

ÇEŞİTLİ KANSER TİPLERİNDE KROMOZOMAL FRAJİL BÖLGELERİN ARAŞTIRILMASI¹

Necati DENİZ, Halit ELYAS, Haluk AKIN, Hüseyin YÜCE

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 11.07.1999

Analysis of Chromosomal Fragile Sites in Various Types of Cancer

SUMMARY

Recent studies on cancer genetics are concentrated on chromosomal abnormalities occurring in tumour tissue including chromosomal fragile sites, deletions and translocations. We have planned this investigation to determine the chromosomal loci where fragile sites are located.

Lymphocyte cultures were established from 28 cancer patients and 30 controls with normal control subjects were established. By the application of GTG banding technique to chromosomes, fragile sites were detected cytogenetically. Fifty cells were evaluated for each individual. It was determined that the majority of the fragile sites were 5q, 2q, 3q, 13q, 4q, 3p, 15q and 1q. The incidence of fragile site between the patient and the control groups were statistically significant ($\chi^2=44.8$ $P<0.01$). Our results of fragile sites were compatible with the results.

It was determined that fragile sites were different in various tumour types. The marginal fragile sites among study groups were 2q and 5q.

In conclusion, the fragile sites specific to various cancer types were determined. These results confirm that these fragile sites can establish a basis for the molecular analyses in the sporadic and familial cancers. Therefore in the cases of cancers, analyses of fragile sites could be used as an indicator.

Key words: *fragile site, human chromosome, cancer*

ÖZET

Kanser genetiğinde son çalışmalar, tümör dokusunda oluşan kromozomal anomaliler frajil bölgeler, delesyonlar ve translokasyonlar üzerinde yoğunlaşmaktadır. Bu çalışma kromozomal frajil bölgelerin, hangi kromozom lokuslarında yoğunlaştıklarını saptamak amacıyla planlandı.

Bu çalışmada, 28 hasta ve 30 sağlıklı bireylerden lenfosit kültürü yapıldı. GTG bant tekniği uygulanan kromozomlarda, sitogenetik inceleme ile frajil bölgeler tespit edildi. Her birey için elli hücre değerlendirildi. Frajil bölgelerin çoğunlukla 5q, 2q, 3q, 13q, 4q, 3p, 15q ve 1q lokuslarında yoğunlığı, kontrol ve çalışma grupları arasındaki frajil bölgelerin sıklığı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($\chi^2=44.8$, $P<0.01$). Çalışmamızda saptanın frajil bölgeler diğer çalışmacıların saptadıkları frajil bölgelerle uyumlu bulundu.

Çeşitli tümörlerde farklı frajil bölgeler tespit edildi. Çalışma grubunda diğer frajil bölgelerle birlikte 2q ve 5q'da yoğunluğu gözlandı.

¹ Bu çalışma F.Ü. Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir(proje no: 279)

Yaptığımız çalışma sonucunda kanser tiplerine spesifik ve diğer çalışmalara uyumlu frajil bölgeler tespit edildi. Frajil bölge analizleri ailesel ve sporadik kanserlerde yapılacak moleküler çalışmalarla temel oluşturabileceğini desteklemektedir. Bu nedenle kanserli vakalarda frajil bölge analizleri önemli bir belirteç olarak kullanılabileceğini düşünmektediriz.

Anahtar kelimeler: *Frajil bölge, insan kromozomu, kanser*

GİRİŞ

Frajil bölgeler ilk kez 1965'de Dekaban tarafından radyoterapiye maruz kalan bayanların C grubu kromozomlarında tanımlanmıştır. Daha sonra Sutherland(1979) tarafından; insan kromozomlarında, kalıtsal, özel yerleşimde, boyanmayan bir boşluk veya kırık şeklinde gözlenmiştir. Bu gün üzerinde yoğun çalışmaların yapıldığı, onkogenler ile yakın ilişkisi olduğu saptanın ve mendeliyen kalıtlan frajil bölgelerin görünümü; kromatid veya izokromatid boşluk(gap) veya kırık, kopmuş kromozomlar, asentrik fragmanlar veya triradyal şekillerde görülebilirler(1, 2).

Frajil bölge tespiti: Frajil bölgeler uygun kültür ortamlarında(folik asit içermeyen veya folik asiti inhibe edici ajanlar kullanılarak) kromozomların spesifik bölgelerinde(özellikle GTG yöntemiyle açık bant bölgelerinde) görülebilmektedir(3, 4). Folik asit purin, pirimidin ve aminoasit metabolizmalarının çok sayıda tek karbonlu transfer reaksiyonlarında görev yapmaktadır. Folik asitin biyolojik olarak aktif şekilde dönüşebilmesi için önce dihidrofolik asit(DHF)'e ve daha sonra da tetrahidrofolik asit(THF)'e indirgenmesi gerekmektedir. Her iki reaksiyonda da dihidrosolat redüktaz enzimi kullanılır. Folik asit analogları [MTX(ametopterin), aminopterin ve trimetoprim] dihidrosolat redüktaz'ın çok güçlü inhibitörleri olup, folik aside duyarlı frajil bölgelerin ortaya çıkışını sağlarlar(5, 6).

FRAJİL BÖLGE SINIFLANDIRILMASI

1985 yılında Helsinki'de yapılan VIII. Uluslararası İnsan Gen Haritalama Konferansı'nda toplumda görülmeye sıklıkları ve kullanılan indüktörler dikkate alınarak frajil bölgeler iki temel gruba ayrılmıştır.

I-Nadir gözlenen ya da kalıtsal frajil bölgeler(rare fragile sites, heritable fragile sites; h-fra)

II-Çok sık gözlenen frajil bölgeler veya yapışal frajil bölgeler(common fragile sites, constitutive fragile sites; c-fra)

Bu sınıflama ilk olarak Smeets ve arkadaşları(1986) tarafından tanımlanmıştır. Frajil bölgelerin bu ayrimı çok net ve kesin değildir. Çünkü sınıflandırma yapılırken, c-fra bölgelerin indüklenen olmadıkları ve ayrıca kalıtılmadıkları düşünülmektedir. Günümüzde ise c-fra bölgelerin de h-fra bölgeler gibi indüklenenler ve kalıtıldıkları bilinmektedir. Frajil bölgelerin belli bir grubunun, yapışal frajil bölgeler olarak adlandırılmasının hatalı olduğu ve tüm frajil bölgeler yapışal özellik taşıdığı belirtilmektedir.

Nadir gözlenen ya da mendeliyen kalımıla kalıtlan frajil bölgeler, insan populasyonunda frekansi düşük olan, buna karşılık metafazlarda yüksek oranda gözlenen spesifik bölgelerdir. Austin ve arkadaşları (1992) h-fra bölgelerinin sadece heterozigot durumda gözlenmelerinin spesifik bir özelliğini bildirmiştir(7).

Austin ve arkadaşları(1992) h-fra bölgelerinin görülme sıklığını %2.5-3 olarak belirtirken, Le Beau(1986) %0.5-1 olduğunu öne sürmektedirler(8). Araştırmacılar genel olarak bu bölgelerin nadir gözlenen frajil bölgeler olarak değerlendirilmesini uygun görmektedirler.

Yapışal frajil bölgeler olarak da adlandırılan sık gözlenen frajil bölgeler (c-fra), nadir gözlenen frajil (h-fra) bölgelerin aksine, populasyonda sıklıkla gözlenen buna karşılık hücrelerde düşük oranlarda ortaya çıkan frajil bölgelerdir. Ayrıca h-fra bölgeler sadece heterozigot durumda gözlenirken c-fra bölgeler aynı hücrede her iki homologda da gözlenmektedir(8, 9). "Yapışal" ve "sık gözlenen" terimlerinin yanısıra "hotpoints" ve "otozomal lezyonlar" terimleri de bu bölgeleri ifade etmek için kullanılmaktadır

Son yıllarda frajil bölgelerin kanserleşme ile ilgili olduğunu, bu bölgelerde aktif kanser (onkogenler) genlerinin bulunduğu, bu bölgelerin ekspresyonu ile kanser riskini artırduğunu belirten bilim adamlarının sayısı oldukça fazladır. Frajil bölgelerin insan genomunda stabil olmayan bölgeler olduğu, bu bölgelerin genetik stabilitede önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir. Frajil bölgelerin kanser oluşumuna zemin hazırladığı yönünde görüşler belirtilmektedir(10, 11). Kanser hücreleriyle yapılan son çalışmalarla; FRA3B'de lokalize olan FHIT(Fragile Histidine Triad) geninin aşırı ekspresyonu ile LOS(Loss of Heterozygosity) birlikte gözlendiği bildirilmektedir(12, 16). Bazı bilim adamları ise bu bölgelerin her bireyde bulunduğu kanserleşme veya kanser riskiyle hiçbir ilişkisi olmadığını ileri sürmektedir(10, 13).

MATERIAL METOT

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Çalışmada F.Ü. Tıp Merkezi kliniklerinde kanser teşhisini konulmuş ve tedavi aşamasındaki 12 hematolojik tümörden(4'ü Chronic Myelogenous Leukemia, 3'ü Chronic Lymphoblastic Leukemia, 2'i Non-Hodgkin Lymphoma, Myelodysplastic Syndrome, Acute Myeloid Leukemia ve Acute Lymphoblastic Leukemia) ve teşhis aşamasındaki 18 solid tümörden(Beyin Tm, Guatr, Mide Tm, Kolon Tm, Larenks Tm, Mesane Tm, Akciğer Tm, Safra Kesesi Tm, Mem Tm, Böbrek Tm) kan ve doku örnekleri ile kontrol grubu olarak 30 sağlıklı bireyin kan örneği kullanıldı.

Periferik Kandan Kromozom Eldesi: Çalışma ve kontrol grubundan alınan kan örnekleri folik asit içermeyen besiyerde (Med 199, %2 Fetal calf serum, Phytohemaglütinin M, %1 antibiyotik) 72 saatlik kültüre edildi. Harvest'ten 2 saat önce 10 µg/ml koljisinden 0.1ml ilave edildi. Deney tüpleri 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atılıp dipteki pellete vorteks üzerinde damla damla hipotonik (0.075M KCL) eklendi. Hipotonik ortamda 37°C'de inkübe edildi. Santrifüj sonrası süpernatant atılıp, üzerine damla damla coorney fiksatif(Metanol: Glasiyal asetik asit 3: 1) ilave edildi. Fiksatif işlemi en az üç kez tekrar edildi. Son fiksatif sonrası santrifüj edilip, süpernatantı 0,5 ml'ye kadar atıldı. Dipteki pellet ile kalan fiksatif pastör pipetiyle süspansiyon edildi. Bu süspansiyon daha önce temizlenmiş lamlara yayma yapıldı.

Solid Tümörden Kromozom Eldesi: Solid tümörlerde ise, patoloji laboratuvarında tümör şüpheli bölgeden alınan doku örneği antibiyotikli transport medyuma alındı. Transportta belli süre bekletilen doku örneği steril kabinde makasla kırılıp 2500Ü/ml kollajenaz(Type II Sigma katalog no: C6885)enzimli tüpe alındı. Solid dokunun süspansiyonu için 3-4 saat 37°C'de inkübe edildi. Elde edilen süspansiyon dört ayrı 25 cm³'luk flasklara 4ml besi ortamina(F-10 Ham's, %5 supplement SIGMA katalog no: S5045 SITE+1, %2 antibiyotik) ekim yapıldı. Flaskların ağzı kapatılıp 37°C'de inkübe edildi. Her iki günde bir dokular inverted mikroskopta incelenip ve besiyeri değişimi yapıldı. Patolojik raporu takiben kültüre devam edildi. Yeterli mitoza ulaşıldığında çalışmadan 4 saat öncesi 0.1 ml koljisine (0.01 µg/ ml) eklendi. Dört saat sonra flaskdaki süpernatant bir tüpe alındı. Flasdkdaki ölü hücre ve besiyerinin uzaklaştırılması için, 1ml % 0.25'lik Tripsin /Versene(EDTA) solusyonu ile yıkandı.

Tabana yapışarak üremiş olan hücrelerin üzerine 2 ml daha %0.25'lik Tripsin/Versene eklenip 37°C'de 4-5 dakika inkübe edilerek, hücrelerin flakin tabanından kalkması sağlandı. Süre sonunda hücrelerin kalkıp kalkmadığı inverted mikroskopta gözlendi. Hücre süspansiyonu çalışma tüpüne alınıp 800-1000 rpm'de 8-10 dakika santrifüj edildi. Bu aşamadan sonra standart sitogenetik teknikler uygulanarak preparat elde edildi. (14, 15, 18, 23, 24). Präparatlar bir hafta oda ısısında yaşlandırılıp, GTG bant tekniği ile boyandı. .

GTGBantlama Tekniği:

1. Tripsin solusyonu(+ 4 °C) -----13" (saniye)
(1.2 gr/ L söransan tamponunda hazırlandı.)
2. Söransan tamponu(pH=6.80, oda ısısında) ...1.30" (saniye)
3. Giemsa % 5' lik solusyonu(söransan tamponda) 13' (dakika)
4. Präparatlar çesme suyundan sonra da distile sudan geçirilerek yıkandı. Kurulan préparatlar kanada balzamı ile kapatılıp her hastadaki frajil bölgeler araştırıldı.

Değerlendirme aşamasında kırık (kromozomlarda bir kromatit enini aşan ve kromozom ekseninden sapan ve boyaya almayan) bölgeler, her hasta için 50 metafazda sayilarak toplam frajil bölgeler tespit edildi.

Her iki grup arasında %5,9' luk bir fark gözlendi. Kanserli bireyler ile kontrol grubunda gözlenen frajil bölgelerin anlamlılığı ki-kare testi ile değerlendirildi. Frajil bölge açısından gruplar arasındaki fark ($\chi^2=44.8$, $P<0.01$) anlamlı bulundu.

BULGULAR

Çalışma ve kontrol grubunda gözlenen frajil bölgeler, her vak'a için 50 metefaz incelenerek tespit

edildi(tablo-1 ve 3). Çalışma grubuna ait frajil bölgeler resim-2, 3 ve 4'te görülmektedir. Frajil bölgelerin her iki gruptaki gözlenme yüzdesleri arasında %5,9'luk bir fark bulundu(tablo-2). Kanserli hastalarda özellikle frajil alanların 5q, 4q, 2q, 1q, 3p, 1p, 3q, 13q ve 15q nolu kromozomlarda yoğunlaştıkları gözlendi. Kanserli bireylerde gözlenen toplam frajil bölgelerin insidansı %0.06-1,53 olarak hesaplandı.

Tablo 1. (Kontrol grubunda gözlenen kromozomal frajil bölgeler)

Olgu No:	Krom. Frajil Bölgeler	Olgu No:	Krom. Frajil Bölgeler
1.	4p, 5p, 7q	16.	1p, 5q(2), 7q
2.	5q(2), 15q	17.	3p(3), 7q(2)
3.	12q(2)	18.	1q, 5q
4.	1q, 9q, 10q	19.	2q, 5q
5.	1q(2), 12q, 16q(2)	20.	2p, 8q, 10q, 13q
6.	1q, 3p, 6q, 11q	21.	2p, 5q, 10q
7.	9q, 12q, 14q	22.	3q, 5q, 7q
8.	2q, 3q(2), 15q	23.	2q
9.	1q, 2q, 9q, 10q	24.	3q, 3p
10.	2q(4)	25.	1p, 2q
11.	1q, 2q, 3q	26.	1q
12.	1p, 2q(2), 5q, 11q	27.	2q(2)
13.	3p, 4q	28.	1p, 4q
14.	1p, 1q, 2q, 5q(2), 7q	29.	2q, 3q, 6q
15.	4q, 5q(2)	30.	1q, 6q

p; kromozomun kısa kolu,

q; kromozomun uzun kolu

Tablo 2. Kontrol ve tümör hücrelerindeki frajil bölgeler, iki yüzde arasındaki farkın önemlilik testi ile değerlendirildiğinde:

	İncelenen hücre sayısı	Gözlenen frajil bölge sayısı	Gözlenen frajil yüzdesi(%)
Tümörlerde	$28 \times 50 = 1400$	168	12
Kontrollerde	$30 \times 50 = 1500$	92	6,1
		260	18,1

Tablo 3. Çalışma grubunda tesbit edilen toplam kromozomal frajil bölgeler)

Olgı No:	Tümör Tipi	Materyal	Kromozomal Frajil Bölgeler
1	(KML)	PK	1q, 2q(2), 3p(2), 3q(2), 7q, 8q, 9q, 10q
2	(KML)	PK	1p(2), 2p, 5q(2), 8q(14), 9q, 13q(2), 15q
3	(KML)	PK	1p(5) ,2p(2), 2q(2), 3q(3), 4q(3), 7q, 8q
4	(KML)	PK	2q, 3q, 5q, 8q, 13q, 14q(2)
5	(ALL)	PK	1p,1q(2),2p(2),2q(3),3p(3), 3q, 5q(4),6p, 14q, 15q(2)
6	(NHL)	PK	7q(4), 10q(4)
7	(NHL)	PK	1p, 1q, 2q, 3p(2), 5q(3)
8	(MDS)	PK	1p(2), 1q(7), 2q(3), 3q(3), 5q(7), 7q, 10q, 15q
9	(AML)	PK	2p(2), 2q(4), 3p(2), 3q, 4q(2), 5q(8), 12q(2), 13q, 15q(2), 16q(2)
10	(KLL)	PK	1p(3), 2p, 2q, 3p(2), 3q, 4q(5), 5q(3), 8q, 13p, 13q(3), 14q(2), 15p, 15q(2), 19p(2), 20q(2)
11	(KLL)	PK	1p(2), 1q(4), 2p, 3q(3), 4q(9), 5q(5), 6q, 7q(2) 1q(2), 12q, 13q(2), 14q, 15q(3)
12	(KLL)	PK	1q(4), 2q(2), 3q(3), 4q(5), 5q, 13q(2)
13	(beyin Tm)	PK	3p(6), 3q(2), 4q(6), 6q(3), 7q, 9q, 11q, 13q, 15q, 17q
14	(Amp.Wateri Tm)	PK	1p, 1q, 2q, 3p(2), 5q(4), 8q(4), 12q, 15q(2)
15	(pylor stenozu)	PK	2p, 2q, 3p, 4q(3), 5q(3), 6q, 8q, 13q, 14q
16	(M.Bazal Tm)	PK	4q, 5q
17	(Mide Tm)	PK	1q(3), 2q(2), 3q(3), 5q(14), 6q, 7q
18	(Kolon Tm)	PK	1p(2), 2p, 2q, 3q, 4q, 5q(7), 7q(2), 13q, 15q(2)
19	(RCC)	PK	2p, 5q(4), 7q
20	(Mide Tm)	PK	2q, 5q(10), 7q(2), 10q
21	(Larenks Tm)	PK	1q(3)
22	(Mide Tm)	PK	2q, 4q, 10q(2)
23	(Mesane Tm)	PK	2q(2), 3p, 3q, 5q(3), 6q(2), 13q(2)
24	(Mesane Tm)	PK	2q(2), 3p, 3q, 5q(3), 6q(2), 13q(2)
25	(Akciğer Tm)	PK	3q, 5q(3), 6q(2), 8q, 13q
26	(Guatr)	PK	1p, 2q(5), 3p(3), 4q(4), 5q(3), 6q, 13q,14q(3),15q
27	(Safra K. Tm)	PK	1q, 2p(2), 2q(3), 3q,4q(3), 6p, 6q
28	(Meme Tm)		1p, 2p, 2q, 5q(5), 7q(2), 10q(2), 11p
29	(RCC)	Solid Tm	1q, 2q, 3p(3), 5q(8), 11q(2), 12q, 13q, 16p, 16q, 18q,19q, 20q
30	(CİN)	Solid Tm	2p, 2q, 3p, 4q(2), 5q(2), 13q(2), 14q, 15q

PK: Periferik kan, Tm: Tümör

AML; Acute Myeloid Leukemic

CİN; Cervical Intarepithelial Neoplazi,

NHL; Non-Hodgkin Lymphoma,

ALL; Acute Lymphoblastic Leukemia,

MDS; Myelodysplastic Syndrome,

KML; Chronic Myelogenous Leukema

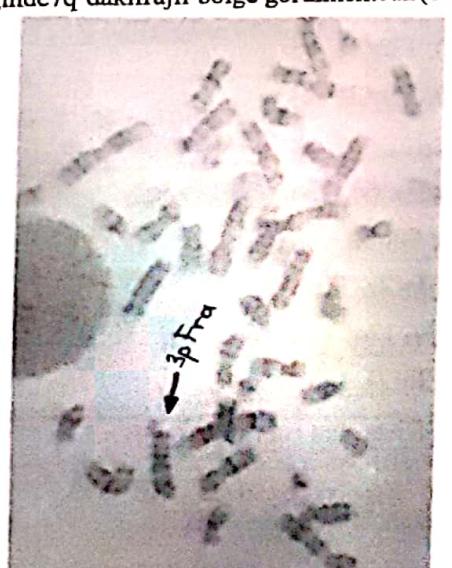
KLL; Chronic Lymphoblastic Leu emia



Şekil 1. Renall cell carcinoma(RCC)'lı bir hastaya ait doku kültürünün mitoz figürleri görülmektedir.



Şekil 2. Myelodysplastic syndrome(MDS)'lu bir hastanın, GTG bant teknigi ile hazırlanmış metafaz örneğinde 7q'daki frajil bölge görülmektedir(100x10).



Şekil 3. Renall cell carcinom(RCC)'lu bir hastanın, GTG bant teknigi ile hazırlanmış metasaz örneğinde 3p'deki frajil bölge görülmektedir(100x10).



Şekil 4. Chronic Myelogenous Leukemia(KML)'lı bir hastanın, GTG bant teknigi ile hazırlanmış metafaz örneğinde 6q'daki frajil bölge görülmektedir(100x10).

TARTIŞMA

Kanser olgularında saptanan kazanılmış kromozom anomalilerinin rastgele olmaması, günümüze kadar yapılan sitogenetik analizlerin ortaya çıkardığı en önemli gerçeklerden biridir(21). Tümör tiplerinde artan sayıda özgül ve tutarlı karyotipik değişimlerin tanımlanması, kromozomal düzenlenmelerin karsinogenezde temel rolü olabileceğini desteklemektedir(23, 24, 26, 27). Karyotipik değişikliklerin neoplazi türlerine göre özgül olarak gözlenmesi, kanserde sitogenetik çasımlara tanışal bir değer kazandırmaktadır(11, 12).

Yapılan sitogenetik çalışmalarla akciğer, kolon, baş, boyun, meme kanserlerinde 3p frajil bölge gözlenmesi yanında 1p, 1q, 2p, 2q, 3p, 4q, 5q, 13q, 14q, 16q, 17q, 18q, 22q gibi frajil bölgeler de saptanmıştır. Dikkati çeken başka bir bulgu ise uterus pleomorfik adenom ile Ovaryum kist adenomunda 6q ve 12q'da, Renall cell karsinomu ile çeşitli lösemi ve lensoma vakalarında 3p, 5q, 6q, 7q, 9q, 11q, 14q'da frajil bölgelerin yoğunluğunun saptanmasıdır(11, 12, 13, 14). Lensomalı ve lösemili hastalarda yapılan başka bir çalışmada da 3p frajil bölge görme sıklığı olarak öne çıkmaktadır(15, 16, 17).

Frajil bölge ile ilgili olarak son yıllarda yapılan moleküler düzeydeki çalışmalar, özellikle 3p14,2'de yoğunlaşmaktadır. Bilindiği üzere bu bölgede tümör süppresör aday gen olarak FHIT(Fragile Histidine Triad) lokalizedir. Bu konudaki çalışmalar; FHIT geninin FRA3B'de lokalize olduğunu ve bu genin aşırı ekspresyonu ve

heterozigosit kaybı sonucunda multipl neoplazilere neden olabileceği belirtilmektedir(12, 13). Burkitt lenfoması, prostat, endometrial, Squamous cell, hepatosellüler karsinom vakalarında hem heterozigosit kaybı hemde aşırı FHIT gen ekspresyonu gözlenmiştir. Hepatosellüler karsinomlu hastaların sitogenetik incelemesinde 3p'de yapısal çeşitlilik gözlenmiştir. Translokasyon ve delesyonların neden olduğu bu çeşitlilik YAC850A6 probu kullanılarak yapılan FISH(Fluoresans İn Situ Hybridizasyon) çalışmasında da aşırı FHIT gen ekspresyonunda ilgili probun, hücrelerde FHIT gen lokusuna hibridize olduğu gözlenmiştir(11, 25, 26, 27).

Çalışmamızda periferik kan kültürlerinin tamamı başarılı olurken, solid tümör hücre kültürlerinde, RCC ve CIN'li olgular dışında başarı sağlanamadı. Bu nedenle solid tümör hücrelerinde gözlenen frajil bölgeler tablo-1'de verilmesine rağmen, istatistiksel değerlendirmeye dahil edilmedi. Kanserli 28 birey ile kontrol grubu olarak 30 sağlıklı bireyin periferik kan metafaz plaklarında gözlenen frajil bölgeler arasındaki farkın, ki-kare testiyle anlamlı olduğu saptandı($\chi^2=44.8$, $P<0.01$). Fajil bölgelerin gözlenme sıklığı açısından kontrol ve çalışma grubu arasındaki fark anlamlı bulunarak, frajil bölge sayısındaki artış ile kanserleşme arasında doğru orantılı bir ilişki olduğu saptanmıştır.

Kolon, rektum, baş-boyun ve meme kanserli olgularda yapılan çalışmalar daha sık olarak 2q frajil bölge saptanmıştır. Bu bölgede mismatch tamir mekanizmasından sorumlu hPMS1 geni lokalizedir. Yine moleküler mekanizması en iyi aydınlatılan kolon ve rektum kanserlerinde 5q'da frajil bölge gözlenmesi, bu bölgede hücre adezyonundan sorumlu APC ve fonksiyonu henüz bilinmeyen MCC tümör süppressör genlerinin bulunması önemli bir göstergedir(10, 17, 24). Yine başka bir çalışma grubunun familyal kökenli kolon ve böbrek kanserli

vakalarda 2p, 2q, 3p'de frajil bölge gözlenmiştir. Bu konuda yapılan moleküler çalışmalar, ailesel kolon kanserlerinin oluşumundan sorumlu olduğu bilinen DNA mismatch tamir genlerinden MSH2 2p'de, hPMS1 2q'da ve MLH1'in 3p'de lokalize olduğu saptanmıştır(29). Bu bulgulardan yola çıkarak frajil bölgelerin, özellikle ailesel kökenli kanserlerde kromozomal instabilite çalışmalarında diagnostik amaçlı kullanılabilceği düşünülmektedir.

Yapılan bir çalışmada hematolojik kanserli olguların kemik iliğinde, özellikle 5q, 7q'da koplamar ve karyotipik anormalliklere rastlanmaktadır(24). Yaptığımız çalışmada kanserli olgularda frajil bölgelerin 5q, 4q, 7q, 2q, 1q ve 3p'de yoğunluğu gözleendi. Bu açıdan araştırma grubumuzda 5q ve 7q'da saptanan frajil bölgelerin önemli bir bulgu olabileceği düşündürmektedir.

Genel olarak çalışma grubumuzda, literatürle uygunluk gösteren 2q, 5q'deki frajil bölgelere daha sık rastlanmıştır. Yine çalışmaların çoğunda kontrol grubu olan normal populasyondaki farjil bölgelerin görülmeye sıklığının çalışmamızdaki frajil bölgelerle(1q, 2q, 3q, 13q) örtüşlüğü saptandı(16).

Çalışmamızda 5q'deki frajil bölge %26,22 sıklıkla ilk sırayı alırken, 3p'deki frajil bölgenin %4,37 ile beşinci sırayı aldığı saptandı. Çalışma grubumuzda tesbit ettiğimiz frajil bölgeler, bir çok çalışmalarındaki frajil bölge görülmeye sıklığı oranını açısından farklılık göstermiştir. Yapılan bir çok çalışmada 3p frajil bölge daha sık görülürken, çalışmamızda 5q'daki frajil bölgeye sık rastlanmıştır. Yapılan literatür taramasında, diğer çalışmalarında homojen ve solid doku tümör olgularında çalışılması, çalışmamızda ise hematolojik malignite olgularının değerlendirilmeye alınmasının, 5q'deki frajil bölgenin daha sık rastlanmasına neden olduğunu düşünmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Glover TW, and Stein CK, "Chromosome breakage and recombination at fragile sites." Am.J.Hum.Genet. 1988; 43: 265-273
- 2- Hecht F, "Oncogene update" Cancer-Genet-Cytogenet. 1988; 31: 142-143
- 3- Molenaar WM, Van Den Berg E, Dolfijn A. C, et al. "Cytogenetics of fine needle aspiration biopsies of sarcomas." Cancer-Genet-Cytogenet 1995; 84: 27-31
- 4- Watabane S, Furuya T, Ochi H, "Chromosome fragile sites for cancer research." Molecular biology of cancer genes. 1990; P24-44
- 5- Knudson A. G. "Hereditary cancer, oncogenes and antioncogenes" Cancer Res. 1985; 45: 1437-1443
- 6- Sabaorian MH, Ashfaq R, Vandersteen hoven JJ, and Schneider N.R, "Cytogenetics as an Adjunct in Establishing a Definitive Diagnosis of Synovial Sarcoma by Fine-Needle Aspiration" American Cancer Society 1997; 187- 192

- 7- Fletcher J A, Koza kewich H P, Hoffer F A,Lage J M, Weidner N, Tepper R, "Diagnostic relevance of clonal cytogenetic aberrations in malignant soft tissue tumors." *N.Engl J Med.* 1991; 324: 436-43
- 8- Le Beau MM, "Chromosomal fragile sites and cancer specific rearrangements" *Blood* 1986; 4: 849-858
- 9- Leonard JC. and Leonard RC, "Comparison of fragility at 3p14 in lymphocytes in small cell lung cancer patients, other cancer patients and normal controls" *Am.J.Human Genet* 1988; 43; A27-0105
- 10- Ribas M, Miro R, Gelabert A, Egocue J "Chromosome instability in lymphocytes from two patients affected by three sequential primary cancers: the role of fragile sites" *Cancer Genet Cytogenet* 1999; Apr 15; 110(2): 133-135
- 11- Latil A, Bieche I, Fournier G, et al "Molecular analysis of the FHIT gene in human prostate cancer" *Oncogene* 1998 ; Apr.9; 16(14): 1863-1868.
- 12- Tanito K, Hayashi S, Tsuchiya E, et al "Abnormalities of the FHIT gene in human oral carcinogenesis." *Br.J.Cancer* 2000 Feb; 82(4): 838-843
- 13- Siprashvili Z, Sozzi G, Barnes LD, et al. "Replacement of Fhit in cancer cells suppresses tumorigenicity." *Proc. Natl. Acad Sci USA*.1997; Dec 9; 94(25): 1377
- 14- De Brackeleer M, "Fragile sites and structural rearrangements in cancer." *Hum.Genet* 1985; 69(2), 112-116
- 15- Hecht F "Solid Tumor Breakpoint Update" *Cancer-Genet-Cytogenet.* .1988; 31: 129-131
- 16- Leonard JC, Leonard RC, "Comparison of fragility at 3p14 in lymphocytes in small cell lung cancer patients ,other cancer patients ve normal controls." *Am.J.Human Genet* 1988; 43: A27(0105)
- 17- Mitelman F, Kaneko Y, and Trent J. "Report of The Committee on Chromosome Changes in Neoplasia" *Cytogenet, Cell Genet.*, 1991; 58, 1053-1079
- 18- Yunis JJ, and Soreng A. L "Constitutive Fragile Sites and Cancer" *Science* . 1984; 226: 1199-1209
- 19- Rooney DE, and Czepulkowski B.H "Human Cytogenetic" New York. Oxford University press Volume II, 1992; P, 155-185
- 20- Muray RK, Mayes PA, Granner DK, and Rodwel VW "Harper'in Biyokimyası" İstanbul 22. Basım, Barış Kitabevi, 1990; S, 818-835.
- 21- 21-Altungöz O. "İnsan Leiyomiyom ve Liposarkom Olgularında Bölgesel Kromozom Kopya Sayısı Dizensizliklerinin Sitogenetik, Moleküler Sitogenetik ve Moleküler Yaklaşımların Kombine kullanımı ile Saptanması ve Karakterize Edilmesi" (1997) doktora tezi, İzmir.
- 22- Bruce A, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K "Molecular Biology of the cell" Third edition New York &London. Garland Publishing,1994; P. 1281-1291
- 23- Hecht F. "Fragile Sites Update" *Cancer -Genet-Cytogenet* 1988; 31; 125-128
- 24- Mitelman F. "Human Chromosome, Cancer, Cytogenetic" Second edition Avery A. Sandberg. ELSEVIER, 1994; 753-789
- 25- Yuan BZ, Keck-Waggoner C, Zimonjic DB, et al "Alterations of the FHIT gene in human hepatocellular carcinoma." *Cancer Res* 2000 Feb 15; 60(4): 1049-53.
- 26- Ferrer M, Lopez-Borges S, Lazo PA "Expression of aberrant functional and nonfunctional transcripts of the FHIT gene in Burkitt's lymphomas" 1999; May; 25(1): 55-63
- 27- Hilgers W, Koerkamp BG, Geraads J, et al. "Genomic FHIT analysis in RER(+) and RER(-) adenocarcinomas of the pancreas" *Genes Chromosomes Cancer*"2000; Mar; 27(3): 239-43
- 28- Robbins SL., Kumar V. And Cotran R.S. "Pathologic Basic of Disease" 5.th edition 1995 (p,172-195)
- 29- Strachan T. and Read PA "Human Molecular Genetics" first edition 1996 (P, 457-475)