



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**İNVAZİV OLMAYAN DÜŞÜK MALİGNİTE
POTANSİYELLİ MESANE TÜMÖRLERİYLE, İNVAZİV
YÜKSEK MALİGNİTE DERECELİ TÜMÖRLERİN
GENETİK AÇIDAN FARKLILIKLARI**

**Dr. Deniz ABAT
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Zühtü TANSUĞ**

ADANA – 2011



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**İNVAZİV OLMAYAN DÜŞÜK MALİGNİTE
POTANSİYELLİ MESANE TÜMÖRLERİYLE, İNVAZİV
YÜKSEK MALİGNİTE DERECELİ TÜMÖRLERİN
GENETİK AÇIDAN FARKLILIKLARI**

**Dr. Deniz ABAT
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Zühtü TANSUĞ**

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma Fonu TF2009LTP45 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

ADANA – 2011

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TABLO LİSTESİ.....	III
ŞEKİL LİSTESİ.....	IV
KISALTMA LİSTESİ.....	V
ÖZET.....	VII
ABSTRACT	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Etiyoloji	2
2.2. Tanı.....	2
2.2.1. Semptomlar	2
2.2.2. Radyoloji.....	2
2.2.3. Sistoskopi.....	3
2.3. Evreleme	3
2.3.1. Patolojik Evreleme	3
2.4. Patoloji	5
2.4.1. Tümör Derecesi	5
2.4.2. Tümör Histolojisi.....	6
2.5. Tümör Genetiği.....	8
2.6. Tedavi.....	13
2.6.1. Kasa İnvaze Olmayan Hastalık.....	13
2.6.2. Kasa İnvaze Mesane Kanseri.....	14
2.6.2.1. Neoadjuvan Kemoterapi.....	14
2.6.2.2. Radikal Sistektomi.....	14
2.6.2.3. Mesane Koruyucu Tedavi.....	15
2.6.2.4. Adjuvan Kemoterapi.....	15
2.6.2.5. Metastatik Hastalık.....	16
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	16
3.1. Araç ve Gereçler.....	16
3.1.1. Kimyasal Malzemeler.....	17
3.2. Örneklerin Sağlanması İçin Kullanılan Yöntemler.....	19
3.3. Sitogenetik Çalışmalar.....	19
3.3.1. Mesane Dokusu Materyali Örneklerinden Kromozom Analizi.....	19
3.3.1.1. Kan Kültürünün Yapılması.....	
3.3.1.2. Preparatların GTG (G-bands by Trypsin using Giemsa) Bantlama Yöntemiyle Boyanması.....	23
3.3.2. Moleküler Sitogenetik Çalışmalar.....	24
3.3.2.1. Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Yöntemi.....	24
3.3.2.2. FISH Değerlendirmesi.....	26
3.4. İstatistiksel Analiz.....	26
4. BULGULAR.....	27
4.1. Sitogenetik Bulgular.....	37

4.1.1. Kan Dokularında Saptanan Yapısal Düzensizlikler.....	47
4.1.2. Kanserli Mesane Dokularında Saptanan Yapısal Düzensizlikler.....	48
4.2. Moleküler Sitogenetik Bulgular.....	58
5. TARTIŞMA.....	73
5.1. Sitogenetik.....	73
5.2. Moleküler Sitogenetik.....	77
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	79
7. KAYNAKLAR	80
8. EKLER.....	85
9. ÖZGEÇMİŞ	86

TABLO LİSTESİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1 Transport ve yıkama medyumunun hazırlanışı.....	20
Tablo 2 Seyreltme medyumunun hazırlanışı.....	21
Tablo 3 Chang In Situ medyumunun hazırlanışı (kültür medyumı olarak kullanılmıştır).....	21
Tablo 4 Düşük dereceli tümörü olanlarla yüksek derecelilerin karşılaştırılması.....	28
Tablo 5 Hastalara ait demografik bilgiler, kan ve doku kültürlerinin sitogenetik ve moleküler sitogenetik analiz sonrası saptanan yapısal ve sayısal kromozomal düzensizlikler.....	29
Tablo 6 Kromozom bozukluğunun sınır değerlere göre spesifitesi ve sensitivitesi.....	38
Tablo 7 Hasta ve kontrol grubunda elde edilen hücrelerin karyotip analiz sonuçları`.....	39
Tablo 8 Kan ve mesane dokusunda incelenen hücrelerde saptanan yapısal sitogenetik düzensizlikler	49
Tablo 9 Kan ve mesane dokusunda saptanan saptanan sayısal sitogenetik düzensizlikler.....	53
Tablo 10. Her bir kromozomda görülen yapısal ve sayısal düzensizliklerin sıklığı.....	55

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Mitotik hücre döngüsü	9
Şekil 2. Yüzeyel ve invaziv mesane kanserinde gözlenen farklı genetik yollar	11
Şekil 3. Kromozom bozukluğunun sınır değerlerini gösteren ROC eğrisi.....	37
Şekil 4. Yapısal bozuklukların kromozom bölgeleri üzerinde dağılımı	58
Şekil 5. FISH görüntüleri.....	59
Şekil 6. Mesane dokusunda saptanan yapısal ve sayısal bozuklukların karyotip görüntüleri	60
Şekil 7. Kan dokusunda saptanan yapısal ve sayısal bozuklukların mikroskopik görüntüleri.....	65

KISALTMA LİSTESİ

BCG	: Bacillus Calmette-Guerin
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
chrB	: Kromozom Kırığı
chtb	: Tek Kromatit Kırığı
CIS	: Karsinoma in situ
del	: Delesyon
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	: Etilen diamine tetra asetik asit
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
FGFR3	: Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptör 3
FISH	: Flüoresan in Situ Hibridizasyon
fra	: Frajilite
GTG	: Giemsa-Trypsin-Giemsa
GWAS	: Geniş Genom Çalışması
HLA	: İnsan Lökosit Antijeni
hsr	: Homojen Boyanan Bölgeler
ISCN	: Uluslararası İnsan Sitogenetik İsimlendirme Sistemi
LOH	: Heterozigot Kaybı
MMP-9	: Matriks Metalloproteinaz-9
MR	: Manyetik Rezonans
NMP-22	: Nükleer Matriks Protein – 22
PET/CT	: Pozitron Emisyon Tomografisi
PUNLMP	: Düşük Malignite Potansiyeline Sahip Papiller Ürotelyal Neoplazi
RB	: Retinoblastoma
RIZ	: Retinoblastomla İlişkili Çinko Geni
SCC	: Skuamöz Hücreli Karsinom
S Fazı	: Sentez Fazı
SNPs	: Tek Nükleotid Polimorfizmleri
t	: Translokasyon

TCC	: Değişici Hücveli Karsinom
TIBDAM	: Tıbbi Bilimler Deneyisel Araştırma ve Uygulama Merkezi
TSP-1	: Thrombospondin-1
TUR	: Trans üretral rezeksiyon
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
5 – ALA	: 5 – Aminolevulinik Asit

ÖZET

İnvaziv Olmayan Düşük Malignite Potansiyelli Mesane Tümörleriyle, İnvaziv Yüksek Malignite Dereceli Tümörlerin Genetik Açıdan Farklılıkları

Amaç: Bu çalışmada, invaziv olmayan düşük dereceli tümörler ile invaziv yüksek dereceli tümörler arasındaki genetik farklılıkların, sitogenetik ve moleküler sitogenetik yöntemlerle gösterilmesi amaçlandı.

Yöntem ve Gereçler: Mayıs 2009 ile Mayıs 2010 tarihleri arasında 34 mesane kanserli hastadan eş zamanlı alınan mesane kanser dokusu ile kan örneklerinin kültürü yapıldı. Kan ve doku kültürlerinden üretilen hücrelerin kromozomlarında oluşan yapısal ve sayısal değişikliklerin tespiti için sitogenetik yöntemler kullanıldı. Sağlıklı olduğu bilinen aynı sayıda kontrol grubunun kan kültürleri de kromozom hasarları bakımından incelendi. Ayrıca, hastaların kanserli mesane doku örnekleri p16 ve p53 genlerinin analizi FISH yöntemiyle yapıldı. Kontrol grubu ile hastaların kromozom düzensizlikleri açısından karşılaştırıldı. Ayrıca, histopatolojik incelemeye göre hastalar düşük dereceli ve yüksek dereceli tümörü olanlar olmak üzere iki ayrı gruba ayrıldı. Yaş, vücut kitle indeksi, sigara içme süresi, kromozomal düzensizlikleri, p16 ve p53 değişimleri yönünden karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Yaş ortalaması 60,6±14,2 (26–81) yıl olan 30'u (%88,2) erkek ve 4'ü (%11,2) kadın toplam 34 mesane kanserli hastanın ortalama kromozom düzensizlik sayısı [20±36,2 (0–182)] ile kontrol grubu [1,3±1,6 (0–5)] karşılaştırıldığında bu fark mesane kanserli hastalarda anlamlı şekilde yüksekti (p=0,0001). Histopatolojik inceleme sonrası 11 (%32,3) hastada, düşük dereceli papiller ürotelyal karsinom, 22 (%64,7) hastada yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinom ve 1 (%3) hastada CIS (karsinoma in situ) tümör olduğu saptandı. Düşük dereceli ve yüksek dereceli tümörü olan hastalarımızın yaş, vücut kitle indeksi ve sigara içme süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (p=0,971, p=0,106, p=0,561). Bu iki grup, kromozom düzensizlikleri açısından karşılaştırıldığında aralarındaki farkın anlamlı olmadığı görüldü (p=0,714). Ancak, p16 ve p53 gen değişiklikleri açısından değerlendirildiğinde tümör derecesi yüksek olanlarda gen hasarlarının önemli derecede yüksek olduğu görüldü (p=0,002 ve p=0,039). En çok yapısal düzensizlikler 1, 2, 3, 5, 9 ve 15. kromozomlarda, sayısal düzensizlikler ise 8, 17, 21, 22, X ve Y kromozomlarında gözlemlendi. Bu düzensizlikler arasında özellikle 1q21, 1q32, 2q22, 2q32–35, 3p21, 5q31, 5q33, 9p11 ve 9q32 bölgelerinde bozuklukların daha sık görüldüğü tespit edildi.

Sonuç: Mesane kanserli hastalarımızın etiyolojisinde, 1q21, 1q32, 2q22, 2q32–35, 3p21, 5q31, 5q33, 9p11 ve 9q32 kromozom bölgelerinin ve 8, 17, 21, 22, X ve Y kromozomlardaki sayısal düzensizliklerin önemli olduğu ortaya çıkmaktadır. Bununla birlikte, p16 ve p53 genlerindeki hasarın yüksekliği ile tümörün yüksek dereceli olması arasında paralellik olduğu rapor edildi. Buradan da bu genlere bakılarak hastaların prognozunun tahmin edilebileceğini söyleyebiliriz.

Anahtar Sözcükler: kromozom düzensizlikleri mesane kanseri, , p16, p53.

ABSTRACT

Genetic Differences Between Low Grade and High Grade Urothelial Cancer in Bladder

Purpose: Comparing the genetic differences between low grade and high grade of urethelial cancer in bladder by using cytogenetic and molecular cytogenetic methods.

Method and Materials: Between May 2009 to May 2010, blood and tissue samples were collected from 34 patients who have bladder cancer. Structural and numerical abnormalities of chromosomes were detected in blood and tissue samples from both patients and control groups with the method of cytogenetic. p16 and p53 genes were also identified in the tumor samples of the bladder by using FISH methods. The numbers of chromosomal abnormalities were compared for patients and control group. We divided the patients into two groups according to histopathological features. The patients with low grade urothelial cancer composed the first group and with high grade urothelial cancer composed the second group. We compared the two groups according to age, body mass index, smoking time, number of chromosomal abnormalities and differences in p16 and p53 genes and than assessed with statistical methods.

Findings: Thirty (88,2%) male and four (11,2%) female patients with bladder cancer recruited the study and the mean age was $60,6 \pm 14,2$ (26 – 81) year. The mean number of chromosomal abnormality in patients with bladder cancer and control group were $20 \pm 36,2$ (0 – 182), $1,3 \pm 1,6$ (0 – 5), respectively and difference was significant ($p= 0,0001$). Histopathologic examination reveals that 11 (32,3%) patients had low grade urothelial cancer, 22 (64,7%) patients had high grade urothelial cancer and 1(3%) patient had carcinoma in situ. The patient with CIS was assessed as a high grade and added the second group. There were no statistically differences between the first group which including the patients with low grade papillary urothelial cancer and second group with high grade according to age, body mass index and smoking time ($p=0,971$, $p=0,106$, $p=0,561$). There was also no different between the two groups according to number of chromosomal abnormalities ($p=0,714$), however when we considered the changes of the p16 and p53 genes differences were significant ($p=0,002$ and $p=0,039$). The most structural abnormalities were seen in chromosome 1, 2, 3, 5, 9 and 15, and numerical in chromosome 8, 17, 21, 22, X and Y. Regions of 1q21, 1q32, 2q22, 2q32 – 35, 3p21, 5q31, 5q33, 9p11, 9q32 were detected as a most affected areas.

Result: The most structural abnormalities were seen in chromosome 1, 2, 3, 5, 9 and 15, and numerical in chromosome 8, 17, 21, 22, X and Y. Regions of 1q21, 1q32, 2q22, 2q32 – 35, 3p21, 5q31, 5q33, 9p11, 9q32 were detected as a most affected areas. The region of 5q31 may be research adversely. Changing of p16 and p53 genes were more frequent detected in patients with high grade papillary urotelial cancer.

Key Words: bladder cancer, chromosomal abnormalities, p16, p53

1. GİRİŞ

Mesane kanseri genitoüriner sistem tümörleri içinde en sık görülen ikinci kanser türüdür.¹ Dünyada tüm kanser türleri içinde erkeklerde 4. kadınlarda ise 10. sırada görülmektedir.² Ülkemizde ise Kanser İzlem ve Denetim Merkezi verilerine göre 2006 yılında İzmir’de yapılan değerlendirmede erkekler arasında en sık görülen 3. kanserdir ve erkeklerde insidansı yüzbinde 27,5 iken kadınlarda yüzbinde 3,8 olduğu rapor edilmiştir.³ Mesane kanseri görülme oranı erkeklerde kadınlara oranla 3 kat daha fazladır.⁴ Tekrarlayan tümörlerin ve komplikasyonlarının tedavisi için yaşam boyu takip gerektirmesi nedeniyle mesane kanseri ciddi bir ekonomik yük oluşturmaktadır.

Yeni tanı alan mesane kanseri olgularının yaklaşık %70’i kasa invaze olmayan hastalık şeklindedir.⁵ Endoskopik ve intravezikal tedavilere rağmen %50 – 70’i tekrar eder ve %10 – 30’u kasa invaze hale gelir. Rekürrenslerin çoğu 5 yıl içinde görülür. Yüksek dereceli lezyonlar tümör progresyonunda yüksek riske sahiptirler. Genel popülasyonda mesane kanserinin düşük prevalansından dolayı tarama programı önerilmemektedir.⁴

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Etiyoloji

Mesane kanseri etiyolojisinde;

- Sigara
- Genellikle boya fabrikalarında kullanılan anilin boyaları
- Siklofosfamid
- Benzidin, beta naftilamin ve 4 aminobifenil gibi aromatik aminler
- İçme Sularındaki yüksek arsenik seviyeleri
- Pelvik radyoterapi
- Kronik idrar yolu enfeksiyonu veya kronik irritasyon
- Schistosoma haematobium parazitinin neden olduğu mesane enfeksiyonu gibi faktörler yer alır.^{1,4,6}

2.2. Tanı

2.2.1. Semptomlar

Hematüri mesane kanserinde en sık bulgudur. Sık sık idrara gitme, dizüri gibi irritatif işeme semptomları da uyarıcı olmalıdır.⁶ Hastalarda hidronefrozla ilişkili olarak yan ağrısı veya diğer semptomlar görülebilir. Kilo kaybı, kemik ağrıları, alt ekstremitelerde ödem görülmesi daha çok ileri evredeki bir hastalığı düşündürür.¹

2.2.2. Radyoloji

Mesane kanserli hastalarda tedavi planını belirlemek için dikkatli bir evreleme önemlidir. Bu evrelemede radyolojik görüntülemenin önemli bir yeri vardır. Radyolojik yöntemler içinde ulaşılması en kolay ve en ucuz olan ultrasonografinin yanında klinik evreleme içinde kullanılabilecek bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans (MR), volumetrik MR veya BT temelinde mesanenin 3 boyutlu görüntüsünün elde edildiği sanal sistoskopi ve pozitron emisyon tomografisi (PET/CT) vardır.^{7,8}

2.2.3. Sistoskopi

Sistoskopi mesane kanseri tanısı için en önemli muayene şekillerinden biridir. Ancak yüzeysel veya karsinoma in situ (CIS) gibi lezyonlar klasik sistoskopi sırasında atlanabilir. Bu tip tümörleri saptayabilmek için 5 – aminolevulinik asit (5 – ALA) ile yapılan flüoresan sistoskopi geliştirilmiştir.

2.3. Evreleme

2.3.1. Patolojik Evreleme

Mesane kanseri için TNM sınıflaması aşağıda gösterilmiştir.⁶

Primer Tümör (T)

- TX :Primer tümör değerlendirilemiyor.
- T0: Primer tümöre ait kanıt yok.
- Ta :İnvazif olmayan papiller karsinom.
- Tis :Karsinoma in situ.
- T1 :Tümör epitel altı dokuyu tutmuş.
- T2 :Tümör kas dokusunu (muskularis propria) tutmuş.
- T2a: Tümör yüzeysel kas (iç yarı) dokusunu tutmuş.
- T2b: Tümör derin kas (dış yarı) dokusunu tutmuş.
- T3: Tümör perivezikal dokuyu tutmuş.
- T3a: Mikroskopik olarak.
- T3b: Makroskopik olarak (ekstravezikal kitle).
- T4: Tümör; prostat, uterus, vajen, pelvik duvar, abdominal duvar gibi yapıları tutmuş.
- T4a: Tümör prostat, uterus veya vajeni tutmuş.
- T4b: Tümör pelvik duvar veya abdominal duvarı tutmuş.

N – Lenf Nodları

- NX:Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor.
- N0 :Bölgesel lenf nodu metastazı yok.
- N1 : Gerçek pelviste tek bir bölgesel lenf nodu metastazı (hipogastrik, obturator, eksternal iliak veya presakral lenf nodu).

- N2 : Gerçek pelviste birden fazla bölgesel lenf nodunda metastaz (hipogastrik, obturator, eksternal iliak veya presakral lenf nodu).
- N3 : Lenf nodu metastazları ana iliak lenf nodlarında.

M – Uzak Metastazlar

- MX:Uzak metastazlar değerlendirilemiyor.
- M0: Uzak metastaz yok.
- M1:Uzak metastazlar.

Daha önceden kullanılan yüzeysel terimi artık kullanılmamaktadır. Bunun yerine kasa invaze olmayan hastalık terimi kullanılmaktadır. Kasa invaze olmayan tümörler muskularis propria'yı invaze etmezler. Bunlar mukozada sınırlı kalan lezyonlar (Ta ve CIS) ve lamina propriayı invaze eden lezyonlardır (T1). Karsinoma in situ (CIS veya Tis) yüzeysel, yüksek dereceli, invaziv olmayan mesane kanseridir ve eğer tedavi edilmezse 5 yıl içinde çok yüksek oranda rekürrens ve progresyon gösterir.⁴

Organa sınırlı hastalık (T2a ve T2b), mesane duvarını aşmış perivezikal yağa uzanan hastalıktan (T3) daha iyi prognoza sahiptir. Prostatı invaze eden ürotelyal karsinomlar (T4a) klinik açıdan problemli olgulardır ve genellikle birden çok tedavi modeline ihtiyaç duyulur. Çalışmalar yüksek evreli hastalıklarda sağ kalımın da kötüleştiğini göstermiştir. Lenf nodu tutulumunun insidansı primer mesane tümörünün patolojik evresinin artmasıyla artmaktadır ve 5 yıllık sağkalım (%34) lenf nodu pozitif hastalarda belirgin şekilde kötüdür. TNM sınıflamasına göre ana iliak arterler ikincil drenaj bölgeleridir ve metastaz olarak değerlendirilmemelidir. Eski sınıflama sistemine göre gerçek pelvisin dışındaki lenf nodları uzak metastaz olarak değerlendirilmekteydi. Primer lenf nodları; eksternal iliak, hipogastrik, obturator ve presakral lenf nodlarıdır. İkincil lenf nodları; ana iliak lenf nodlarıdır ve primer lenf nodlarının drenaj bölgesidir. Leissner ve ark. mesane kanserinde lenfatik yayılım haritasını çıkarmışlardır ve en sık lenf nodu metastazının obturator boşlukta ve komşu iliak damarlar çevresinde olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca lenf nodu metastazlarının %16'sının aortik bifurkasyonun üzerinde, %8'inin presakral bölgede olduğunu belirlemişlerdir.⁴

TNM sınıflaması rekürrens riskini ve sağkalım sonuçlarını tahmin etmede yararlı bilgiler sağlamaktadır, ancak tümör biyolojisinin ve hastaların özelliklerinin heterojen olması her bir TNM grubu içinde belirgin farklılıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. TNM sınıflaması hastanın sonuçlarını etkileyecek yaş, cinsiyet, ek hastalık

ve önceden alınmış tedavi gibi faktörleri içermemektedir. Kasa invaze olmayan hastalıkta rekürrens ve progresyonu tahmin etmede hastalığın evresi, patolojik evre, multifokal olma, 3 ay içinde rekürrens, CIS varlığı ve ilk tümörün boyutu (> 3 cm) gibi güvenilir birkaç faktör tanımlanmıştır. Klinik evrelemenin yetersizliği, T1 evrede olan hastaların yaklaşık üçte birinin radikal sistektomi sırasında aslında daha ileri bir evrede olması, ayrıca kasa invaze tümörlerin yaklaşık %50 – 60'ının organa sınırlı olmasıyla gösterilmiştir. Lenfovasküler invazyon ve farklı histolojik tipler (mikropapiller veya küçük hücreli karsinom gibi) sağkalım süresini olumsuz etkileyebilmektedir. Kişisel hataları engellemek için nomogramların kullanımı faydalı olacaktır.⁴

TNM sınıflaması faydalı bilgiler sağlamakla birlikte, hastaların aşırı tedaviye maruz kalmamaları için düşük rekürrens riski olanları, daha agresif tedavi gerektiren progresyon riski yüksek hastalardan ayırabilmek için daha iyi değerlendirme kriterlerine ihtiyaç vardır.

2.4. Patoloji

2.4.1. Tümör Derecesi

Ürotelyal neoplazilerde en sık kullanılan sınıflandırma sistemi Dünya Sağlık Örgütü'nün 1973 yılında yayınlamış olduğu sınıflandırma sistemiydi. 2004 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Uluslararası Ürolojik Patologlar Birliği papiller neoplaziler için sınıflandırma sistemini revize ettiler.

1973 ve 2004 WHO Sınıflaması

1973 WHO sınıflaması

- Ürotelyal papillom
- Derece 1: İyi diferansiye
- Derece 2: Orta diferansiye
- Derece 3: Kötü diferansiye

2004 WHO sınıflaması

- Ürotelyal papillom
- Düşük malignite potansiyeline sahip papiller ürotelyal neoplazi (PUNLMP)

- Düşük dereceli papiller ürotelyal karsinom
- Yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinom

Papillom; ince fibrovasküler bir çekirdeğin üzerini örten normal ürotelyumun oluşturduğu yapıya denir. PUNLMP papiller olarak gelişmiş fibrovasküler bir yapının üzerini normalden daha kalın olacak şekilde örten prolifer olmuştur ürotelyumun oluşturduğu yapıya verilen isimdir. PUNLMP'nin önemsenmeyecek kadar az progresyon riski vardır, tamamen iyi huylu değildir ve tekrarlama riski vardır. Daha önceki sınıflamada Derece 1'lerin hepsi ve Derece 2'lerin bir kısmı yeni sınıflama sisteminde düşük dereceli papiller ürotelyal karsinom olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca eski sınıflamaya göre Derece 2'lerin bir kısmı ve Derece 3'lerin hepsi yeni sınıflama sisteminde yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinom olarak sınıflandırılmıştır.⁶

2.4.2. Tümör Histolojisi⁹

Son yıllarda birkaç değişik morfolojide tümör tipi tanımlanmıştır. Değişici hücreli karsinom (TCC) mesane kanserlerinin yaklaşık %90'ını oluşturmakla birlikte diğer histolojik tipleri agresif davranışları ve alternatif tedavi gerektirmeleri nedeniyle tanımlanmalıdır. Tamamen TCC olmayan tümörler daha agresif davranışlıdır, tanı anında yüksek tümör evresindedir ve kötü yaşam beklentisine sahiptirler.

TCC'lerin yaklaşık %10'u glandular odak içerir ve yaklaşık %60'ı fokal skuamöz diferansiyasyon gösterir. Glandular diferansiyasyon genellikle küçük tübüler veya gland benzeri boşluklar şeklindeyken, skuamöz diferansiyasyon hücre içi keratin ve hücreler arası köprüler oluşturan skuamöz üretimi şeklindedir ve skuamöz diferansiyasyon tümörün derecesini yansıtır. Skuamöz veya glandular diferansiyasyonun prognostik önemi net olarak belli değildir. Karışık histolojik komponent tipleri; %40 skuamöz, %18 glandular, %11 sarkomatoid, %10 mikropapiller, %9 küçük hücreli ve %1 plazmasitoiddir ve ayrıca %11'i birden çok karışık histolojik komponent içerir. Bu tip histolojisi olan hastalar daha agresif tedaviden fayda görebilir.

Skuamöz hücreli karsinom dünya genelinde mesane kanserli erkek hastaların %1,3'ünde, kadın hastaların ise %3,4'ünde görülür. Sigara içimi SCC içinde önemli risk faktörlerindendir. Schistosomalar insan ve hayvanların kanında yaşayabilen trematodlardır ve insan enfeksiyonlarının çoğundan sorumlu S. mansoni, S.

haematobium ve S.japonicum olmak üzere üç türü vardır. Mesane kanseriyle S. haematobium'un neden olduğu enfeksiyonun ilişkili olduğunu gösteren çok sayıda yayın vardır. Kronik irritasyon ve inflamasyon hücre döngüsünü arttırarak mutajenik olayların, genotoksik etkilerin ortaya çıkmasını ve inflamatuvar hücrelerden salınan nitrik oksitin etkisiyle karsinogenlerin aktive olmasını sağlamaktadır. S. haematobium ile enfekte olan hastalarda triptofan metabolizmasındaki değişiklikler indican, antranilik asit glukoronid, 3-hidroksiantranilik asit, L-kynurenin gibi bazıları karsinojenik olan metabolitlerin idrarda yüksek konsantrasyonlarda birikmesine neden olur. İmmunolojik değişikliklerde rol oynayabilir. İkincil bakteriyel enfeksiyonlarda nitrozaminler aracılığıyla SCC oluşumunda rol oynayabilirler.

Adenokarsinomlar histolojik olarak tamamen glandüler fenotipte olan ürotelyumdan köken alan kötü huylu neoplazilerdir. Tüm kötü huylu mesane kanserleri içinde adenokarsinomlar %2'den daha az görülürler. Erkeklerde kadınlara göre 2,6 kat daha çok görünür ve 6. dekada pik yapar. Makroskobik olarak bu tümörler ekzofitik, papiller, sesil, ülser, infiltre veya jelatinöz görünümde olabilirler. Histolojik olarak mesanenin saf adenokarsinomları farklı büyüme paterni gösterebilirler. Bunlar; enterik(kolonik), sınıflandırılmayan (NOS), yüzük hücreli, müsinöz, şeffaf hücreli, hepatoid ve karışık tiplerdir. Ayırıcı tanıda metastazı ya da kolorektum veya prostat kaynaklı direk yayılımı göz önünde bulundurmak gerekir. Sekonder tutulumlar mesanenin primer adenokarsinomlarından daha sıktır. Ekstrofil hastalarda adenokarsinom gelişme riski %4,1 ile %7,1 arasındadır. Bu tümörler mesanenin herhangi bir yerinde görülebilmesine rağmen genellikle mesanenin tabanında veya tavanında ortaya çıkarlar. Yüzük hücreli karsinom mukus üreten nadir bir formdur ve mesanede linitis plastica oluşumuna neden olur. Histolojik tipler içinde saf yüzük hücreli karsinom en kötü prognoza sahiptir. Adenokarsinomlarda 5 yıllık beklenen yaşam süresi %31 - %35 oranındadır.

Şeffaf hücreli adenokarsinom mesane kanserlerinin farklı bir varyantıdır ve mezonefrik karsinom olarakta adlandırılır. Nadir görülür, hastalar tipik olarak kadındır ve ortalama görülme yaşı 57 (22 – 83)'dir. Dış görüntüsü spesifik olmamakla birlikte genellikle polipoid, papiller görünümündedir. Histopatolojik olarak tubulo-kistik, papiller ve/veya diffüz tiplerden bir veya daha çoğu görülür. En sık iyi huylu olan nefrojenik adenomla, ayrıca metastatik şeffaf hücreli renal karsinom, servikal veya vajinal şeffaf

hücreli karsinom ve nadiren prostatın adenokarsinomu ile karışabilir. Lezyonlar bazen endometrioizisten ya da Müllerian kanal artığından köken alabilir nadiren ürotelyal displazi ile birlikte olabilir. Bu tümörlerin çoğu ekzofitik büyüme paterni gösterdiğinden erken evrede saptanabilirler ve bu durum göreceli olarak iyi prognoza neden olur. İleri evredeki tümörler ise kötü prognoza sahiptir.

Villöz adenom iyi huylu glandüler neoplazi olup ortalama 65 (23 – 94) yaş civarında görülür. Dış görüntüsü papiller ürotelyal karsinomaya çok benzer. Mikroskopik olarak tümör merkezinde fibrovasküler yapısı olan papiller görünümündedir. Sitokeratin 20 (%100), sitokeratin 7 (%56), karsinoembriyonik antijen (%89), epitelyal membran antijeni (%22) asit müsin periodik asit – Schiff boyası (%78) ile pozitif boyanır.

Küçük hücreli karsinom, ürotelyumdan köken alan malin nöroendokrin neoplazidir ve histolojik olarak pulmoner lezyonlara benzer. Yaklaşık olarak hastaların %56'sı ilk tanı anında metastatiktir. Makroskopik olarak solid, izole, polipoid, ülserasyonun eşlik edebildiği nodüler görünümündedir ve yaygın olarak mesane duvarını infiltre eder. Bu tümörler agresiftir ve 5 yıllık sağ kalım oranı %8 olarak bildirilmiştir.

Paraganglioma mesane duvarındaki paraganglion hücrelerinden köken alan bir neoplazidir. Oldukça nadir görülür. Kadın erkek oranı 1,4:1'dir. Klinik triadı; devamlı ya da paroksizmal hipertansiyon, ara ara görülen masif hematüri ve baş ağrısı, anksiyete, titreme, görme bulanıklığı, terleme, senkop gibi atakların işemeyle ortaya çıkmasıdır. Yıllar sonra metastazların ortaya çıktığı görüldüğünden uzun dönem takip bu hastalara önerilmektedir.

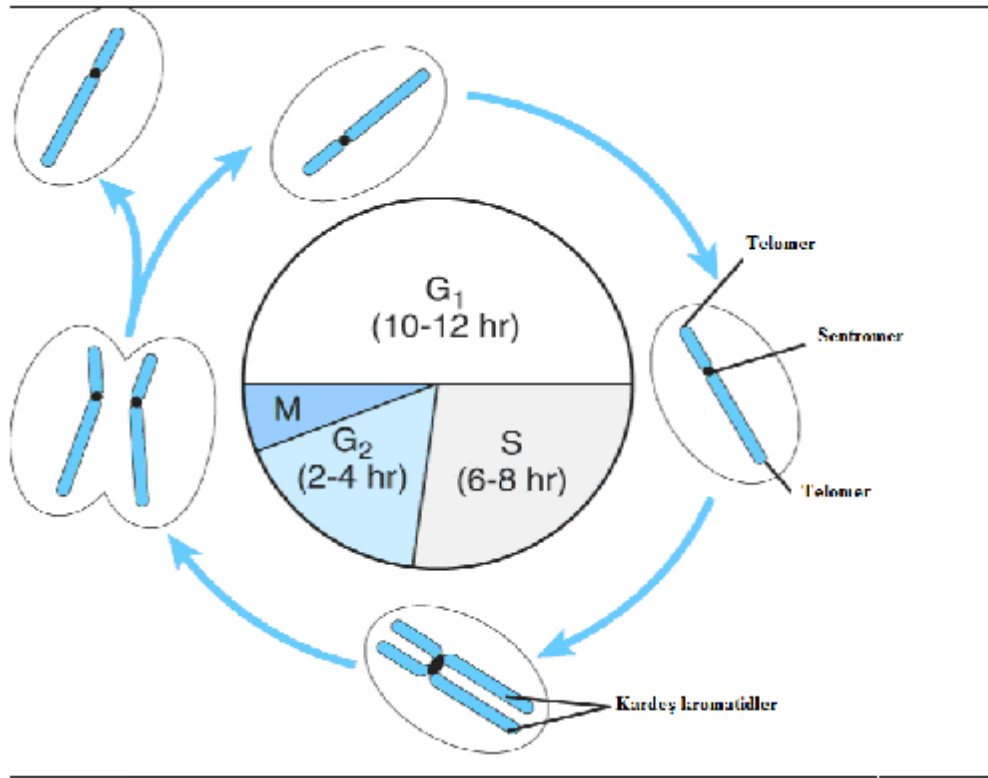
Karsinoid tümör, rabdomyosarkom, leiomyosarkom, anjiyosarkom, osteosarkom, malin fibröz histiyositom, leiomyom, granüler hücreli tümör, nörofibrom, hemanjiom, malin melanom ve lenfoma gibi mesanenin nadir görülen kanser tipleri de mevcuttur.

2.5. Tümör Genetiği

Onkolojik çalışmalarda malin transformasyon olması için genetik değişikliğin olması gerektiği bildirilmiştir.¹⁰ Bu değişikliğe uğrayan genler onkogenler, tümör süpresör genler ve aşırı ifade olan genler olarak temelde 3 gruba ayrılmıştır. Normal çalışan genlerin değişikliğe uğrayarak onkogen haline gelmesi malign fenotipte ürünler üretilmesine ve hücrelerin büyüme kontrolünün normal mekanizmadan kaçmasına

neden olmaktadır. Mesane kanseriyle ilişkili onkogen p21 RAS onkogenidir. Bazı yayınlarda RAS mutasyonunun mesane kanserlerinin %50'sinde bulunduğu rapor edilmiştir.

Aşağıdaki şekilde mitotik hücre döngüsü görülmektedir. Hücreler mitoz ile bölünürken G₁, S, G₂ ve M fazlarından geçerler.¹¹ Bazı genler bu fazlar arasında geçiş sırasında kontrol noktası olarak görev yaparlar. İşte bu tümör süpresör gen dediğimiz genler karsinogeneizde önemli moleküler mekanizmaları yönlendirir ve hücre büyümesini, DNA tamirini veya apoptozisi düzenleyen proteinleri kodlar. Bu genlerde delesyon veya inaktivasyon kontrolsüz büyümeye, hasarlı DNA'sı olan hücrelerde programlı hücre ölümünün olmamasına ve sonuçta genetiği değişmiş klonlarda kontrolsüz proliferasyona neden olur.



Şekil 1. Mitotik hücre döngüsü¹¹

Geleneksel moleküler ve sitogenetik yöntemler kullanarak bazı süpresör gen bölgelerinin mesane kanseri gelişimiyle yakın ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bunlar p53 (kromozom 17p), retinoblastoma (RB) geni (kromozom 13q), p16 ve p19 proteinlerini kodlayan 9p21 bölgesi ve 9. kromozom üzerindeki başka bir bölge 9q 32-33'dür. Ayrıca

1. kromozomun kısa kolunun distal kısmında p73 ve RIZ (retinoblastomla ilişkili çinko geni) gibi tümör süpresör genlerin bulunduğu düşünülmektedir.¹²

p53 geni insan kanserlerinde en sık değişen gendir. p53 hücre proliferasyonunu baskılayan transkriptör faktör olarak rol oynar. DNA'sı hasarlanmış hücreyi hücre döngüsünde DNA replikasyonundan (S fazından) önce apoptozise yönlendirir. Nükleusta deoksiribonükleotid trifosfataz'ın üretimini uyararak DNA hasarının tamirine katkıda bulunur. Hasarlı DNA'nın tamirinde rol oynadığı için p53 mutasyonu genomik instabilite ile ilişkilidir ve daha başka mutasyonların da ortaya çıkmasına neden olur ve sonuçta kanser daha agresif seyreder. p53 anjiogenezin potent inhibitörlerinden biri olan thrombospondin-1 (TSP-1)'in ekspresyonunu uyarır, ancak mutant p53 bunu yapmaz.

Retinoblastom geni (RB) hücrenin G1 fazından sentez (S) fazına geçmesini sağlar. RB' nin genetik delesyon veya mutasyonla inaktivasyonu, hücrenin kontrol olmaksızın G1 den S fazına geçmesine neden olur ve hücre proliferasyonunu uyarır. p15 ve p16 gibi bazı regülatörler, kromozom 9p'nin komşu bölgelerinde protein kodlarlar. Normalde siklin-bağımlı kinaz 4 ve 6 ile kompleks yaparlar ve RB'nin fosforilasyonunu inhibe ederler. p21 ve p27 de RB'nin fosforilasyonunu inhibe ederler. Bu proteinlerdeki değişiklikler RB'nin fosforile olmasına neden olur ve sonuçta G1 den S fazına geçiş olur. Bu yüzden p15, p16, p21, p27 veya RB'yi kodlayan genlerde anormal ekspresyon/fonksiyon malin transformasyona ve tümör progresyonuna yol açar.¹⁰

Karsinojenik genetik mekanizmaların üçüncüsü de büyüme faktörlerini veya reseptörlerini kodlayan normal genlerin amplifikasyonu ya da aşırı ekspresyonudur. Mesane kanseri hücrelerinde Epidermal büyüme faktörü (EGF) reseptörünün anormal ekspresyonu görülür ve bu hücrede agresif biyolojik davranışlara neden olur. EGF reseptör sinyalleri hem büyümeyi uyarır hem de kanser hücresinin motilitesini ve matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ekspresyonunu sağlar, bunlar invazyon ve metastaza neden olur. EGF (ERBB1) ile fonksiyonel ve anatomik ilişkisi olan, büyüme faktör reseptörlerini kodlayan ERBB2 onkogenindeki değişiklikler mesane kanserini de içeren değişik malignitelerle ilişkilidir.¹⁰

Ürotelyal karsinomların 2 ayrı mekanizmayla ortaya çıktığı düşünülmektedir. Düşük dereceli papiller ile invaziv tümör olmak üzere birbirinden belirgin biyolojik davranış ve prognoz farklılığı gösteren 2 ana fenotipik varyant mevcuttur. Düşük dereceli invaziv olmayan tümörlerde HRAS ve fibroblast büyüme faktörü reseptör 3

kodlu replikasyon defekti olan adenoviral parçaları ile mesane kanserli hastaları tedavi etmişler ve intravezikal uygulamanın hastalar tarafından iyi tolere edilebildiğini ve hedeflenen mesane dokusunda vektörlerin saptandığını bildirmişlerdir. Gen tedavisinin başka bir yolu yapılandırılmış virüs ile viral replikasyonun tümörün içinde olmasını sağlayıp tüm tümör kitlesi boyunca virüsün yayılmasını sağlamaktır. Ayrıca parçalanmış tümör hücrelerinden yayılan antijenlerin sistemik antitümör immün yanıtı yol açacağı hipotezi de ortaya atılmıştır.¹⁵

Son zamanlarda üzerinde durulan konulardan biride mesane kanserinin erkenden tanınmasını sağlayacak ve/veya sistoskopi sıklığını azaltacak genetik belirteçlerdir. Mesane kanserinde en sık görülen genetik değişiklikler tümörün derecesine ve evresine bakmaksızın kromozom 9p ve 9q'daki heterozigot kaybıdır (LOH).¹ Diğer kromozomlardaki LOH daha çok yüksek dereceli ve evreli tümörlerde görülür. DNA mikrosatellitler genom boyunca bulunan oldukça polimorfik tekrarlardır ve mikrosatellit instabilitesini ve LOH'yi içeren kanserle ilişkili genetik materyaldeki değişiklikler mikrosatellit belirteçlerle saptanabilir. Güncel, prospektif çok merkezli bir çalışmada mikrosatellit analizinin gelecekteki rekürrensi göstermede güçlü bir belirteç olduğu fakat duyarlılığının günlük pratikte uygulamak için yeterli olmadığı gösterilmiştir. Güncel bir analiz yöntemi küçük nükleotid polimorfizmlerini kullanarak (SNPs) idrardaki DNA'dan genomik instabiliteyi saptamak için geliştirilmiştir. SNP çiplerinin bir seferde 13 ile 20 bölge taraması yapan mikrosatellit analizine göre bir seferde 300 genetik bölgeyi tarayabilmesi moleküler değişiklikleri saptamadaki yüksek duyarlılığını gösterir.¹⁶

Flüoresan in situ hibridizasyon (FISH) testi idrardaki hücrelerde özellikle 3, 7, 17 ve 9. kromozomlardaki değişiklikleri saptama temeline dayanan bir testtir ve duyarlılığı ve özgünlüğü %69-87 ile %85-97 arasındadır.⁵ Sistoskopik olarak tümör gösterilmeden önce de bu test pozitif olabilmektedir.⁵

Mesane tümör belirteçleri içinde en sık çalışılan epigenetik değişiklikler DNA metilasyonu ile ilgilidir. Lin ve ark. mesane kanserli 57 hastada E-cadherin, p16, p14 ve RASSF1A'nın ilerletici metilasyonunu değerlendirmişler ve RASSF1A'nın %65 duyarlılık ile en iyi belirteç olduğunu, RASSF1A, p14 ve E-cadherin'in kombinasyonunun mesane kanserini saptamada duyarlılığının %83 olduğunu

bulmuşlardır. Sağlıklı kontrol grubunun 20 idrar örneğinin hiçbirisinde bu genlerde hipermetilasyon saptamamışlardır.⁴

Sistoskopi mesane kanseri saptamada altın standart olmakla birlikte invaziv ve göreceli olarak pahalı bir işlemdir. İdrar sitolojisi mesane kanseri tanısı ve takibinde standart invaziv olmayan bir yöntemdir. Hasta hazırlığı gerekli değildir ve CIS'nun saptanmasında en güvenilir belirteçtir. İdrar sitolojisinin gerçek gücü mesane kanserini saptamadaki %90'nın üzerindeki yüksek özgüllüğüdür. İdrar sitolojisinin dezavantajı; düşük dereceli hastalıktaki zayıf duyarlılığı ve patoloğun deneyimine bağımlı olmasıdır.

NMP-22 hücre replikasyonu sırasında yeni oluşan hücrelere kromatinin uygun dağılımını sağlayan nükleer mitotik proteindir. NMP-22'nin ortalama duyarlılığı ve özgüllüğü tümörün evre ve derecesine bağlı olarak sırasıyla %71 (% 47-100) ve %73 (%55-98) olarak bildirilmiştir.⁵

BTA stat ve BTA-TRAK testleri idrardaki kompleman faktör H ile ilişkili proteini tespit ederler. BTA stat immün bazlı bir yöntem olup 5 dakika içinde uygulanabilirken, BTA-TRAK testinde standart ELISA yöntemiyle idrardaki kompleman H ile ilişkili proteinin ve kompleman faktör H'nin kantitatif olarak ölçümü yapılabilir. Kompleman faktör H insan serumunda yüksek konsantrasyonlarda bulunur ve bu yüzden hematüriye neden olan birçok iyi huylu durumda yanlış pozitif olabilir. Sağlıklı popülasyonda bu testlerin özgüllüğü %90'ın üzerinde olmakla birlikte, değişik iyi huylu genito-üriner hastalığı olanlarda bu yaklaşık olarak %50 – 60 arasındadır.¹⁷

FGFR3 tirozin kinaz reseptör ailesinden bir glikoproteindir. FGFR3 mutasyonları mesane kanserli hastaların yaklaşık %50'sinde görülür ve bu mutasyonlar çoğunlukla kasa invaze olmayan hastalıkta düşük rekürrens oranıyla görüldüğünden iyi prognozün göstergesi olarak düşünülmektedir.¹⁸

Günümüzde sistoskopinin yerini alacak herhangi bir belirteç henüz yoktur.

2.6. Tedavi

2.6.1. Kasa İnvaze Olmayan Hastalık

Kasa invaze olmayan hastalıkta tedavinin amacı kansere bağlı mortaliteyi azaltmak için rekürrensi ve progresyonu önlemektir. Rekürrens riskini azaltmak için TUR (Trans üretral rezeksiyon) sonrası intravezikal kemoterapi uygulanmaktadır.

Tekrarlayan düşük dereceli Ta tümörü ve yüksek dereceli Ta ve T1 lezyonları olan hastalarda TUR sonrası adjuvan intravezikal kemoterapi ve CIS olan hastalarda da rezeksiyon sonrası Bacillus Calmette-Guerin (BCG) ile intravezikal kemoterapi önerilmektedir.

2.6.2. Kasa İnvaze Mesane Kanseri

2.6.2.1. Neoadjuvan Kemoterapi

Kasa invaze mesane kanseri olan hastalarda standart tedavi radikal sistektomidir. Ancak bu tedavi ile hastaların yaklaşık olarak %50'sine 5 yıllık yaşam sağlanabilmektedir. Bu nedenle neoadjuvan kemoterapi kullanımı gündeme gelmiştir. Bu bağlamda kas invazyonu olan mesane kanserli hastalarda mikrometastazları yok etmek, tümörün evresini düşürmek, cerrahi sırasında yayılan hücrelerin ekimini azaltmak ve yaşam süresini uzatmak amacıyla neoadjuvan sistemik kemoterapi araştırılmaktadır. Bazı hastalar için gereksiz aşırı tedavi olması ve sistektomi zamanını geciktirmesi neoadjuvan kemoterapinin dezavantajlarıdır. Ancak MVAC kemoterapisinin ciddi granülositopeni, bulantı, kusma, stomatit, diyare veya konstipasyon yaptığı gösterilmiştir ve toksik etkilerine bağlı % 3- 4 mortalite oranı bildirilmiştir.⁴

Sisplatin içerikli neoadjuvan kemoterapi 5 yıllık yaşam süresini % 5-7 oranında arttırmaktadır. Ancak performansı kötü ve renal yetmezliği olan hastalarda önerilmemektedir.⁶

2.6.2.2. Radikal Sistektomi

Tek merkezli geniş serilerde radikal sistektomi sonrası 5 yıllık yaşam %45 - %66 olarak rapor edilmiştir. Yakın zamanlı çalışmalarda radikal sistektomi sonrası mortalite oranı %3 civarında, cerrahiden sonraki ilk 30 gün içindeki komplikasyon oranında %25 ile %57 arasında bildirilmiştir. Yalnız cerrahi uygulanan T2 evreli hastaların %20 – 30'unda, T3 evreli hastaların %40 – 60'ında ve T4 evreli hastaların %70 – 90'ında uzak metastaz veya lokal rekürrens görülmüştür ve bu hastalarda kansere bağlı ölüm olmuştur. Ayrıca 5 yıllık ortalama yaşam oranları T2 hastalıkta %66, T3 hastalıkta %35 ve T4 hastalıkta %27 olarak belirlenmiştir.⁴

Radikal sistektomi T2-T4a, N0-Nx, M0 evresi olan, yüksek riskli ve tekrarlayan yüzeyel tümörü olan, BCG tedavisine dirençli CIS olan, yüksek dereceli T1 tümörü olan ve TUR veya intravezikal tedaviyle kontrol altına alınamayan yaygın tümörü olan hastalarda endikedir.⁶

Bir retrospektif çalışmada lokal ileri mesane kanseri olan 153 hasta değerlendirilmiş ve 90 günden fazla gecikmenin hastalıkta belirgin ilerlemeye neden olduğu rapor edilmiştir.⁶

2.6.2.3. Mesane Koruyucu Tedavi

TUR tek başına çoğu hastada küratif tedavi seçeneği olmamakla birlikte, tümörün yüzeyel kas tabakasına sınırlı kaldığı ve tekrarlanan biyopsilerde tümörün görülmediği durumlarda ya da hastanın radikal sistektomiye uygun olmadığı veya kabul etmediği durumlarda bir tedavi seçeneği olabilir. Radyoterapi de sistektomiye uygun olmayan hastalarda bir seçenek olabilir ancak küratif tedaviye göre daha az etkilidir. Seçilmiş hastalarda TUR ile birlikte MVAC gibi sisplatin içeren bir kemoterapi rejimi uygulaması sistektomi yapmadan uzun yaşam süresi sağlayabilir ancak bu rutin olarak önerilmemektedir. Ayrıca kemoterapi mesaneye lokalize hastalıkta yalnız başına primer tedavi olarak önerilmemektedir. Bu tedavilerin kombinasyonu medikal ya da sosyal nedenlerden dolayı radikal sistektomi uygulanamayan hastalar için bir tedavi seçeneği olabilir.⁶

2.6.2.4. Adjuvan Kemoterapi

Kesin patolojik evre belirlendikten sonra uygulanması, mikrometastazlar için düşük riski olan hastalarda aşırı tedaviden kaçınılabilmesi, özellikle kemoterapiye yanıtız hastalarda cerrahi tedavinin geciktirilmiş olmaması adjuvan kemoterapinin avantajlarındandır. Tümörün kemoterapiye in vivo yanıtının değerlendirilememesi ve operasyon sonrası dönemde gelişebilen morbid olaylara bağlı olarak kemoterapinin gecikmesi ya da tolere edilememesi ise dezavantajlarıdır. Adjuvan kemoterapi hala araştırılmaktadır ve rutin kullanımı hakkında yeterli veri henüz yoktur.⁶

2.6.2.5. Metastatik Hastalık

Mesane kanserli hastaların yaklaşık %30'unda kas invazyonu vardır ve bunların yarısında radikal sistektomi sonrası relaps görülür. Bu relapsların yaklaşık %30'u lokal olmakla birlikte uzak metastazlar daha sık görülür. Tanı anında hastaların yaklaşık %10-15'inde de metastaz vardır. Metastatik hastalıkta prognoz kötüdür ve ortalama yaşam süresi yaklaşık olarak 12 – 15 aydır. Metastatik hastalarda sisplatin içerikli kemoterapilerin standart tedavilere göre daha etkin olduğu görülmüştür. Böbrek fonksiyonları kötü olan hastalarda sisplatin yerine daha az etkili olsa da karboplatin kullanılabilir. Paklitaksel ve Dosetaksel'in metastatik hastalarda kullanımı da araştırılmaktadır.

Sonuç olarak metastatik mesane kanseri mortal bir hastalık olup mevcut tedaviler yetersiz kalmaktadır. İleri çalışmalara ve yeni ajanlara ihtiyaç vardır.⁴

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Araç ve Gereçler

3.1.1. Kimyasal Malzemeler

- Ham's F-10 medyum (Biological Industries, Cat. No: 01-090-1A)
- Chang in situ medyum (Irvine Scientific Cat. # T104)
- Bio-AMF medyum (Biological Industries Cat. No: 01-190-1B)
- Gentamisin (Biological Industries Cat. No: 03-035-1C)
- Amfoterisin-B (Fungizone)
- RPMI 1640 Medyum (Sigma, R 0883)
- Kolşisin (Seromed Cat No. L6210)
- M199 Besiyeri (Biological Industries)
- Heparin (Panpharma)
- Phytohemagglutinin (Biochrom AG Cat. No: M 5030)
- Penisilin-streptomisin (Seromed Cat. No: A2212)
- Fetal Calf Serum (Gibco)
- L-Glutamin (Biochrom KG Cat. No: K 0282)
- Fetal bovine serum (Biochrom AG Cat. No: S0113)
- Sodyum Klorid (NaCl) (Merck)
- Potasyum Klorid (KCl) (Sigma)
- di-Sodyum Hidrojen Fosfat Dihidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)(Merck)
- Potasyum Dihidrojen Fosfat (KH_2PO_4)(Merck)
- Trypsin (Difco Cat. No: L-000403 (1298))
- Glasiyel Asetik Asit (Merck)
- Metanol (Merck)
- Etanol (Merck)
- Xylol (Merck)
- Aseton (Merck)
- İmmersiyon yağı (Merck)
- Giemsa (Merck)
- Entellan (Merck)

- Serumfizyolojik (Eczacıbaşı-Baxter)
- Hidroklorik Asit (HCl) (Merck)
- 20xSSC (Abbott Molecular Inc.)
- Sodyum Tiyosiyanit (NaSCN) (Riedel-de Haen Ag Seelze Hannover)
- Formaldehit (Merck)
- PBS
- Probe (Poseidon)
- Proteaz (Sigma)
- Tween 20 (American Bioanalytical)
- DAPI (Abbott)
- Rubber Cement (Marabu)

2. Aygıtlar

- Etüv (Heraeus, Dedeoğlu)
- İnkübatör (Nemlendirilmiş ve %5 CO₂'li ortam, Sanyo marka)
- Bistüri (AE)
- Bistüri sapı
- Steril kültür flaskı (Orange Scientific, Cat. No: 2010100)
- Santrifüj (Nuve CN180)
- Steril Kabin (Kojair KR-125 Safety)
- Derin Dondurucular (Siemens, Bosch)
- Buzdolabı (Arçelik)
- Mikroskop (Olympus BX51 ve Olympus CH40)
- Cytovision Görüntüleme Sistemi (Applied Imaging)
- Steril Kültür Tüpü (Greiner)
- Hassas Terazı (Sartorius)
- pH Metre (İnolab)
- Steril Plastik Pipet
- Steril Disposable Farklı Büyüklükte Enjektör (2 ml, 5 ml, 10 ml, 20 ml)
- Otomatik Pipetler (Gilson, Biohit ve Socorex)
- Mezür
- Şale (Yatay- dikey)

- Lam (Rodajlı, Pozitif şarjlı)
- Lamel (24x32)
- Thermobrite (Stat Spin)
- Su Banyosu (Gen-Probe)
- Fırın (Nüve FN 500)

3.2. Örneklerin Sağlanması İçin Kullanılan Yöntemler

Çalışma, Mayıs 2009 ile Mayıs 2010 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nın ortak çalışmasıyla gerçekleştirildi. Üroloji kliniğine mesane kanseri ön tanısı veya tanısı ile başvuran 34 hastadan etik onay alındıktan sonra, kan ve mesane dokusu örnekleri alındı. Her hastaya önceden hazırlanmış “Hasta Onam Formu” doldurularak imzalatıldı. Mesane kanser dokusu transüretal rezeksiyon (TUR) ya da radikal sistektomi materyalinden elde edildi. Eş zamanlı olarak kan kültürü için heparinize enjektöre 2 ml kan alındı. Doku ve kan kültürü yapılmasında ve kromozom eldesinde standart sitogenetik yöntemlerden yararlanıldı. Kromozomlarda görülen sayısal ve yapısal bozukluklar ve kromozomlar üzerindeki dağılımı Uluslararası İnsan Sitogenetik İsimlendirme Sistemine (ISCN) göre isimlendirilerek kaydedildi.

3.3. Sitogenetik Çalışmalar

Hastalardan alınan kan dokularına 72 saatlik kültür yöntemi uygulandı.^{19,20}

3.3.1. Mesane Dokusu Materyali Örneklerinden Kromozom Analizi

Analiz yöntemi olarak uzun süreli kültür yöntemi tercih edildi. Çünkü son yıllarda yapılan çalışmalarda, uzun süreli kültürün prediktif değerinin daha yüksek olduğu (%78) bildirilmiştir.^{21,22} Örnekler hastalardan alınırken kontamine olmamasına özen gösterildi. Dokular alınırken makroskopik olarak tümör görüntüsü olan yerlerden alındı.

Hastalardan alınan dokular, transport medyum ortamına aktararak, sitogenetik laboratuvarına ulaştırıldı. Her hastaya önceden hazırlanmış “Hasta Onam Formu” doldurularak imzalatıldı. Örnekler, ekilmek üzere Lamin air flow içinde, steril koşullarda, içerisinde bulundukları transport medyumu ile birlikte steril petri kabına

aktarıldı. Bundan sonra, içerisinde 1'er cc yıkama medyum (zenginleştirilmiş Ham's F10 medyum) bulunan üç petri kabı hazırlandı. Bu petri kaplarının birincisine tam zenginleştirilmiş yıkama medyum (Tablo 1), ikincisine yarı zenginleştirilmiş yıkama medyum (1/1 oranında tam zenginleştirilmiş Ham's F10 medyum ile bazal Ham's F10 medyum karışımı)

Tablo 1. Transport ve yıkama medyumunun hazırlanışı

1	500 ml Ham's F10 medyum
2	25 ml Fetal Calf serum
3	5 ml Heparin
4	1 ml Gentamisin
5	1,50 ml Amfoterisin B (kullanma solüsyonundan)(EK-4)
6	5 ml Penisilin-Streptomisin

ve üçüncüsüne de bazal Ham's F10 medyum kondu. Transport medyum içerisinde bulunan materyal önce iki bistüri yardımıyla ayrıştırıldı. Sonra oluşan küçük materyal parçaları bir pens yardımıyla ilk basamak yıkama medyum ortamına alındı. Yeterli miktarda materyalin alınmasına özen gösterildi. Quilter ve ark. göre uzun süreli kültür için yeterli materyal, 20 mg ve üzeri miktarda olmalıdır.²³ Daha sonra ilk basamak yıkama medyum içerisindeki doku parçaları, invert mikroskop altında disseksiyon işlemine tabi tutuldu.

Doku parçaları ikinci basamak medyum (yarı zenginleştirilmiş transport veya yıkama medyum) ortamına alındı. Küçük doku parçaları, ikinci basamak medyum ortamında 10 dk tutulduktan sonra, üçüncü basamak medyum ortamına alındı. Üçüncü basamak medyumda doku parçaları olabildiğince küçük parçalara bölündü. Bu basamakta da 10 dk bekletilen doku parçaları, başka bir petri kabı içerisindeki 1cc'lik Tripsin/EDTA solüsyonu içerisine aktarıldı. Bu solüsyonda 2 saat bekletilen doku parçalarının hücrelerine ayrışıp ayrışmadığı, invert mikroskop altında kontrol edildi.

Çalışmamızda Tripsin/EDTA ile 2 saatlik muamelenin yeterli olduğu gözlemlendi. Daha sonra Tripsin/EDTA'nın etkisini durdurmak için serumsuz Ham's F10 medyumundan (seyreltme medyum) (Tablo 2) 2cc, içerisinde Tripsin/EDTA-doku-hücre karışımı bulunan petriye ilave edildi.

Tablo 2. Seyreltme medyumunun hazırlanışı

1	100 ml Ham's F10 medyum
2	1 ml Penisilin-Streptomisin

Bundan sonra örnek steril bir tüpe aktarıldı. İçerisinde örnek bulunan tüp, steril şartlarda 1000 rpm'de 10 dk santrifüj edildikten sonra oluşan süpernatant uzaklaştırıldı. Dipteki pellet eşit iki parça halinde, içinde 2'şer cc medyum bulunan iki ayrı kültür flaskına (25 cm²'lik) ekildi. Hücre kültürü için, Bio-AMF ve Chang In Situ (Tablo 3) medyumları kullanıldı. Ekimi yapılan örnekler, %5'lik CO₂ ortamında, 37°C' de ve uygun nem şartlarında inkübasyona bırakıldı.

Tablo 3. Chang In Situ medyumunun hazırlanışı (kültür medyum olarak kullanılmıştır)

1	100 ml Chang In Situ medyum
2	1 ml Penisilin-Streptomisin
3	1 ml L-glutamin

Örneklerin ekiminden 6-7 gün sonra flasklar invert mikroskop altında kontrol edildi. Bu süre zarfında, doku parçalarının çevresinde üremenin başladığı gözlemlendi. Bundan sonra flaskların medyumları değiştirildi ve örnekler tekrar inkübasyona bırakıldı. Bundan 2-3 gün sonra flasklar tekrar kontrol edildi ve 1cc taze medyum ilave edildi. Her 2-3 günde bir kontrol edilen flasklardaki hücre odakları ve mitotik girmiş hücre sayıları gözlemlendi. Yeterli miktarda hücrenin (özellikle mitotik girmiş hücrenin) ürettiği düşünülen flaskın (hasat işlemine hazırlık olarak) medyumları son olarak değiştirildi. Ertesi gün bu flaskın hasat işlemine geçildi.

Bu amaçla flaskta son konsantrasyonu 0.045 µg/ml olacak şekilde kolşemid solüsyonu ilave edildi ve flask 3 saat süreyle tekrar inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda flaskın içeriği bir tüpe aktarıldı. Daha sonra flaskta, iki defa 1'er cc Trypsin-

EDTA uygulandı. İkinci uygulamada flask, 37°C’de 3-5 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda, invert mikroskop altında flaskın tabanına yapışmış olan hücrelerin serbest hale gelip gelmediği kontrol edildi. Yeterli miktarda hücrenin serbest hale geldiği gözlemlendiğinde serumsuz seyreltme medyumundan 2 cc flaska ilave edildi. Böylece Trypsin-EDTA’nın enzim aktivitesi yavaşlatıldı. Sonra bir pipet yardımı ile flaskın içeriği ikinci kez olarak tüpe aktarıldı ve tüp 1000 rpm’de 10 dk santrifüj edildi. Tüpteki süpernatant bir pipet yardımıyla uzaklaştırıldı. Tüpün dibinde kalan pellet’in üzerine 4-5 ml hipotonik solüsyon ilave edildi (EK-2). Daha sonra, tüpler 25 dk 37°C’de inkübasyona bırakıldı. Sürenin sonunda 13-15 damla fiksatif (EK-2) damlatma yöntemi ile hipotonik çözeltinin üzerine ilave edildi (damlatma işlemi, hafifçe karıştırma işlemi eşliğinde yapıldı). Tüpler tekrar santrifüjde çevrildikten sonra hipotonik çözelti uzaklaştırıldı. Bundan sonra 4-5 ml fiksatif çözelti ilave edilerek tekrar santrifügasyon işlemi uygulandı. Süre sonunda tüpte bulunan fiksatif çözelti uzaklaştırıldı, yeni fiksatif çözelti ilave edildi. Bu işlem 3 kez tekrarlandı. Son fiksasyondan sonra süpernatant şeklindeki fiksatif çözelti uzaklaştırıldı ve kalan pellet önceden hazırlanmış soğuk lamlara yayıldı.²⁴ Kurutulan lamalar, 1 gece 60°C’de tutulduktan sonra, ertesi gün “GTG” bantlama ve solid boyama yöntemleri ile boyandı ve incelemeye hazır hale getirildi.²⁵ Lamalar mikroskop altında incelenerek karyotip analizi yapıldı. Her örnek için en az 20 metafaz alanına bakıldı. Ancak şüpheli durumlarda bu sayı 50’ye kadar çıkarıldı.

3.3.1.1. Kan Kültürünün Yapılması

Kromozom analizi için hasta ve kontrol grubundan steril şartlarda heparinle yıkanmış enjektöre 2 ml kan alındı. Her birey için, içerisinde 3’er ml normal (RPMI-1640, R0883) (EK-1) besiyerinin bulunduğu steril kültür tüplerine her olgunun kanından 3’er damla ilave edilerek ekim yapıldı. İsim karışıklığını önlemek amacıyla tüplerin üzerine önceden bireyin ismi yazıldı. Ekim işlemi yapıldıktan sonra kültür tüpleri hafifçe karıştırıldı. Daha sonra, tüpler 37°C’de 72 saat süreyle inkübatörde tutuldu. Kültüre alınmış tüplerin her birine 70 saat sonra final konsantrasyonu 10 µg/ml olacak şekilde 30 µl kolşisin (EK-2) eklendi ve iki saat daha kültüre devam edildi. Süre sonunda, tüpler hafifçe karıştırıldıktan sonra 1200 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi. Daha sonra, tüplerin üstünde kalan süpernatant pastör pipeti ile atıldı. Dipte kalan

çökletti, tüpün alt kısmına parmakla hafifçe vurarak karıştırıldı. Tüplere 6'şar ml hipotonik solüsyonu (0.075 M KCl) (EK-2) ilave edildi ve 13 dakika etüvde bekletildi. Süre sonunda, her tüpe 6 damla soğuk fiksatif solüsyonu (EK-2) eklenerek karıştırıldı. Tüpler 1200rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra çökelti tekrar hafifçe karıştırıldı ve üzerine taze hazırlanmış 6 ml fiksatif solüsyonu ilave edildi. 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Fiksatif ile yıkama 3 kez tekrarlandıktan sonra, çökeltinin miktarına göre çok az fiksatif bırakılıp pipetajlanarak hücre süspansiyonu elde edildi. Daha önceden, temizlendikten sonra asetonda bekletilen ve yaymadan 24 saat önce saf sudan geçirilerek buzdolabında soğutulmuş olan lamalar üzerine 30°'lik bir eğimle hücre süspansiyonu damlatılarak yayma yapıldı. Lamlara hastanın ismi yazılarak havada kurutuldu. Yayılan preparatlar yaşlandırmak amacıyla 3 gün 37°C'de inkübatörde bekletildi. Yaşlanan preparatlar mikroskopta incelenmek üzere aşağıda açıklandığı gibi Giemsa-Trypsin-Giemsa (GTG) bantlama yöntemiyle boyandı.

3.3.1.2. Preparatların GTG (G-bands by Trypsin using Giemsa) Bantlama Yöntemiyle Boyanması

Analiz için 3 gün oda ısısında bekletilen preparatlar GTG bantlama tekniği uygulanarak hazır hale getirildi.²⁶

Bunu için sırasıyla şu işlemler yapıldı:

- 1,5 ml'lik tripsin stok solüsyonu (EK-2) eritilerek bir şale içerisinde 75 ml serum fizyolojik içerisine eklendi ve pH'sı 7.5-7.8'e ayarlandı.
- İkinci bir şaleye 75 ml fosfat tamponu (EK-2) ilave edildi.
- Üçüncü bir şalede fosfat tamponu içerisinde %7-10'luk olacak şekilde giemsa boya çözeltisi (EK-2) hazırlandı.
- Metafaz kalitesine göre sıralanan preparatlar, mikroskop altında metafazların açık ve koyuluğuna göre değişik saniyelerde (35-40 saniye) tripsinle muamele edildi.
- Preparatlar daha sonra fosfat tamponundan geçirildi. Hafifçe çalkalanarak yıkandı.
- Daha sonra Giemsa boya solüsyonu ile 3-5 dakika boyandı.
- Akan musluk suyundan geçirilen preparatlar havada kurutuldu.

- Bantları boyanmış metafaz kromozomları mikroskop altında sayısal ve yapısal olarak incelendi.
- Hazırlanan preparatlar 100x objektifte incelendi.
- Her hasta için 50 metafaz plağı incelendi. Ancak, mitotik indeksi düşük olan hasta preparatlarında mevcut olan metafaz plakları incelendi.
- Preparatlar inceleme sonrası, Xylol'den geçirilerek immersiyon yağından temizlendikten sonra entellan ve lamel ile kapatılarak devamlı hale getirildi.

3.3.2. Moleküler Sitogenetik Çalışmalar

3.3.2.1. Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Yöntemi

Preparatların hazırlanma aşaması aşağıdaki gibi yapılmıştır.

- Steril kültür tüplerine 5'er cc RPMI-1640 medyumunu eklendi.
- Yaklaşık 15-20 damla kan ilave edildi ve karıştırıldı.
- 7dk 1500 rpm de santrifüj edildi ve üst medyum atıldı.
- Altta kalan pellet kısım vortekslendi ve homojen karışım sağlandı.
- Sonra 5 cc KCl (0,073 M) pellet üzerine ilave edildi.
- 25 dk 37°C'lik etüvde bekletildi.
- Süre sonunda 0,5-1cc fiksatif eklendi ve vortekslendi.
- 7dk 1500 rpm de santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
- Altta kalan pellet kısım vortekslendi ve homojen karışım sağlandı.
- Sonra 5 cc fiksatif pellet üzerine ilave edildi. Bu işlem 3 kez tekrarlandı.
- Son fiksatitten sonra üstteki süpernatant atıldı ve altta kalan pellet pipetaj yapılarak dağıtıldı.
- Sonra lamın ortasına 10 ml kadar örnek mikropipet ile konularak yayıldı.

İnterfaz FISH'in yapılması aşamaları aşağıdaki gibidir.

- Hazırlanan preparatlar üzerine oda ısısında 2ml 2XSSC ilave edildi ve 5 dk bekletildi.

- Süre sonunda üstteki çözelti atıldı ve 37°C'ye gelmiş distile su + HCl karışımı ve son anda üzerine eklenen pepsin A çözeltisi eklenerek 37°C'lik etüvde 30 dk bekletildi.
- Süre sonunda amlar 1 dakika süre ile distile su içeren şalede oda sıcaklığında bekletildi.
- Durulamadan sonra PBS'de 2 dk oda sıcaklığında bekletildi.
- Sonra PBS/MgCl' de 2 dk oda sıcaklığında bekletildi.
- Post fiksatif çözeltisinde 10 dk oda sıcaklığında bekletildi.
- Preparatlar 3 dk %70, %85, %100'lük alkol serilerinde geçirildi.
- Preparatlar kurutuldu.
- Bundan sonraki aşamalar karanlıkta gerçekleştirildi.
- Önceden oda ısısına getirilmiş prob tüpü vortekslendi, mikrosantrifüjde spin atıldı ve tekrar vortekslendi.
- Herbir lamın hedef alanına 10 µl prob (ON p16 (9p21)/(9q21), Repeat Free FISH Probe, Poseidon; ON p53 (17p13)/SE 17, Repeat Free FISH Probe, Poseidon) damlatıldı ve hemen uygun boyutta bir lamelle hava kabarcığı kalmayacak şekilde kapatıldı. Lamellerin etrafı rubber cement ile çevrelendi.
- Lamalar Thermobrite cihazına yerleştirilip kapağı kapatıldı ve önceden programlanan prosedür başlatıldı. (denatürasyon 73°C-5 dk., Hibridizasyon 37°C -18 saat)
- Bir gece hibridizasyondan sonra lamaların üzerinden rubber cement ayrıldı ve oda ısısındaki yıkama solüsyonu içerisinde çalkalanarak lamellerin ayrılması sağlandı.
- 2 dk. süre ile su banyosunda önceden 73°C a getirilmiş olan yıkama solüsyonu içerisinde bekletildi.
- Lamalar oda ısısında distile su içeren saleye batırılıp çıkarıldıktan sonra karanlıkta kurumaya bırakıldı.
- Herbir hibridizasyon alanına 10 µl. 4',6-diamidino-2-phenylinodole (DAPI II Counterstain, Abbott Laboratories) damlatılarak uygun boyutta lamelle kapatıldı.
- Lamalar analiz öncesi en az 30 dakika buzdolabında bekletildi.

3.3.2.2. FISH Değerlendirmesi

ON p16 (9p21)/9q21 ve ON p53 (17p13)/SE 17 problemleri için her bir preparatta 100 tümör hücresi sayıldı ve bu 100 hücre içinde pozitif hücrelerin yüzdeleri hesaplandı. ON P16 (9p21)/9q21 probe için hücrede iki kırmızı iki yeşil sinyal varlığı normal, %10 üzeri iki yeşil ve bir kırmızı sinyal varlığı delesyon kabul edildi. ON p53 (17p13)/SE 17 probe için hücrede iki kırmızı iki yeşil sinyal varlığı normal, %10 üzeri iki yeşil ve bir kırmızı sinyal varlığı delesyon kabul edildi.

3.4. İstatistiksel Analiz

Normal dağılım gösteren sürekli değişkenlerin analizinde bağımsız gruplarda t testi ve tek yönlü varyans analizi, normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenlerin analizinde ise Mann Whitney U veya Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Kategorik değişkenlerin analizinde ise ki-kare testi kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama $\pm$ SH (Standart Hata), medyan, n ve yüzde olarak ifade edilmiştir. p değerinin <0,05 olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamızda, yaş ortalamaları $60,6 \pm 14,2$ (26 – 81) yıl olan 30'u (%88,2) erkek, 4'ü (% 11,8) kadın olmak üzere toplam 34 mesane kanserli hasta incelendi. Hastaların ortalama vücut kitle indeksi $27,3 \pm 4,4$ (20,5 – 37,8) kg/m^2 olarak rapor edildi. Dört(% 11,8) hastada mesleki maruziyet saptandı. Bunlardan biri boyalarla teması olan tekstil fabrikası çalışanı, diğer üçü ise pestisidlerle teması olan çiftçi meslek grubundaydı. Hastaların ortalama sigara içme düzeyi 24 paket/yıl olmakla birlikte 7'si (%20) hiç sigara içmemişti. Trans üretral rezeksiyonla veya radikal sistektomi ile elde edilen tümör materyallerinin histopatolojik değerlendirme sonrası 11 (%32,3) hastanın düşük dereceli papiller ürotelyal karsinomu, 22 (%64,7) hastanın yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinomu ve 1 (%3) hastanın da CIS tümörü olduğu saptandı. Yüksek dereceli tümörü olan 3 (%8,8) hastada skuamöz diferansiyasyon görülürken, 1 (%3) hastada müsinöz komponent saptandı. Örneklerin alındığı dönemde hastaların 3'ü (%8,8) Ta, 17'si (%50) T1, 5'i (%14,7) T2a, 1'i (%3) T3a, 4'ü (%11,8) T3b, 3'ü (%8,8) T4a ve 1'i (%3) Tis evredeydi. Hastaların 19'unda (%59,4) p16 ve p53 pozitif iken, 13'ünde (%40,6) her iki belirtecin negatif olduğu saptandı.

Düşük dereceli papiller ürotelyal karsinomu olan hastalar birinci grup, yüksek dereceli olanlar ikinci grup olarak alındı. Yaş farklılığı açısından karşılaştırdığımızda ilk grubun yaş ortalaması $58,9 \pm 18,51$ (26 – 81) yıl ikinci grubun $61,5 \pm 12,03$ (43 – 81) yılı ve aralarındaki farkın istatistiksel olarak farklı olmadığı bulundu ($p=0,971$).

Vücut kitle indekslerine baktığımızda ilk grup için ortalama $25,5 \pm 3,51$ (22,2 – 32,5) kg/m^2 iken ikinci grup için ortalama $28,1 \pm 4,73$ (20,5 – 37,8) kg/m^2 hesaplandı. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,106$).

Her iki grup ortalama paket/yıl değeri üzerinden sigara içme oranı açısından karşılaştırıldı. İlk grup için ortalama $20,6 \pm 15,8$ (0 – 40) paket/yıl ve ikinci grup için ortalama $25,5 \pm 16,94$ (0 – 60) paket/yıl hesaplandı. Ancak fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,561$). Bu veriler Tablo 4'de gösterilmektedir.

Tablo 4. Düşük dereceli tümörü olanlarla yüksek derecelilerin karşılaştırılması

Parametreler	Düşük dereceli	Yüksek dereceli	p değeri
Yaş(yıl)	58,9±18,51 (26 – 81)	61,5±12,03 (43 – 81)	(p=0,971)
VKİ (kg/m2)	25,5±3,51 (22,2 –32,5)	28,1±4,73 (20,5 –37,8)	(p=0,106)
Sigara (paket/yıl)	20,6±15,8 (0 –40)	25,5±16,94 (0 –60)	(p=0,561)
Kromozom Bozukluğu	12,5 ± 4,89 (4 – 18)	23,26 ± 43,19(0 – 182)	(p=0,714)
p16	6,30 ±4,47 (0 – 15)	13,18 ± 5,65 (0 – 23)	(p=0,002)
p53	7,7 ±6,21 (2 – 22)	12,4 ±5,99 (0 – 25)	(p=0,039)

Hastalara ait demografik bilgiler, kan ve doku kültürlerinin sitogenetik ve moleküler sitogenetik analiz sonrası saptanan yapısal ve sayısal kromozomal düzensizlikler Tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5. Hastalara ait demografik bilgiler, kan ve doku kültürlerinin sitogenetik ve moleküler sitogenetik analiz sonrası saptanan yapısal ve sayısal kromozomal düzensizlikler

Hasta	Yaş	Cinsiyet	Sigara	Patoloji	Exre	p16	p53	RPMI	M199	Doku
H1	76	E	20	Yüksek	T3b	22	5 amp 20	gap(3p21) (1/50)	9qh+ (3/50) fra(5q31) (1/50) clbr(14q?) (1/50) hsr(2q?) (2/50) 45,? (1/50)	47,XY,+2 (2/19) 45,XY,-1 (1/19) 92,XXYY (1/19)
H2	57	E	40	Düşük	T1	2 amp 4 del	6 amp	92,XXYY (3/27) fra(1q32). (1/27) fra(6p21) (1/27) 47,XY,+21(1/27) 9qh+(2/27)	92,XXYY (4/32) fra(7q?) (1/32) 45,XY,izo(Xq(p),-21 (1/32)	47,XY,+21 (1/12) 42,XY,-2,-11,-12,-22 (1/12)
H3	61	E	45	Yüksek	T2a	10	15	46,XX,+3p,+ace (1/50) 45,XX,-14 (1/50) 44,X,-Y,-8 (1/50) 45,XY,-16 44,X,-Y,-18,-13,+12	45,XY,-16 (1/50) 45,XY,-8 (1/50) clrb(1q11) (1/50) del(10)(q24-qter) (1/50) 45,X -Y (1/50) clrb(2q31) (1/50) del(17)(q11-qter) (1/50) 45,XY,-22 (1/50)	43,Y,-11,-17,-X 45,XY,-19 (1/20) 45,X,-Y (1/20) 44,X,t(14;18)(p11;p11) (1/20) 45,XY,-13 (1/20)

Tablo 5 Devam

H4	53	K	0	Yüksək	T1	16	18	9qlt+ (54/54) 48.XX.+4,+21 (1/54) 45.XX-10 (1/54) 46.XX.?15p+ (1/54) inv(13)(p13;q14) (1/54)	9qlt+ (2/52) 44.XX.-12.-21 (1/52) cltbr(4q?) (1/52) fra(Xq26) (1/52) 15p+ (52/52) 45.X.-X(1/52) 9qlt+ (2/52) 15p+ (2/52) 15p+.fra(3p25) (2/52) 15p+. cltbr(3p21) (2/52) fra(12p13) (1/52), fra(3p21) (1/52)	46.XX,+17,-20,9qlt+(1/50) 9qlt+.gap(6q15)(1/50) gap(5)(q31)2] (1/50) del(3)(p23-pter),
H5	77	E	0	Düşük	T1	3	3	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
H6	81	E	2	Düşük	T1	10	13	9qlt+(2/32) fra(4q33) (1/32) 43.X.-1.-10.-Y (1/32) 45.XY.-17 (1/32) 44.XY.-21.-22 (1/32) 43.Y,9qlt+.-22[2].-X (1/32)	92.XXYY (2/50) 9qlt+ (2/50) 45.X.-Y (2/50) 45.XY.-20 (1/50) 44.XY.-3.-18 (1/50) del(5)(p14-pter).del(X)(p21- pter) (1/50) cltbr(2q23). cltbr(3p21.3), cltbr(5p13) (1/50)	Üremesi yok

Tablo 5 Devam

H7	42	E	25	Düşük	T1	5	5	45,X-Y (2/26) 45.XY,-10 del(9)(q12-qter) (1/50)	46.XY, del(7)(q11-q12) (1/50) 46.XY, del(3)(p25-pter) (1/50) 46.XY, del(5)(q13-q15) (1/50) 45.XY,-22 (1/50) 46.XY, ch1b(3q26.2) (1/50) 46.XY, ch1b(12q13) (1/50)	45,X,-Y (1/3)
H8	73	E	30	Yüksek	T3b	16	10 del 3 amp	fra(1p36) (1/50) del(1)(q41-qter) (1/50) 45,XX,-17 (1/50) hst(3)(q11-q13) (1/50) 45.XY,-3 (1/50)	far(X)(p22.1) (1/50) der(14)t(14;22)(q32;q11.2) (1/50) 45,XX, del(17)(q21-qter),-19 (1/25)	47,XXY, (1/12) 47,XX, +ace (1/12)
H9	73	E	60	Yüksek	T1	9	12	92,XXYY (1/26)	45.XY,-22 (2/52) 45.XY,gap(1q21)[2],-18 del(13)(q32-qter) 9q1+	45.XY,-17 44.XY,-12,-20 45,X,-Y ch1b(2p15)
H10	53	E	40	Yüksek	T4a	18	10	45.XY,-21 (1/10) 44.XY,-5,-17 (1/10)	45.XY, ch1b(5q15), -18(1/10)	92, XXYY (1/10)
H11	38	E	10	Düşük	T1	9	12	46,XXY,-22 (1/30) 45.XY,-D (1/30) 47XY, (?) (1/30) 45.XY,-14 (1/30)	fra(1p36.1) (1/50) 45,XX, -22 (1/50) 47,XXX (1/50) chbr(9q32) (1/50) del(3)(p13-p14) (1/50)	ch1b(3)(q26.2) (1/10) ch1b(12)(q13) (1/10)

Tablo 5 Devam

H12	79	E	0	Düşük	Ta	2	5	46.XY,-10,+3 (1/3)	46.XY.fra(3p25) (1/50) 45.XY,-3 (1/50)	45.XX,-21 (1/10)
H13	74	K	32	Yüksek	T1	8	5	45.XX,-12 (1/14)	45.XX,-11 (2/53) 48.XX,+15,+16[2],-12 (1/53) 45.XX,-8 (1/53) 45.XX,-4,-10 (1/53) 43.XX,+15,-8,-10,-19,-21 (1/53)	92.XXXX (1/17) 92.XXXYY (1/17) 47.XY,+14 (1/17)
H14	50	E	30	CIS	Tis	23	18	44.XY,-17,-20 (1/26) 45.XY,-22 (1/26)	45.XY,-8 (1/57) +mar (1/57) 46.XY.chrb(3p21.2) (1/57) chrb(11q13.4) (1/57)	Üreme yok
H15	26	E	20	Düşük	Ta	15	22	45.XY,-22 (1/53) 45.XY,-8 (1/53) 45.XY,-10 (1/53) chrb(5q33) (1/53)	45X,-Y (1/33) +mar(1/33) 44.XY,-21,-22 (1/33) 45.XY,-19 (1/33)	45.X,-Y (6/14) 45.X,+4q+,-Y (1/14) 43.X,-6,-8,-Y (1/14) 43.X,-18,-20,-Y (1/14) 92.XXXYY (1/14)
H16	81	E	0	Yüksek	T1	8	10	45.XY,-22 (2/56) +mar (1/56)	45.XY.gap(6q23),-14 (1/55) fra(5q31) (1/55) fra(2q35) (1/55) gap(4q27),-Y (1/55) 47.XY,+4 (1/55) 45.XY.fra(Xq13),-22 (1/55)	del(X)(q21-qter) (1/10) fra(12)(q24) (1/10) del(9)(q22-qter) (1/10)

Tablo 5 Devam

																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	</
--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----

Tablo 5 Devam

II19	44	E	0	Yüksek	T3b	9 del 3 amp	6 del 8 amp	t(2;5)(p25;q14) (1/50) gap(2q23) (1/50) gap(2q35), (1/50) gap(4q31.3), gap(5q31)(1/50) gap(1q36.1), gap(5q31)(1/50)	45,XY,t(13;22)(p11;p11) (1/50) 45,XY,del(9)(q22-qter),-21 (1/50) del(2)(p24-pter) (1/50) t(12;17)(p13;q12) (1/50) 45,XY,-8 (1/50) 45,XX,-21 (2/50)	Üreme yok
H20	60	K	0	Yüksek	T2a	3	2	+mar (1/24) del(1)(q32-qter) (1/24) chrb(2q32.2) (1/24) 45,XX,-22 (1/24) chrb(4q31) (1/24)	t(3;12)(p26;q15) (1/30) del(10)(q23-qter) (1/30) 47,XXX (1/30) del(3)(q11-qter) (1/30) +ace (1/30)	15p+ (10/10) 47,XXX,15p+ (1/50) dmin (10<) (1/10) chrb(12)(q14.1) (1/50)
II21	55	E	25	Yüksek	T1	16	10	45,XY,-22 (1/50) 44,XY,-13,-22 (1/50) 44,XY,-7,-22 (1/50) 45,XY,-13 (1/50) 45,XY,-16 (1/50)	t(10;14)(q26;q13) (1/50) 47,XY,+15 (1/50) del(2)(p13-pter) (1/50) 44,XY,+21,-13 (1/50)	92,XXYY (13/36) 92,XXYY, der(19) t(19;19) (q13.4;q13.4), t(21;22) (p13;p13) 45,XY,-14 92,XXYY, t(21;22) (p13;p13) t(7;15) (p22;q26) 45,XY,-22 43,XXYY,-2,-4,-8,-15 45,XY,-12 44,XY,-4,-14

Tablo 5 Devam

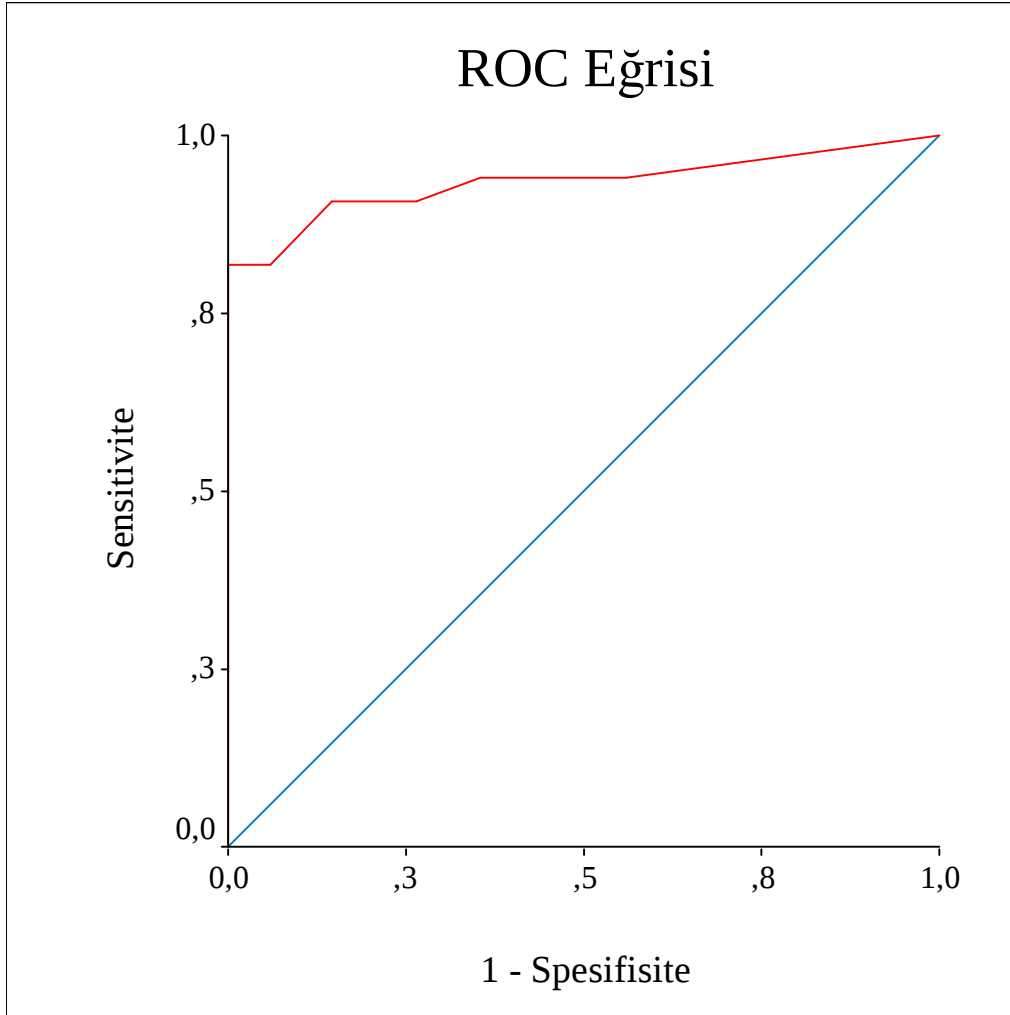
H22	65	E	15	Yüksek	T4	12	16	fra(2q21) (1/50) chb(19q13) 44,XY,chr(2q31),-2x2(1/50)	+ace (1/50) 48,XY,+1,+19,+22 (1/50) chb(1q21)(q32) (1/50)	69,XXY (2/30) 92,XXYY (2/30) 45,XY,-20 (1/30) chb(2)(p15) (1/30) 45,X,-Y (1/30)
H23	65	E	40	Düşük	T1	doku yok	doku yok	46,XY (8/8)	45,XY,-14 (1/10) 45,XX,-8 (1/10) chb(5q33) (1/10)	Üreme yok
H24	49	E	30	Yüksek	T1	Doku yok	Doku yok	16qh+ (14/14)	+ace (1/20) fra(9q32) (1/50)	Üreme yok
H25	46	E	30	Yüksek	T2a	12	7	Üreme yok	46,XY (20/20)	46,XY (1/5)
H26	76	E	35	Düşük	T1	0	2	46,XY (10/10)	45,XY,-17 (7/7)	Üreme yok
H27	72	E	45	Yüksek	T4a	17	14	45,X,-Y (1/25) chb(5q33) (1/25)	45,XY,-8,11p+ (1/100) 47,XY,+21 (1/100) fra(1q32) (2/100) fra(1q42) (1/100) fra(1q22) (1/100)	Üreme yok
H28	72	E	20	Yüksek	T3b	21	18	+ace (1/50) fra(2q33) (1/50) fra(2q31) (1/50) fra(3p21) (1/50) fra (6p21) (2/50) fra (1q21) (4/50) 22p+ (4/50)	45,X,-Y (1/50) 46,XY,-11,+mar,del(11)(q?) (1/50) fra(6q23), fra(12q22) (1/50) fra(2p23) (1/50)	Üreme yok

Tablo 5 Devam

H29	49	E	35	Yüksek	T1	14	8	45,XY,-22 (1/8) 42,? (1/8)	45,XY,-9 (1/10) 45,XY,-10 (1/10) club(5q33) (1/10)	44,XY,-3,-21 (1/10)
H30	79	K	0	Yüksek	T1	9 del 3 amp	5 del 4 amp	46,XX,inv(9)(p11;q13) (50/50) 45,X (40/50) t(7;14)(p15;q24) (1/50)	46,XX,inv(9)(p11;q13) (50/50) 45,X (40/50) club(16q22) (1/50)	Üreme yok
H31	43	E	20	Yüksek	T1	0	0	45,XX,-10 (1/20) 43,X,-21,-Y (1/20) 45,XY,-21 (1/20) 45,X,-Y (1/20)	45,XY,-20 (1/10) 45,X,-Y (2/10) 45,XY,-21 (1/10)	Üreme yok
H32	69	E	30	Yüksek	T2a	13	12	46,XY (1/20)	46,XY (1/20)	Üreme yok
H33	63	E	45	Yüksek	T2a	16	21	club(17p11) (1/100) hsr (2q22) (3/100)	Üreme yok	Üreme yok
H34	54	E	35	Yüksek	T3a	12	15	46,XY (5/5)	Üreme yok	Üreme yok

4.1. Sitogenetik Bulgular

Hastalardan eş zamanlı alınan doku ve kan örneklerinin kültürleri yapıldıktan sonra karyotip analizleri sonucunda ortalama $20 \pm 36,2$ (0 – 182) hücrede kromozomal düzensizlik saptandı. Bu oran sağlıklı kontrol grubunda ise $1,3 \pm 1,6$ (0 – 5) idi. İstatistiksel olarak bakıldığında bu fark anlamlıydı ($p= 0,0001$). Kromozomal bozukluk için sınır değeri tespit etmek için istatistiksel yöntem kullanarak bir ROC eğrisi çıkardık ve aşağısındaki tablo 6’da her bir sınır değerin mesane kanserini yakalayabilme etkisi için spesifite ve sensitivite değerlerini verdik. Buna göre kromozom bozukluk sayısı olarak sınır değeri 3,5 aldığımızda bu sayıda kromozom bozukluğu saptanan hastada kanser görülme riski için sensitivitesi %91 spesifitesi ise %85 olarak hesaplandı.



Eğri Altında Kalan Alan = 0,93

Şekil 3. Kromozom bozukluğunun sınır değerlerini gösteren ROC eğrisi

Tablo 6. Kromozom bozukluğunun sınır değerlere göre spesifitesi ve sensitivitesi

Kromozom Bozukluğu Sınır Değer (cutoff)	Sensitivite	Spesifisite
0,5	%94	%44
1,5	%94	%65
2,5	%91	%74
3,5	%91	%85
4,5	%82	%94
5,5	%82	%100
6,5	%73	%100

Hastaları tümörün patolojik derecesine göre ayırıp düşük dereceli papiller ürotelyal karsinomu olan hastaları bir grup ve yüksek dereceli olanları da ikinci grup olarak alıp kromozom bozukluğu sayısı açısından karşılaştırdığımızda ilk grupta ortalama $12,5 \pm 4,89$ (4 – 18) kromozom bozukluğu ikinci grupta ortalama $23,26 \pm 43,19$ (0 – 182) kromozom bozukluğu saptandı. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,714$) (Tablo 4). Kan kültürleri için RPMI ve M – 199 besiyerleri, hücre kültürü için de Bio-AMF ve Chang In Situ medyumları kullanıldı. RPMI besiyerinde yapılan kan kültüründe 1 (%3) hastada üreme olmazken, M – 199 besiyerinde yapılan kan kültüründe 3 (%8,8) hastada üreme görülmeydi. On altı (%47) hastanın doku kültüründe ise üreme olmadı. Hastalara ait kan ve doku kültürleri ile kontrol grubuna ait kan kültürlerinin yapısal ve sayısal düzensizlikleri Tablo 7’de gösterilmiştir.

Çalışmamızda her bir hasta için en fazla 50 metafaz plağı analiz edildi. Kan dokusundan üretilen toplam 2344 hücre incelendi. Bu hücrelerden 363 (%13,6) tanesinde yapısal, 213 (%8) tanesinde de sayısal düzensizlik olmak üzere toplamda 576 (%21,6) hücrede kromozomal düzensizlik saptandı. Kanserli mesane dokusundan üretilen toplam 318 hücre analiz edildi. Bunların içinde 24 (%0,9) hücrede yapısal ve 38 (%1,4) hücrede sayısal düzensizlik olmak üzere toplamda 62 (%2,3) düzensizlik tespit edildi. Toplam incelenen hücre sayısı 2662 ve bulunan toplam düzensizlik 638 (%24)’di.

Tablo 7. Hasta ve kontrol grubunda elde edilen hücrelerin karyotip analiz sonuçları

Hasta no	RPMI	M199	DOKU	Kontrol no	RPMI
H1	gap(3)(p21) (1/50)	9ql+ (3/50) fra(5)(q31) (1/50) clbr(14)(?) (1/50) hstr(2q?) (2/50) 45.? (1/50)	47.XY,+2 (2/19) 45.XY,-1 (1/19) 92.XXYY (1/19)	K1 (E)	gap(7)(q22) (1/50)
H2	92.XXYY (3/27) fra(1)(q32), (1/27) fra(6)(p21) (1/27) 47.XY,+21(1/27) 9qh+(2/27)	92.XXYY (4/32) fra(7q?) (1/32) 45.XY,iro(Xq/p),-21 (1/32)	47.XY,+21 (1/12) 42.XY,-2,-11,-12,-22 (1/12)	K2 (E)	gap(5)(q31) (1/50) fra (1)(q32) (1/50) gap(4)(q27) (1/50)
H3	46.XX,+3p,+acc (1/50) 45.XX,-14 (1/50) 44.X,-Y,-8 (1/50) 45.XY,-16 (1/50) 44.X,-Y,-18,-13,+12 (1/50)	45.XY,-16 (1/50) 45.XY,-8 (1/50) clrb(1)(q11) (1/50) del(10)(q24-qter) (1/50) 45.X-Y (1/50) clrb(2)(q31) (1/50) del(17)(q11-qter) (1/50) 45.XY,-22 (1/50)	43.Y,-11,-17,-X (1/20) 45.XY,-19 (1/20) 45.X,-Y (1/20) 44.X,t(14;18)(p11;p11) (1/20) 45.XY,-13 (1/20)	K3 (E)	gap(4)(q31) (1/50)

Tablo 7 Devam

H4	9qh+ (54/54) 48.XX,+4,+21 (1/54) 45.XX-10 (1/54) 46.XX,?15p+ (1/54) inv(13)(p13;q14) (1/54)	9qh+ (2/52) 44.XX,-12,-21 (1/52) chibr(4)(q?) (1/52) fra(X)(q26) (1/52) 15p+ (52/52) 45.X,-X (1/52) 9qh+ (2/52) 15p+ (2/52) 15p+,fra(3)(p25) (2/52) 15p+,chibr(3)(p21) (2/52) fra(12)(p13) (1/52). fra(3)(p21) (1/52)	46.XX,+17,-20,9qh+(1/50) 9qh+gap(6)(q15)(1/50) gap(5)(q31)[2] (1/50) del(3)(p23-pter) (1/50)	K4 (K)	gap(1)(q32) (1/50) fra(X)(q26) (1/50)
H5	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	K5 (E)	9qh+ (5/50)
H6	9qh+(2/32) fra(4)(q33) (1/32) 43.X,-1,-10,-Y (1/32) 45.XY,-17 (1/32) 44.XY,-21,-22 (1/32) 43,Y,9qh+,-22[2],-X (1/32)	92.XXYY (2/50) 9qh+ (2/50) 45.X,-Y (2/50) 45.XY,-20 (1/50) 44.XY,-3,-18 (1/50) del(5)(p14-pter).del(X)(p21-pter) (1/50) chibr(2)(q23).chibr(3p21.3), chibr(5)(p13) (1/50)	Üremesi yok	K6 (E)	gap(1)(q32) (3/50) fra(3)(p25) (1/50) fra(7)(q33) (1/50)

Tablo 7 Devam

H7	45,X,-Y (2/26) 45,XY,-10 del(9)(q12-qter) (1/50)	46,XY, del(7)(q11-q12) (1/50) 46,XY, del(3)(p25-pter) (1/50) 46,XY, del(5)(q13-q15) (1/50) 45,XY,-22 (1/50) 46,XY, chrb(3)(q26.2) (1/50) 46,XY, chrb(12)(q13) (1/50)	45,X,-Y (1/3)	K7 (K)	gap (1)(q32) (2/50) gap(3)(q27) (1/50)
H8	fra(1)(p36) (1/50) del(1)(q41-qter) (1/50) 45,XX,-17 (1/50) hst(3)(q11-q13) (1/50) 45,XY,-3 (1/50)	far(X)(p22.1) (1/50) t(14;22)(q32;q11.2) (1/50) 45,XX, del(17)(q21-qter),-19 (1/25)	47,XY,-Y (1/12) +acc (1/12)	K8 (K)	46,XX
H9	92,XXYY (1/26) del(13)(q32-qter) 9qh+ (1/52)	45,XY,-22 (2/52) 45,XY-gap(1)(q21)[2],-18 del(13)(q32-qter) 9qh+ (1/52)	45,XY,-17(1/50) 44,XY,-12,-20(1/50) 45,X,-Y chrb(2)(p15) (1/50)	K9 (E)	gap(1)(q36) (1/50) 9qh+ (2/50)
H10	45,XY,-21 (1/10) 44,XY,-5,-17 (1/10)	45,XY,-18, chrb(5)(q15) (1/10)	92, XXYY (1/10)	K10 (E)	fra(12)(p13) (1/50)
H11	46,XY,-22 (1/30) 45,XY,-D (1/30) 47XY. (?) (1/30) 45,XY,-14 (1/30)	fra(1)(p36.1) (1/50) 45,XX,-22 (1/50) 47,XXX (1/50) chbr(9)(q32) (1/50) del(3)(p13-p14) (1/50)	chrb(3)(q26.2) (1/10) chrb(12)(q13) (1/10)	K11 (E)	fra(15)(q24) (1/50) fra(7)(q36) (1/50)

Tablo 7 Devam

H12	46,XY,-10,+3 (1/3)	46,XY,fra(3)(p25) (1/50) 45,XY,-3 (1/50)	45,XX,-21 (1/10)	K12 (E)	46,XY
H13	45,XX,-12 (1/14)	45,XX,-11 (2/53) 48,XX,+15,+16[2],-12 (1/53) 45,XX,-8 (1/53) 45,XX,-4,-10 (1/53) 43,XX,+15,-8,-10,-19,-21 (1/53)	92,XXXX (1/17) 92,XXYY (1/17) 47,XY,+14 (1/17)	K13 (K)	46,XX
H14	44,XY,-17,-20 (1/26) 45,XY,-22 (1/26)	45,XY,-8 (1/57) +mar (1/57) cltb(3)(p21.2) (1/57) cltb(1)(q13.4) (1/57)	Üreme yok	K14 (E)	fra(4)(q27) (1/50)
H15	45,XY,-22 (1/53) 45,XY,-8 (1/53) 45,XY,-10 (1/53) cltb(5)(q33) (1/53)	45X,-Y (1/33) +mar(1/33) 44,XY,-21,-22 (1/33) 45,XY,-19 (1/33)	45,X,-Y (6/14) 45,X,+4q+,-Y (1/14) 43,X,-6,-8,-Y (1/14) 43,X,-18,-20,-Y (1/14) 92,XXYY (1/14)	K15 (E)	9qh+ (3/50) cltb(12)(q13) (1/50)

Tablo 7 Devam

H16	45,XY,-22 (2/56) +mar (1/56)	45,XY, gap(6)(q23),-14 (1/55) fra(5)(q31) (1/55) fra(2)(q35) (1/55) 45,X, gap(4)(q27),-Y (1/55) 47,XY,+4 (1/55) 45,XY, fra(X)(q13),-22 (1/55) fra(5)(q31) (1/55) fra(12)(q22) (1/55) fra(X)(q26) (1/55) 45,XY,-15 (1/55) 45,XY,-22 (1/55) 43,X,-Y,-7,-18 (1/55) fra(5)(q31) (1/55)	del(X)(q21-qter) (1/10) fra(12)(q24) (1/10) del(9)(q22-qter) (1/10)	K16 (K)	gap(1)(q32) (1/50) gap(5)(q32) (1/50) gap(4)(q31) (1/50) gap(10)(q24)(1/50)
H17	Yq+ (1/6) chr(4)(q31) (1/6)	47,XY,+21 (1/22) del(14)(q11.2-pter) (1/22) fra(11)(q23) (1/22) 45,XY,-19 (1/22)	Üreme yok	K17 (F)	fra(X)(q27) (1/50)
H18	44,XY,-18,-21 (1/50) 43,XY,-15,-18,-19 (1/50) 45,XY,-21 (1/50) chr(8)(q22) (1/50) inv(9)(p11;q12) (3/50) del(2)(p23-pter) (1/50)	del(5)(q31-qter) (1/50) 45,X,-8,-9,-Y,+21 (1/50) 47,XY,?(p) (1/50) 45,XY,del(1)(p32-pter),-19 (1/50) del(1)(p24-pter) (1/50) chr(8)(q23) (1/50) 45,XX,-19 (1/50)	Üreme yok	K18 (E)	9qh+ (3/50)

Tablo 7 Devam

H19	t(2;5)(p25;q14) (1/50) gap(2)(q23) (1/50) gap(2)(q35), (1/50) gap(4)(q31.3), gap(5)(q31) (1/50) gap(1)(q36.1), gap(5q31) (1/50)	45,XY,rbt(13;22)(p11;p11) (1/50) 45,XY,del(9)(q22-qter),-21 (1/50) del(2)(p24-pter) (1/50) t(12;17)(p13;q12) (1/50) 45,XY,-8 (1/50) 45,XX,-21 (2/50)	Üreme yok	K19 (K)	fra(1)(q42) (1/50) gap(7)(q22) (1/50)
H20	+mar (1/24) del(1)(q32→qter) (1/24) cltb(2)(q32.2) (1/24) 45,XX,-22 (1/24) cltb(4)(q31) (1/24)	t(3;12)(p26;q15) (1/30) del(10)(q23-qter) (1/30) 47,XXX (1/30) del(3)(q11-qter) (1/30) +acc (1/30)	15p+ (10/10) 47,XXX,15p+ (1/50) dmin (10<) (1/10) cltb(12)(q14.1) (1/50)	K20 (K)	46,XX
H21	45,XY,-22 (1/50) 44,XY,-13,-22 (1/50) 44,XY,-7,-22 (1/50) 45,XY,-13 (1/50) 45,XY,-16 (1/50)	t(10;14)(q26;q13) (1/50) 47,XY,+15 (1/50) del(2)(p13-pter) (1/50) 44,XY,-21,-13 (1/50)	92,XXYY (13/36) 92,XXYY, t(19;19)(q13.4;q13.4). t(21;22)(p13;p13) 45,XY,-14 92,XXYY, t(21;22)(p13;p13) t(7;15)(p22;q26) (1/36) 45,XY,-22 (1/36) 43,XY,-2,-4,-8,-15 (1/36) 45,XY,-12 (1/36) 44,XY,-4,-14 (1/36)	K21 (E)	46,XY

Tablo 7 Devam

H22	fra(2)(q21) (1/50) cltb(19)(q13) 44,XY,-2x2,clbt(2)(q31) (1/50)	+ace (1/50) 48,XY, +1,+19,+22 (1/50) cltb(1)(q21) (1/50)	69,XXY (2/30) 92,XXYY (2/30) 45,XY,-20 (1/30) cltb(2)(p15) (1/30) 45,X,-Y (1/30)	K22 (E)	gap(4)(q27) (1/50)
H23	46,XY (8/8)	45,XY,-14 (1/10) 45,XX,-8 (1/10) cltb(5)(q33) (1/10)	Üreme yok	K23 (K)	fra(5)(q31) (1/50)
H24	16ql+ (14/14)	+ace (1/20) fra(9)(q32) (1/50)	Üreme yok	K24 (K)	46,XX
H25		46,XY (1/20)	46,XY (1/10)	K25 (K)	fra(1)(q42) (1/50) fra(1)(q32) (1/50) cltb(X)(p22)(1/50) 9ql+ 1/50)
H26	46,XY (10/10)	45,XY,-17 (7/7)	Üreme yok	K26 (E)	46,XY
H27	45,X,-Y (1/25) clbt (5)(q33) (1/25)	45,XY,-8,11p+ (1/100) 47,XY,+21 (1/100) fra (1)(q32) (2/100) fra (1)(q42) (1/100) fra (1)(q22) (1/100)	Üreme yok	K27 (E)	46,XY

4.1.1. Kan Dokularında Saptanan Yapısal Düzensizlikler

Kan dokusunda saptanan delesyon, translokasyon, insersiyon ve inversiyon kromatid kırığı, kromozom kırığı, hsr bölgesi, duplikasyon, frajil bölge, gap bölgesi ve asentrik bölge gibi yapısal bozukluklar, incelenen tüm hücrelere ve düzensizlik saptanan hücrelere göre yüzdelik değerleri ile her bir kromozom bölgesi için Tablo 8’de gösterildi. Çalışmamızda, kan dokularından üretilen hücrelerdeki 1. kromozomda del(1)(p24-pter), del(1)(p32-pter), del(1)(q32-qter), del(1)(q41-qter), chtb(1q11), chtb(1)(q21), fra(1)(p36), fra(1)(p36.1), fra (1)(q21)x4, fra (1)(q22), fra(1)(q32)x3, fra (1)(q42), gap(1)(q21)[2] ve gap(1)(q36.1) yapısal düzensizlikleri saptandı (Tablo 8).

İkinci kromozomda del(2)(p13-pter), del(2)(p23-pter), del(2)(p24-pter), t(2;5)(p25;q14), chtb(2)(q23), chtb(2)(q32.2), fra (2)(p23), chrb(2)(q31)x2, fra(2)(q21), fra(2)(q31), fra(2)(q33), fra(2)(q35), gap(2)(q23), gap(2)(q35), hsr (2)(q22)x3 ve hsr(2)(q?)x2 yapısal düzensizlikleri saptandı (Tablo 8).

Üçüncü kromozomda del(3)(p13-p14), del(3)(p25-pter), del(3)(q11-qter), t(3;12)(p26;q15), chtb(3)(p21)x2, chtb(3)(p21.2), chtbr(3)(p21.3), chtb(3)(q26.2), fra(3)(p21)x2, fra(3)(p25)x3, gap(3)(p21), ve hsr(3)(q11-q13) yapısal düzensizlikler saptandı (Tablo 8).

Dördüncü kromozomda chtb(4)(q31), chrb(4)(q31), chbr(4)(q?), fra(4)(q33), gap(4)(q31.3) ve gap(4)(q27) yapısal düzensizlikler saptandı (Tablo 8).

Beşinci kromozomda del(5)(p14-pter), del(5)(q13-q15), del(5)(q31-qter), chtb(5)(p13), chtb(5)(q15), chtb (5)(q33), fra(5)(q31)x4 ve gap(5)(q31) yapısal düzensizlikler saptandı (Tablo 8).

Altıncı kromozomda fra (6)(p21)x3, fra (6)(q23) ve gap(6)(q23) yapısal düzensizlikler saptandı (Tablo 8).

Yedinci kromozomda del(7)(q11-q12), t(7;14)(p15;q24) ve fra(7)(q?) yapısal düzensizlikleri saptandı (Tablo 8).

Sekizinci kromozomda chrb(8)(q22) ve chrb(8)(q23) yapısal düzensizlikleri saptandı (Tablo 8).

Dokuzuncu kromozomda del(9)(q12-qter), del(9)(q22-qter), inv(9)(p11;q12)x3, inv(9)(p11;q13)x100, chbr(9)(q32), fra(9)(q32), 9qh+x69 yapısal düzensizlikleri saptandı (Tablo 8).

Onuncu kromozomda del(10)(q23-qter), del(10)(q24-qter) ve t(10;14)(q26;q13) yapısal düzensizlikleri saptandı (Tablo 8).

On birinci kromozomda del(11)(q?), chtb(11)(q13.4) ve fra(11)(q23) yapısal düzensizlikleri saptandı (Tablo 8).

On ikinci kromozomda t(12;17)(p13;q12), chtb(12)(q13), fra(12)(p13) ve fra(12)(q22)x2 yapısal düzensizlikleri saptandı (Tablo 8).

On üçüncü kromozomda del(13)(q32-qter), rbt(13;22)(p11;p11) ve inv(13)(p13;q14) yapısal düzensizlikler saptandı (Tablo 8).

On dördüncü kromozomda del(14)(q11.2-pter), t(14;22)(q32;q11.2) ve chbr(14)(?) yapısal düzensizlikler saptandı (Tablo 8).

On beşinci kromozomda 15p+ x58 yapısal düzensizliği saptandı (Tablo 8).

On altıncı kromozomda chtb (16)(q22) ve 16qh+ x14 yapısal düzensizlikleri saptandı (Tablo 8).

On yedinci kromozomda del(17)(q11-qter), del(17)(q21-qter), ve chtb(17)(p11) yapısal düzensizlikleri saptandı (Tablo 8).

On dokuzuncu kromozomda chtb(19)(q13) yapısal düzensizliği saptandı (Tablo 8).

Yirmi ikinci kromozomda 22p+ yapısal düzensizliği saptandı (Tablo 8).

X kromozomunda del(X)(p21-pter), izo(Xq/p), fra(X)(p22.1), fra(X)(q13) ve fra(X)(q26)x2 yapısal düzensizlikleri saptandı (Tablo 8).

Y kromozomunda Yq+ yapısal düzensizliği saptandı (Tablo 8).

4.1.2. Kanserli Mesane Dokularında Saptanan Yapısal Düzensizlikler

Kanserli dokulardan yapılan hücre kültürlerinin incelenmesi sonrası saptanan delesyon, translokasyon, insersiyon ve inversiyon kromatit kırığı, kromozom kırığı, hsr bölgesi, duplikasyon, frajil bölge, gap bölgesi, asentrik bölge gibi yapısal bozukluklar Tablo 8’de gösterilmiştir. Birinci kromozomda chtb(1)(q32), 2. kromozomda chtb(2)(p15), 3. kromozomda del(3)(p23-pter) ve chtb(3)(q26.2), 5. kromozomda gap(5q)(31)[2]x2, 6. kromozomda gap(6)(q15), 7. kromozomda t(7;15) (p22;q26), 9. kromozomda del(9)(q22-qter) ve 9qh+, 12. kromozomda chtb(12)(q14.1), chtb(12)(q13) ve fra(12)(q24), 15. kromozomda 15p+ x10, 19. kromozomda t(19;19) (q13.4;q13.4), 21. kromozomda t(21;22) (p13;p13)x2 ve X kromozomunda del(X)(q21-qter) yapısal bozukluklar saptandı (Tablo 8).

Bu bilgiler ışığında 1, 2, 3, 5, 9 ve 15. kromozomlarda yapısal düzensizliklerin daha sık olduğu ve özellikle 1q21, 1q32, 3p21, 5q31, 9p11 bölgelerinde yapısal bozuklukların daha sık görüldüğü ortaya çıkmaktadır.

Tablo 8. Kan ve mesane dokusunda incelenen hücrelerde saptanan yapısal sitogenetik düzensizlikler.

İncelenen normal karyotipli hücre sayısı (%)					
46,XX/XY		2024 (%76)			
YAPISAL KROMOZOM DÜZENSİZLİKLERİ (KAN)		YAPISAL KROMOZOM DÜZENSİZLİKLERİ (DOKU)		* (%)	** (%)
Karyotip	Düzensiz hücre sayısı	Karyotip	Düzensiz hücre sayısı		
del(1)(p24-pter)	1			0.04	0.16
del(1)(p32-pter)	1			0.04	0.16
fra(1)(p36.1)	1			0.08	0.31
fra(1)(p36)	1				
chtb(1)(q11)	1			0.04	0.16
gap(1)(q21)[2]	1			0.22	0.94
chtb(1)(q21)	1				
fra (1)(q21)	4				
fra (1)(q22)	1			0.04	0.16
fra(1)(q32)	3	chtb(1)(q32)	1	0.19	0.78
del(1)(q32-qter)	1				
gap(1)(q36.1)	1			0.04	0.16
del(1)(q41-qter)	1			0.04	0.16
fra (1)(q42)	1			0.04	0.16
del(2)(p13-pter)	1			0.04	0.16
		chtb(2)(p15)	1	0.04	0.16
fra (2)(p23)	1			0.08	0.31
del(2)(p23-pter)	1				
del(2)(p24-pter)	1			0.04	0.16
t(2;5)(p25;q14)	1			0.04	0.16
fra(2)(q21)	1			0.04	0.16
hsr (2)(q22)	3			0.11	0.47
gap(2)(q23)	1			0.08	0.31
chtb(2)(q23)	1				

Tablo 8 Devam

fra(2)(q31)	1			0.11	0.47
chrb(2)(q31)	2				
chtb(2)(q32.2)	1			0.04	0.16
fra(2)(q33)	1			0.04	0.16
fra(2)(q35)	1			0.15	0.63
gap(2)(q35)	1				
hsr(2)(q?)	2				
del(3)(p13-p14)	1			0.04	0.16
chtb(3)(p21.2)	1			0.26	1.10
chtb(3)(p21)	2				
gap(3)(p21)	1				
fra(3)(p21)	2				
chtbr(3)(p21.3)	1				
		del(3)(p23-pter)	1	0.04	0.16
fra(3)(p25)	3			0.15	0.63
del(3)(p25-pter)	1				
t(3;12)(p26;q15)	1			0.04	0.16
hsr(3)(q11-q13)	1			0.08	0.31
del(3)(q11-qter)	1				
chtb(3)(q26.2)	1	chtb(3)(q26.2)	1	0.08	0.31
gap(4)(q27)	1			0.04	0.16
gap(4)(q31.3)	1			0.11	0.47
chrb(4)(q31)	1				
chtb(4)(q31)	1				
fra(4)(q33)	1			0.04	0.16
chbr(4)(q?)	1			0.04	0.16
chtb(5)(p13)	1			0.04	0.16
del(5)(p14-pter)	1			0.04	0.16
del(5)(q13-q15)	1			0.04	0.16
chtb(5)(q15)	1			0.04	0.16
gap(5)(q31)	1	gap(5q)(31)[2]	2	0.3	1.25
fra(5)(q31)	4				
del(5)(q31-qter)	1				
chtb (5)(q33)	4			0.15	0.63
fra (6)(p21)	3			0.11	0.47
		gap(6)(q15)	1	0.04	0.16

Tablo 8 Devam

fra (6)(q23)	1			0.08	0.31
gap(6)(q23)	1				
t(7;14)(p15;q24)	1			0.04	0.16
		t(7;15) (p22;q26)	1	0.04	0.16
del(7)(q11-q12)	1			0.04	0.16
fra(7)(q?)	1			0.04	0.16
chrb(8)(q22)	1			0.04	0.16
chrb(8)(q23)	1			0.04	0.16
inv(9)(p11;q13)	100			3.87	16.14
inv(9)(p11;q12)	3				
del(9)(q12-qter)	1			0.04	0.16
del(9)(q22-qter)	1	del(9)(q22-qter)	1	0.08	0.31
fra(9)(q32)	1			0.08	0.31
chbr(9)(q32)	1				
9qh+	69	9qh+	1	2.63	10.97
del(10)(q23-qter)	1			0.04	0.16
del(10)(q24-qter)	1			0.04	0.16
t(10;14)(q26;q13)	1			0.04	0.16
chtb(11)(q13.4)	1			0.04	0.16
fra(11)(q23)	1			0.04	0.16
del(11)(q?)	1			0.04	0.16
fra(12)(p13)	1			0.08	0.31
t(12;17)(p13;q12)	1				
chtb(12q13)	1	chtb(12)(q13)	1	0.08	0.31
		chtb(12)(q14.1)	1	0.04	0.16
fra(12)(q22)	2			0.08	0.31
		fra(12)(q24)	1	0.04	0.16
rbt(13;22)(p11;p11)	1			0.04	0.16
inv(13)(p13;q14)	1			0.04	0.16
del(13)(q32-qter)	1			0.04	0.16
del(14)(q11.2-pter)	1			0.04	0.16
t(14;22)(q32;q11.2)	1			0.04	0.16
chbr(14)(?)	1			0.04	0.16
15p+	58	15p+	10	2.55	10.65
chtb (16)(q22)	1			0.04	0.16
16qh+	14			0.52	2.19

Tablo 8 Devam

chtb(17)(p11)	1			0.04	0.16
del(17)(q11-qter)	1			0.04	0.16
del(17)(q21-qter)	1			0.04	0.16
chtb(19)(q13)	1	t(19;19) (q13.4;q13.4),	1	0.08	0.31
		t(21;22) (p13;p13)	2	0.08	0.31
22p+	4			0.15	0.63
del(X)(p21-pter)	1			0.04	0.16
fra(X)(p22.1)	1			0.04	0.16
fra(X)(q13)	1			0.04	0.16
		del(X)(q21-qter)	1	0.04	0.16
fra(X)(q26)	2			0.08	0.31
izo(Xq/p)	1			0.04	0.16
Yq+	1			0.04	0.16

* = İncelenen tüm hücreler içindeki oran

** = Tüm düzensizlikler içindeki oran

4.1.3. Kan ve Kanserli Mesane Dokularında Saptanan Sayısal Düzensizlikler

Kan ve doku hücrelerinde saptanan sayısal kromozom düzensizlikleri Tablo 9 ve Tablo 10'da gösterildi. Bu sayısal kromozom düzensizlikleri içindeki monozomiler sıklık sırasına göre; kromozom Xx83, Yx30, 22x22, 21x16, 8x12, 17x12, 10x9, 18x8, 19x8, 20x7, 12x6, 14x6, 11x5, 13x5, 2x4, 3x4, 4x3, 15x3, 16x3, 1x2, 7x2, 9x2, 5x1 ve 6x1 şeklinde gözlemlendi. Trizomiler de sıklık sırasına göre kromozom 21x7, Yx4, 4x3, 15x3, 3x2, 4x2, 16x2, 1x1, 12x1, 14x1, 17x1, 19x1, 22x1, Xx1 ve şeklinde gözlemlendi (Tablo 10).

Genel olarak sayısal düzensizlikler sırasıyla 8, 17, 21, 22, X ve Y kromozomlarında daha sık olduğu gözlemlendi. Ayrıca sayısal ve yapısal düzensizlikler dışında 9qh+, 15p+ ve 16qh+'da kromozomal poliformik yapılar sık olarak gözlemlendi. Yapısal ve sayısal bozuklukların mikroskopik görüntüleri Şekil 2 ve Şekil 3'de gösterilmiştir.

Tablo 9. Kan ve mesane dokusunda saptanan saptanan sayısal sitogenetik düzensizlikler

SAYISAL KROMOZOM DÜZENSİZLİKLERİ (KAN)		SAYISAL KROMOZOM DÜZENSİZLİKLERİ (DOKU)	
42,?	(1/8)	42,XY,-2,-11,-12,-22	(1/12)
43,X,-1,-10,-Y	(1/32)	43,Y, -11,-17,-X	(1/20)
43,Y,-22[2],-X	(1/32)	43,X,-6,-8,-Y	(1/14)
43,X,-21, -Y	(1/20)	43,X,-18,-20,-Y	(1/14)
43,XY,-15,-18,-19	(1/50)	43,XXY, -2,-4,-8,-15	(1/50)
43,XX, +15,-8,-10,-19,-21	(1/53)		
43,X,-Y,-7,-18	(1/55)		
44,XY,-2x2	(1/50)	44,X,t(14;18)(p11;p11)	(1/20)
44,XY,-3,-18	(1/50)	44,XY,-12,-20	(1/50)
44,X,-Y,-8	(1/50)	44,XY,-3,-21	(1/10)
44,XY,-18,-21	(1/50)	44,XY,-4,-14	(1/36)
44,XX,-12,-21	(1/52)		
44,X,-Y,-18,-13,+12	(1/50)		
44,XY,-21,-22	(2/65)		
44,XY, +21,-13	(1/50)		
44,XY,-13,-22	(1/50)		
44,XY,-5,-17	(1/10)		
44,XY,-17,-20	(1/26)		
44,XY,-7,-22	(1/50)		
44,XX,-4,-10	(1/53)		
44,X,-8,-9,-Y,+21	(1/50)		
45,XY,-3	(2/100)	45,XY,-1	(1/19)
45,XX,-8	(6/273)	45,XY,-12	(1/36)
45,XY,-8,11p+	(1/100)	45,XY,-13	(1/20)
45,XY,-9	(1/10)	45,XY,-14	(1/36)
45,XX ve XY,-10	(5/187)	45,XY,-17	(1/50)
45,XX,-11	(2/53)	45,XY,-19	(1/20)
45,XX,-12	(1/14)	45,XY,-20	(1/30)
45,XY,-13	(1/50)	45,XX,-21	(1/10)
45,XY ve XX,-14	(4/100)	45,XY,-22	(1/50)
45,XY,-15	(1/55)	45,X,-Y	(9/67)
45,XY,-16	(3/150)	45,X,4q+,-Y	(1/14)
45,XX ve XY,-17	(9/89)	45,X,-Y	(1/50)
45,XY,-18	(2/60)		
45,XX ve XY, -19	(5/180)		
45,XY,-20	(2/60)		

Tablo 9. Devam

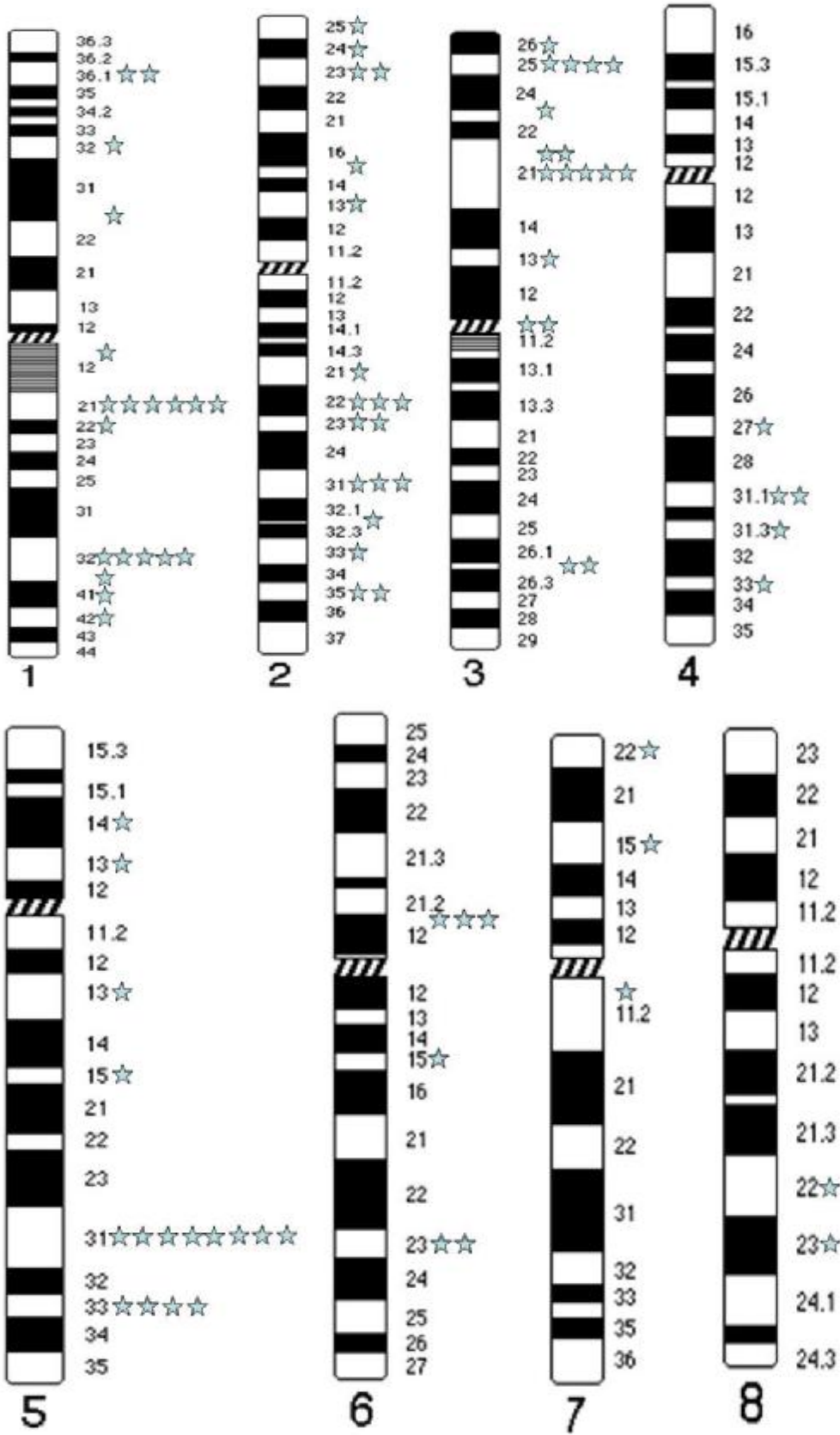
45,XY ve XX, -21	(8/222)		
45,XY ve XX,-22	(14/529)		
45,X	(81/152)		
45,X,-Y	(12/319)		
45,XY,-D	(1/30)		
46,XY, -10, +3	(1/3)	46,XX,+17,-20,9qh+	(1/50)
46,XY,-11,+mar	(1/50)		
46,XX,?15p+	(1/54)		
46,XY,-22	(1/30)		
47,XY,?(p)	(1/50)	47,XY,	(1/12)
47,XXX	(2/80)	47,XX, +ace	(1/12)
47,XY,+4	(1/55)	47,XY,+21	(1/12)
47,XY,+15	(1/50)	47,XY,+2	(2/19)
47,XY,+21	(3/149)	47,XY,+14	(1/17)
47,XY, (?)	(1/30)	47,XXX,15p+	(1/50)
47,XY,+ace	(4/150)		
47,XY +mar	(4/170)		
48,XY, +1,+19,+22	(1/50)	69,XXY	(2/30)
48,XX,+4,+21	(1/54)		
48,XX,+15,+16[2],-12	(1/53)		
48,XY,+3p,+ace	(1/50)		
92,XXYY	(10/135)	92, XXYY	(21/126)
		92,XXXX	(1/17)
		dmin (10<)	(1/10)

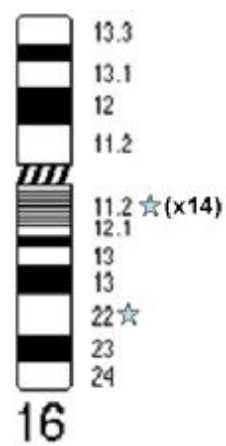
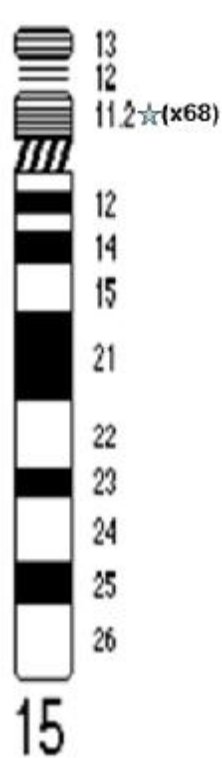
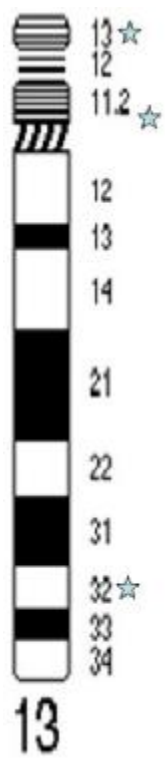
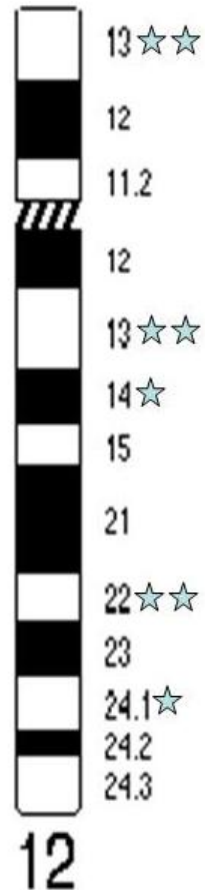
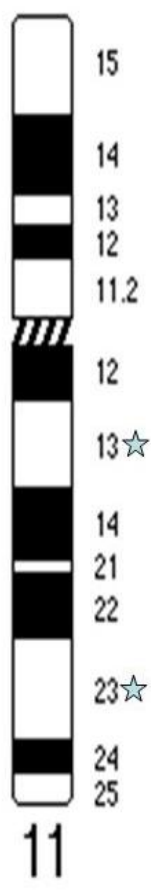
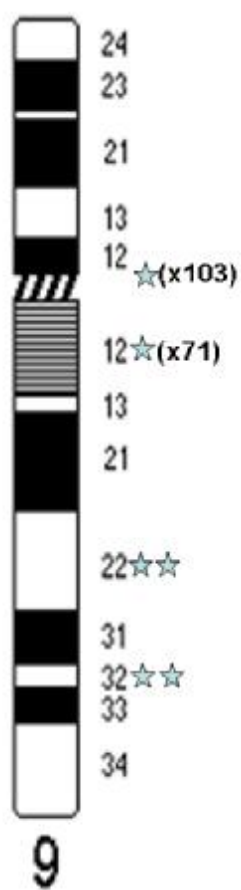
Tablo 10. Her bir kromozomda görülen yapısal ve sayısal düzensizliklerin sıklığı

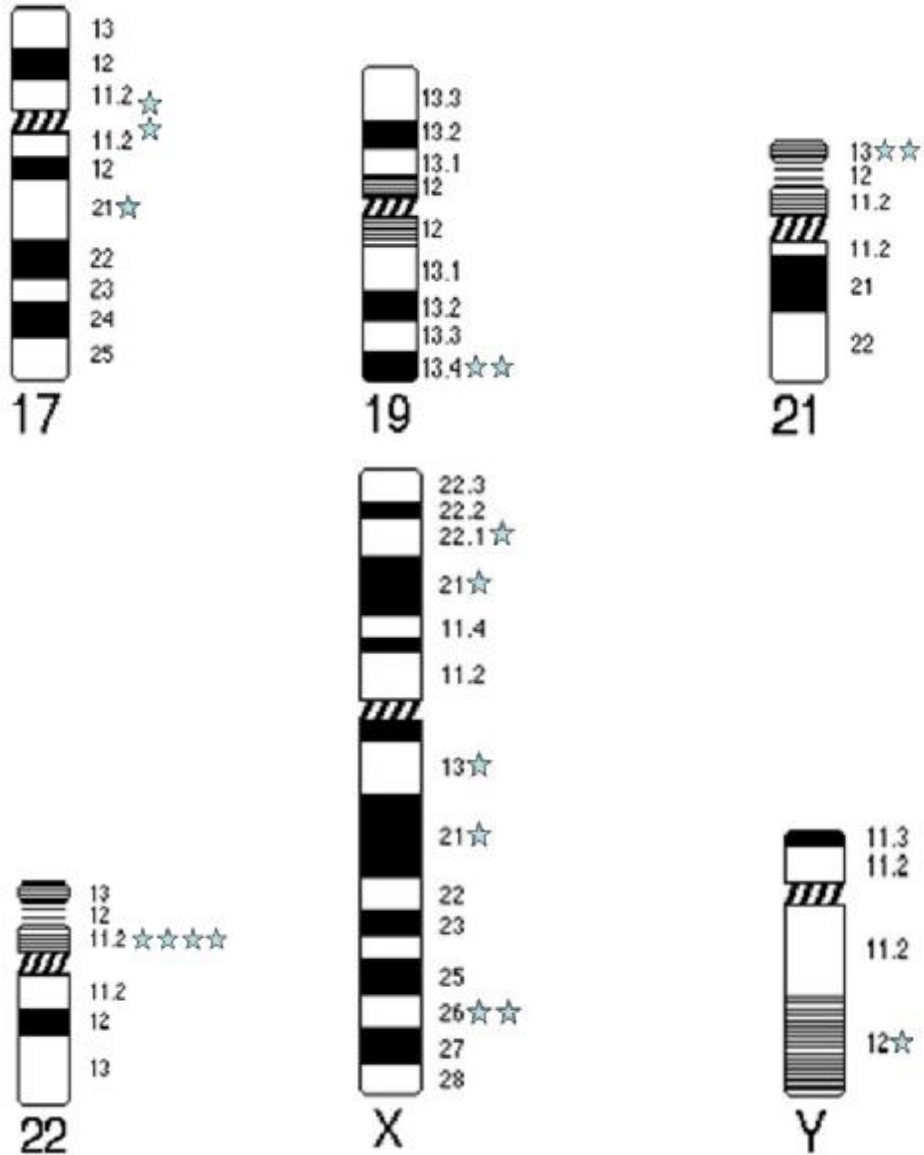
Kromozom no	Yapısal Düzensizlik		Sayısal Düzensizlik			Toplam Sıklık (%)
	n	Sıklık (%)	Monozomi	Trizomi	Sıklık(%)	
1	20	5.1	2	1	1.2	3.6
2	20	5.1	4	2	2.4	4
3	18	4.6	4	2	2.4	3.7
4	6	1.5	3	3	2.4	1.9
5	16	4.1	1	-	0.4	2.7
6	6	1.5	1	-	0.4	1.1
7	4	1	2	-	0.8	0.9
8	2	0.5	12	-	4.8	2.2
9	178	45.6	2	-	0.8	28.2
10	3	0.8	9	-	3.6	1.9
11	3	0.8	5	-	2	1.3
12	8	2	6	1	2.8	2.4
13	3	0.8	5	-	2	1.3
14	3	0.8	6	1	2.8	1.6
15	68	17,4	3	3	2.4	11.6
16	15	3,8	3	2	2	3.1
17	3	0.8	12	1	5.2	2.5
18	-	-	8	-	3.2	1.3
19	2	0.5	8	1	3.6	1.7
20	-	-	7	-	2.8	1.1
21	2	0.5	16	7	9.2	3.9
22	4	1	22	1	9.2	4.2
X	7	1.8	83	1	33.6	14.3
Y	1	0.3	30	4	13.6	5.5

n= hücre sayısı

Kromozom İdiyogramı







Şekil 4. Yapısal bozuklukların kromozom bölgeleri üzerinde dağılımı

(Yıldız: delesyon, translokasyon, kromatit kırığı, kromozom kırığı, hsr bölgesi, frajil bölge, gap bölgesi, asenstrik bölge, insersiyon ve inversiyon)

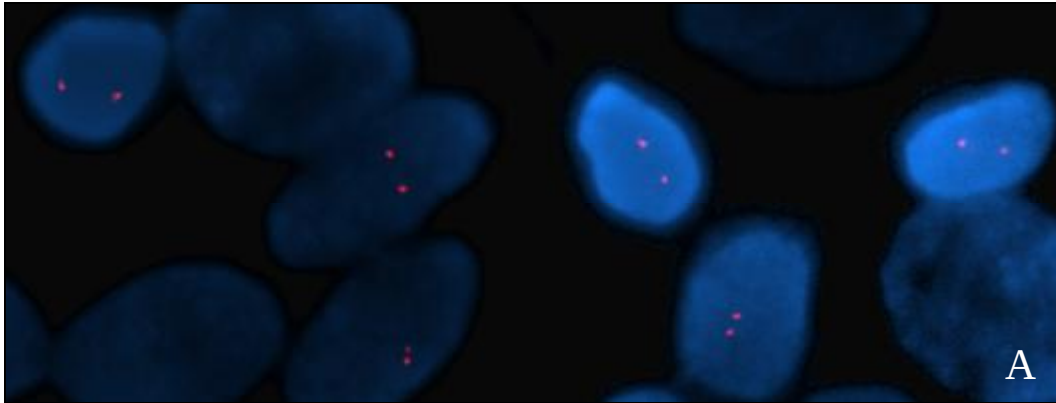
4.2. Moleküler Sitogenetik Bulgular

Çalışmamızda kanserli mesane dokularında FISH yöntemi kullanılarak p16 ve p53 gen bölgelerine bakıldı. İki hastanın dokusu elde edilemediğinden dolayı 32 hastanın dokusu çalışmaya alındı. Histopatoloji sonucuna göre düşük dereceli ürotelyal karsinomu olan hastaları bir grup, yüksek dereceli ürotelyal karsinomu olan hastaları da ikinci bir grup olarak ayırdığımızda ilk grupta ortalama p16 değişikliği $6,30 \pm 4,47$ (0 –

15) hücrede gözlenirken ikinci grupta ortalama $13,18 \pm 5,65$ (0 – 23) hücrede görüldü. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,002$) (Tablo4). Aynı şekilde p53 genini değerlendirdiğimizde ilk grupta ortalama $7,7 \pm 6,21$ (2 – 22) hücrede düzensizlik saptanırken ikinci grupta ortalama $12,4 \pm 5,99$ (0 – 25) hücrede düzensizlik saptandı. Bu farkta istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,039$) (Tablo4). Sınır değer olarak 10'un üzerini pozitif ve altını negatif aldığımızda 13 hastada p16 negatif çıkarken 19 hastada p16 anlamlı pozitif çıktı. p16 değeri pozitif çıkan 19 hastanın 17'sinin (%89,5) tümör patolojisi yüksek dereceli iken sadece 2 (%10,5) tanesinin düşük dereceli olduğu gözlemlendi. İstatistiksel olarak bu fark anlamlı bulundu ($p=0,002$) ve Odds oranı(%95 GA) 13,6 (2,2 – 85,8) olarak bulundu.

Çalışmamızda sınır değer olarak 10'un üzerini pozitif ve altını negatif aldığımızda p53 13 hastada negatif çıkarken, 19 hastada pozitif bulundu. p53 değeri pozitif olan 19 hastadan 16'sının (%84,2) tümör patoloji sonucu yüksek dereceli iken, 3 (%15,8) tanesinin düşük dereceliydi. İstatistiksel olarak bu fark anlamlı bulundu ($p=0,023$) ve Odds oranı(%95 GA) 6,22 (1,2 – 32,2) olarak bulundu. Bu iki gene ait FISH görüntüleri şekil 5'de görülmektedir.

Şekil 5. FISH görüntüleri



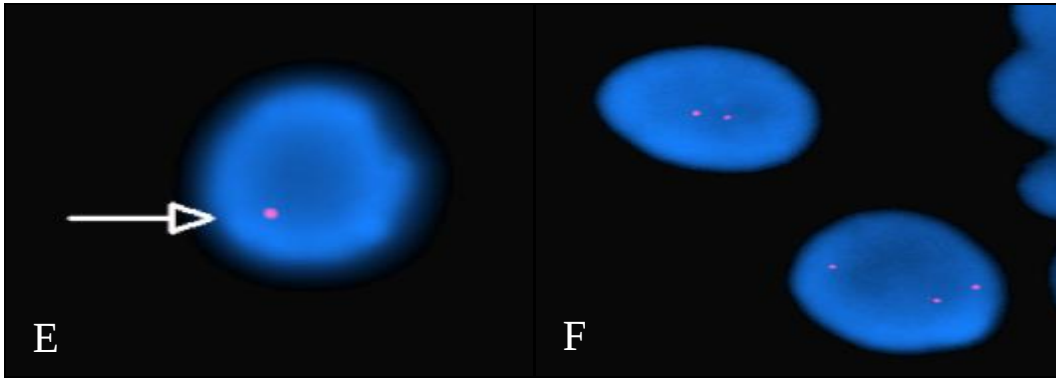
A Normal p53 görünümü



B p53 amplifikasyonu, C p53 delesyonu

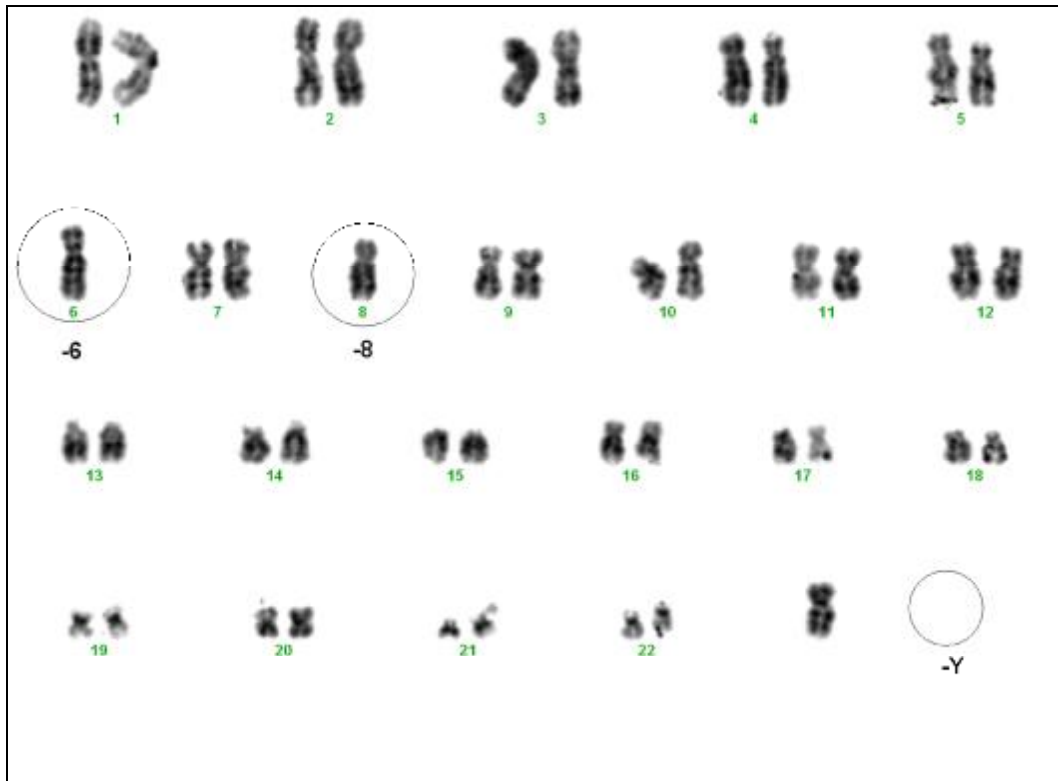


D Normal p16 görüntüsü

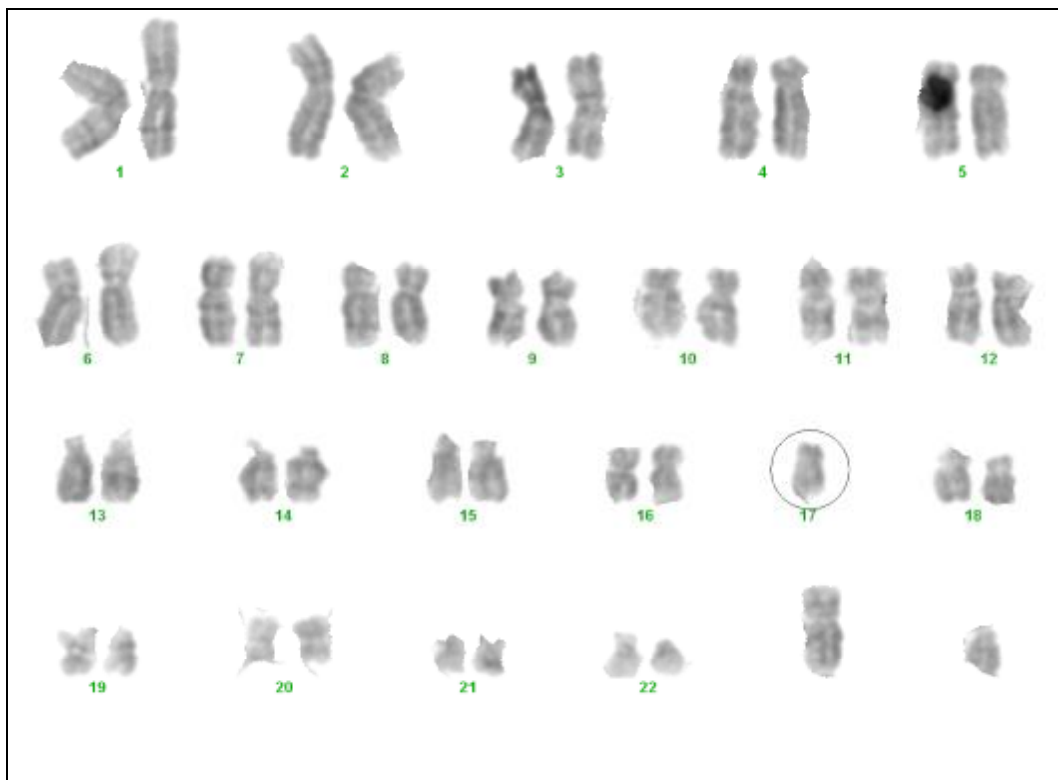


E p16 delesyonu, F p16 amplifikasyonu

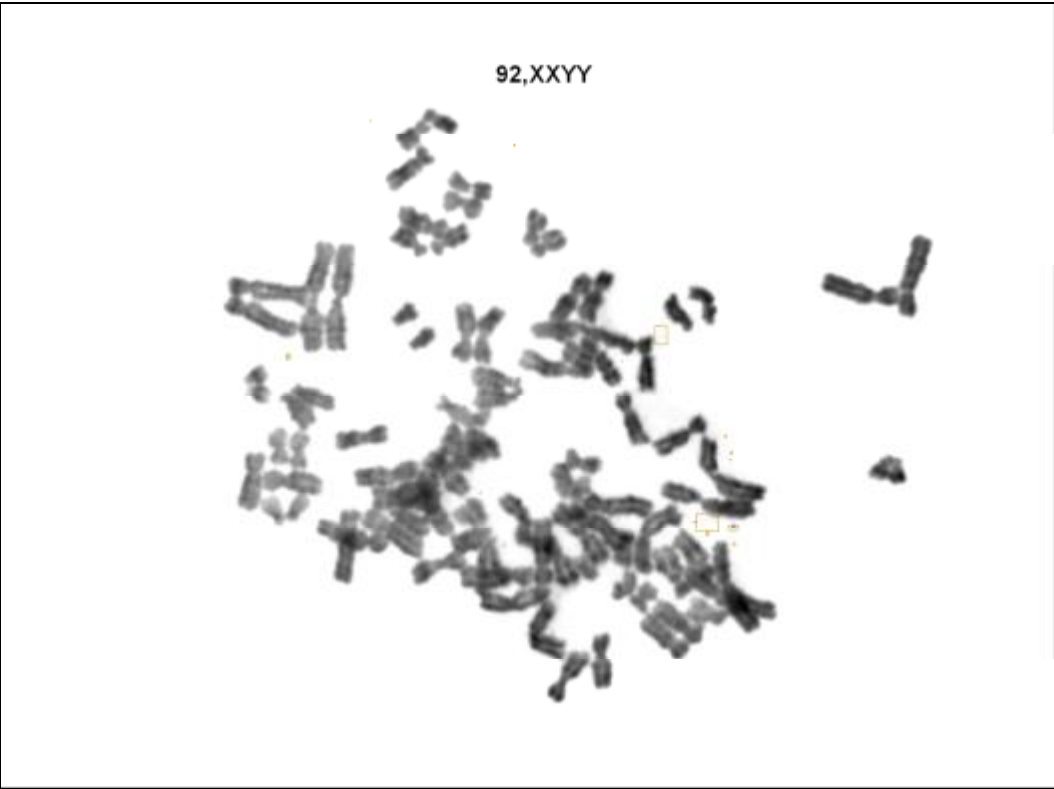
Şekil 6. Mesane dokusunda saptanan yapısal ve sayısal bozuklukların karyotip görüntüleri



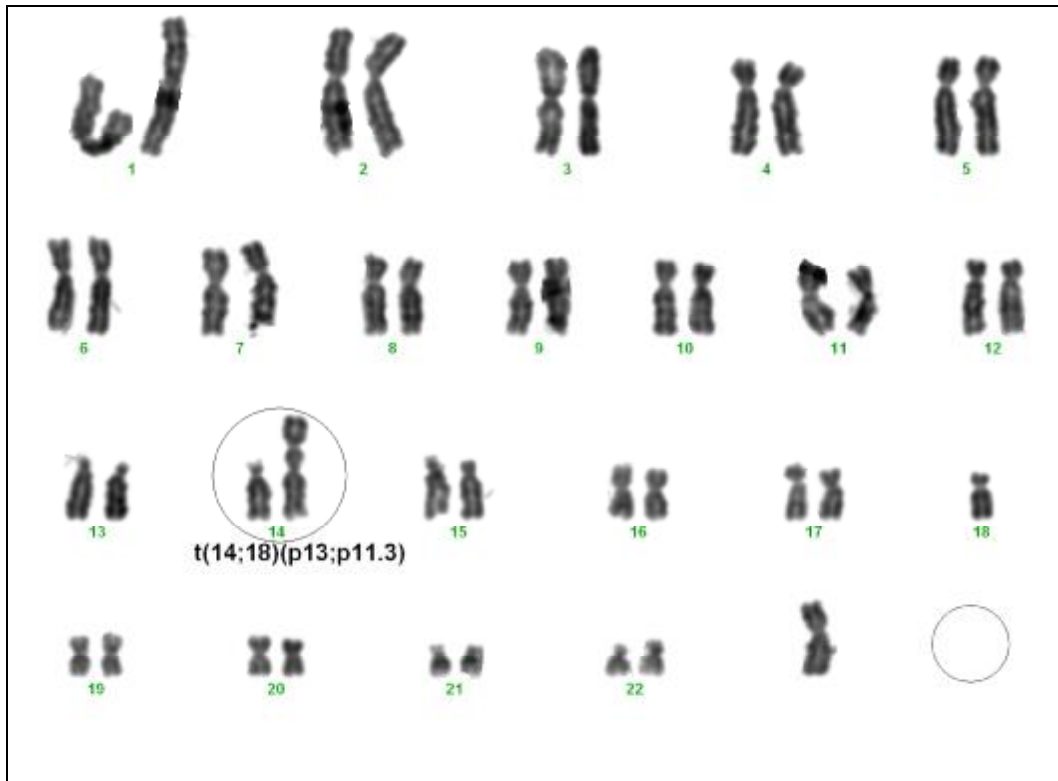
43, X, -6, -8, -Y



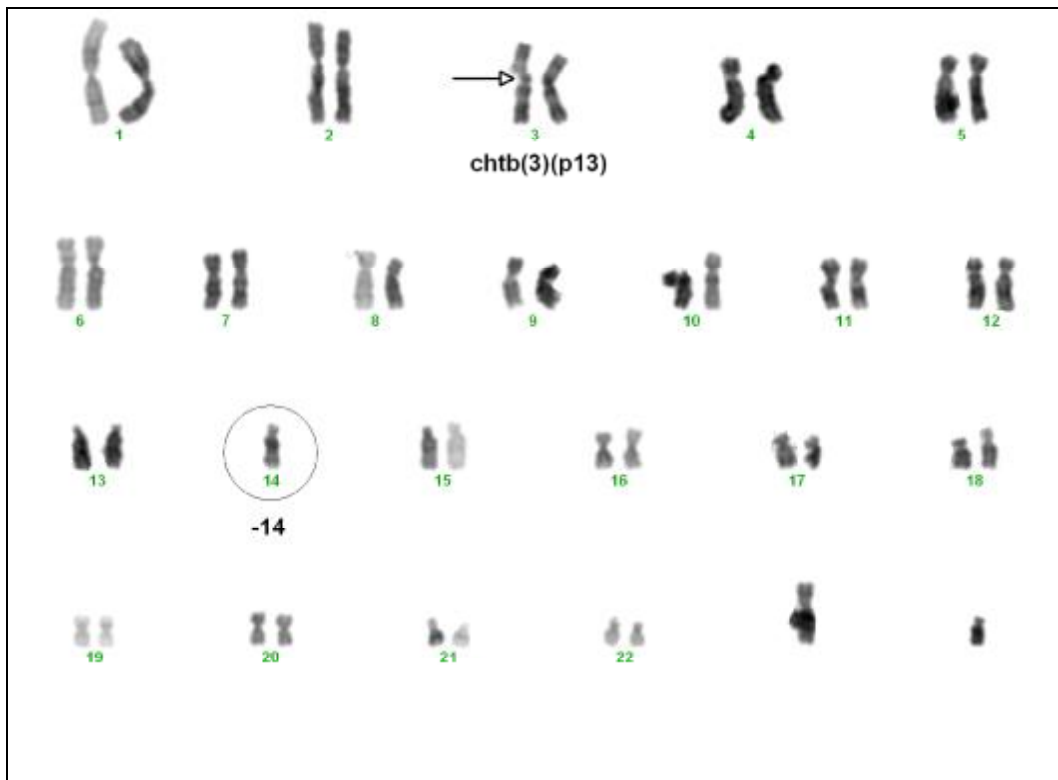
45, XY, -17



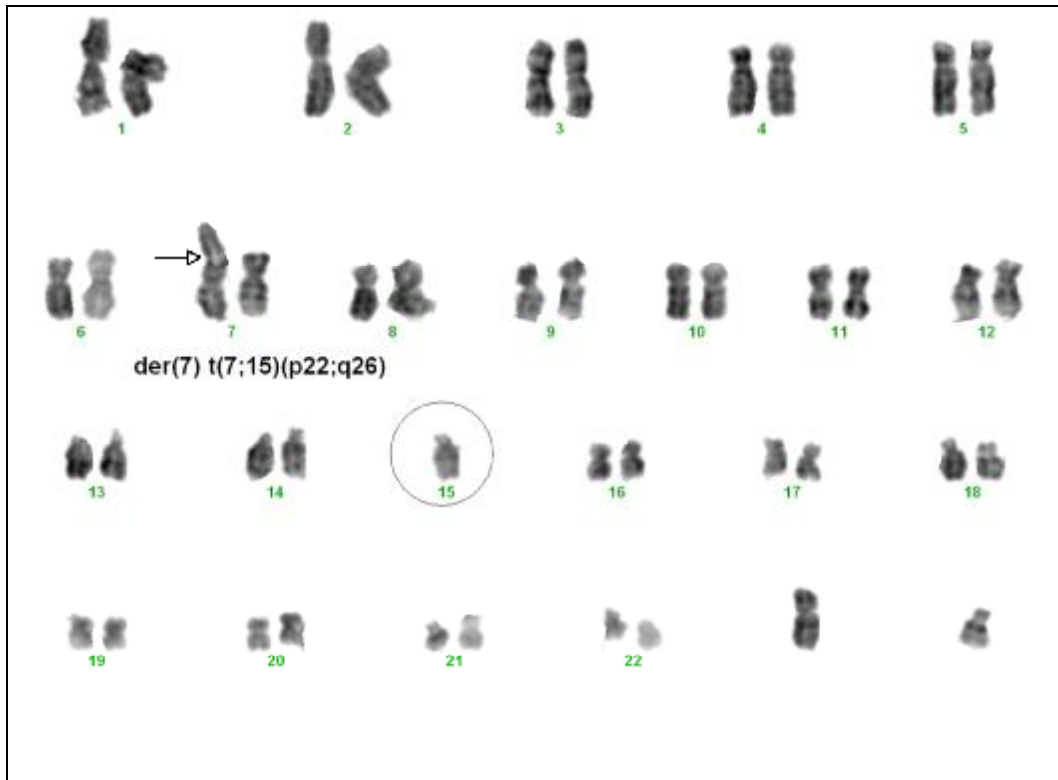
92,XXYY



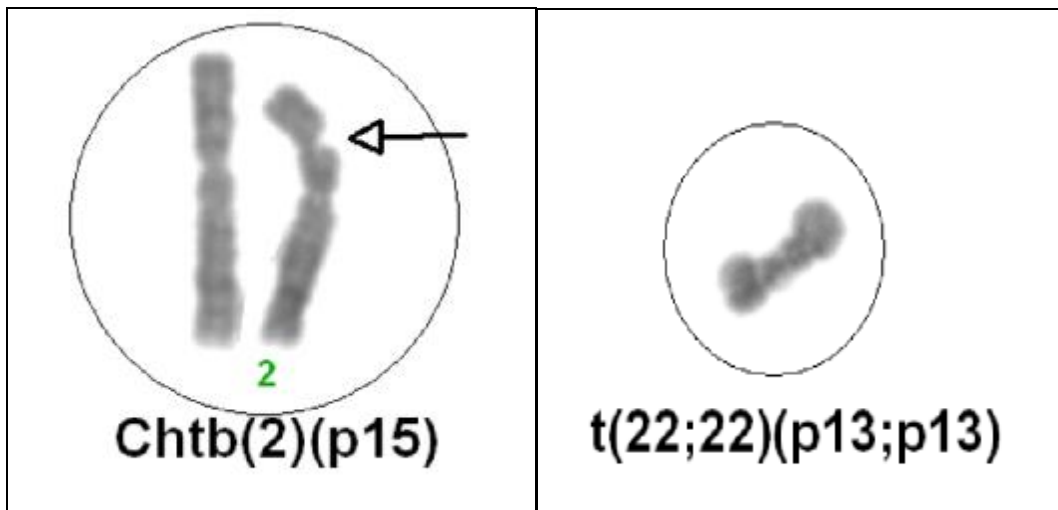
t(14;18)(p13;p11.3)



45, XY, -14 chtb(3)(p13)

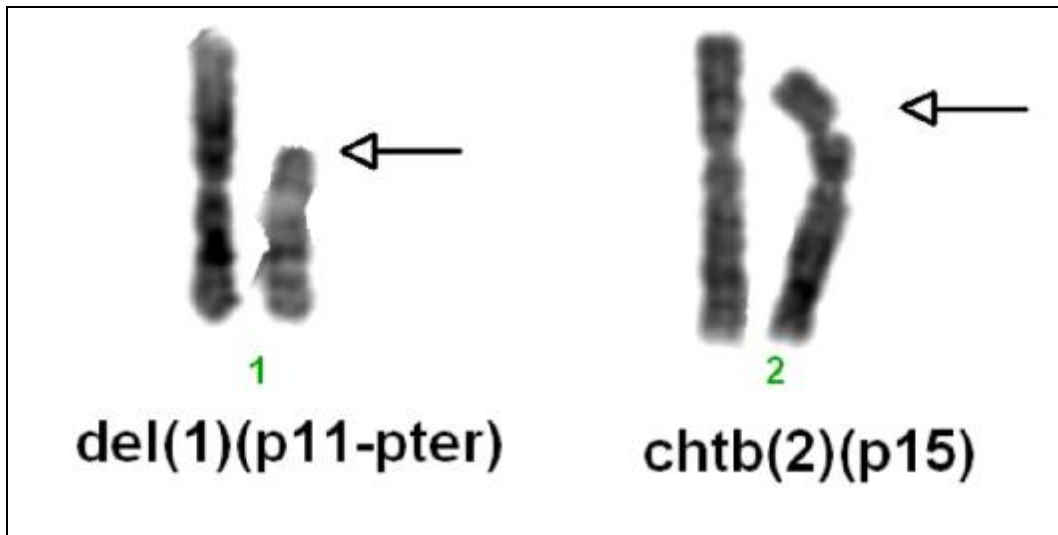


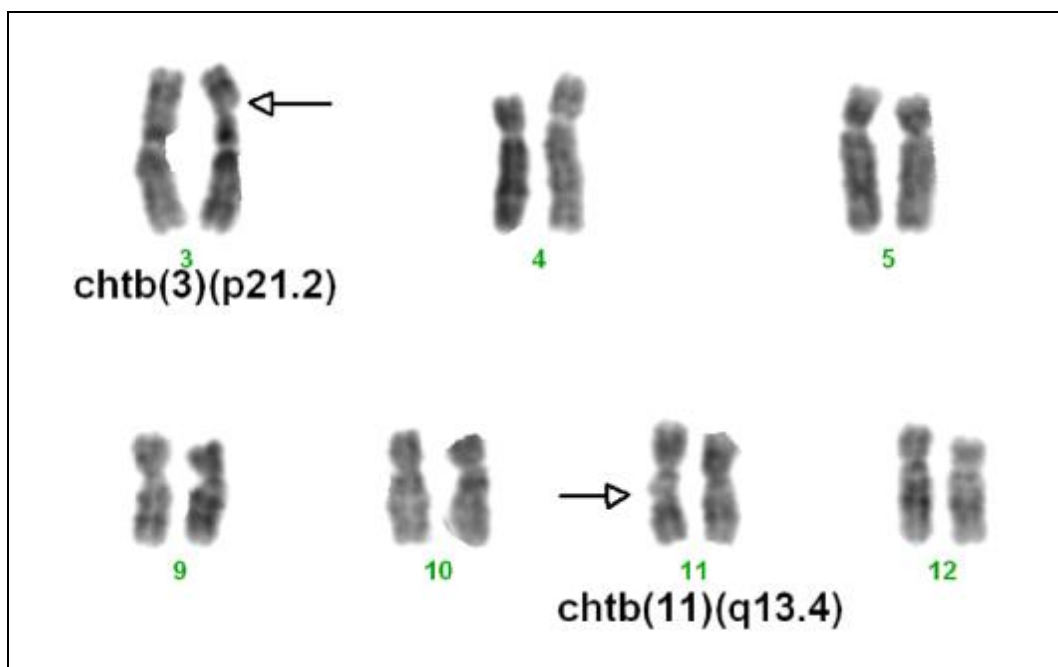
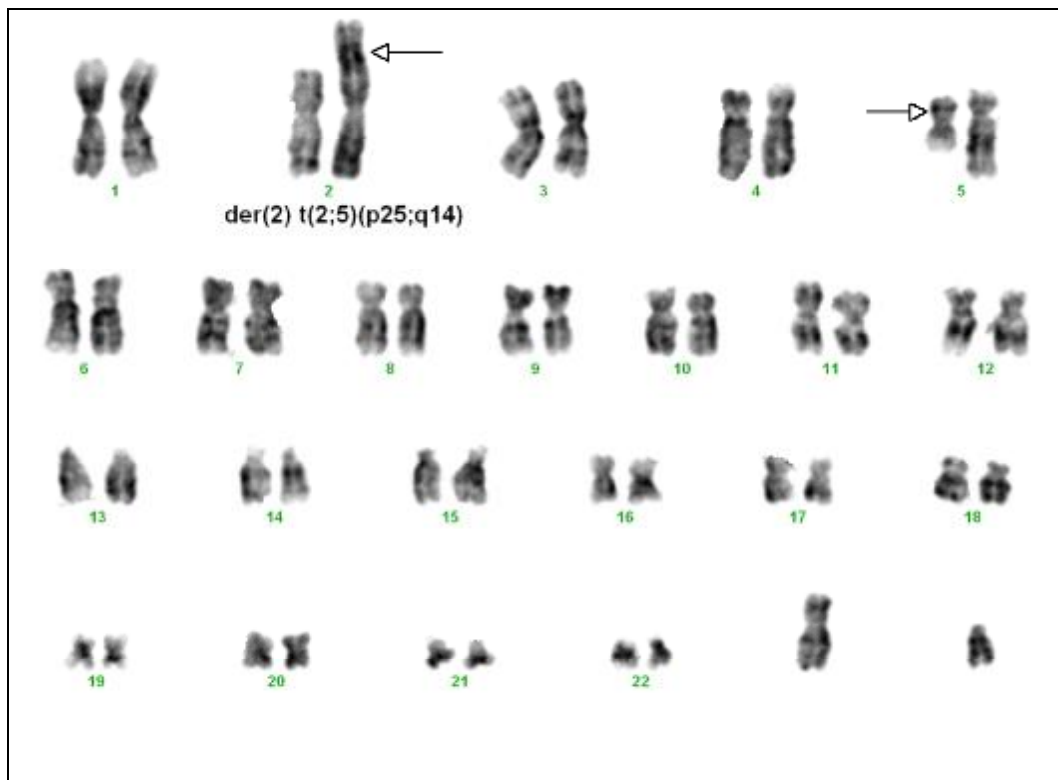
der(7) t(7;15)(p22;26)

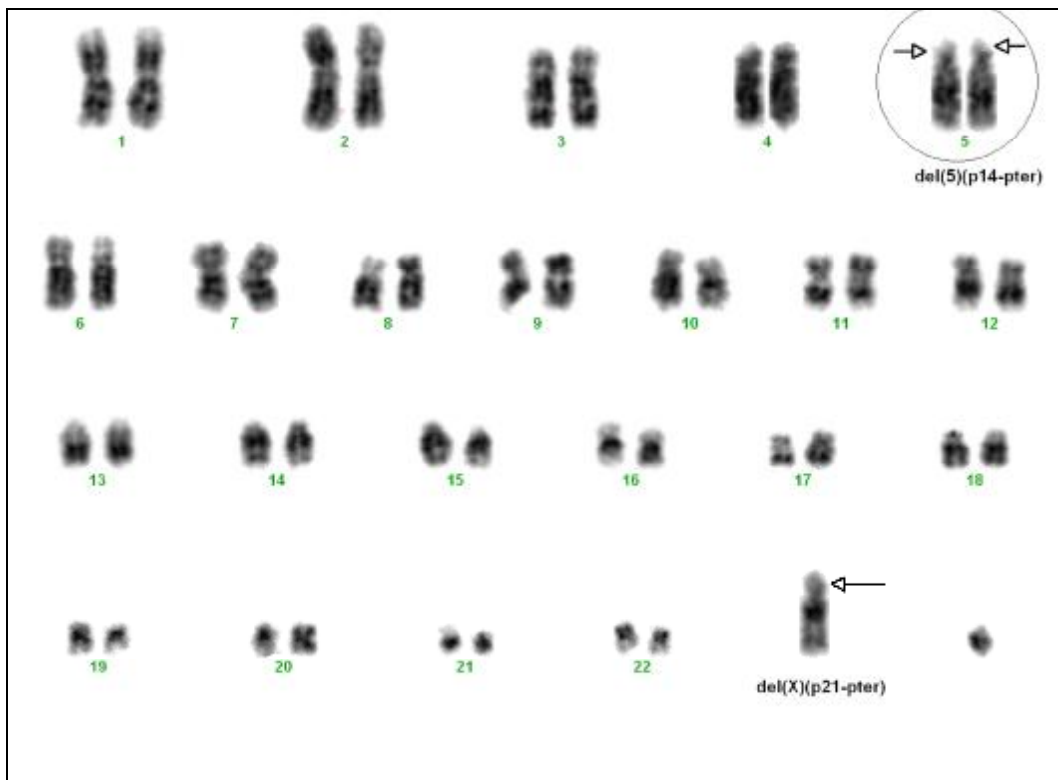
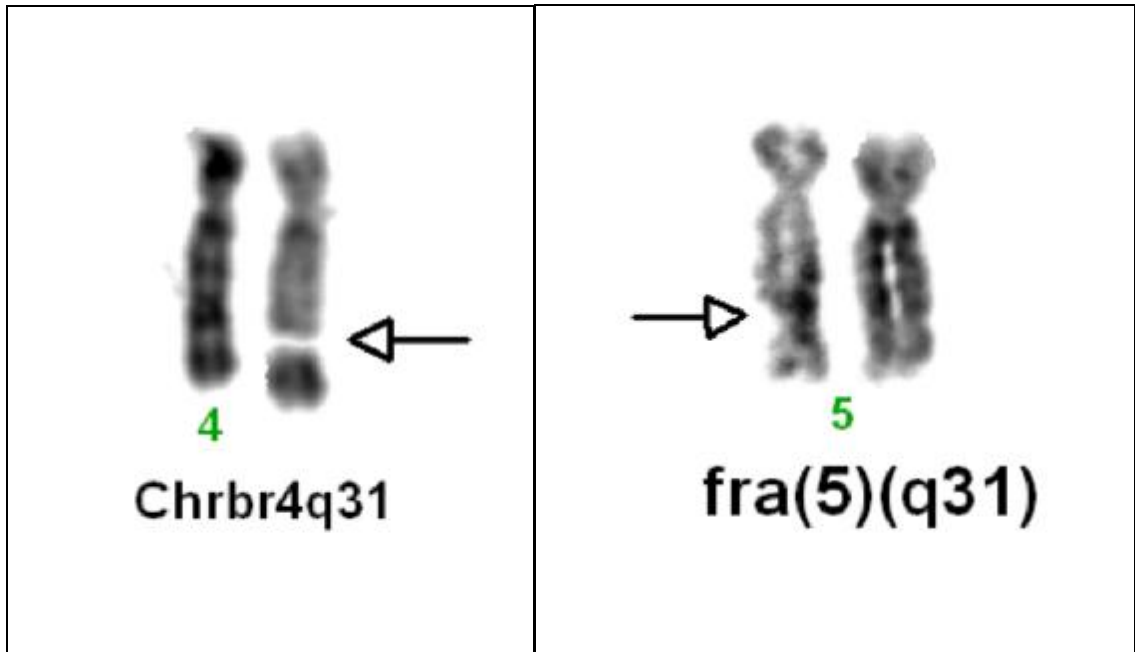




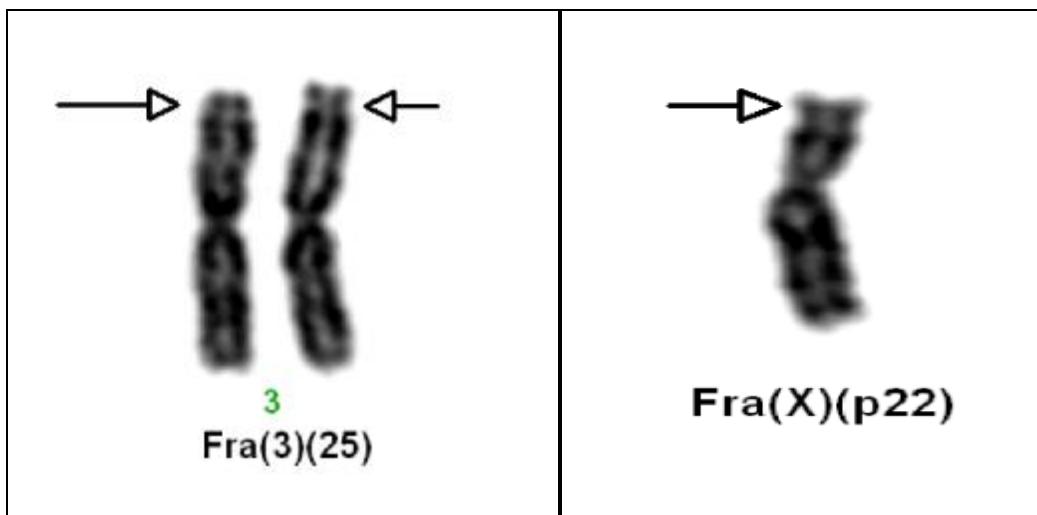
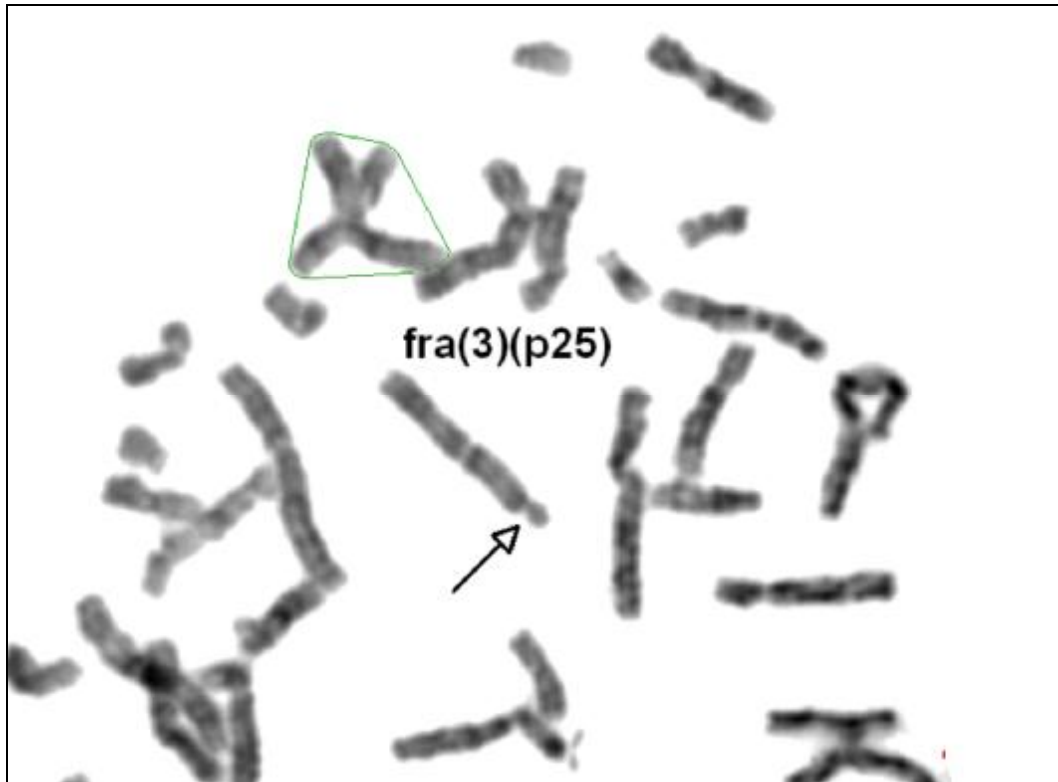
Şekil 7. Kan dokusunda saptanan yapısal ve sayısal bozuklukların mikroskobik görüntüleri

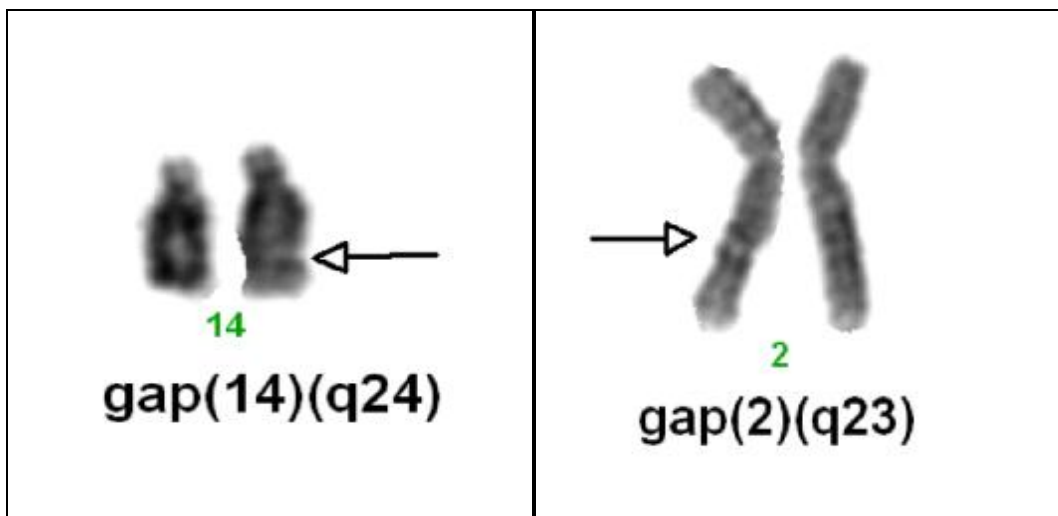
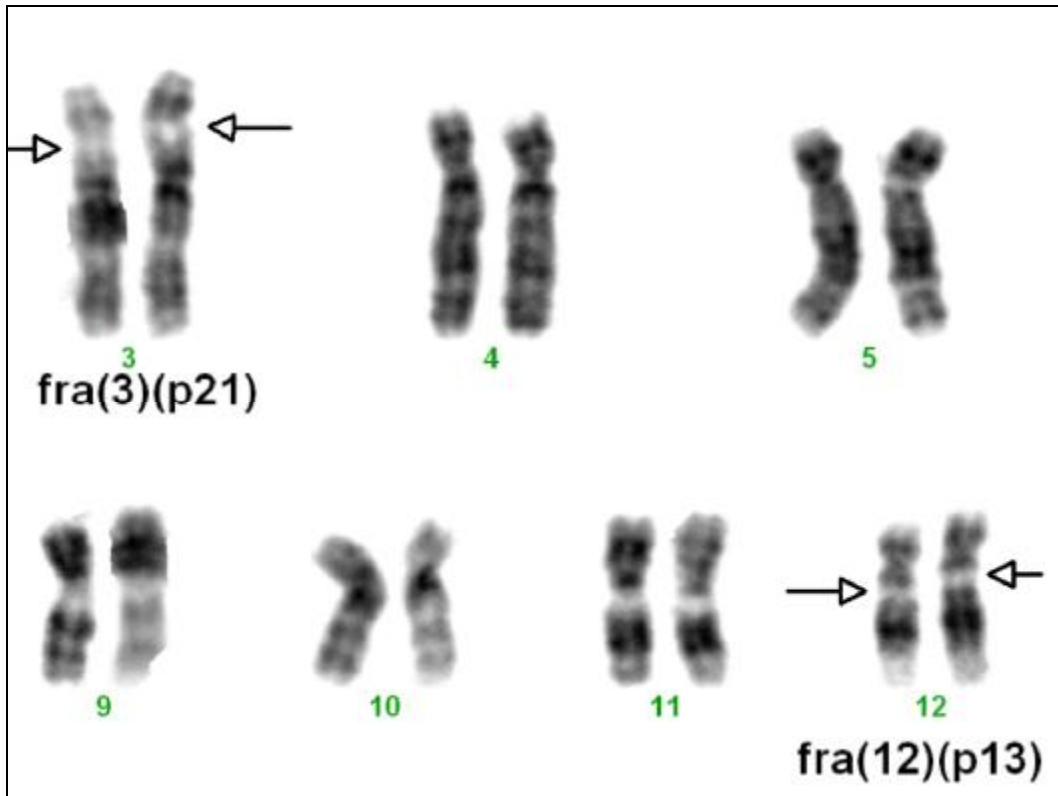


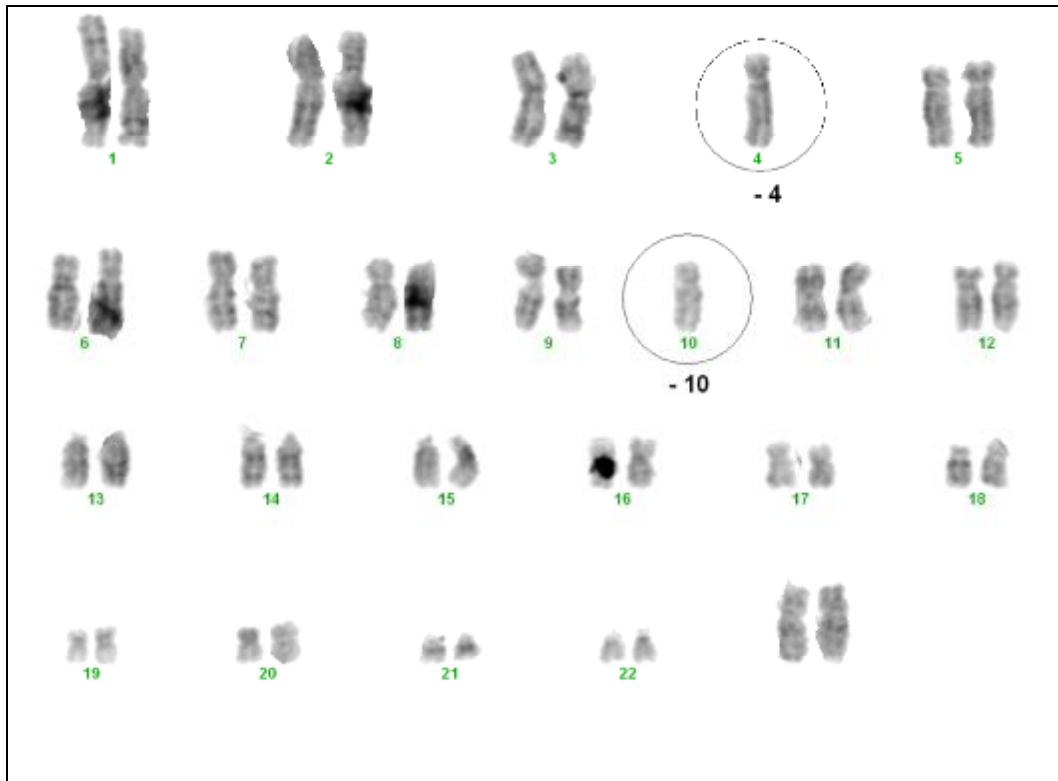




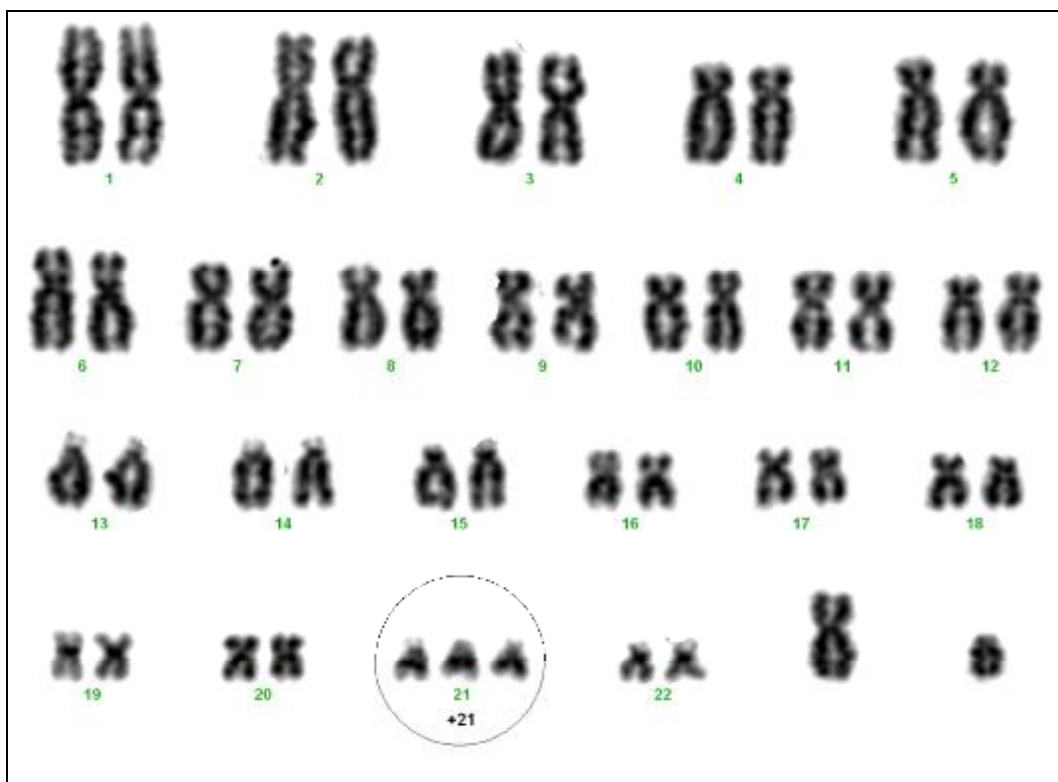
del(5)(p14-pter), del(X)(p21-ter)



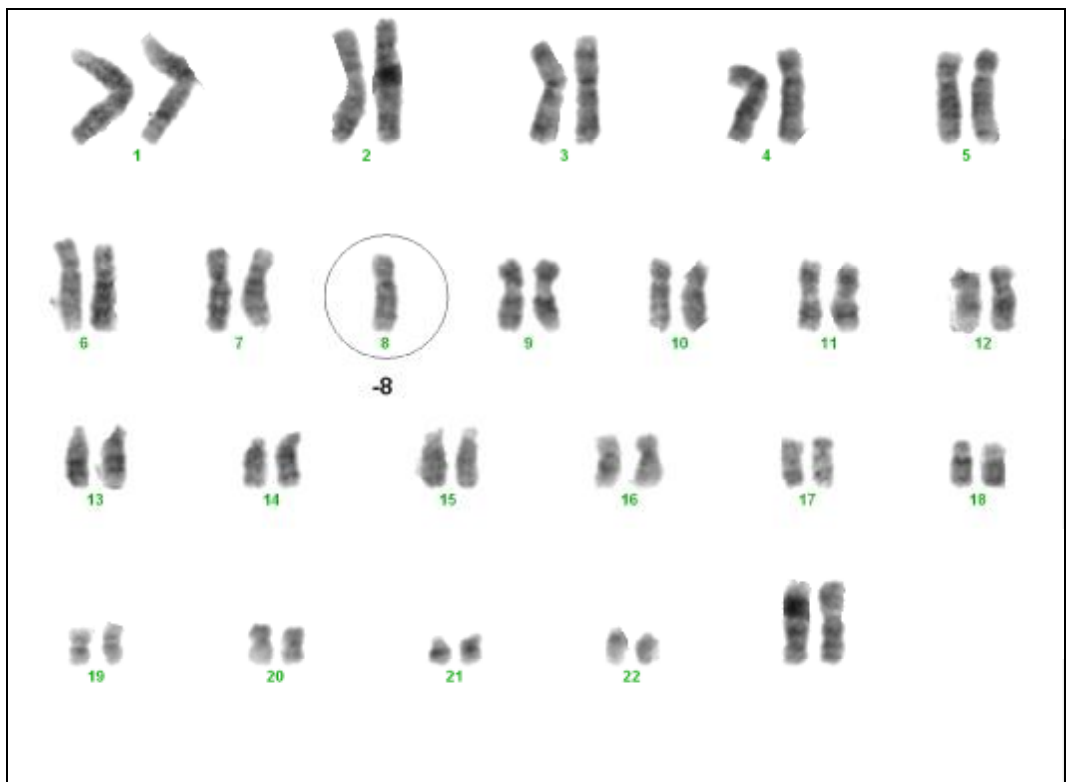




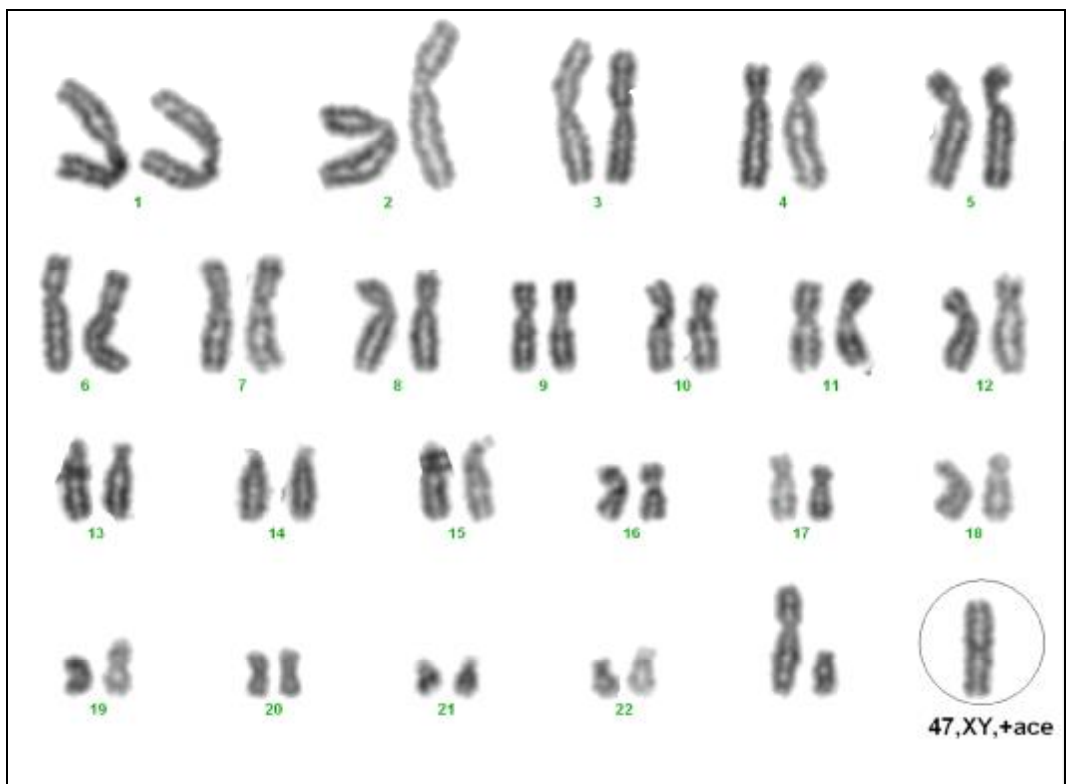
44,XX -4, -10



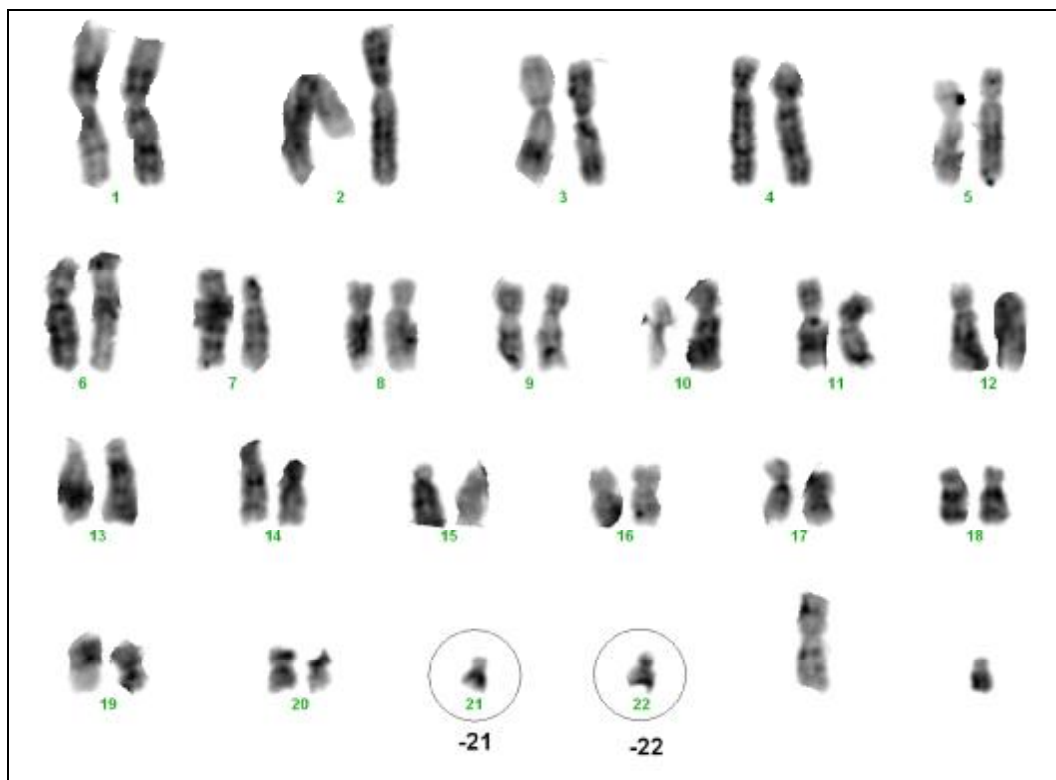
47,XY,+21



45,XX,-8



47,XY,+ace



44,XY,-21,-22

5. TARTIŞMA

5.1. Sitogenetik

Kromozomların belli bölgelerinde bulunan onkogen ve/veya tümör süpresör genlerin aşırı ifade edilmesi, baskılanması veya kayıpları, genetik dengesizliklere neden olarak tümör gelişimine veya ilerlemesine neden olur. Mesane kanseri gelişiminden sorumlu gen bölgelerinin tespiti konusunda yayınlanmış çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Kasa invaze olmayan mesane kanserli 41 hastada yapılan bir çalışmada, eski sınıflama sistemine göre G3 tümörü olanlarda G1 ve G2 tümörü olanlara göre 17q21.31 ve 10p12.31 bölgelerinde DNA kopya sayısında artış görülürken, 8p12, 11p15.1, 2q37.3, 17p13.3, 14q32.33, 15q12~q13.1 ve 8p23.3 bölgelerinde kayıp görülmüştür. Ayrıca 8p23.3'ün kaybının tümör rekürrensi, ileri evre ve yüksek tümör derecesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.²⁷ Chan ve ark. 21 mesane kanserli hastada yaptıkları çalışmada en sık allelik dengesizliği 1q, 2q, 3p, 4q, 8p, 9p ve q, 10p ve q, 11p ve q, 12q, 13q, 15q, 17p ve 19q'da gördüklerini söylemişlerdir.²⁸ Başka bir çalışmada 3q22-q24, 5q22-q31, 9q21-q22, 10q26, 13q14 ve 17p13 gen bölgelerinin mesane kanseri gelişiminde kritik bölgeler olduğu bildirilmiştir.²⁹

Çalışmamızda; 1. kromozomda daha sık bulduğumuz yapısal düzensizlikler 1p36, 1q21 ve 1q32 bölgelerinde yoğunlaşmaktadır. Ayrıca 1p24, 1p32, 1q11, 1q22, 1q36, 1q41 ve 1q41 bölgelerinde de daha az sıklıkta düzensizlikler gözlemlendi. Birinci kromozomun kısa kolunun distal kısmında p73 ve RIZ (retinoblastomla ilişkili çinko geni) gibi tümör süpresör genlerin bulunduğu düşünülmektedir. Mesane kanserinde, tümör gelişimi ve apoptoziste önemli olan p73 geni birinci kromozomun p36.3 bölgesinde bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda, p73'ün tümör süpresör bir gen olmadığı sessiz bir gen bölgesinin aktivasyonu ile aşırı ekspresyonunun mesane kanserinin ilerlemesinde rolü olabileceği öne sürülmüştür.¹² Çin'de yapılan ve 46 mesane kanserli hastanın değerlendirildiği bir çalışmada en sık değişikliğin 1. kromozom üzerinde görüldüğü bildirilmiş ve özellikle 1p32-pter ve 1q21-24 bölgelerinin önemi vurgulanmıştır.³⁰ Nitekim bulgularımızda da birinci kromozomdaki bu bölgelerde hasarlara rastlanmıştır.

İkinci kromozomda 2q22 ve 2q31 bölgelerindeki değişiklikler daha sık gözlemlendi. Bununla birlikte daha az olarak 2p13, 2p23, 2p24, 2p25, 2q21, 2q23, 2q32.2, 2q33 ve 2q35 bölgelerinde de düzensizlikler tespit edildi. Ayrıca 2. kromozom yapısal düzensizliği en sık gözlemlendiğimiz kromozomlar arasında yer almaktaydı. Rothman ve ark. yaptıkları çalışmada 2q37.1 kromozom bölgesinin mesane kanseri ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir³¹. Kasa invaze olmayan mesane kanserli 41 hastada yapılan bir çalışmada, eski sınıflama sistemine göre G3 evre tümörü olanlarda G1 ve G2 tümörü olanlara göre 2q37.3 bölgesinin daha sık kayıp görülen bölgelerden biri olduğu bildirildi.²⁷

Üçüncü kromozomda yüksek sıklıkta hasarlar 3p21, 3p25, 3q11 ve 3q26 bölgelerinde gözlemlendi. Renal hücreli karsinomda tümör süpresör gen olabileceği düşünülen ve 3p21.1 bölgesinde bulunan TU3A ‘nın mesane ve testis gibi organların kanserlerinde de rolü olabileceği bildirilmiştir.³² Lehmann ve ark. 3q28 bölgesinde bulunan TP63’ün tümör süpresör gen olan TP53 ile yakın benzerlik gösterdiğini, hücre döngüsü ve apoptozis ile ilişkide bulunduğunu ve bu gendeki değişimin mesane kanser riskini arttırdığını bildirmişlerdir.³³ Yine GWAS (Genome Wide Association Studies) çalışmasında 3q28 bölgesinin mesane kanseri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.³¹ Ayrıca 3p13, 3p23 ve 3p26 bölgelerinde de yapısal düzensizliklere rastladık ve yapısal düzensizlikleri sık gördüğümüz kromozomlardan biri de 3. kromozomdu.

Çalışmamızda 5. kromozomda özellikle 5q31 ve 5q33 bölgelerinde düzensizliklere sık rastlandı. Ayrıca daha az sıklıkta 5p13, 5p14, 5q13 ve 5q15 bölgelerinde de düzensizlikler gözlemlendi. Literatüre baktığımızda, bir çalışmada; 5p15 ve 15q25 bölgelerindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNPs) mesane kanseri gelişiminde önemli rol oynadığı rapor edilmiştir.³⁴ Başka bir çalışmada 5. kromozomun kısa kolundaki translokasyon ve kayıpların, uzun kolunda da q13.22 veya q11-31 gen bölgelerindeki değişikliklerin mesane kanseri olan hastalarda gösterildiği bildirilmiştir.³⁵ Yaptığımız çalışmada 5q31 bölgesindeki düzensizliğin tüm düzensizlikler göz önüne alındığında nispeten yüksek olduğunu gördük ve literatürde bu bölge ile ilgili az sayıda yayına rastladık. Bu bölgenin mesane kanseri ile ilişkisi açısından önemli olduğunu ve gen çalışmaları bakımından daha detaylı incelenmesi gerektiğini söyleyebiliriz. Kanetsky ve ark. germ hücreli testis kanseri olanlarda 12p22 ve 5q31 bölgelerinde genetik değişiklikleri sık gördüklerini bildirmişlerdir.³⁶ Dallosso

ve ark. Wilms tümörlü hastalarda yaptıkları çalışmada 5q31 bölgesindeki protokadherin gen kümesinin malin dönüşüm sırasında sessiz kaldığını ve bu protokadherin proteinlerinin tümör süpresör özelliği olabileceğini söylemişlerdir.³⁷ Ayrıca 5. kromozom yapısal düzensizliğe sık rastladığımız kromozomlardan biriydi.

Altıncı kromozomda gördüğümüz en sık düzensizlik 6p21 bölgesindeydi. Maleno ve ark. tümör immünolojisinde rol oynayan HLA sınıf 1 molekülünün ağır zincirini kodlayan gen bölgesinin bulunduğu 6p21 ile HLA kompleksinin hafif zincirini kodlayan β 2-mikroglobulin geninin bulunduğu 15q21 bölgesini incelemişler ve 15q21 bölgesindeki heterozigot kaybının mesane kanserli hastalarda sık olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca 15q21 ve 6p21 bölgelerindeki heterozigot kayıp birlikteliğinin tümör immünolojisinde önemli rol oynayabileceğini belirtmişlerdir.³⁸ Bu bölge dışında 6q15 ve 6q23 bölgelerinde de düzensizlikler rapor ettik.

Çalışmamızda yapısal düzensizlikleri 8. kromozomda 8q22 ve 8q23 bölgelerinde görmekle birlikte daha çok kromozom monozomisi şeklinde sayısal anöploidik düzensizlikleri rapor ettik. Matsuda ve ark. 8q24.3 bölgesinde bulunan LY6K geninin onkogenik aktiviteye sahip olduğunu ve bu genin mesane kanseri gelişiminde önemli rolü olabileceğini göstermişlerdir.³⁹ Williams ve ark. 8p'nin proksimal bölgesindeki amplifikasyonların, 8p'nin distal bölgesinde olan kayıplarla kombine olduğunda ve ayrıca 8p üzerinde olan heterozigot kayıplarının ve düşük gen ekspresyonlarının mesane kanseriyle ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte 8p11.21, 8p11.23, 8p12, 8p21.3, 8p22, 8p23.2 ve 8p23.3 bölgelerinin de 8. kromozom üzerindeki önemli kırılma noktaları olduğunu vurgulamışlardır.⁴⁰ GWAS (Genome Wide Association Studies) çalışmasında 8q24.21 ve 8q24.3 bölgelerindeki değişikliklerin mesane kanserinde riski arttırdığı gösterilmiştir.³¹ Tüm bu bilgiler 8. kromozomun mesane kanseri öyküsünde önemli bir kromozom olduğunu göstermektedir.

Mesane kanseri ile ilgili yapılan çalışmalarda en sık değişiklik saptanan kromozom 9. kromozom olduğu görülmektedir.^{1,2} Çalışmamızda da benzer şekilde en çok yapısal düzensizlik taşıyan 9. kromozom oldu. 9p11, 9q+, 9q12, 9q22 ve 9q32 bölgeleri yapısal düzensizliği en sık gördüğümüz bölgelerdi. Mesane kanserinin tüm evre ve derecelerinde görülen en sık kromozomal değişiklik 9. kromozomda heterozigot kaybıdır. Dokuzuncu kromozomdaki kaybın histolojik olarak normal, hiperplastik veya displastik ürotelyumda da gösterilmiş olması bu kaybın mesane tümörü gelişiminde

erken gelişen olaylardan biri olduğunu düşündürmektedir. Uzun kolda en sık etkilenen bölgeler 9q22, 9q32 – 33 ve 9q34'dür. Knudson'un hipotezine göre 9. kromozomun uzun kolunda bir veya daha çok tümör süpresör gen bulunmaktadır. Bununla birlikte kısa kolda da delesyonlar görülmektedir ve üzerinde en çok çalışılan bir tümör süpresör gen olan ve 9p21 bölgesinde bulunan CDKN2A genidir. Bu gen hücre döngüsü düzenleyicileri olan p16 ve p14 proteinlerini kodlar.¹ Bu da bize 9. kromozomun mesane tümöründe önemli yeri olduğunu işaret etmektedir.

On ikinci kromozomda 12p13, 12q13, 12q14.1, 12q22 ve 12q24 bölgelerinde değişiklikleri saptadık. Vecchione ve ark. 12q24 bölgesinde bulunan mitostatin geninin tümör süpresör gen olabileceğini ve mitostatin proteininin ilerlemiş mesane ve meme kanserlerinde belirgin derecede azaldığını veya olmadığını bildirmişlerdir.⁴¹

Çalışmamızda yapısal düzensizlik olarak 15p+ ve 16qh+ yapısal düzensizlikler nispeten sık rastlandı. Bu bölgeler fenotipik etkisi olamayan ve normal varyantlar olarak kabul edilen bölgelerdi.

Yapılan çalışmalarda, invaziv mesane kanseri ile 17. kromozom arasında yakın ilişkinin olduğu bildirilmektedir.^{1, 13, 42} Bunun, belki de en önemli nedenlerinden biri onkogeneizde kilit rollerden birini oynayan ve bir tümör süpresör gen olan p53'ün bu kromozom üzerinde bulunmasıdır. Çalışmamızda bu kromozomda 17p11, 17q11 ve 17q21 bölgelerinde az sayıda yapısal değişiklik görmemize rağmen monozomi 17 sayısal anöploidik değişikliği en sık gördüğümüz kromozomlardan biriydi. Bu da bize 17. kromozom kayıplarının (p53) hastalığın etiyolojisinde rol oynadığını göstermektedir.

Yirmi birinci ve 22. kromozomlarda önemli oranda sayısal düzensizlikler gördük. Her iki kromozomda da monozomi ön plandaydı. Down sendromlu kişilerde mesane ve böbrek tümörlerinin daha az görüldüğü ve bunun 21. kromozomun koruyucu etkisine bağlı olabileceği öne sürülmüştür.⁴³ Rothman ve ark. 22q13.1, 19q12 ve 2q37.1 kromozom bölgelerinin mesane kanseri ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.³¹ Çalışmamıza göre 22. kromozom ile kanser oluşumu arasında bir ilişki olduğu ortaya çıkmaktadır.

X kromozomu üzerinde yapısal düzensizlikleri Xp21, Xp22.1, Xq13, Xq21 ve Xq26 bölgelerinde görürken, sayısal düzensizlikler içinde en çok monozomi gördüğümüz kromozomlardan biriydi. Çin'de yapılan ve 46 mesane kanserli hastanın

değerlendirildiği çalışmada sıklıkla 20p'de kayıp ve X kromozomunda tam kayıp gördüklerini ifade etmişlerdir.³⁰ Yapılan çalışmalarda X kromozomu ile malignite arasında biri ilişki olduğu bildirilmektedir.

Y kromozomunda da monozomi tarzında sayısal düzensizlik ön plandaydı. Bir çalışmada Y kromozomunun kaybının mesane kanserli hastaların %10 ile 40'ında görüldüğü ve bu kaybın her tümör evre ve derecesinde olabileceği rapor edilmiştir.⁴⁴

Özet olarak çalışmamızda en çok yapısal düzensizliklerin 1, 2, 3, 5, 9 ve 15. kromozomlarda görüldüğü ve özellikle 1q21, 1q32, 3p21, 5q31, 9p11 bölgelerinde bozuklukların daha sık rastlandığını tespit ettik. Ayrıca sayısal düzensizliklerin 8, 17, 21, 22, X ve Y kromozomlarında daha sık olduğunu rapor ettik.

5.2. Moleküler Sitogenetik

İnvaziv ve CIS tümörlerinde yüzeysel tümörlere göre 17p13.1 bölgesinde bulunan p53 tümör süpresör gende değişiklikler daha sık olmaktadır. Heterozigot kayıpları ile ilgili çalışmalarda; invaziv kanserlerin %60'ında p53'ün bulunduğu 17. kromozomun kısa kolunun kaybı gösterilmiştir. Bu kayıp invaziv olmayan tümörlerde nadir bildirilmiştir.¹³ Bazı çalışmalarda mutant p53 ifadesinin hastalığın evresi ve derecesi ile güçlü ilişkisi olduğu belirtilmiş ve p53 mutasyonu olan hastalarda progresyonsuz yaşam süresinin belirgin kısa olduğu rapor edilmiştir.^{1,13} Ancak, Malats ve ark. yaptıkları meta analiz çalışmasında p53'deki değişikliklerin hastalığın rekürrensi, progresyonu ve mortalite oranı ile zayıf ilişkisi olduğunu rapor etmişlerdir.¹⁴

Çalışmamızda p53 değeri pozitif olan 19 hastadan 16'sının (%84,2) tümör patoloji sonucu yüksek dereceli iken, 3 (%15,8) tanesinin düşük dereceli olduğu tespit edildi. İstatistiksel olarak bu fark anlamlı ($p=0,023$) ve Odds oranı(%95 GA) 6,22 (1,2 – 32,2) olarak bulundu. Çalışmamız ve diğer çalışmalar p53 mutasyonunun mesane kanser öyküsünde ve ilerlemesinde önemli olduğunu göstermiştir. Buda bize hastalarımızın prognozunda p53 gen mutasyonunun rutin tanıda kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

p16 geni 9p21 bölgesinde bulunur ve hücre döngüsünde siklin bağımlı kinazlar aracılığıyla düzenleyici rol oynar. Kawamoto ve ark. p16 metilasyonunun mesane kanserinin ortaya çıkmasında erken gelişen olaylardan biri olabileceğini öne sürmüştür. Ayrıca p16 metilasyonunu rapor ettikleri invaziv kanserli hastalarda yüzeysel olanlara

göre belirgin biçimde daha sık rapor ettiklerini bildirmişlerdir.⁴⁵ Başka bir çalışmada da sitolojik örneklerde incelenen hücrelerde malignite yönünde atipi geliştikçe p16 aşırı ifade edildiği bildirilmiştir.⁴⁶

Çalışmamızda 19 hastada p16 anlamlı olarak pozitif olduğu rapor edildi. p16 değeri pozitif çıkan hastaların 17'sinin (%89,5) tümör patolojisi yüksek dereceli iken sadece 2 (%10,5) tanesinin düşük dereceliydi. İstatistiksel olarak bu fark anlamlıydı ($p=0,002$) ve Odds oranı(%95 GA) 13,6 (2,2 – 85,8) olarak bulundu. Buda bize p16 gen mutasyonu ile mesane kanseri arasında önemli bir ilişkinin bulunduğunu hastalığın ilerlemesi ile paralellik bulunduğunu göstermektedir.

6. SONUÇ

Sonuç olarak en çok yapısal düzensizliği 1, 2, 3, 5, 9 ve 15. kromozomlarda gözlemledik.

Özellikle 1q21, 1q32, 2q22, 2q32 – 35, 3p21, 5q31, 5q33, 9p11 ve 9q32 bölgelerinde bozuklukların daha sık görüldüğünü tespit ettik ve bu durum literatür ile uyumluydu. Farklı olarak düzensizlik gördüğümüz 5q31 bölgesi için literatürde az sayıda yayına rastladık. Bu bölgenin mesane kanserinde yeri daha ileri düzeyde incelenebilir. Bu kromozom bölgelerinin mesane kanseri ile ilişkili olduğunu ve kromozom bölgelerinin gen çalışmalarında aday genlerin bulunması bakımından önemli sıcak bölgeler olduğunu söyleyebiliriz. Gözlenmiş olan bir genetik hasarın hücre çoğalmasında önemli oranda etkilediğini ve çoğalma yollarında dengesizlik oluşturduğunu söyleyebiliriz.

Ayrıca, sayısal düzensizlik olarak özellikle 8, 17, 21, 22, X ve Y kromozomlarında görülen monozomiler dikkat çekicidir. Nitekim bu kromozom kayıplarının literatür bilgileri ile uyumlu olduğu gözlemlendi. Bulduğumuz kromozom kayıpları ile mesane kanseri etiyolojisi arasında önemli bir ilişki bulunmaktadır. Bu kromozomlardaki tümör süpresör gen kayıpları hastalığın öyküsünde yer almaktadır ve bu önemli genetik dengesizlik kanserin oluşumu ve ilerlemesinde rol oynamaktadır.

Moleküler sitogenetik yöntemler ile p16 ve p53'ü değerlendirdiğimizde her ikisinin de patolojik olarak derecesi yüksek olan tümörlerde anlamlı biçimde daha fazla oranda değişikliğe uğradığını gördük.

KAYNAKLAR

1. **Volanis D, Kadiyska T, Galanis A, Delakas D, Logotheti S, Zoumpourlis V.** Environmental factors and genetic susceptibility promote urinary bladder cancer. *Toxicology Letters* **2010**;193:131-137.
2. **Hodges KB, Beltran AL, Davidson DD, Montironi R, Cheng L.** Urothelial dysplasia and other flat lesions of the urinary bladder: clinicopathologic and molecular features. *Human Pathology* **2010**;41:155-162.
3. **Eriřim:** <http://www.ism.gov.tr/kidem/Tdoc3.htm>
4. **Jacobs BL, Lee CT, Montie JE.** Bladder cancer in 2010: How far we come? *CA Cancer J Clin* **2010**;60:244-272.
5. **Kamat AM, Karam JA, Grossman HB, Kader AK, Munsell M, Dinney CP.** Prospective trial to identify optimal bladder cancer surveillance protocol: reducing costs while maximizing sensitivity *BJU Int.* **2011**;Mar 22 :1-5.
6. **Stenzl A, Witjes JA, Cowan NC, Santis MD, Kuczyk M, Lebrete T, Merseburger AS, Ribal MJ, Sherif A.** *European Association of Urology Guidelines.* Bladder cancer muscle invasive and metastatic. **2011**.
7. **Lodde M, Lacombe L, Friede J, Morin F, Saourine A, Fradet Y.** Evaluation of fluorodeoxyglucose positron-emission tomography with computed tomography for staging of urothelial carcinoma. *BJU Int.* **2010**;106:658-663.
8. **Apolo AB, Riches J, Schöder H, Akin O, Trout A, Milowsky MI, Bajorin DF.** Clinical value of fluorine-18 2-fluoro-2-deoxy-d-glucose positron emission tomography/computed tomography in bladder cancer. *J Clin Oncol* **2010**;28:3973-3978.
9. **Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA.** *World Health Organization Classification of Tumors. Pathology & Genetics.* Tumors of the urinary system and male genital organs. **2010** Chapter 2:89-147.

10. **Messing ED.** Urothelial tumors of the bladder Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA. . *Campbell's Urology*. 9th ed. WB Saunders, Philadelphia, **2007**:2410-2413.
11. **Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Hamosh A.** *Thompson&Thompson Genetic in Medicine*. 7th Ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, **2007**.
12. **Matsumoto H, Matsuyama H, Fukunaga K, Yoshihiro S, Wada T, Naito K.** Allelic imbalance at 1p36 may predict prognosis of chemoradiation therapy for bladder preservation in patients with invasive bladder cancer. *British Journal of Cancer*, **2004**;91:1025–1031.
13. **Proctor I, Stoeber K, Williams GH.** Biomarkers in bladder cancer. *Histopathology*. **2010** Jul;57(1):1-13.
14. **Malats N, Bustos A, Nascimento CM, Fernandez F, Rivas M, Puente D, Kogevinas M, Real FX.** P53 as a prognostic marker for bladder cancer: a meta-analysis and review. *Lancet Oncol*. **2005** Sep;6(9):678-86.
15. **Pagliaro LC, Keyhani A, Williams D, et al.** Repeated intravesical instillations of an adenoviral vector in patients with locally advanced bladder cancer: a phase I study of p53 gene therapy. *J Clin Oncol*. **2003**;21: 2247-2253.
16. **Hoque MO, Lee CC, Cairns P, Schoenberg M, Sidransky D.** Genome-wide genetic characterization of bladder cancer: a comparison of high-density single-nucleotide polymorphism arrays and PCR-based microsatellite analysis. *Cancer Res*. **2003**;63: 2216-2222.
17. **Lokeshwar VB, Habuchi T, Grossman HB, et al.** Bladder tumor markers beyond cytology: International Consensus Panel on bladder tumor markers. *Urology*. **2005**;66:35-63.
18. **Junker K, Oers JMM, Zwarthoff EC, Kania I, Schubert J, Hartmann A.** Fibroblast growth factor receptor 3 mutations in bladder tumors correlate with low frequency of chromosome alterations. *Neoplasia* **2008**;10: 1-7.
19. **Dracopoli NC, Haines JL, Korf BR, Moir DT, Morton CC, Seidman CE, Seidman JG, Smith DR.** *Current Protocols in Human Genetics*. United State: Willey&Sons, **1994**.
20. **Rooney DE, Czepulkowski BH.** Prenatal Diagnosis and Tissue Culture. In: *Human Cytogenetics*, **1993** Volume I: 55-89.

21. **Berg CVD, Opstal DV, Brandenburg H, Wildschut HLJ, Hollander NSD, Piipers L, Galiaard RJH, Los FJ.** Accuracy of abnormal karyotypes after the analysis of both short and long term culture of chorionic villi. *Prenat Diagn*, **2000**; 20:956-969.
22. **Raddatz BS, Bouman K, Bemelmans CCV, Stoepker M, Mantingh A, Beekhuis JR, Jong BD.** Four years' cytogenetic experience with the culture of chorionic villi. *Prenat Diagn*, **2000**; 20:950-955.
23. **Goumy C, Bonnet-Dupeyron MN, Cherasse Y, Laurichesse H, Jaffray JY, Lacroute G, Geneix A, Lemery D, Vago P.** Chorionic villus sampling (CVS) and fluorescence *in situ* hybridization (FISH) for a rapid first-trimester prenatal diagnosis. *Prenat Diagn*, **2004**; 24:249-256.
24. **Wegner RD, Toennies H.** Chorionic villi sampling Wegner RD. Ed. *Diagnostic Cytogenetics*, Berlin: Springer-Verlag; **1999**:231-247.
25. **Seabright M.** Improvement of Tyripsin Method for Banding Chromosomes. *Lancet*, **1973**; I: 1249.
26. **Köhler A.** *Chromosome Staining*. In: Wegner RD. Ed. *Diagnostic Cytogenetics*, Berlin:Springer-Verlag; **1999**:56-60.
27. **Eguchi S, Yamamoto Y, Sakano S et al.** The loss of 8p23.3 is a novel marker for predicting progression and recurrence of bladder tumors without muscle invasion. *Cancer Genet Cytogenet*. **2010** Jul 1;200(1):16-22.
28. **Chan MW, Hui AB, Yip SK et al.** Progressive increase of genetic alteration in urinary bladder cancer by combined allelotyping analysis and comparative genomic hybridization. *Int J Oncol*. **2009** Apr;34(4):963-70.
29. **Majewski T, Lee S, Jeong J, Yoon DS et al.** Understanding the development of human bladder cancer by using a whole-organ genomic mapping strategy. *Lab Invest*. **2008** Jul;88(7):694–721.
30. **Qin SL, Chen XJ, Xu X et al.** Detection of chromosomal alterations in bladder transitional cell carcinomas from Northern China by comparative genomic hybridization. *Cancer Lett*. **2006** Jul 18;238(2):230-9.

31. **Rothman N, Garcia-Closas M, Chatterjee N et al.** A multi-stage genome-wide association study of bladder cancer identifies multiple susceptibility loci. *Nat Genet.* **2010** Nov;42(11):978-84.
32. **Awakura Y, Nakamura E, Ito N, Kamoto T, Ogawa O.** Methylation-associated silencing of TU3A in human cancers. *Int J Oncol.* **2008** Oct;33(4):893-9.
33. **Lehmann ML, Selinski S, Blaszkewicz M et al.** Rs710521[A] on chromosome 3q28 close to TP63 is associated with increased urinary bladder cancer risk. *Arch Toxicol.* **2010** Dec;84(12):967-78.
34. **Gago-Dominguez M, Jiang X, Conti DV et al.** Genetic variations on chromosomes 5p15 and 15q25 and bladder cancer risk: findings from the Los Angeles-Shanghai bladder case-control study. *Carcinogenesis.* **2011** Feb;32(2):197-202.
35. **von Knobloch R, Bugert P, Jauch A, Kälble T, Kovacs G.** Allelic changes at multiple regions of chromosome 5 are associated with progression of urinary bladder cancer. *J Pathol.* **2000** Feb;190(2):163-8.
36. **Kanetsky PA, Mitra N, Vardhanabhuti S, Li M et al.** Common variation in KITLG and at 5q31.3 predisposes to testicular germ cell cancer. *Nat Genet.* **2009** Jul;41(7):811-5.
37. **McLean TW, Buckley KS.** Pediatric genitourinary tumors. *Curr Opin Oncol.* **2010** May;22(3):268-73.
38. **Maleno I, Aptsiauri N, Cabrera T et al.** Frequent loss of heterozygosity in the β 2-microglobulin region of chromosome 15 in primary human tumors. *Immunogenetics.* **2011** Feb;63(2):65-71
39. **Matsuda R, Enokida H, Chiyomaru T et al.** LY6K is a novel molecular target in bladder cancer on basis of integrate genome-wide profiling. *Br J Cancer.* **2011** Jan 18;104(2):376-86.
40. **Williams SV, Platt FM, Hurst CD et al.** High-resolution analysis of genomic alteration on chromosome arm 8p in urothelial carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer.* **2010** Jul;49(7):642-59.
41. **Vecchione A, Fassan M, Anesti V et al.** MITOSTATIN, a putative tumor suppressor on chromosome 12q24.1, is downregulated in human bladder and breast cancer. *Oncogene.* **2009** Jan 15;28(2):257-69.

42. **Simonetti S, Russo R, Cancia G, Altieri V, De Rosa G, Insabato L.** Role of polysomy 17 in transitional cell carcinoma of the bladder: immunohistochemical study of HER2/neu expression and fish analysis of c-erbB-2 gene and chromosome 17. *Int J Surg Pathol.* **2009** Jun;17(3):198-205.
43. **Satgé D, Sasco AJ, Day S, Culine S.** A lower risk of dying from urological cancer in Down syndrome: clue for cancer protecting genes on chromosome 21. *Urol Int.* **2009**;82(3):296-300.
44. **Minner S, Kilgué A, Stahl P et al.** Y chromosome loss is a frequent early event in urothelial bladder cancer. *Pathology.* **2010** Jun;42(4):356-9.
45. **Kawamoto K, Enokida H, Gotanda T, Kubo H, Nishiyama K, Kawahara M, Nakagawa M.** p16INK4a and p14ARF methylation as a potential biomarker for human bladder cancer. *Biochem Biophys Res Commun.* **2006** Jan 20;339(3):790-6.
46. **Nakazawa K, Murata S, Yuminamochi T et al.** p16(INK4a) expression analysis as an ancillary tool for cytologic diagnosis of urothelial carcinoma. *Am J Clin Pathol.* **2009** Nov;132(5):776-84.

8. EKLER

EK-1. Sitogenetik Çalışmalarda Kullanılan Besiyerleri

1. Normal Kültür Besiyeri
RPMI-1640, R0883 100 ml
Fetal calf serum 25 ml
Fitohemaglutinin 1,5 ml
Penisilin/ Streptomisin 1,0 ml
L-Glutamin 1,5 ml

EK-2. Sitogenetik Çalışmalarda Kullanılan Solüsyonlar

1. Kolşisin (Seromed Cat. No. L 6210) 10 µl / ml
2. Hipotonik solüsyonu (0,075 KCl)
5,592 gr KCl (Potasyum klorür) tartılıp 1000 ml'ye distile su ile tamamlandı.
3. Fiksatif solüsyonu
3 birim metanol ile 1 birim glasiyel asetik asit karıştırılarak her uygulama öncesi taze olarak hazırlandı.
4. Tripsin solüsyonu (Stok solüsyonu, 30 mg / ml)
5. Serum fizyolojik
6. Fosfat tamponu
İki ayrı solüsyon halinde hazırlanır ve eşit oranda karıştırılır.
Solüsyon 1. 9,073 g KH_2PO_4 tartılıp 1000 ml bidistile suda çözülür.
Solüsyon 2. 11,87 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1000 ml bidistile suda çözülür.
7. Giemsa boya solüsyonu
Fosfat tamponu içerisinde %7-10 olacak şekilde hazırlanır.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	: Deniz ABAT
Doğum Tarihi ve Yeri	: 02/11/1980 / MERSİN
Medeni Durumu	: Evli
Adres	: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı Yüreğir / ADANA
Telefon	: 322 338 60 60
E-mail	: abatdeniz@yahoo.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi	: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
Görev Yerleri	: Ç.Ü. Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı
Dernek Üyelikleri	: Çukurova Üroloji Derneği
Yabancı Dil	: İngilizce