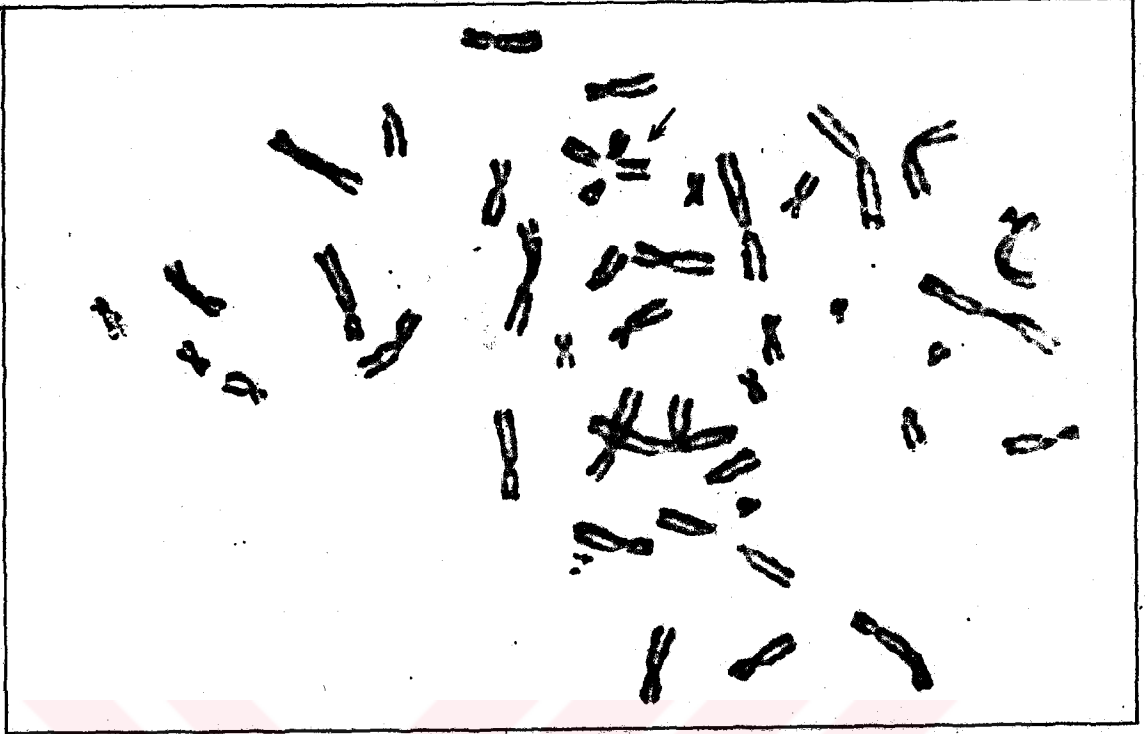
Şekil 44. C grup kromozomda kromatid kırık.



Şekil 45. Sentromer bölünmesinde asenkroni. Minik, sentromerli ve sentromersiz kromozomlar.



Şekil 46. Sentromersiz kromozomlar.



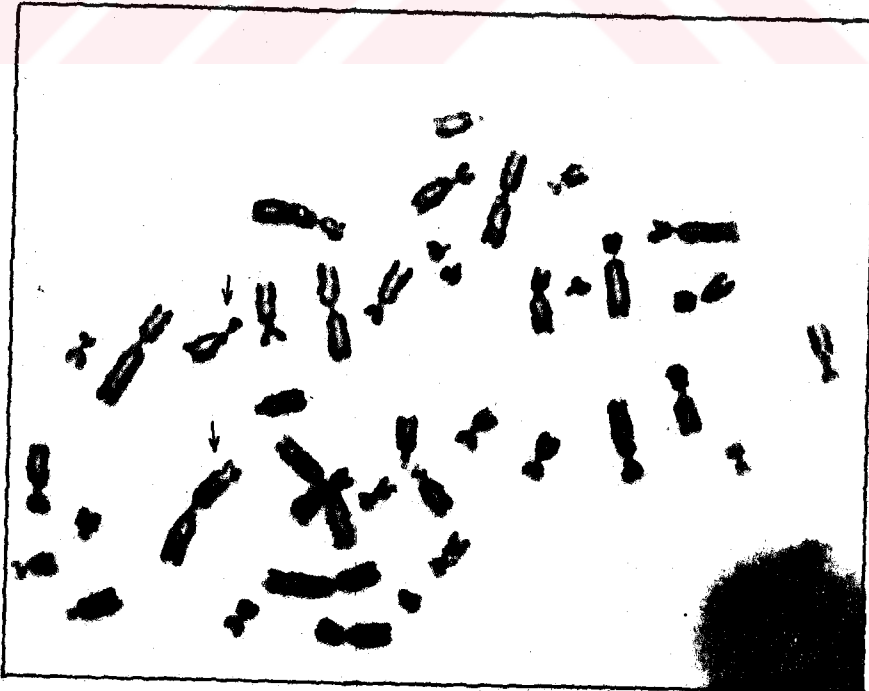
Şekil 47. Haç biçimi kromozom.



Şekil 48. Haç biçimi kromozom.



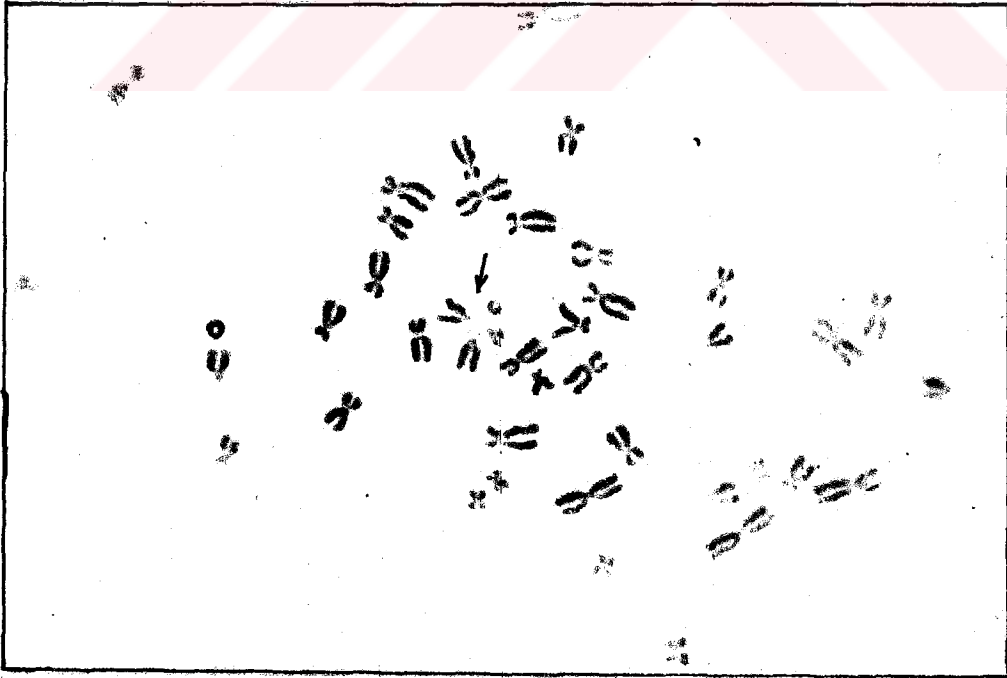
Şekil 49. İri satellit.



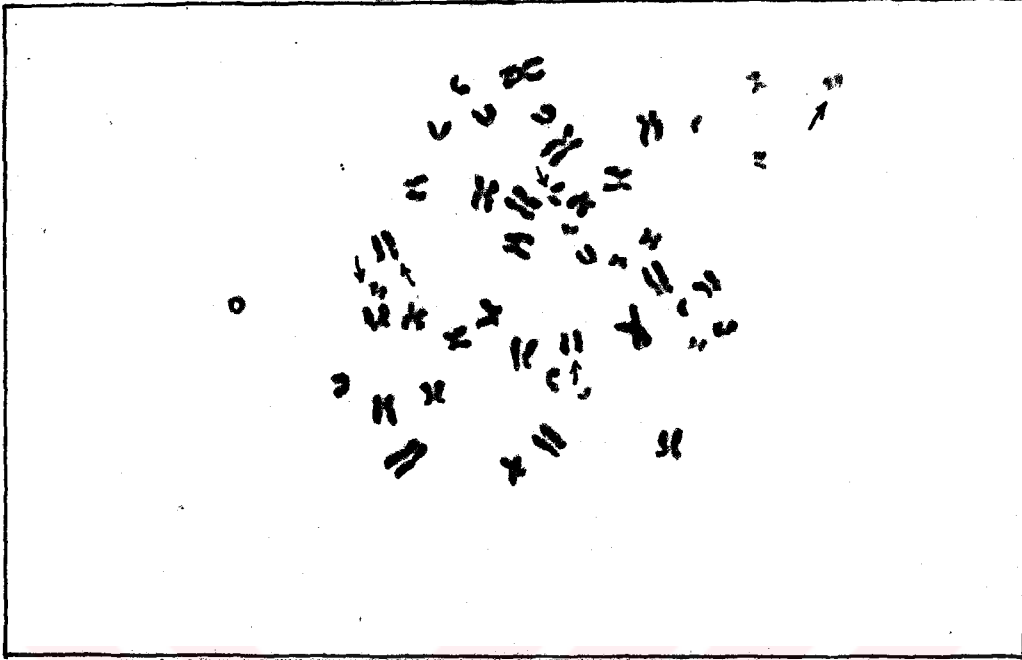
Şekil 50. İri satellit ve A grup kromozomda izokromatid gap.



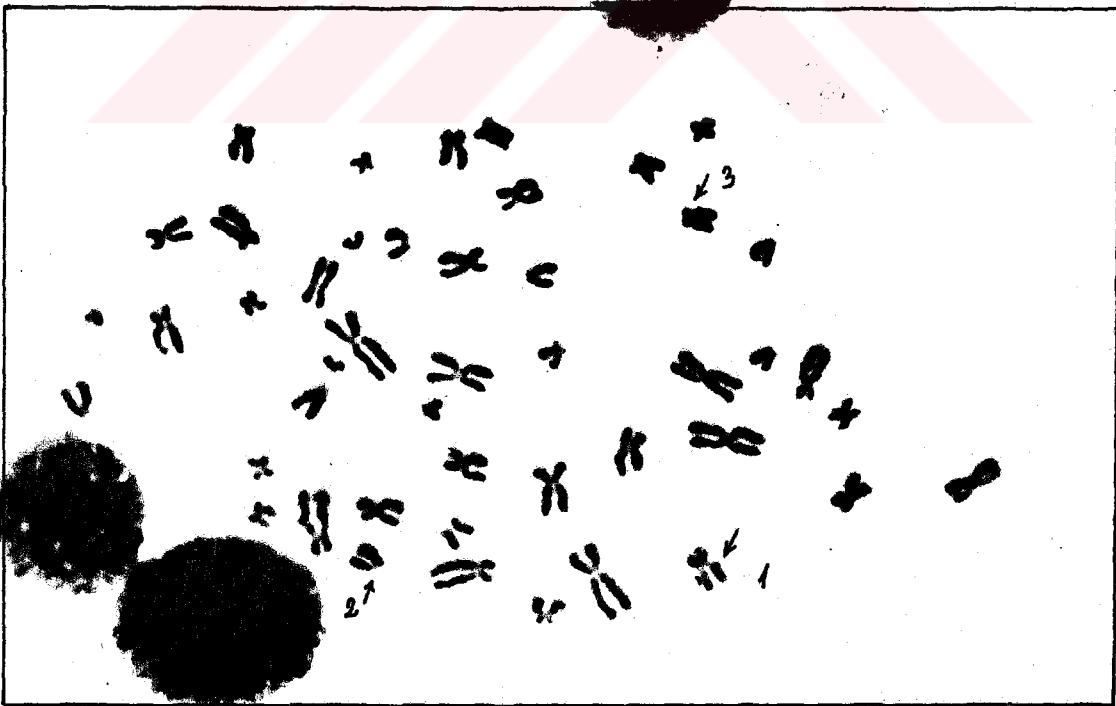
Şekil 51. Büyük (simge) D grup kromozom.



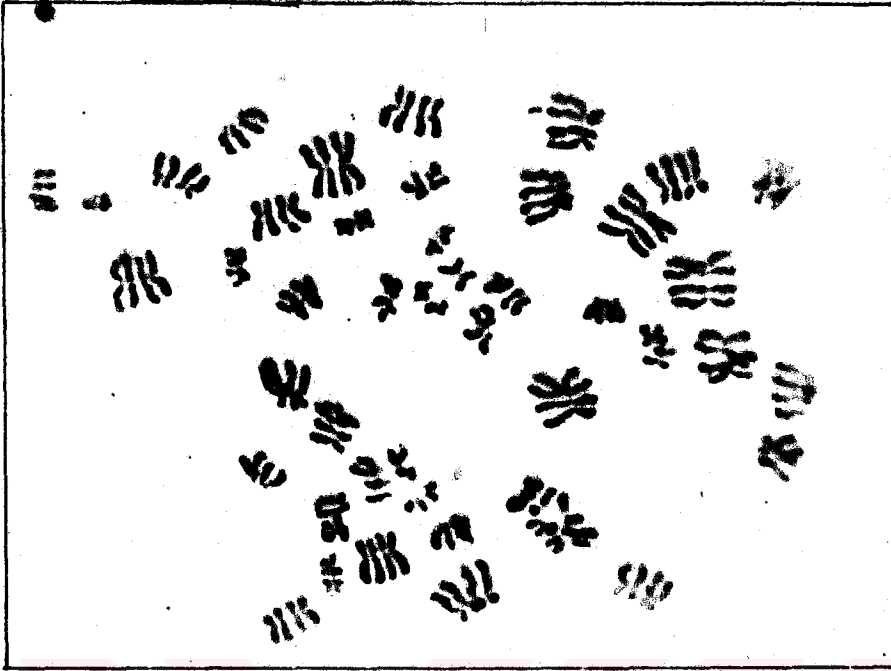
Şekil 52. Satellit asosiasyonu.



Şekil 53. Sentromerli ve sentromersiz fragmentler.



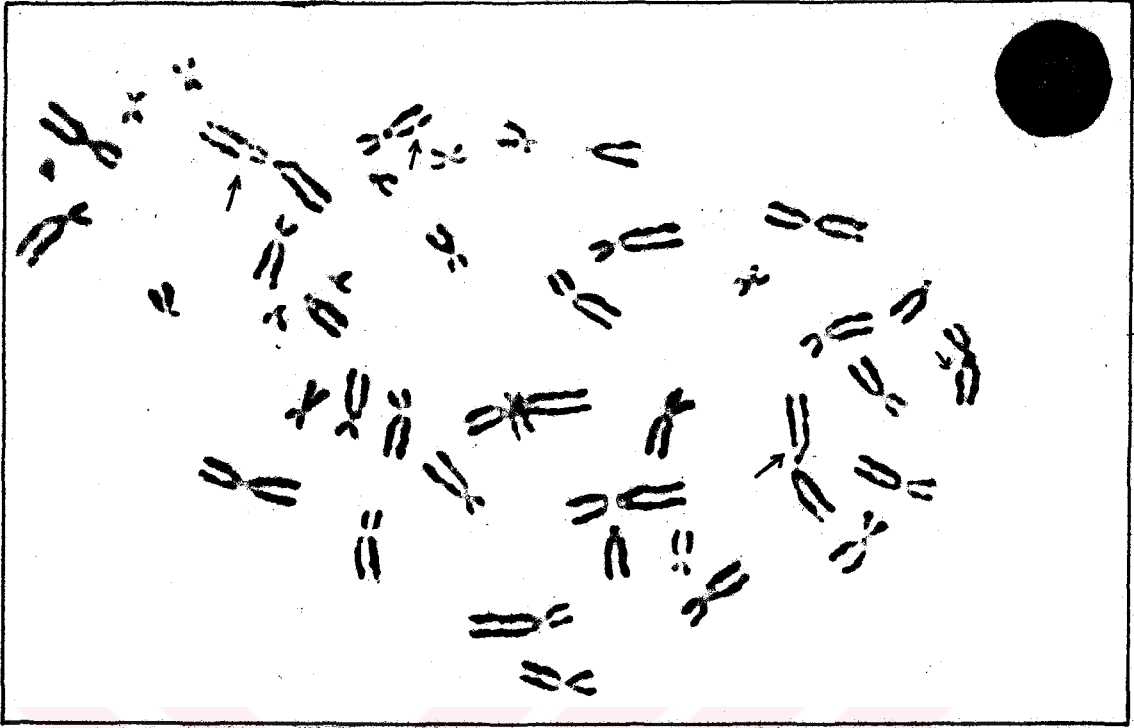
Şekil 54. 1. C grup kromozomda kromatid kırık, 2. D grup kromozomda kromatid kırık, 3. E grup kromozomda sentromerli fragment.



Şekil 55. Endoredüplikasyon.



Şekil 56. Disentrik kromozom.



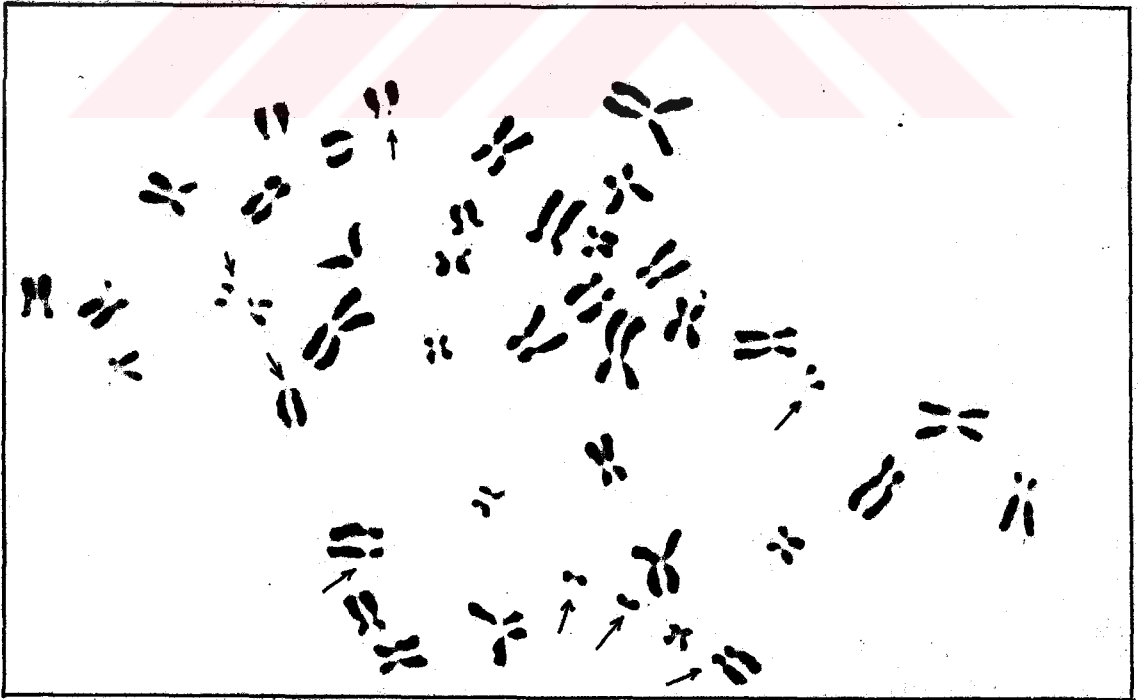
Şekil 57. Kromatid gap'ler.



Şekil 58. 1. Kromatid gap, 2. A grup kromozomda izokromatid gap ?, satellit ?



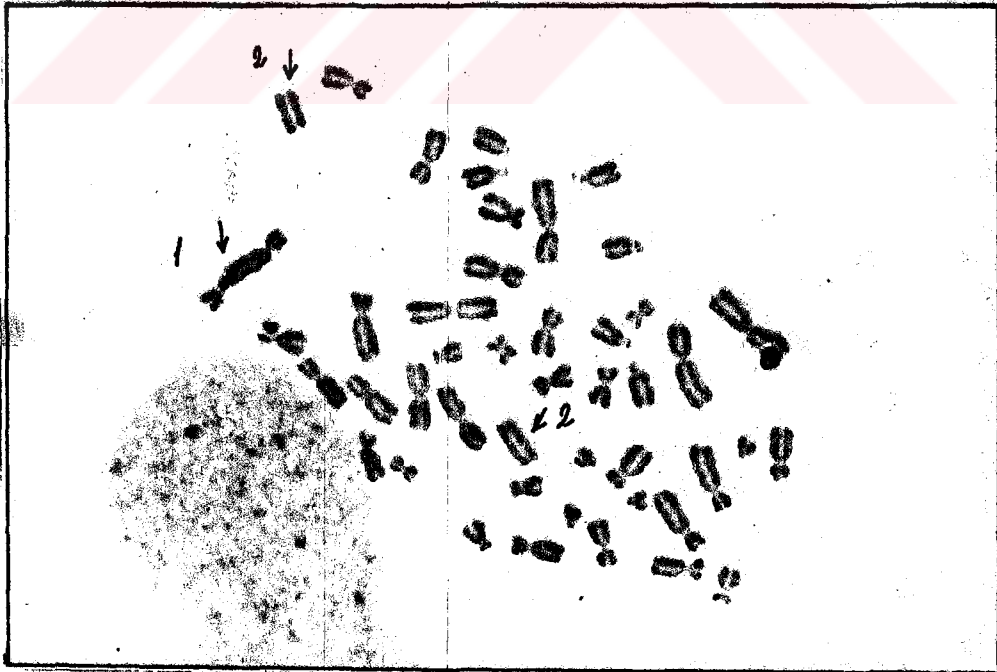
Şekil 59. Kırık ve iri satellit.



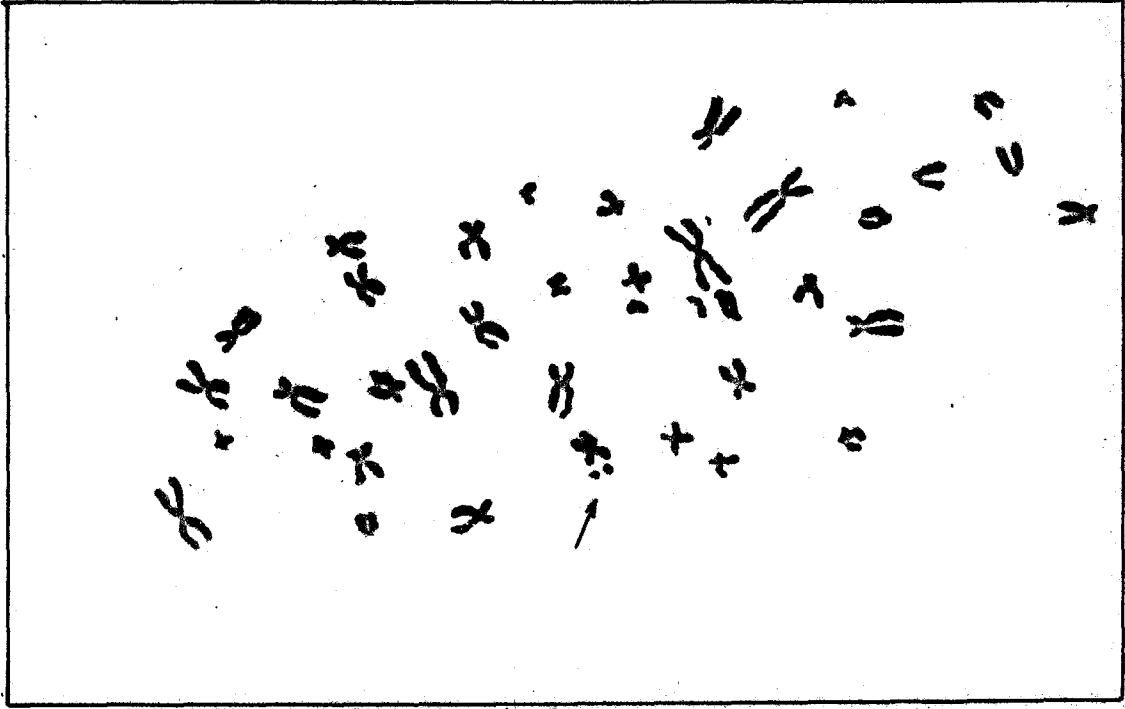
Şekil 60. Sentromerli ve sentromersiz kromozomlar
(fragment) ile minik kromozomlar.



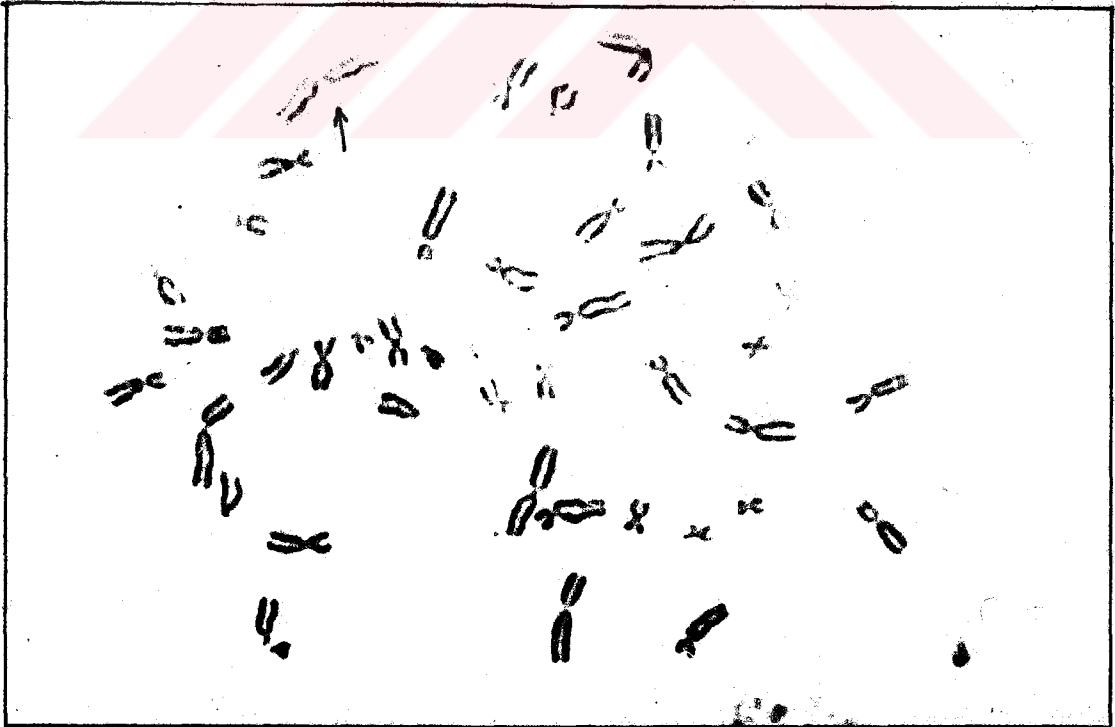
Şekil 61. Kromozomlarda yapışma, kırık ve gap'ler.



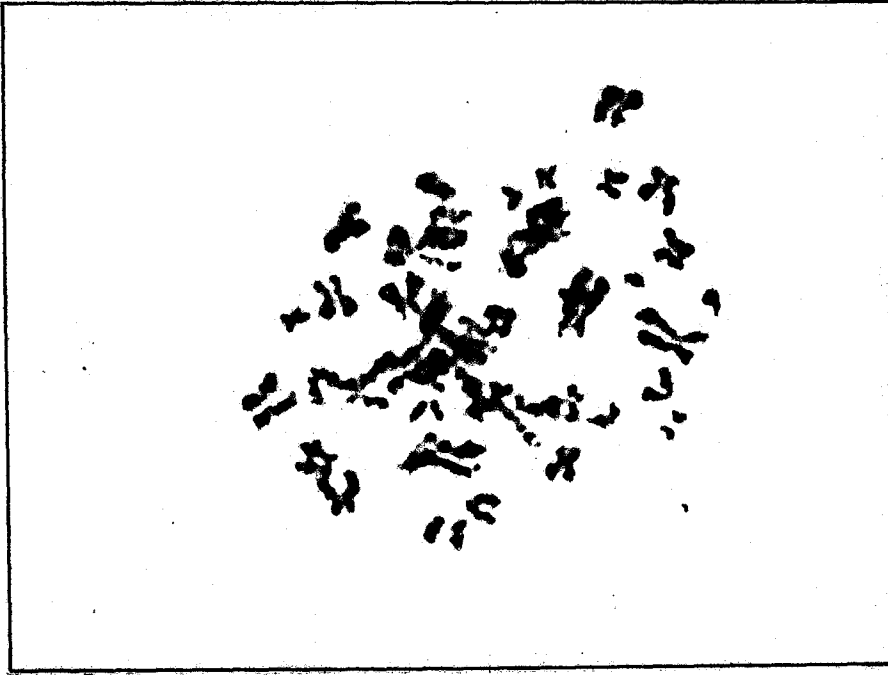
Şekil 62. 1. Disentrik simge kromozom, 2. Asentrik fragmentler (sentromersiz kromozomlar).



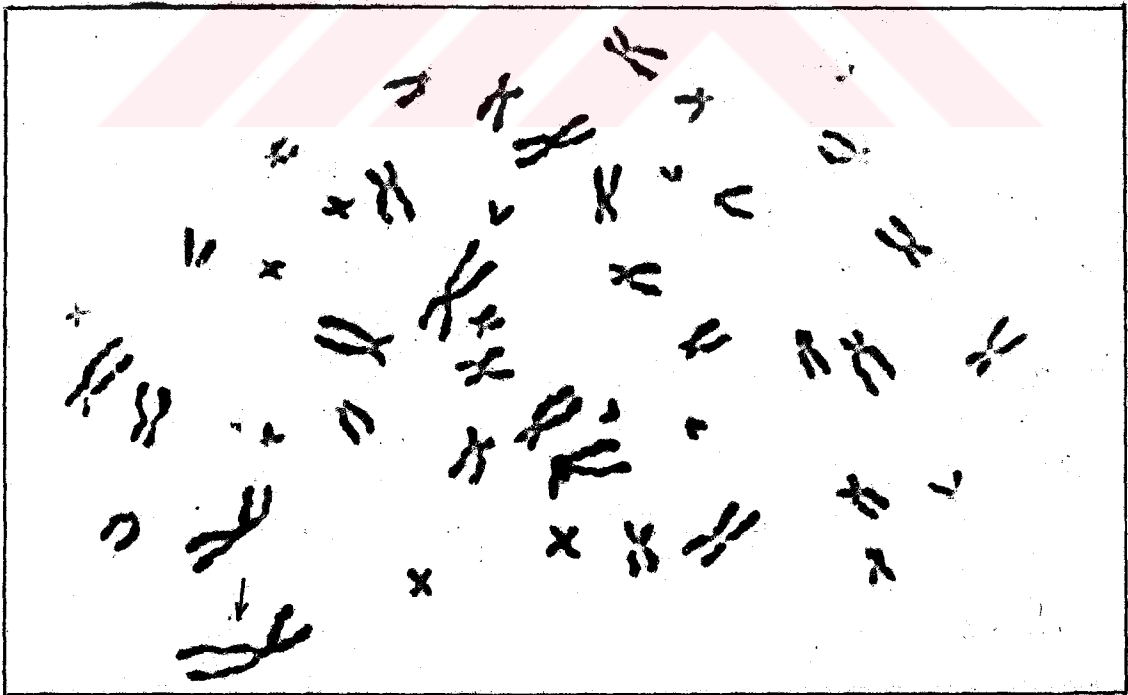
Şekil 63. C grup kromozomda izokromatid kırık.



Şekil 64. Büyük A grup kromozom.



Şekil 65. Kromozomlarda yapışma.



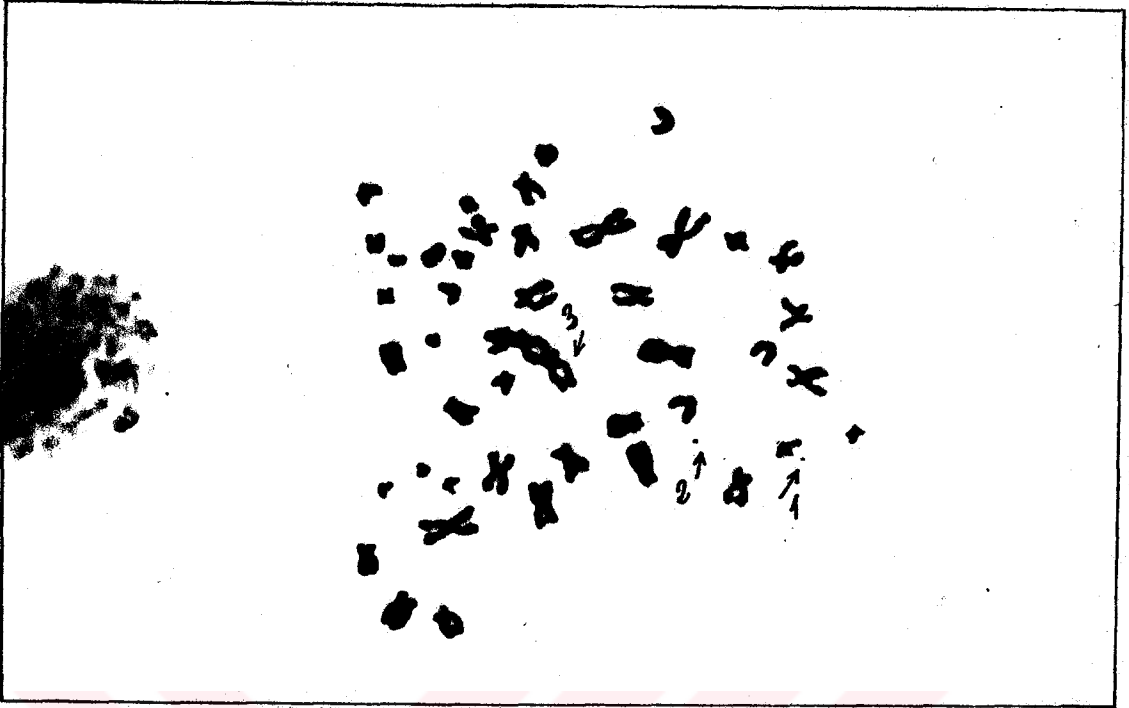
Şekil 66. Büyük A grup kromozom.



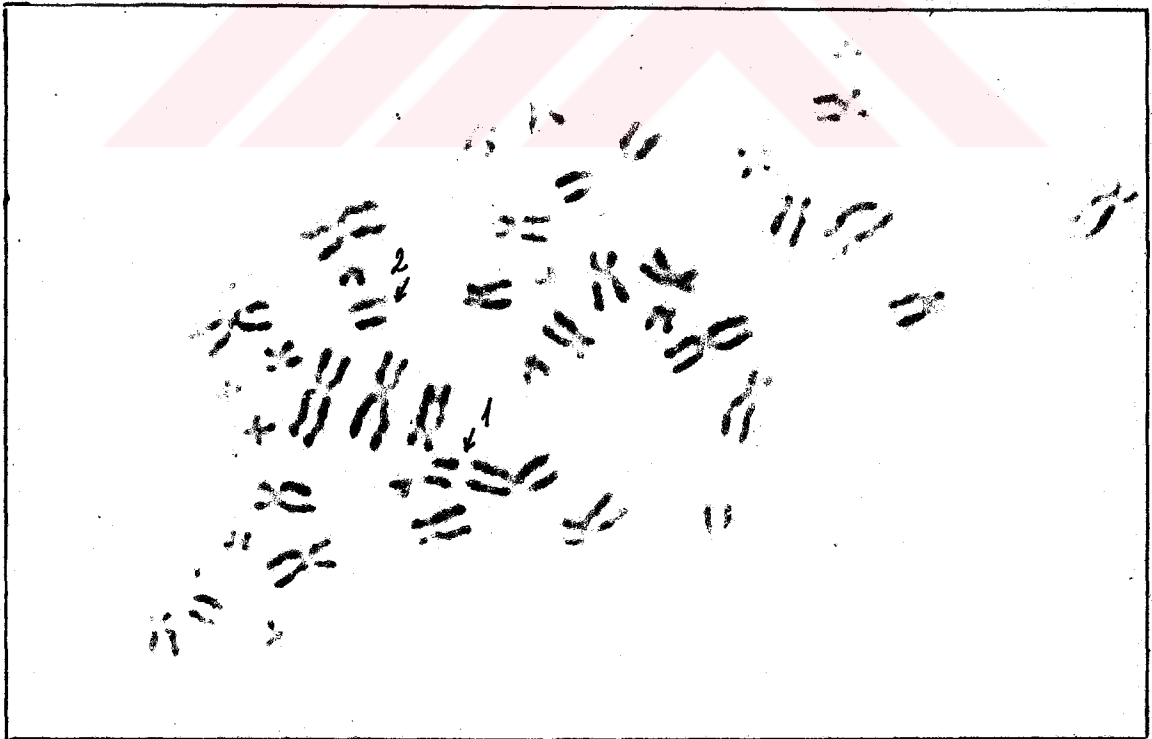
Şekil 67. Gap, fragment, minik ve disentrik kromozom.



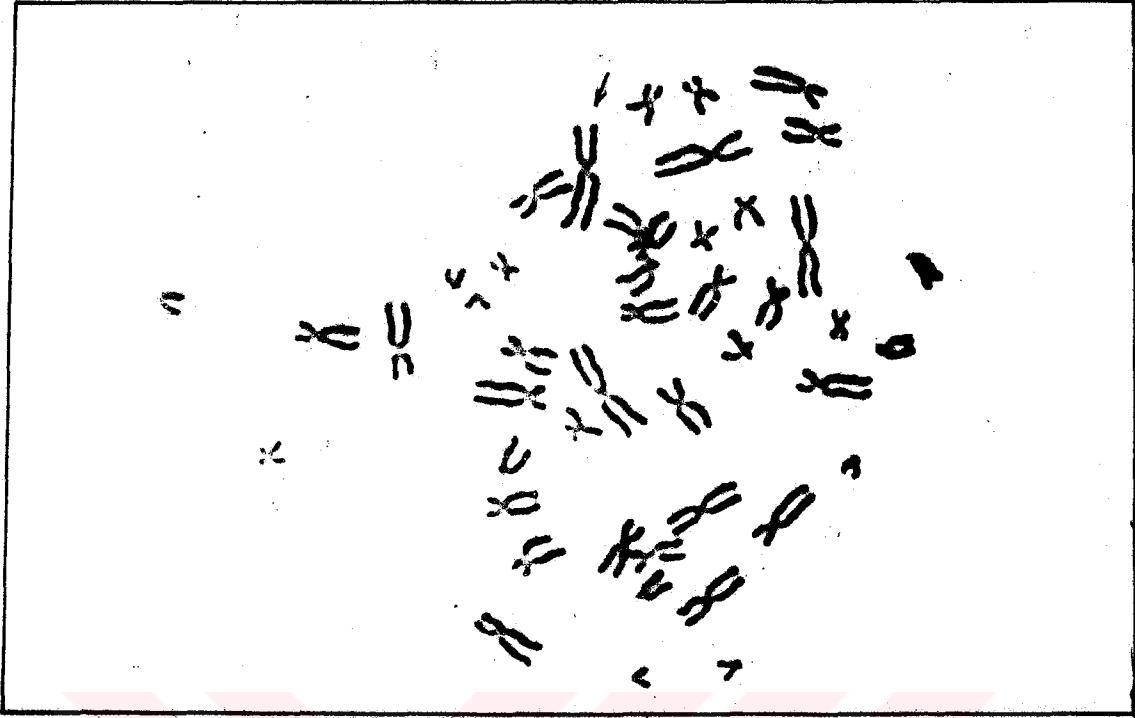
Şekil 68. C grup kromozomda kırık.



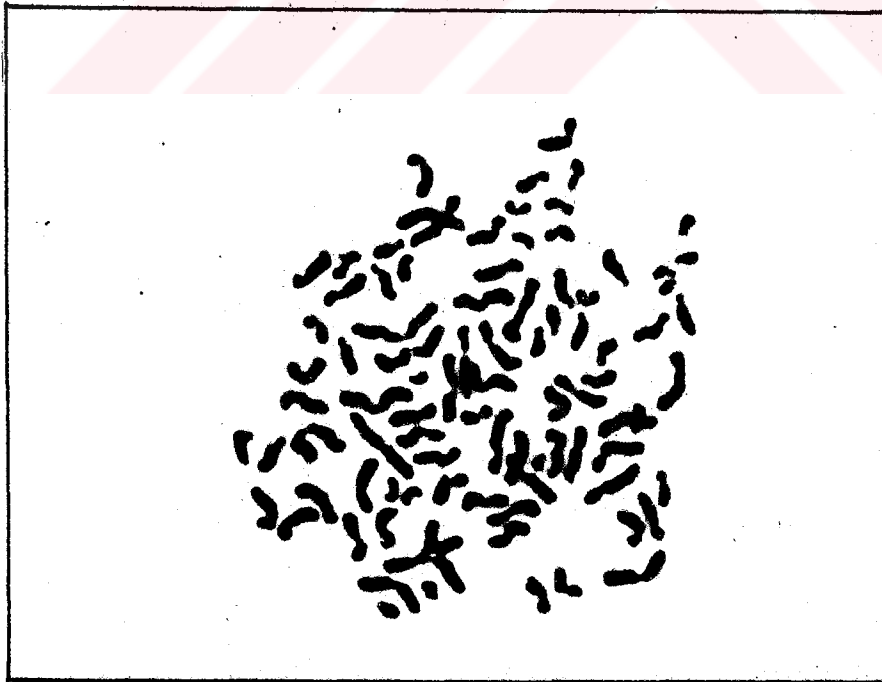
Şekil 69. 1. Terminal delesyon, 2. Minik kromozom,
3. Yapışma.



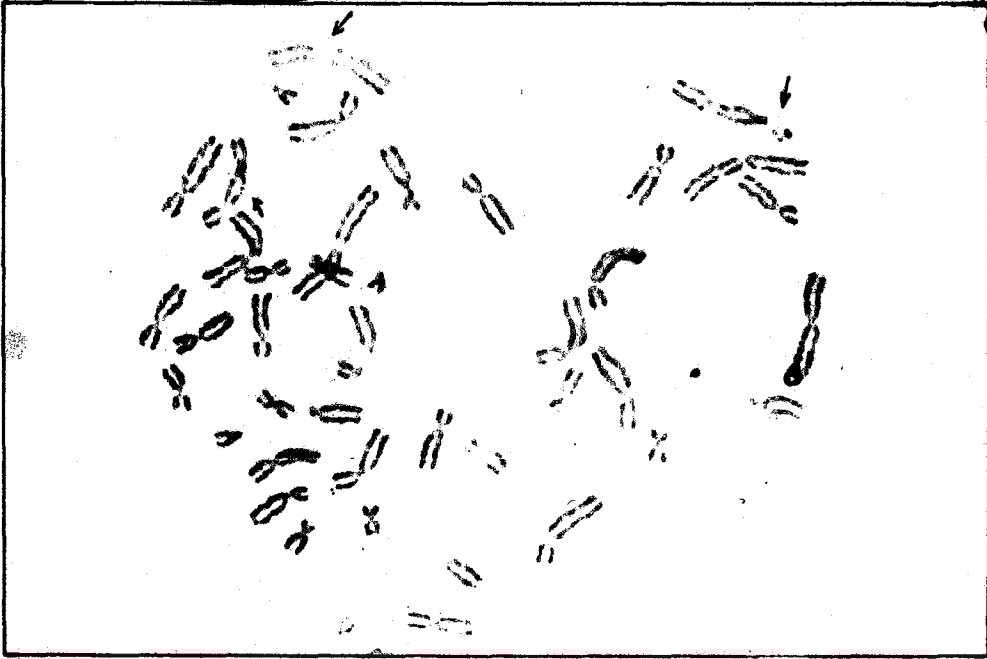
Şekil 70. 1. İzokromatid kırık, 2. Sentromersiz
kromozom.



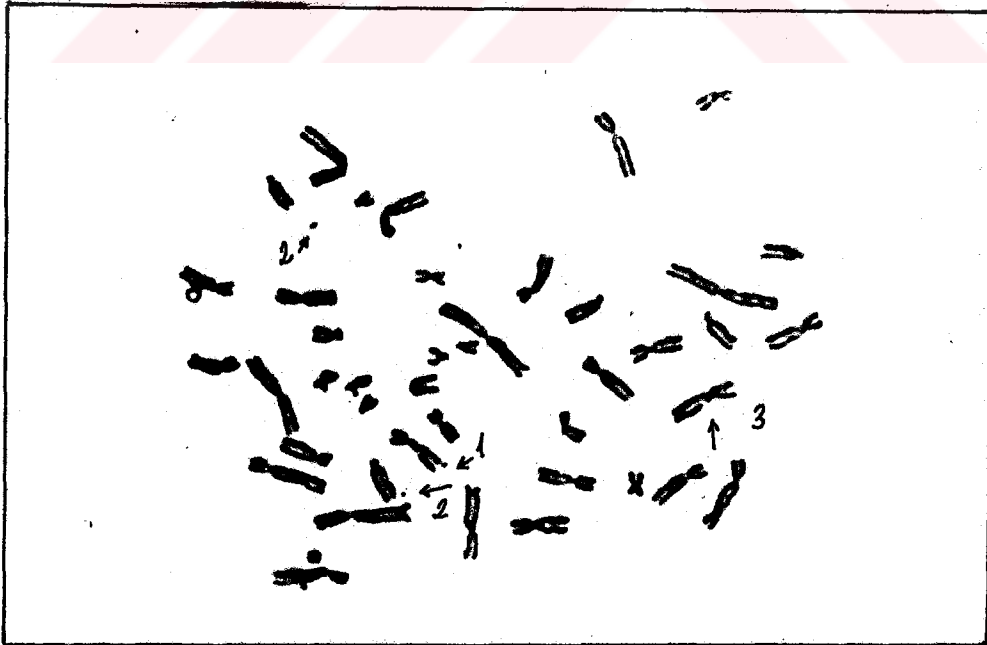
Şekil 71. Büyük A grup kromozom.



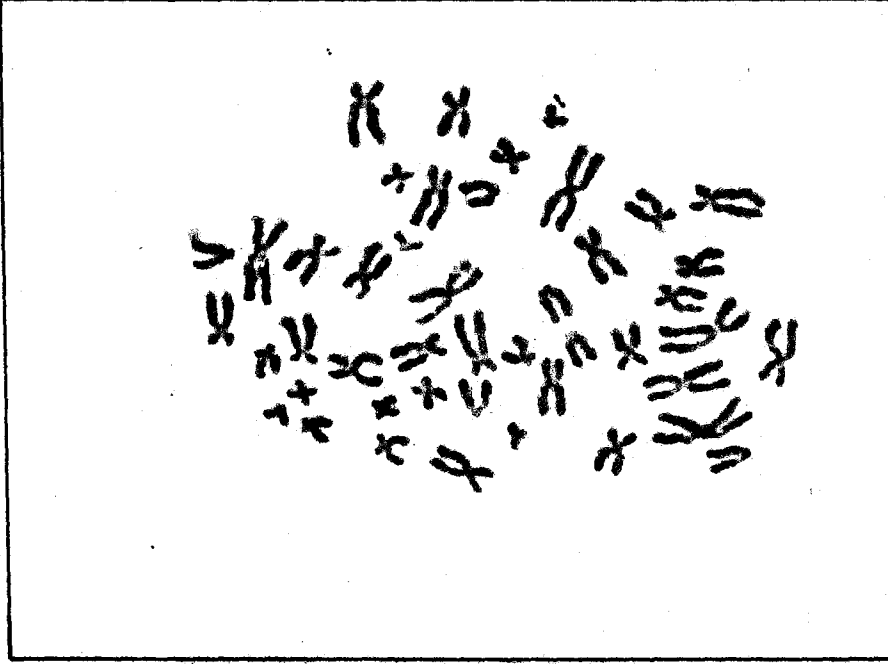
Şekil 72. Sentromerli, sentromersiz ve minik kromozomlar.



Şekil 73. İzokromatid kırık ve disentrik kromozom.



Şekil 74. 1. Terminal delesyon, 2. minik kromozom,
3. gap.



Şekil 75. 45,XX,E- olan hipoploid hücre.