

Skumöz Akciğer Kanserli Bir Hastada ve Ailesinde Sitogenetik Değerlendirme

Ünal EGELİ*
Mehmet KARADAĞ**
Nihat ÖZYARDIMCI***
Faruk MEMİK****
Berrin TÜRKEL*****

ÖZET

Bu çalışmada skuamöz akciğer kanserli (SQC) bir hastada ve onun birinci derece yakınlarında sitogenetik değerlendirme yapıldı. Periferik kan lenfosit kültürlerinden G-bantlama yöntemi ile yapılan sitogenetik değerlendirme sonucunda gap ve kırk şeklindeki kromozom kusurlarının ve ortak frajil bölge ekspresyonunun arttığı gözlemlendi. Frajil bölgeler arasında en sık olarak fra(3) (p14) ekspresyonu belirlendi.

SUMMARY

Cytogenetic Evaluation of a Patient with Squamous Cell Lung Cancer (SQC) and His Family

In this study a patient who has squamous cell lung cancer (SQC), and his first-degree relatives have been subjected to cytogenetic

-
- * Yrd. Doç. Dr.; U.Ü. Fen Fak. Genel Biyoloji Anabilim Dalı.
** Uzm. Dr.; U.Ü. Tıp Fak. Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı.
*** Prof. Dr.; U.Ü. Tıp Fak. Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı.
**** Prof. Dr.; U.Ü. Tıp Fak. İç Hastalıkları Anabilim Dalı.
***** Araş. Gör.; U.Ü. Fen Fak. Genel Biyoloji Anabilim Dalı.

evaluatiion. G-banding method were used on peripheral blood lymphocyte cultures. As a result of, cytogenetic evaluation it has been observed that chromosomal aberrations (including gap and break) and expression of common fragile sites increased. The expression of fra(3) (p14) was most frequently determined between fragile sites.

GİRİŞ

Pek çok malign hastalık ile kromozom anomalileri arasında direkt bir ilişki bulunmaktadır¹. Moleküler genetik çalışmaları kromozom aberasyonları ile birlikte protoonkogenlerin deregülasyonu, delesyonu ve yeniden düzenlenmesinin muhtemelen neoplastik transformasyonun nedeni olabileceğini düşündürmektedir². Kanser kırık noktaları ve protoonkogenlerin kromozomal lokasyonu ile otosomal frajil bölgeler arasında bir uygunluk bulunmaktadır³⁻⁷. Bu bölgelerin tümü aktif genleri içerdiğinden kromozomlar üzerinde Gimza-negatif bantlar şeklinde gözlenmektedir⁸. Malignant hücrelerde bu bölgelerdeki düzensizliklerin yanında hastaların normal periferik kan hücrelerinde de kalıtsal frajil bölgelerin mevcut olduğu çeşitli araştırmalarda belirtilmiştir^{7,9}. Bazı malign hastalıklarda kalıtsal ya da ortak frajil bölge lokalizasyonunda gözlenen düzensizliklerde frajilite artarsa onların ailelerinde de böyle düzensizlikler vukuu bulabilir ve bu düzensizliklerin aile bireylerinde rastlanması o ailenin kansere karşı yatkınlığını açıklayabilir¹⁰.

Akciğer kanseri günümüzde bütün ülkelerin en önemli onkolojik sorunları arasında yer almaktadır¹¹. Tanı anında vakaların yarısında hastalık yayılmıştır. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda akciğer kanserlerinin en önemli nedeninin sigara içme alışkanlığı olduğu belirtilmiştir¹². Bunun yanında günümüzde sanayileşmeye paralel olarak giderek artan hava kirliliği de bir etken olarak düşünülebilir.

Akciğer kanserlerinin genetik kökenli olduğu ve bazı ailelerde bu hastalığa karşı genetik bir yatkınlığın bulunduğu son yıllarda yapılan çalışmalarla gösterilmiştir¹³. Günümüzde akciğer kanserlerinin oluşumunda iki yaklaşım dikkati çekmektedir. Birinci yaklaşım myc, ras ve diğer dominant onkogen ya da protoonkogenlerin ekspresyonu sonucunda malignitenin meydana geldiğini varsayar. Bu yaklaşıma göre gen amplifikasyonu, düzensizlikler ya da somatik mutasyonlar dominant onkogenlerin aktivasyonuna yol açmaktadır. Fakat bu olayların mekanizması tam olarak bilinmemektedir^{14,15}. Akciğer kanserlerinin oluşumunun genetik mekanizmasını açıklamaya çalışan ikinci yaklaşım akciğer kanserli hastaların tümör hücrelerinde ve bu kişilerin diğer hücrelerinde kromozomal delesyonların bulunması ve bu bölgelerde tümör supressor genlerin (anti-onkogenler) kaybı ya da ressesif onkogenlerin stimülasyonu sonucunda malignitenin meydana geldiğini varsaymaktadır¹¹. Akciğer kanserli hastalarda yapılan sitogenetik ve

moleküler genetik çalışmalarında 3p14-23 kromozom bölgesinin delesyonuna bağlı olarak anti-onkogen kaybının olduğu belirlenmiştir¹¹. Bunun sonucu tıpkı Familial Wilm's Tümörü ve Retinoblastomada olduğu gibi tümör supressör genlerin delesyonuna bağlı olarak hastalık açığa çıkabilir¹⁶⁻¹⁸.

Bu çalışmada skuamöz akciğer kanserli bir vakadan ve onun birinci derece yakınlarından G-bantlama yöntemi ile sitogenetik değerlendirme yapıp ortak frajil kromozom bölgeleri incelenerek ailenin kansere genetik yatkınlığının olup olmadığı belirlenmeye çalışıldı.

MATERYAL VE METOD

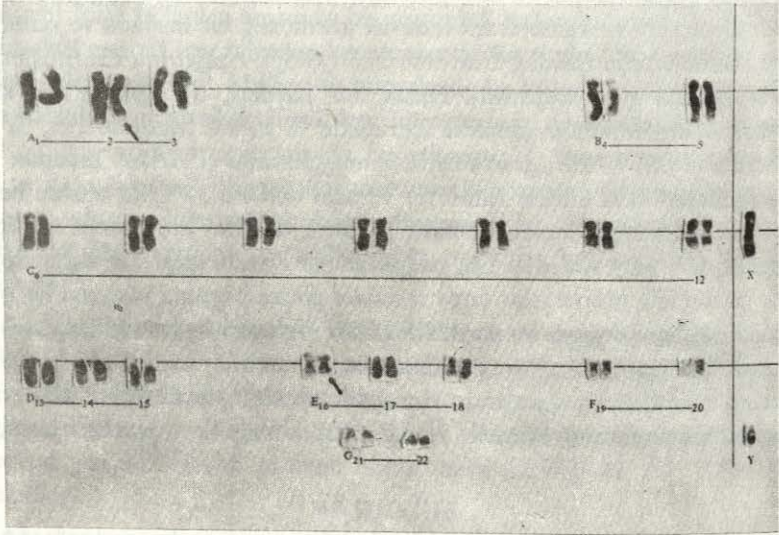
Bu çalışma Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalında bronkoskopik ve histopatolojik olarak skuamöz akciğer kanseri saptanan, radyoterapi ve kemoterapi tedavisi görmemiş bir hastada ve onun birinci derece akrabalarında Uludağ Üniversitesi Biyolojik Araştırma Enstitüsü Genetik Laboratuvarında gerçekleştirildi. Hasta, bir kardeşi, üç oğlu ve bir kızından beşer hematokrit tüpü kan alınarak içerisinde % 10 TC Medium 199, % 5 Fetal Calf Serum (FCS) ve 10 µg/ml Phytohemagglutinin (PHAM) bulunan 5 cc'lik kültür şişelerine ilave edildi. Kültürler 72 saat süreyle 37°C'lik etüvde bekletildi ve bu sürenin sonunda cholcicine ilave edilerek standart kromozom analiz yöntemi uygulandı¹⁹. Her vakadan beş preparat hazırlandı, gaplerin daha doğru bir şekilde sayımı için preparatlar önce standart gimza boyama yöntemi ile boyandı. Işık mikroskopunda gapli ve kırıklı metafaz figürleri saptandıktan sonra boya methanol ile alınarak kırık ve gaplerin kesin lokalizasyonunu belirlemek amacı ile G-bantlama yöntemi uygulandı. Her vakadan 50 metafaz figürü sayılarak kromozomlardaki ortak frajil bölgeler ve diğer kromozom kusurları belirlendi.

BULGULAR

Akciğer kanserli hasta ve ailesine ait sitogenetik değerlendirme sonuçları Tablo: I'de verildi. Bulgulara ait bir örnek resim şekil 1'de gösterildi. Kanserli hasta ve aile fertlerindeki toplam kromozom anomali oranı % 24.4 olarak belirlendi. Bu anomali oranının % 9.2'nin gap ve kırıklardan, % 7.2'nin fra(3) (p14) delesyonundan, % 4'ünün üçüncü kromozomun uzun kolundaki heterokromatin (h⁻) eksikliğinden, % 4'ünün ise poliploidi şeklindeki kromozom sayı kusurundan meydana geldiği gözlemlendi. Ortak frajil bölgeler arasında en fazla oranda (% 7.2) fra (3) (p14) belirlendi. Kanserli hastada görülen fra(3) (p14) sıklığının (% 8) diğer aile fertlerinde belirlenen fra(3) (p14) sıklığına (% 7) yakın olduğu gözlemlendi. Ayrıca nadir olarak del(16) (q 22-23), del(2) (p25; q37) gibi kromozom anomalileri saptandı. Gerek kanserli hastada gerekse birinci derece yakınlarında HSR (Homogeneously staining regions) ve DM lere (Double minutes) rastlanmadı.

Tablo: I - Skuamöz Akciğer Kanserli Hasta ve Birinci Derece Yakınlarındaki Kromozom Bulguları

Vaka No.	Cinsiyet	Yaş (Yıl)	Gap + Kırık	fra(3) (p14)	h(3) (q ⁻)	Poliploidi	Toplam
1	E	62	0.12	0.08	0.04	0.04	0.28
2	E	60	0.10	0.08	0.08	0.08	0.34
3	E	32	0.16	0.08	0	0	0.24
4	K	29	0.04	0.06	0.04	0.04	0.18
5	E	30	0.04	0.06	0.04	0.04	0.18



Şekil: 1

Skuamöz akciğer kanserli hastada del(2) (q35-37) ve del(1) (q22-23) kromozom anomalilerini gösteren G-bantlama karyotipi

TARTIŞMA

Bu çalışmada skuamöz akciğer kanserli bir hastada ve birinci derece yakınlarında G-bantlama yöntemi ile yapılan sitogenetik değerlendirme sonucu gerek hastada gerekse onun yakınlarında kromozomal düzensizliklerin arttığı belirlendi. Kromozomal düzensizliklerin büyük bir kısmının gap, kırık, frajil bölge ekspresyonundan kaynaklandığı gözlemlendi. Daha düşük oranda ise poliploidi şeklinde kromozom sayısı kusuru belirlendi.

1980 yılında Peto'nun kanserli hastaların yakınlarında kanserleşme riskinin 1,5-3 kat daha fazla arttığını göstermesinden sonra²⁰, 1986 yılında Ooi ve arkadaşları akciğer kanserli hastaların gerek sigara içen gerekse içmeyen yakınlarında akciğer kanseri insidansının 3 kat arttığını belirlediler²¹. Nihayet 1989 yılında Liu ve arkadaşları yaptıkları sitogenetik bir çalışmada küçük hücreli, adenokarsinomlu ve skuamöz akciğer kanserli hastaların yakınlarında fra(3) (p14) insidansının ve diğer kromozom anomalilerinin kontrol grubu kişilere göre arttığını gösterdiler¹³.

Biz çalışmamızda gerek kanserli hastada gerekse onun yakınlarında fra(3) (p14) ekspresyonu saptadık. Bu bulgu vakalarımızın beşinde birbirine yakın oranda mevcuttu. Ayrıca bir vaka hariç diğer vakalarımızda yine birbirlerine yakın oranlarda üçüncü kromozomun uzun kolunda heterokromatin eksilmesi gözlemlendi. Bizim sonuçlarımızda dikkat çeken bir husus kanserli hasta ile birlikte üç yakınında poliploidi şeklinde kromozom sayı kusurunun belirlenmesidir. Çeşitli literatürlerde skuamöz akciğer tümörlerinde poliploidi belirlenmiştir²². Fakat akciğer kanserli hastalarda ve yakınlarının lenfositlerinde poliploidi saptandığına dair hiçbir çalışmaya rastlamadık. Bu durumun onüçüncü literatürde de belirtildiği gibi akciğer kanserli hastalarda ve onların yakınlarında DNA'nın defektif olmasının ve bunun hücre bölünmesi üzerine negatif etkisinin bir sonucu olabileceğini düşünmekteyiz.

Bizim ve diğer literatür çalışmalarında gösterildiği gibi ortak frajil bölgeler somatik genomun primer kromozomal kusurlarının oluşumuna öncülük ederler^{6-8,13}. Ortak frajil bölgeler insan genomunun instabil kromozom faktörleridir. Onkogen ya da protoonkogenlerin aktivasyonu, antionkogen kaybı, DNA'nın defektifliği gibi muhtelif genetik faktörler ortak frajil bölgelerin ekspresyonunu etkileyebilir. Nitekim akciğer kanserli hastalarda 3p14-23 bölgesinde antionkogen kaybı¹¹, 3p21-25 bölgesinde C-erb Aβ onkogeninin varlığı¹¹ ve DNA'nın defektif olduğu¹³ gösterilmiştir. Bunun sonucu bizim çalışmamızda da gösterildiği gibi frajil bölgeler ve muhtelif kromozom kusurları açığa çıkmaktadır. Tesadüfi kromozom kırıkları DNA'nın defektliğini göstermekle beraber kanserleşmede frajil bölgelerin ekspresyonu çok daha anlamlıdır. Böylece ortak frajil bölgelerin ekspresyonu genetik kromozomal instabililiğin meydana gelmesinde indükatör rol oynar¹³. Ortak frajil bölgeler tüm bireylerde vukuu bulsa bile onların ekspresyonu farklı genomlarda büyük farklılıklar göstermektedir^{6,7,13}. Biz literatürde bazı araştırmacılar tarafından belirtildiği gibi^{3,7,13} bireylerdeki ortak frajil bölgeler ile kanserleşme arasında direkt bir ilişkinin olduğunu düşünüyoruz. Ancak bu konunun daha iyi aydınlatılmasında daha fazla sayıda ve daha ileri sitogenetik ve gen analizi çalışmalarının gerekliliğine ve konuya açıklık getireceğine inanmaktayız. Aynı zamanda bu tür çalışmaların kanserleşmenin biyolojik mekanizmasının açıklanmasında, kanserin erken teşhis ve tedavisinde yararlı olacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. BLOOMFIELD, C.D., J.M. TRENT, H. VAN DEN BERGHE: Report of the Committee on Structural Chromosomal Changes in Neoplasia, Human Gene Mapping 9(1987): Ninth International Workshop on Human Gene Mapping. *Cytogenet. Cell. Genet.*, 46: 344-366, 1987.
2. BISHOP, J.M.: The molecular genetics of cancer. *Science.*, 235: 305-311, 1987.
3. HECHT, F., SUTHERLAND, G.R.: Fragile sites and cancer breackpoints. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 12: 179-181, 1984.
4. YUNIS, J.J.: Fragile sites and predisposition to leukemia and lymphoma. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 12: 85-88, 1984.
5. YUNIS, J.J., SORENG, A.L.: Constitutive fragile sites and cancer. *Science.*, 226: 1199-1204, 1984.
6. DE BRAEKELEER, M., SMITH, B., LIN, C.C.: Fragile sites and structural rearrangements in cancer. *Hum. Genet.*, 69: 112-116, 1985.
7. LE BEAU, M.M.: Chromosomal fragile sites and cancer spesific rearrangements. *Blood.*, 67: 849-858, 1986.
8. HECHT, F. : Fragile sites, cancer chromosome breakpoints, and oncogenes all cluster in light G bands. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 31: 17-24, 1988.
9. MURATA, M.E., TAKAASHI, T., ISHIHARA, MINAMIHISAMATSU, M., TAKAGI, T., KANEKO, Y., HORI, T.: Heritable fragile sites and cancer: fra(16) (q22) in lymphocytes of an acute nonlymphocytic leukemia patient with inv (16) (p13q22). *Cancer Genet. Cytogenet.*, 25: 81-86, 1987.
10. MULES, E.H., TESTA, J.R., THOMAS, G.H., ABBEY, H., COHEN, B.H.: Cancer in relatives of leukemic patients with chromosomal rearrangements at rare (heritable) fragile site locations intheir malignant cells. *Am. J. Hum. Genet.*, 44: 811-819, 1989.
11. KAYE, F.J., KRATZKE, R.A., GERSTER, J.L., LIN, P.S.: Recessive Oncogenes in Lung Cancer. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 142: 44-47, 1990.
12. LAW, M.R.: Genetic predisposition to lung cancer. *Br. J. Cancer.*, 61: 195-206, 1990.
13. LIU, C., WANG, G., LI, P.: The expression frequency of common fragile sites and genetic susceptibility to lung cancers. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 42: 107-114, 1989.
14. LITTLE, C.D., NAU, M.N., CARNEY, O.N., GAZDAR, A.F., MINNA, J.D.: Amplification and expression of the c-myc oncogene in human lung cancer cell lines *Nature.*, 306: 194-196, 1983.
15. RODENHUIS, S., VAN DE WETERING, M.L., MOOI, W.J., EVERS, S.,

- VAN ZANDWIJK, N., BOS, J.: Mutational activation of the K-ras oncogene: a possible pathogenic factor in adenocarcinoma of the lung. *N. Eng. J. Med.*, 317: 929-935, 1987.
16. KNUDSON, A.G. Jr.: Mutation and cancer, statistical study of retinoblastoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 68: 820-823, 1971.
 17. KNUDSON, A.G. Jr.: Genetic of human cancer. *Annu. Rev. Genet.*, 20: 231-251, 1986.
 18. YUNIS, J.J., RAMSAY, N.: Retinoblastoma and subband deletion of chromosome 13. *Am. J. Dis. Child.*, 132: 161-165, 1978.
 19. EGELİ, Ü.: Lösemili hastalarda direkt kromozom analiz yöntemi ile sitogenetik incelemeler. *U.Ü. Tıp Fak. Der.*, 2: 343-347, 1991.
 20. PETO, J.: Genetic predisposition to cancer. *Banbury Report 4: Cancer Incidence in Defined Populations. Cold Spring Harbour Laboratory.*, 203, 1980.
 21. OOI, W.L., ELSTON, R.C., CHEN, V.W., BAILEY-WILSON, J.E., ROTH-SCHILD, H.: Increased familial risk for lung cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, 76: 217, 1986.
 22. DUTRILLAUX, B.J.: Recurrent chromosome aberrations in human lung squamous cell carcinomas. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 49: 37-49, 1990.

Yrd. Doç. Dr. Ünal EGELİ
U.Ü. Fen Fakültesi
Genel Biyoloji Anabilim Dalı
BURSA