

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TİBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**AKCİĞER KANSERLİ VAKALARDA, BRONŞİAL LAVAJ
MATERYALİNDEN ELDE EDİLECEK HÜCRELERDE; GENETİK
MARKERLARIN FLOURESAN İN-SİTU HİBRİDİZASYON (FISH)
YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

KEMAL KURTÇU

DANIŐMAN

YRD. DOÇ. DR. MUHSİN ÖZDEMİR

MART 2009

KABUL VE ONAY SAYFASI

Kemal KURTÇU' nun Doktora Tezi olarak hazırladığı "*Akciğer Kanserli Vakalarda, Bronşial Lavaj Materyalinden Elde Edilecek Hücrelerde Genetik Markerlerin Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) Yöntemi ile İncelenmesi*" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "**KABUL**" edilmiştir.

26.03.2009

Üye: Prof.Dr. Sevilhan ARTAN

Üye: Prof.Dr. Munis DÜNDAR

Üye: Doç.Dr. Hamza MÜSLÜMANOĞLU

Üye: Yrd.Doç.Dr. Muhsin ÖZDEMİR

Üye: Yrd.Doç.Dr. Beyhan DURAK ARAS

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 02/04/2009 tarih ve 781/3622 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof.Dr.Ferruh YÜCEL
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	vii
SUMMARY.....	ix
RESİMLER DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xv
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1.Kanser.....	4
2.1.1. Kanser Gelişimi.....	4
2.1.2. Kansere Neden Olan Etkenler.....	5
2.1.3. Genel Olarak Kanser Tipleri.....	6
2.2.Genetik ve Kanser.....	6
2.2.1. Kanserdeki Sitogenetik Değişiklikler.....	7
2.2.2. Kansere Sebep Olan Genetik Olaylar.....	8
2.2.2.1. Onkogenler.....	8
2.2.2.2. Tümör süpresör genler.....	9
2.2.2.3. DNA Tamir genlerinde değişiklikler.....	10
2.3. Akciğer Kanseri.....	11
2.3.1. Akciğer Kanseri Etyolojisi.....	12
2.3.1.1. Sigara ve akciğer kanseri.....	12
2.3.2. Akciğer Kanserin Klinik Belirtileri.....	14
2.3.3. Akciğer Kanserin Tipleri.....	14
2.3.3.1.Küçük hücreli dışı akciğer karsinomları (KHDAK).....	15
2.3.3.2. Küçük hücreli akciğer karsinomları (KHAK).....	16
2.3.4.Akciğer Kanserinde Tanı Yöntemleri.....	16
2.3.5.Akciğer Kanserinde Evrelendirme.....	17

İÇİNDEKİLER (DEVAM EDİYOR)

Sayfa

2.3.6. Akciğer Kanserine Sitogenetik ve Moleküler Yaklaşım.....	20
2.3.6.1. Sitogenetik ve moleküler sitogenetik analizler.....	21
2.3.6.2. Moleküler genetik analizler.....	24
2.3.6.2.1. Kromozom 3p delesyonu.....	24
2.3.6.2.2. RAS aktivasyonu.....	25
2.3.6.2.3. ERBB1/ Epidermal growth factor receptor (EGFR).....	26
2.3.6.2.4. HER2/ERBB2/NEU.....	27
2.3.6.2.5. MYC Genleri overexpresyonu.....	27
2.3.6.2.6. BCL-2 Overexpresyonu.....	28
2.3.6.2.7. Cyclin D1/cyclin dependent kinase 4.....	28
2.3.6.2.8. Cyclin B1.....	29
2.3.6.2.9. P16INK4 α İnaktivasyonu.....	29
2.3.6.2.10. Retinoblastoma (Rb) gen inaktivasyonu.....	29
2.3.6.2.11. p53 Tümör süpressör geni.....	29
2.4. Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) Yöntemi.....	31
2.4.1. FISH Tekniğinde Kullanılan Problar ve Özellikleri.....	31
2.4.2. Prob Stratejileri ve Analitik Duyarlılık.....	32
2.4.3. FISH Tekniğinin Temel Mekanizması.....	33
3.GEREÇ ve YÖNTEMLER.....	35
3.1. Gereç.....	35
3.1.1. Kullanılan Araçlar.....	35
3.1.1.1. Kullanılan aygıtlar.....	35
3.1.1.2. Cam malzeme.....	36
3.1.1.3. Kimyasal maddeler.....	36
3.1.1.4. Kullanılan problar.....	37
3.2 Yöntemler.....	38
3.2.1. Yöntem.....	38
3.2.2. Materyal Seçimi.....	38
3.2.3. Materyal Alımı.....	38

İÇİNDEKİLER (DEVAM EDİYOR)

Sayfa

3.2.4. Örneklerin FISH Analizine Hazırlanması.....	39
3.2.5. FISH Tekniğinin Uygulaması.....	40
3.2.5.1. Preparatların ön yıkaması ve denatürasyonu.....	40
3.2.5.2. Prob denatürasyonu.....	41
3.2.5.3. Hibridizasyon.....	41
3.2.5.4. Hibridizasyon sonrası yıkamalar.....	41
3.2.5.5. Hibridize olan bölgelerin görüntülenmesi.....	42
3.2.5.6. Preparatların mikroskopta incelenmesi.....	42
3.2.5.7. Değerlendirme.....	42
3.2.5.8. İstatistiksel analizler.....	42
3.2.5.9. Kullanılan stok solüsyonlar.....	43
4. BULGULAR.....	46
4.1. Çalışmadaki Olguların Demografik Özellikleri.....	46
4.1.1. Çalışmadaki Olguların Yaş Grubu ve Histopatolojik Tanıya Göre Dağılımı.....	46
4.1.2. Çalışmadaki Olguların Evrelere Göre Dağılımı.....	47
4.2. Yönteme İlişkin Bulgular.....	48
4.2.1. Çalışma Grubundaki Akciğer Kanserli Olguların Histopatolojik Tanıları ve Saptanan FISH Analiz Sonuçları.....	51
4.2.1.1. Akciğer kanserli olgularda EGFR probuyla saptanan anomaliler.....	52
4.2.1.2. Akciğer kanserli olgularda C-MYC probuyla saptanan anomaliler.....	57
4.2.1.3. Akciğer kanserli olgularda HER2 probuyla saptanan anomaliler.....	60
4.2.2. KHDAK'li Olgularda Saptanan FISH Bulguları; Prognoz ve Kemoterapiye Yanıtlarının Birlikte Değerlendirilmesi.....	63
4.2.2.1. Squamöz hücreli akciğer kanserli olgular ve saptanan FISH bulguları.....	66

4.2.2.1.1. Squamöz hücreli akciğer kanserli olup, kemoterapiye progressif yanıt veren olgular ve saptanan FISH analiz bulguları.....	66
4.2.2.1.2. Squamöz hücreli akciğer kanserli olup, kemoterapiye kısmi yanıt veren olgular ve saptanan FISH analiz bulguları.....	69
4.2.2.1.3. Squamöz hücreli akciğer kanserli olup kemoterapiye stabil yanıt veren olgular ve saptanan FISH analiz bulguları.....	70
4.2.2.1.4. Squamöz hücreli akciğer kanserli olup, cerrahi önerilen beş olguda saptanan FISH analiz bulguları.....	70
4.2.2.1.5. Squamöz hücreli akciğer kanserli olup, takip edilemeyen altı olguda saptanan FISH analiz bulguları.....	71
4.2.2.2. Adenokarsinomlu olgularda prognoz takibi ve saptanan FISH bulguları.....	71
4.2.2.3. KHDAK’i olup tür ayrımı yapılamamış ve Mukoepidermoid, Adenosquamöz, Karsinoid akciğer kanserli olgularda saptanan FISH analiz bulguları.....	72
4.2.3. KHAK’li Olgular ve Genel Olarak Saptanan FISH Analiz Bulguları.....	74
4.2.4. Primer Tümörleri Başka Organlarda Olup Akciğere Metastazlı Olgular....	77
4.2.5. Kesin Histopatolojik Tanıları 1. Fiber Optik Bronkoskopide (1.FOB) Alınan Biyopsi Örneği ile Konulamamış Olgulara Genel Bakış.....	77
4.2.6. Akciğer Kanserli Olgularda 1. FOB’de Alınan Örneklerin Analizi Sonucu Kesin Histopatolojik Tanı ve FISH Pozitifliği Oranlarının Karşılaştırılması.....	78
4.2.7. Genel Olarak Akciğer Kanserli Olguların Kemoterapiye Yanıtları (KT) ve Saptanan FISH Analiz Bulgularının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	80
4.2.7.1. Squamöz hücreli akciğer kanserli olgular ve Kemoterapiye yanıtlarının istatistiksel analizleri.....	81

İÇİNDEKİLER (DEVAM EDİYOR)

Sayfa

4.2.8. Kontrol Grubu Olgular.....	82
5. TARTIŞMA.....	84
5.1. KHDAK'li Olgularda FISH Yöntemi ile EGFR Probu Kullanılarak Yapılan Analizlerde Saptanan Bulgular ve Literatür Bilgileriyle Karşılaştırılması.....	84
5.2. KHDAK'li Olgularda FISH Yöntemi ile C-MYC Probu Kullanılarak Yapılan Analizlerde Saptanan Bulgular ve Literatür Bilgileriyle Karşılaştırılması.....	87
5.3. KHDAK'li Olgularda FISH Yöntemi ile HER2 Probu Kullanılarak Yapılan Analizlerde Saptanan Bulgular ve Literatür Bilgileriyle Karşılaştırılması.....	89
5.4. Küçük Hücreli Akciğer Kanseri Olgularda FISH Yöntemi ile Yapılan Analizlerde Saptanan Bulgular ve Literatür Bilgileriyle Karşılaştırılması.....	92
5.5. Literatürdeki Bronşial Lavaj Materyalinden Elde Edilen Hücrelerle Yapılan FISH Analiz Çalışmaları ve Çalışmamız Bulgularının Karşılaştırılması.....	94
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	100
7.KAYNAKLAR.....	103
ÖZGEÇMİŞ.....	114

ÖZET

Akciğer kanserleri; artan tedavi olanaklarına rağmen tüm dünyada mortalitesi en yüksek olan kanser türüdür. Günümüzde aynı evre ve histopatolojik özelliklere sahip olan akciğer kanserlerinde benzer tedaviler verilmektedir. Ancak kemoterapiye yanıt, prognoz ve yaşam sürelerindeki farklılıklar halen açıklanamamaktadır ve bu konuda rutin olarak kullanılan testler henüz yetersizdir. Bu çalışmada yarı invaziv metotla alınan bronşial lavaj örneğinde; akciğer kanserine özgü genetik markerlerin özgüllük ve özgünlüğünün araştırılması hedeflenmiştir. Aynı zamanda EGFR, C-MYC, HER2'nin kemoterapiye yanıt, survi ve prognoz ile ilişkisi değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada 100 akciğer kanserli olgunun 81'i Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserli (KHDAK), 16'sı Küçük Hücreli Akciğer Kanserli (KHAK), 3'ü de metastatik akciğer kanseri olarak histopatolojik tanı almışlardır. Kontrol grubu olarak; akciğer kanseri olmayan 15 olgunun bronşial lavaj materyali FISH yöntemiyle analiz edilmiş ve normal olarak değerlendirilmiştir.

Ayrıca 100 olgudan 81'inin kesin histopatolojik tanıları 1. fiberoptik bronkoskopide (1.FOB) alınan biyopsi materyali analiziyle konulmuş; 19 olgunun kesin histopatolojik tanıları ise daha sonra yapılan 2.FOB, iğne biyopsisi, cerrahi yöntemlerle alınan biyopsi materyalleri analiziyle konulabilmiştir. 1.FOB'de kesin histopatolojik tanı konulamayan 19 olgudan 8'inde FISH pozitif bulgular saptanmıştır. Sadece üç genetik marker kullanılarak yapılan (1.FOB'de alınan) bronşial lavaj materyali analiziyle 100 olgudan 65'inde FISH pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Kombine (histopatoloji ve FISH) olarak birlikte değerlendirildiğinde ise 89 olguda (% 89) anomali saptanmıştır. Bu çalışmada histopatolojinin sensitivitesi % 81, spesifitesi % 100; FISH analiz yönteminin sensitivitesi % 65, spesifitesi % 100 olarak bulunmuştur.

FISH yöntemiyle analiz edilen 100 akciğer kanserli olguda; EGFR probu ile % 46, C-MYC probu ile % 38, HER2 probu ile % 35 olguda FISH pozitif (+) sonuçlar saptanmıştır ve kemoterapiye yanıt, prognoz, survive ile ilişkileri değerlendirilmiştir. Verilerimiz, kullanılan üç genetik marker ile dahi, tanı ve tedaviye ilişkin bilgilere

ulaşılabilmesini göstermiştir. Buna bağlı olarak bronkoskopi ile alınan bronşial lavaj örnekleri, farklı genetik markerlar kullanılarak analiz edildiğinde; erken tanı, prognoz değerlendirme ve hatta tedaviye yol gösterici olarak değerli bilgiler vereceği düşüncesindeyiz.

Anahtar kelimeler: Akciğer kanseri, FOB, Bronşial lavaj, FISH

SUMMARY

Despite of improving treatment protocols, lung cancers are still the most lethal types of cancers. Similar treatments are used in patients with the lung cancer at same stages and have histopathological features. However, differences in prognosis, chemotherapy response and survival time can not be explained yet and the tests used are not sufficient to answer these questions. The goal in this study was to prospectively aimed the sensitivity and specificity of FISH detected genetic markers of lung cancer from semi non-invasive bronchial lavage samples of the patients undergoing bronchoscopy for suspected lung cancer. In the same time, the relations of FISH-detected EGFR, C-MYC, and HER2 gene copy number variations with the prognosis, chemotherapy response and survival time differences were evaluated.

In this study, analyses were performed on one hundred patients referred for bronchoscopy for suspicion of lung cancer. The histopathologic results of one hundred cases were as following: 81 NSCLC, 16 SCLC and three metastatic lung cancer. The samples from 15 cases without lung cancer suspicion but with bronchoscopic indication for differential diagnosis served as control samples, for bronchial lavage material, evaluated as normal.

During the first fiberoptic bronchoscopy (1.FOB), the histopathological diagnosis could be revealed in 81 cases of 100. The diagnosis of the remaining cases could be determined through the second FOB or needle biopsy or surgical applications. Of the 19 cases in which histopathological diagnosis could not be determined in the first FOB, eight of them showed cancer-related FISH positive results. Although only three FISH-detected genetic markers used, FISH positive results from the first FOB samples could be determined in 65 samples. In the bronchial lavage samples were obtained from first FOB, FISH positive results were obtained in 65 of 100 cases. The sensitivity and specificity of histopathological analysis were 81 % and 100 % whereas they were 65% and 100% for FISH analysis, respectively. The combined histopathological and FISH analyses showed positive results in 89 cases (89%).

Of one hundred cases with lung cancer, 46% had EGFR, 38% had C-MYC and 35% had HER2 gene copy number abnormalities. The relations of these FISH-detected results with the prognosis, chemotherapy response and survive were evaluated. The data showed that even with three genetic markers relating to the diagnostic and prognostic clues could be reached. Therefore, the samples obtained from semi-invasive bronchial lavage technique might be informative in early diagnosis, prognosis determination, even in therapy determination if different genetic markers are used.

Key Words : Lung cancer, FOB, Bronchial lavage, FISH

- Resim 4.1:** Histopatolojik tanısı squamöz hücreli, Evre 4 olan; 20 no'lu olguda dörder EGFR sinyalli (kırmızı) ve Cep7 (yeşil) sinyalli hücre ve normal sinyalli iki hücre görülmektedir.....54
- Resim 4.2:** Aynı olguda (20 no'lu olgu) sekizer EGFR ve Cep7 sinyalleri olan bir hücre ve resmin solunda normal sinyalli bir hücre görülmektedir.....54
- Resim 4.3:** Histopatolojik tanısı KHDAK olup (türü belirlenememiş) Evre 3A olan 18 no'lu olguda, bir adet EGFR sinyali (kırmızı sinyal), bir adet Cep7 sinyali (yeşil sinyal) olan monozomi 7'li hücre (kırmızı ok) ve 2'şer adet kırmızı ve yeşil sinyalleri olan normal hücre (yeşil ok) görülmektedir.....54
- Resim 4.4:** Histopatolojik tanısı Squamöz Evre 3A olan; 29 no'lu olguda multisinyalli EGFR (kırmızı) sinyalleri ve iki adet cep7(yeşil) sinyalli hücrede; EGFR Amplifikasyonu (kırmızı ok) mevcuttur. Olgu progressif seyirlidir ve kemoterapiye yanıtı olumsuzdur.....54
- Resim 4.5:** Histopatolojik tanısı Squamöz Evre 3B olan; 13 no'lu olguda multisinyalli EGFR sinyali (kırmızı) ve altı adet Cep7 sinyali (yeşil) olan hücre görülmektedir. Olgu kemoterapiye kısmi yanıtı olarak yorumlanmıştır, ancak kısa süre sonra prognozu progressif seyirli olarak değerlendirilmiştir.....55
- Resim.4.6:** Histopatolojik tanısı Adenokarsinom olan 62 no'lu olguda multisinyalli EGFR (kırmızı) ve Cep7 (yeşil) sinyalleri olan hücreler görülmektedir.....55
- Resim.4.7:** 62 no'lu olguda multisinyalli EGFR ve Cep7 sinyalleri olan hücreler görülmektedir.....55
- Resim.4.8:** Histopatolojik tanısı Adenokarsinom olan 62 no'lu olguda iki kanserli hücre görülmektedir.....55
- Resim.4.9:** Histopatolojik tanısı Squamöz Evre 3B olan; 59 no'lu olguda dört adet EGFR sinyali (kırmızı) ve iki adet Cep7 sinyali (yeşil) olan EGFR Amplifikasyonlu hücreler görülmektedir.....56

- Resim.4.10:** Histopatolojik tanısı KHDAK (türü belirlenememiş) Evre 4 olan; 5 no'lu olguda dörder adet EGFR sinyali (kırmızı) ve dörder adet Cep7 sinyali (yeşil) olan hücreler ve bir adet normal hücre (yeşil ok) görülmektedir...56
- Resim.4.11:** Histopatolojik tanısı Yaygın Küçük Hücreli Akciğer Kanseri olan 26 no'lu olguda bir adet trizomi 7'li (kırmızı ok) ve bir adet bir adet normal hücre (yeşil ok) izlenmektedir.....56
- Resim.4.12:** Histopatolojik tanısı Squamöz Evre4 Akciğer kanseri olan 10 nolu olguda iki adet trizomi 7'li (üç kırmızı ve üç yeşil sinyal) hücre izlenmektedir.....56
- Resim.4.13:** Histopatolojik tanısı Yaygın Küçük Hücreli Akciğer Kanseri olan 3 no'lu olguda okla gösterilen C-MYC Amplifikasyonlu (çok sayıda kırmızı sinyal) hücreler görülmektedir.....58
- Resim.4.14:** Histopatolojik tanısı Squamöz Evre 3B akciğer kanseri olan; 59 no'lu olguda üç adet C-MYC sinyali (kırmızı) olan Trizomi 8'li hücre görülmektedir.....58
- Resim.4.15:** Histopatolojik tanısı Adenokarsinom Evre 4 akciğer kanseri olan; 75 no'lu olguda iki hücrede üçer adet C-MYC sinyali (kırmızı) olan Trizomi 8'li hücreler (kırmızı okla işaretli) ve iki hücrede de normal (sarı okla işaretli) olarak iki kırmızı sinyal görülmektedir.....58
- Resim.4.16:** Histopatolojik tanısı Non-small Evre4 akciğer kanseri olan; 5 no'lu olguda 6'şar adet kırmızı sinyalli C-MYC amplifikasyonlu (sarı okla işaretli) ve iki adet kırmızı sinyalli normal hücreler (kırmızı okla işaretli) görülmektedir.....59
- Resim.4.17:** Histopatolojik tanısı Mukoepidermoid karsinom Evre3B akciğer kanseri olan; 21 no'lu olguda multisinyalli C-MYC Amplifikasyonlu iki adet hücre görülmektedir. Olgu progressif seyirlidir ve 62 gün sonra ex. olmuştur59
- Resim.4.18:** Histopatolojik tanısı Squamöz Evre4 akciğer kanseri olan; 10 no'lu olguda 8-10 kırmızı sinyalli C-MYC amplifikasyonlu (kırmızı okla gösterilen) iki hücre ve iki kırmızı sinyalli normal hücreler (yeşil okla gösterilen) görülmektedir.....59

- Resim.4.19:** Histopatolojik tanısı Squamöz Evre 3A akciğer kanseri olan; 80 no'lu olguda dört ve altı kırmızı sinyalli (HER2 sinyali) ve ikişer yeşil sinyal (Cep 17 sinyali) HER2 Amplifikasyonlu hücreler görülmektedir.....61
- Resim.4.20:** Histopatolojik tanısı Yaygın Küçük Hücreli Akciğer Kanseri olan 26 no'lu olguda bir adet trizomi 17'li (üç kırmızı ve üç yeşil sinyal) hücre görülmektedir. Kırmızı sinyaller HER2, yeşil sinyaller Cep17 sinyalleridir.....61
- Resim.4.21:** Histopatolojik tanısı Squamöz Evre 3B akciğer kanseri olan; 35 no'lu olguda HER2 amplifikasyonlu (kırmızı okla gösterilen) anomalili hücre ve 2'şer kırmızı ve yeşil sinyali olan normal bir hücre (yeşil okla gösterilen) görülmektedir.....61
- Resim.4.22:** Histopatolojik tanısı Squamöz akciğer kanseri olan; 77 no'lu olguda altı kırmızı sinyalli (HER2 sinyali) ve dört yeşil sinyalli (cep 17 sinyali) anomalili hücre görülmektedir.....62
- Resim.4.23:** Histopatolojik tanısı Adenokarsinom Evre4 olan; 75 no'lu olguda beş kırmızı sinyalli (HER2 sinyali) ve iki yeşil sinyalli (cep 17 sinyali) HER2 Amplifikasyonlu hücre ve 2'şer kırmızı ve yeşil sinyali olan normal bir hücre görülmektedir.....62
- Resim.4.24:** Histopatolojik tanısı Squamöz Evre4 akciğer kanseri olan; 10 no'lu olguda kırmızı multisinyalli (HER2 sinyali) ve beş ve sekiz adet yeşil sinyalli (Cep17 sinyali) HER2 Amplifikasyonlu (kırmızı okla gösterilen) iki hücre ve 2'şer kırmızı ve yeşil sinyali olan normal iki hücre (yeşil okla gösterilen) görülmektedir.....62

TABLolar DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. Akciğer Kanserlerinde TNM Sınıflandırması.....	18
Tablo 2.2. TNM'ye Göre Evreleme.....	19
Tablo 2.3. Akciğer Kanserinde Sık Görülen Sitogenetik Değişiklikler.....	21
Tablo 2.4. Akciğer Kanserinde Moleküler Genetik Değişiklikler.....	22
Tablo 4.1. Akciğer Kanserli Olguların Histopatolojik Tanı ve Yaşa Göre Dağılımı.....	47
Tablo.4.2. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserli Olguların Evrelere Göre Dağılımları	48
Tablo.4.3. Çalışma Olgularının Histopatolojik Tanıları ve Saptanan FISH Analiz Sonuçları.....	49-50
Tablo 4.4. Histopatolojik Olarak Genel Akciğer Kanserli Türleri (Biyopsi) ve FISH Analiz (Bronşial lavaj) Sonuçları.....	52
Tablo 4.5. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserli Olgularda Histopatolojik Tanının; FISH Sonuçları ile Karşılaştırılması.....	63
Tablo 4.6. KHDAK'li Olgularda EGFR, C-MYC ve HER2 FISH Probları ile Saptanan Anomaliler ve Kemoterapiye ilk Yanıt Bulguları.....	65
Tablo 4.7. Squamöz Hücreli Akciğer Kanserli Olgularda Kemoterapi Yanıtları ve Saptanan FISH Analiz Bulguları	67
Tablo 4.8. Adenokarsinomlu Olguların Prognoz Takibi ve Saptanan FISH Analiz Bulguları	72
Tablo 4.9. KHDAK'li Tür Ayrımı Yapılamamış Olgular, Mukoepidermoid, Adenosquamöz, Karsinoid Akciğer Kanserleri ve Saptanan Bulgular.....	73
Tablo 4.10. KHAK'li Olgular ve Genel Olarak Saptanan FISH Bulguları.....	75
Tablo 4.11. KHAK'li Olguların Kemoterapi Yanıt ve Saptanan FISH Bulguları.....	76
Tablo 4.12. Metastatik Akciğer Kanserli Olgular ve Saptanan FISH Bulguları.	77
Tablo 4.13. Akciğer Kanserli Olgularda 1.FOB'de Alınan Örnek Analizleriyle Konulan Kesin Histopatolojik Tanı ve FISH Pozitifliği Oranlarının Karşılaştırılması.....	79
Tablo 4.14. Akciğer Kanserli Tüm Olgularda Kemoterapi Yanıt ve FISH Bulguları...	80
Tablo 4.15. Squamöz Hücreli Olgularda Kemoterapi Yanıt ve FISH Bulguları.....	82
Tablo 4.16. Kontrol Grubu Olgular.....	83
Tablo 5.1. Çalışmamızdaki bulguların literatürle karşılaştırılması	99

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. Hipotonik Solüsyon (0.075 M).....	43
Çizelge 3.2. Carnoy's Fiksatif Solüsyon.....	43
Çizelge 3.3. PBS Solüsyonu.....	43
Çizelge 3.4. Preperat Ön Yıkama Solüsyonları.....	44
Çizelge 3.5. Denatürasyon Solüsyonu.....	44
Çizelge 3.6. Görüntüleme Sistemleri Solüsyonu.....	44
Çizelge 3.7. Hibridizasyon Sonrası Yıkama Solüsyonları.....	45

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
Ac. Ca	Akciğer Kanseri
bFGF	Basic Fibroblast Growth Factor
BLP	Bombesin Like Peptide
CGH	Comperative Genome Hibridizasyon
C-MYC	C-MYC Geni
DAPI	4',6'- diamino-2-fenilindol
DNA	Deoksiribonükleik asit
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
ESOGÜTF	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
FISH	Floresan İn Situ Hibridizasyon
FOB	Fiber Optik Bronkoskopi
GRP	Gastrin Releasing Peptide
HER-2/neu	Human Epidermal Growth Factor Receptor-2
HGF	Hepatocyte Growth Factor
IGF I ve II	Insuline Like Growth Factor I ve II
IHK	İmmino Histokimyasal
KHAK	Küçük Hücreli Akciğer Kanseri
KHDAK	Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
KT	Kemoterapi
ml	Mililitre
mRNA	Messenger Ribonükleik asit
NaCl	Sodyum klorür
NaOH	Sodyum hidroksit
PAH	Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PET-CT	Pozitron Emisyon Tomografi + Bilgisayarlı Tomografi

RNA	Ribonükleik asit
RT PCR	Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SSC	NaCl7Trisodyum Sitrat
TGF-α	Transforming Growth Factor- α
TGF-β	Transforming Growth Factor- β
USG	Ultrasonografi
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
μl	Mikrolitre
μg	Mikrogram

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer kanserleri, tüm dünyada mortalitesi en yüksek kanser türüdür. 2005 yılı verilerine göre ABD’de 172570 kişiye akciğer kanseri tanısı konmuştur ki bu tüm kanser tanılarının % 13’üdür. Aynı yıl 163510 vakada akciğer kanserine bağlı ölüm olmuştur ki bu da tüm kanser ölümlerinin % 29’udur (4). Akciğer kanserleri, Amerika Birleşik Devletleri’nde erkeklerde prostat, kadınlarda ise meme kanserinden sonra ikinci sıklıkta görülür ve her iki cinsiyette de kansere bağlı ölümlerin başında yer alır (2,105).

Amerika Birleşik Devletleri’nde akciğer kanseri dışındaki kanserlerde beş yıllık sağ kalım oranı % 52 civarında olmasına rağmen, akciğer kanserinde bu oran % 14 olup, artan tedavi olanaklarına rağmen mortalite daha da artmıştır (18). Yeni ve etki tedavilerin geliştirilme olasılığı ise kanser hücrelerinin davranışının ne kadarını anlayabildiğimize bağlı olacaktır (2,12,30). Son yıllarda akciğer kanseri moleküler biyolojisinde ortaya çıkan gelişmeler sonucunda, konvansiyonel sitotoksik kemoterapinin yanında, uygun hasta gruplarında yeni geliştirilmiş spesifik ajanların tedavide kullanılmaları gündeme gelmiştir. Bu nedenle moleküler biyolojiye dayanan, uzun süreli sağkalımı belirleyebilecek yeni evreleme sistemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır (24,31,40).

Dünyada farklı kanser tiplerinin tümör hücrelerindeki moleküler patolojilerin incelenmesi sonucu kanser tipi ve etiyolojisindeki faktör ne olursa olsun bugün kanser, genetik orijinli bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Normal hücrelerde DNA hasarını tamir eden, hücre bölünmesini, farklılaşmasını kontrol eden ve/veya hücreler arası iletişimde rol oynayan genlerde meydana gelen başkalaşımalar, o genlerin kodladığı proteinlerin normalin dışında fonksiyon göstermelerine neden olmaktadır. Protoonkogen, tümör süpresör gen ve DNA tamir mekanizması ile ilgili genlerde oluşan mutasyonların normal yapıyı bozması nedeniyle kanser genetik orjinli bir hastalık grubu olarak ifade edilmektedir. Akciğer kanserinin mortalitesi en yüksek kanser tipi olması

nedeniyle uzun yıllardan beri akciğer kanseri moleküler patogenezinine ilişkin araştırmalar çok yoğun olarak devam etmekte olup farklı akciğer kanseri tiplerinde rol oynayan pek çok genomik değişim belirlenmiştir (p53, ras, EGFR, C-MYC, BCL2, p16 vb gen mutasyonları, 3p, 4p, 4q, 5q, 6q, 8p, 9p, 10q, 13q, 17p, 19q ve 22q gibi farklı kromozom bölge delesyon ve amplifikasyonları gibi).

Erken tanı ve etkili tedavi yöntemlerinin belirlenmesi diğer kanser tiplerinde olduğu gibi akciğer kanserinde de ana hedeflerdendir. Son yıllarda, saptanan moleküler patolojiler temel alınarak yeni biyolojik yapıları hedefleyen tedavi edici ajanların gelişmesi ile ileri düzeydeki akciğer kanseri tedavisinde ilerleme gözleneceği ümit edilmektedir. Ancak radyoterapi ve kemoterapiye direnç akciğer kanseri tedavisindeki ana problem olup bu hastalıkta klinik uygulamalara yardımcı olması için tedaviye yanıtla ilişkin bilgi verici biyolojik markerların belirlenmesi gerekliliği dünya literatüründe ifade edilmektedir. Radyoterapi ve kemoterapi ajanları direkt olarak DNA yı hedef almakta ve bu terapilere yanıtta p53 tümör süpresör geni DNA tamir sürecinde, hücre siklusunun arreste girmesinde ve apoptoziste koordinatör görevi üstlenmektedir. Akciğer kanserinde yüksek p53 mutasyon frekansının olması ve p53'ün fonksiyonlarını yerine getirememesi dikkate alındığında p53'ün tedaviye yanıtta bir genetik marker olarak kullanılabilceğini göstermektedir. Diğer taraftan biyoteknolojide ve klinik farmakogenetikteki gelişmeler, onkogenik mekanizmalar ile ilişkili belirli hedeflere karşı aday tedavi yöntemleri geliştirilmesine neden olmuştur ki Epidermal Büyüme Faktör Reseptör (EGFR) sisteminin inhibe edilmesi bunlardan biridir. Bugüne kadar küçük molekül tirozin kinaz inhibitörleri ve EGFR monoklonal antikorlarından oluşan iki grup ilaç denenmiş ancak klinik çalışmalar hala p53 ve EGFR sistemine yönelik tedavilerin çeşitlilik göstermesi farklı markerların belirlenmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Yaptığımız araştırma ile akciğer kanseri ön tanısı almış ve bronkoskopi endikasyonu olan olgularda, bronkoskopi esnasında alınan bronşial lavaj materyalinden elde edilen hücrelerin FISH yöntemi ile analizini hedefledik. Çalışmamızın amacı akciğer kanserli vakalardan alınan bronşial lavaj örneklerinden elde edilen hücrelerin; FISH yöntemiyle EGFR, C-MYC, HER2 propları ile analiz edilmesi ve elde edilen

verilerle; kemoterapiye yanıtları ve prognozun birlikte analiz edilmesine dayanmaktadır.

Akciğer kanserli hastalarda bronşial lavaj materyalinden elde edilen hücrelerin FISH yöntemi ile analizi sonucunda elde edilen verilerin klinik ve histopatolojik veriler ile karşılaştırılması sonucu hedeflerimiz şunlardır.

- 1- Genel olarak akciğer kanseri tanısında ve farklı tiplerdeki akciğer kanseri olgularının tanısında genetik markerların kullanımıyla literatüre destek verilmesi,
- 2- Akciğer kanseri tanısında elde edilen genetik markerların sensitivitesi ile histopatolojik verilerin sensitivitesinin karşılaştırılması,
- 3- Tedavi verilen vakaların tedaviye yanıtlarındaki çeşitliliğin saptanan genetik markerlar ile ilişkisi var mı? Sorusuna cevap aranması,
- 4- Yarı-invaziv bir yaklaşım olan bronşial lavaj tekniğiyle alınan örneklerin; FISH analiz yöntemi ile incelenebileceğini göstermek, böylelikle klinik tanı ve tedaviye yardımcı olma açısından, kullanılabilirliğinin ortaya konması hedeflenmiştir.

Bu çalışmada, interfaz FISH tekniği ile 7p12 (EGFR), 8q24 (C-MYC), 17q21(HER2) gen bölgelerinin incelenmesi yapılmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. KANSER

Farklı bilim dalları kanser için değişik tanımlar yapmışlardır. Bu çeşitliliğin nedeni, kanserin birçok mekanizmayı etkileyen bir durum olmasından kaynaklanmaktadır. Kanser çoğu kez tek bir hastalık gibi görünmesine rağmen, gerçekte hücre ve dokuları etkileyen karmaşık bir hastalık grubudur (110). Kanser; hücrenin temel düzenleyici mekanizmalarındaki hatalardan kaynaklandığından özellikle moleküler ve hücresele düzeyde değerlendirilmesi gereken bir hastalıktır.

Çok hücreli organizmalarda hücrelerin çoğalması, farklılaşması, sağ kalımı organizmanın genel gereksinimleri doğrultusunda düzenlenmektedir. Kanser, hücrenin normal davranışlarını düzenleyen mekanizmalarda bozulma sonucu gelişir ve böylece hücreler aşırı, kontrolsüz ve agresif bir biçimde çoğalırlar. Böylelikle tümör vücudun diğer bölgelerine yayılarak normal doku ve organların işlevlerini etkiler (37).

2.1.1.Kanserin Gelişimi

Kanserin gelişmesinde temel değişiklik kanser hücrelerinin sürekli ve kontrolsüz olarak çoğalmalarıdır. Kanser hücreleri; hücrenin normal davranışlarını kontrol eden sinyallere doğru tepkiyi göstermeksizin kontrolsüz olarak çoğalmayı ve bölünmeyi sürdürerek, normal doku ve organları da istila eder ve sonunda tüm vücuda yayılırlar. Kanser hücrelerinin ortak özelliği olan çoğalmayı denetleyen mekanizmaların ortadan kalkması, çok hücreli sistemlerde biriken anomalilerin sonucudur. Kanser hücrelerini normal hücreden ayıran birçok davranış da bu özelliği yansıtır (37).

Hücresele düzeyde kanserin gelişimi; mutasyonları içeren çok aşamalı bir süreçten sonra çoğalma, sağkalım, invazyon ve metastaz yetenekleri giderek artan hücrelerin seçilmesi şeklinde ortaya çıkar. Bu aşamalardan ilki olan tümör başlangıcı, bir tek

hücrenin anormal çoğalmasına neden olan genetik bir değişikliğin sonucudur. Hücre çoğalmasına paralel olarak klonal tümör hücrelerinden oluşan hücre topluluğu da giderek büyür. Tümör ilerlemesi bu topluluk içindeki hücrelerde yeni mutasyonların oluşumuyla devam eder. Bu mutasyonların bir bölümü hücreye daha hızlı çoğalma gibi yetenekler kazandırır. Bu hücrelerden türeyen ve söz konusu avantaja sahip olan yeni hücreler tümör topluluğu içinde giderek daha baskın nitelik kazanırlar. Böylece çoğalma hızı, sağkalım, invazyon ve metastaz yeteneği gibi daha başka özellikler açısından da avantajlı yeni bir hücre klonu ortaya çıktığından bu işleme klonal seçim denir. Klonal seçim tümör gelişimi boyunca devam eder ve tümörler bu nedenle giderek daha hızlı çoğalarak daha malign özellikler kazanırlar (37).

2.1.2. Kansere Neden Olan Etkenler

Karsinojen; kansere sebep olan etkenlere denir. Tümörlerin gelişimi çok aşamalı bir işlem olduğundan birçok değişik faktör kanserin ortaya çıkma olasılığını etkileyebilir. Kansere neden olan ajanları 3 geniş grupta inceleyebiliriz: Radyasyon, kimyasal bileşikler ve virüslerdir (37).

Ultraviyole ışınları, X ışınları ve γ ışınları mutasyona yol açar ve karsinojeniktir. Bu ışınlar DNA'da çeşitli hasarlara yol açabilirler. Ultraviyole radyasyonu pirimidin dimerlerinin oluşmasına neden olabilir. Karşıt bazların eliminasyonu ile pürinsiz veya pirimidinsiz konumlar oluşabilir. Tek ve çift dal kırılmaları veya dallarda çapraz bağlantılar meydana gelebilir. Işınlama enerjisinin neden olduğu karsinojenezde temel mekanizma DNA hasarıdır. Ayrıca DNA'daki direkt etkilerinden ayrı olarak, X ışınları ve γ ışınları dokularda serbest radikallerin oluşmasına neden olurlar (15).

Kimyasal bileşiklerin pek çoğu kansere yol açabilir. İnsan kanserlerinin %80 kadarının başta kimyasallar olmak üzere çevresel faktörler nedeni ile meydana geldikleri belirlenmiştir. Kişinin kimyasal bileşiklere maruz kalması, mesleki (benzen, asbest), beslenme alışkanlıkları, yaşam tarzı (sigara, alkol kullanımı) veya diğer

nedenlerden (ilaç kullanımı) dolayı olabilir (15). Radyasyon ve kimyasal bileşikler dışında bazı virüsler de kanser nedeni olabilir. Virüslerin nedeni olduğu insan kanserlerinin başında, karaciğer ve serviks kanserleri gelir. Bu iki kanser dünyada görülen kanserlerin % 10-20'sini oluşturur (37).

2.1.3. Genel Olarak Kanser Tipleri

Kanser tek bir hastalık değildir. Daha çok kitle ya da tümör oluşumuna yol açan kontrolsüz hücre proliferasyonu ile karakterize olan neoplazilerdir. Bununla birlikte neoplazinin kanser olabilmesi için malign özellik göstermesi gerekir (78). Hücrelerin anormal çoğalması sonucunda ortaya çıkan tümör benign veya malign olabilir. Benign tümörler; çevredeki dokuya ya da farklı vücut bölgelerine yayılmadan oluştuğu yerde kalırlar. Malign tümörler ise hem çevredeki normal dokuya hem de kan ve lenfatik sistem aracılığı ile vücudun diğer bölgelerine metastaz yaparlar (37).

Kanserin esas olarak üç tipi vardır.

1.Karsinomalar: Bronşlar, bağırsak mukozası veya meme duktusları gibi epitel hücrelerinden kaynaklanırlar ve insan kanserlerinin yaklaşık % 90'ını oluştururlar.

2.Sarkomalar: Kemik, kas ya da konnektif doku gibi mezenşimal dokulardan kaynaklanırlar. İnsan kanserlerinin yaklaşık % 1'ini oluştururlar.

3.Hematopoetik: Kemik iliği ya da lenfatik sistemi tutan ve damarlar yoluyla yayılan lösemi ve lenfomalardır. İnsan kanserlerinin yaklaşık % 8-9'unu oluştururlar.

Bu tümörlerin her biri yerleşim yeri, doku tipi, histolojik yapısına ve malignensi derecelerine göre de sınıflandırılmaktadır (37,78).

2.2. GENETİK VE KANSER

Karsinogenez çok basamaklı bir süreçte değişik karsinojenlerin etkisiyle oluşan genetik ve epigenetik hasarlanmalarla gerçekleşir. Kanserlerde oluşan genetik değişiklikler, kromozomal düzeyde ya da tek bir nükleotid düzeyinde oluşabilir. Kanser

hücrenin büyüme ve çoğalma sürecinde meydana gelen genetik değişiklikler (onkogenler, tümör süpresör genler gibi), konakçı etkileşimi (anjioenez, invazyon; metastaz) sonucunda tümöral kitle oluşur (1,64).

Genomda hücre bölünmesi ve hücre ölümünü kontrol eden çok çeşitli genler bulunmaktadır. Son çalışmalar hücre proliferasyonu ve hücre ölümünü kontrol eden genlerde olan mutasyonların kanser oluşumunda etkili olduğunu göstermiştir. Kanser gelişimi, birçok kanser türünde, mutasyonların tek bir somatik hücrede oluşması ve daha sonra bölünerek kanser gelişimine yol açması şeklinde görülür. Herediter kanser sendromlarında ise kanserin başlamasına neden olan mutasyonlar germ hücrelerine aktarılmakta ve böylece vücudun bütün hücrelerinde yer almaktadır (3,110).

Kanser oluşumu bir kez başladığında, sitogenetik yapının korunmasından ve DNA' da oluşabilecek hasarı tamirden sorumlu hücresel mekanizmaları kodlayan genlerdeki mutasyonlar kümülatif olarak bir artış göstererek kanseri yaygınlaştırırlar (78).

2.2.1. Kanserdeki Sitogenetik Değişiklikler

Sitogenetik değişiklikler kanserin ayırt edici özelliklerindedir. Kanserde sitogenetik değişiklikler özellikle tümör gelişiminin daha geç ve daha malign ya da invaziv safhalarında izlenir. Comperative Genome Hibridizasyon (CGH) ile kanser sitogenetikçileri tümör hücrelerinin karyotipleme ile çoğaltılmasına gerek duyulmadan tümör dokularındaki genom ve kromozom mutasyonlarını analiz edebilmişlerdir. Böylelikle karyotipleme ve kromozom analiziyle gözlenebilen anomalilerden çok daha fazlasının görülebilmesine olanak sağlanmıştır. Kanserlerde bir çok anomali görülebilmektedir. Bazı anomaliler, tümör örneklerinde ara sıra görülebilir ya da tesadüfen izlenen değişiklikler olup, bazıları da aynı histolojik tipe sahip kanserlerde tekrarlayan bir biçimde görülürler.

Kanser araştırmalarının odaklandığı bir diğer alan da birçoğunun proto-onkogenler veya tümör süpresör genlerle ilişkili olduğu bilinen ve proto-onkogen ekspresyonunu

arttıran ya da tümör süpresör gen allellerinin kaybına neden olan bu anomalilerin sitogenetik ve moleküler olarak tanımlanabilmesidir (78).

Translokasyonlar ve diğer yeniden düzenlemelere ilave olarak birçok kanser türünde görülen önemli bir sitogenetik değişiklik ise gen amplifikasyonudur. **Gen amplifikasyonu** genomun bir parçasının, bir hücrede olması gerekenden daha fazla sayıda kopyasının var olması durumudur. Gen amplifikasyonu bir çok kanser türünde görülür. Gen amplifikasyonu rutin kromozom analizlerinde iki tip değişiklik olarak gözlenir. Normal olarak bantlanamayan belirli DNA parçasının çok sayıda amplifiye olmuş kopyalarını içeren **double minutes** (çok küçük ek kromozom) ve **homogenously staining regions** (homojen olarak boyanan bölgeler) olarak gözlenmektedir. Bu amplifiye bölgelerin; hücre büyümesini uyaran, apoptozisi durduran veya her ikisine de neden olan myc, ras, EGF reseptörlerini kodlayan genler gibi proto-onkogenlerin fazladan kopyalarını içerdiği bilinmektedir (78).

2.2.2. Kansere Sebep Olan Genetik Olaylar

1. Onkogenlerin aktivasyonu
2. Tümör süpresör genlerin inaktivasyonu
3. DNA tamir genlerinde değişiklikler

2.2.2.1. Onkogenler

Fonksiyon veya ekspresyon değişimiyle hücre bölünmesi ve proliferasyonun anormal stimülasyonuna yol açan mutant genlerdir. Aktive edici mutasyon, onkogenin kendisinde, onun regülatuar elementlerinde ya da onkogen ürününün regüle edilemeyen fonksiyonunda veya artmış ekspresyonuna neden olan onkogenin genomik kopya sayısındadır (78). Retroviral onkogenlerin oluşmasına öncülük eden hücresel genlere “protoonkogen” denir. Onkogenler ise, bu protoonkogenlerin anormal eksprese olan veya mutant şekilleridir. Bu genlerde oluşabilecek değişiklik sonrasında, onkogenler anormal hücre proliferasyonuna ve tümör gelişimine yol açarlar (37).

Protoonkogenlerin onkogene dönüşme şekillerinden biri de nokta mutasyondur. Pek çok kanser türünde kromozomal sayısal değişiklikler yanında kromozom yapısında translokasyon, duplikasyon ve delesyon gibi anormallikler de görülür. Protoonkogenlerin onkogenik özellik kazanmasına neden olan mekanizmalardan biri de yapısal kromozomal düzensizliklerdir. Translokasyonlar en sık görülen yapısal anomalidir. Protoonkogenin lokalize olduğu bölgede oluşan kırılma sonucu karşılıklı yer değiştirme, protoonkogen yapısının değişmesine, ikinci kırık bölgesindeki gen ile füzyon oluşturması gibi mekanizmalar ile onkogenik özellik kazanır. Hematolojik malignansilerde en sık gözlenen anomaliler kromozom translokasyonlarıdır. Ayrıca kromozom translokasyonları solid tümörlerde de rapor edilmektedir (3,78,91).

Gen amplifikasyonu tümörlerde onkogenlerin aktive olmasında etkili diğer bir mekanizmadır. Genlerin hızlı ve yüksek düzeyde ekspresyonuna neden olur. Pek çok tümörün progresyonunda, tümörün daha hızlı gelişmesi ve malign yapısının artmasında onkogen amplifikasyonu önemli rol oynar (3,78).

2.2.2.2. Tümör Süpressör Genler

Tümör süpressör genlerinin inaktivasyonu kanser oluşumunda diğer bir mekanizmadır (23). Onkogenler tarafından kodlanan proteinler, fonksiyon kazandıran mutasyonlar yoluyla ya da genin bir allelinin artmış veya uygun olmayan ekspresyonuyla kanser oluşumunu sağlarlarken; genin her iki allelinin fonksiyonunu yitirmesi gibi farklı bir mekanizma ile malignensiye neden olan mutasyonların izlendiği genler tümör süpressör genlerdir. Tümör süpressör genler son derece heterojendir. Bazıları hücre siklusunun düzenlenmesinde veya hücre-hücre teması ile büyümenin engellenmesinde doğrudan yer alırlar. Bazıları da DNA hasarını tamir etmede ve genetik bütünlüğü sürdürmede yer alırlar (78).

Tümör süpressör genlerin her iki allelinin kaybı da pek çok sporadik kanserin oluşumunda rol oynar. Bu durumda aynı hücrede iki somatik olayın oluşmasıyla her iki allel de inaktif hale gelir. Çift Vuruş Hipotezi olarak adlandırılan bu durum ilk kez

retinoblastoma gibi kanserlerin hem herediter hem de sporadik formlarının oluşumunu açıklamada kullanılmıştır. Bu hipotez günümüzde de ailesel polipozis koli, ailesel meme kanseri, nörofibromatozis tip1, ailesel nonpolipozis kolon kanserinin oluşumunu açıklamada önemli bir modeldir. Bu hastalıklarda otozomal dominant geçiş hakim olmasına rağmen, tümör gelişimi için sorumlu tümör süpresör genin iki kopyasının da fonksiyon kaybı gereklidir (78).

2.2.2.3. DNA Tamir genlerinde değişiklikler

İnsanlarda gelişen kanserlerin % 80'inin nedeni çevresel faktörlerdir. Endojen ya da ekzojen karsinojenler ve genotoksik olaylara maruziyet hücre siklusunda yavaşlamaya neden olur. Normal koşullarda bu yavaşlama sürecinde hücreler DNA hasarını tamir etme fırsatı bulurlar. DNA hasarını gidermek üzere işlev gören başlıca genler 3. kromozomun p kolu üzerindedir. Kromozom 3p kayıpları akciğer kanseri gelişimini 14 kat arttırmaktadır (34).

Tamir edilmemiş DNA hasarı, apoptozisin aktivasyon ve inhibisyonunda görev alan protoonkogen ve tümör süpresör genlerde mutasyonlara neden olur. DNA tamiri normal hücre siklusunun devamı için esastır ve hatalı DNA tamiri karsinogenez gelişiminden sorumlu önemli bir faktördür (108).

Spesifik gen değişiklikleri: Gen amplifikasyonu, normal dokuda sadece iki alel bulunurken tümör dokusunda aynı kromozom parçasının multipl kopyalarının oluşmasıdır. Baş boyun kanserleri, akciğer, mesane ve özafagus kanserlerinde 11q13 lokusunda amplifikasyonlar gösterilmiştir (27).

Retinoik asit reseptör yolundaki değişiklikler: Retinoik asit akciğer kanserini önleyici tedavide en çok adı geçen ajanlardan biridir. Hücre içi retinoidler retinoik asit reseptörleri (RARs) ve retinoid X reseptörleri (RXRs) aracılığıyla aktivite gösterirler. Bu reseptörlerdeki sinyal ileti sorunları akciğer kanserinde gösterilmiştir. RARs

kromozom 3p'de bulunur ve TSG gibi fonksiyon görür. Bu lokustaki allelik kayıplar KHDAK'lerinin % 60'ında görülmektedir (95).

Telomeraz Aktivitesi: İnsan telomerleri kromozomların uçlarında yerleşmiş TTAGGG dizi tekrarlarından oluşan spesifik proteinlerdir. Normal bir hücre bölünmesinde telomeraz yoktur ve bu sayede telomerler hızla kısalır ve sonuçta hücre ölümü gerçekleşir. Ancak kanser hücresinde telomeraz aktivitesi nedeniyle kısalan telomerler tekrar tamamlanmaktadır. Bu durum hücreyi ölümsüz kılar. Tüm KHAK'lerinde ve KHDAK'lerinin % 80-90'ında artmış telomeraz aktivitesi görülür. Bu durum hücre proliferasyon hızında artış ve ileri evre hastalık ile ilişkilidir (35).

Apoptozis genleri: Tümör hücrelerini apoptozisten koruyan başlıca onkoprotein Bcl-2'dir. Bcl-2 ekspresyonu KHAK'lerinin % 70-90'ında gösterilmiş ve kemosenstive ve uzun süreli sağkallım ile ilişkisi ortaya konmuştur (35).

2. 3. AKCİĞER KANSERİ

Bu yüzyılın başında akciğer kanseri nadir bir hastalık iken şu an tüm dünyada en çok ölüme yol açan kanserdir. Dünyada tüm kanserlerin % 2,8'ini, kanser ölümlerinin % 17,8'ini akciğer kanseri oluşturur. Tüm dünyada insidans her yıl % 0,5 artmaktadır (2).

Ülkemizde 1997 yılında Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Dairesi'nin yayınladığı raporda, akciğer kanserinin, tüm kanserler içinde % 17,6 oranıyla birinci sırayı aldığı saptanmıştır. Ülkemize ait istatistiksel verilerin çok sağlıklı olmamasına rağmen, yılda 30000-40000 arasında akciğer kanserine bağlı ölüm olduğu tahmin edilmektedir. Gelişmiş ülkelerde son yirmi yılda sigara tüketimi azalırken, ülkemizde % 13,7 artış göstermiştir. 1997 verilerine göre ülkemizde erkeklerin % 51'i, kadınlarınsa % 49'u düzenli sigara içicisidir. Sigara tüketiminin bu derece yoğun olduğu ülkemizde akciğer kanseri, önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir (15,53).

ABD’de 2005 yılında yaklaşık 172500 kişi akciğer kanseri tanısı almıştır. Aynı yıl ABD’de 163500 kişi akciğer kanserinden ölmüştür. Kansere bağlı ölümlerin tümünün % 29’u akciğer kanseri sebebiyle olmuştur (4). ABD’de akciğer dışı kanserlerde beş yıllık sağkalım % 52 iken, akciğer kanserinde % 14 olup, artan tedavi olanaklarına rağmen mortalite daha da artmıştır (18).

2.3.1.Akciğer Kanseri Etyolojisi

Endüstriyel ve Çevresel maruziyet ve Sigara: Akciğer kanserlerinin % 80-90’ı sigara içenlerde ortaya çıkmaktadır (108).

Yaş ve Cinsiyet: Hastaların çoğu 50-70 yaş grubundadır. Erkeklerde daha sık görülmekte olup son yıllarda insidansı kadınlarda daha hızlı artış göstermektedir (81).

Genetik yatkınlık: Sigaranın akciğer kanserine sebep olduğunun bilinmesine rağmen; sigara içenlerin sadece % 10-20’sinin akciğer kanserine yakalanması, genetik yatkınlığın önemine işaret etmektedir (18,95). Akciğer kanserli hastaların hem sigara içen hem de içmeyen akrabalarında akciğer kanseri riski 2-4 kat artmıştır. Artmış ailesel riskin; yaş, cinsiyet, mesleki maruziyet ve sigara içiciliğinden bağımsız olduğu ve akciğer kanserinde kalıtımın ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (94,108).

2.3.1.1. Sigara ve Akciğer Kanseri

Sigara ve akciğer kanseri arasındaki ilişki, dünya çapındaki epidemiyolojik çalışmalarla kanıtlanmıştır (31). Akciğer kanserlerinin % 80-90’ı sigara içenlerde ortaya çıkmaktadır. Sigara içenlerde akciğer kanseri gelişim riski, hiç sigara içmemiş kişilere göre 10-65 kat artmaktadır. Pasif sigara içicilerinde ise normal popülasyona göre bu riskin % 20 arttığı bilinmektedir (108). Akciğer kanseri gelişiminde sigaranın rolü gözönüne alındığında, akciğer kanseri önlenabilir kanserler arasındadır (31). Ancak her sigara içende akciğer kanseri gelişmemektedir. Yapılan çalışmalarla

çevresel faktörlerin yanı sıra genetik faktörlerin de kansere duyarlılıkta rol oynadığı gösterilmiştir (28,29).

Sigara dumanına maruz kalan dokularda çeşitli morfolojik değişiklikler ve DNA hasarı meydana gelir. DNA'daki bu hasar neoplastik süreci tetikler. Bu aşamadaki değişiklikler erken lezyonlardır ve geri dönüşümlü olabilir. Neoplastik sürecin başladığı hücrelerde çeşitli antijenler salgılanır ve hücre proliferasyonu ve tümöral oluşum ile sonlanan bir süreç ortaya çıkar. (28,50,54).

Sigara dumanının karsinojenik etkisi; karsinojenlerin DNA'ya ulaşması, DNA'da hatalı kodlama ile mutasyon oluşmasına bağlıdır. Sigaranın kanser riskini arttırması ise sigara içme süresi, günlük içilen sigara miktarı, sigaranın ağızda kalma süresi, izmarit uzunluğu gibi faktörlere de bağlıdır. Sigara dumanındaki major karsinojenler; polisiklikhidrokarbonlar, aromatic aminler, nitrozaminler ve radyoaktif bileşenlerdir (50,92).

Sigara dumanı ana bileşenine "mainstream" denmektedir, ve cm^3 'de, 1.3×10^{10} partikül ve gaz fazında olan serbest radikaller içerir. Karsinojenlerin çoğu partikül fazında yer alır. Sigara ucundan havaya yayılan dumana ise "sidestream" denmektedir. Sidestream karbonmonoksit, amonyum, formaldehit, benzene, nikotin, akrolein, ve bunun dışında pek çok mutajenik madde içerir (50).

Sigaranın genetik hasar oluşturması: Sigaradaki substratlar, DNA'da doğrudan hasar oluşturabilirler ya da enzimler tarafından aktif metabolitlerine dönüşerek de etki gösterebilirler (93). Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), dokuda ilk olarak fenol, dihidrodiol ve merkaptürik asitlere dönüşürler Ara dioller ve fenol epoksitler, PAH'ın başlıca metabolitleri olup, hücresel makromoleküllerle kovalent bağlar yaparlar ve DNA hidrokarbon addüktlerini oluştururlar. Bu moleküllerin oranı karsinojenik aktivite ile orantılıdır. Addüktler oluşuktan sonra DNA'da nokta mutasyonları yaparlar ve hatalı DNA replikasyonlarına yol açarlar. Bu değişikliklerle, gen amplifikasyonları ve malign transformasyonlar oluşur. Sigara bırakıldıktan sonra zaman içinde bu addüktler azalabilirler (27).

2.3.2. Akciğer Kanserinin Klinik Belirtileri

Akciğer kanseri başlangıçta genel şikayetlerle başlamaktadır. Öksürük (giderek daha artan şekilde), göğüs ağrısı, hemoptizi, nefes darlığı, hırıltılı solunum, boyun ve yüzde şişlik, iştahsızlık, kilo kaybı, halsizlik sık görülen semptomlardır.

Akciğer kanserinin akciğer dışı klinik belirtileri, tümörün diğer organlara metastazlarına bağlı olabilir ya da tümörden salınan bazı immünolojik ve hormonal maddelere bağlı da olabilir. Metastaz belirtileri ise metastaz yaptığı organa göre değişmektedir (62).

2.3.3. Akciğer Kanserinin Tipleri

Primer akciğer tümörlerinin % 95'i bronşial epitelden kaynaklanır (bronkojenik karsinomlar). % 5'ini ise bronşial karsinoidler, bronşial gland neoplazmları, mezenkimal malignensiler (fibrosarkomlar, leiomyomalar), lenfomalar ve birkaç benign lezyon oluşturur.

Başlıca dört histolojik tipte bronkojenik karsinoma vardır. Bunlar:

1. Squamöz hücreli karsinoma
2. Adenokarsinoma
3. Büyük hücreli indifferansiye karsinoma
4. Küçük hücreli karsinoma

Günümüzde tedavi açısından ilk 3 tip aynı kategoride değerlendirilmekte olup “Küçük Hücreli Dışı Akciğer Karsinomu” (KHDAK) olarak adlandırılmaktadır. Küçük hücreli olan ise “Küçük Hücreli Akciğer Karsinomu” (KHAK) olarak adlandırılmaktadır (62).

2.3.3.1.Küçük Hücreli Dışı Akciğer Karsinomları (KHDAK)

Squamöz Hücreli Karsinoma: Daha sık erkeklerde görülür. Akciğer kanserlerinin % 25-30'unu oluşturur. Özellikle sigara içenlerde görülmektedir. Genellikle büyük bronşların santralinden çıkarlar, lokal hiler lenf nodlarına kolay yayılır fakat toraks dışına diğer akciğer tümörlerinde olduğundan daha geç yayılır. Squamöz karsinoma, bronş epitelinde yıllar önce başlayan bir metaplazi veya displaziye izleyen karsinoma insitudan sonra ortaya çıkar. Mukozada 1-2 cm çapında kalınlaşma ve düzensiz nodül tarzında kabarıklık olarak yavaş yavaş gelişir. Bu durumda henüz klinik ve radyolojik bir bulgu olmadığı halde; balgamda, bronkoskopi esnasında bronş yıkama ve fırça ile alınan materyalde atipik epitel hücreleri görülür. Squamöz hücreli karsinomlar, metastaz yapmadan önce büyük ve bronşları tıkayan semptomatik kitle yaptıklarından diğer tiplere göre hafifçe daha iyi bir prognoza sahiptir. Tanı konulduğunda genellikle cerrahi olarak çıkarılabilir durumdadırlar (62).

Adenokarsinomalar: Akciğer kanserlerinin % 30-35'i oranında görülürler. Erkek ve kadında görülme sıklığı yaklaşık olarak aynıdır. Sigara ile ilişkisi squamöz karsinomaya göre daha azdır. Çoğunlukla periferal yerleşimlidir ancak santral yerleşimli de olabilir. Periferal akciğer skarları ile ilgili olarak ortaya çıkar. Adenokarsinomlar, yavaş büyürler ve daha küçük kitle yaparlar. Ayrıca diğer subtiplere göre daha erken safhada metastaz yaparlar. Bronkoalveolar karsinoma (BAC), özel bir adenokarsinoma tipidir. İki çeşidi vardır. BAC'ın yarısından azı multifokal müsinöz tümörlerdir. Bazen tek başlarına kitle yaparlar, bazen de birbirleri ile birleşen kitleler oluştururlar. Histolojik görünüm aldatıcı olarak benign olup mitoz nadirdir. Bronkoalveolar karsinomanın diğer çeşidi 10 cm çapa kadar ulaşabilen, gri-beyaz tek bir nodül şeklinde olup bir üst lob içinde ve perifere yakın yerleşimlidir. BAC'ın prognozu diğer bronkojenik karsinomlara göre daha iyidir (62).

Büyük Hücreli Karsinomalar: Sitolojik diferansiyasyon göstermeyen belki de squamöz veya glandüler neoplazmların, herhangi bir kategoriye giremeyecek kadar, indifferansiye şeklidir. Akciğer kanserlerinin % 5-20'sini oluşturur. Tümör bazen vahşi bir anaplazi gösteren dev hücrelerden oluşmuştur. Erken fazda uzak yerlere yayılma

eğilimleri vardır bu yüzden kötü prognozludurlar. Yarısından çoğunda tanı konduğunda beyin metastazları da saptanır. 5 yıllık yaşama oranı % 2- 3 civarındadır (62).

2.3.3.2. Küçük Hücreli Akciğer Karsinomları (KHAK)

Erkeklerde daha sık rastlanır. Genellikle sigara içimine bağlı olarak gelişir. Soluk gri renkte ve santral lokalizasyonda kitlelerdir, hiler ve mediastinal lenf nodlarını erken fazda tutarlar. Bu kanserler; küçük, oval-yuvarlak, lenfosit benzeri ve çok fazla mitoz gösteren hücrelerden meydana gelmiştir. KHAK'leri hızlı büyüyen, geniş infiltrasyon yapan ve erken yayılan lezyonlardır ve nadiren rezeke edilebilir durumda yakalanırlar. Bu nedenle hemen her zaman kombine radyoterapi ve kemoterapi ile tedavi edilirler. İki yıllık sağ kalım oranı % 5- 8 dolayındadır (62).

2.3.4. Akciğer Kanseri Tanı Yöntemleri

Akciğer kanseri başlangıçta genel şikayetlerle başlamaktadır. Hastalığın semptomlarının iyi bilinmesi; ayrıntılı bir anamnez ve fizik muayene yapılması, erken tanı açısından yarar sağlamaktadır.

Fizik muayenenin ardından tanı için atılacak ilk adım, iki yönlü akciğer grafisinin çekilmesidir. Birçok vakada bu görüntüleme yöntemi ile tümör yada tümörün oluşturduğu enfeksiyon, plörezi, atelektazi saptanabilir. Akciğer grafisinde tümör ya da tümör ile ilişkili olabilecek diğer görünümünün saptanması halinde, akciğerin bilgisayarlı tomografisinin çekilmesi uygundur. Bilgisayarlı tomografi görülen lezyon hakkında detaylı bilgi verdiği gibi standart akciğer grafisinde görülemeyecek kadar küçük olan diğer lezyonların görülmesini de sağlayabilir. Akciğer grafisi ve bilgisayarlı tomografilerin analizlerinden sonra hastalığın bölgesel yayılımı ve yerleşimi hakkında bilgi elde edilir. Böylece kesin tanı için gerekli olacak biyopsi yönteminin ne olacağına karar verilebilir. Şöyle ki, cerrahi müdahale düşünülen olgularda ve santral bölgede yer alan tümörlerde bronkoskopi yapılması hem evreleme hem de tanı için gerekli iken,

bronkoskopi ile ulaşılamayacak periferik bölgelerde yer alan tümörlerde ise iğne biyopsisi tercih edilebilir. Ayrıca kesin histopatolojik tanı için balgam sitolojisi istenebilir. Histopatolojik olarak hücre tipi belirlendikten sonra da akciğer kanseri evresine karar verilmelidir. Kanserde evreleme, hastalığın seyri ve tedavi yönteminin belirlenmesi açısından son derece önemlidir ve yapılması gereklidir (62,63).

KHDAK'nin erken evrelerinde sağkalım süresini arttırmada en etkin tedavi yöntemi cerrahidir. KHDAK'nde evreleme TNM sistemine göre yapılır. Bu sistemde T ile tümör boyutu, tümörün komşu doku ve organlara yayılımı, tümörün bronkoskopik görünümü gibi birçok özelliği tanımlanırken, N tümöre ait bölgesel veya uzak lenf bezlerindeki metastaz varlığı veya yokluğunu tanımlar. M uzak organ metastazlarını belirtmekte olup M1 olarak tanımlanan vakalarda uzak organ metastazı saptanmıştır ve doğrudan evre IV olarak kabul edilirler. TNM sistemine göre akciğer kanseri olguları evre I, evre II, evre III ve evre IV olarak dört grupta ele alınır. Evre I ve II, erken evre akciğer kanseri olarak tanımlanır ve bu tür vakalarda hastanın durumu uygunsa mutlaka cerrahi tedavi yapılmalıdır (62).

2.3.5.Akciğer Kanseri Evrelendirme

Evrelendirme ve histopatolojik tanı akciğer kanseri tedavisinde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle Amerikan Kanser Birliği ve Uluslararası Kanser Mücadele Birliği, akciğer kanseri için primer tümörün büyüklüğü ve yaygınlığına (T), bölgesel lenf bezi tutulumuna (N), uzak metastazın varlığına (M) dayanan TNM evrelendirme klasifikasyonunu, 1997 yılında modifiye etmişler ve bugün kullanılan tanımı yapmışlardır (Tablo 2.1 ve Tablo 2.2).

Tablo 2.1. Akciğer Kanserlerinde TNM Sınıflandırması

<p><u>PRİMER TÜMÖR (T)</u></p> <p>T0: Primer Tümör saptanmaması.</p> <p>Tx: Radyolojik ve bronkoskopik olarak saptanamayan fakat bronkopulmoner sekresyonlarda malign hücre bulunması.</p> <p>T1s: İn situ karsinom</p> <p>T1: En büyük çapı 3 cm veya daha az olan, akciğer parankimi veya visceral plevra ile çevrilmiş tümör. Bronkoskopik olarak lob bronşunun proximaline invazyon olmaması.</p> <p>T2: 3 cm den büyük tümör veya herhangi büyüklükteki bir tümörün visseral plevraya yayılması veya hiler bölgeye kadar genişleyen atelektazi ve obstrüktif pnömoniye neden olması. Bronkoskopik tetkikte, karinadan en az 2 cm daha uzakta olan tümör.</p> <p>T3: Herhangi büyüklükteki tümörün, göğüs duvarı (Superiör sulcus tümörü dahil), diyafragma,mediastinal plevra,parietal perikarda yayılması veya tüm akciğeri kapsayan atelektazi ve obstrüktif pnömoniye neden olması veya bronkoskopik tetkikte karinaya 2 cm'den daha az mesafede fakat karinaya yayılmamış olması.</p> <p>T4: Herhangi büyüklükteki tümörün mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, özofagus, vertebra ve karinaya yayılması veya malign plevra ve perikard sıvısı saptanması veya akciğerin aynı lobunda birden fazla neoplastik nodül bulunması.</p> <p><u>NODAL TUTULUM (N)</u></p> <p>N0: Rejyonal lenf nodlarında metastaz olmaması.</p> <p>N1: Aynı taraf peribronşial ve/veya hiler lenf bezlerinde metastaz veya direkt yayılım mevcut.</p> <p>N2: Aynı taraf mediastinal ve/veya subcarinal lenf bezlerinde metastaz olması.</p> <p>N3: Karşı taraf hiler veya mediastinal lenf bezlerinde metastaz saptanması, aynı taraf veya karşı taraf skalen veya subraklavikuler lenf bezlerinde metastaz mevcut.</p> <p><u>UZAK METASTAZ (M)</u></p> <p>M0: Uzak metastazın olmaması</p> <p>M1: Uzak metastaz mevcut.</p>

Tablo:2.2. TNM'ye Göre Evreleme

EVRE	TNM
EVRE 0	Karsinoma in situ
EVRE 1A	T1N0M0
EVRE 1B	T2N0M0
EVRE 2A	T1N1M0
EVRE 2B	T2N1M0 ve T3N0M0
EVRE 3A	T3N1M0 T2N2M0 T1N2M0 T3N2M0
EVRE 3B	T4N0M0 T4N1M0 T4N2M0 T1N3M0 T2N3M0 T4N3M0
EVRE 4	Herhangi bir T Herhangi bir N M1

Küçük hücreli akciğer kanserleri ise sınırlı ve yaygın olarak iki evrede incelenir. Sınırlı evrede hastalık göğsün tek bir tarafında sınırlı olarak kalmıştır, karşı akciğere veya diğer organlara henüz yayılmamıştır. Yaygın evre küçük hücreli akciğer kanseri ise akciğer dışı diğer organlara ya da karşı akciğere metastaz yapmıştır. Sınırlı ve yaygın evrelerde tedavi farklılık gösterdiğinden küçük hücreli akciğer kanseri tanısı konulan olgularda en azından beyin tomografisi ya da beyin MR'ı, kemik sintigrafisi ve üst batın tomografisi veya USG'si ile uzak organ metastaz varlığı araştırılmalıdır.

2.3.6. Akciğer Kanserine Sitogenetik ve Moleküler Yaklaşım

Akciğer kanseri, tütün kullanımı ile yakından ilişkili en sık rastlanılan kanserlerden biridir. Tütün dumanındaki aktive karsinojenler, p53, k-ras ve FHIT gibi belirli genler ile etkileşime girer. Böylece, tütün karsinojenlerine kronik maruziyet, neoplastik bronşial lezyonların tümörögenезisi ile bağlantılı genlerde genetik ve epigenetik değişikliklerin birikimine sebep olur. Bununla beraber uzun dönem tütün içicilerin düşük bir yüzdesinde akciğer kanseri gelişir, çünkü çeşitli DNA hücresel tamir mekanizmaları DNA'yı hasardan korur. Tütün içme ile birlikte genetik faktörler gibi çevresel etkiler de akciğer kanseri gelişiminde rol alırlar (46,75,89,94,98,107).

Akciğer kanserinin bronşial epitel hücrelerinden orijin aldığına ve normal hücreden invaziv karsinomaya kadar olan karsinogenez, bronşial epitelin hiperplazi, metaplazi ya da displazisi gibi pre-maling bir lezyondan, çok basamaklı bir süreç sonunda oluştuğuna inanılır. Bununla beraber pre-maling lezyonların yalnızca az bir kısmı invazif kansere ilerler, çoğunluğu uzun dönem değişmeden kalır ya da geriler. Akciğer kanserlerine sebep olan genetik değişiklikler dizisine ait açıklayıcı veri azdır. Akciğer kanseri klinik olarak belirmeden önce onkogen ve tümör supresör genlerdeki değişiklikleri ifade eden birçok rapor ileri sürülmüştür. İlginçtir ki pre-maling dönemde de benzer değişiklikler mevcuttur (14,21,48,59,67,111).

Cheng ve arkadaşlarının çalışmasında; pre-malign düzeydeki viral onkogenlerin transfeksiyonu ile immortalize edilmiş insan bronşial epitel hücre dizisinde benzer genetik değişikliklerin varlığı ispatlanmıştır (21). Bu yüzden düşündürmektedir ki; normal bronşial epitelden malign akciğer kanseri hücrelerine değişimde birçok moleküler genetik ve epigenetik değişikliklere ihtiyaç vardır. Bu değişikliklerden çoğu KHDAK ve KHAK olarak ayrılan major histolojik grubun ikisinde de ortaktır (Tablo 2.3. ve Tablo 2.4.).

Akciğer kanserinde sık görülen sitogenetik ve moleküler genetik değişiklikler aşağıdaki gibi tablo 2.3. ve 2.4.'de görülmektedir.

Tablo 2.3. Akciğer Kanserinde Sık Görülen Sitogenetik Değişiklikler

	Kromozomal delesyon	Kromozomlarda bölgesel artışlar
KHDAK	3p, 6q, 8p, 9p, 9q, 13q, 17p,18q,19p, 21q, 22q	1p, 1q, 3q, 5p, 7p, 7q, 8q, 11q, 12q
KHAK	3p, 4p, 4q, 5q, 8p, 10q, 13q,17p	3q, 5p, 8q, 19q, Xq

Birçok çalışmada akciğer kanseri erken tanısı ve risk tahminlerinde belirli genetik değişiklikler potansiyel biomarker olarak araştırılmıştır. Akciğer kanseri tümöröenezisinin detaylı anlaşılabilmesi ile erken teşhis, prognozun belirlenmesi ve moleküler hedefli tedavilerin geliştirilebilmesine de katkıda bulunacaktır (32,33,38,57,70,79,103).

2.3.6.1. Sitogenetik ve moleküler sitogenetik analizler

Basit ve dengeli kromozomal değişimlerle karakterize birçok hematolojik malignensinin tersine epitelyal tümörler genellikle kompleks dengesiz anormalliklere sahiptirler. Primer akciğer tümörleri genellikle düşük mitotik indekse sahip olduklarından detaylı sitogenetik analiz için yeterli sayıda uygun metafaz bulmak zordur. Ayrıca kromozomal anormallikler, tanımlanamayan marker kromozomlar nedeni ile komplike hale gelen tekrarlayan değişiklikleri tanımlamayı zorlaştırır. Bununla birlikte, tekrarlayan sitogenetik anormallikler akciğer kanserinde vardır (106). Moleküler sitogenetik tekniklerin geliştirilmesi ve uygulanması yukardaki yapısal sitogenetik problemleri çözmek için değerlidir.

Tablo 2.4. Akciğer Kanserinde Moleküler Genetik Değişiklikler

Genler	Anomaliler	Görülme Sıklıkları (%)	
		KHDAK	KHAK
FHIT	Delesyon, Mutasyon	% 40 civarı	% 80 civarı
K-RAS	Mutasyon	% 20 civarı	Nadir
ERBB1/EGFR	Overexpresyon	% 60 civarı	-
ERBB2/HER2/NEU	Overexpresyon	% 20 civarı	-
MYC	Overexpresyon	% 5-10	% 15-30
BCL-2	Overexpresyon	% 10-35	% 75-95
Siklinler	Overexpresyon	?	?
P16INK4α	İnaktivasyon (delesyon/ mutasyon/hipermetilasyon)	% 70 civarı	Nadir
Rb	İnaktivasyon (delesyon/ Mutasyon)	% 15-30	% 90 civarı
P53	İnaktivasyon (mutasyon/ Delesyon)	% 50 civarı	% 80-90

İlk tekrarlayan anomali Whang-Peng tarafından KHAK'de tanımlanan del (3p)'dir (109). 3p'nin kaybı akciğer kanserinin bütün histolojik alt tiplerinde sıklıkla bulunur. Ayrıca, heterozigozite kaybı çalışmaları 3p'deki allelik dengesizliklerin KHAK ve KHDAK'lerinde % 100 oranında bulunduğunu saptamıştır. Akciğer kanserinin gelişmesinde 3p bölgesindeki tümör supressör gen varlığına inanılmaktadır (60,90,112,115).

KHAK'lerinde diğer tekrarlayan karyotipik anormallikler del(5q), del(13q) ve del(17p)'yi içerdiği rapor edilmiştir. CGH çalışmalarında KHAK'lerinin sıklıkla 3p, 4p, 4q, 5q, 8p, 10q, 13q ve 17p kayıplarına ve 3q, 5p, 8q, 19q ve Xq kazanımlarına sahip olduğu tespit edilmiştir. KHAK'lerde tekrarlayan şekilde görülen homojen boyanan

bölgeler ve double minutes kromozomlar gibi genomik amplifikasyonlar siktir. Bu değişiklikler genellikle myc onkogeninin amplifikasyonu ile ilişkilidir (8,9,85,106,115).

KHDAK'lerinde kromozomal anomaliler KHAK'lerden daha fazla komplekstir. 3p, 6q, 8p, 9p, 9q, 13q, 17p, 18q, 19p, 21q ve 22q'de sıklıkla kayıplar bulunurken beraberinde 1p, 1q, 3q, 5p, 7p, 7q, 8q, 11q ve 12q kazanımları siktir (9,39,56,68,71,82,86,101).

Pei ve arkadaşları 35 adenokarsinoma ve 32 squamoz hücreli karsinomalı vakayı CGH analizi ile incelemişler ve bu histolojik alt tiplerde genomik dengesizlik paternini açıklamaya çalışmışlardır (82). 67 vakanın tamamında örnekler, tedaviye başlamadan önce teşhis zamanında primer tümör doku numuneleri alınarak oluşturulmuştur.

Adenokarsinomalarda ve squamöz hücreli karsinomalarda 1q, 5p ve 8q kazanımları gibi birçok imbalans (dengesizlik) bulmuşlardır. Bununla birlikte istatistiksel olarak anlamlı birçok değişiklik de saptamışlardır. Bunlardan en önemlisi 3q24-qter kazanımı olup, squamöz hücreli karsinomada yaklaşık % 80 oranında ve adenokarsinomalarda yalnızca % 30 oranında görülmüştür. Diğer önemli değişiklik 20p13 kazanımıdır, squamöz karsinomada % 30 görülürken, adenokarsinomalarda % 6 olarak görülmüştür. Ayrıca 4q kaybı squamöz hücreli karsinomada adenokarsinomadan anlamlı derecede fazla görülürken, adenokarsinomada 6p kazanımı daha sık saptanmıştır.

Birçok çalışmada da tümör stage ve gradeleri ile korele kromozom anomalileri konusunda yapılmıştır. Pei ve arkadaşları 7q ve 8q kazanımını yüksek stage ve yüksek gradeli tümörlerde bulmuşlar, bu değişikliklerin de KHDAK'lerinde tümör agresifliğine sebep olduğunu düşündürmekte olduğunu belirtmişlerdir (82).

Goeze ve arkadaşları CGH tekniği ile yaptıkları çalışmada 83 akciğer adenokarsinomalı hastanın 60'ında kromozomal dengesizlik bulmuşlar (39). Bu çalışmanın sonucunda; adenokarsinomaların tekrar eden kromozomal anomalilere sahip olduğunu göstermişlerdir. Sık görülen değişiklikler; 1q, 8q, 20q DNA overekspresyonu

ve delesyon 3p, 4q, 6q, 9p, 9q ve 13q'dur. Bu çalışma sonucunda, kromozom 3p12-p14, 3p22-p24, 4p13-15, 4q21-qter, 6q21-qter, 8p, 10q, 14q21, 17p12-p13, 20p12, ve 21q delesyonları ve 1q21-q25, 7q11, 9q34, 11q12-q13, 14q11-q13, 17q25 overekspresyonları metastatik fenotip ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. Tersine; metastatik olmayan tümörlerde 19. kromozom kaybı, ve 3p, 4q, 5p, ve 6q kromozomal kazanımları bulunmuştur. Bu kromozomal değişikliklerin mekanizması az bilinmektedir. Telomer disfonksiyonu ve kromozomal breakage-fuzyon olaylarının önemli mekanizmalar olabileceği ileri sürülmüştür.

Hoglung ve arkadaşlarının 432 vakalık çalışması "Mitelman Database of Chromosome Aberrations in Cancer"de yayınlanmış ve sitogenetik olarak hatalı kromozom yapılarını 432 vakada göstermişlerdir (45). Tümörler sık görülen dengesizliklerin varlığı ya da yokluğuna göre sınıflandırılmış ve dengesizliğin görülme sırası, olası karyotipik yolaklar ve olası sitogenetik alt gruplara göre istatistik olarak analiz edilmiştir. Büyük hücreli karsinomada daha az sıklıkla 20. kromozom artışı dışında adenokarsinomalar, squamöz hücreli karsinomalar ve büyük hücreli karsinomaların dengesizlik profilleri benzerdir. KHDAK'lerinde +7 ve 3p- dengesizliği benzer oranda görülmüştür. Diğer yandan KHAK'lerinde anlamlı şekilde düşük oranda +7, +11, 1p-, 6q- ve 14q- ve yüksek sıklıkta 3p- vakaların % 65'inde gösterilmiştir. Bu çalışmada analizler sonucunda; +7, 3p-, +12 yolaklarının akciğer kanseri gelişmesinde rol oynamakta olduğunu görmüşlerdir. 3p- yolağı eksilme ile baskın ve +12 yolağı kazanımla baskındır. Kromozom 7 kazanımı, 3p- yolağında önemlidir, birkaç tümör grubunda +7 ve +20 ek değişiklikleri olduğunu saptamışlardır.

2.3.6.2. Moleküler Genetik Analizler

2.3.6.2.1. *Kromozom 3p delesyonu*

Kromozom 3p delesyonunun karsinogenezin erken basamaklarında gerçekleştiği düşünülür, çünkü sigara içen kişilerde gelişen displazik lezyonlarda da görülür. Bu

değişiklik KHAK'lerinin % 100'ünde, KHDAK'lerinin ise % 50'sinde görülür (40). Kromozom 3p delesyonunda hücre siklus regulasyonu bozulur. Kromozom 3p bölgesinde bulunan bir gen, ubiquitin aktive edici enzim ile homologdur. Ubiquitin, aktive edici enzim ile fosforile olduktan sonra, *CCND1* yıkımı ile hücre siklus regulasyonunda görev alır. Tütüne bağlı gelişen kanserlerde hücre siklus kontrolünün kaybı *CCND1* gen amplifikasyonu ve/veya ubiquitin aktive edici enzim delesyon mekanizmaları ile açıklanabilir (27).

Kromozom 3p'deki heterozigote kaybı KHAK ve KHDAK'lerinin gelişiminde meydana gelen erken genetik değişikliklerdendir. Birçok tümör supresör genin lokalize olduğu 3p'de birçok farklı bölge (3p25-26, 3p24, 3p21, 3p14, ve 3p12 bölgeleri gibi) tanımlanmıştır. Primer akciğer kanseri ve akciğer kanseri hücre dizilerinde 3p21, 3p12 ve 3p14 bölgeleri ile birlikte homozigot delesyonlar tanımlanmıştır.

Frajil histidin triad geni (FHIT) 3p14.2 lokalizasyonunda bulunur ve apoptozisin regülasyonunda ve hücre siklus kontrolünde rol oynar (1). Akciğer kanserinde bu bölgenin delesyona uğradığı gösterilmiştir. FHIT gen anomalileri KHAK'lerinin % 80'inde, KHDAK'lerinin ise % 42'sinde gösterilmiştir (36,99). FHIT allel kaybının sigara içimi ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir (34).

Bir başka TSG ise *RASSF1* geni olup 3p21.3 bölgesinde yer alır, KHDAK'lerinin % 30'unda ve KHAK'lerinin ise % 90'ından fazlasında promotor bölge hipermetilasyona uğrar. Bu hipermetilasyon kötü prognoz ile ilişkilidir (34).

2.3.6.2.2. RAS aktivasyonu

Akciğer kanseri ve diğer birçok kanserde ras protoonkogeninin mutasyonu sıklıkla saptanabilir. K-ras gen mutasyonları; KHDAK'lerinin % 20'sinde gözlenirken KHAK'lerinde nadir bulunur. Ras mutasyonları genellikle 12.-13. ya da 61. kodon nokta mutasyonlarını içerir ve akciğer kanseri gelişimi ileri evre olaylarından olduğu rapor edilmiştir. K-ras mutasyonlarının çoğu akciğer adenokarsinomlarında

tanımlanmıştır, bu tümörlerin yaklaşık % 30'unda gösterilmiştir. Çalışmalar göstermiştir ki; ras mutasyonunun bulunması KHDAK'lerinde sağkalımı kısaltmaktadır (32,47,67,75,103,116).

2.3.6.2.3. ERBB1/ Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)

Akciğer kanseri gelişiminde tek bir büyüme faktörü değil, pek çok büyüme faktörü ve reseptörü “multiotokrin loop” oluşturarak etki gösterir. Akciğer kanseri için bu büyüme faktörlerinin başında EGF ve reseptörü gelir. Karsinogenez ile EGFR arasındaki ilişki üç noktada olmaktadır; normal EGFR'nin aşırı ekspresyonu, reseptörde mutasyon gelişimi ile reseptörün sürekli aktivite kazanması, ligandların aşırı yapımına bağlı olarak fizyolojik ligand-reseptör dengesininin bozulması, fosfataz aktivitesindeki azalma ve heterodimerizasyondur (73,87). KHDAK'lerinin % 13-80'inde (Yassı hücreli kanserlerin % 24-89'u, adenokanserlerin % 23-46'sında) EGFR aşırı ekspresyonu saptanmıştır. Özellikle yassı hücreli akciğer kanserlerinde normal dokunun 2-3 katı EGFR ekspresyonu söz konusudur (84). KHDAK'lerinde karakteristik olarak EGFR ve ligandları aktive olurken, KHAK'lerinde nöropeptidler ve reseptörleri aktive olur (43).

EGFR'nin karsinogeneze olan etkileri kısaca şöyledir. Mitojenezi, hücre motilitesini, protein sekresyonunu, hücre adezyonunu, hücre invazyonunu, hücre yaşam süresini arttırır. Apoptozisi inhibe eder. Anjiogenezi, sitokin salınımını ve ekstraselüler matriks depozisyonunu uyarır (22).

Aynı zamanda EGFR aşırı ekspresyonu daha yüksek sitotoksik ilaç direnci gelişimi ile de ilgili bulunmuştur. Ogawa ve arkadaşları, 84 akciğer kanserli olguda yaptıkları çalışmada, aşırı EGFR ekspresyonu olan grupta, cisplatin direncinin daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Benzer sonuçlar, over, baş-boyun ve renal kanserlerde de bildirilmiştir (20). Meme kanserlerinde çok sayıda sitotoksik ajana karşı direnç gelişiminde p-glikoproteini, ErbB2 ve EGFR'nün sorumlu olduğu gösterilmiştir. EGFR inhibitörlerinin veya tirozin kinaz inhibitörlerinin sitotoksik ilaçlarla birlikte kullanımının ilaç

rezistansını azaltacağı belirtilmektedir (22,65). Monoklonal antikorların kullanıldığı bir çalışmada, cisplatin-5-florourasil kombine kemoterapisine, EGFR monoklonal antikorlarının eklenmesi ile antitümöral etkinliğin arttığı gösterilmiştir (16).

EGFR İnhibitörlerinin Etkileri (113).

- a) Hücre siklusunu G1 fazında inhibe eder
- b) Tümör hücrelerinde adhezyonun inhibisyonu
- c) Apoptozis indüksiyonu
- d) Antiproliferatif aktivite
- e) Antianjiyogenik, antiinvazif ve antimetastatik etkinlik
- f) Sitotoksik ilaçlarla birlikte kullanımında aditif etkileşim ile antitümöral etkinliğin artması (Kemosensitivite ve radyosensitivitenin artması)
- g) Sitotoksik tedaviye bağlı yan etkilerin azalması
- h) Diğer - Sağkalım süresinde artış
 - Semptomlarda düzelme
 - Yaşam kalitesinde artış

2.3.6.2.4. HER2/ERBB2/NEU

Transmembran büyüme faktör reseptörü olarak görev yapan bir proteini kodlar. P185 neu, kodlanan protein olup, hem yassı hücreli hem de adeno kanserlerde aşırı ekspresyonu görülür. Adeno kanserlerde P185 aşırı ekspresyonu kötü prognostik bir göstergedir. Kemorezistans ve yüksek metastatik potansiyel ile ilişkilidir (69). Akciğer kanserlerinin % 30- 64 ünde görülür (102).

2.3.6.2.5. MYC Genleri Overexpresyonu

MYC genleri, DNA' ya bağlanan üç nükleer fosfoproteini kodlar. Bu proteinler hücre proliferasyon ve diferansiyasyonunda etkilidirler ve DNA sentezinin

başlamasında rol alırlar. Klonlandıkları kültüre ve elde edilme şartlarına göre bu genler, C-MYC, N-MYC ve L-MYC'den oluşur (61). KHAK'lerinde % 18-31, KHDAK'lerinin ise % 8-20'sinde myc aktivasyonu izlenir. C-MYC amplifikasyonu olan hücrelerde büyüme faktörü gereksinimi azalır, hücre siklusunda G1 fazı kısalmaya ve bunun sonucunda proliferasyon oluşur. C-MYC, tümör büyüme hızında artış ve sağkalımda kısılma ile ilişkilidir (35,41,69).

Yakut ve arkadaşları, KHDAK'li 51 hastanın primer tümör dokularından ve cerrahi borderline dokularından, C-MYC onkogeni ve p53 tümör supresör genleri için lokus spesifik proplar kullanarak FISH metodu ile bu genlerin genetik değişikliklerini tanımlamışlar. Primer tümörlerde ve cerrahi borderline'lerde C-MYC amplifikasyonunu ve p53 delesyonunu saptamışlar (114).

2.3.6.2.6. *BCL-2 Overexpresyonu*

Bcl-2 protoonkogeni kromozom 18q21'de lokalize ve akciğer kanserinde overeksprese olur. Bcl-2 ürünü bir anti-apoptotik proteindir ve bcl-2 ekspresyonu p53 geni ile negatif olarak regüle edilir. Bcl-2 overekspresyonu KHAK'lerinin % 75-90'ında, fakat KHDAK'lerinin sadece % 10-35'inde bulunmuştur (52,70).

2.3.6.2.7. *Cyclin D1/cyclin dependent kinase 4*

Siklin D1'in overekspresyonu KHDAK hücre dizilerinde bulunmuştur ve temel olarak anormal gen amplifikasyonuna bağlıdır. Aynı zamanda primer KHDAK tümörlerinde siklin D1 overekspresyonu rapor edilmiştir. Fakat, bu tümörlerden sadece bir kısmında siklin D1 geni amplifikasyonu bulunmuştur. KHDAK'lerinde CDK4'ün anormal overekspresyonu bulunmuş ve akciğer kanseri gelişiminde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (52,70).

2.3.6.2.8. Cyclin B1

Siklin B1'in artmış ekspresyonu erken evre KHDAK'lerinde rapor edilmiştir. İlginçtir ki, yüksek seviyede siklin B1 ekspresyonu gösteren hastaların, düşük seviyede siklin B1 ekspresyonu olan hastalara oranla anlamlı şekilde daha kısa yaşam sürelerine sahip olduğu gösterilmiştir. Siklin B1 overekspresyonu squamöz hücreli karsinomalarda daha sıklıkla gözlenmiştir ve akciğerin erken evre squamöz hücreli karsinomalarında kötü prognostik faktör olabileceğini düşündürmektedir (70,97).

2.3.6.2.9. P16INK4a İnaktivasyonu

Tümör süpreser gen olan P16INK4 9p21 bölgesinde lokalizedir. Bu gen CDK inhibitörüdür ve Rb genini fosforilleyerek inaktive eder. Yapılan çalışmalarda KHDAK tümör spesmenlerinde % 70'in üzerinde P16INK4 inaktivasyonu saptanırken KHAK'lerinde nadir olarak gözlenmektedir (14,32,79).

2.3.6.2.10. Retinoblastoma (Rb) Gen İnaktivasyonu

RB ilk bulunan TSG'dir. 13q14'de lokalizedir. RB protein yokluğu KHAK'lerinin hemen hepsinde görülürken, KHDAK'lerinin sadece % 10-30'unda görülür (24,35,105). Bu gen hücrel diferansiyasyonda çok önemli bir role sahiptir.

2.3.6.2.11. p53 Tümör Süpressör Geni

İnsan kanserlerinde en sık görülen mutant gen olup, 17p13 lokusunda yerleşmiştir. Tüm kanserlerin % 50'sinde görülürken KHAK'lerinin % 90'ında, yassı hücreli kanserlerin % 65'inde, büyük hücreli kanserlerin % 60'ında ve adeno kanserlerin % 33'ünde gösterilmiştir (35,41,49,66,102,105).

Hücre fonksiyonlarında p53 proteininin rolü; gen transkripsiyonu, DNA sentez ve tamiri, genetik stabilitenin korunması, hücre siklusunun arresti, büyümeyi sonlandırma ve programlı hücre ölümüdür (64,69). Hipoksemi ya da DNA hasarı p53 üretimini uyarır. p53 gen fonksiyon kaybı sonucunda hücre büyümesinin kontrolü ortadan kalkar ve DNA tamiri yapılmaksızın hücre siklusu kontrolsüz olarak çoğalır. Akciğer kanseri açısından önem taşıyan mutasyonlar; 157, 248 ve 278. kodonlarda meydana gelen mutasyonlardır. Akciğer kanserlerinde bu bölgelerde en sık görülen mutasyon tipi GC→TA transversiyonudur.

Genellikle allelik kayıplar ve somatik missense mutasyonlar şeklinde p53 fonksiyon kayıpları olmaktadır. Bu mutasyonlar KHAK'lerinin % 90'ında, KHDAK'lerinin de % 50'sinden fazlasında görülür. Bu mutasyonlar sonucunda, hem tümör süpressör fonksiyonlarında kayıp hem de onkojenik fonksiyon kazanma şeklinde dual bir etki ortaya çıkabilir (34,49,66).

Karsinogenezin erken basamaklarında p53 gen mutasyonları görülür. *K-ras* geninde belli bir noktada mutasyon olurken, p53 mutasyonları 17. kromozom üzerinde tüm gen boyunca oluşabilir (49,102).

2.4. Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) Yöntemi

Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) tekniği; prob olarak bilinen tek zincirli DNA parçasının, genomun herhangi bir yerine lokalize olmuş onun komplementeri hedef DNA veya RNA dizisine bağlanma (hibridize olma) ilkesine dayanır. Problar direkt florokromla işaretli (örnek: floresan -dUTP) veya indirekt olarak bir reporter molekülün (biotin-dUTP veya digoxigenin-dUTP) bağlanması ile görüntülenir. Çoğu floresan işaretli DNA problemleri ticari olarak satın alınabilir. FISH tekniği spesifik DNA ve RNA sekanslarının doku kesitlerindeki her hücrede, kromozom preparasyonlarında veya interfaz nükleuslarında morfolojik olarak gösterilmesini ve nükleik asitlerin kendi doğal hücresel ortamlarında incelenmesini sağlayan, doku/hücre arkitektinin bozulmadığı bir tekniktir. Ayrıca FISH tekniği çeşitli tümörlerin interfaz nükleuslarında kromozomal aberasyonları belirlemek için basit, hızlı ve güçlü bir tekniktir (7,13,72).

2.4.1. FISH Tekniğinde Kullanılan Problemler ve Özellikleri

FISH tekniğinin uygulamasında en önemli aşama prob seçimidir. Kullanılacak probun incelenecek materyale, değerlendirilecek anomali tipine ve bölgesine uygun olması gerekir. FISH tekniğinin sitogenetik alanında kullanımında, başlıca problemler şunlardır (5).

- Tekrarlayan dizi problemleri (satellit problemler)
- Lokusa özgü problemler
- Tüm kromozomu boyayan problemler
- Banda özgü problemler
- Telomer bölgesine özgü problemler

Tekrarlayan dizi problemleri (Sentromere özgü problemler) : Sentromerik ve perisentromerik bölgede bulunan tekrar dizilerine özgü problemler α , β ve klasik satellit problemleri olarak adlandırılır. Alfoid DNA dizileri tüm kromozomlara özgü olup,

sentromerik bölgede yer alırlar. Bu dizilere ait α -satellit problemlerin sinyalleri çok kuvvetlidir ve özellikle interfaz sitogenetiğinde anöploidi tanısında kullanılırlar (5).

Lokus spesifik problemler: Klonlanmış genlere özgü dizileri içeren bu problemler ilgili bölgeye ilişkin amplifikasyon, yapısal düzensizlikler ve delesyon sendromlarının tanısında kullanılmaktadır (5).

Telomerik Problemler: Bunlar ticari olarak elde edilebilirler ve kromozomların sonunda bulunan subtelomerik anomalileri belirlemek için kullanılırlar (72).

Tüm kromozomu boyayan problemler: Bunlar her kromozomun uzunluğu boyunca hibridize olan tek dizi DNA problemlerinden oluşur. Bu problemlerin uygulanması için kromozom morfolojisinin görülebilir olması gerektiğinden metafaz analizi ile sınırlıdır. Bu metodla marker kromozomları ve kriptik translokasyonlar belirlenebilir (72).

2.4.2. Prob Stratejileri ve Analitik Duyarlılık

Problemler tek olarak ya da birçok FISH stratejisine izin veren farklı florokromlarla renklendirilmiş kombinasyonlar halinde kullanılır. Bazı FISH stratejileri klinik anlamlılığı olan bir genomik hedefi belirlemek için bir prob ve farklı bir renge sahip başka bir kontrol lokus probu ile kullanılır. Kontrol lokusunun eklenmesi, FISH prosedürünün doğru bir şekilde çalışıp çalışmadığını anlamak, sayma kriterinin doğruluğunu artırmak ve rapor verilebilir oranını devam ettirmeyi garantilemek için düşünülmüştür (72).

Aynı kromozom için sentromer-spesifik ve lokus spesifik problemlerinin her ikisinin kullanılması stratejisi farklı test duyarlılıkları sağlamak ve birkaç çeşit kromozom anomalisini eş zamanlı belirlemek amacıyla uygulanmaktadır (72).

2.4.3. FISH Tekniğinin Temel Mekanizması

Moleküler hibridizasyona dayanan bütün yöntemlerin (Southern blotting, Northern blotting, PCR, ISH) altında yatan mekanizma iki komplementer daldan çift sarmal yapının oluşmasıdır.

FISH prosedürü 6 aşamada gerçekleştirilir;

1. Preparatların Hazırlanması
2. Preparatların Ön Yıkaması
3. Prob ve Hedef DNA Denatürasyonu
4. Prob ve Hedef DNA Hibridizasyonu
5. Hibridizasyon sonrası Yıkamalar
6. Görüntüleme ve İnceleme

DNA-DNA hibridizasyonunda prob ve hedef DNA'ların denatürasyonunu takiben oluşan DNA fragment karışımı, tek dal halindeki fragmentlerin tekrar birleşmesini sağlayacak koşullarda gerçekleştirilir.

Bu koşullarda etkili olan dört parametre vardır;

1. Isı
2. pH
3. Monovalent katyon konsantrasyonu
4. Organik solvent varlığı

Hibridizasyonda üç temel aşama önemlidir;

1. Hedef dizilerin hibridizasyon sırasında geçirgenliklerinin korunmaları,
2. Proba hedefin yüksek etkinlikle birbirlerine bağlanması,
3. Hibridizasyonun spesifik aktivitesi yüksek bir reporter ile en az zemin sinyali olan en parlak şekilde görüntülenmesidir (6).

Bir hibridizasyon reaksiyonunda tolere edilebilen yanlış eşleşme derecesi 'stringency' olarak ifade edilir. Yüksek stringency koşullarında, sadece hedef sekansla tam homolog olan problemler stabil hibridler oluştururlar. Düşük stringency koşullarında

ise prob sadece % 70-90 homoloji gösteren sekanslara bağlanabilir. Bu spesifik olmayan sinyaller, hibridizasyon sonrası yıkamalarda yüksek stringency koşullarının (yüksek ısı + düşük tuz konsantrasyonu) sağlanmasıyla ortamdan uzaklaştırılır. FISH sonrası problemlerden elde edilen sinyaller epifloresan mikroskopta incelenirler. Kullanılan florokromların gözlenebilmesi için doğru prob setleri ve uygun filtrelerin seçilmesi gerekmektedir. Birden fazla hedef dizinin görüntülenmesi gerektiğinde doğru filtreler ile yeşil, kırmızı ve mavi florokromlar gözlenebilmektedir (6).

Bu çalışmada yarı invaziv bir teknikle (Fiber Optik Bronkoskopi) alınabilen bronşial lavaj materyalinden elde ettiğimiz hücreleri, FISH yöntemiyle EGFR, C-MYC ve HER2 problemleri ile analiz etmeyi planladık. Akciğer kanserinde; kemoterapiye yanıt ve prognoz takibinde sadece histopatolojik tanı ve evreleme sistemi yetersiz kalmakta; aynı evre ve tanıya sahip vakalardaki farklı yanıtları açıklayamamaktadır. Farklı bir bakışla; FISH yöntemi ile saptanabilen EGFR, C-MYC ve HER2 gen bölgelerindeki sayısal değişikliklerin, prognoz ve kemoterapiye etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Ayrıca KHDAK'li olup, FISH yöntemi ile EGFR amplifikasyonu saptanmış hastalarda tirozin kinaz inhibitörlerinin kullanımına yol gösterici olabileceği amaçlanmıştır. Gen amplifikasyonu ve kopya sayısının saptanmasında FISH yönteminin altın standart olduğu ve bu amaçla kullanımının sadece biyopsi doku örnekleri ile sınırlı olmayıp, yarı invaziv yöntemlerle alınabilen lavaj materyallerinde bile analiz edilebileceğini göstermektedir. Histopatolojik kesin tanı ve FISH marker sonuçları birlikte değerlendirildiğinde tedaviye yön verme ve tedavi başarısını arttırmada ve hatta uygun FISH problemleri seçildiğinde erken tanı ihtimalini arttırabileceği de önemli bir durumdur.

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. GEREÇLER:

3.1.1. Kullanılan Araçlar

3.1.1.1. Kullanılan Aygıtlar

Bek

Ben Mari (Heto-DT Hetoterm)

Binoküler araştırma mikroskobu (Olympus CH-2)

Buzdolabı (Arçelik 415)

Cam Kalemi

Sensys Kamera (Sensys)

Deep-Freeze (Heraeus)

Elektronik Terazı (Seuter, Ainworth-AA-250, Setra-M2000L)

Enjektör

Etüv (Friocell MMM Med Center)

Floresan mikroskop (Olympus BX-61)

Image Analyser (Applied Imaging)

Kronometre

Lamin Air Flow (Heraeus ELB2448)

Mikropipet (Eppendorf)

Mikrosantrifüj (Eppendorf Centrifuge 5415)

pH Metre (Nel PH890)

Pipet Uçları

Soğutmalı Santrifüj (Heraeus Biofuge Stratos)

Termometre

Vortex (Janke and Kunkel, UF-2)

Zaman Ayarlı Santrifüj (Heraeus)

3.1.1.2. Cam Malzeme

Beher (500 ml, 1000 ml)

Erlenmayer (500 ml, 1000 ml)

Lam

Lamel

Mezür

Santrifüj Tüpü

Yatay ve Dikey Şale

3.1.1.3. Kimyasal Maddeler

Ethanol (Merck)

Antifade (Vector)

DAPI (Sigma)

Distile Su

Glacial acetic acid (Merck)

HCl (Merck)

Immersion yağı (Merck)

KCl (Merck)

KH₂PO₄ (Merck)

Methanol (Merck)

MgCl₂ (Merck)

Na Citrat (Merck)

Na₂HPO₄ (Merck)

NaCl (Merck)

NaOH (Merck)

Parafilm

Serum Fizyolojik

Tween 20 (Sigma)

3.1.1.4. Kullanılan Problar

- 1)** LSI EGFR Probe (LSI EGFR/Cep 7)
(7p12/7p11.1-q11.1)
- 2)** LSI C-MYC Probe (8q24.12-q24.13)
- 3)** PathVysion HER-2 DNA Prob Kit (LSI Her-2/Cep 17)
(17q11.2-q12/17q11.1-q11.1)

3.2. YÖNTEMLER:

3.2.1. Yöntem

Akciğer kanseri öntanılı ve bronkoskopi endikasyonu olan vakalardan bronkoskopi esnasında alınan bronşial lavaj örneklerinden elde edilen hücrelere interfaz FISH analizi uygulanmıştır.

3.2.2. Materyal Seçimi:

Yaptığımız çalışma Ocak 2007 ve Ocak 2008 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'na belirlenen, akciğer kanseri öntanısı alan ve bronkoskopi endikasyonu olan 100 olgu ve 15 kontrol olgusu ile yapılmıştır. Çalışmamız Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Sitogenetik ve Moleküler Sitogenetik laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Olgulardan alınan örnekler; ESOGÜ Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'na belirlenmiş vakalardan bronkoskopi esnasında alınan bronşial lavaj numuneleridir. Çalışmamızda bronşial lavaj materyalinden hücreler elde edilmiştir. Bu hücrelerin FISH yöntemi ile analizi, akciğer kanseri tanısında rutin bir test gibi uygulandığı kurgulanarak yapılmıştır. Yaş, cinsiyet, kanser türü gibi özellikler olgu seçiminde dikkate alınmamıştır. Hastaların histolojik tanısı ve tümör evrelendirmesi Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fak. Patoloji Anabilim Dalı ve Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı tarafından yapılmıştır. Hastaların klinik bilgileri, tanıları, kemoterapiye yanıtları ve prognozları hasta takip dosyalarından temin edilmiştir.

3.2.3. Materyal Alımı

ESOGÜ Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'na belirlenen akciğer kanseri öntanılı ve bronkoskopi endikasyonu olan olgularda çalışılmıştır. Çalışma yapılan materyal; bronkoskopide lezyon saptanan bölgeye 20 ml serum fizyolojik verildikten sonra bronkoskobik kanal aracılığı ile aspire edilen sekresyondur.

3.2.4.Örneklerin FISH Analizine Hazırlanması

1. ESOGÜ Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı tarafından, akciğer kanseri ön tanılı ve bronkoskopi endikasyonu olan hastalardan; bronkoskopi esnasında yapılan bronşial lavajla alınan yaklaşık 5-15 ml'lik bronşial yıkama örnekleri steril kap içerisinde Tıbbi Genetik Anabilim dalına getirilmiştir.
2. Bronşial yıkama örnekleri 10 ml'lik ekim tüplerine plastik pipetler kullanılarak aktarılmıştır.
3. Örnekler 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek, süpernatant atılmış ve dipte 0.5 ml pelet bırakılmıştır.
4. Taze hazırlanmış PBS solüsyonundan 10 ml eklenmiş ve karıştırarak hücreler yıkanmıştır.
5. Tüpler 1300 rpm'de 8 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant atılmıştır.
6. Önceden 37°C'ye getirilmiş hipotonik (0.075M KCL) solüsyondan 5 ml karıştırarak ilave edilmiştir.
7. Tüpler 37°C'ye ayarlı etüvde 25-30 dakika inkübe edilmiştir.
8. Prefiksasyon: Vortex eşliğinde taze hazırlanmış Carnoy's Fiksatif Solüsyonundan, yavaşça damla damla koyulacak şekilde 5 damla ilave edilmiştir.
9. Tüpler 1300 rpm'de 8 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant atılmıştır.
10. Taze hazırlanmış Carnoy's Fiksatif Solüsyonundan 5 ml ilave edilmiştir.
11. 9 ve 10. basamaklar 2 defa daha tekrarlanmıştır.
12. Taze hazırlanmış Carnoy's Fiksatif Solüsyonundan 5 ml ilave edilmiş ve kapakları kapalı olarak buzdolabında -20°C derecede FISH analizi yapılmak üzere saklamaya alınmıştır.

3.2.5. FISH Tekniğinin Uygulaması

FISH tekniğinde Rieder H. ve arkadaşları tarafından geliştirilen protokol uygulanmıştır (88).

FISH analizi için -20°C derecede saklanan örnekler 1300 rpm'de 8 dakika santrifüj edilmiştir. Supernatantları atılarak 0.2- 0.5 ml kadar pelet bırakılmıştır. Önceden temizlenmiş olan preparatların üzerine her bir prop için ayrı ayrı 10 mikrolitre olarak yayılmıştır. Yayma yapılan bölgeler cam kalemi ile işaretlenerek probun uygulanacağı bölgeler belirlenmiştir. Preparatlar bir gece oda sıcaklığında eskimeye bırakılmıştır.

3.2.5.1. Preparatların Ön Yıkaması ve Denatürasyonu

- Preparatlar her biri 1 dakika olmak üzere sırasıyla % 100, 70, 50, 30'luk alkol serisinden geçirildikten sonra 1 dakika 0.1XSSC solüsyonundan geçirilerek dehidre edilmiştir.

- Preparatlar hemen 70°C deki 2XSSC solüsyonuna konulmuş ve 30 dakika bekletilmiştir.

- Süre sonunda içerisinde preparatların bulunduğu 2XSSC solüsyonu, 37 °C'ye gelene kadar oda ısısında bekletilmiştir.

- Bundan sonra preparatlar 1 dakika oda ısısındaki 0.07 M'lık NaOH solüsyonunda denatüre edilmiştir.

- Denatürasyonu takiben preparatlar + 4°C de her biri 1 dakika olmak üzere sırasıyla 0.1XSSC ve 2XSSC'lik solüsyonlarda bekletilmiştir.

-Süre sonunda preparatlar her biri 1 dakika olmak üzere sırasıyla % 30 – 50 – 70 – 100'lük alkol serisinde dehidre edilmiş ve kurumaya bırakılmıştır.

3.2.5.2. Prob Denatürasyonu

Kullanacağımız proplar çalışacağımız örnek sayısına uygun olarak daha önceden ayrı ayrı hazırlanıp ependorf tüplerine konarak -20°C'ta saklamaya alınmıştır. Preparatları sırasıyla % 30, 50, 70, 100'lük alkol serisinden geçirirken, -20°C'ta ependorf tüplerde saklanan proplar 70°C'taki su banyosuna konarak 5 dakika bekletilerek denatüre edilmişlerdir.

3.2.5.3. Hibridizasyon

Denatüre edilen preparatlarda daha önceden cam kalemi ile işaretlediğimiz bölgelere yine denatüre ettiğimiz proplar mikropipet ile 3 mikrolitrelik miktarlarda konmuş ve 11 mm'lik yuvarlak lamellerle kapatılmıştır. Lamel çevresi su geçirmeyecek şekilde rubber sement ile yalıtılmıştır. Preparatlar etüvde 37 °C'ta nemli ortamda bir gece hibridizasyona bırakılmıştır.

3.2.5.4. Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar

Hibridizasyon sonrası yıkamalarda amaç, spesifik olarak bağlanmayan prob DNA'sının ortamdan uzaklaştırılması ve olgu DNA'sına tam komplementer olan (% 80–100) dizilerin hedef bölgede sabit hale getirilmesidir. Aşamaları:

-Hibridizasyonu tamamlanan preparatlar etüvden çıkartılarak lamellerin çevresindeki yalıtım maddesi küçük bir penset ile dikkatlice temizlenmiştir.

-Preparatlar, oda ısısındaki 2XSSC solüsyonunda hafifçe çalkalanarak lameller preparatlardan uzaklaştırılmıştır.

- Preparatlar 1XSSC solüsyonu ile 74 °C'ta 5 dakika yıkanmıştır.

- Sonrasında oda ısısındaki 2XSSC/Tween-20 solüsyonunda 5 dakika yıkanmıştır.

3.2.5.5. Hibridize Olan Bölgelerin Görüntülenmesi

Bu aşamada prob ve nükleus DNA'sının hibridize olduğu bölgelerin görünür hale getirilmesi amaçlanmaktadır.

Hibridizasyon sonrası yıkamaları yapılan preparatlar 4XSSC/DAPI solüsyonunda 2 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda 15 µl antifade eklenmiş ve lamel ile kapatılmıştır. İnceleme aşamasına kadar -20 °C'ta ve karanlıkta bekletilmişlerdir.

3.2.5.6. Preparatların Mikroskopta İncelenmesi

Preparatlar Olympus BX-61 Floresan mikroskobunda uygun filtrelerde incelenmiştir. Floresan mikroskoba bağlı bilgisayar sistemi (Applied Imaging) ile sinyaller değerlendirilmiş ve Sensys kamera aracılığıyla FISH sinyalleri içeren nükleuslar fotoğraflanmıştır.

3.2.5.7. Değerlendirme

Akciğer kanseri ön tanısı alan ve kontrol grubu olarak kullanılan olguların bronkoskopi esnasında alınan bronşial lavaj örneklerinden elde edilen hücrelerle hazırlanan preparatlara uygulanan FISH analizlerinde her olguda her prob için en az 100 interfaz nükleusu değerlendirilmiştir. Sinyaller değerlendirilirken birbirine çok yakın ve üst üste gelmiş hücrelerdeki sinyaller değerlendirmeye alınmamıştır. Preparatlarda sayma işlemi yapılırken, sitolojik olarak atipik hücreler değerlendirmeye alınmıştır.

3.2.5.8. İstatistiksel Analizler

Patolojinin sensitivitesi ile FISH sensitivitesinin karşılaştırılmasında İki Oran Testi ve Fisher's Exact Test istatistik metodları uygulanmıştır.

3.2.5.9. Kullanılan Stok Solüsyonlar

Çizelge 3.1. Hipotonik Solüsyon (0.075 M)

KCl	1.398 gr
Distile su	250 ml

Çizelge 3.2. Carnoy's Fiksatif Solüsyon

Methanol	30 ml
Glacial Acetic Acid	10 ml

Çizelge 3.3. PBS Solüsyonu

Buffer Solüsyonu	
A solüsyonu	50, 8 ml
B solüsyonu	49.2 ml
HCl ile pH 6,8 e ayarlanır.	
A Solüsyonu	
Potasyum fosfat (KH_2PO_4)	4.539 g
Distile su	500 ml
B solüsyonu	
Sodyum Fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$)	5.938 g
Distile su	500 ml

Çizelge 3.4. Preperat Ön Yıkama Solüsyonları

<u>20XSSC Solüsyonu</u>	
NaCl (3 M)	175,3 gr
Tri Sodyum Sitrat (0,3 M)	88,24 gr
Distile su	1000 ml
<u>2XSSC Solüsyonu</u>	
20XSSC	40 ml
Distile su	360 ml
<u>0,1XSSC Solüsyonu</u>	
20XSSC	3 ml
Distile su	597 ml

Çizelge 3.5. Denatürasyon Solüsyonu

0,07M NaOH	14 ml
Distile su	200 ml

Çizelge 3.6. Görüntüleme Sistemleri Solüsyonu

DAPI/Antifade Solüsyonu	
2XSSC	20 ml
DAPI	100 µl
Distile su	80 ml

Çizelge 3.7. Hibridizasyon Sonrası Yıkama Solüsyonları

1XSSC Solüsyonu		
20XSSC		10 ml
Distile su		190 ml
2XSSC Solüsyonu		
20XSSC		20 ml
Distile su		180 ml
2XSSC/Tween-20 Solüsyonu		
20XSSC		20 ml
Tween 20		100 µl
Distile su		180 ml
Tüm solüsyonların pH'ları, HCl ile pH 7,0'a ayarlanır.		

4. BULGULAR

Çalışmamız Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Sitogenetik ve Moleküler Sitogenetik Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız ESOGÜTF Göğüs Hastalıkları Polikliniğine başvuran akciğer kanseri öntanısı almış ve kesin tanı için Bronkoskopi endikasyonu bulunan hasta grubunda yapılmıştır. Kontrol Grubu olarak da akciğer kanseri olmayan ancak bronkoskopi endikasyonu olan hasta grubu seçilmiştir. Çalışmamıza 100 akciğer kanserli olgu ve 15 kontrol olgusu olmak üzere toplam 115 olgu alınmıştır. Bronkoskopi esnasında alınan 5-15 cc'lik bronşial lavaj materyalinden hücreler elde edilmiş ve moleküler sitogenetik bir teknik olan Flouresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) yöntemi ile analiz edilmiştir. Çalışmamızda EGFR, C-MYC ve HER2 onkogenlerinin kopya sayılarında artışlar ve delesyonlar gözlenmiştir. Ayrıca 7, 8 ve 17. kromozomların akciğer kanserlerindeki sayısal değişiklikleri de değerlendirilmiştir. Çalışmamızda olgularla ilgili bilgileri; yaş, cinsiyet, ailede kanser öyküsü, kesin tanı yöntemi ve zamanı, histopatolojik tanıları, evreleri, kemoterapiye yanıt durumları ve prognoz bilgileri hasta takip dosyalarından temin edilmiştir.

4.1. Çalışmadaki Olguların Demografik Özellikleri

Çalışma grubumuza dahil edilen 100 akciğer kanserli olgudan 91'i erkek, 9'u kadındır. Kontrol grubu olguların 10'u erkek, 5'i kadındır.

Çalışma yaptığımız 100 akciğer kanserli olgudan; 10'unda ailede akciğer kanseri öyküsü, 6'sında ise ailede akciğer kanseri dışında diğer kanser öyküsü olmak üzere toplam 16 olgunun ailelerinde kanser öyküsüne rastlanmıştır.

4.1.1. Çalışmadaki Olguların Yaş Grubu ve Histopatolojik Tanıya Göre Dağılımı

Tablo 4.1.'de çalışmamızdaki olguların genel histopatolojik tanı ve yaş gruplarına göre dağılımları görülmektedir. 81 olgu KHDAK'i, 16 olgu KHAK'i, 3 olgu da başka

organ metastazı olmak üzere toplam akciğer kanserli 100 olgu değerlendirmeye alınmıştır.

Yaptığımız çalışmada; tablo 4.1’de görüldüğü gibi, akciğer kanseri en sık 50-79 yaşları arasında toplam 87 olguda (% 87) tespit edilmiştir ve 39 yaş altında akciğer kanserli olguya rastlanmamıştır.

Tablo.4.1. Akciğer Kanserli Olguların Histopatolojik Tanı ve Yaşa Göre Dağılımı

YAŞ	KHDAK 81 OLGU							KHAK 16 OLGU		Metastatik akc. Ca	Genel Toplam
	Squamöz	Adeno	KHDAK türü belirsiz	Mukoepidermod	Adeno squamöz	Squa. Küçük hücreli	Karsinoid	Küçük hücreli yaygın	Küçük hücreli sınırlı	3 OLGU	
<39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40-49	2	4	1	2	-	-	1	-	1	-	11
50-59	15	4	4	1	1	-	-	4	3	-	32
60-69	16	5	6	-	-	1	-	6	1	-	35
70-79	13	3	1	-	-	-	-	-	1	2	20
80+	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	2
Toplam	46	17	12	3	1	1	1	10	6	3	100

4.1.2. Çalışmadaki Olguların Evrelere Göre Dağılımı

Çalışmamızda; tablo 4.2’de görüldüğü gibi, 81 KHDAK’li olgudan 72’sinin evrelendirme takibi yapılabilmektedir. Dokuz olgunun ise bir kısmı başka merkezlerde tedavilerine devam etmiştir, bir kısmı da takipsizdir ve bilgi alınamamıştır.

Çalışmamızdaki KHDAK’li 72 olgudan, sadece 11 olgunun (% 15,28) kesin histopatolojik tanısı erken dönemde konulabilmektedir. Tablo 4.2’de görüldüğü gibi, 61 olgunun (% 84,72) kesin histopatolojik tanıları ise genelde olduğu gibi Evre 3 ve Evre 4 dönemlerinde (geç dönemde) konulabilmektedir. Ayrıca çalışmamızdaki KHAK’li 16 olgudan, 10’u yaygın ve 6’sı da sınırlı küçük hücreli akciğer kanseri olarak değerlendirilmiştir.

Tablo.4.2. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserli Olguların Evrelere göre dağılımları

Evre	Olgu Sayısı	%
Karsinoma in-situ	1	1,39
Evre 1A	2	2,78
Evre 1B	6	8,33
Evre 2A	-	0,00
Evre 2B	2	2,78
Evre 3A	16	22,22
Evre 3B	27	37,50
Evre 4	18	25,00
TOPLAM	72	100,00

4.2. Yönteme İlişkin Bulgular

Çalışmamızda akciğer kanserli olgularda bronşial lavaj materyalinden elde edilen hücrelerde FISH analizi yapılmıştır. Çalışmamızda olguların FISH pozitif (+), FISH şüpheli (?), FISH negatif (-) olarak değerlendirilmesinde; her olguda EGFR, C-MYC ve HER2 problemlerinden en az birinde kopya sayısı değişikliğinin olması kriter olarak seçilmiştir. Çalışmamızda her bir prob için ayrı ayrı en az 100 hücre sayılmış olup, 10 ve üzeri hücrede FISH anomalisi saptananlar FISH pozitif (+) olarak değerlendirilmiştir. Eğer 3-9 arası FISH anomalili hücre saptanmış ise bunlar da FISH şüpheli (?) olarak değerlendirilmiştir. İkişer kopya saptanan hücreler ise, FISH negatif (-) olarak yani normal hücreler olarak değerlendirilmiştir.

Çalışma olgularında FISH yöntemi ile saptanan bulguları ayırt edebilmek ve daha anlaşılır bir şekilde açıklayabilmek amacıyla önce, akciğer kanserli olgularda EGFR, C-MYC ve HER2 problemleri ile saptanan bulguların kısaca değerlendirilmesi yapılmıştır. Daha sonra ise akciğer kanserleri genelde olduğu üzere öncelikle KHDAK ve KHAK olarak ayrılmıştır. Tablo 4.3.'de çalışma grubundaki akciğer kanserli olgular ve saptanan bulgular görülmektedir.

Tablo.4.3. Çalışma Olgularının Histopatolojik Tanıları ve Saptanan FISH**Analiz Sonuçları**

Olgu No	Yaş	Cins	1.FOB'de alınan biyopsi ve bronşial lavaj örnek analizleri (Biyopsi örneklerinde, Histopatolojik analiz; Bronşial lavaj örneklerinde FISH analizleri yapılmıştır)						1. FOB ile Tanı konulamamış olgularda Diğer örnek alım Yöntemi	Kesin Histopatolojik Tanı	Evre
			örnek alım Yöntemi	Histopatoloji Sonucu	FISH Sonucu (Genel)	7p12 EGFR	8q24 C-MYC	17q21.1 HER2			
1	50	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Sq	4
2	74	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Sq	3A
3	69	E	1. FOB	+	+	5sin.	Amp.	N		Small	Yay.
4	76	E	1. FOB	+	+	N	Amp	N		Sq	3A
5	42	K	1. FOB	+	+	4sin.	Amp	N		NS	4
6	72	E	1. FOB	+	-	N	N	N		NS	4
7	69	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Small	Yay.
8	69	E	1. FOB	+	+	N	Amp	N		Small	Yay.
9	75	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Sq	4
10	54	E	1. FOB	+	+	+7	Amp	Amp		Sq	4
11	57	E	1. FOB	-	-	N	N	N	Göğüs cerr.	NS	
12	61	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Sq	3B
13	61	E	1. FOB	+	+	Amp	Amp	+17		Sq	3B
14	56	E	1. FOB	+	+	Amp	N	Amp		Sq	3B
15	63	E	1. FOB	-	-	N	N	N	İğne biyopsi	Adeno	1B
16	62	E	1. FOB	+	+	+7	Amp	Amp		Adeno	
17	57	E	1. FOB	+	+	+7	Amp	N		Small	Yay.
18	64	K	1. FOB	-	-	N?	N	N	2. FOB	NS	3A
19	54	E	1. FOB	+	+	N	Amp	N		Sq	3B
20	68	E	1. FOB	+	+	4sin.	4sin.	4sin.		Sq	4
21	44	E	1. FOB	+	+	N	Amp	N		NS	3B
22	67	E	1. FOB	+	+	-7	N	N		Sq	1B
23	52	E	1. FOB	+	+	+7	N	N		Small	Yay.
24	59	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Sq	3B
25	60	E	1. FOB	-	-	N	N	N	İğne biyopsi	Adeno	4
26	69	E	1. FOB	+	+	+7	+8	+17		Small	Yay.
27	62	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Small	Yay.
28	72	E	1. FOB	-	-	N	N	N	İğne biyopsi	Adeno	3A
29	58	E	1. FOB	+	+	Amp	N	4sin.		Sq	3A
30	62	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Small	Sin.
31	77	E	1. FOB	+	+	Amp	N	Amp		Small	Sin.
32	62	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Sq	3B
33	73	E	1. FOB	-	+	-7,del.	N	N	İğne biyopsi	Sq	4
34	52	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Adeno	1B
35	63	E	1. FOB	+	+	+7	Amp.	Amp		Sq	3B
36	62	K	1. FOB	+	+	+7	N	N		NS	4
37	60	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Sq	3B
38	65	E	1. FOB	+	+	N	Amp	N		Sq kü.	3A
39	61	E	1. FOB	+	+	N	N	Amp		Sq	3B
40	60	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Sq	3B
41	78	E	1. FOB	+	+	N	N	+17		Sq	
42	61	E	1. FOB	+	-	N	N	N		NS	3A
43	60	E	1. FOB	+	+	Amp	4sin.	N?		NS	3B
44	58	E	1. FOB	+	+	N	+8	N		Sq	4
45	56	E	1. FOB	+	+	+7	+8	+17		Small	Yay.
46	71	E	1. FOB	+	+	+7	+8	Amp		Sq	3B
47	68	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Sq	
48	57	K	1. FOB	-	+	N	+8	-17	Göğüs cerr.	NS	3A
49	56	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Small	Sin.
50	57	E	1. FOB	+	+	Amp	+8	Amp		Sq	3B

Olgu No	Yaş	Cins	1.FOB'de alınan biyopsi ve bronşial lavaj örnek analizleri (Biyopsi örneklerinde, Histopatolojik analiz; Bronşial lavaj örneklerinde FISH analizleri yapılmıştır)						1. FOB ile Tanı konulamamış olgularda Diğer örnek alım Yöntemi	Kesin Tanı	Evre
			Örnek alım Yöntemi	Histopatoloji Sonucu	FISH Sonucu (Genel)	7p12 EGFR	8q24 C-MYC	17q21.1 HER2			
51	66	E	1. FOB	+	+	Amp	N	N		Sq	3B
52	75	E	1. FOB	+	-	N?	N?	N?		Sq	1A
53	72	E	1. FOB	-	+	Amp	N?	N	2.FOB	Sq	3A
54	57	E	1. FOB	-	-	N	N	N	Göğüs cerr.	Adeno	3B
55	43	E	1. FOB	+	+	4sin.	+8	+17		Adeno	4
56	62	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Small	Yay.
57	75	E	1. FOB	-	+	N?	N	-17	2.FOB	Sq	4
58	52	E	1. FOB	-	-	N	N	N	2.FOB	Adeno	3A
59	70	E	1. FOB	+	+	Amp	4sin.	N		Sq	3B
60	72	E	1. FOB	-	-	N	N	N	2.FOB	Sq	2B
61	60	E	1. FOB	+	+	N	+8	N		Sq	3B
62	80	K	1. FOB	+	+	Amp	Amp	Amp		Adeno	
63	65	E	1. FOB	+	+	Amp	Amp	Amp		NS	4
64	53	E	1. FOB	+	+	Amp	N	N		NS	2B
65	67	E	1. FOB	+	+	Amp	Amp	4sin.		Sq	4
66	69	E	1. FOB	+	+	N?	N	Amp		NS	3B
67	57	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Sq	3B
68	54	K	1. FOB	+	+	Amp	N	N		Sq	3A
69	63	E	1. FOB	+	+	Amp	Amp	N?		Adeno	3B
70	76	E	1. FOB	+	+	+7	Amp.	+17		Sq	3B
71	50	K	1. FOB	-	+	Amp	Amp	Amp	İğne biyopsi	Met k.	
72	66	E	1. FOB	+	-	N?	N	N		Sq	3A
73	48	E	1. FOB	+	+	N	N	-17		NS	
74	53	E	1. FOB	+	+	N	Amp.	+17		NS	3B
75	70	E	1. FOB	+	+	N	+8	+17		Adeno	4
76	67	E	1. FOB	-	+	Amp	N	N	PET-CT,Sin.	Met k.	
77	62	E	1. FOB	+	+	Amp.	N	Amp		Sq	
78	54	E	1. FOB	+	+	+7	Amp.	N		Small	Yay.
79	44	E	1. FOB	+	+	Amp	N	N		Sq	3B
80	44	E	1. FOB	+	+	Amp	Amp	Amp		Sq	3A
81	72	E	1. FOB	-	+	Amp	N	Del.	2.FOB	Sq	3A
82	55	E	1. FOB	-	+	Amp.	+8	N	İğne biyopsi	Sq	1B
83	62	E	1. FOB	+	+	+7	N	N		Sq	3B
84	66	E	1. FOB	+	+	Amp	N	N		Sq	4
85	56	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Small	Sin.
86	51	E	1. FOB	+	+	+7	+8	+17		Small	Sin.
87	51	E	1. FOB	+	+	N	Amp	Amp		Sq	3B
88	53	E	1. FOB	+	+	+7	N	N		Adeno	4
89	76	E	1. FOB	-	-	N	N	N	2.FOB	Adeno	3B
90	44	K	1. FOB	+	+	Amp.	+8	+17		Adeno	3B
91	46	E	1. FOB	+	+	N	N	Amp		Adeno	3A
92	49	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Adeno	
93	54	E	1. FOB	+	+	-7	N	N		Sq	insitu
94	53	E	1. FOB	-	-	N	N	N	İğne biyopsi	NS	4
95	46	E	1. FOB	+	+	Amp	N	N		NS	1A
96	59	E	1. FOB	+	-	N	N	N		NS	4
97	81	K	1. FOB	+	+	N	Amp	N		Met k.	
98	60	E	1. FOB	-	-	N	N	N	İğne biyopsi	Adeno	1B
99	50	E	1. FOB	+	+	N	N	+17		Small	Sin.
100	65	E	1. FOB	+	-	N	N	N		Sq	1B

Kısaltmalar: -E(Erkek),-K(Kadın) -Amp. (Amplifikasyon), -Amp. Mult. (Multisinyalli Amplifikasyon), - Sin. (Sinyal), -N (Normal), -N? (Şüpheli sonuç), - Del. (Delesyon), FOB (Fiber Optik Bronkoskopi), -Göğüs cerr. (Göğüs Cerrahi), -Sq. (Squamöz), -Met.k.(Metastatik karsinom), -NS (Non-small=Kesin olarak türü belirlenememiş KHDAK)), -insitu (Karsinoma in-situ)

4.2.1. Çalışma Grubundaki Akciğer Kanserli Olguların Histopatolojik Tanıları ve Saptanan FISH Analiz Sonuçları

Çalışmamızdaki akciğer kanserli 100 olgunun kesin histopatolojik tanıları ve genel olarak saptanan FISH analiz sonuçları tablo 4.3 ve 4.4.'te görülmektedir. İlk FOB'de (1.FOB) alınan biyopsi materyalleri analizi sonucunda 81 olguya kesin histopatolojik tanı konulabilmiştir, kalan 19 olgunun kesin histopatolojik tanıları ise belli bir süre geçtikten sonra yapılan 2.FOB'de alınan biyopsi, iğne biyopsisi veya cerrahi operasyon esnasında alınan biyopsi materyalleri analizleri sonucunda konulabilmiştir. Çalışmamızda; 1.FOB ile kesin tanı konulamayan 19 olgudan 8'inde FISH pozitif bulgular saptanmıştır. Sadece ilk FOB'de alınan bronşial lavaj materyallerinin FISH analizi yöntemi ile akciğer kanserli 100 olgudan 65'inde (% 65) anomali saptanmıştır. Çalışmamızdaki 100 olguyu kombine (Patoloji+FISH) olarak değerlendirdiğimizde ise 89 olguda anomali saptanmış ve anomali saptama oranı % 89'a ulaşmıştır.

Çalışmamızdaki olguların kesin tanıları, histopatolojik tiplerine göre değerlendirdiğimizde ise; histopatolojik olarak 81 KHDAK'li olgunun 64'üne 1.FOB'de alınan biyopsi materyali analizi sonucu tanı konulabilmiştir. Yine 1.FOB'de alınan bronşial lavaj materyalinin FISH yöntemi analizi ile, 81 KHDAK'li olgudan 52'sinde (% 64) FISH pozitif, 29 olguda (% 36) ise FISH negatif sonuçlar elde edilmiştir. Küçük hücreli akciğer kanserli 16 olgunun tamamına (% 100) 1.FOB'de alınan biyopsi materyali ile kesin histopatolojik tanı konulmuştur. Çalışmamızdaki 16 KHAK'li olgudan 10'unda (% 62,5) FISH pozitif analiz sonuçları elde edilmiştir. Ayrıca primer tümörleri başka organlarda olup akciğere metastaz yapmış üç olgudan 1'ine ilk FOB'de alınan biyopsi ile kesin histopatolojik tanı konulabilmiştir,

çalışmamızda ise bu üç olgunun tümünde FISH pozitif bulgular elde edilmiştir (Tablo 4.4.).

Tablo 4.4. Histopatolojik Olarak Genel Akciğer Kanseri Türleri (Biyopsi) ve FISH Analiz (Bronşial lavaj) Sonuçları

Çalışmamızdaki Akciğer Kanseri Türü ve Olgu Sayısı	1.FOB'da Alınan Örneklerle Göre Genel Olarak Sonuçlar				EGFR (7p12)		C-MYC (8q24)		HER2 (17q21.1)	
	FISH + (EGFR, C-MYC, HER2)		Patoloji 1.FOB'de Kesin Tam		FISH (+)	Amp. (+)	FISH (+)	Amp. (+)	FISH (+)	Amp. (+)
	+	-	+	-						
KHDAK n=81 (%)	52 (64,1)	29 (35,8)	64 (79)	17 (21)	36 (44,4)	22 (27,1)	29 (35,8)	19 (23,4)	29 (35,8)	18 (22,2)
KHAK n=16 (%)	10 (62,5)	6 (37,5)	16 (100)	0 (0)	8 (50)	1 (6,2)	7 (43)	4 (25)	5 (31,2)	1 (6,2)
Met.Ak. Ca.n=3 (%)	3 (100)	0 (0)	1 (33,3)	2 (66,6)	2 (66,6)	2 (66,6)	2 (66,6)	2 (66,6)	1 (33,3)	1 (33,3)
Toplam n=100 (%)	65 (65)	35 (35)	81 (81)	19 (19)	46 (46)	25 (25)	38 (38)	25 (25)	35 (35)	20 (20)

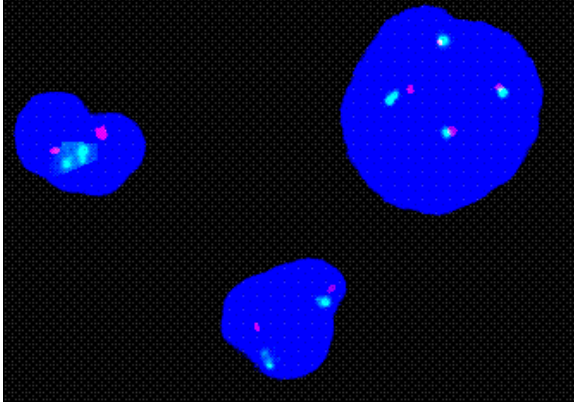
4.2.1.1. Akciğer Kanserli Olgularda EGFR Probuyla Saptanan Anomaliler

Çalışmamızdaki 100 akciğer kanserli olguda, bronşial lavaj materyalinden elde edilen hücreler, FISH yöntemiyle EGFR probu kullanılarak analiz edilmiştir. Bu analizler sonucunda genel olarak 100 olgudan 46'sında (% 46) EGFR probu ile anomali saptanmıştır. Çalışmamızdaki 100 olgudan 25'inde (% 25) EGFR amplifikasyonu olmak üzere ve bunun dışında da 21 olguda (% 21) FISH yöntemi ile saptanabilen amplifikasyon dışı anomaliler olmak üzere 46 olguda (% 46) anomali saptanmıştır.

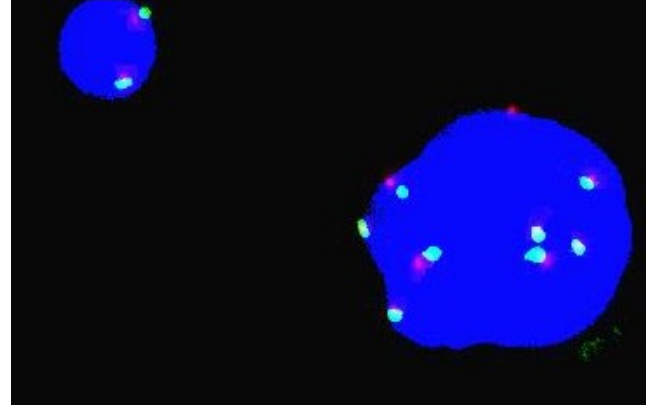
Çalışmamızda KHDAK'li 81 olgudan 22'sinde (% 27) EGFR amplifikasyonu, 14 olguda (% 17) da amplifikasyon dışı anomaliler olmak üzere 36 olguda (% 44) anomali saptanmıştır. Ayrıca KHAK'li 16 olgudan 1'inde (% 6,25) EGFR amplifikasyonu, yedi olguda (% 43,75) amplifikasyon dışı anomaliler olmak üzere sekiz olguda (% 50) anomali saptanmıştır. Primer tümörü başka organda olan metastatik akciğer kanserli üç olgudan 2'sinde (% 66,6) EGFR amplifikasyonu saptanmıştır. Çalışmamızda EGFR probu ile saptanan anomaliler Resim 4.1-12'de görülmektedir.

Çalışmamızdaki, KHDAK'li olgularda, kemoterapiye yanıt ve prognoz takibi yapabildiğimiz progressif seyirli toplam 27 olgudan 9'unda (%33,3) EGFR amplifikasyonu ve 6 olguda da 7. kromozoma ilişkin diğer anomaliler saptanmıştır. Sonuçta genel olarak progressif seyirli 27 olgudan 15'inde (% 55,5) EGFR probu ile anomali saptanmıştır. Ayrıca kemoterapiye kısmi yanıtı toplam 24 olgudan 8'inde (%33) EGFR amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır, 24 olgudan 12'sinde (% 50) ise EGFR probu ile anomali saptanmıştır.

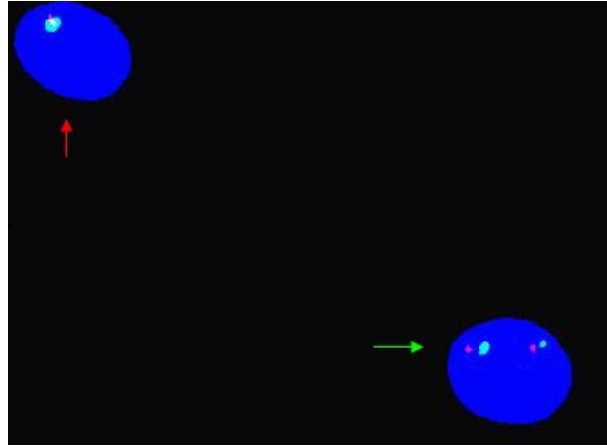
Çalışmamızda saptanan dikkat çekici bulgulardan biri de kemoterapiye ilk yanıtları kısmi yanıtı olarak değerlendirilen 13 nolu ve 59 nolu olgularda EGFR amplifikasyonu saptanmıştır, her iki olgunun da klinik takiplerinde kısa bir süre sonra kemoterapiye yanıtları olumsuz dönmüş ve progressif seyirli olarak değerlendirilmişlerdir.



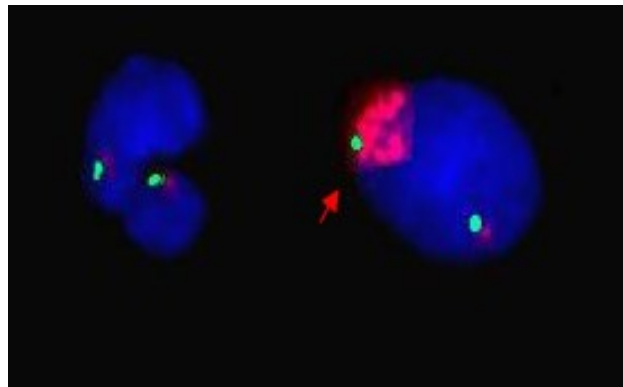
Resim 4.1. Histopatolojik tanısı squamöz hücreli; Evre 4 olan; 20 no'lu olguda dörder EGFR sinyalli (kırmızı) ve Cep7 (yeşil) sinyalli hücre ve normal sinyalli iki hücre görülmektedir.



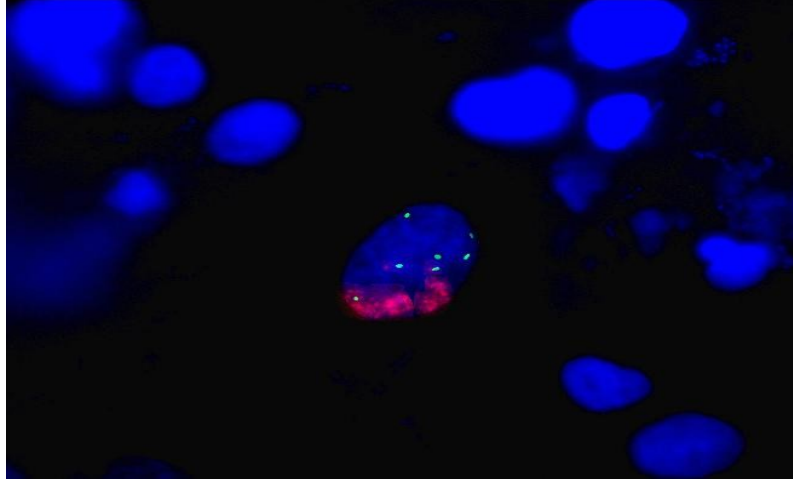
Resim.4.2. 20 no'lu olguda sekizer EGFR ve Cep7 sinyalleri olan bir hücre ve resmin solunda normal sinyalli bir hücre görülmektedir.



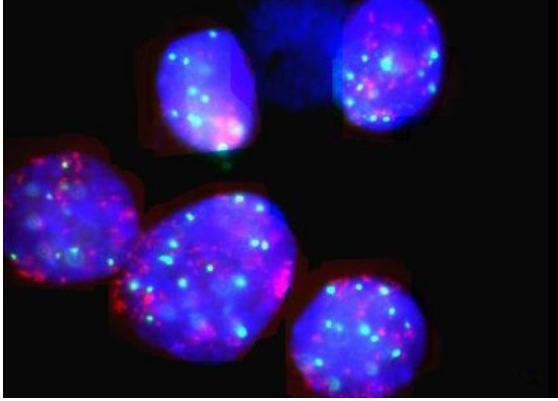
Resim 4.3. Histopatolojik tanısı KHDAK olup (türü belirlenememiş) Evre 3A olan 18 no'lu olguda, bir adet EGFR sinyali (kırmızı sinyal), bir adet Cep7 sinyali (yeşil sinyal) olan Monozomi 7'li hücre (kırmızı ok) ve 2'şer adet kırmızı ve yeşil sinyalleri olan normal hücre (yeşil ok) görülmektedir.



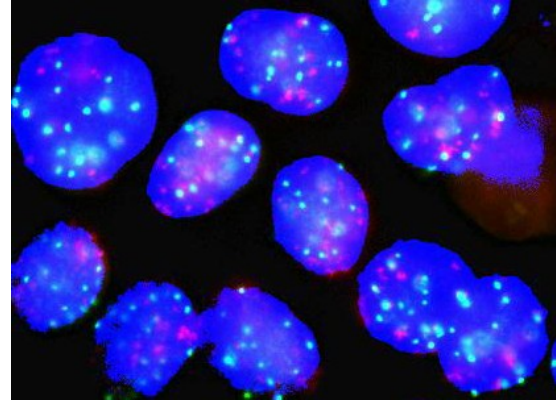
Resim 4.4. Histopatolojik tanısı Squamöz Evre 3A olan; 29 no'lu olguda multisinyalli EGFR (kırmızı) sinyalleri ve iki adet cep7(yeşil) sinyalli hücrede; EGFR Amplifikasyonu (kırmızı ok) mevcuttur. Olgu progressif seyirlidir ve kemoterapiye yanıtı olumsuzdur.



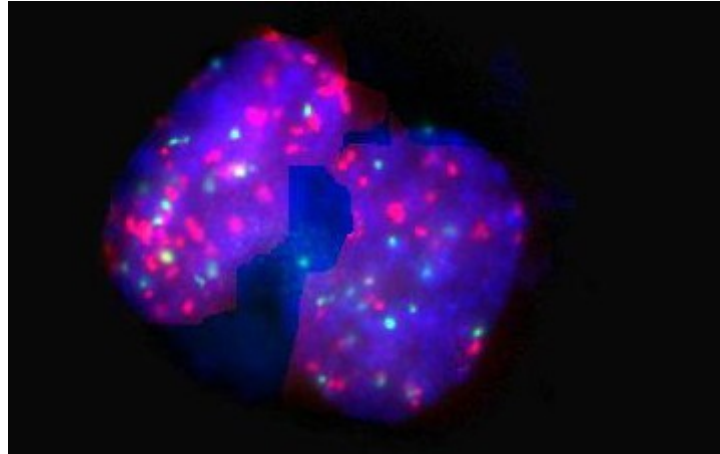
Resim 4.5. Histopatolojik tanısı Squamöz Evre 3B olan; 13 no'lu olguda multisinyalli EGFR sinyali (kırmızı) ve altı adet Cep7 sinyali (yeşil) olan hücre görülmektedir. Olgu kemoterapiye kısmi yanıtli olarak yorumlanmıştır, ancak kısa süre sonra prognozu progressif seyirli olarak değerlendirilmiştir



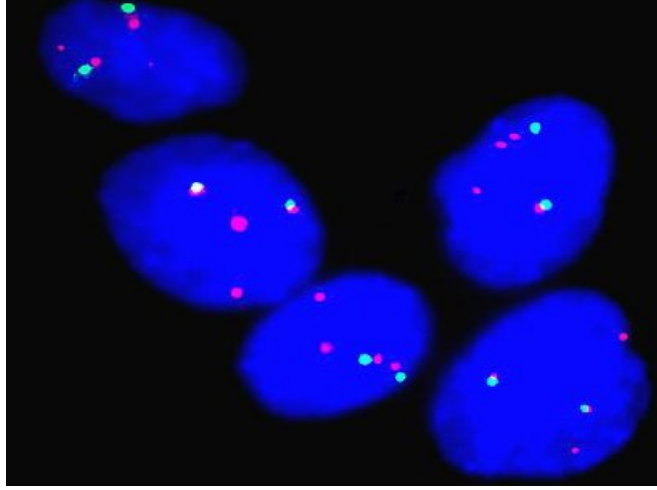
Resim 4.6. Histopatolojik tanısı Adenokarsinom olan 62 no'lu olguda multisinyalli EGFR (kırmızı) Cep7 (yeşil) sinyalleri olan hücreler görülmektedir.



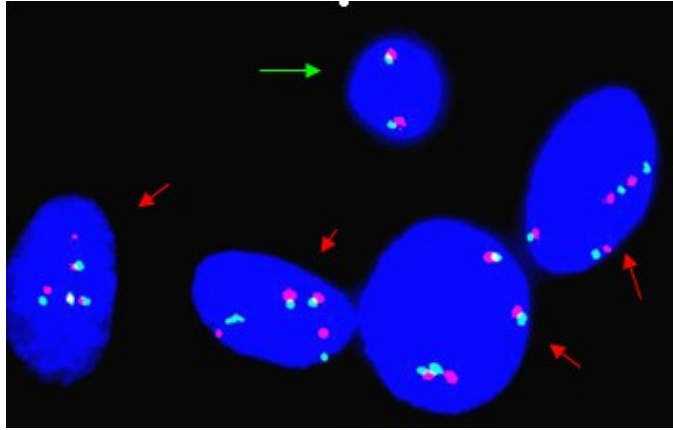
Resim 4.7. 62 no'lu olguda multisinyalli EGFR ve Cep7 sinyalleri olan hücreler görülmektedir.



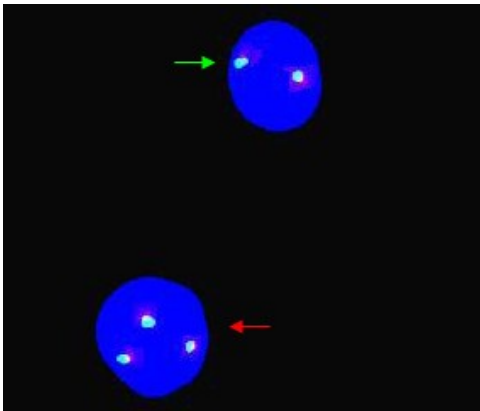
Resim 4.8. Histopatolojik tanısı Adenokarsinom olan 62 no'lu olguda, iki kanserli hücre görülmektedir.



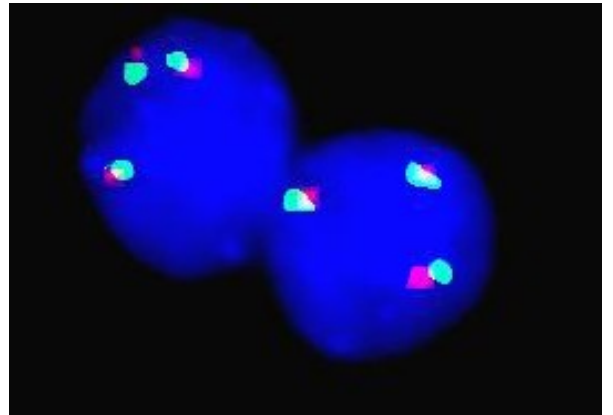
Resim 4.9. Histopatolojik tanısı Squamöz Evre 3B olan; 59 no'lu olguda dört adet EGFR sinyali (kırmızı) ve iki adet Cep7 sinyali (yeşil) olan EGFR Amplifikasyonlu hücreler görülmektedir.



Resim 4.10. Histopatolojik tanısı KHDAK (türü belirlenememiş) Evre4 olan; 5 no'lu olguda dörder adet EGFR sinyali (kırmızı) ve dörder adet Cep7 sinyali (yeşil) olan hücreler ve bir normal hücre (yeşil ok).



Resim 4.11. Histopatolojik tanısı Yaygın Küçük Hücreli Akciğer Kanseri olan 26 no'lu olguda bir adet trizomi 7'li (kırmızı ok) ve bir adet normal hücre (yeşil ok) izlenmektedir.



Resim 4.12. Histopatolojik tanısı Squamöz Evre4 Akciğer kanseri olan 10 no'lu olguda iki adet trizomi 7'li (üç kırmızı ve üç yeşil sinyal) hücre izlenmektedir.

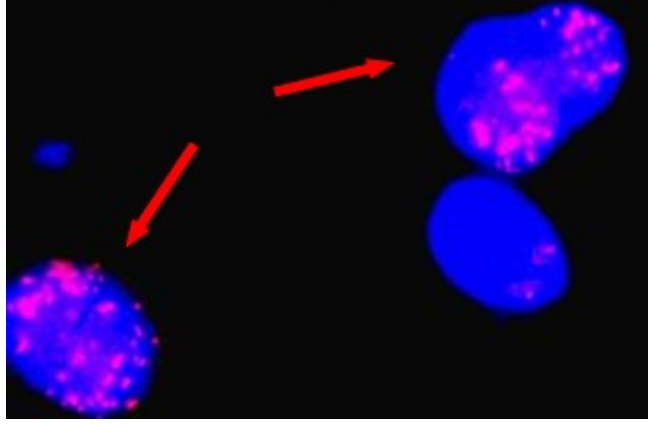
4.2.1.2. Akciğer Kanserli Olgularda C-MYC Probuyla Saptanan Anomaliler

Çalışmamızdaki 100 akciğer kanserli olguda; bronşial lavaj materyalinden elde edilen hücreler, FISH yöntemiyle C-MYC probu kullanılarak analiz edilmiştir. Bu analizler sonucunda genel olarak 100 olgudan 38'inde (% 38) C-MYC probu ile anomali saptanmıştır. Bu anomaliler, 25 olguda (% 25) C-MYC amplifikasyonu, 13 olguda (% 13) da FISH yöntemi ile saptanabilen amplifikasyon dışı anomaliler olarak saptanmıştır. Çalışmamızda C-MYC probu ile saptanan anomaliler Resim 4.13-18'de görülmektedir.

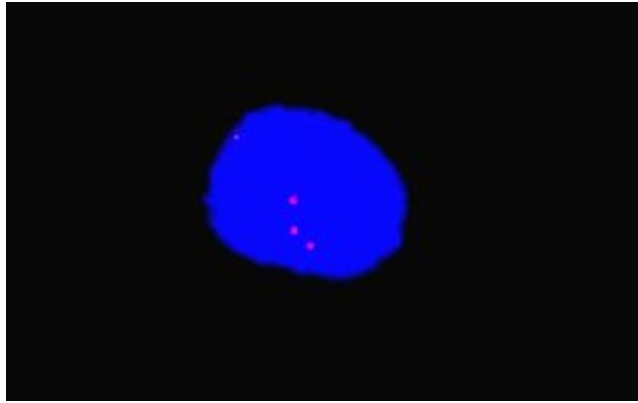
Çalışmamızda KHDAK'li 81 olgudan 19'unda (% 23,5) C-MYC amplifikasyonu, 10 olguda (% 12,3) da amplifikasyon dışı anomaliler olmak üzere 29 olguda (% 35,8) anomali saptanmıştır.

Çalışmamızdaki KHDAK'li olgulardan progressif seyirli olan 27 olgunun 7'sinde (% 25,9) C-MYC amplifikasyonu ve beş olguda da diğer anomaliler olmak üzere, genel olarak 27 olgudan 12'sinde (% 44,4) FISH analizi ile anomali saptanmıştır.

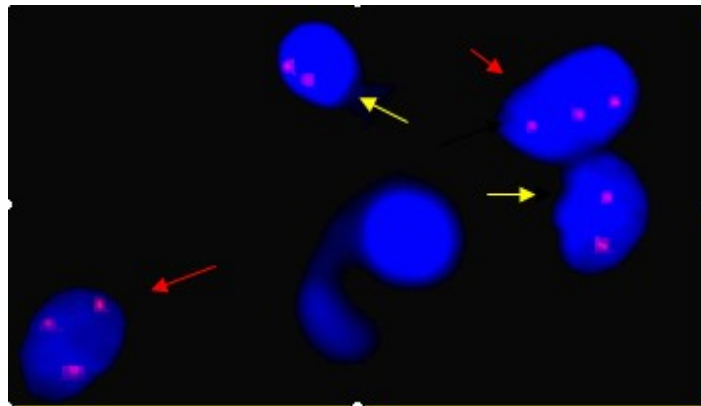
Çalışmamızda dikkat çekici olarak KHAK'li 8 progressif olgudan 4'ünde; C-MYC amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. C-MYC amplifikasyonu olan olguların tamamı yaygın tip küçük hücreli akciğer kanseri olup kemoterapiye ilk yanıtları olumsuz ve progressif seyirli oldukları görülmektedir. Ayrıca KHAK'li kemoterapiye kısmi yanıtli olgulardan sadece ikisinde 8. kromozom trizomisi saptanmıştır ve diğer dört olgu ise normal olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda ayrıca 3'er C-MYC sinyali saptanan olgularda; Cep 8 probu ile 8 nolu kromozom sentromer bölgesi de çalışılmış ve 3'er Cep 8 sinyali saptanan olgular trizomi 8 olarak değerlendirilmiştir.



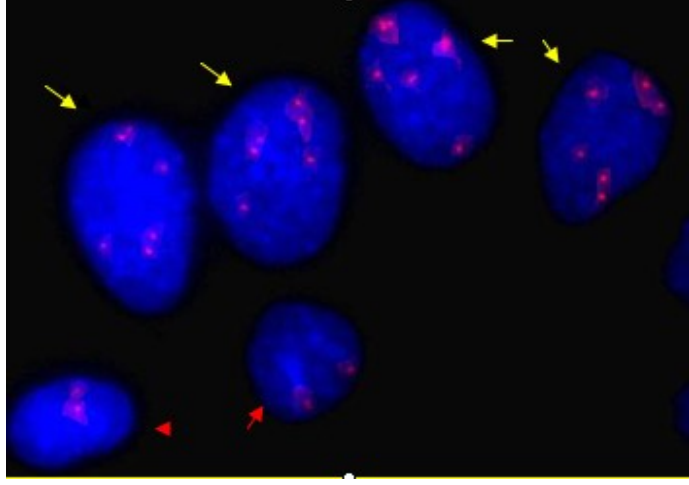
Resim 4.13. Histopatolojik tanısı Yaygın Küçük Hücreli Akciğer Kanseri olan **3 no'lu** olguda okla gösterilen C-MYC Amplifikasyonlu (çok sayıda kırmızı sinyal) hücreler görülmektedir.



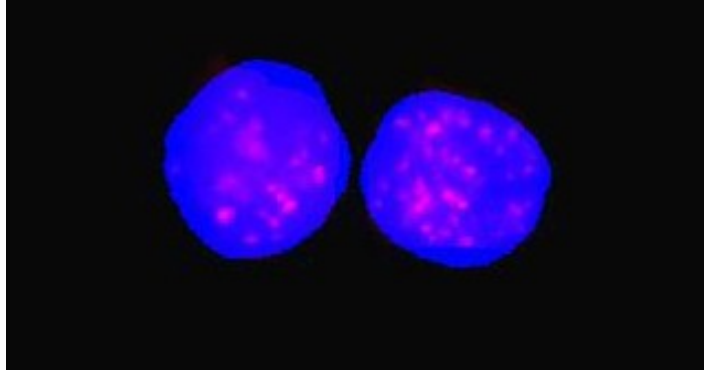
Resim 4.14. Histopatolojik tanısı **Squamöz Evre 3B** akciğer kanseri olan; **59 no'lu** olguda üç adet C-MYC sinyali (kırmızı) olan Trizomi 8'li hücre görülmektedir.



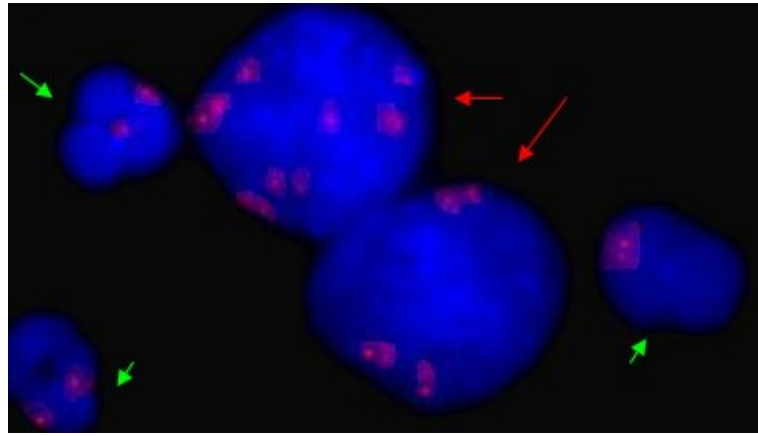
Resim 4.15. Histopatolojik tanısı Adenokarsinom Evre 4 akciğer kanseri olan; **75 no'lu** olguda iki hücrede üçer adet C-MYC sinyali (kırmızı) olan Trizomi 8'li hücreler (kırmızı okla işaretli) ve iki hücrede de normal (sarı okla işaretli) olarak iki kırmızı sinyal görülmektedir.



Resim 4.16. Histopatolojik tanısı KHDAC Evre4 akciğer kanseri olan; **5 no'lu** olguda 6'şar adet kırmızı sinyalli C-MYC amplifikasyonlu (sarı okla işaretli) ve iki adet kırmızı sinyalli normal hücreler (kırmızı okla işaretli) görülmektedir.



Resim 4.17. Histopatolojik tanısı Mukoepidermoid karsinom Evre3B akciğer kanseri olan; **21 no'lu** olguda multisinyalli C-MYC Amplifikasyonlu iki adet hücre görülmektedir. Olgu progressif seyirlidir ve 62 gün sonra ex. olmuştur.



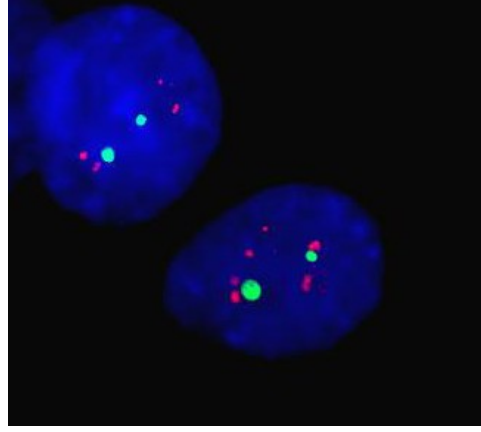
Resim 4.18. Histopatolojik tanısı Squamöz Evre4 akciğer kanseri olan; **10 no'lu** olguda 8-10 kırmızı sinyalli C-MYC amplifikasyonlu (kırmızı okla gösterilen) iki hücre ve iki kırmızı sinyalli normal hücreler (yeşil okla gösterilen) görülmektedir.

4.2.1.3. Akciğer Kanserli Olgularda HER2 Probuyla Saptanan Anomaliler

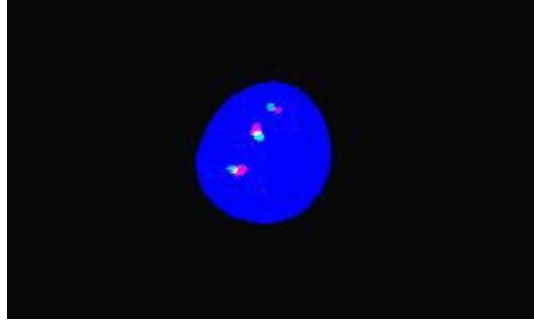
Çalışmamızdaki 100 akciğer kanserli olguda, bronşial lavaj materyalinden elde edilen hücreler, FISH yöntemiyle HER2 probu kullanılarak analiz edilmiştir. Bu analizler sonucunda genel olarak 100 olgudan 35'inde (% 35) HER2 probu ile anomali saptanmıştır. Çalışmamızdaki 100 olgudan 20'sinde (% 20) HER2 amplifikasyonu ve 15 olguda (% 15) da FISH yöntemi ile saptanabilen amplifikasyon dışı anomaliler olmak üzere toplam 35 olguda anomali saptanmıştır. Çalışmamızda HER2 probu ile saptanan anomaliler Resim 4.19-24'te görülmektedir.

Çalışmamızda KHDAK'li 81 olgudan 18'inde (% 22) HER2 amplifikasyonu, 11 olguda (% 14) da amplifikasyon dışı anomaliler olmak üzere 29 olguda (% 36) anomali saptanmıştır. Ayrıca KHAK'li 16 olgudan birinde (% 6,25) HER2 amplifikasyonu, dört olguda (% 25) amplifikasyon dışı anomaliler olmak üzere toplam beş olguda (% 31,25) anomali saptanmıştır. Primer tümörü başka organda olan metastatik akciğer kanserli üç olgudan birinde (% 33,3) HER2 amplifikasyonu saptanmıştır.

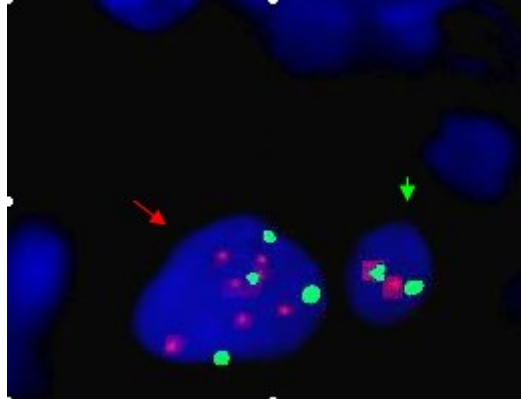
Çalışmamızdaki KHDAK'li olgulardan progressif seyirli olan toplam 27 KHDAK'li olgudan sekizinde (%29,6) HER2 amplifikasyonlu ve dört olguda da amplifikasyon dışı anomaliler olmak üzere progressif seyirli 27 olgudan 12'sinde (% 44,4) HER2 probu ile anomalili hücreler saptanmıştır. Ayrıca kısmi yanıtli 24 olgudan altısında (% 25) HER2 amplifikasyonu ve üçünde de amplifikasyon dışı anomaliler olmak üzere kısmi yanıtli olguların dokuzunda (% 37,5) HER2 probu ile anomali saptanmıştır.



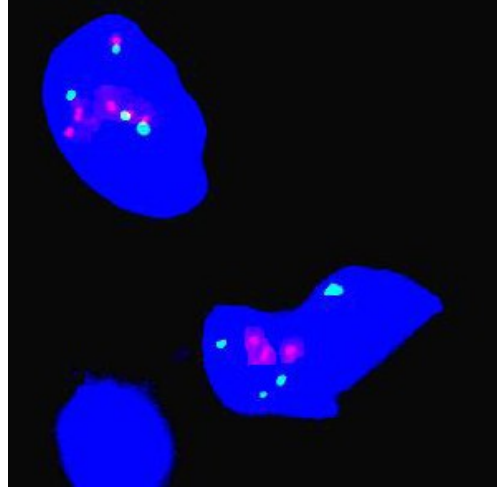
Resim 4.19. Histopatolojik tanısı **Squamöz Evre 3A** akciğer kanseri olan; **80 no'lu** olguda dört ve altı kırmızı sinyalli (HER2 sinyali) ve ikişer yeşil sinyal (Cep 17 sinyali) HER2 Amplifikasyonlu hücreler görülmektedir.



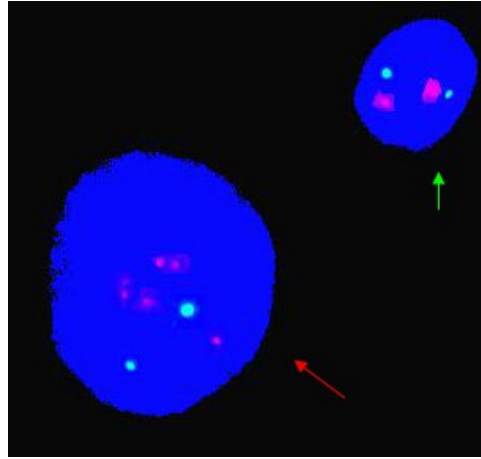
Resim 4.20. Histopatolojik tanısı Yaygın Küçük Hücreli Akciğer Kanseri olan **26 no'lu** olguda bir adet trizomi 17'li (üç kırmızı ve üç yeşil sinyal) hücre görülmektedir. Kırmızı sinyaller HER2, yeşil sinyaller Cep 17 sinyalleridir.



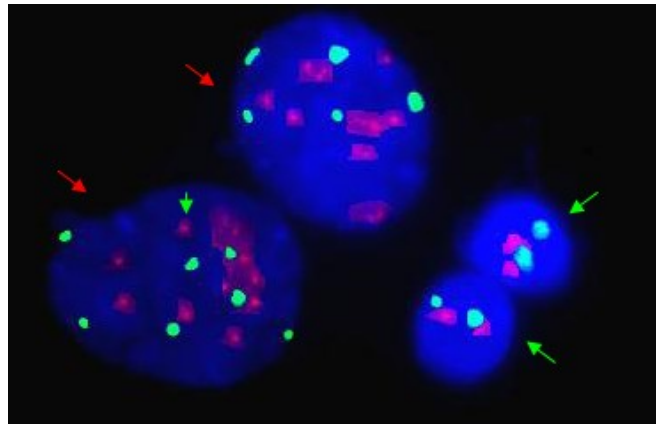
Resim 4.21. Histopatolojisik tanısı **Squamöz Evre 3B** akciğer kanseri olan; **35 no'lu** olguda HER2 amplifikasyonlu (kırmızı okla gösterilen) anomalili hücre ve 2'şer kırmızı ve yeşil sinyali olan normal bir hücre (yeşil okla gösterilen) görülmektedir.



Resim 4.22. Histopatolojik tanısı **Squamöz** akciğer kanseri olan; **77 no'lu** olguda altı kırmızı sinyalli (HER2 sinyali) ve dört yeşil sinyalli (cep 17 sinyali) anomalili hücre görülmektedir.



Resim 4.23. Histopatolojik tanısı Adenokarsinom Evre4 olan; **75 no'lu** olguda beş kırmızı sinyalli (HER2 sinyali) ve iki yeşil sinyalli (cep 17 sinyali) HER2 Amplifikasyonlu hücre ve 2'şer kırmızı ve yeşil sinyali olan normal bir hücre görülmektedir.



Resim 4.24. Histopatolojik tanısı **Squamöz** Evre4 akciğer kanseri olan; **10 no'lu** olguda kırmızı multisinyalli (HER2 sinyali) ve beş ve sekiz adet yeşil sinyalli (Cep17 sinyali) HER2 Amplifikasyonlu (kırmızı ok) iki hücre ve 2'şer kırmızı ve yeşil sinyali olan normal iki hücre (yeşil ok) görülmektedir.

4.2.2. KHDAK'li Olgularda Saptanan FISH Bulguları; Prognoz ve Kemoterapiye Yanıtlarının Birlikte Değerlendirilmesi

Çalışmamızda histopatolojik olarak, KHDAK tanısı alan 81 olguda FISH analizleri yapılmıştır. Çalışmamızda KHDAK'li olgular 4 ana grup altında (Squamöz, Adenokarsinom, KHDAK tanısı olup kesin olarak tür ayrımı yapılamamış olgular, Diğer) analiz edilmiştir. Bu olgulardan, 46 olgu squamöz hücreli, 17 olgu adenokarsinom, 12 olgu KHDAK'li tanısı alıp kesin olarak tür ayrımı yapılamamıştır. Diğer olarak adlandırılan gruptaki toplam altı olgunun ise üçü mukoepidermoid; birer olgu da adenosquamöz, karsinoid ve squamöz küçük hücreli olarak histopatolojik tanı almışlardır. Tablo 4.5.'te KHDAK'li olguların genel olarak histopatolojik ayrıntılı tanıları ve FISH analiz yöntemi ile saptanan anomaliler her bir prob için ayrı ayrı ve yüzde (%) olarak verilmiştir.

Tablo 4.5. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserli Olgularda Histopatolojik Tanının; FISH Sonuçları ile Karşılaştırılması.

KHDAK (Non-Small) Ac. Ca TÜRÜ	Olgu sayısı	FISH Sonucu		EGFR			C-MYC			HER2		
		GENEL		7p12			8q24			17q21.1		
		+	-	Amp fish+	Diğer fish+	Nor. fish-	Amp fish+	Diğer fish+	Nor. fish-	Amp fish+	Diğer fish+	Nor. fish-
Squamöz	n=46	32	14	15	9	22	9	7	30	9	8	29
% ()	(56,81)	(69,5)	(30,5)	(32,6)	(21,7)	(47)	(19,5)	(15,2)	(65,3)	(21,7)	(17,5)	(61,8)
Adeno	n= 17	8	9	3	3	11	5	1	11	6	-	11
% ()	(21,0)	(47)	(53)	(18)	(18)	(64)	(29)	(6)	(65)	(35)		(65)
KHDAK	n=12	7	5	3	2	7	3	1	8	3	1	8
% ()	(14,8)	(58,3)	(41,7)	(25)	(17)	(58)	(25)	(8)	(67)	(25)	(8)	(67)
Mukoepid.	n=3	3	-	-	-	3	1	1	1	-	2	1
% ()	(3,7)	(100)				(100)	(33)	(33)	(33)		(67)	(33)
Adenesquam.	n=1	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	1
% ()	(1,23)		(100)			(100)			(100)			(100)
Squ.Küç.h.li	n=1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	1
% ()	(1,23)	(100)				(100)	(100)					(100)
Karsinoid	n=1	1	-	1	-	-	-	-	1	-	-	1
% ()	(1,23)	(100)		(100)					(100)			(100)
GENEL Toplam	N=81	52	29	22	14	45	19	10	52	18	11	52
% ()		(64)	(36)	(27)	(17)	(56)	(23,5)	(12,3)	(65,5)	(22)	(14)	(64)

Kısaltmalar: Amp (amplifikasyon), Nor. fish - (Normal FISH negatif), fish + (FISH pozitif), Squam. (Squamöz), Adenosquam. (adenosquamöz), Squ. Küç.h.li (squamöz küçük hücreli), Diğer fish+ (Amplifikasyon dışı saptanan fish anomalileri)

Çalışmamızda EGFR, C-MYC ve HER2 propları ile yapılan FISH analizlerinde genel olarak, 81 KHDAK'li olgunun 52'sinde (% 64) çalışılan üç markerın en az birinde olmak üzere anomali saptanmıştır. Bunların dışındaki 29 olguda (% 36) ise EGFR, C-MYC ve HER2 proplarının her üçü ile de herhangi bir anomali saptanmamıştır.

Tablo 4.6.'da çalışmamızdaki KHDAK'li olgularda; FISH analiz metodu uygulanarak EGFR, C-MYC ve HER2 propları ile saptanan anomaliler ve kemoterapiye verdikleri ilk yanıt bulguları ayrıntılı olarak görülmektedir.

Çalışmamızdaki, KHDAK'li olgularda, kemoterapiye yanıt ve prognoz takibi yapabildiğimiz progressif seyirli toplam 27 olgudan 9'unda (%33,3) EGFR amplifikasyonu ve 6 olguda da 7. kromozoma ilişkin diğer anomaliler saptanmıştır. Sonuçta genel olarak 27 olgudan 15'inde (% 55,5) anomali saptanmıştır.

Tablo 4.6. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserli Olgularda EGFR, C-MYC ve HER2 FISH Probları ile Saptanan Anomaliler ve Kemoterapiye ilk Yanıt Bulguları

KHDAK Türü ve Tedaviye Yanıtları	(n) Olgu Sayısı	Genel olarak (EGFR, C- MYC, HER2)		EGFR			C-MYC			HER2		
				7p12			8q24			17q21.1		
		FISH	FISH	Amp. FISH (+)	Amp. Dışı FISH (+)	Nor- mal FISH (-)	Amp. FISH (+)	Amp. Dışı FISH (+)	Nor- mal FISH (-)	Amp. FISH (+)	Amp. Dışı FISH (+)	Nor- mal FISH (-)
		+	-									
Squamöz	n=46	32	14	15	9	22	9	7	30	9	8	29
Progressif	14	13	1	8	4	2	4	2	8	5	4	5
Kısmi Yanıt	17	11	6	5	3	9	3	3	11	4	3	10
Stabil	4	2	2	1	-	3	1	-	3	-	-	4
Cerrahi	5	3	2	1	2	2	1	-	4	-	-	5
Takipsiz	6	3	3	-	-	6	-	2	4	-	1	5
Adeno	n=17	8	9	3	3	11	5	1	11	6	-	11
Progressif	5	3	2	-	2	3	1	1	3	2	-	3
Kısmi Yanıt	3	1	2	1	-	2	1	-	2	-	-	3
Stabil	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cerrahi	3	-	3	-	-	3	-	-	3	-	-	3
Takipsiz	6	4	2	2	1	3	3	-	3	4	-	2
Ns. Ayrımsız	n=12	7	5	3	2	7	3	1	8	3	1	8
Progressif	4	1	3	1	-	3	-	1	3	-	-	4
Kısmi Yanıt	4	3	1	2	1	1	2	-	2	2	-	2
Stabil	2	2	-	-	-	2	1	-	1	1	1	-
Cerrahi	1	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	1
Takipsiz	1	1	-	-	1	-	-	-	1	-	-	1
Diğer	n= 6	5	1	1	-	5	2	1	3	-	2	4
Progressif	4	3	1	-	-	4	2	1	1	-	1	3
Kısmi Yanıt	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stabil	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cerrahi	1	1	-	1	-	-	-	-	1	-	-	1
Takipsiz	1	1	-	-	-	1	-	-	1	-	1	-
TOPLAM	81	52	29	22	14	45	19	10	52	18	11	52

4.2.2.1. Squamöz hücreli akciğer kanserli olgular ve saptanan FISH bulguları

Çalışmamızdaki KHDAK'li olgular içerisinde en büyük grubu 46 olgu ile squamöz hücreli akciğer kanserli olgular oluşturmaktadır. Bu grupta prognoz ve kemoterapiye yanıtta, özellikle progressif seyirli olgularda dikkat çekici bulgular saptanmıştır. Squamöz hücreli akciğer kanserli olgular grubu kemoterapiye yanıtları açısından ayrı olarak değerlendirilmiştir. Tablo 4.7.'de squamöz hücreli akciğer kanserli olgular listesi ve kemoterapiye ilk yanıtları görülmektedir.

4.2.2.1.1 Squamöz hücreli akciğer kanserli olup, kemoterapiye yanıtları progressif seyirli olgular ve saptanan FISH analiz bulguları.

Çalışmamızdaki; 33, 53 ve 81 nolu squamöz hücreli akciğer kanserli olgularda 1.FOB'de alınan biyopsi materyali analizi ile kesin histopatolojik tanı konulamamıştır. Çalışmamızda saptanan dikkat çekici bulgulardan olarak Tablo 4.7.'de görüldüğü gibi; bu üç olguda 1. FOB esnasında alınmış olan bronşial lavaj örneğinden elde edilen hücrelerde yaptığımız FISH analiz çalışmasında, anomalili hücreler saptanmıştır. Ayrıca bu üç olgunun kemoterapiye ilk yanıtları da progressif olarak değerlendirilmiştir. Bu olgulardan 33 nolu olgunun kesin histopatolojik tanısı ancak 38 gün sonra yapılan ince iğne biyopsisi analizi ile konulabilmiştir. Diğer olguların kesin histopatolojik tanıları ise 15 ve 90 gün sonra 2.FOB'de alınan biyopsi analizleri sonucunda konulabilmiştir.

Tablo 4.7. Squamöz Ac. Ca.'de, Kemoterapiye Yanıt ve Saptanan FISH Bulguları

Olg u No	Kesin Pato.Tanı Örnek Alımı	Evre	Kemoterapiye İlk Yanıt Değerlendirme	Exitus Oluş Süresi	EGFR 1.FOB lavaj örneği	C-MYC 1.FOB lavaj örneği	HER2 1.FOB lavaj örneği
1	1. FOB	Evre4	Progressif	100.günEx	N	N	N
10	1. FOB	Evre4	Progressif		+7	Amp.	Amp.
20	1. FOB	Evre4	Progressif	20. gün Ex	4siny.	4siny.	4siny.
29	1. FOB	EvreA	Progressif		Amp.mult	N	4siny.
33	İğne Biy.	Evre4	Progressif		-7,del	N	N
50	1. FOB	Evre3B	Progressif		Amp.	+8	Amp.
53	2.FOB	EvreA	Progressif		Amp.	N?	N
65	1. FOB	Evre4	Progressif	80. günEx	Amp.	Amp.mult	4siny.
77	1. FOB		Progressif	15. günEx	Amp.	N	Amp.
80	1. FOB	EvreA	Progressif		Amp.mult	Amp.	Amp.
81	2. FOB	EvreA	Progressif		Amp	N	Del.HER2
83	1. FOB	Evre3B	Progressif		+7	N	N
84	1. FOB	Evre4	Progressif	51. günEx	Amp.	N	N
87	1. FOB	EvreA	Progressif		N	Amp. mult	Amp.
2	1. FOB	EvreA	Kısmi yanıt		N	N	N
13	1. FOB	Evre3B	Kısmi yanıt		Amp. mult	Amp. mult	+17
14	1. FOB	Evre3B	Kısmi yanıt		Amp.	N	Amp.
32	1. FOB	Evre3B	Kısmi yanıt		N	N	N
35	1. FOB	Evre3B	Kısmi yanıt		+7, 5-8siny	Amp.	Amp.
39	1. FOB	Evre3B	Kısmi yanıt		N	N	Amp.
40	1. FOB	Evre3B	Kısmi yanıt		N	N	N
46	1. FOB	Evre3B	Kısmi yanıt		+7	+8	Amp.
51	1. FOB	Evre3B	Kısmi yanıt		Amp.	N	N
57	2. FOB	Evre4	Kısmi yanıt		N?	N	-17
59	1. FOB	Evre3B	Kısmi yanıt	170.günEx	Amp.	4siny.	N
60	2. FOB	Evre2B	Kısmi yanıt		N	N	N
61	1. FOB	Evre3B	Kısmi yanıt		N	+8	N
67	1. FOB	Evre3B	Kısmi yanıt		N	N	N
70	1. FOB	Evre3B	Kısmi yanıt		+7	Amp.	+17
72	1. FOB	EvreA	Kısmi yanıt		N?	N	N
79	1. FOB	Evre3B	Kısmi yanıt		Amp.	N	N
12	1. FOB	Evre3B	Stabil		N	N	N
19	1. FOB	Evre3B	Stabil		N	Amp.	N
24	1. FOB	Evre3B	Stabil		N	N	N
68	1. FOB	EvreA	Stabil		Amp.	N	N
22	1. FOB	Evre1B	GC. opere		-7	N	N
52	1. FOB	EvreA	GC. opere		N?	N?	N?
82	İğne Biy.	Evre1B	GC. opere		Amp.	+8	N
93	1. FOB	ca-insi.	GC. opere		-7, Del	N	N
100	1. FOB	Evre1B	GC. opere		N	N	N
4	1. FOB	EvreA	Takipsiz		N	Amp.	N
9	1. FOB	Evre4	KT.verilemedi		N	N	N
37	1. FOB	Evre3B	Takipsiz		N	N	N
41	1. FOB		Takipsiz		N	N	+17
44	1. FOB	Evre4	Takipsiz		N	+8	N
47	1. FOB		Takipsiz		N	N	N

Tablo 4.7. Kısaltmalar: -Amp. (Amplifikasyon), -Amp. Mult. (Multisinyalli Amplifikasyon), - Siny. (Sinyal), -N (Normal), -N? (Şüpheli sonuç), - Del. (Delesyon), FOB (Fiber Optik Bronkoskopi), İğne Biy. (İğne Biyopsisi), -GC. Opere (Göğüs Cerrahi Bölümünde Opere olmuş), Ex Süresi. (Olgunun tanı amacıyla yapılan işlemden sonra ölümüne kadar, gün olarak geçen süre),- Kesin Pato.Tanı Örnek Alımı (Olgunun kesin histopatolojik tanısının konulabildiği örnek alım yöntemi),-Ca-insi. (Karsinoma in-situ)

Tablo 4.7’de görüldüğü gibi çalışmamızda saptanan dikkat çekici bulgulardan diğeri ise squamöz hücreli akciğer kanserli olgulardan progressif seyirli olan 14 olgunun 8’inde (% 57) EGFR amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır ki bu oran çalışmamızda saptanan en yüksek EGFR amplifikasyonu oranıdır. Ayrıca çalışmamızda FISH analiz yöntemiyle ve EGFR probu ile saptanabilen amplifikasyon ve amplifikasyon dışı anomaliler (polizomi, delesyon gibi) 14 olgudan 12’sinde (% 85,7) saptanmıştır. Amplifikasyon dışında ise üç olguda 7. kromozom polizomili hücreler ve bir olguda da 7. kromozom monozomisi ile birlikte delesyon anomalisi bulunan hücreler saptanmıştır. Progressif seyirli squamöz hücreli akciğer kanserli olgulardan sadece ikisinde EGFR ve cep7 problemleri ile anomali saptanmamıştır.

Çalışmamızda squamöz hücreli akciğer kanserli olgulardan progressif seyirli olan 14 olgudan 4’ünde FISH analizi sonucu C-MYC amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. Ayrıca iki olguda 8. kromozom polizomisi saptanmıştır. Bunun dışında bir olguda ise az sayıda hücrede anomali saptandığından şüpheli olarak değerlendirilmiş ve yedi olguda ise C-MYC normal olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda yapılan FISH analizi sonucu, squamöz hücreli akciğer kanserli olgulardan progressif seyirli olan 14 olgudan 5’inde (% 35,7) HER2 amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. Ayrıca üç olguda 17. kromozom polizomisi ve 1’inde de delesyon HER2’li hücreler saptanmıştır.

Çalışmamızda FISH analiz yöntemiyle en fazla anomali, squamöz hücreli akciğer kanserli ve progressif seyirli olgular grubunda saptanmıştır. Ayrıca çalışmamızda dikkat çekici olarak bulunan FISH analiz bulguları şunlardır. Genel olarak çalışma yaptığımız üç proba (EGFR, C-MYC, HER2) analiz sonuçlarını birlikte değerlendirdiğimizde, squamöz hücreli ve progressif seyirli toplam 14 olgudan 13’ünde anomali saptanmıştır. Ayrıca progressif seyirli 10 olguda, çalıştığımız problemlerin en az birinde olmak üzere

amplifikasyonlu hücreler tespit edilmiştir. Çalışmamızda en fazla EGFR ve 7. kromozom ile ilgili anomali saptanmıştır. Toplam 14 olgudan 12'sinde anomali tespit edilmiştir ki bunların da 8'inde EGFR amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. Ayrıca squamöz hücreli ve progressif seyirli 14 olgunun 9'unda HER2 probu ile anomalili hücreler ve 6'sında da C-MYC probu ile ilgili anomalili hücreler saptanmıştır. Ayrıca çalışmamızdaki saptanan diğer bir önemli bulgu da squamöz hücreli ve progressif seyirli 14 olgunun 5'i (% 35,7) ilk FOB'den sonra ilk 100 gün içerisinde exitus olmuştur.

4.2.2.1.2. Squamöz hücreli akciğer kanserli olup, kemoterapiye

kısmi yanıt veren olgular ve saptanan FISH analiz bulguları

Tablo 4.7.'de görüldüğü gibi; çalışmamızda squamöz hücreli akciğer kanserli 46 olgudan 17'sinin kemoterapiye (KT) ilk yanıtı, kısmi yanıtı olarak değerlendirilmiştir ve FISH analiz yöntemi ile saptanan bulgular ayrıntılı olarak görülmektedir.

Çalışmamızda bu hasta grubunda da saptanan dikkat çekici bazı bulgular mevcuttur. Çalışmamızdaki 57 nolu olguda 1. FOB'de alınan biyopsi ve lavaj materyali analizi ile kesin histopatolojik ve sitolojik tanı konulamamıştır. Yine 1. FOB'de alınan bronşial lavaj materyalinin FISH yöntemi ile analizi sonucunda 17. kromozomda monozomili hücreler saptanmıştır. Ayrıca EGFR probu ile FISH analizinde de sadece üç hücrede anomali saptandığından (İki hücrede amplifikasyon ve bir hücrede de 7. kromozom trizomisi) şüpheli (N?) olarak değerlendirilmiştir. Bu olguda ancak 120 gün sonra yapılan 2. FOB'de alınan biyopsi materyali analizi ile kesin histopatolojik tanı squamöz hücreli akciğer kanseri olarak konulmuştur.

Çalışmamızdaki dikkat çeken diğer bulgular ise; 13 nolu olgunun KT'ye ilk yanıtı kısmi yanıt olarak değerlendirilmiş, ancak çok kısa bir süre sonra surrenalde metastaz tespit edilmiş ve KT'ye yanıt olumsuz olarak değerlendirilmiştir. Bu olguda FISH analiz yöntemi ile incelediğimiz tüm proplar açısından pozitif sonuçlar (EGFR ve C-MYC propları çok sayıda hücrede multisinyalli amplifikasyon ve trizomi 17'li hücreler) saptanması dikkat çekiciydi. Ayrıca, 59 nolu olgunun da kemoterapiye ilk yanıtı, kısmi

yanıtlı olarak değerlendirilmiş ancak daha sonra progressif seyreden hasta 170 gün sonra exitus olmuştur. Bu olguda da FISH analizinde EGFR amplifikasyonlu hücreler saptanmış olması dikkat çekicidir.

4.2.2.1.3. Squamöz hücreli akciğer kanserli olup kemoterapiye stabil yanıt veren olgular ve saptanan FISH analiz bulguları

Çalışmamızdaki squamöz tip akciğer kanseri olup kemoterapiye stabil yanıt veren toplam dört olgu, Tablo 4.7.'de görülmektedir. Sadece bir olguda EGFR amplifikasyonlu ve diğer bir olguda ise C-MYC amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır.

4.2.2.1.4. Squamöz akciğer kanserli olup, cerrahi önerilen beş olguda saptanan FISH analiz bulguları

Tablo 4.7.'de görüldüğü gibi, squamöz hücreli akciğer kanserli olgulardan 5'ine erken evrede tanı konulmuş ve cerrahiye sevk edilmiştir. Bu olgulardan, 82 nolu olguda kesin histopatolojik tanı ancak iğne biyopsi materyali analizi sonucunda konulabilmiştir. Çalışmamızdaki, 1.FOB esnasında alınan bronşial lavaj materyalinden elde edilen hücrelerde yapılan FISH analizleri sonucu; erken evrede (Evre 1B) saptanan EGFR amplifikasyonlu ve 8. kromozom trizomili hücreler dikkat çekicidir. Ayrıca erken dönemde histopatolojik tanı konulabilen 22 ve 93 nolu olgularda FISH analiz yöntemi ile EGFR probu ile anomali saptanmıştır. Saptanan bu bulgular erken evre tümörlerde de FISH analiz yönteminin kullanılabilineceğini göstermektedir.

4.2.2.1.5. Squamöz akciğer kanserli olup, takip edilemeyen altı olguda

saptanan FISH analiz bulguları

Squamöz hücreli tip akciğer kanseri olarak kesin histopatolojik tanı alıp; takibi yapılamayan veya başka merkezlerde takibi yapılan veya kemoterapi verilemeyen altı olguya ait saptanan FISH analiz sonuçları Tablo 4.7.'de görülmektedir.

4.2.2.2. Adenokarsinomlu olgularda prognoz takibi ve saptanan FISH bulguları

Tablo 4.8.'de görüldüğü gibi; toplam 17 Adeno Ca'lı olgunun 7'sinin 1. FOB'de alınan biyopsi materyali analizi ile kesin histopatolojik tanıları konulamamıştır. Bu olguların 4'ünün iğne biyopsisi materyali ile, 2'sinin 2. FOB'de alınan biyopsi materyali ile ve bir olgunun da Göğüs Cerrahi'de alınan biyopsi materyali analizleri ile kesin histopatolojik tanıları konulabilmiştir. Çalışmamızda da bu olgularda 1. FOB'de alınmış olan bronşial lavaj numunelerinden elde edilen hücrelerde bu yedi olgunun da FISH analiz sonuçları normal olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda agresif seyirli olarak dikket çeken, 75 nolu olguda 8. Kromozom trizomisi ile birlikte 17. Kromozom trizomisi ve HER2 amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır ve bu olgu 1.FOB'den 32 gün sonra exitus olmuştur. Çalışmamızda dikkat çeken diğer bir bulgu da kemoterapiye kısmi yanıtı olarak değerlendirilen 69 nolu olguda; EGFR ve C-MYC propları ile multisinyalli amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır, öyle ki bu olgu da 1. FOB'den 240 gün sonra exitus olmuştur.

Tablo 4.8. Adenokarsinomlu Olguların Prognoz Takibi ve Saptanan FISH Analiz Bulguları

Olg u No	Kesin Pato.Tanı Örnek Alımı	Evre	Kemoterapiye İlk Yanıt Değerlendirme	Exitus Oluş Süresi	EGFR 1.FOB lavaj örneği	C-MYC 1.FOB lavaj örneği	HER2 1.FOB lavaj örneği
54*	Göğ.cer.	Evre3B	Progressif		N	N	N
55	1. FOB	Evre4	Progressif		4sinyal	+8,Amp.	+17,Amp.
58*	2.FOB	Evre3 A	Progressif		N	N	N
75	1. FOB	Evre4	Progressif	32.gün Ex	N	+8	+17, Amp.
88	1. FOB	Evre4	Progressif		+7	N	N
25*	İğne Biy.	Evre4	Kısmi yanıt		N	N	N
28*	İğne Biy.	Evre3 A	Kısmi yanıt		N	N	N
69	1. FOB	Evre3B	Kısmi yanıt	240.günEx	Amp.mult	Amp.mult	N?
15*	İğne Biy.	Evre1B	GC. opere		N	N	N
34	1. FOB	Evre1B	GC. opere		N	N	N
98*	İğne Biy.	Evre1B	GC. opere		N	N	N
16	1. FOB		Takipsiz		+7	Amp.mult	Amp
62	1. FOB		Takipsiz		Amp.mult	Amp.mult	Amp.
89*	2.FOB	Evre3B	Takipsiz		N	N	N
90	1. FOB	Evre3B	Takipsiz		Amp.	+8,Amp.	+17, Amp.
91	1. FOB	Evre3 A	Takipsiz		N	N	Amp.
92	1. FOB		Takipsiz		N	N	N

NOT(*) işaretli olgularda 1. FOB’da alınan biyopsi ile kesin histopatolojik tanı konamamıştır. Daha sonra alınan biyopsi materyalleri ile kesin histopatolojik tanıları konmuştur. Yapılan FISH çalışması 1. FOB’da alınan bronşial lavaj numunelerinden çalışılmıştır.

4.2.2.3. *KHDAK’i olup tür ayrımı yapılamamış ve Mukoepidermoid, Adenosquamöz, Karsinoid akciğer kanserli olgularda saptanan FISH analiz bulguları*

Bu grupta tablo 4.9’da görüldüğü gibi, 12 olgu non-small akciğer kanserli olup, kesin olarak tür ayrımı yapılamamış, bunun dışında üç olgu mukoepidermoid, bir olgu adenosquamöz, bir olgu da karsinoid, bir olgu da squamöz küçük hücreli tip akciğer kanserli olgular olup, toplam 18 olgu incelenmiştir.

Tablo 4.9. KHDAK’i olup Tür Ayırımı Yapılamamış (NS) ve Mukoepidermoid, Adenosquamöz, Karsinoid Akciğer Kanserleri ve Saptanan FISH Bulguları.

Olgu No	Kesin Pato.Tanı Örnek Alımı	Evre	Non-small ve Diğer akc.ca türleri	Kemoterapiye İlk Yanıt Değerlendirme	Exitus Oluş Süresi	EGFR 1.FOB lavaj örneği	C-MYC 1.FOB lavaj örneği	HER2 1.FOB lavaj örneği
18	2. FOB	Ev.3A	NS	Progressif	150.günEx	N?	N	N
42	1. FOB	Ev.3A	NS	Progressif		N	N	N
43	1. FOB	Ev.3B	NS	Progressif		Amp.	4 sinyal	N?
94	İğ.Biy	Evre4	NS	Progressif	30.günEx	N	N	N
5	1. FOB	Evre4	NS	Kısmi yanıt		4sinyal	Amp.	Amp.
6	1. FOB	Evre4	NS	Kısmi yanıt	90.gün Ex	N	N	N
63	1. FOB	Evre4	NS	Kısmi yanıt		Amp.	Amp.	Amp.
64	1. FOB	Ev.2B	NS	Kısmi yanıt		Amp.	N	N
66	1. FOB	Ev.3B	NS	Stabil		N?	N	Amp.
74	1. FOB	Ev.3B	NS	Stabil		N	Amp.	+17
11	GC opere		NS	Takipsiz		N	N	N
36	1. FOB	Evre4	NS	Takipsiz		+7	N	N
21	1. FOB	Ev.3B	MukoEp	Progressif	70.günEx	N	Amp.	N
48	Göğ.cer	Ev.3A	MukoEp	Progressif		N	+8	-17
73	1. FOB		MukoEp	Takipsiz		N	N	-17
96	1. FOB	Evre4	Ade.Squ.	Progressif	26.günEx	N	N	N
95	1. FOB	Ev.1A	Karsin.	GC.Opere		Amp.	N	N
38	1. FOB	Ev.3A	Sq.küç.h.	Progressif		N	Amp.	N

Çalışmamızda dikkat çeken bir diğer bulgu da, non-small (KHDAK) olup tür ayırımı yapılamamış ve kemoterapiye kısmi yanıt veren olgulardan; 63 nolu olguda EGFR, C-MYC, HER2 propları ile FISH analizi sonucunda, multisinyalli amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. Kemoterapiye ilk yanıtı kısmi yanıtı olarak değerlendirilmiş olan bu olgu 6. kür sonunda progressif olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda 66 nolu olgunun da kemoterapiye ilk yanıtı, stabil yanıtı olarak değerlendirilmiş olup; yapılan FISH analizleri sonucunda HER2 probu ile multisinyal amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır ve 4. kür kemoterapi sonunda da progressif seyirli hastalık olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızdaki; 21, 48 ve 73 nolu olgular mukoepidermoid tür akciğer kanseri olarak histopatolojik tanı almışlardır. Mukoepidermoid tür akciğer kanseri olan; 21 nolu olguda dikat çekici olarak, C-MYC probu ile multisinyal amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır ve bu olgu 1.FOB'den 70 gün sonra exitus olmuştur. Çalışmamız bulgularına göre dikkat çeken 48 nolu olguda kesin histopatolojik tanı Göğüs Cerrahi tarafından yapılan lobektomi materyalinden alınan örnek analizi sonucu konulmuştur. 1. FOB'de alınan bronşial lavajdan elde edilen hücrelerde yapılan FISH analizi ile çalışmamızda bu olguda 8. Kromozom Trizomisi ile birlikte 17. Kromozom Monozomili hücreler saptanmıştır.

Çalışmamızda, 95 nolu erken evreli (Evre1A) olguda kesin histopatolojik tanı karsinoid tür akciğer kanseri olarak konmuştur ve bu olguda yapmış olduğumuz FISH analizi sonucunda EGFR amplifikasyonlu hücrelerin saptanması dikkat çekici bulgulardandır.

Çalışmamızda, squamöz küçük hücreli akciğer kanseri olarak histopatolojik tanı alan 38 nolu olgunun kemoterapiye yanıtı progressif olarak değerlendirilmiştir. Bu olguda yapmış olduğumuz FISH analizi sonucunda küçük hücreli akciğer kanserli olgularda sık rastlanan C-MYC amplifikasyonlu hücreler saptanmış olması dikkat çekici bir bulgudur.

4.2.3. KHAK'li Olgular ve Genel Olarak Saptanan FISH Analiz Bulguları

Bu grupta toplam 16 olgu KHAK olarak histopatolojik tanı almıştır. Klinik olarak takiplerinde ise 10'u yaygın ve 6'sı ise sınırlı KHAK olarak değerlendirilmiştir. Tablo 4.10. ve tablo 4.11.'de KHAK'li olgular, kemoterapiye yanıtları ve FISH analiz yöntemi ile saptanan bulgular görülmektedir.

Çalışmamızda dikkat çekici olarak KHAK'li sekiz progressif olgudan dördünde; C-MYC amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. C-MYC amplifikasyonu olan olguların tamamı yaygın tip küçük hücreli akciğer kanser olup kemoterapiye ilk yanıtları olumsuz

ve progressif seyirli oldukları görülmektedir. Bunların dışında progressif seyirli bir olguda 8. kromozom trizomisi saptanmış, diğer üç olgu ise normal olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 4.10. KHAK’li Olgular ve Genel Olarak Saptanan FISH Bulguları.

KHAK (Small Cell) Akc Ca	Olgu sayısı	FISH Sonucu GENEL		7p21.3 EGFR			8q24 C-MYC			17q21.1 HER2		
		+	-	Amp	Diğer FISH +	Nor.	Amp	Diğer FISH +	Nor.	Amp	Diğer FISH +	Nor.
		Yaygın	10	7	3	-	6	4	4	2	4	-
Sınırlı	6	3	3	1	1	4	-	1	5	1	2	3
Toplam	16	10	6	1	7	8	4	3	9	1	4	11

Ayrıca 8 ve 17 nolu olgularda da C-MYC amplifikasyonu saptanmış olup, yaygın tür ve kemoterapiye yanıtları progressif seyirliydi. Bu olgular 1.FOB alım tarihinden sonra; 8 nolu olgu 13. günde, 17 nolu olgu da 65. günde exitus olmuştur. Kemoterapiye ilk yanıt olarak değerlendirmede; altı olgu kısmi cevaplı, bir olgu tam cevaplı ve bir olgu da stabil yanıtı olarak değerlendirilmiştir. Kemoterapiye kısmi cevaplı olan KHAK’li altı olgunun ise yaygınlık olarak, dördü sınırlı ve ikisi de yaygın tür olarak değerlendirilmiştir. Kısmi cevaplı olgulardan sadece ikisinde 8. kromozom trizomisi saptanmış olup diğer dört olgu ise normal olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda KHAK’li olup kemoterapiye ilk yanıtları progressif seyirli olan sekiz olgudan dördünde 7. kromozom polizomisi ve kısmi yanıtı altı olgudan ikisinde de yine 7. kromozom polizomisi olmak üzere toplam altı olguda 7. kromozom polizomisi saptanmıştır.

Tablo 4.11. KHAK’li Olguların Prognozları ve Saptanan FISH Bulguları.

Olg u No	Kesin Pato.Tanı Örnek Alımı	Yaygın Ve Sınırlı	Kemoterapiye İlk Yanıt Değerlendirme	Exitus Oluş Süresi	EGFR 1.FOB lavaj örneği	C-MYC 1.FOB lavaj örneği	HER2 1.FOB lavaj örneği
3	1. FOB	Yaygın	Progressif		5sinyal	Amp.mult	N
7	1. FOB	Yaygın	Progressif		N	N	N
8	1. FOB	Yaygın	Progressif	13.günEx	N	Amp.	N
17*	1. FOB	Yaygın	Progressif	65.günEx	+7	Amp.mult	N
23	1. FOB	Yaygın	Progressif	52.günEx	+7	N	N
27	1. FOB	Yaygın	Progressif		N	N	N
45	1. FOB	Yaygın	Progressif		+7	+8	+17
78	1. FOB	Yaygın	Progressif		+7	Amp.mult	N
26	1. FOB	Yaygın	Kısmi Yanıt		+7	+8	+17
56	1. FOB	Yaygın	Kısmi Yanıt		N	N	N
30	1. FOB	Sınırlı	Tam Yanıt		N	N	N
31**	1. FOB	Sınırlı	Kısmi Yanıt	200.günEx	Amp.	N	Amp.
49	1. FOB	Sınırlı	Kısmi Yanıt		N	N	N
85	1. FOB	Sınırlı	Stabil		N	N	N
86	1. FOB	Sınırlı	Kısmi Yanıt		+7	+8	+17
99	1. FOB	Sınırlı	Kısmi Yanıt		N	N	+17

Çalışmamızdaki KHAK’li 16 olgudan dördünde 17. kromozom polizomisi saptanmıştır. Kromozom 17 polizomisi saptanan dört olgudan üçünün kemoterapiye yanıtları şöyledir; bir olgu progressif seyirli, üç olgu ise kısmi yanıtli olarak değerlendirilmiştir.

*17 Nolu olguya histopatolojik olarak, Small+Squamöz hücreli (Kombine small cell ca.) mixt tip olarak tanı konulmuştur. Bu olguda 7. kromozom trizomili ve multisinyalli C-MYC amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır ve kemoterapiye ilk yanıtı progressif seyirli olup 1. FOB’de örnek alım tarihinden 65 gün sonra da exitus olmuştur.

**31 Nolu olgu, KHAK’li olup klinik olarak yaygınlığı ise sınırlı olarak değerlendirilmiştir. Önceleri kemoterapiye kısmi cevaplı olarak değerlendirilen bu olgu 6. kür sonunda progressif olarak değerlendirilmiştir. Küçük hücreli akciğer kanserli olgularda EGFR ve HER2 amplifikasyonuna rastlanmamasına rağmen (Tablo 2.4.), çalışmamızdaki bu olguda EGFR ve HER2 amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. Saptadığımız bu bulgular tartışma bölümünde tekrar değerlendirilecektir.

4.2.4. Primer Tümörleri Başka Organlarda Olup Akciğere Metastazlı Olgular

Tablo 4.12’de görüldüğü gibi, çalışmamızdaki metastatik akciğer kanserli üç olgudan 1’inin histopatolojik tanısı 1.FOB’de alınan biyopsi materyali analizi ile konulabilmiştir. Diğer iki olgunun tanıları ise iğne biyopsisi ile alınan materyal ve PET-CT analizleri sonucunda konulabilmiştir. Çalışmamızda 1.FOB’de alınan bronşial lavaj örneğinden elde ettiğimiz hücrelerde yaptığımız FISH analizi sonucunda, her üç olgu da FISH pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 4.12. Metastatik akciğer kanserli olgular ve saptanan FISH bulguları.

Olgu No	Kesin Pato.Tanı Örnek Alımı	Prognoz	EGFR 1.FOB lavaj örneği	C-MYC 1.FOB lavaj örneği	HER2 1.FOB lavaj örneği
71	İğ.Biy	Progressif Met. meme ca	Amp.	Amp.mult	Amp.
76	PET-CT ve Sintigrafi	Progressif	Amp.	N	N
97	1. FOB	Karsinom metastazı	N	Amp.mult	N

Çalışmamızdaki; 76 nolu olguda 1. FOB’de alınan biyopsi materyali ile kesin histopatolojik tanı konulamamıştır. Primeri bilinmeyen tümör endikasyonu ile yapılan sintigrafi ve PET-CT ile sol hilusta malign lezyon, bilateral adrenal metastaz ve multipl kemik metastazı ile uyumlu bulgular saptanmıştır. Çalışmamızda ise 1.FOB’de alınan bronşial lavaj örneğinden elde ettiğimiz hücrelerde FISH analizi sonucunda EGFR amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır.

4.2.5. Kesin Histopatolojik Tanıları 1. Fiber Optik Bronkoskopide (1. FOB) Alınan Biyopsi Örneği ile Konulamamış Olgulara Genel Bakış

Çalışma grubumuzu oluşturan hastalar; ön tanı olarak akciğer kanseri düşünülen ve kesin histopatolojik tanı için bronkoskopi endikasyonu olan olgulardı. Bu olgulardan bronkoskopi esnasında histopatolojik tanı amacıyla rutin olarak biyopsi örnekleri

alınmıştır. Aynı zamanda FISH analizi çalışması yaptığımız bronşial lavaj materyali örneği de histopatoloji için alınan biyopsi materyali ile aynı seansta alınan materyallerdir. Bu konuda karışıklığa yol açmaması için yapılan bronkoskopi birinci fiber optik bronkoskopi (1.FOB) olarak adlandırılmıştır. Çalışma grubumuzdaki akciğer kanseri tanısı alan 100 olgudan 19'unda kesin histopatolojik tanı 1. FOB'de alınan biyopsi materyali analizi sonucu konulamamıştır ancak bu 19 olgudan 8'inde FISH pozitif bulgular saptanmıştır. Bu 19 olgunun 17'si KHDAK'li olgulardır. Sadece 71 ve 76 nolu olgularda primer tümörler başka organlardadır, ancak bu olgular da akciğere metastaz yapmış olan olgulardır. Çalışmamızda akciğere metastaz yapmış olan bu iki olguda da bronşial lavaj materyalinden elde edilen hücrelerde yapılan FISH analizi sonucu anomalili hücreler saptanmıştır. Çalışmamızda dikkat çekici olarak; KHDAK'li olup, 1.FOB'de alınan biyopsi örneği analizi ile kesin histopatolojik tanı konulamayan 17 olgunun 6'sında bronşial lavaj materyalinden elde edilen hücrelerde yapılan FISH analizi sonucu anomalili hücreler saptanmıştır.

Sonuç olarak 81 KHDAK'li olgudan 1. FOB (1. Fiber Optik Bronkoskopi) ile alınan örneklerin histopatolojik incelemesi sonucunda 64 olguya (% 79,0) histopatolojik kesin tanı olarak KHDAK tanısı konulmuştur. Birinci FOB'de (1. FOB) alınan örneklerle, kesin histopatolojik tanı konulamamış olan 17 olgunun tanılarının; yedisi iğne biyopsi materyali ile, yedisi 2.FOB'da alınan biyopsi materyali, üçü de göğüs cerrahi operasyonunda alınan materyallerin analiziyle histopatolojik tanıları konulabilmiştir. Ayrıca metastatik akciğer kanseri olan bir olguda ise sintigrafi diğer bir olguda ise iğne biyopsisi ile tanı konulabilmiştir.

4.2.6. Akciğer Kanserli Olgularda 1. FOB'de Alınan Örneklerin Analizi Sonucu Kesin Histopatolojik Tanı ve FISH Pozitifliği Oranlarının Karşılaştırılması

Çalışmamızdaki akciğer kanserli 100 olgu genel olarak değerlendirildiğinde; 1.FOB'de alınan biyopsi materyali analizi ile 81 (% 81) olguda kesin histopatolojik tanı konulabilmiştir. Yine 1.FOB'de alınan bronşial lavaj materyalinin FISH yöntemi ile analizi sonucu 65 olguda (% 65) anomali saptanmıştır. Çalışmamızdaki 100 olguyu

kombine (Patoloji+FISH) olarak değerlendirdiğimizde ise 89 olguda (% 89) anomali saptanmıştır (Tablo 4.13.).

Tablo 4.13. Akciğer Kanserli Olgularda 1.FOB’de Alınan rneklerin Analiziyle Konulan Kesin Histopatolojik Tanı ve FISH Pozitifliği Oranlarının Karşılaştırılması

	Patoloji (+) (1. FOB-biyopsi rneği)	FISH (+) (amp.+ amp. dışı diğer anomaliler) (1. FOB-bronşial lavaj rneği)	Kombine olarak sonuç (1.FOB’da alınan patoloji+FISH rneği) PATOLOJİ+FISH
KHDAK (81 olgu)	64 olgu(%79.0)	52 olgu (%64)	70 olgu (%86,4)
KHAK (16olgu)	16 olgu (%100)	10 olgu (%62,5)	16 olgu (%100)
Metastatik (3 olgu)	1 olgu (%33,3)	3 olgu (%100)	3 olgu (%100)
Akciğer Kanserli Tüm Olgular (100 olgu)	81 olgu (%81)	65 olgu (%65)	89 olgu (%89)

Patolojinin sensitivitesi % 81 ; spesifitesi % 100 olarak bulunmuştur. FISH’in sensitivitesi % 65 ; spesifitesi % 100 olarak bulunmuştur. Kesin histopatolojik tanıda patolojinin duyarlılığı FISH’e göre daha yüksek oranda bulunmuştur.

Çalışmamızda 1.FOB’de alınan biyopsi materyali analizi sonucu 81 KHDAK’li olgudan 64’ünde (% 79) kesin histopatolojik tanı konulabilmiştir. Yine 1.FOB esnasında alınan bronşial lavaj materyalinden elde ettiğimiz hücrelerde yapmış olduğumuz FISH analizi sonucu 81 KHDAK’li olgudan 52’sinde (% 64) FISH (+) pozitif değerler saptanmıştır. Sonuç olarak alışmamızdaki 81 KHDAK’li olguda, 1.FOB’de alınan biyopsi örnekleri histopatolojik olarak ve bronşial lavaj örnekleri de FISH analiz yöntemi ile incelenmiştir. Kombine olarak değerlendirildiğinde ise (Patoloji+FISH) 81 KHDAK’li olgudan 70’inde (% 86,4) anomali saptanmıştır.

4.2.7. Genel Olarak Akciğer Kanserli Olguların Kemoterapiye Yanıtları ve Saptanan FISH Analiz Bulgularının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Tablo 4.14’de çalışmamızdaki akciğer kanserli tüm olguların genel olarak tanılarına, KT’ye verdikleri yanıtlarına göre ve saptanan FISH analiz bulgularına göre istatistiksel analizleri görülmektedir.

Tablo 4.14. Akciğer kanserli tüm olgularda KT’ye Yanıt ve FISH bulguları

Akciğer Ca Genel Türü	Kemoterapi Yanıt	EGFR (FISH +)	EGFR (Amp +)	C-MYC (FISH +)	C-MYC (Amp +)	HER2 (FISH +)	HER2 (Amp +)
KHDAK 81 Olgu	Progressif (27 olgu)	15 olgu (% 55,5)	9 olgu (% 33,3)	12 olgu (% 44,4)	7 olgu (% 25,9)	13 olgu (% 48,1)	5 olgu (% 18,5)
	Kısmi yanıt (24olgu)	12 olgu (% 50) P:0.691^	8 olgu (% 33,3) P:1.000^	9 olgu (% 37,5) P:0.614^	6 olgu (% 25) P:0.940^	9 olgu (% 37,5) P:0.440^	6 olgu (% 25) P:0.576^
	Stabil (6 olgu)	1 olgu (% 16,6) P:0.175*	1 olgu (% 16,6) P:0.640*	2 olgu (% 33,3) P:1.000*	2 olgu (% 33,3) P:1.000*	2 olgu (% 33,3) P:0.665*	1 olgu (% 16,6) P:1.000*
	Cerrahi (10 olgu)	4 olgu (% 40) P:0.476*	2 olgu (% 20) P:0.688*	1 olgu (% 10) P:0.065*	1 olgu (% 10) P:0.404*	0 olgu (% 0,0) P:0.007*	0 olgu (% 0,0) P:0.295
	Takipsiz (14 olgu)	4 olgu (% 28,5) P:0.186*	2 olgu (% 14,2) P:0.275*	5 olgu (% 35,7) P:0.585	3 olgu (% 21,4) P:1.000*	6 olgu (% 42,8) P:0.746^	4 olgu (% 28,5) P:0.692*
KHAK 16 Olgu	Progressif (8 olgu)	5 olgu (% 62,5)	0 olgu (% 0,0)	5 olgu (% 62,5)	4 olgu (% 50)	1 olgu (% 12,5)	0 olgu (% 0,0)
	Kısmi yanıt (6 olgu)	3 olgu (% 50) P: 1.000*	1 olgu (% 16,6) P: 0.429*	2 olgu (% 33,3) P: 0.592*	0 olgu (% 0,0) P: 0.085*	4 olgu (% 50) P: 0.091*	1 olgu (% 16,6) P: 0.429*
	Stabil+Tam yanıt(2 olgu)	0 olgu (% 0,0) P: 0.444*	0 olgu (% 0,0) P:1.000*	0 olgu (% 0,0) P: 0.444*	0 olgu (% 0,0) P:0.467*	0 olgu (% 0,0) P: 1.000*	0 olgu (% 0,0) P: 1.000*
Metastatik 3 olgu	Progressif	2 olgu (% 66,6)	2 olgu (% 66,6)	2 olgu (% 66,6)	2 olgu (% 66,6)	1 olgu (% 33,3)	1 olgu (% 33,3)

İstatistik Bulguları: Akciğer kanserli olgular genel olarak tanılarına ve kemoterapiye yanıtlarına ve çalışmamızda saptanan FISH bulgularına göre değerlendirilmiştir. KHDAK’li olgularda progressif seyirli olgular ve KT’ye diğer yanıtli olgularla ayrı ayrı: İki Oran Testi (^) ve Fisher’s Exact Testi (*) ile karşılaştırıldıklarında genel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Sadece HER2 probu ile FISH (+) pozitif olarak saptanan progressif seyirli olgular ve cerrahi önerilen olgular (P=0,007*) arasında Fisher’s Exact Testi ile anlamlı fark bulunmuştur.

Yukarıdaki tablo genel olarak analiz edildiğinde progressif seyirli olgular ve diğer olgular arasında farklılıklar görülmesine rağmen istatistiksel değerlendirme

sonucu fark bulunamaması şöyle açıklanabilir. Akciğer kanseri genel olarak ele alındığında KHDAK'i ve KHAK'i olarak iki ana grupta incelenmektedir. Ayrıca bu gruplar da kendi aralarında histopatolojik alt gruplara ayrılmaktadır. Akciğer kanseri ana grubu altında oldukça fazla kanser türü bulunmaktadır. Histopatolojik türler olarak ayrı özellikler arz ettiklerinden ayrı ayrı değerlendirilmeleri uygun olmaktadır. Ancak histopatolojik türlerine göre ayrıldıklarında genellikle küçük gruplara bölünmektedir. Bu durumda istatistiksel değerlendirmeleri ise örnek grubun küçük olması sebebiyle, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamasına yol açmaktadır. Çalışmamızdaki histopatolojik olarak en büyük grup randomize olarak squamöz tip hücreli akciğer kanseridir. Bu sebeple squamöz hücreli akciğer kanserli olgularda KT'ye yanıt ayrı olarak değerlendirilmiştir.

4.2.7.1. Squamöz hücreli akciğer kanserli olgular ve Kemoterapiye yanıtlarının istatistiksel analizleri

Çalışmamızda histopatolojik ayrıntılı tanı olarak 46 olgu ile en fazla olarak squamöz tip hücreli akciğer kanserli olgu ile karşılaşılmıştır. Squamöz hücreli akciğer kanserli olguların kemoterapiye ilk yanıtları ve prognozları karşılaştırıldığında ise progressif seyirli olgularda FISH anomalisi ve amplifikasyon oranlarının daha fazla olduğu görülmektedir. Tablo 4.15.'de squamöz hücreli akciğer kanserli olgularda kemoterapiye yanıt bulgularının istatistiksel olarak analizleri görülmektedir.

Tablo 4.15. Squamöz Hücreli Akciğer Kanserli Olguların Kemoterapiye Yanıtları ve Saptanan FISH Analiz Bulguları

Squamöz KT yanıt	EGFR (FISH +)	EGFR (Amp +)	C-MYC (FISH +)	C-MYC (Amp +)	HER2 (FISH +)	HER2 (Amp +)
Progressif (14 olgu)	12 olgu (% 85,7)	8 olgu (% 57)	6 olgu (% 42,8)	4 olgu (% 28,6)	9 olgu (% 62,3)	5 olgu (% 35,7)
Kısmi yanıt (17 olgu)	8 olgu (% 47) P:0.012[^]	5 olgu (% 29,4) P:0.108 [^]	6 olgu (% 35,2) P:0.667 [^]	3 olgu (% 17,6) P:0.671*	7 olgu (% 41,1) P:0.285*	4 olgu (% 23,6) P:0.693*
Stabil (4 olgu)	1 olgu (% 25) P:0.044*	1 olgu (% 25) P:0.576*	1 olgu (% 25) P:1.000*	1 olgu (% 25) P:1.000*	0 olgu (% 0,0) P:0.082*	0 olgu (% 0,0) P:0.278*
Cerrahi (5 olgu)	3 olgu (% 60) P:0.272*	1 olgu (% 20) P:0.303*	1 olgu (% 20) P:0.603*	1 olgu (% 20) P:1.000*	0 olgu (% 0,0) P:0.033*	0 olgu (% 0,0) P:0.257*
Takipsiz (6 olgu)	0 olgu (% 0,0) P:0.001*	0 olgu (% 0,0) P:0.042*	2 olgu (% 33,3) P:1.000*	0 olgu (% 0,0) P:0.267*	1 olgu (% 16,6) P:0.141*	1 olgu (% 16,6) P:0.613*

İstatistiksel Analizler; İki Oran Testi ([^]) ve Fisher's Exact Test (*) ile analiz edilmiştir. Squamöz hücreli progressif seyirli olgularla; kısmi yanıt, stabil, cerrahi önerilen ve takibi yapılamayan olgular karşılaştırılmıştır. Progressif seyirli ve kısmi yanıt olgular arasında EGFR probu analiziyle FISH (+) anomali saptanan olgular arasında İki Oran Testi ile (p=0,012[^]) anlamlı fark bulunmuştur. Ayrıca EGFR probu ile anomali saptanan progressif olgularla; stabil olgular (P= 0,044*) ve takipsiz olguların (P=0,001*) Fisher's Exact Testi ile analizlerinde anlamlı fark bulunmuştur. EGFR amplifikasyonlu progressif seyirli olgularla, takipsiz olguların (P=0,042*) Fisher's Exact Testi ile analizlerinde anlamlı fark bulunmuştur. Ayrıca HER2 probu analiziyle FISH (+) anomali saptanan progressif seyirli olgular ve cerrahiye yönlendirilen olgular (P=0,033*) arasında Fisher's Exact Testi ile analizlerinde anlamlı fark bulunmuştur.

4.2.8. Kontrol Grubu Olgular

Tablo 4.16'da görüldüğü gibi kontrol grubunda ise bronkoskopi endikasyonu olan ancak akciğer kanserli olmayan; 10'u erkek ve beşi kadın toplam 15 olgu yer almıştır. Kontrol grubu olgularda bronşial lavajdan elde edilen hücrelerde yapılan FISH analizleri sonucu anomali saptanmamıştır.

Tablo 4.16. Kontrol Grubu Olgular

Olg u No	Cinsiyet	Yaş	Patolojik ve Sitolojik Tanı	EGFR 1.FOB lavaj örneği	C-MYC 1.FOB lavaj örneği	HER2 1.FOB lavaj örneği
1	Erkek	62	KOAH	N	N	N
2	Erkek	54	KOAH	N	N	N
3	Erkek	71	Akc. absesi	N	N	N
4	Kadın	57	Kr.inflamasyon	N	N	N
5	Kadın	41	Kist hidatik	N	N	N
6	Erkek	68	Silikozis	N	N	N
7	Erkek	82	Kr.inflamasyon	N	N	N
8	Kadın	53	Gran.İltihap	N	N	N
9	Kadın	62	Kr.inflamasyon	N	N	N
10	Erkek	71	Kr.inflamasyon	N	N	N
11	Erkek	37	Hemoptizi	N	N	N
12	Erkek	69	KOAH	N	N	N
13	Erkek	24	Enfeksiyon	N	N	N
14	Erkek	42	Pnömkonyoz	N	N	N
15	Kadın	65	Kr.inflamasyon	N	N	N

5.TARTIŞMA

5.1. KHDAK'li Olgularda FISH Yöntemi ile EGFR Probu Kullanılarak Yapılan Analizlerde Saptanan Bulgular ve Literatür Bilgileriyle Karşılaştırılması

EGFR geni; 7. kromozomun 7p11.2 bölgesinde lokalizedir. EGFR, tirozin kinaz aktivitesine sahip bir transmembran glikoproteindir ve hücre dışı sinyalleri hücre içine iletir. Yayınlanan literatürlerde EGFR gen amplifikasyonlarını belirlemek amacıyla genellikle FISH analiz yöntemiyle çalışılmıştır. Ayrıca immunohistokimyasal (IHK) metod ve Real Time Revers Transkripsyon PCR (RT PCR) tekniklerini kullanarak da çalışmalar yapılmıştır. Birbirinden farklı bu yöntemlerin sonuçları karşılaştırılmış ve uygunlukları tartışılmıştır. Çalışmalar EGFR amplifikasyonlarını belirlemede; yöntem karşılaştırmaları dışında, yeni dönem kanser ilaçlarından tirozin kinaz inhibitörlerinin kullanıma uygunluğunu araştırmak amacıyla da yapılmaktadır (19,44,51).

Perez-Soler ve arkadaşlarının 1998 yılında KHDAK'li olgularda yaptıkları çalışmada, EGFR ekspresyonunu % 13-80 oranında saptamışlardır ve özellikle squamöz akciğer kanserlerinde, normalden 2-3 kat fazla EGFR ekspresyonu saptamışlardır (84).

Kirişoğlu C.E. ve arkadaşlarının 2002 yılında yaptıkları çalışmada; immunohistokimyasal metodla, KHDAK'li olgularda EGFR ekspresyon sıklığını değerlendirmişler ve KHDAK'li olguların % 58'inde, squamöz hücreli akciğer kanserli olguların da % 64,9'unda aşırı EGFR ekspresyonu saptamışlardır (58).

Suzuki ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptıkları çalışmada 181 KHDAK olguda FISH yöntemi ile %23 oranında EGFR gen amplifikasyonu saptamışlardır. Ayrıca bu çalışmada IHK analiz ile de % 34 oranında EGFR protein ekspresyon artışı tespit etmişlerdir. EGFR gen amplifikasyonlu hastaların %74'ünde protein ekspresyon artışı saptanmış olup; protein ekspresyonu ve amplifikasyonu arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (104).

Cappuzzo ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptıkları çalışmada; KHDAK'li 102 olguda FISH analiz yöntemi ile %33 oranında EGFR gen amplifikasyonu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada EGFR gen amplifikasyonu bulunan KHDAK'li olguların tirozin kinaz inhibitörleri ile tedaviye anlamlı derecede olumlu cevap verdiği görülmüş ve FISH yönteminin tirozin kinaz inhibitörlerinin tedavide kullanım kararını vermede etkili bir yöntem olduğu ortaya konmuştur (19).

Dacic ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptıkları çalışmada; 199 KHDAK'li olguda FISH analiz yöntemi ile % 8.6 oranında EGFR gen amplifikasyonu saptamışlar, ayrıca çalışmalarında IHK yöntemle EGFR protein ekspresyonunu da araştırmışlar ve FISH analiz yönteminden daha yüksek oranda (%16) ekspresyon artışı bulmuşlardır. Ayrıca squamöz hücreli akciğer karsinomunda IHK yöntemi ile EGFR protein ekspresyonunu % 26,2 ve FISH yöntemi ile EGFR amplifikasyonunu % 14,5 oranında saptamışlardır. Adenokarsinomada ise IHK yöntemi ile EGFR protein ekspresyonunu % 11,1 ve FISH yöntemi ile EGFR amplifikasyonunu % 3,6 oranında saptamışlardır. Bu çalışmayla IHK yönteminin subjektif kriterlere dayandığı ve bu yüzden IHK yönteminin değerlendirilmesinde standart kriterlerin oluşturulması gerekliliği ortaya konmuştur. Sonuçta, EGFR gen amplifikasyonunun saptanmasının, FISH analiz yöntemiyle daha doğru bir yöntem olduğu belirtilmiştir (26).

Jeon ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptıkları çalışmada; 262 KHDAK'li olguda FISH analiz yöntemi ile % 30.2 oranında EGFR gen amplifikasyonu saptamışlardır (51).

Çalışmamızda ise akciğer kanseri olan 100 olguda bronşial lavaj materyalinden elde edilen hücrelerde, EGFR geni FISH analiz yöntemi ile incelenmiştir. Çalışmamızdaki 100 olgudan 81'i KHDAK olarak histopatolojik tanı almıştır. Çalışmamızda KHDAK'li olan 81 olgunun 22'sinde (% 27,16) EGFR gen amplifikasyonu, 14'ünde ise amplifikasyon dışı (11 olguda polizomi ve 3 olguda da monozomi) diğer anomaliler saptanmıştır. Çalışmamızda olguların % 27,16'sında EGFR amplifikasyonu saptanmıştır ve literatürle uyumlu bulunmuştur.

Çalışmamızdaki, 46 squamöz hücreli akciğer kanserli olgudan 15'inde (% 32,6) oranında EGFR ekspresyonu saptanmıştır. Ayrıca adenokarsinomlu 17 olgudan 3'ünde (% 17,6) EGFR ekspresyonu saptanmıştır ve literatürle uyumlu bulunmuştur.

KHDAK'li olgularda yapılan çalışmalarda EGFR ekspresyonu artışı; kanserde ileri evre, metastaz gelişimi, beklenen sağkalım süresinde azalma ve kanserin kötü prognozu ile ilişkili bulunmuştur (11). Meert ve arkadaşları, 2001 yılında yaptıkları meta-analiz çalışmasında; KHDAK'li olgularda EGFR ekspresyonunun prognoza etkilerini araştırmışlardır. Bu konuda toplam 21 çalışmaya sağkalım açısından meta-analiz yapmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda ise KHDAK'li olgularda; EGFR ekspresyonunun sağkalımı olumsuz olarak etkileyen kötü bir prognostik faktör olarak bulunmuşlardır (73). Akciğer kanserinde, prognoz, tedavi, kemoterapiye yanıt, beklenen yaşam süresi; histopatolojik türlere göre farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle çalışmamızda saptadığımız FISH analiz sonuçlarına göre; prognoz ve kemoterapiye yanıt durumları değerlendirilmesi, histopatolojik tanılar göz önünde tutularak yapılmıştır. Ancak çalışmamızdaki olgulardan 46'sı squamöz tip akciğer kanseri olarak histopatolojik tanı almıştır. Çalışmamızdaki histopatolojik tür olarak en fazla sayıda squamöz hücreli tip akciğer kanseri ile karşılaşıldığından ve progressif seyirli olgularda FISH analiz sonuçları farklılık gösterdiğinden squamöz tip akciğer kanserli olgular ayrıca değerlendirilmiştir.

Çalışmamızdaki 81 KHDAK'li olgudan 27'sinin, kemoterapiye ilk yanıtları progressif seyirli olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4.6.). Progressif seyirli 27 olgudan 9'unda (%33,3) EGFR amplifikasyonu saptanmıştır. Çalışmamızda, 81 KHDAK'li olgudan kemoterapiye ilk yanıtları, kısmi yanıt olarak değerlendirilen toplam 24 olgudan 8'inde (%33,3) EGFR amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. Çalışmamızdaki KHDAK'li olguların kemoterapiye ilk yanıtları değerlendirildiğinde; progressif seyirli olgular ve kısmi yanıt olgular arasında bir fark bulunamamıştır.

Çalışmamızda squamöz tip akciğer kanserli 46 olgu analiz edilmiştir. Bu olguların kemoterapiye yanıtları incelendiğinde 14'ünün progressif seyirli squamöz tip akciğer kanseri olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.7.). Progressif seyirli 14 olgudan 8'inde (% 57)

EGFR amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır, ayrıca bunun dışında üç olguda kromozom 7 polizomisi ve bir olguda da kromozom 7 monozomili hücreler saptanmıştır. Amplifikasyon ve diğer saptanan FISH anomalileri birlikte değerlendirildiğinde, progressif seyirli squamöz tip akciğer kanserli 14 olgudan 12'sinde (%85,7) EGFR probu ile anomalili hücreler saptanmıştır, sadece iki olgu normal olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızdaki, progressif seyirli squamöz akciğer kanserli 14 olgudan beşi; birinci FOB esnasında yapılmış olan bronşial lavaj örneği alım tarihinden sonraki ilk 100 gün içerisinde exitus olmuştur. Erken dönemde exitus olan beş olgudan dördünde (% 80), EGFR probu ile yapılan FISH analizi sonucu anomali saptanmıştır. Çalışmamızdaki kemoterapiye kısmi yanıtli 17 squamöz tip KHDAK'li olgudan beşinde (%29) ise EGFR amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. Kemoterapiye kısmi yanıt veren squamöz tip akciğer kanserli 17 olgudan sadece bir olgu 1.FOB'de örnek alım tarihinden 170 gün sonra exitus olmuştur. Çalışmamızda kemoterapiye stabil yanıt veren squamöz tip akciğer kanserli dört olgudan sadece birinde (% 25) EGFR amplifikasyonu saptanmıştır. Kemoterapiye stabil yanıt veren olgularda, 1.FOB'de örnek alım tarihinden sonra ilk 180 gün içinde exitus olayı saptanmamıştır. Çalışmamızda erken dönemde tanı konulabilmiş olup, cerrahi tedaviye yönlendirilen squamöz tip akciğer kanserli beş olgudan birinde (% 20) EGFR amplifikasyonu, ikisinde kromozom 7 monozomisi saptanmış ve iki olgu da normal olarak değerlendirilmiştir. Squamöz tip akciğer kanseri olup cerrahi tedaviye yönlendirilen olgularda, 1.FOB'de örnek alım tarihinden sonra ilk 180 gün içinde exitus olayı saptanmamıştır.

5.2. KHDAK'li Olgularda FISH Yöntemi ile C-MYC Probu Kullanılarak Yapılan Analizlerde Saptanan Bulgular ve Literatür Bilgileriyle Karşılaştırılması

C-MYC geni; 8. kromozomun 8q24 bölgesinde lokalizedir. Myc genleri DNA'ya bağlanan üç nükleer fosfoproteini kodlamaktadır ve bu proteinler hücrenin çoğalması ve diferansiyasyonunda etkilidir. C-MYC geni amplifikasyon ve transkripsiyonal disregülasyon ile onkojene dönüşebilir. KHDAK'lerinin % 8-20'sinde C-MYC amplifikasyonu, KHAK'lerinde ise % 18-31 oranında C-MYC amplifikasyonu

gözlenmektedir. C-MYC geninin; tümör büyüme hızında artış ve sağkalımda kısalma ile ilişkili bulunduğu ifade edilmektedir (35,40,69).

Çalışmamızda ise KHAK'li 16 olgudan dördünde (% 25) C-MYC amplifikasyonu saptanmıştır. Bu olguların tamamı yaygın tip KHAK'li olup kemoterapiye ilk yanıtları progressif seyirli olarak değerlendirilmiştir. KHAK'li ve progressif seyirli toplam sekiz olgudan dördünde (% 50) C-MYC amplifikasyonu saptanmış olup bu olguların da ikisi erken dönemde exitus olmuşlardır (bu oran çalışmamızda saptanan en yüksek C-MYC amplifikasyon oranıdır). KHDAK'li olan 81 olgunun 19'unda (% 24) C-MYC gen amplifikasyonu, 10'unda ise 8. kromozom polizomisi (yedi olguda trizomi 8 ve üç olguda da tetrazomi 8) saptanmıştır. Ayrıca çalışmamızdaki 38 nolu olgunun histopatolojik tanısı, squamöz hücreli akciğer kanseri küçük hücreli tip olarak konulmuştur ve bu olguda yapılan FISH analizi sonucunda, küçük hücreli akciğer kanserlerinde sık rastlanan C-MYC amplifikasyonu saptanmıştır.

Çalışmamızda, squamöz hücreli akciğer kanserli 46 olgudan 9'unda (% 19,5) ve adenokarsinomlu 17 olgudan 5'inde (% 29,4) C-MYC amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. Çalışmamızda elde edilen veriler literatürle uyumludur ancak adenokarsinomlu olgularda saptadığımız C-MYC amplifikasyon oranının literatür verilerinden daha yüksek olması, çalışılan olgu sayısının az olmasından kaynaklanabilir.

Yakut ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptıkları çalışmada, KHDAK'li 51 olgunun primer tümör dokularından ve cerrahi borderline dokularından, C-MYC onkogeni ve p53 tümör supresör genleri için lokus spesifik proplar kullanarak FISH metodu ile bu genlerin genetik değişikliklerini tanımlamışlardır. C-MYC amplifikasyonunu 4 olguda (% 7,8), p53 delesyonunu 7 olguda (% 13,7), yüksek düzeyde poliploidi gösteren 6 olguda (% 11,7) ise C-MYC amplifikasyonu ve p53 delesyonunu birlikte saptamışlar. Ayrıca 3 olguda (%5,8) 8. kromozom trizomisi ve 2 olguda da (% 3,9) 17. kromozom monozomisi saptamışlardır. Bu çalışmalarının sonucunda C-MYC amplifikasyonun beklenen yaşam süresini kısalttığı ve metastaz oluşumunda etkili olduğunu saptamışlardır (114).

Çalışmamızdaki 81 KHDAK'li olgudan 27'sinin kemoterapiye ilk yanıtları progressif seyirli olarak değerlendirilmiştir. Bu 27 olgunun 8'inde (%29,6) C-MYC amplifikasyonu saptanmıştır. Çalışmamızda, 81 KHDAK'li olgudan kemoterapiye ilk yanıtları, kısmi yanıt olarak değerlendirilen toplam 24 olgudan 6'sında (% 25) C-MYC amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. Çalışmamızdaki KHDAK'li olguların kemoterapiye ilk yanıtları karşılaştırıldığında; progressif seyirli olgularda C-MYC amplifikasyonu daha fazla görülmesine rağmen ve kısmi yanıtli olgulara C-MYC göre amplifikasyonu yönünden belirgin bir fark bulunamamıştır.

Çalışmamızda squamöz tip akciğer kanserli 46 olgu analiz edilmiştir. Progressif seyirli 14 squamöz tip akciğer kanserli olgudan 4'ünde (% 28,5) C-MYC amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. Bunun dışında 2 olguda da (1 olguda 4'er sinya C-MYC 1, 1 olguda Trizomi 8'li) anomalili hücreler saptanmıştır. Amplifikasyon ve diğer saptanan FISH anomalileri birlikte değerlendirildiğinde, progressif seyirli squamöz tip akciğer kanserli 14 olgudan 6'sında (% 42,8) 8. kromozom ile ilgili anomalili hücreler saptanmıştır, sekiz olgu normal olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızdaki kemoterapiye kısmi yanıtli 17 squamöz tip KHDAK'li olgudan 3'ünde (% 17,6) ise C-MYC amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. Çalışmamızda kemoterapiye stabil yanıt veren squamöz tip akciğer kanserli 4 olgudan sadece 1'inde (% 25) C-MYC amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. Çalışmamızda erken dönemde tanı konulabilmiş olup, cerrahi tedaviye yönlendirilen squamöz tip akciğer kanserli 5 olgudan 1'inde (% 20) 8. kromozom trizomili hücreler saptanmıştır.

5.3. KHDAK'li Olgularda FISH Yöntemi ile HER2 Probu Kullanılarak Yapılan Analizlerde Saptanan Bulgular ve Literatür Bilgileriyle Karşılaştırılması

HER2 geni 17. kromozomun 17q11-q21 bölgesinde lokalizedir. Bu gen 27 ekzon içermektedir ve 185 kDA'luk bir transmembran glikoproteini kodlar ve epidermal kökenli hücrelerin büyümesinin düzenlenmesinde önemli rolü vardır.

Literatürlerde HER2 gen amplifikasyonlarını belirlemek için çoğunlukla FISH tekniği kullanılmıştır. Bugüne kadar HER2 geninin amplifikasyon, mRNA ve protein ekspresyon miktarına ilişkin farklı yöntemler uygulanarak çalışmalar yapılmış ve sonuçlar karşılaştırılmıştır (83).

Çalışmamız akciğer kanserlerinde; bronşial lavaj materyalinden elde edilen hücrelerde FISH analiz yöntemiyle yapılmıştır. Bu konuda Türkiye’de yapılan ilk çalışma olmaktadır. Çalışmamızda akciğer kanseri olan 100 olguda bronşial lavaj materyalinden elde edilen hücrelerde, HER2 geni FISH analiz yöntemi ile incelenmiştir. Çalışmamızda KHDAK’li olan 81 olgunun 18’inde (% 22,2) HER2 gen amplifikasyonu, 10’unda ise amplifikasyon dışı diğer (6 olguda polizomi, 3 olguda monozomi, 1 olguda delesyon) anomaliler saptanmıştır. Literatürde KHDAK’li hastalarda HER2 gen amplifikasyon oranları % 2- 44 gibi geniş bir oran dilimindedir (76,83,117). Çalışmamızda KHDAK’li hastalarda saptanan, HER2 gen amplifikasyonu oranı % 22,2’dir ve literatür verileriyle uyumlu bulunmuştur.

Çalışmamızdaki; KHDAK’li olan 81 olgunun, 46’sı squamöz hücreli akciğer kanseri olarak histopatolojik tanı almıştır. Squamöz hücreli akciğer kanserli 9 olguda (% 18,5) oranında HER2 ekspresyonu saptanmıştır. Ayrıca adenokarsinomlu 17 olgudan 6’sında (% 35,3) HER2 ekspresyonu saptanmış ve literatürle uyumlu bulunmuştur.

Jeffrey A. Kern ve arkadaşları 1990 yılında KHDAK’li 55 olguda IHK metoduyla HER2/*neu* protoonkogeninin ürünü olan p185^{neu} proteini ekspresyon analizi çalışmasını yapmışlardır. Squamöz hücreli akciğer kanserinde %31, adenokarsinomda ise % 34,4 oranında p185^{neu} proteini aşırı ekspresyonu saptamışlar. Özellikle adenokarsinomlu olgularda yaptıkları analizlerde, survinin kısaldığını gözlemlemişlerdir (55).

Pellegrini ve arkadaşlarının 2003 yılında 115 KHDAK’li olguda yaptıkları çalışmada; FISH, IHK ve Real Time Revers Transkripsiyon PCR (RT PCR) tekniklerini kullanmışlardır. Çalışmadaki 115 olgudan 41’ini FISH analiz tekniği ile

inceleyebilmişlerdir. HER2 gen amplifikasyonunu 41 olgudan 9'unda (% 22) saptamışlardır. RT PCR yöntemiyle ise 115 olguda HER2 ekspresyon artış oranını % 41 olarak bulmuşlardır. FISH analiz yöntemi ile HER2 gen amplifikasyonu saptanan olguların tümünde, RT PCR yöntemiyle de HER2 geninin mRNA ekspresyon artışı saptanmıştır. FISH tekniği ile HER2 amplifikasyonu saptanamayan 11 olguda, RT PCR ile mRNA miktarında artış rapor edilmiştir (83).

Zinner ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptıkları çalışmada; immunohistokimyasal analiz yöntemiyle, 360 KHDAK'li olguda % 13 oranında HER2 gen ekspresyonu saptamışlardır (117).

P185 neu proteini KHDAK'lerinde aşırı eksprese edilir. Adenokarsinomlarda kötü prognostik bir göstergedir. Kemoterapiye rezistans ve yüksek metastatik potansiyel ile ilişkili bulunmuştur (69). KHDAK'li olguların yaklaşık % 20'sinde HER2 amplifikasyonu gözlenmektedir (80).

Yaptığımız çalışmadaki 81 KHDAK'li olgudan 27'sinin, kemoterapiye ilk yanıtları progressif seyirli olarak değerlendirilmiştir. Progressif seyirli 27 olgudan 8'inde (% 29,6) HER2 amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. Kemoterapiye ilk yanıtları, kısmi yanıt olarak değerlendirilen toplam 24 olgudan 6'sında (% 25) HER2 amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. Ayrıca KHDAK'li olguların kemoterapiye ilk yanıtları değerlendirildiğinde; progressif seyirli olgular ve kısmi yanıtli olgular arasında yaklaşık % 5 civarında bir fark bulunmuştur.

Çalışmamızda squamöz tip akciğer kanserli 46 olgu analiz edilmiştir. Bu olguların kemoterapiye ilk yanıtları incelendiğinde, squamöz tip akciğer kanseri olup progressif seyreden 14 olgu gözlenmiştir ve bu 14 olgudan 5'inde (% 35,7) HER2 amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. Ayrıca progressif seyirli 4 olguda da (üç olguda 4'er sinyalli polizomi ve bir olguda da delesyon) amplifikasyon dışı diğer anomalili hücreler saptanmıştır. Squamöz hücreli akciğer kanseri olan ve progressif seyirli olgulardan; HER2 probu ile FISH analizi yapılan ve anomali saptanan 20, 65 ve 77 nolu olgular erken dönemde (15-80 gün içerisinde) exitus olmuşlardır. Kemoterapiye ilk yanıtı kısmi

yanıt olarak değerlendirilen, squamöz tip akciğer kanserli 17 olgudan dördünde (%23,5) HER2 amplifikasyonu, ikisinde trizomi 17 ve birinde de monozomi 17'li hücreler saptanmıştır. Çalışmamızda; squamöz tip akciğer kanserli olup, kemoterapiye stabil yanıt veren 4 olguda ve cerrahiye yönlendirilen 5 olguda FISH analiz çalışmasında HER2 probu ile anomali saptanamamıştır. Progressif seyirli squamöz tip akciğer kanserli olup HER2 amplifikasyonu saptanan olgularda % 35,7 oranında HER2 amplifikasyonu saptanmış ve bu olgulardan 3'ü erken dönemde exitus olmuştur. Ayrıca kemoterapiye kısmi yanıtı olgularda % 23,5 oranında HER2 amplifikasyonu saptanmıştır ve erken dönemde exitus olayına rastlanmamıştır. Ayrıca stabil yanıtı ve cerrahiye yönlendirilmiş olgularda HER2 amplifikasyonu saptanmamıştır. HER2 probuyla yapılan FISH analizi sonucu elde edilen bulgular, akciğer kanseri prognoz takibinde dikkat çekici bulgulardır ve literatürle uyumlu bulunmuştur.

Dikkat çekici bir FISH analiz bulgusu olarak da adenokarsinomlu 17 olgudan 6'sında (% 35,3) HER2 probu ile amplifikasyon saptanmış ve bu olgulardan 2'sinin kemoterapiye ilk yanıtları progressif olarak değerlendirilmiştir. Bu olgulardan 75 nolu olgu 1.FOB'de örnek alım tarihinden 32 gün sonra exitus olmuştur. Progressif seyirli diğer 4 olgu ise klinik olarak takibi yapılamamış olgulardır. Ayrıca adenokarsinomlu olgulardan 5'inde (% 29,4) C-MYC amplifikasyonu, 3'ünde (% 17,6) de EGFR amplifikasyonu saptanmıştır. Ayrıca dikkat çekici olarak saptanan diğer bir bulgu da; adenokarsinomlu 17 olgudan 7'sinde 1.FOB'de alınan biyopsi ve bronşial lavaj materyali ile kesin histopatolojik tanı konulamamış, ayrıca aynı olgularda FISH analiz sonuçları da normal olarak değerlendirilmiştir. Bu durum adenokarsinomlu olguların genellikle periferik yerleşimli olduğundan kaynaklanabilir (62).

5.4. Küçük Hücreli Akciğer Kanserli Olgularda FISH Analiz Yöntemi ile Saptanan Bulgular ve Literatür Bilgileriyle Karşılaştırılması

Küçük Hücreli Akciğer Kanserlerinde % 18-31 oranında C-MYC amplifikasyonu gözlenmektedir. C-MYC amplifikasyonu, tümör büyüme hızında artış ve sağkalımda

kısalma ile ilişkili bulunmuştur (35,40,69). Küçük hücreli akciğer kanserlerinde EGFR amplifikasyonu ve HER2 amplifikasyonu görülmemektedir (80).

Çalışmamızdaki 100 olgudan 16'sı KHAK'li olarak histopatolojik tanı almış ve 4 olguda (% 25 oranında) C-MYC amplifikasyonu saptanmıştır ve literatürle uyumlu bulunmuştur (35,41,69).

KHAK'li olguların kemoterapiye verdikleri ilk yanıtları değerlendirdiğimizde; dikkat çekici olarak, progressif seyirli 8 olgudan 4'ünde (% 50) C-MYC amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. C-MYC amplifikasyonu saptanan olguların tamamı yaygın tip KHAK'li olup progressif seyirliyidiler ve kemoterapiye ilk yanıtları da olumsuz olarak değerlendirilmiştir. Kemoterapiye ilk yanıtları progressif seyirli olup birlikte C-MYC amplifikasyonu saptanan 2 olgu kısa sürede (8 nolu olgu 13 gün ve 17 nolu olgu da 65 gün sonra) exitus olmuştur. Çalışmamızda saptanan bulgulara göre C-MYC amplifikasyonlu olgularda sağkalım süresindeki azalma literatürle uyumlu bulunmuştur (35,41,69).

Çalışmamızdaki, dikkat çekici diğer bir bulgu da 31 nolu olguda saptanan bulgulardır. KHAK'li olup kemoterapiye ilk yanıtı kısmi cevaplı olan bu olgunun yaygınlığı ise sınırlı olarak değerlendirilmiştir. Önceleri kemoterapiye kısmi cevaplı olarak değerlendirilen bu olgu 6. kür sonunda progressif olarak değerlendirilmiştir. Küçük hücreli akciğer kanserli olgularda EGFR ve HER2 amplifikasyonuna rastlanmamasına rağmen, çalışmamızdaki bu olguda EGFR ve HER2 amplifikasyonlu hücreler saptanmıştır. Literatürdeki bilgilere göre KHAK'lerinde EGFR ve HER2 amplifikasyonu görülmemektedir (80). Saptadığımız bulgular çelişkili gibi görülmektedir, ancak küçük hücreli akciğer kanserleri histopatolojik tanı olarak her zaman pür küçük hücre içermemektedir (74).

Küçük hücreli akciğer kanserleri histolojik klasifikasyon olarak 3'e ayrılır (74).

1. Small cell carcinoma
2. Geniş hücre komponentli small cell carcinoma
3. Kombine small cell carcinoma

Geniş hücre komponentli small cell carcinomalı olgularda antitümör ajanlara ve radyoterapiye rezistans rapor edilmiştir (79). 31 nolu olguda ise üçüncü kür kemoterapi sonunda kemoterapiye kısmi yanıtli olarak değerdendirilmiştir. Tanı konduktan 200 gün sonra da exitus olmuştur. Bu olguda çalışmamızda saptanan, EGFR ve HER2 amplifikasyon bulguları; muhtemelen geniş hücre komponentli small cell carcinoma türü olduğunu düşündürmektedir.

5.5. Literatürdeki Bronşial Lavaj Materyalinden Elde Edilen Hücrelerle yapılan FISH Analiz Çalışmaları ve Çalışmamız Bulgularının Karşılaştırılması

Çalışmamızın literatürdeki benzer çalışmalarla karşılaştırılması Tablo 5.1'de görülmektedir.

Sokolova I. ve arkadaşlarının 2002 yılında yayınlanan bir çalışmasında, sitopatoloji arşivlerindeki bronşial yıkama örnek preparatlarından, akciğer kanseri saptanmasında interfaz FISH yönteminin kullanılabilirliği araştırılmıştır. Toplam 74 olguda çalışılmış, 48 olguda histopatolojik olarak akciğer kanseri tanısı konmuş ve 26 olguda ise histopatolojik olarak akciğer kanseri olmayan olgularda çalışarak FISH ve sitoloji sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Ayrıca çalıştıkları 13 olguyu da yeterli hücre olmadığı ya da FISH sinyallerinin çok zayıf olması sebebiyle değerlendirmeye almamışlardır. Altı ve üzeri sayıda hücrede FISH anomalisi saptadıklarında FISH pozitif (+) kabul etmişlerdir. 48 akciğer kanserli olgudan 32'sinde FISH (+), yedi olguyu FISH (-), dokuz olguyu da FISH (şüpheli) olarak değerlendirmişlerdir. Kromozom 1'in sentromer bölgesinde, 5p15'te, 8q24'te ve 7p12'de değişiklikler saptamışlardır. Sitolojinin duyarlılığını % 54, FISH'in duyarlılığını % 82 bulmuşlardır. Sitolojinin spesifitesini % 100, FISH'in spesifitesini % 82 bulmuşlardır (96).

Çalışmamızda akciğer kanserli 100 olguda, bronkoskopi esnasında alınan bronşial lavaj materyalinden elde edilen hücreler FISH yöntemi ile; EGFR, C-MYC ve HER2 problemleri ile analiz edilmiştir. Akciğer kanserli 100 olgudan 65'inde incelediğimiz problemlerle ilgili olarak anomalili hücreler saptanmış ve FISH pozitif (+) olarak

değerlendirilmiştir. Toplam 35 olgu da FISH negatif (-) olarak değerlendirilmiştir. Sokolova ve arkadaşları Vysis prop seti (5p15, 8q24, 7p12) ve ayrıca Kromozom 1'in sentromer probunu kullanarak dört ayrı bölge ile ilgili anomalileri inceleyerek 32/48 (% 66,6) oranında anomali (FISH pozitif) tespit etmişlerdir. Çalışmamızda ise 7p12 (EGFR), 8q24 (C-MYC) ve 17q21 (HER2) olmak üzere toplam üç prob kullanılmıştır. Sokolova ve arkadaşları retrospektif bir çalışma yapmışlar ve bulmuş oldukları FISH analiz değerlerini sitoloji sonuçları ile karşılaştırmışlardır. Bizim yaptığımız çalışmada ise aynı bronkoskopi seansında alınan, biyopsi materyalleri histopatolojik olarak ve bronşial lavaj materyallerinden elde edilen hücreler de FISH yöntemi ile analiz edilmiş ve elde ettiğimiz bulgular histopatoloji sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Histopatolojinin sensitivitesi % 81, FISH'in sensitivitesi % 65 ve Histopatolojinin spesifitesi %100, FISH'in spesifitesi % 100 olarak bulunmuştur. Çalışmamız daha geniş bir popülasyonda yapılmıştır, Sokolova ve arkadaşlarının bulgularına benzer oranlarda (% 65) FISH pozitif (+) sonuç elde edilmiştir. Histopatoloji ve FISH sonuçları kombine olarak değerlendirildiğinde ise 89 olguda anomali saptanmıştır ve sensitivite % 89, spesifite ise % 100 olarak değerlendirilmiştir.

Bubendorf L. ve arkadaşları tarafından 2005 yılında yapılan bir çalışmada akciğer kanserli olduğu düşünülen 100 olgudan bronşial yıkama, bronşial fırçalama ve trans bronşial iğne aspirasyonu ile elde edilen örneklerde FISH ve sitolojik verilerin sensitivitesi karşılaştırılmıştır. Kontrol grubu olarak da kanser olmayan 71 akciğer hastasında çalışma yapılmış. Yaptıkları çalışma arşiv preperatlardan retrospektif bir çalışmadır. Değerlendirmede beş ve üzeri hücrede FISH anomalisi ve iki kromozomda veya gen lokus bölgesinde anomali bulduklarında FISH pozitif (+) kabul etmişlerdir. Vysis LAVysion prop set ile EGFR geni (7p12), C-MYC geni (8q24), kromozom 5 (5p15.2) ile birlikte kromozom 6 sentromer (6p11.1-q11) bölgelerini çalışmışlardır. Örnek alımında bronşial fırçalama yönteminin bronşial lavaja göre daha fazla oranda FISH pozitif (+) sonuç verdiğini görmüşlerdir. Bronşial lavaj ile sitolojide %55 (+), FISH'te %52 (+) ve sitoloji ile FISH kombine olarak değerlendirildiğinde % 65 (+) olarak değerlendirmişlerdir. Bronşial fırçalama ile sitolojide % 49 (+), FISH'te % 73 (+) ve kombine olarak da % 73 (+) olarak değerlendirmişlerdir (bronşial lavaj yerine bronşial fırçalama ile örnekler alındığında FISH'in duyarlılığı % 49'dan % 73'e

yükselmiştir). FISH ve sitolojik değerlendirmelerin spesifikliklerini sırasıyla % 87 ve % 100 olarak bulmuşlardır (17).

Çalışmamızda ise 100 olgudan 65'inde (% 65) incelediğimiz proplarla ilgili olarak anomalili hücreler saptanmıştır ve FISH pozitif (+) olarak değerlendirilmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada da sadece bronşial lavajdan örnek alımı yapılmasına rağmen Bubendorf L. ve arkadaşlarının yaptığı çalışma sonuçlarına benzer sonuçlar bulunmuştur. Hatta bronşial lavaj materyalinden FISH analizini sadece üç prob ile yaptığımız, Bubendorf ve arkadaşlarının ise dört prob ile çalıştıkları düşünülürse çok daha yüksek oranda FISH pozitifliği elde ettiğimiz görülmektedir. Bizim çalışmamızda arşiv preparatları kullanılmamış olup bronşial lavaj numuneleri doğrudan FISH analizi yapmak amacıyla hazırlanmıştır.

Nakamura H. ve arkadaşları 2005 yılında yayınlanan 50 olguluk (34 KHDAK, 4 KHAK, 1 metastatik akciğer kanseri ve 11 benign lezyonlu) bir çalışma yapmışlardır. Üçüncü kromozom ve 17. kromozom sentromer problemlerini birlikte çalışmışlardır. 100 hücre saymayı amaçlamışlar ve % 10 ve daha fazlasında anomali bulduklarında ise FISH pozitif kabul etmişlerdir. 34 olguda FISH pozitif, 16 olguda FISH negatif sonuç bulmuşlardır. FISH analizlerinde spesifiteyi % 100, sensitiviteyi ise % 81,7 olarak bulmuşlardır. Ancak çalıştıkları hastaların % 50'sinde (25 olgu) saydıkları hücre sayıları 100'ün çok altında gerçekleşmiştir (77).

Çalışmamızda da 100 olgudan 65'inde (% 65) incelediğimiz proplarla ilgili olarak anomalili hücreler saptanmış olup, Nakamura H. ve arkadaşlarının saptamış oldukları FISH pozitif oranlar (% 81,7) arasında farklılık görülmektedir. Bunu ise FISH pozitifliği değerlendirme kriterleri arasındaki farklılıkla açıklayabiliriz. Nakamura H. ve arkadaşları çalışmalarındaki bazı olgularda toplam beş hücre sayıp birinde anomali saptadıklarında bile % 20 FISH pozitif olarak değerlendirmişlerdir. Çalışmamızda ise, her bir prob için ayrı ayrı en az 100 hücre sayılmıştır 10 ve üzeri anomalili hücre saptandı ise FISH pozitif (+) olarak değerlendirmeye alınmıştır.

Barkan G.ve arkadaşları tarafından 2005 yılında yayınlanan çalışmalarında ise erken evreli ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserli 15 olguda tumör touch preparation örneklerinde kromozom 3p22.1, 10q22 ile LAVysion probları (5p15, Cep6, 8q24, 7p12) kombine olarak çalışılmıştır. LAVysion probları ile % 57 FISH pozitif olarak tespit etmişlerdir. Kromozom 3p22.1 delesyonunun tüm akciğer kanserli hastalarda (% 100) gözleendiği, 10q22 delesyonunun % 79 oranında gözleendiğini bildirmişlerdir (10).

Çalışmamızdaki 100 olgudan 81'i KHDAK'li olgudur. KHDAK'li 81 olgudan, 52'sinde; 7p12 (EGFR), 8q24 (C-MYC) ve 17q21.1 (HER2) propları ile % 64 oranında FISH pozitif değerler saptanmıştır. Bulduğumuz değerler, Barkan G. ve arkadaşlarının LAVysion probları (5p15, 8q24, 7p12) ve Cep6 ile bulmuş oldukları % 57 FISH pozitif değerlere çok yakın değerlerdir. Bizim çalışmamız farklı olarak 100 akciğer kanserli olgu ile yapılmıştır ve bunlardan 81 olgu KHDAK'li, 16 olgu KHAK'li ve 3 olgu da metastatik akciğer kanseri tanıları almış olgulardır.

Kevin C. Halling ve arkadaşlarının 2006 yılında yayınlanan çalışmalarında 123 olguda bronşial lavaj materyalinden ve 78 olguda da bronşial fırça ile alınan materyalden çalışmışlardır. Kromozom 6 sentromer bölgesi ve 5p15, 7p12, 8q24 lokuslarını FISH yöntemi ile analiz etmişlerdir. FISH ve sitoloji bulgularını karşılaştırmışlardır. Bronşial fırça ile FISH sensitivitesi % 71 ve sitoloji sensitivitesi ise % 51 olarak saptanmıştır. Bronşial fırça ile FISH'in spesifitesi % 83, sitolojinin spesifitesi ise % 100 olarak bulunmuştur. Bronşial lavaj ile FISH sensitivitesi % 49 bulunurken, spesifitesi % 95 bulunmuştur. Bronşial lavaj ile sitoloji sensitivitesi ise % 44 olarak bulunurken, spesifitesini % 100 bulmuşlardır. Kombine olarak bronşial fırça ve sitoloji birlikte değerlendirildiğinde ise; bronşial fırça ve sitoloji sensitiviteyi % 75, spesifiteyi % 100 olarak bulmuşlardır. Ayrıca kombine olarak bronşial lavaj ve sitoloji sensitiviteyi % 61 spesifiteyi ise % 95 olarak bulmuşlardır. Bronşial fırça ve bronşial lavaj yöntemleri sitoloji ile birlikte kombine olarak değerlendirildiğinde spesiteyi arttırdıklarını bulmuşlardır. Bronşial fırça yöntemi ile örnek alınmasının sensitiviteyi belirgin oranda arttırdığını ifade etmişlerdir (42).

Bizim yaptığımız çalışma da FISH sensitivitesi ve spesifitesi Kevin C. ve arkadaşlarının yaptığı çalışma sonuçlarına benzer oranlarda sonuçlar vermiştir. Farklı olarak Kevin C. ve arkadaşları, bronşial fırça ve lavaj ile birlikte sitoloji sonuçlarını irdelenmişlerdir. Çalışmamızda ise bronşial lavaj ile elde edilen materyalden FISH analizleri yapılmış; elde edilen sonuçlar ise kemoterapiye yanıt durumları ile birlikte değerlendirilmiştir.

Spasenija S. ve arkadaşlarının 2006 yılında yayınlanan çalışmalarında kromozom 6 sentromeri, 5p15, 7p12, 8q24 lokuslarını FISH yöntemi ile analiz etmişlerdir. Sitoloji arşiv preparatlarından yaptıkları retrospektif çalışmada bir çok olgu preparatından 54'ünü FISH ile incelemişler ve toplam 45 olguda FISH sonuçlarını analiz edebilmişlerdir. Bu olgulardan 25'i akciğer kanseri tanılı, 3'ü metastatik akciğer kanseri tanılı, 17'si de benign pulmoner hastalık olarak değerlendirilmiştir. Akciğer kanserli 25 olgudan 20'sinde (% 80) ve üç metastatik akciğer kanserli olgudan ikisinde FISH pozitif değerler saptamışlar, ayrıca 17 benign akciğer lezyonlu olguyu da FISH negatif olarak değerlendirmişlerdir (100).

Çalışmamızdaki 100 olgunun tamamında (% 100) FISH analizi yapılabilmektedir. Bunu ise şöyle açıklayabiliriz; bizim çalışmamızda sitoloji arşiv preparatları kullanılmamıştır. Klinikte uygulanan rutin bir testle çalışır gibi, bronkoskopi esnasında bronşial lavaj örneği taze olarak alınmıştır ve doğrudan FISH analizine uygun işlemlerle harvesti yapılmış ve -20°C'ta saklamaya alınmıştır. Bu yüzden, hücre kayıpları ve hücre kalitesinin bozulması sorunları ile hemen hemen hiç karşılaşmamıştır.

Tablo 5.1. Çalışmamızdaki bulguların literatürle karşılaştırılması

Literatürler	Histopatolojik Tanı	Çalışılan Örnek ve Olgu Sayısı	Kullanılan Problar	Sensitivite ve Spesifite Karşılaştırmaları	
				Histopatoloji Sitoloji	FISH
Sokolova I. ve ark. (2002)	42 KHDAK 6 KHAK	Bronşial lavaj sitoloji (Arşiv preperatları) 48 olgu ve 26 kontrol	-CEP 1, -5p15, -7p12(EGFR), -8q24(C-MYC)	Lavaj Sitoloji Sens (% 54) Lavaj Sitoloji Spes (%100)	Lavaj FISH Sens (% 82) Lavaj FISH Spes (% 82)
Bubendorf L. ve arkadaşları (2005)	59 KHDAK 10 KHAK 3 Metastatik akc ca 28 Benign lezyon	(Arşiv preperatı) Bronşial lavaj Bronşial fırça Kombine 100 olgu ve 71 kontrol	-CEP 6, -5p15, -7p12(EGFR), -8q24(C-MYC)	Lavaj sitoloji Sens (% 55) Fırça sitoloji Sens (% 49) Sitoloji (lavaj+fırça) Spes (% 100)	Lavaj FISH Sens (% 52) Fırça FISH Sens (% 73) FISH (lavaj+fırça) Spes (% 87)
Nakamura H. ve arkadaşları (2005)	34 KHDAK 4 KHAK 1 Metastatik akc ca 11 Benign lezyon	Trans bronşial iğne aspirasyonu Bronşial lavaj 50 olgu	Cep 3, Cep 17	Sitoloji Sens (%71,8) Sitoloji Spes (%100)	Lavaj FISH Sens (%81,7) Lavaj FISH Spes (% 100)
Barkan G. ve arkadaşları (2005)	15 KHDAK	Tumor touch preperation 15 olgu	-CEP 6, -5p15, -7p12(EGFR), -8q24(C-MYC), -3p22.1, -10q22		LAVysion FISH+(%57) 3P22.1FISH+(%100) 10q22 FISH+(%79)
Kevin C. ve ark. (2006)	65 KHDAK 15 KHAK 46 KHDAK 9 KHAK	Bronşial lavaj 123 olgu Bronşial fırçalama 78 olgu	CEP 6, -5p15, -7p12(EGFR), -8q24(C-MYC)	Lavaj sitoloji Sens (% 44) Lavaj Sitoloji Spes (%100) Fırça Sens (%51) Fırça Spes (% 100)	Lavaj FISH Sens (%49) Lavaj FISH Spes (% 95) Fırça Sens (%71) Fırça Spes (% 83)
Spasenija S. ve ark. (2006)	25 KHDAK 3 Metastatik akc ca 17 Benign lezyon	Bronşial lavaj sitoloji (Arşiv preperatları) 45 olgu	CEP 6, -5p15, -7p12(EGFR), -8q24(C-MYC)		Lavaj FISH Sens (%79) Lavaj FISH Spes (% 100)
Bizim çalışmamız (2008)	81 KHDAK 16 KHAK 3 Metastatik akc ca	Bronşial lavaj 100 olgu 15 kontrol olgu	7p12(EGFR) 8q24(C-MYC) 17q21(HER2)	Patoloji Sens (% 81) Patoloji Spes (% 100)	Lavaj FISH Sens (% 65) Lavaj FISH Spes (% 100)

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırma grubunu oluşturan 100 akciğer kanserli olguda ve kontrol grubu olarak da akciğer kanserli olmayan 15 olguda; bronşial lavaj materyalinden elde edilen hücrelerde EGFR (7p12), C-MYC (8q24), HER2 (17q21.1) problemleri kullanılarak FISH yöntemi ile analiz yapılmıştır.

Saptanan bulgular genel olarak değerlendirildiğinde, 100 akciğer kanserli olgudan 65'inde (% 65) FISH analiz yöntemi ile (her üç prob birlikte değerlendirildiğinde) anomali saptanmıştır. Ayrıca KHDAK'li 81 olguda genel olarak 52'sinde (% 64) FISH pozitif bulgular saptanmıştır. Her bir probun amplifikasyonunu ayrı ayrı değerlendirdiğimizde ise EGFR (7p12) gen amplifikasyonu 22 olguda (% 27), C-MYC (8q24) gen amplifikasyonu 19 olguda (%24), HER-2 (17q21.1) gen amplifikasyonu 18 olguda (% 22) saptanmıştır. KHAK'li 16 olgudan 10'unda ise FISH pozitif bulgular (progressif olgularda özellikle C-MYC amplifikasyonu ve kromozom polizomileri) saptanmıştır. Metastatik akciğer kanserli üç olgunun tümünde FISH pozitif bulgular saptanmıştır. Çalışmamızda sadece bronşial lavaj materyali ile çalışmıştır, ancak elde ettiğimiz amplifikasyon oranları, literatürdeki tümör biyopsi dokusuyla yapılmış olan FISH analizlerindeki amplifikasyon oranlarıyla uyumludur.

Saptadığımız dikkat çekici bulgulardan biri; squamöz tip akciğer kanserli 46 olgunun kemoterapiye ilk yanıtları incelendiğinde, bunlardan 14'ünün progressif seyirli olduğu gözlenmiştir. Progressif seyirli 14 olgudan 8'inde (% 57) EGFR amplifikasyonlu hücreler saptanmış, ayrıca bunun dışında 3 olguda kromozom 7 polizomisi ve 1 olguda da kromozom 7 monozomili hücreler saptanmıştır. Amplifikasyon ve diğer saptanan FISH anomalileri birlikte değerlendirildiğinde, progressif seyirli squamöz tip akciğer kanserli 14 olgudan 12'sinde (%85,7) EGFR probu ile anomalili hücreler saptanmıştır, sadece 2 olgu normal olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızdaki, progressif seyirli squamöz akciğer kanserli 14

olgudan 5'i; birinci FOB esnasında yapılmış olan bronşial lavaj örneği alım tarihinden sonraki ilk 100 gün içerisinde exitus olmuştur. Erken dönemde exitus olan squamöz tip akciğer kanserli 5 olgudan 4'ünde (% 80), EGFR probu ile yapılan FISH analizi sonucu anomali saptanmıştır. Çalışmamızda squamöz hücreli akciğer kanserli olgularda EGFR probu ile saptadığımız bulgular prognoz takibinde ve tirozin kinaz inhibitörlerinin kullanımına yol gösterici olabilecektir.

Günümüzde akciğer kanserlerini etkin ve doğru bir şekilde tarayacak ve erken teşhisi sağlayabilecek bir metod halen bulunmamaktadır. Standart tarama yöntemlerinin kısıtlı olması sebebiyle, tümörler genellikle belli bir aşamaya ulaştıktan sonra tanıya olanak vermektedirler. Akciğer kanserleri belirti verdikleri ve tanıya olanak sağladıkları bu aşamadan sonra da kötü prognoz ve yüksek ölüm oranları göstermektedirler.

Akciğer kanseri kesin tanısında histopatoloji altın standarttır. Ancak tanıları ve evreleri benzer olan vakalarda bile, kemoterapiye yanıtları, prognozları ve exitus oluş süreleri arasındaki farklılıkları açıklamakta histopatolojik tanının tek başına yeterli olamayacağı açıkça görülmektedir.

Akciğer kanserinde tümörlerin genetik özellikleri ile ilgili yeterli ve detaylı bilgilere ulaşabildiğimizde, erken teşhis, prognozun belirlenebilmesi, moleküler hedefli tedavilerin geliştirilebilmesi ve uygun hastalarda daha verimli olarak kullanılabilme avantajlarını sağlayacaktır.

Tümör hücrelerinde kromozomal sayısal değişikliklerin ve gen kopya sayılarının saptanmasında FISH analiz yöntemi güçlü bir tekniktir. FISH analiz yöntemi örneğin kültüre edilmesine gerek kalmadan doğrudan da incelenmesine olanak sağlayan bir yöntem olduğundan avantajlı bir yöntemdir. Ayrıca erken tanı ve taramaya yönelik proplar seçildiğinde tümör erken tanısına olanak verme ihtimalleri de yüksektir. Yine prognoz ve tedaviye yol gösterici olarak da uygun proplar kullanılarak FISH etkinliğinin artırılması mümkün olacaktır.

Yaptığımız çalışma bronşial lavaj materyalinin FISH yöntemi ile analizidir. Bu yöntem, akciğer kanser riski yüksek hastalarda çalışıldığında kanserin erken tanısında ve kanser hücresinin genetik markerlarla saptanabilen özelliklerinin tanımlanabilmesinde yararlı olacaktır. Genetik özelliklerinin tanımlanabilmesi ile erken dönemde ve hastaya özgün tedavinin seçilebilmesinde de yol gösterici olabilecektir. Ayrıca kanser hücresinin genetik markerlarla saptanabilen özelliklerinin bilinmesi kanserin prognozu hakkında daha gerçekçi tahminler yapabilmek konusunda yol gösterici olabilecektir. Günümüzde sadece histopatolojik ve sitolojik olarak kanser tanısı konması, kanser hücresinin özelliklerini ve gücünü yeterince anlamamıza yetmemektedir. FISH analiz yöntemi ile elde edilecek bilgilerle kanser hücresinin genetik özelliklerinin bir kısmının bile bilinebilmesi ve buna göre uygulanabilecek olası tedavi metodları ile hastanın tedaviden yararlanma şansı artırılabilir.

Bronşial lavaj materyalinden FISH analizi çalışılmasında en büyük faydayı; akciğer kanserini düşündürecek semptomları olan ve bilinen yöntemlerle akciğer kanseri tanısı konamamış hastalarda sağlamak mümkündür. Ayrıca bronkoskopi ile ulaşılamayan bölgelerden; bronko alveolar lavaj yapılarak, materyal alınması durumunda da FISH analiz yönteminin yararlı olabileceği görülmektedir.

Bronkoskopi esnasında, bronşial lavaj yöntemi ile örnek alımı yarı invaziv bir yöntemdir; ancak bu yöntem FISH analizi ile birlikte kullanıldığında, tümör tarama, tümör prognozu ve tümör tedavisinde yol gösterici olarak çok değerli bilgiler verebilecektir. Farklı FISH markerları kullanılarak spesifite ve sensitivite artırılabilir ve histopatolojik tanı ile birlikte rutin olarak kullanılabilir. Kesin tanısı konmuş olgularda histopatolojik tanı altın standart olmasına rağmen, prognoz ve tedaviye yanıt açısından FISH analiz bulgularının kullanılması hasta yararına sağlanan katkıları arttıracaktır. Aynı evre ve tümör tiplerindeki olguların; prognoz, kemoterapiye yanıt ve yaşam sürelerindeki farklılıkları açıklayabilmede histopatolojik analizlerle bilgi edinme olanağı yoktur. Çalışmada EGFR ve HER2'nin tedaviye yanıtları değerlendirilmede marker olarak kullanılabileceği gösterilmiş olup geniş çalışmalarla bu bulguların doğrulanması gerektiğini düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Akbulut, H., Akbulut, K.G., 1997, Karsinogenez In: Içli, F., ed., Tıbbi Onkoloji, Ankara, ANTIP AŞ Tıp Kitapları ve Bilimsel Yayınlar, 23-38s.
2. Akpınar, O., 1996, Akciğer kanseri epidemiyolojisi ve etyolojisi, Akciğer Kanserleri, Ege Üniversitesi Kanserele Savaş Araştırma Uygulama Merkezi, 3-13s.
3. Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J.D., 1994, The molecular biology of the cell, Third Edition, Garland Publishing Inc, NewYork&London
4. American Cancer Society., 2005, Surveillance Research.
5. Artan, S., 1996, FISH tekniğinde kullanılan problemler ve özellikleri, Teorik ve Pratik Floresan İn Situ Hibridizasyon, Ed. Başaran, N., ETAM Eskişehir, 14-25s.
6. Artan, S., 1996, FISH tekniğinde hibridizasyon koşulları, Teorik ve Pratik Floresan İn Situ Hibridizasyon, Ed. Başaran, N., ETAM Eskişehir, 34-39s.
7. Artan, S., 1996, Rutin FISH uygulamaları, Teorik ve Pratik Floresan İn Situ Hibridizasyon, Ed. Başaran, N., ETAM Eskişehir, 1996, 51-59s.
8. Ashman, J.N.E., Brigham, J., Cowen, M.E., Bahia, H., Greenman, J., Lind, M., et al., 2002, Chromosomal alterations in small cell lung cancer revealed by multicolor fluorescence in situ hybridization, Int. J. Cancer, 102, 230-236p.
9. Balsara, B.R., Testa, J.R., 2002, Chromosomal imbalances in human lung cancer, Onkogene 21,6877-6883p.
10. Barkan, G.A., Caraway, N.P., Jiang, F., Zaidi, T.M., Fernandez, R., Vaporcyin, A., Morice, R., Zhou, X., Bekele, B.N., Katz, R.L., 2005, Comparison of molecular abnormalities in bronchial brushings and tumor touch preparations, Cancer (Cancer Cytopathol), 105:35-43p.
11. Baselga, J., Averbuch, S.D., 2000, ZD1839 (Iressa) as an anticancer agent, Drugs 60 (Suppl. 1), 33-40p.
12. Baselga, J., O'Dwyer, P.J., Thor, A.D., 2001, Epidermal growth factor receptor: Potential target for antitumour agents, CBCE, 1-24p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

13. Başaran, N., 1996, Moleküler sitogenetik analiz yöntemi ve uygulama alanları, Teorik ve Pratik Floresan İn Situ Hibridizasyon, Ed. Başaran, N., ETAM Eskişehir, 5-10s.
14. Belinsky, S.A., Nikula, K.J., Palmisano, W.A., Michels, R., Saccomanno, G., Gabrielson, E., eds., 1998, Aberrant methylation of p16 İNK4a an early event in lung cancer and a potential biomarker for early diagnosis, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 11891-11896p.
15. Bilgel, N., 2002, Türkiye’de sigara içme yaygınlığı, In: Özyardımcı, N., eds., Sigara ve Sağlık, 1.Baskı, Bursa, 59-73s.
16. Brown, D., Wang, R., Russell, P., 2000, Antiepidermal growth factor receptor antibodies augment cytotoxicity of chemotherapeutic agents on squamous cell carcinoma cell lines, Otolaryngol Head Neck Surg, 122, 75-83p.
17. Bubendorf, L., Müller, P., Joos, L., Grilli, B., Vogel, S., Herzog, M., Barascud, A., Feichter, G., Dalquen, P., 2005, Multitarget FISH Analysis in the Diagnosis of Lung Cancer, Am J Clin Pathol , 123:516-523p.
18. Bunn, P.A., 2000, Epidemiologic aspects of lung cancer, Cancer J Clin, 50, 7-33p.
19. Cappuzzo, F., Varella-Garcia, M., Shigematsu, H., Domenichini, I., Bartolini, S. Ceresoli, G., L., Rossi, E., Ludovini, V., Gregorc, V., Toschi, L., Franklin, W., A., Crino, L., Gazdar, A., D., Bunn, Jr., P., A., Hirsch, F., R., 2005, Increased her2 gene copy number is associated with response to gefitinib therapy in epidermal growth factor receptor–positive non–small-cell lung cancer patients, Journal Of Clinical Oncology, 23, 5007-5018p.
20. Chen, X., Yeung, T.K., Wang, Z., 2000, Enhanced drug resistance in cells coexpressing ErbB2 with EGF receptor or ErbB3, Biochem Biophys Research Comm, 277, 757-763p.
21. Cheng, S., Gao, Y., Dong, X., Y. Lu, Q., An, T.Tong., Wang, Y., 2001, Molecular and cytogenetic alterations in early stage of carcinogenesis of human lung, Cancer Lett., 162, 5-10p.
22. Ciardello, F., Caputo, R., Bianco, R., eds., 2000, Antitumour effect and potentiation of cytotoxic drugs activity in human cancer cells by ZD-1839 (Iressa), an EGFR-selective tyrosine kinase inhibitör. Clin Cancer Res, 6, 2053-2063p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

23. Cooper, M., 1997, *The cell, A molecular approach*, ASM Pres Washington, D.C.
24. Cox, G., Jones, J.L., Andi, A., eds., 2001, A Biological staging model for operabl non-small cell lung cancer, *Thorax*, 56, 561-566p.
25. Cox, G., Vyberg, M., Melgaard, B., Askaa, J., Oster, A., O'Byrne, K., J.,2001, Herceptest: Her-2 expression and gene amplification in non-small cell lung Cancer, *Int. J. Cancer*, 92, 480-483p.
26. Dacic, S., Flanagan, M., Ciepły, K., Ramalingam, S., Luketich, J., Belani, C., Yousem, S., A., 2006, Significance of EGFR protein of gene amplification in non-small cell lung carcinoma, *American Journal Clinical Pathology*, 25:860-865.
27. Davidson, B.J., Hsu, T.C., Schantz, S.P., 1993, The genetics of tobacco-induced malignancy, *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 119, 1198-1205p.
28. Duggirala, R., Almasy, L., Blangero, J., 1999, Smoking behavior is under the influence of a major quantative trait locus on human chromosome 5q. *Genet Epidemiol*, 17 (Supple 1.), 139-144p.
29. Eisen, T., The biology of lung cancer. In: Spiro, S.G., ed., 2001, *Lung Cancer: European Respiratory Monograph 17*, London, 61-70p.
30. Ekmekçi, A., Erbaş, D., 1991, *Kanserin moleküler mekanizması onkogenler ve büyüme faktörleri*, 1. Baskı, Ankara.
31. Field, J.K., Selection and validation of new lung cancer markers for the molecular-pathological assesment of individuals with a high risk of developing lung cancer, 1999, In: Brambilla C., Brambilla E., eds., *Lung tumours, fundamental biology and clinical management*, New Yok, Marcel Dekker Inc, 287-302p.
32. Fisher, J.R., Lahm, H., 2004, Validation of molecular and immunological factors with predictive importance in lung cancer, *Lung Cancer* 45, 151-161p.
33. Fong, K.M., Biesterreld, E.J., Virmani. A., Wistuba, I., Sekido, Y., Bader, S.A., et al., 1997, FHIT and FRA3B 3p14.2 allele loss are common in lung cancer and preneoplastic bronchial lesions and are associated with cancer-related FHIT cDNA splicing aberrations, *Cancer Res.* 57, 2256-2267p.
34. Fong, K.M., Minna, J.D., 2002, Molecular biology of lung cancer, *Clinical implication*, *Clinics In Chest Medicine*, 23, 83-101p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

35. Fong, K.W., Sekido, Y., Minna, J.D., 1999, Molecular pathogenesis of lung cancer, *J Thorac Cardiovascular Surg*, 118, 1136-1152p.
36. Gemill, R.M., Drabkin, H.A., Chromosome 3p loss in lung cancer, In: Kane, M.A., Bunn, P.A., eds., 1998, *Biology of lung cancer*, New York, Marcel dekker Inc, 465-501p.
37. Geoffey, M.C., Hausman, Er., Hücre: Moleküler Yaklaşım, 2006, (Çev.: Sakızlı, M., Atabey, N.), İzmir Tıp Kitabevi, İzmir, 592-640s.
38. Gessner, C., Kuhn, H., Toepfer, K., Hammerschmidt, S., Schauer, J., Wirtz, H., 2004, Detection of p53 mutations in exhaled breath condensate of non-small cell lung cancer patients, *Lung Cancer* 43, 215-222p.
39. Goeze, A., Schluns, K., Wolf, G., Thasler, Z., Petersen, S., Petersen, I., 2002, Chromosomal imbalances of primary and metastatic lung adenocarcinomas, *J. Pathol.* 196, 8-16p.
40. Groeger, A.M., Esposito, V., Mueller, M.R., eds., 1997, Advances in the understanding of lung cancer, *Anticancer Research*, 17, 2519-2522p.
41. Groeger, A.M., Odocha, O., Mueller, M.R., eds., 1997, Racial variation in lung cancer, *Anticancer Research*, 17, 2843-2848p.
42. Halling, K.C., Rickman, O.B., Kipp, B.R., Harwood, A.R., Doerr, C.H., Jett, J.R., 2006, A Comparison of cytology and fluorescence in situ hybridization for the detection of lung cancer in bronchoscopic specimens, *Chest*, 130:694-701p.
43. Heasley, L.E., Johnson, G.L., 1998, Signal transduction abnormalities in lung cancer, In: Kane, M.A., Bunn, P.A., eds., *Biology of lung cancer*, New York, Marcel dekker Inc, 371-390p.
44. Hirsh, F., R., Varrella-Garcia, M., Cappuzzo, F., McCoy, J., Bemis, L., Xaavier, A., C., Dziadziuszko, R., Gumerlock, P., Chansky, K., Vest, H., Gazdar, A., F., Crino, L., Gandara, D., R., Franklin, W., A., Bunn, Jr., P., A., 2007, Combination of EGFR gene copy number and protein expression predicts outcome for advanced non-small cell lung cancer patients treated with gefitinib, *Annals of Oncology*, 18: 752-760p.
45. Hoglund, M., Gisselsson, D., Hansen, G.B., Mitelman F., 2004, Statistical dissection of cytogenetic patterns in lung cancer reveals multiple modes of karyotypic evolution independent of histological classification, *Cancer Genet. Cytogenet.* 154, 99-109p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

46. Huber, R.M., Stratakis, D.F., 2004, Molecular oncology-perspectives in lung cancer, *Lung Cancer* 45, 209-213p.
47. Huncharek, M., Muscat, J., Geschwind, J.F., 1999, K-ras oncogene mutations as a prognostic marker in non- small cell lung cancer; a combined analysis of 881 cases, *Carcinogenesis*, 20, 1507-1510p.
48. Hung, J., Kishimoto Y., Sugio, K., Virmani, A., McIntire, D., Minna, I., et al., 1995, Allele-specific chromosome 3p deletion occur in an early stage in the pathogenesis of lung carcinomas, *Am. J. Med. Assoc.*, 273, 558-563p.
49. Hussain, S.P., Haris, C.C., 2000, Molecular epidemiology and carcinogenesis: Endogenous and exogenous carcinogens, *Mutation Research*, 311-322p.
50. Jeffery, P.K., Cigarette smoke induced damage of airway mucosa, In: Lenfant, C., Cheritn, J., Dusser, D., eds., 1996, Environmental impact in the airways from injury to repair, *Biology of lung cancer*, New York, Marcel dekker Inc, (93,13), 299-353p.
51. Jeon, Y.K., Sung, S.W., Chung, J.H., Park, W.S., Seo, J.W., Kim, C.W., Chung, D.H., 2006, Clinicopathologic features and prognostic implications of epidermal growth factor receptor (EGFR) gene copy number and protein expression in non-small cell lung cancer, 54, 387-398p.
52. Jin, M., Inoue, S., Umemura, T., Moriya, J., Arakawa, M., Nagashima, K., Kato, H., 2001, Cyclin D1, P16 and retinoblastoma gene product expression as a predictor for prognosis in nonsmall cell lung cancer at stages 1 and 2, *Lung Cancer* 34, 207-218p.
53. Kanser bildirimlerinin değerlendirilmesi (1993-1994), Sağlık Bakanlığı Kanser Daire Savaş Başkanlığı. Yayın no, 582, Ankara, 1997.
54. Karadağ, M., 2002, Sigara ve akciğer Kanseri. In: Özyardımcı, N., eds., Sigara ve Sağlık, 1. Baskı, Bursa, 155-161s.
55. Kern, A.J., Schwartz, A.D., Nordberg, J.E., Weiner, D.B., Grene, M.I., Torney, L., Robinson, R.A., 1990, p185^{neu} Expression in Human Lung Adenocarcinomas Predicts Shortened Survival, *Cancer Research* 50, 5184-5191p

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

56. Kettunen, E., El-Rifai, W., Bjorkqvist, A-M., Wolff, H., Karjalainen, A., Anttila, S., et al., 2000, A broad amplification pattern at 3q in squamous cell lung- cancer. A fluorescence in situ hybridization study, *Cancer Genet. Cytogenet.*,117, 66-70p.
57. Kettunen, E., Anttila, S. Seppanen, J.K., Karjalainen, A., Edgren, H., Lindstrom, I., et al., 2004, Differentially expressed genes in nonsmall cell lung cancer: Expression profiling of cancer-related genes in squamous cell lung cancer, *Cancer Genet. Cytogenet.*, 149, 98-106p.
58. Kirişoğlu C.E., 2002, Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde epidermal growth faktör ekspresyonunu prognostik değeri. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi.
59. Kishimoto, Y., Sugio, K., Huang, J., Vinnani, A., Mc Intire, D., Minna, J., eds., 1995, Allele-specific loss in chromosome 9p loci in preneoplastic lesions Accompanying non-small cell lung cancers, *J. Natl Cancer Inst*, 87, 1224-1229p.
60. Kok, K., Naylor, S.K., Buys, C.H., 1997, Deletions of the short arm of chromosome 3 in solid tumors and the search for suppressor genes, *Adv. Cancer Res*, 71, 27-92p.
61. Köktürk, N., Kirişoğlu, C.E., Öztürk, C., 2003, Akciğer kanseri moleküler Biyolojisi, 5, 127-138p.
62. Kumar, V., Cotran, R.S., Robbins, S.L., 2003, Robbins Temel Patoloji, (Çev.: Çevikbaş, U.), Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 172-195s.
63. Lam, S., MacAulay, C., IeRiche, J.C., Palcic, B., 2000, Detection and localization of early lung cancer by fluorescence bronchoscopy, *Cancer* 89, (Suppl 11): 2468-2473p.
64. Lecture GFF., Molecular mechanisms of lung cancer, Interaction of environmental and genetic factors, *Chest* 1996, 109 (Suppl), 14p-19p.
65. Lei, W., Mayotte, J.E., Levit, M.L., 1998, Enhancement of chemosensitivity and programmed cell death by tyrosine kinase inhibitors correlates with EGFR expression in non small cell lung cancer cells. *Anticancer Research*, 19, 221-228p.
66. Levin, W.J., Casey, G., Ramos, J.C., 2000, Tumor suppressor and immediate early transcription factor genes in nonsmall cell lung cancer, *Chest*,106, 372-376p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

67. Li, Z.H., Zheng, J., Weiss, L.M., Shibata, D., 1994, c-k-ras and p53 mutations occur very early in adenocarcinoma of the lung, *Am. J. Pathol*, 144, 303-309p.
68. Luk, C., Tsao, M.S., Bayani, J., Shepherd, F., Squire, J.A., 2001, Molecular cytogenetic analysis of non-small cell lung carcinoma by spectral karyotyping and comparative genomic hybridization. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 125, 87-99p.
69. Mabry, M., 1998, Activating onkogenes in lung cancer, In: Kane, M.A., Bunn, P.A., eds., *Biology in lung cancer*, Marcel Dekker Inc, New York 391-412p.
70. Mao, L., 2001, Molecular abnormalities in lung carcinogenesis and their potential clinical implications, *Lung Cancer* 34, 527-534p.
71. Massion, P.P., Kuo, W.L., Stokoe, D., Olshen, A.B., Treseler, P.A., Chin, K., et al. 2002, Genomic copy number analysis of non-small cell lung cancer using array comparative genomic hybridization, *Cancer Res.* 62, 3636-3640p.
72. Mc Clatchey, K.D., *Clinical Laboratory Medicine*, Second Edition.
73. Meert, A-P., Martin, B., Delmotte, P., eds., 2002, The role of EGFR expression on patient survival in lung cancer: A systematic review with meta-analysis. *Eur Respir J*, 20, 975-981p.
74. Mills, SE., 2004, *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology Fourth Edition*, 1184-1187p.
75. Mitsuuchi, Y., Testa, J.R., 2002, Cytogenetics and molecular genetics of lung cancer, *Am. J. Med. Genet. (Semin. Med. Genet.)*, 115, 183-188p.
76. Nakamura, H., Saaji, H., Ogata, A., Hosaka, M., Hagiwara, M., Kawasaki, N., Kato, H., 2003, Correlation between encoded protein overexpression and copy number of the HER2 gene with survival in non-small cell lung cancer, *Journal Cancer*, 103: 61-66p.
77. Nakamura, H., Aute, I., Kawasaki, N., Taguchi, M., Ohira, T., Kato, H., 2005, Quantative detection of lung cancer cells by fluorescence in situ hybridization, *Chest*, 128:906-911p.
78. Nussbaum, R.L., Mcinnes, R.R., Willard, H.F., Thompson&Thompson, 2005, *Tıbbi Genetik*, Güneş Kitabevi, 312-313s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

79. Palmisano, W.A., Divine, K.K., Saccomanno, G., Gilliland, F.D., Baylin, S.B., Herman, J.G., et al., 2000, Predicting lung cancer by detecting aberrant promoter methylation in sputum, *Cancer Res.* 60, 5954-5958p.
80. Panani, A.D., Roussos, C., 2006, Cytogenetic and molecular aspects of lung cancer, *Cancer Letters*, 239, 1-9.
81. Pavlakou, G., Tsarouha, A., Koza, T., eds., 1997, Lung Cancer: 10 years after, *Eur Res Journal ERS Annual Congress Abstracts Berlin, Germany*, Sep 20-24, 113.
82. Pei, J., Balsara, B.R., Li, W., Litwin, S., Gabrielson, E., Feder, M., et al., 2001, Genomic imbalances in human lung adenocarcinomas and squamous cell carcinomas, *Genes Chromosome Cancer* 31, 282-287p.
83. Pellegrini, C., Falleni, M., Marchetti, A., Cassani, B., Miozzo, M., Buttitta, F., Roncalli, M., Coggi, G., Bosari, S., 2003, HER2/neu alterations in non-small cell lung cancer: a comprehensive evaluation by real-time reverse transcription-pcr, fluorescence in situ hybridization, and immunohistochemistry, *Clinical Cancer Research*, 9, 3645-3652p.
84. Perez-Soler, R., Mendelson, J., 1998, Growth factor receptors as a target for therapy, In: Roth, J.A., Cox, J.D., Hong, W.K., eds., *Lung cancer*, 2nd ed. Blackwell Science Inc, 309-341p.
85. Petersen, I., Langreck, H., Wolf, G., Schwendel, A., Psille, R., Vogt, P., et al., 1997, Small-cell lung cancer is characterized by a high incidence of deletions on chromosomes 3p, 4q, 5q, 10q, 13q and 17p, *Br. J. Cancer* 75, 79-86p.
86. Petersen, I., Bujard, M., Peterson, S., Wolf, G., Goeze, A., Schwendel, A., eds., 1997, Patterns of chromosomal imbalances in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung, *Cancer Res*, 57, 2331-2335p.
87. Raymond, E., Faivre, S., Armand, J.P., 2000, Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase as a target for anticancer therapy, *Drugs* 60 (Suppl-1), 15-23p.
88. Rieder, H., 2003, FISH Protokoll, AG Tumorgenetik, Institut für Klinische Genetik Klinikum der Philipps- Universität, Marburg.
89. Rom, W.N., Hay, J.G., Lee, T.C., Jiang, Y., Tchou-Wong, K-M., 2000, Molecular and genetic aspects of lung cancer, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 161, 1355-1367p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

90. Sard, L., Accornero, P., Tornielli, S., Delia, D., Bunone, G., Campiglio, M., eds., 1999, The tumor-suppressor gene FHIT is involved in the regulation of apoptosis and in cell cycle control, Proc. Natl Acad. Sci. USA 96, 8489-8492p.
91. Sasaki, K., Kawauchi, S., 2003, Molecular cytogenetic analysis of solid tumors, J. Orthop. Sci. 8, 457-459p.
92. Schuller, H.M., 1998, Effects of tobacco smoke constituents of lung cells, In: Kane, M.A., Bunn, P.A., eds., Biology of lung cancer, New York, Marcel Dekker Inc, 441-464p.
93. Shields, P.G., Haris, C.C., 1992, Çevresel faktörler nedeniyle oluşan Kanserlerin moleküler epidemiyolojisi ve genetik özellikler, JAMA, 5, 174-182p.
94. Shriver, S.P., Bourdeau, H.A., Gubish, C.T., et al., 2000, Relationship to smoking history and risk of lung cancer, J. Natl Cancer Inst, 92, 24-33p.
95. Siegfried, S.M., 1999, Biology and chemoprevention of lung cancer, Chest, 113(Suppl), 40-45p.
96. Sokolova, I.A., Bubendorf, R., O'hara, A., Legator, M.S., Jacobson, K.B., Gril, B., Dalquen, P., Halling, K.C., Tamm, M., Seelig, S.A., Morrison, L.E., 2002, A fluorescence in situ hybridization-based assay for improved detection of lung cancer cells in bronchial washing spesimens, Cancer (Cancer Cytopathol), 96:306-15p.
97. Soria, J.C., Jang, S.J., Khuri, F.R., et al., 2000, Overexpression of cyclin B1 in early-stage non-small cell lung cancer and its clinical implication, Cancer Res. 60, 4000-4004p.
98. Sozzi, G., Sard, L., De Gregorio, L., Marchetti A., Musso, K., Buttitta F., eds., 1997, Association between cigarette smoking and FHIT gene alterations in lung cancer, Cancer Res., 57, 2121-2123p.
99. Sozzi, G., Deletions of the short arm of chromosome 3 and the FHIT gene in lung cancer, In: Brambilla, C., Brambilla, E., eds., 1999, Lung tumors fundamental biology and clinical management, New York, Marcel dekker Inc, 155-171p.
100. Spasenija, S., Glatz, K., Schoenegg, R., Spieler, P., Feichter, G., Tamm, M., Bubendorf, L., 2006, Multitarget fluorescence in situ hybridization elucidates equivocal lung cytology, Chest, 129:1629-1635p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

101. Speicher, M.R., Petersen, S., Uhrig, S., Jentsch, I., Fauth, C., Eils, R., eds., 2000, Analysis of chromosomal alteration in non-small cell lung cancer by multiplex-FISH, comparative genomic hybridization and multicolor bar coding, Lab. Invest., 80, 1031-1041p.
102. Spivack, S.D., Fasco, M.J., Walker, W.E., Kaminsky, L.S., 1997, The Molecular epidemiology in lung cancer, Crit Rev Toxicology, 27, 319-365p.
103. Sugio, K., Kishimoto, Y., Virmani, A.K., Hung, J.Y., Gazdar, A.F., 1994, K-ras mutations are a relatively late event in the pathogenesis of lung carcinomas, Cancer Res, 54, 5811-5815p.
104. Suzuki, S. Dobashi, Y. Sakurai, H. Nishikawa, K. Hanawa, M. Ooi, A. 2005, Protein overexpression and gene amplification of epidermal growth Factor receptor in non-small cell lung carcinomas, American cancer society, 103, 1265-1273p.
105. Tchia, M.M., Holmes, M.D., McLennan, G., 1991, The molecular biology of lung cancer, Med J Australia, 154, 501-503p.
106. Testa, J.R., Liu, Z., Feder, M., Bell, D.W., Balsara, B., Cheng, J.Q., et al., 1997, Advances in the analysis of chromosome alterations in human lung carcinomas, Cancer Genet. Cytogenet., 95, 20-32p.
107. Thun, M.J., Henley, S.J., Calle, B.E., 2002, Tobacco use and cancer: an epidemiologic perspective for geneticists, Oncogene 21, 7307-7325p.
108. Wei, Q., Spitz, M.R., 1997, The role of DNA repair capacity in susceptibility to lung cancer, A review, Cancer and Metastasis Reviews, 16, 295-307p.
109. Whang-Peng, J., Kao-Shan, C.S., Lee, E.C., Bunn, P.A., Carney, D.N., Gazdar, A.F., et al., 1982, Specific chromosome defect associated with human small-cell lung cancer; deletion 3p (14-23), Science 215, 181-182p.
110. William, S.K., Cummings, M.R., 2000, Genetik Kavramlar, (Çev.: Öner, C.), Palme Yayıncılık, Ankara, 635-636s.
111. Wistuba, I., Behrens, C., Milchgrub, S., Bryant, D., Hung, J., Minna, J.D., eds., 1999, Sequential molecular abnormalities are involved in the multistage development of squamous cell lung carcinoma, Oncogene 18, 643-650p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

112. Wistuba, I., Behrens, C., Virmani, A.K., Mele, G., Milchgrub, S., Girard, L., eds., 2000, High-resolution chromosome 3p allelotyping of human lung cancer and preneoplastic/ preinvasive bronchial epithelium reveals multiple, discontinuous sites of 3p allele loss and three regions of frequent breakpoints, *Cancer Res.*, 60, 1949-1960p.
113. Woodburn, J.R., 1999, The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy, *Pharmacol Ther*, 82, 241-250p.
114. Yakut, T., Egeli, U., Gebitekin, C., 2003, Investigation of C-MYC and p53 gene alterations in the tumor and surgical borderline tissues of NSCLC and effects on clinicopathologic behavior; by the FISH technique, *Lung*, 181, 245-258p.
115. Zaharovsky, E.R., Lerman, M.I., Minna, J.D., 2002, Tumor suppressor genes on chromosome 3p involved in the pathogenesis of lung and other cancers, *Oncogene* 21, 6915-6935p.
116. Zhang, Z., Nakamura, M., Taniguchi, E., Shan, L., Vokoi, T., Kakudo, K., 1996, Late occurrence of K-ras gene mutations in the pathogenesis of Squamous cell carcinoma of the lung; analysis in sputum, *Anal.Quant.Cytol.Histol.*18, 501-502p.
117. Zinner, R.G. Glisson, B. S. Fossella, F. V. Pisters, K. M. Kies, M.S. Massarelli, E. et al, 2004, Trastuzumab in combination with cisplatin and gemcitabine in patients with HER2 overexpressing untreated advanced non-small cell lung cancer report of a phase 2 trial and findings regarding optimal identification of patients with HER2 overexpressing disease, *Lung Cancer*, 44(1), 99-110p.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı : Kemal KURTÇU
Doğum Tarihi ve Yeri : 01. 01. 1962 ESKİŞEHİR
Uyruğu : T.C.
Medeni Durumu : Evli
İletişim Adresleri : Batıkent Mah. Dutlu Sok. 25/11 Toprak Sitesi A Blok
Kat 3 Daire 11 ESKİŞEHİR
kemal.kurtcu@gmail.com
0.532.7924025
0.505 8241312

Eğitim Durumu

İlkokul : Eskişehir Namık Kemal İlkokulu-1973
Ortaokul : Eskişehir Esentepe Ortaokulu-1976
Lise : Eskişehir Bahçelievler Lisesi -1979
Üniversite : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi -1988
: Eskişehir Anadolu Üniversitesi İşletme Fakültesi- 2006

Çalıştığı Kurum : Eskişehir Devlet Hastanesi Acil Servis Tabibi

Üye Olduğu Kuruluşlar:

-Tıbbi Genetik Derneği
-UMKE (Ulusal Medikal Kurtarma Ekibi)