

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

DEĞİŞİCİ EPİTEL KARSİNOMALI (DEK) HASTALARDA
MESANE YIKAMA İLE ELDE EDİLEN HÜCRELERDE GENETİK
MARKERLARIN FISH ANALİZİ İLE BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSMAİL ÇİMEN

DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. Oğuz ÇİLİNGİR

Agustos, 2007

PDF Eraser Free

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

DEĞİŞİCİ EPİTEL KARSİNOMALI (DEK) HASTALARDA
MESANE YIKAMA İLE ELDE EDİLEN HÜCRELERDE GENETİK
MARKERLARIN FISH ANALİZİ İLE BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSMAİL ÇİMEN

DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. Oğuz ÇİLİNGİR

Proje No: 200611017

KABUL VE ONAY SAYFASI

İsmail ÇİMEN'in Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı “Değişici Epitelyum Karsinomalı Hastalarda Mesane Yıkama ile Elde Edilen Hücrelerde Genetik Markerların FISH Analizi ile Belirlenmesi” başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek “KABUL” edilmiştir.

29.08.2007

Üye: Prof.Dr. Sevilhan ARTAN

Üye: Doç.Dr. Cavit CAN /

Üye: Yrd.Doç.Dr. Muhsin ÖZDEMİR

Üye: Yrd.Doç.Dr. Beyhan DURAK

Üye: Yrd.Doç.Dr. Oğuz ÇİLİNGİR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 04./09./2007. tarih ve 710./2305. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof.Dr.Ferruh YÜCEL

Enstitü Müdürü

ÖZET

Amaç: Değişici Epitel Karsinomu (DEK) mesane kanserinin en yaygın türüdür. Kromozom aberasyonları DEK nun gelişmesinde ve ilerlemesinde gereklidir. Bu çalışmada, mesane değişici epitel karsinomu (DEK) tanısında noninvaziv yaklaşımla interfaz FISH tekniğinin potansiyel klinik uygulamasını belirlemek ve kromozomal anöploidilerle tümörün derecesi ve evresi arasındaki ilişkiyi araştırmak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Üroloji bölümünden değişici epitel karsinoma tanısı almış 30 hasta ve sağlıklı 15 kontrolden, boşaltılmış idrar ve mesane yıkama ile hücreler elde edilmiştir. Bu hücrelerde 3, 7, 8, 11 ve 17 kromozomların sentromerlerine özgü proplar ve 9p21 lokus spesifik proplar kullanılarak FISH analizi yapılmıştır.

Bulgular: FISH analizinin DEK belirlemede sensitivitesi mesane yıkama ve idrar örnekleri için sırasıyla % 96.7 ve % 92.6, spesifitesi ise % 100 olarak bulunmuştur. G1-G2 (Düşük) tümörlerin mesane yıkama ve idrar örneklerinde görülen en sık kromozom anomalisi 9p21 delesyonu (% 66-% 75) dur. Kromozom 3, 7, 8, 11 ve 17 polizomisinin T1 G2-G3(Yüksek) ve T2 G3(Yüksek) karsinomlara spesifik olduğu bulunmuştur. G1-G2(Düşük) ve G2-G3(Yüksek) tümörleri arasında kromozom 3, 7, 8, 11 ve 17 polizomi frekansında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur ($P<0,01$).

Sonuç: FISH analizi, mesane yıkama ve idrar örneklerinden elde edilen üretelyal hücrelerde kromozomal aberasyonları belirleyerek, değişici epitel karsinomu tanısında kliniğe katkı sağlayabilecek potansiyele sahip noninvaziv bir tekniktir. Kromozom polizomisi ile yüksek tümör derecesi ve evresi koreledir.

Anahtar Sözcükler: Mesane kanseri, Değişici epitel karsinoma (DEK), FISH, Mesane yıkama

SUMMARY

Objective: Transitional Cell Carcinoma (TCC) is the most common form of bladder cancer. Chromosomal aberrations are involved in the development and progression of TCC of bladder. In this study, we aimed to determine the potential for the clinical application of interphase FISH technique with non invasive approach in diagnosis of transitional cell carcinoma (TCC) and to investigate the relation between chromosomal aneuploidies with tumor grades and stage.

Methods: The cells were obtained by bladder washing and voided urine from 30 patients who had a transitional cell carcinoma (TCC) of the bladder diagnosis and 15 healthy controls in the Urology Department. In the samples, FISH analysis was performed by using centromere specific probes for chromosome 3, 7, 8, 11, 17 and locus specific probe of 9p21.

Results: The sensitivities of FISH to detect TCC for bladder washing and voided urine were found 96.7 % and 92.6 %, respectively, but its specificity was found 100%. The most frequently seen chromosomal alterations G1-G2(Low) tumors were deletion of 9p21 (66 % and 75 %) in bladder washing and voided urine. Polysomy was specific to T1G2-G3(High) and T2G3(High) carcinomas. A statistically significant difference was seen in the frequency of polysomy between G1-G2(Low) and G2-G3(High) for chromosomes 3, 7, 8, 11 and 17 ($P < 0.01$).

Conclusions: FISH assays have potential that can provide contribution to clinical diagnosis of transitional cell carcinoma to detect chromosomal aberrations present in urothelial cells obtained from voided urine and bladder washing. Polysomy of chromosomes is correlated with tumor grade and stage.

Keywords: Bladder cancer, Transitional cell carcinoma (TCC), FISH, Bladder washing

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	v
SUMMARY	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kanser	3
2.1.1. Kanserin Biyolojisi	3
2.1.2. Kanser Oluşum Mekanizması	4
2.2. Kanserin Genetiği	6
2.3. Mesane	7
2.3.1. Mesanenin Histolojisi	8
2.4. Mesane Kanseri	10
2.4.1. Mesane Kanserinin Etiyolojisi	12
2.5. Mesanede Preneoplastik Lezyonlar	13
2.5.1. Epitelyal Hiperplazi ve Metaplazi	13
2.5.2. Ürotelyal Displazi	14
2.6. Karsinoma İn Situ (KİS)	15
2.7. Değişici Epitel (Ürotetelyal) Karsinomu	16
2.7.1. Tümör Derecelendirmesi	16
2.7.2. Tümör evrelendirmesi	18
2.8. Değişici Epitelyum Karsinomunda Görülen Genetik Değişiklikler	20
2.8.1. Sitogenetik Değişiklikler	20
2.8.2. Moleküler Genetik Değişiklikler	21

2.8.2.1. Protoonkogenler	21
2.8.2.1.1. Epidermal Growth Faktör Reseptörleri (EGFR)	22
2.8.2.1.2. HER-2/neu (c-erb-B2) onkogeni	22
2.8.2.1.3. H-RAS onkogeni	22
2.8.2.1.4. C-MYC Onkogeni	23
2.8.2.1.5. FGFR 3	23
2.8.2.2. Tümör Süpressör Genler	24
2.8.2.2.1. Retinoblastom Geni (RB)	24
2.8.2.2.2. TP53 Geni	25
2.9. Değişici Epitelyum Karsinomanın Oluşum Mekanizması	26
2.10. Tümör Histopatolojisi ve Kromozom Anomalileri	27
2.11. Değişici Epitel Karsinomu Tanı Metotları	28
2.11.1. Sistoskopi	28
2.11.2. Sitoloji	28
2.11.3. Biyopsi Alma (Tümör Rezeksiyonu(TUR))	29
2.11.4. Flow Sitometri	29
2.12. Floresan In Situ Hibridizasyon	30
2.12.1.FISH Tekniğinde Kullanılan Problar ve Özellikleri	31
2.12.2.Prob Stratejileri ve Analitik Duyarlılık	32
2.12.3. FISH Tekniğinin Temel Mekanizması	33
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER	35
3.1. Gereç	35
3.1.1. Araştırma Grubu Bireyleri	35
3.1.2. Kullanılan Araçlar	37
3.1.2.1. Kullanılan Aygıtlar	37
3.1.2.2. Cam Malzeme	38
3.1.3. Kimyasal Maddeler	38
3.1.4. Kullanılan Problar ve Özellikleri	39
3.4.1.1. Urovysion Mesane Kanser Kiti	39
3.4.1.2.Cambio Probları	40
3.2. Yöntem	41

3.2.1. Materyal Alımı	41
3.2.2. Örneklerin FISH Analizine Hazırlanması	41
3.2.3. FISH Analizi	42
3.2.3.1. FISH Tekniğinin Uygulaması	42
3.1.3.1.1. Preparatların Ön Yıkaması ve Denatürasyonu	42
3.2.3.1.2. Prob Denatürasyonu	43
3.2.3.1.3. Hibridizasyon	43
3.2.3.1.4. Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar	44
3.2.3.1.5. Hibridize Olan Bölgelerin Görüntülenmesi	44
3.2.3.1.6. Preparatların Mikroskopta İncelenmesi	45
3.2.3.1.7. Değerlendirme	45
3.2.4. İstatiksel Analizler	46
3.3. Kullanılan Stok Solüsyonlar	46
4. BULGULAR	49
4.1. Yönteme İlişkin Bulgular	49
4.1.1. DEK Tanısı ile İlgili FISH Bulguları	50
4.1.2. Olgularda Görülen Kromozom Anomalileri	54
5. TARTIŞMA	65
5.1. FISH Yönteminin Sensitivitesi	65
5.2. FISH Yönteminin Spesifitesi	65
5.3. Değerlendirilemeyen Olgu Oranı	66
5.4. Mesane Yıkama ve İdrar Örneğinin FISH Sensitivitelerinin Karşılaştırılması	67
5.5. Çalışılan tüm kromozomlara ilişkin aberasyon oranı	67
5.6. Çalışılan tüm kromozomlara ilişkin tespit edilen anomaliler	67
5.6.1. Kromozom 3 Anomalileri	67
5.6.2. Kromozom 7 Anomalileri	68
5.6.3. Kromozom 8 Anomalileri	68
5.6.4. Kromozom 11 Anomalileri	69
5.6.5. Kromozom 17 Anomalileri	69

5.6.6. Kromozom 9p21 Anomalileri	70
5.7. Kromozom Anomalisi ile Tümör histopatolojisi Arasındaki İlişki	70
5.8. Kromozom Polizomisi ile Tümör histopatolojisi Arasındaki Bağlantı	73
6. SONUÇ	75
7. KAYNAKLAR DİZİNİ	77
8. EKLER DİZİNİ	89
8.1. RESİMLER DİZİNİ	89
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

		Sayfa
Şekil 2.1:	Karsinogenezis sürecinin temel bir şeması	5
Şekil 2.2.	Erkek ve kadın mesanesi ve komşu vücut organları	8
Şekil 2.3.	Mesanenin histolojik yapısı	9
Şekil 2.4.	Papiller ürotelyal neoplazmların 1998/2004 WHO/ISUP Sınıflandırma sistemi ile 1973 WHO sistemi karşılaştırılması	17
Şekil 2.5.	Değişici epitelyum karsinomunun tümör evrelendirmesinin şematik şekli	19

ÇİZELGELER DİZİNİ

		Sayfa
Çizelge 2.1:	Erkeklerde en çok görülen on kanser türü	12
Çizelge 3.1:	Çalışma hastalarının yaş, cinsiyet ve histopatolojik aşaması	36
Çizelge 3.2:	Medikal testin gerçek durumu yansıtması	46
Çizelge 4.1:	Çalışma hastalarının histopatolojik aşaması ve FISH sonuçları	51
Çizelge 4.2:	Kontrol grubunu oluşturan olguların yaş, cinsiyet ve FISH Sonuçları	52
Çizelge 4.3:	Mesane yıkama elde edilen FISH testinin sensitivitesi ve spesifitesi	53
Çizelge 4.4:	İdrar örneklerinden elde edilen FISH testinin sensitivitesi ve spesifitesi	53
Çizelge 4.5:	Mesane yıkama örneklerinin histopatolojik tanıları ve FISH ile genetik analiz sonuçları	55
Çizelge 4.6:	İdrar örneklerinin histopatolojik tanıları ve FISH ile genetik analiz sonuçları	57
Çizelge 4.7:	Mesane Yıkama örnekleri için tümör derecesine ve evresine göre kromozom değişikliklerinin değerlendirilmesi	63
Çizelge 4.8:	İdrar örnekleri için tümör derecesine ve evresine göre kromozom değişikliklerinin değerlendirilmesi	64
Çizelge 5.1:	UroVysion prob seti kullanarak yapılan FISH analiz sonuçlarının karşılaştırılması	66
Çizelge 5.2:	Literatür ile çalışmamızın olgu sayısı, örnek, histopatoloji ve FISH analizinde kullanılan problemler açısından karşılaştırılması	72

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
µl :	Mikrolitre
ABD	Amerika Birleşik Devleti
AJCC	American Joint Committee on Cancer
Amp.	Amplifikasyon
Cis	Carcinoma in situ
CI	Confidence Interval
DAPI	4',6'-diamino-2-fenilindol
DEK	Değişici Epitel Karsinomu
Del	Delesyon
DNA	Deoxyribonucleic acid
EGFR	Epidermal Growth Faktör Reseptör Geni
FISH	Fluorescence in Situ Hybridization
FGFR 3	Fibroblast Growth Faktör Reseptörü 3
g	Gram
G1-3	Derece 1-3
ISH	İn situ Hibridizasyon
ISUP	International Society of Urological Pathology
IPSS	Uluslararası Prognostik Puanlama Sistemi
KH₂PO₄	Potassium Dihydrogen Phosphate
KCl	Potassium Chloride
KGH	Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon
LOH	Lokus heterozigosite kaybı
ml	Mililitre

PDF Eraser Free

N	Normal
NaCl	Sodium Chloride
NaOH	Sodium Hydroxid
Na₂HPO₄	Di-sodium Hydrogen Phosphate
OR	Odds ratio
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PBS	Phosphate Buffer Saline
PRB	Retinoblastoma proteini
RB	Retinoblastoma geni
RTK	Reseptör Trozin Kinaz
rpm	Round Per Minute
SSC	NaCl ₇ Trisodium Citrate
Ta	Noninvasiv papiller tümör
Tis	Karsinoma in situ
TNM	Tumor Nodes Metastasis
TUR	Transüretral Rezeksiyon
TSG	Tümör süpressör genler
WHO	World Health Organization

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser klinikte görülen en yaygın ve ciddi hastalıklardan biridir. Yapılan istatistiksel çalışmalar, kanserin toplumların yaklaşık üçte birinden fazlasından görüldüğünü, ölümlerin yüzde yirmiden fazlasından sorumlu olduğunu göstermiştir. Kanser genetik orijinli bir hastalıktır ve hücre bölünmesini, hücre ölümünü ve hücre farklılaşmasını kontrol eden genlerdeki değişimler (başkalaşım) kanser oluşumu ve gelişiminden sorumludur (15, 23, 62).

Bir kanser türü olan mesane kanseri, gelişmiş ülkelerde tüm kanserler içinde en sık görülen dördüncü kanserdir. Değişici Epitelyum Karsinomu (DEK) mesane kanserinin en yaygın türüdür. Mesane tümörlerinin ortalama % 70-75 i yüzeysel tümör olarak görülür ve kalanı ise invaziv tümördür. Yüzeysel kanser grubu arasında, yaklaşık % 70 i Ta lezyonu, % 20 si T1 lezyonu ve % 10 u karsinoma in situ (CİS) olarak görülür. Yüzeysel değişici epitelyum karsinomunun % 70-80 inden fazlası, düşük-histolojik derecelidir. Bu tip mesane kanserleri rezeksiyondan sonra nükseder ve yaklaşık %10-22 si invaziv yüksek dereceli tümörler olmaya eğilimlidir (4, 5, 22, 32, 37, 38, 46, 64, 91).

Mesane kanserinin görülme insidansı ülkelere göre büyük değişiklikler gösterir. Ülkemizde mesane kanseri insidansına ilişkin kesin veriler bulunmamakla birlikte Sağlık Bakanlığı'nın yaptığı 2000 yılı istatistiklerine göre, akciğer ve mide kanserinden sonra 3. sırada yer almaktadır. Sigara kullanımı, parazitik enfeksiyonlar ve mesleki kimyasallara maruz kalma gibi çeşitli risk faktörleri mesane kanser oluşumunu indükleyen en önemli faktörlerdir (4, 5, 35, 46, 54, 64).

Hastalığın seyri çoğunlukla önceden tahmin edilemez ve tümör gelişimini etkileyen faktörler bilinmemektedir. Mesane tümör oluşumunda çoklu genetik değişikliklerin olduğu yolaklar düşünülmektedir. Tümör gelişmesi ve ilerlemesiyle ilişkilendirilmiş, primer ve sekonder anomalileri belirlemek için konvansiyonel

PDF Eraser Free

sitogenetik ve moleküler genetik yöntemler kullanılmaktadır. Kromozomal dengesizlikler, tümör evresi ve derecesi ile büyük oranda koreledir (30, 64, 77).

DEK da en sık görülen sitogenetik ve moleküler genetik bulgu kromozom 9 ait değişimlerdir. Kromozom 9p21 in kaybını içeren 9. kromozomun kısa kolunun delesyonu en yaygın genetik değişikliktir. Sitogenetik çalışmalar, DEK unda görülen en yaygın sayısal değişikliklerin kromozom 1, 3, 5, 7, 8, 9, 11, 17 ve Y de olduğunu ortaya koymuştur. Bu değişiklikler ile tümör derecesi ve evresi arasında ilişki vardır (17, 18, 22, 25, 28, 49, 50, 64, 65, 66, 76, 77, 79, 80).

FISH tekniğindeki ilerlemeler, metafaz ve interfaz hücrelerinde sayısal ve yapısal aberasyonların araştırılmasını kolaylaştırmaktadır. Mesane yıkama ve idrar örneklerinin interfaz FISH analizi, invaziv bir girişim olmadan mesane kanserinin belirlenmesini sağlayan gelecek vaat eden bir tekniktir (1, 18, 32, 57).

Bu çalışmada, mesane değişici epitel karsinomu (DEK) tanısında noninvaziv yaklaşımla interfaz FISH tekniğinin potansiyel klinik uygulamasını belirlemek ve kromozomal anöloidilerle tümörün derecesi ve evresi arasındaki ilişkiyi araştırmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.KANSER

Kanser klinikte görülen en yaygın ve ciddi hastalıklardan biridir. Yapılan istatistiksel çalışmalar, kanserin toplumların yaklaşık üçte birinden fazlasından görüldüğünü, ölümlerin yüzde yirmiden fazlasından sorumlu olduğunu ve gelişmiş ülkelerin toplam sağlık harcamalarının yaklaşık yüzde onundan fazlasının kanser tedavileri harcamalarının oluşturduğunu göstermiştir. Kanser, tedavi edilmediğinde ölümle sonuçlanmaktadır. Kanser araştırmalarında erken tanı ve tedavi son derece önemli olup, kanser yakalanma riski yüksek olan bireylerin kanser gelişmeden önce saptanabilmesi büyük önem taşımaktadır (62).

2.1.1. Kanserın Biyolojisi

Kanser tek bir hastalık olmayıp, daha çok bir kitle ya da tümör oluşumuna yol açtığını bildiğimiz kontrolsüz hücre proliferasyonu ile karakterize edilen **neoplazinin** daha kesin formlarını tanımlamak için kullanılır. Bununla birlikte neoplazinin kanser olabilmesi için **malign** özellik göstermesi, bir başka deyişle kontrolsüz büyümesi, komşu dokuları istila edebilmesi veya yakın-uzak mesafelere yayılabilme (**metastaz**) özelliğine sahip olması gerekmektedir (62).

Kanserın esas olarak üç tipi vardır: Kemik, kas ya da konnektif doku gibi mezanşimal dokulardan kaynaklanan **sarkomlar**; barsak mukozası, bronşlar veya meme duktusları gibi epitelyal dokudan kaynaklanan **karsinomlar**; kemik iliği, lenfatik sistem ve periferik kan boyunca yayılan lösemi ve lenfoma gibi **hemapoietik** ve **lenfoid** malignensilerdir (62).

Bu tümörlerin her biri yerleşim yerine, doku tipine, histolojik yapısına ve malignensinin derecesine göre de sınıflandırılmaktadır. Anormal hücre birikmesi olan neoplazi, hücrel proliferasyon ile hücrel yok oluş arasındaki dengesizlik nedeniyle oluşur (62).

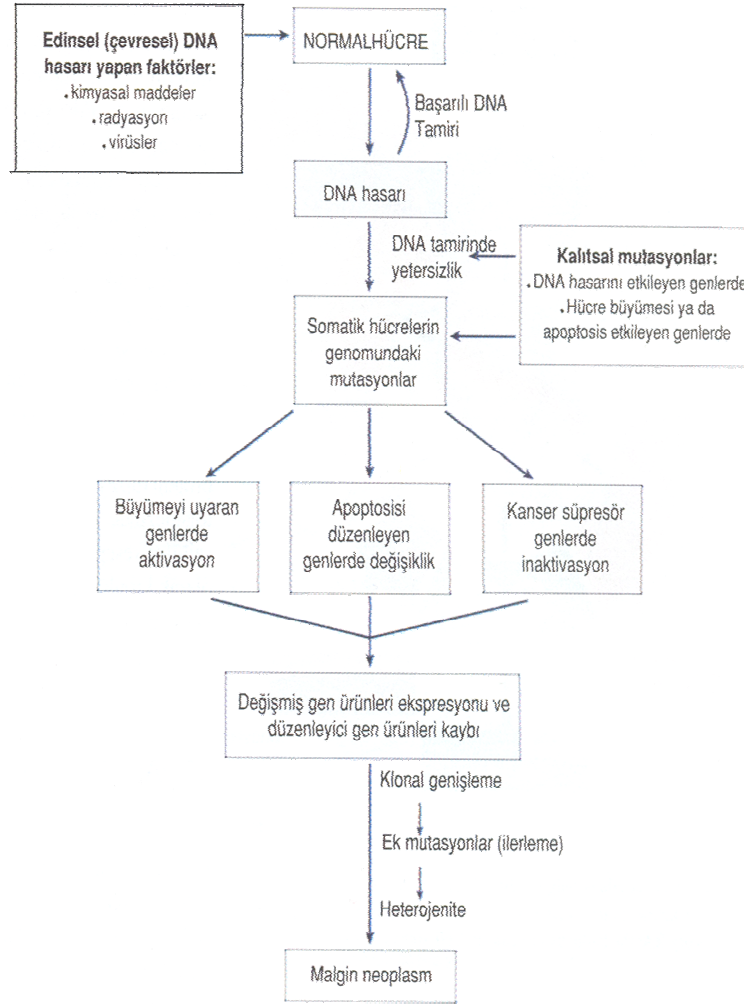
2.1.2. Kanser Oluşum Mekanizması

Kanser oluşumu çok aşamalı bir süreçtir (Şekil 2.1). Kansere yol açan ajana (karsinojene) maruz kalınması hemen tümör gelişimine neden olmaz. Karsinojen tarafından başlatılan ilk başlangıç aşamasını takip eden olaylar zinciri sonucunda bir tümör gelişimi olur. Başlangıç aşamasını takip eden olaylar zinciri; bir karsinojen tarafından ya da karsinojen olmayan ancak sadece transforme olan hücreyi etkileyerek o hücrenin çoğalmasını uyararak ajanlar tarafından oluşturulabilir (3, 15, 16, 23, 51).

Karsinogenezis sürecindeki ilk basamak olan başlangıç aşaması çok hızlı gerçekleşir fakat bu aşamada başkalaşıma uğrayan hücreler uzun süre değişmeden kalabilirler. Primer olay daha çok genetik materyaldedir ve karsinojen, dokunun stem hücre popülasyonundaki spesifik gen ya da genleri harap etmiş olabilir. Fakat başkalaşıma uğramış hücre bölünmeden latent halde kalabilir veya çok yavaş bölünür. Bu hücrenin hızlı bir şekilde çoğalabilmesi, normal hücrelere göre baskın hale gelmesi için uyarıcı ajanların hücreyi etkilemesi gerekir. Pek çok ajan hücrenin bölünmeye girmesinde etkili olur. Ancak sadece uyarıcı ajanlar tümör gelişiminde etkindir. Dolayısıyla tümör gelişimi için hücre büyümesi gerekli olmakla birlikte yeterli değildir. Diğer faktörlerin de hücreyi etkilemesi gerekir. Normal koşullarda hücrenin, stem hücre popülasyonundan ayrılarak fonksiyon gösterebilmesi için farklılaşması gerekir. Uyarıcı ajanların bu farklılaşma sürecini engellediğine ilişkin veriler bulunmaktadır.

Büyümeyi hızlandıran uyarılar hücrelerde etkilerini gösterirken bu hücreler aynı zamanda vücuttaki normal büyümeyi inhibe eden faktörlere karşı da duyarlıdırlar. Dolayısıyla hücrenin geleceği, başlangıç aşamasındaki hücrede var olan değişimin etkisi

ile faktörleri arasındaki dengeye göre değişir. Bu denge, preneoplastik ve hatta tamamıyla transforme olmuş tümörlerin neden gelişmeden, yaygınlaşmadan kalabildiğini ve hatta gerilediğini açıklamaktadır (23).



Şekil 2.1: Karsinogenezis sürecinin temel bir şeması (KUMAR,V.; COTRAN,R.S.; ROBBINS,S.L.; Robbins Temel Patoloji, 7'inci baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2003, syf:179'dan alınmıştır.)

Başlangıç aşamasını geçirmiş ve ortamdaki uyarıcı ajanlardan etkilenmiş hücrelerde aşırı hücre proliferasyonu gerçekleşir ve dokuda normal hücelere göre transforme olan hücreler daha baskın hale gelir. Bu aşamaya kadar aynı anomaliye sahip hücre popülasyonu vardır. Ancak bu hücrelerden bazılarında oluşan yeni anomaliler o hücrelerin de çoğalmasında seçici bir avantaj oluşturur ve monoklonal olan hücre popülasyonu ilerleyen dönemlerde poliklonal özellik göstermeye başlar (3, 23, 51).

Dolayısıyla tümörler tüm özellikleriyle birlikte gelişmez. Statik bir hücre popülasyonu iken uyarıcılar ve yeni başkalaşım ile daha dinamik hale gelirler ve gelişim devam ettikçe yeni özellikler kazanırlar (3, 23, 51).

2.2. Kanserin Genetiği

Kanserde etkili olduğu düşünülen tüm genler birlikte değerlendirildiğinde 3 ana grup altında toplanırlar (3, 51) :

1. Onkogenler
2. Tümör süpresör genler
3. DNA tamir genleri

Hücre poliferasyonu, direkt ya da indirekt olarak kontrol edilir. Hücre siklusunda, hücrenin bölünmeye girebilmesini belirleyen kontrol noktaları vardır ve hücrenin bu kontrol noktalarından geçip geçmemesine göre hücre bölünmesine girip giremeyeceği belirlenir. Her iki kontrolde de normal regülatör gen ürünleri, hücre sayısının artırılması ya da hücre sayısı artışının inhibe edilmesine göre gruplandırılır. Dolayısıyla kanserin tipik özellikleri olan kontrolsüz hücre poliferasyonu ve invaze olabilme yeteneğini belirleyen iki başkalaşıma açık nokta vardır (3).

Birincisi, uyarılan geni aşırı aktif hale getirir. Bu başkalaşım dominant özelliكتedir, yani genin her iki allelinden sadece birinde oluşan bir başkalaşım bile o

genin aşırı aktif hale gelmesi için yeterlidir. Bu başkalaşıma uğrayan gen **onkogen** olarak isimlendirilir. Onkogenlerin normal formları **protoonkogen** adını alır ve her normal hücrede bulunan genlerdir. İkincisi ise hücre çoğalmasını inhibe edici geni inaktif hale getiren başkalaşımdır. Bu başkalaşım resesif özelliktedir, yani genin her iki allelinde başkalaşıma uğraması gerekir. Bu genler **tümör süpresör** genler olarak ifade edilir (3).

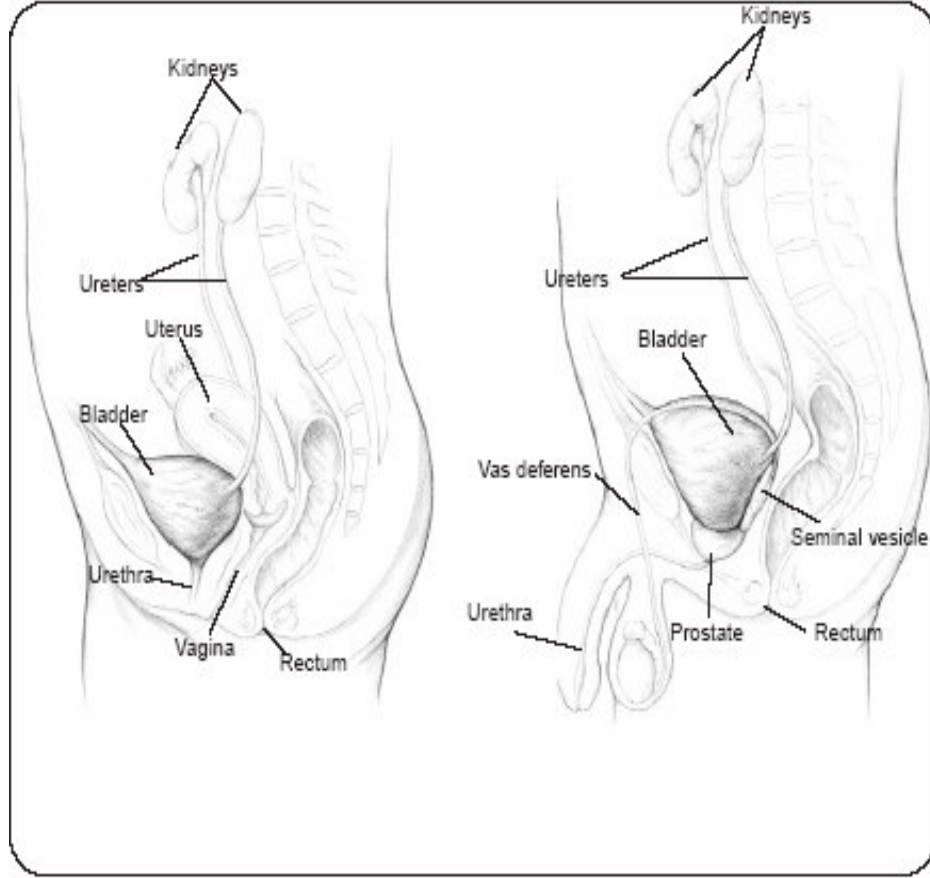
DNA replikasyonu sırasında yanlış bazların DNA ya katılması ve DNA'nın spontan veya kimyasal ajanlara, radyasyona maruz kalması durumunda DNA da çeşitli kimyasal değişiklikler ortaya çıkar. Hücre genomunun bütünlüğünün korunabilmesi için hücreler harap olan DNA'yı tamir etmek için mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bu DNA tamir mekanizmaları, DNA harabiyetinden sorumlu kimyasal reaksiyonun direkt olarak önlenmesi ve harap olan bazların DNA'dan çıkarılması olmak üzere iki ana gruba ayrılır (15, 23).

Bu ana gruplar içerisinde hatalı kısım çıkarılarak yapılan (baz çıkarılması, nükleotid çıkarılması) yanlış-eşleşme tamiri, replikasyon sonrası tamir gibi farklı tamir mekanizmaları bulunmakta ve her mekanizmada çeşitli gen ürünleri görev almaktadır. Ancak bu gruba dâhil olan genlerde oluşacak başkalaşım, fonksiyonel ürün sentezlenmesini engellediği için DNA tamir edilemeyecek ve genom dengesi bozulacaktır ki bu da karsinogenezde önemli bir etkidir (15).

2.3. MESANE

Mesane idrar depolama ve boşaltma görevi yapan, pelvik yerleşimli, içi boş muskuler bir organdır. Mesanenin şekli ve konumu boş ve dolu oluşuna göre değişir. Boş mesane simfiz pubisin arkasında yer alan, tepesi önde ve yukarıda, tabanı arkada ve aşağıda bir üçgen piramit şeklindedir (Şekil 2.2). Boş mesanenin tepesi (apex vesicea), tabanı (fundus vesicea), üst yüzeyi, alt-yan yüzeyleri ve mesane boynu belirgindir. Mesanenin tepesiyle tabanı arasındaki bölüme **gövde (corpus vesicea)** denir. Mesane

kadınlarda vajinanın proksimal bölümü ve uterine cervix ile rektumdan ayrılır. Erkeklerde ise seminal vesicles ve vazdeferensin ampullası ile rektumdan ayrılır (4, 82).

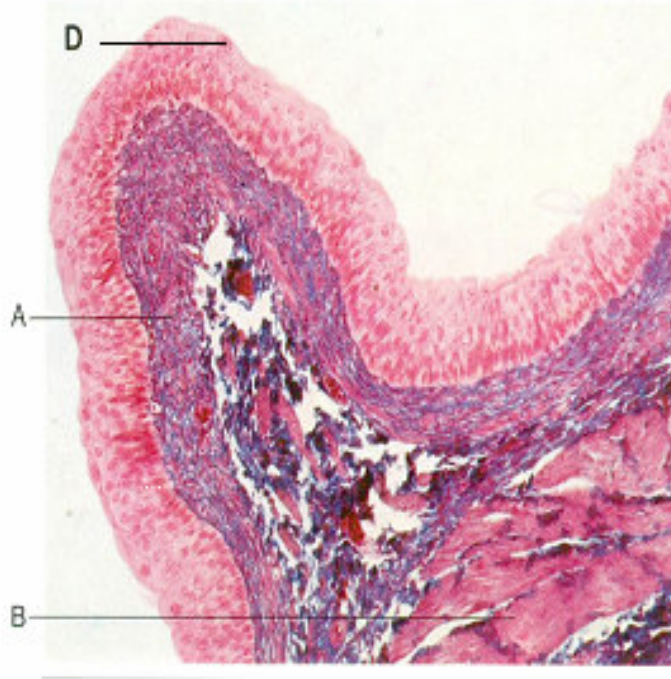


Şekil 2.2. Erkek ve kadın mesanesi ve komşu vücut organları

(http://www.aunet.org/guidelines/patient_guides/BladderCancer_patguide.pdf sitesinden alınmıştır.)

2.3.1. Mesanenin Histolojisi

Mesane en içte epitel hücre tabakası (mukoza) ve dışa doğru uzanan lamina propria (submukoza), düz kas (muskularis propria) ve adventitia bölümlerinden oluşur (Şekil 2.3). Anatomik sınırlar klinik ve patolojik olarak mesane kanserli hastaların evresini belirlemek için kullanılır (82).



Şekil 2.3. Mesanenin histolojik yapısı a) Lamina propria b) Muscularis propria d) Epitel hücre tabakası (DEVOOGT, H.J. ; RATHERT, P. ; BAYER-BOON, M.E. : *Urinary Cytology*, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 1977 syf. alınmıştır.)

a) Mukoza (Epitel Hücre Tabakası)

Mesanenin iç yüzeyini örten mukoza çok katlı değişici epitelten oluşur. 4-8 kat hücreden oluşan değişici epitelin yüzeydeki hücreleri oval, derindeki hücrelerse kübik şekilde sıralanır. Bu hücreler genellikle poliploid ve çift çekirdeklidir. Boş mesanede oval ve kübik epitel hücreleri, mesane dolduğunda yassı epitel şekline dönüşür. Çoğu histolog ve patoloğ tarafından epitel hücre tabakası için üretelyum terimi de kullanılır (4, 41, 82).

b) Lamina propria (Submukoza)

Lamina propria (submukoza) muscularis propria ve (mukozal basement membran) mukoza arasında kalan kısımdır. Lamina propria tabakasında her yöne uzanan elastik ve kollajen liflerden oluşan gevşek bağ dokusu, lenfatik kanallar, duyu sinirleri ve kapiller damarlar yer alır (4, 82).

c) Muscularis Propria (Düz Kas)

Muscularis propria iç ve dış longitudinal tabakalar ve merkezi dairesel tabaka olmak üzere 3 düz kas tabakasından oluştuğu söylenir. Ancak gerçekte bu 3 tabaka yalnızca mesane boynundaki alanda görülebilir. Diğer alanlarda, longitudinal ve dairesel tabakaların rastgele karışımı bulunur. Yani mesane kas yapısı belirli bir düzene bağlı olmaksızın her yöne uzanan kas liflerinden oluşmuştur (4, 82).

2.4. MESANE KANSERİ

Mesane kanseri zamanla değişen heterojen bir hastalıktır. İlk aşamada düşük-dereceli Ta tümörler düşük oranlı bir ilerlemeye sahiptir ve başlangıçta endoskopik müdahale ve gözetim gerekir, fakat hasta için nadiren tehlike oluşturur. Diğer aşamada, yüksek kötü huyluluk potansiyeline sahip yüksek dereceli tümörler kanser ölüm oranlarındaki anlamlı ilerleme ile ilgilidir (46).

Mesane tümörlerinin ortalama % 70-80 i yüzeysel tümör olarak görülür ve kalanı ise invaziv tümördür. Yüzeysel kanser grubu arasında, yaklaşık % 70 i Ta lezyonu, % 20 si T1 lezyonu ve % 10 u karsinoma in situ (CİS) olarak görülür (20, 22, 32, 42, 46, 84).

Yüzeysel değişici epitelyum karsinomunun %70 inden fazlası, düşük-histolojik derecelidir. Bu tip mesane kanserleri rezeksiyondan sonra nükseder ve yaklaşık %10-20

si invaziv yüksek dereceli tümörler olmaya eğilimlidir. Mesane inceleme stratejilerinin ve epidemiyolojisinin anlaşılması hastalığın erken tanısına ve önlenmesine yardımcı olur (5, 20, 38, 84, 91).

Yapılan istatistiki çalışmalara göre mesane kanseri erkeklerde prostat akciğer ve kolorektal kanserden sonra % 6 ile tüm kanserler içinde en sık görülen 4. kanserdir. Kadınlarda ise % 2 ile tüm kanser olgularında 8. sırada görülmektedir (4, 5, 37, 46).

1985-2000 yılları arasında ABD’de her yıl teşhis edilen mesane kanseri sayısı hem bayanlarda hem de erkeklerde eşit oranda, %33 artmıştır. Ayrıca mesane kanseri insidansı yaşla birlikte her iki cinste de artmaktadır (5).

Mesane kanseri çocukluk dahil her yaşta görülebilir. Bununla birlikte, genellikle orta ve ileri yaşın hastalığıdır. Sıklıkla 60 yaş üstünde görülür. 40 yaş altında oldukça nadirdir. Ancak hızlı sanayileşmeyle birlikte bu tümörlerde yaş sınırının giderek aşağı çekilmekte olduğu bir gerçektir. Genç yaşta görülen tümörler genelde daha iyi histolojik yapıya sahiptirler ve daha iyi bir seyir gösterirler. Mesane kanserinin sıklığı bölgelere ve ülkelere göre de değişkenlik göstermektedir (4, 5).

Ülkemizde sağlıklı istatistikler olmamakla beraber Dünya ortalamasının üstünde bir mesane kanseri insidansı olduğu düşünülmektedir. Çizelge 2.1 de Ülkemizde erkeklerde en çok görülen on kanser türü verilmiştir. Sağlık bakanlığının 2000 yılı istatistiklerine göre erkeklerde akciğer ve mide kanserinden sonra 3. sırada yer almaktadır (4, 35).

Çizelge 2.1: Erkeklerde en çok görülen on kanser türü

ORGANLAR	VAKA	%	(Yüzbinde)
TOPLAM	19.982	100	58, 18
Akciğer	5.387	26, 96	15, 68
Mide	1.493	7, 47	4, 35
Mesane	1.359	6, 8	3, 96
Larenks	1.086	5, 43	3, 16
Deri	1.035	5, 18	3, 01
Prostat	1.152	5, 77	3, 35
Kemik iliği	646	3, 23	1, 88
Kolon	737	3, 69	2, 15
Beyin	754	3, 77	2, 2
LenfDüğümü	660	3, 30	1, 92
Diğerleri	5.673	28, 39	16, 52

(<http://www.saglikbakanligi.gov.tr> internet sitesinden modifiye edilerek alınmıştır)

2.4.1. Mesane Kanserinin Etiyolojisi

Günümüzde yüzeysel ve yavaş ilerleyen mesane tümörlerinin genetik bir yatkınlıktan kaynaklandığı, agresif değişici epitel karsinomlarının ve skuamoz hücre karsinomlarının ise çeşitli karsinojenlerin etkisiyle sonradan geliştiği şeklinde bir görüş vardır. Etiyolojik faktörler arasında genetik yatkınlığın dışında, mesane kanseri gelişimine ve progresyonuna sahip olduğu rapor edilen faktörler şunlardır.

- 1) Sigara Kullanımı
- 2) Mesleki kimyasallara maruziyet
- 3) Kahve
- 4) Analjezik ya da yapay tatlandırıcı kullanımı
- 5) Parazitik, bakteriyel, mantar, viral enfeksiyonlar
- 6) Mesane taşları
- 7) Genotoksik kemoterapötik ajanlar alınması
- 8) Radyoterapi

Bununla birlikte mesane kanseri etiyolojisinde yukarıda bahsedilen kimyasal karsinojenlerin epidemiyolojik ve deneysel delillere dayalı güçlü rolü olduğu bilinse de, birçok olgu ciddi karsinojen olarak bilinen maddelere maruz kalmadan ortaya çıkmaktadır. Tüm maligniteler hücrelerin normal çoğalma ve farklılaşmalarını kontrol eden mekanizmalardan sapmayla ilgilidir ve sıklıkla malign hücrelerdeki genetik oluşum düzeninin bozulmasıyla meydana gelir (4, 5, 46, 54, 64).

2.5. Mesanede Preneoplastik Lezyonlar

2.5.1. Epitelyal Hiperplazi ve Metaplazi

Epitelyal hiperplazi terimi nükleer ya da yapısal anormallikler olmaksızın hücre sayısında artışı ifade eder. Ürotelyal metaplazi genellikle mesane tabanında, sıklıkla flokal alanlarda epidermoid (skuamoz metaplazi) ya da glandular (adenomatöz metaplazi) gelişim şeklinde, nontransisyonel epitelyal görünümündedir. Hücresel atipiden yoksun skuamoz metaplazi ya da belirgin keratinizasyon benign bir durumdur (5).

2.5.2. Ürotelyal Displazi

a) Preneoplastik Proliferatif Anormallikler

Atipik hiperplazi epitelyal hiperplaziye benzer, farklı olarak nükleer anormallikler ve şemsiye hücrelerinde parsiyel yer değişiklikleri bulunur. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve International Society of Urological Pathology (ISUP) düz intraepitelyal lezyonları da içeren, ürotelyal neoplazmalar için bir sınıflama geliştirmişlerdir (5).

b) Displazi

Displazi terimi normal ürotelyum ve karsinoma in situ (şiddetli displazi) arasındaki epitelyal değişikliktir. Hafif orta veya ileri derecede olabilir. Displastik hücreler büyük, yuvarlak, çentikli normal epitelyal polaritede saptanmayan bazal yerleşimli nukleuslara sahiptir ve normal epitelyal polariteyi göstermezler. Displastik epitelyum artmış hücre katmanları ve mitotik resimler içermez. Şiddetli displazi ile karsinoma in situ'yu ayırmak her zaman mümkün olamamaktadır (4, 5).

c) İverted Papilloma

İverted papilloma kronik inflamasyon yada mesane çıkışıındaki obstruksiyona bağlı gelişen benign proliferatif bir lezyondur. Papiller çıkıntılar mesane lümeninden çok fibromüsküler stromaya doğru ilerler. Lezyon genellikle ince bir normal ürotelyum tabakası ile kaplıdır. İverted papillomalar sistitis sistika yada skuamoz metaplazi alanları içerebilir. İverted papillomaların malign transformasyonu nadir olarak bildirilmiştir. Bununla birlikte inverted papillomaların transisyonel hücreleri karsinoma ile birlikteliği daha sıktır (5).

d) Nefrojenik Adenom

Nefrojenik adenom histolojik olarak primitif renal kolektör túbüllerden kaynaklanan nadir bir lezyondur. Bu durum ürotelyumun travmaya, enfeksiyona ya da radyo-terapiye metaplastik bir cevabı olup, sıklıkla disüri ve pollakiüriyle birlikte. Ödem ve inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu sıktır, fakat nükleer atipi ya da mitotik aktivite azdır (5).

e) Vezikal Lökoplaki

Lökoplaki belirgin keratinizasyon, aşağıya doğru büyüyen çıkıntılar (ekontozis), sellüler atipi ve displazi ile karakterize skuamöz metaplazidir. Normal ürotelyumun zararlı uyarana cevabı olarak ortaya çıktığına inanılmaktadır ve genel olarak hastaların %20 sinde skuamöz hücreli karsinomaya ilerleyebilen premalign bir lezyon olarak kabul edilebilir (4, 5).

f) Psödosarkom (Postoperatif iğ hücreli nodül)

Postoperatif iğ hücreli nodül mesane sarkomuna benzeyen nadir bir lezyondur. Alt üriner sistem girişimi ya da enfeksiyonundan birkaç ay sonra iğ hücrelerinin reaktif poliferasyonu ile oluşur (5).

2.6. Karsinoma İn Situ (KİS)

Karsinoma in situ mukozanın eritemli kadifemsi yama şeklindeki lezyonu olarak görünse de, sıklıkla endoskopik olarak tanınmaz. Histolojik olarak az diferansiye transisyonel hücreli karsinomdan oluşur.

Karsinoma in situ asemptomatik olabilir ya da pollaküri, urgency ve disüri gibi şiddetli semptomlar oluşturabilir. Karsinoma in situ olan hastaların %80 ila % 90 ında idrar sitopatolojisi pozitiftir. Yüksek dereceli yüzeyel tümörü olan hastaların % 25 ya da daha fazlasında karsinoma in situ mevcuttur ve bunların % 40 ila % 83 ü ilerleyek kasa invaziv kansere dönüşür. Belirgin üriner semptomu olan hastalarda genellikle kas invaziv kanser gelişmesi öncesinde kısa bir dönem vardır. Yaygın karsinoma in situ nedeniyle sistektomi yapılmış olan hastaların % 20 sinde mikroskobik kas tutulumu olan kanser görülmektedir. Bu konuda bir dizi çalışma karsinoma in situnun kasa invaziv kanserle olan direkt ilişkisini göstermiştir (5).

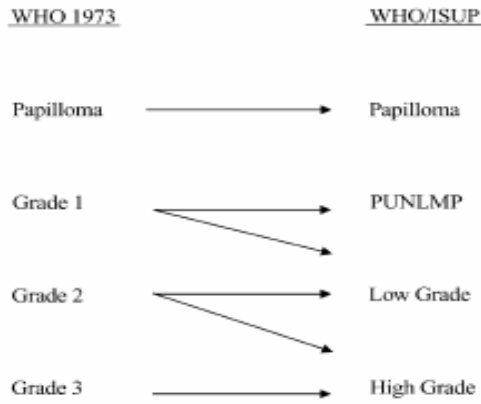
2.7. Değişici Epitel (Ürotelyal) Karsinomu

Mesane kanserlerinin % 90 ından fazlası değişici epitel karsinomu (DEK) dur. Değişici epitelyum kanserler normal ürotelyumdan, mukozada papiller katlantıları olan artmış sayıda epitelyal hücre tabakaları, hücre polaritesinin kaybı, tabandan yüzey tabakalara doğru anormal hücre matürasyonu, artmış çekirdek/sitoplazma oranı, belirgin nükleoli, kromatin kümeleşmesi ve artmış sayıda mitoz ile ayrılır (4, 5, 13, 24).

2.7.1. Tümör Derecelendirmesi

Mesane kanseri için üzerinde uzlaşmış bir derecelendirme sistemi bulunmamaktadır. En çok kullanılan sistemler ise tümör hücrelerindeki anaplazinin derecesi göz önünde tutularak yapılmaktadır. 1998 ve 2004 yılında World Health Organization ve International Society of Urological Pathology nin ortaklaşa geliştirmiş oldukları sınıflandırma (1998/2004 WHO/ISUP Sınıflandırma sistemi) sistemine göre bu tümörlerin çoğu papiller ürotelyal neoplazmlar olarak sınıflandırılmıştır. 1998/2004 WHO/ISUP Sınıflandırma sistemi ile 1973 WHO sistemi karşılaştırıldığında ikisi arasında bazı farklılıklar vardır (Şekil 2.4). Bu farklılıklar; 1973 WHO sistemine göre G1 tümörler, 1998/2004 WHO/ISUP sınıflandırma sistemine göre PUNLMP ve düşük dereceli karsinomlar olarak iki alt gruba ayrılmıştır. 1973 WHO sistemine göre G2

tümörler, 1998/2004 WHO/ISUP sınıflandırma sistemime göre düşük dereceli ve yüksek dereceli karsinomlar olmak üzere ikiye ayrılmıştır. 1973 WHO sistemine göre G3 tümörler, 1998/2004 WHO/ISUP sınıflandırma sistemime göre yüksek dereceli karsinomlar olarak adlandırılmışlardır (5, 45, 46, 55, 72).



Şekil 2.4. Papiller ürotelyal neoplazmların 1998/2004 WHO/ISUP Sınıflandırma sistemi ile 1973 WHO sistemi karşılaştırılması (Lopez-Beltran, A., Montironi, R., 2004, Non-Invasive Urothelial Neoplasms: According to the Most Recent WHO Classification, European Urology, 46, 170–176 sayfa 174 modifiye edilerek alınmıştır.)

a) Papilloma (G0)

Papilloma ince bir fibrovasküler çekirdek etrafında normal mesane mukozası bulunan papiller bir lezyondur. Yediden fazla epitel tabakası bulunmaz ve histolojik olarak herhangi bir anormallik yoktur. Bu lezyon transisyonel hücreli kanserlerden farklı olarak, son derece nadir görülür ve endoskopik rezeksiyon sonrası hemen hemen hiç nüksetmez (5).

b) İyi diferansiye (G1) tümörler

Bu tümörler ince bir fibromusküler sapla birlikte yedi kattan daha fazla tabakaya kalınlaşmış bir ürotelyuma sahip ve hücrelerinde az miktarda anaplazi ve pleomorfizm bulunan tümörlerdir. Tabandan yüzeye doğru görülen hücresel olgunluk karmaşası azdır ve az miktarda mitotik şekillere rastlanır. Mukoza tarafından düşük malign potansiyeli olan papiller ürotelyal tümörler olarak adlandırılmaktadır (5).

c) Orta derecede diferansiye (G2) tümörler

Bunlar daha geniş bir fibrovasküler çekirdeğe sahip, tabandan yüzeye doğru hücresel olgunlaşma dağılımı daha fazla olan ve hücre polarite kaybı daha yüksek olan tümörlerdir. Çekirdek / sitoplazma oranı daha fazla olmakla birlikte, daha fazla nükleer pleomorfizm görülür ve çekirdekçik daha belirgindir. Mitotik şekiller daha sık rastlanır (5).

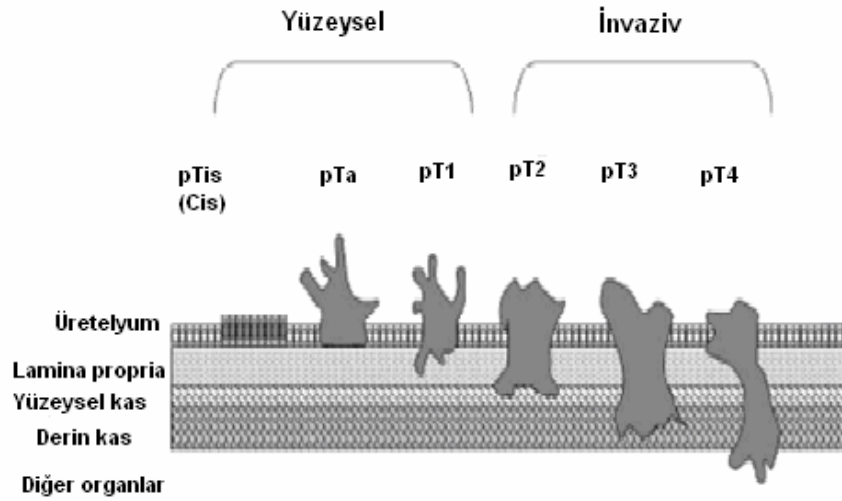
d) Kötü diferansiye (G3) tümörler

Tabandan yüzeye doğru gidildikçe hücrelerde farklılaşma görülmez. Yüksek çekirdek/sitoplazma oranı ile birlikte belirgin nükleer pleomorfizm göze çarpar. Mitotik şekillere sık rastlanır (5).

2.7.2. Tümör evrelendirmesi

Patolojik evre mesane kanserinde en önemli prognostik faktörler arasındadır. Doğru evrelendirme hasta tedavisi için kritiktir. Mesane kanserinin evrelendirilmesinde, American Joint Committee on Cancer/Tumor Nodes Metastasis (AJCC/TNM), Sınıflandırma sistemi kullanılır. Mesane kanserinin evrelendirmesi bir tümörün mesane

duvarının içersine girme derinliğine dayanır (31, 33, 34, 72). Şekil 2.5 de Değişici epitelyum karsinomanın tümör evrelendirmesinin şematik resmi verilmiştir.



Şekil 2.5. Değişici epitelyum karsinomanın tümör evrelendirmesinin şematik şekli (Höglund, M. Bladder Cancer, 2007, A Two Phased Disease?, Seminars in Cancer Biology, 17, 225–232 'de modifiye edilerek alınmıştır.)

Bu sisteme göre mesane tümörlerinin evrelendirilmesi şu şekilde olur:

Karsinoma in situ, Tis, veya cis displazi gösteren düz lezyonudur ve invaziv DEK in haberci olduğuna inanılır.

Ta tümörler, papiller epitelde sınırlı, yani noninvasiv papiller tümörlerdir ve en yumuşak formu ifade ederler ve exophytic büyüme gösterirler fakat lamina propriayı işgal etmezler.

T1 tümörler, bazal membranı enine kaplar ve lamina propriayı işgal ederler, fakat muskularis propria invazyonu göstermeyen tümörlerdir. Tis, Ta ve T1 tümörler, yüzeysel kanserler olarak birlikte gruplandırılırlar.

T2 tümörler: Kas invazyonu gösteren tümörlerdir.

T3 tümörler: Bu evredeki tümörler perivezikal yağ dokusuna invaze olmuştur.

T4 tümörler: Bu evredeki tümörler kemik pelvisdeki prostatik stroma, rektum, uterus, vajina, pelvik duvarı veya abdominal duvara invaze olmuştur.

Tümör derecesi ve evresi arasında güçlü bir bağlantı bulunmaktadır. Buna göre iyi diferansiye ve orta derecede diferansiye tümörler yüzeysel olmaya meyilli iken az diferansiye olanlar daha çok kas invaziv tiptedir. Her evrede, tümör derecesi ve prognozu arasında anlamlı bir ilişki bulunmaktadır, bununla birlikte tümör evresi ve prognozu arasındaki ilişki daha kuvvetlidir (5, 31, 33, 34).

2.8. Değişici Epitelyum Karsinomunda Görülen Genetik Değişiklikler

2.8.1. Sitogenetik Değişiklikler

Sitogenetik çalışmalarla mesane DEK unda birçok sayısal ve yapısal kromozom değişiklikleri belirlenmiş ve belirlenmeye devam etmektedir. Kromozomal anomaliler, hücresel proliferasyonda, hücre döngüsünü durdurmada kaçmada veya apoptozide direkt bir etkiye sahip olan gen regülasyon değişikliklerine (örneğin belirli genlerin aşırı ekspresyonu) veya bağlanma ürünlerine öncülük edebilir (75).

Kromozom 9 a ait değişimler, DEK unda en sık görülen sitogenetik ve moleküler genetik bulgulardır. Kromozom 9p21'in kaybını içeren 9. kromozomun kısa kolunun delesyonu en yaygın değişikliktir (11, 17, 18, 22, 25, 28, 64, 65, 66, 76, 77, 79, 80).

Sitogenetik ve moleküler sitogenetik çalışmalar, mesane DEK lu hastalarda 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 12, 13, 17, 18, 20 ve Y kromozomlarında değişiklikler olduğunu

ortaya koymuştur. Bununla birlikte, DEK unda görülen en yaygın sayısal değişiklikler kromozom 1, 3, 5, 7, 8, 9, 11, 17 ve Y de bulunmuştur (1, 17, 18, 28, 49, 50, 64, 74, 76, 79, 80, 86).

Karyotipleme, Karşılaştırma Genomik Hibridizasyon (KGH) ve moleküler genetik çalışmalar, mesane kanserinde birçok kromozomlarda bölge artışı ve kaybı olduğunu göstermiştir. Rastgele olmayan kromozomal DNA nın kayıp ve artışları, tmrigenezis sürecinde kanser genlerinin aktivasyonuna ve inaktivasyonuna katkıda bulunur. Tmrigenezisde, inaktivasyonu önemli olan genler **tümör süpressör genler (TSG)** olarak adlandırılırken, aktive olarak rol oynayan genler **onkogenler** olarak adlandırılır. Mesane kanserinde içinde bulunduğu kanserlerde, belli rasgele olmayan çoğu kromozom bölgelerinin kayıp ve artışları uzun zamandır bilinmesine rağmen, bu bölgelerin yalnızca az bir kısmının kanser genleriyle ilgili olduğu gösterilmiştir (73).

2.8.2. Moleküler Genetik Değişiklikler

2.8.2.1. Protoonkogenler

Protoonkogenler, nükleer ve/veya sitoplazmik proteinleri kodlayan normal hücre genleridir ve hücre proliferasyon promotrları olarak görev yaparlar. Protoonkogenlerin aktive olmaları için aşırı ekspresyonun oluşmasına öncülük eden, tek bir alelin nokta başkalaşımı veya gen amplifikasyonu gereklidir. Mesane kanseri ile ilişli bulunan en önemli protoonkogenler şunlardır (26, 27, 44, 61, 75):

1. Epidermal Growth Faktör Reseptör Geni (EGFR)
2. HER-2/neu (c-erb-B2) onkogeni
3. H-ras onkogeni
4. MYC geni
5. FGFR 3 geni (Fibroblast Growth Faktör Reseptörü 3)

2.8.2.1.1. Epidermal Growth Faktör Reseptörleri (EGFR)

Bunlar, hücre dışında gelen kontrol etmekten sorumlu sinyalleri hücre içine ileten sitoplazmik domainli transmembran proteinleridir ve tirozin-spesifik protein kinazlar olarak işlev görürler. Epidermal growth faktör reseptör ailesinin bir üyesi olan EGFR, kromozom 7p12.3-p12.1.7 bölgesine lokalizedir. EGFR'nin aşırı ekspresyonu ile mesane kanserinin yüksek derecesi ve evresi arasında pozitif bir ilişki olduğunu rapor edilmiştir. EGFR ekspresyonu/amplifikasyonu hızlı tümör proliferasyonu, agresif tümör davranışı ve kötü prognozla ilişkilidir. Epidermal Growth Faktör Reseptör (EGFR) geninin kopya sayısındaki artış ile kromozom 7 artışı arasında bağlantı olduğu bildirilmiştir (27, 61, 75, 88, 89).

2.8.2.1.2. HER-2/neu (c-erb-B2) onkogeni

HER-2/neu (c-erb-B2) onkogeni, 17q21 bölgesine lokalizedir ve epidermal growth faktör reseptör ailesinin bir üyesidir. HER-2/neu değişici epitel karsinomunun az bir kısmında, özellikle yüksek dereceli ve yüksek evreli tümörlerde, amplifiye ve aşırı ekspre olur. Aşırı ekspre olmuş HER-2/neu aktive olmuş tirozin kinaz aktivitesine sahiptir ve hücre büyümesini uyarır. HER-2/neu aşırı ekspresyonun ürünü, artmış tümör derecesi, kanser-spesifik hayatta kalma ve metastatik insidans ile korole olduğu gösterilmiştir (14, 44, 48, 61).

2.8.2.1.3. H-RAS onkogeni

11. Kromozom üzerinde lokalizedir. Bu onkogen, intraselüler transdüksiyon için gerekli GTPaz ile aktive olan bir proteini kodlar ve hücre proliferasyonu ve differensiyasyonu sinyal aracılığıyla regüle etmede önemli rol oynar. Ras onkogen başkalaşimleri, pankreas, kalınbağırsak gibi çeşitli kanserlerde bildirilmiştir. Özellikle H-RAS başkalaşımının frekansının mesane kanserinde yüksek olduğu bilinmektedir. Tek bir amino asitin değişikliğine sebep olan missens başkalaşımınla aktive olur.

Mesane kanserinde H-RAS geninde 12.,13.,16.,ve 61. kodonlarda nokta başkalaşımı olduğu belirlenmiştir. H-RAS geninde 12 ve 61 kodonlarda meydana gelen nokta başkalaşimleri mesane kanserinin %10 dan fazlasında gelişme ve ilerlemede etkilidir (9, 27, 75).

2.8.2.1.4. C-MYC Onkogeni

Bu onkogen 8. kromozomun uzun kolunda lokalizedir. MYC gen ailesi, hücrel proliferasyonun önemli bir regülatörüdür ve DNA ya bağlanma aktivitesi gösteren nükleer fosfoproteinleri kodlar. C-MYC geni, transkripsiyon faktörü olarak çeşitli genlerin ekspresyonunu regüle ettiği için, hücrelerin proliferasyonunda, differensiyasyonunda ve apoptozisinde gereklidir. C-MYC onkogeni, mesane kanserinin de içinde bulunduğu birkaç insan tümöründe aşırı eksprese olduğu görülmüştür. MYC gen ailesinin deregülasyonu kromozomal translokasyon ve gen amplifikasyonu sonucu meydana gelir. C-MYC aşırı ekspresyonu hücreyi proliferasyona teşvik eder. Mesane kanserinde C-MYC geninin aşırı ekspresyonu yüksek dereceli ve evreli tümörlerde daha sık rapor edilmesine rağmen, nüks etme, ilerleme ve hayatta kalma ile korelasyonu gösterilememiştir. Sonuç olarak, C-MYC aşırı ekspresyonu mesane kanserinde az da olsa bir prognostik anlama sahip olabilir (9, 27, 44, 61, 75).

2.8.2.1.5. FGFR 3

Moleküler genetik analizler, özellikle düşük derece/evre fenotipli mesane kanserlerinde FGFR3 geninde nokta başkalaşımı olduğunu göstermektedir. Bundan dolayı FGFR3 nokta başkalaşımının prognostik bir değişken olabileceği bildirilmiştir. Bununla birlikte, FGFR3 genindeki başkalaşımın anlamlı prognostik bağımsızlığı olup olmadığı konusunda şimdilerde büyük bir çalışma yoktur (27, 87).

2.8.2.2. Tümör Süpressör Genler

Değişici epitelyum karsinomunda tümör süpressör genlerin delesyon, başkalaşım ve/veya metilasyonla inaktive olması mesane kanseri patogeneğinde önemli rol oynar. Mesane kanser patogeneğinde rol oynayan en önemli tümör süpressör genler, retinoblastom geni (RB) ve TP53 genidir (73, 83).

2.8.2.2.1. Retinoblastom Geni (RB)

RB geni kromozom 13q14 bölgesine lokalizedir ve hücre siklusunda düzenleyici olarak görev yapan bir nükleer fosfoproteini kodlar. PRB (retinoblastoma proteini) nin fizyolojik olarak aktif olan hipofosforlanmış formu G1-S kontrol noktasında hücre siklusunun ilerlemesini inhibe etmede rol oynar. Bununla birlikte, PRB multiple hücre siklus regülatör proteinleriyle etkileşir (40, 75, 83, 90).

Bu proteinler :

1. Siklinler: Fosforilasyon yoluyla PRB nin inaktivasyonunu katalizler.
2. Cdk İnhibitörleri: P21, P16 ve P27'dir. Bunlar cdk/siklin kompleksini çalıştırlar ve böylece PRB nin fosforilasyonu inhibe ederler.
3. Trankripsiyon faktörlerinin E2F ailesi: Bunlar hücre döngüsünün S (Sentez) fazına geçiş için gerekli olan genlerin transaktivesinde sorumludurlar.

Bunların etkileşimindeki herhangi bir değişiklik kontrolsüz hücre büyümesine yol açar. Normal hücreler RB proteini üretirken, RB genindeki başkalaşım ve delesyonlar RB ekspresyon kaybına yol açabilmektedir. RB lokusundaki heterozigosite kaybı

(LOH) protein ekspresyon yokluğuna yol açar. RB geninin başkalaşımı mesane kanserinde yaklaşık %30 oranında görülmüştür (2, 90).

RB geninin inaktivasyonu mesane kanserinin ilerlemesinde önemli bir adımdır. İmmünohistokimyasal ve moleküler genetik analiz çalışmaları, yüksek dereceli ve evreli mesane kanserinde RB değişimi olan tümör miktarının arttığını göstermiştir. Bu çalışmalar PRB ekspresyon kaybının DEK da önemli bir prognostik faktör olabileceğini gösterir. PRB ekspresyonunu kaybetmiş hastaların PRB ekspresyonu devam edenlere göre hayatta kalma süreleri daha kısadır. Sonuç olarak RB proteinin kaybı daha yüksek evreli ve dereceli DEK ile ilişkilidir ve kas invazyon DEK lu hastalarda önemli bir prognostik faktördür (2, 27, 40, 75, 90).

2.8.2.2.2. TP 53 Geni

TP53, 17p13.1 bölgesine lokalizedir. TP53, DNA tamirinin regülasyonunda ve apoptozisde kritik rolü olan bir transkripsiyon faktörünü kodlar. p53, hücre döngüsünde kontrol noktalarını (P21 WAF1/CIP1), apoptozisi (BAX), DNA tamirini (GADD45), ve angienezisi (thrombospondin) kontrol eden genlerin ekspresyonunu aktive eden bir transkripsiyon faktörü olarak görev yapar. Mutant p53 proteini wild tip p53 den çok daha uzun yarı ömre sahip olduğundan nükleuslarda birikir ve immünohistokimyasal yöntemle belirlenebilir. TP53 geninin değişmesi insan tümörlerinde görülen en yaygın genetik bozukluktur (2, 75, 90).

17p deki alellik kayıplar çoğu mesane kanserinde rapor edilmiştir. Mesane tümörlerinin yarısında p53 de fonksiyon kaybı görülür ve bu yüksek derece-evre ile ilişkilidir. Mutant p53 yüzesel mesane tümörlerinde az sıklıkla görülür ve mutant p53 ekspresyonu kötü seyriyle ilişkilidir (2).

2.9. Değişici Epitelyum Karsinomanın Oluşum Mekanizması

Yüzeyel mesane kanserinin gelişmesi ve ilerlemesi ile ilgili en az 2 yolak vardır. Reseptör Trozin Kinaz (RTK)-RAS yolağının aktivasyonu ve kromozom 9 un delesyonu papiller Ta yüzeyel mesane kanserinin erken gelişmesinde sorumludur. Önceki çalışmalar mesane kanserinde fibroblast growth faktör reseptör 3 (FGFR3) başkalaşımını %60-%70 oranında HRAS başkalaşımını ise %30-%40 oranında olduğunu göstermiştir. Bu durum bize bu değişikliklerin hastalığın gelişmesinde çok önemli olaylar olduğunu gösterir. Kromozom 9'un total veya parsiyel delesyonu düşük dereceli papiller Ta kanser ve hiperplazide meydana gelir. 9q ve 9p kayıplarının her ikisi de bu neoplastik lezyonların gelişmesinde gereklidir. 9q32-33 bölgesinde bir tümör süpressör geninin lokalize olduğu düşünülmektedir. Yine, 9p21 bölgesinde INK4A/ARF lokusunda aday bir tümör süpressör gen belirlenmiştir. Bu bölge P16 ve P14 proteinlerini kodlar ve bu bölgenin homozigot delesyonu RB ve p53 yolaklarını downregüle eder. Ayrıca INK4A/ARF lokusunun homozigot delesyonu yüksek derece-evreye sahip yüzeyel kanserle de ilişkilidir (47, 69).

Kromozom 9 delesyonları düşük dereceli Ta mesane kanserinin gelişmesinde erken bir olay olarak başlangıçta belirlenmesine rağmen, sonradan yüksek dereceli kanserinin nadiren displazi ve karsinoma in situ gelişmesinde de katkıda bulunduğu ortaya çıkarılmıştır (47, 69).

Kromozom 9 delesyonları yüksek dereceli Ta veya T1 mesane kanseri ve karsinoma in situ gelişmesinde kısmen gerekli olabilir ancak hastalık oluşması için önemli yolak p53 ve RB in her ikisinin fonksiyonlarının inaktivasyonudur. TP53 ün başkalaşımını veya p14 ün homozigot delesyonu p53 fonksiyonunu inaktive eder. RB ekspresyonunun kaybı veya hiperfosforillenmiş RB proteini disfonksiyonel RB ye neden olabilir. Böyle, p53 ve RB mın her ikisinin de aynı anda fonksiyon kaybı yüksek dereceli T1 mesane kanserlerinin %50 den fazlasında bulunmuştur (47, 69).

Özellikle RTK-RAS yolağı ve kromozom 9 un delesyonu düşük dereceli Ta nın gelişmesinde sorumlu olabilir. 9p in delesyonu yüksek dereceli Ta nın gelişmesinde gerekli olabilir. Ta veya KIS nın T1 ilerlemesi için p53 ve/veya RB yolaklarının fonksiyonlarının bozulması gerekli olabilir (47, 69).

2.10. Tümör Histopatolojisi ve Kromozom Anomalileri

Mesane kanseri, gelişiminde çeşitli genetik değişiklikleri içeren heterojen bir hastalıktır (65). Tümörün derecesi ve evresi önemli prognostik faktörler olarak bildirilmiştir. Bununla birlikte yüzeysel mesane kanserinin klinik davranışını histopatolojik tanılarına göre tahmin etmek zordur, çünkü fenotipi aynı olan bütün tümörler aynı davranışı göstermezler. Mesane kanserinin genotipinde bulunan komponentlerin çoğunu biliyoruz, fakat spesifik genetik değişikliklerin klinik anlamı hakkındaki bilgilerimiz tamamlanmamıştır. Kanser hücrelerinin genotipi fenotip belirlemede önemli rol oynadığından dolayı, spesifik tümör davranışı ile korole kromozomal değişikliklere dayanan yeni genetik markerların belirlenmesi hastalığın tedavisine yardım edebilir. Konvansiyonel sitogenetik ve moleküler sitogenetik teknikler mesane kanserinde görülen genetik değişiklikleri ortaya koymuştur. Bu değişikliklerin bazıları ile tümör derecesi ve evresi arasında iyi bir korelasyon vardır (64, 65, 66, 71).

Mesane kanser derecesi ve evresiyle ilişkili genetik değişiklikler yaygın olarak 1, 3, 7, 8, 9, 11 ve 17 nolu kromozomlarda görülür. Bu kromozomlardaki polizomi yüksek dereceli ve ileri evreli mesane karsinomuyla ilişkilidir (39, 58, 71, 74, 77).

PTa papiller tümörlerin G1-G2 papiller karsinomlarında yalnızca birkaç genetik değişiklik saptanırken G3 papiller karsinomunda anomalinin daha yüksek sayıda olduğu gösterilmiştir. PTA ve düşük dereceli tümörlerde bulunan en yaygın değişmeler kromozom 9'un total delesyonu, kromozom 9p21 (p16 geni) kaybı ve 9q32-34 kaybı, kromozom 17 kaybı ve kromozom 7 artışıdır (12, 18, 22, 32, 58, 64, 65, 77, 93).

PTa ve PT1 tümörler kıyaslandığı zaman, anlamlı olarak PT1 tümörlerinde PTa tümörlerden daha fazla kromozom değişimi olduğu bulunmuştur. T1 tümörlerin histolojik dereceleri yüksek olanlar histolojik dereceleri düşük olanlardan daha çok kromozomsal değişiklik gösterirler. T1 G3 tümörler yüksek frekansta trizomi 7, tetrazomi 7, tetrazomi 8, yüksek polizomi 8, trizomi 9, tetrazomi 9, yüksek polizomi 9, trizomi 17, tetrazomi 17 ve yüksek polizomi 17 gösterirler (58, 74, 77).

PT2 tümörlerde 7, 9, 17 kromozomlarının polizomisi PT1 tümörlerden baskındır. Ancak PT2-T4 tümörlerde 7, 8, 9 ve 17 kromozomlarının polizomi frekansı PT1 tümörlerden anlamlı olarak daha fazla değildir(71, 77).

2.11. Değişici Epitel Karsinomu Tanı Metotları

Değişici epitelyum karsinoma olduğundan şüphelenilen hastalarda yaygın olarak kullanılan tanı metotları sitoloji, sistoskopi ve biyopsi alma metotlarıdır (9, 43, 52).

2.11.1. Sistoskopi

Sistoskopi mesane kanserinin tanısı ve takibinde kullanılan geleneksel standart metottur. Mesane kanseri olduğundan şüphelenilen her hastaya bir sistoskopi ve bimanuel muayene yapılır. Sistoskopi primer ve rekurrent değişici epitel karsinomunu belirlemede yüksek sensitiviteye sahiptir, fakat invaziv bir metottur. Ayrıca, sistoskopi karsinoma in situ saptamada yetersiz sensitiviteye sahiptir (5, 43, 52, 56, 57, 85, 92).

2.11.2. Sitoloji

Sitoloji mesane kanserinin tanısı ve takibinde kullanılan bir metottur. Malign ürotelyal hücreler, idrar sedimenti ya da mesane yıkamasının mikroskopik incelemesi ile görülebilir. Karakteristik olarak, tümör hücreleri büyük bir çekirdeğe, düzensiz ve

kaba yapılı kromatine sahiptir. Mikroskopik sitolojinin kullanım alanını kısıtlayan durum, iyi diferansiye tümör hücrelerinin sitolojik olarak normal görünmesi ve bu kanserlerin daha iyi tutunma yeteneklerinin olmasından dolayı idrarla kolay kolay atılmamalarıdır. Dolayısıyla, sitoloji yüksek evreli ve dereceli ve karsinoma in situ DEK belirlemede sensitivitesi ve spesifitesi yüksek olmakla birlikte düşük evreli ve dereceli DEK belirlemede sensitivitesi ve spesifitesi zayıftır. Bununla birlikte, yüksek dereceli tümörü olan hastalarda bile idrar sitolojisi %20 oranında yanlış negatif sonuç verebilmektedir. Mesane yıkamalarında, normal miksiyona göre daha fazla yüzeysel hücre örnekleri alındığı için, mesane kanserinin tanısında yıkama ile alınan örnekler daha değerlidir (5, 28, 39, 43, 52, 56, 57, 70, 78, 85).

2.11.3. Biyopsi Alma (Tümör Rezeksiyonu(TUR))

Mesane tümörünün ideal rezeksiyonunda ilk önce tümör kitlesi, daha sonra da derin kısmı, altındaki bir miktar kas dokusuyla birlikte rezeke edilir ve her parça histolojik incelemeye ayrı ayrı gönderilir. Bu yaklaşım tümörün tam olarak çıkarılmasını sağladığı gibi tümör derecesi ve tümörün infiltrasyonu hakkında da tanısıl bilgi verir. Tam rezeksiyonun mümkün olmadığı ya da en azından değerinin tartışılır olduğu durumlarda, yine de histolojik tanı ve evreleme için yeterli doku alınması zorunludur (5).

2.11.4. Flow Sitometri

Flow sitometri, nükleusları, DNA ya bağlayan florasan bir boya ile boyanmış olan hücrelerdeki DNA miktarını ölçer. Dolayısıyla, bir tümördeki anöploid hücre popülasyonunu ve proliferatif aktiviteyi (S fazındaki hücrelerin yüzdesini) hesaplayabilir. DNA diploid tümörler daha düşük derecede ve evrede olmaya meyillidir ve bu hastalıkların prognozu daha iyidir. Triploid ya da tetraploid kromozom sayısına sahip olan tümörler kötü patolojik özellikler taşırlar ve hastaların prognozu kötüdür (5).

Flow sitometri birçok parametreyi bir arada ölçebilir. Örneğin, hücreler ve sitokeratin (epitelyal hücre markeri) için boyanabilir. Flow sitometri cihazı da gerekli şekilde programlanarak yalnızca sitokeratinler için pozitif boyanan hücrelerdeki DNA içeriğinin ölçülmesi sağlanabilir. Bu çoklu parametrelili yaklaşım flow sitometrenin doğruluğunu artırır, zira bu şekilde, alınan örneklerde hangi hücrelerin çoğalmakta olduğu bulunabilir, dolayısıyla tümör hücreleri ile karakter olarak aynı vasıftaki beyaz kan hücreleri gibi malign olmayan hücreler devre dışı bırakılmış olur. Yapılan çalışmalar bu tür bir yaklaşımın yalnız başına antijen yada DNA ölçümünden daha anlamlı bir prognostik değer taşıdığını göstermektedir. Benzeri çoklu parametrelili yaklaşım sitolojide de uygulanabilmektedir (5).

Genelde, flow sitometri konvansiyonel sitolojiden klinik olarak daha değerli gibi görünmese de, yapılan bazı çalışmalar, sonuçların sitolojiye göre daha kesin olduğunu bildirmektedir. Genellikle diploid olan düşük dereceli yüzeyel tümörler yanlış negatif sonuçlar vermektedir. Anöplodi yüksek dereceli tümörlerin sık rastlanan bir özelliğidir ve dolayısıyla flow sitometri karsinoma in situ ya da yüksek dereceli malignitesi olan hastalarda daha doğru sonuçlar vermekte ve tümörlerin % 80 ila % 90 ı doğru bir şekilde belirlenebilmektedir. Mesane kanserli hastaların takibinde flow sitometri konvansiyonel sitolojinin yerini alamamıştır (5).

2.12. FLORESAN In Situ HİBRİDİZASYON

Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) tekniği, prob olarak bilinen tek zincirli DNA parçasının, genomun herhangi bir yerine lokalize olmuş onun komplementeri hedef DNA veya RNA dizisine bağlanma (hibridize olma) ilkesine dayanır. Problar direk florokromla işaretli (örnek: floresan -dUTP) veya indirek olarak bir reporter molekülün (biotin-dUTP veya digoxigenin-dUTP) bağlanması ile görüntülenir. Çoğu floresan işaretli DNA problemleri ticari olarak satın alınabilir. FISH tekniği spesifik DNA ve RNA sekanslarının doku kesitlerindeki her hücrede, kromozom preparasyonlarında veya interfaz nükleuslarında morfolojik olarak gösterilmesini ve nükleik asitlerin kendi doğal hücresel ortamlarında incelenmesini sağlayan, doku/hücre arkitektinin

bozulmadığı bir tekniktir. Ayrıca FISH tekniği çeşitli tümörlerin interfaz nükleuslarında kromozomal aberasyonları belirlemek için basit, hızlı ve güçlü bir tekniktir (1, 8, 10, 19, 59, 65, 68, 70, 85).

Mesane kanserinde meydana gelen kromozomal değişikliklerin bilinmesi tanısal amaçlar için kullanılabilir olduğundan dolayı mesane kanserinin tanısı için birkaç farklı FISH analizi geliştirilmiştir. Bu FISH analizleri mesane yıkama ve idrar örneklerinden elde edilen üreteryal hücrelerdeki kromozomal aberasyonları belirleme ilkesine dayanır. Klinik olarak anlamlı olan hemen hemen bütün mesane karsinomları çeşitli kromozomal değişiklikler taşıdığından dolayı, FISH metodu mesane kanserinin tanısı ve tekrarlanmanın tahmini için önemli bir tekniktir (71, 86).

2.12.1. FISH Tekniğinde Kullanılan Problar ve Özellikleri

FISH tekniğinin uygulamasında en önemli aşama prob seçimidir. Kullanılacak probun incelenecek materyale, değerlendirilecek anomali tipine ve bölgesine uygun olması gerekir.

FISH tekniğinin sitogenetik alanında kullanılan başlıca problar şunlardır (7);

- Tekrarlayan dizi probları (satellit problar)
- Lokusa özgü problar
- Tüm kromozomu boyayan problar
- Banda özgü problar ve telomer bölgesine özgü problar

Tekrarlayan dizi probları (Sentromere özgü problar) : Sentromerik ve perisentromerik bölgede bulunan tekrar dizilerine özgü problar α , β ve klasik satellit probları olarak adlandırılır. Alfoid DNA dizileri tüm kromozomlara özgü olup, sentromerik bölgede yer alırlar. Bu dizilere ait α -satellit probların sinyalleri çok kuvvetlidir ve özellikle interfaz sitogenetiğinde anöploidilerin tanısında kullanılırlar (7).

Lokus spesifik problar: Klonlanmış genlere özgü dizileri içeren bu problar ilgili bölgeye ilişkin amplifikasyon, yapısal düzensizlikler ve delesyon sendromlarının tanısında kullanılmaktadır (7).

Telomerik Problar: Bunlar ticari olarak elde edilebilirler ve kromozomların sonunda bulunan subtelomerik anomalileri belirlemek için kullanılırlar (59).

Tüm kromozomu boyayan problar: Bunlar her kromozomun uzunluğu boyunca hibridize olan tek dizi DNA problemlerinden oluşur. Bu problemlerin uygulanması için kromozom morfolojisinin görülebilir olması gerektiğinden metafaz analizi ile sınırlıdır. Bu metod marker kromozomları ve kriptik translokasyonları belirlemek için yararlıdır (59).

2.12.2. Prob Stratejileri ve Analitik Duyarlılık

Problar tek olarak yada birçok FISH stratejisine izin veren farklı florokromlarla renklendirilmiş kombinasyonlar halinde kullanılır. Bazı FISH stratejileri klinik anlamlılığı olan bir genomik hedefi belirlemek için bir prob ve farklı bir renge sahip başka bir kontrol lokus probu ile kullanılır. Kontrol lokusunun eklenmesi, FISH prosedürünün doğru bir şekilde çalışıp çalışmadığını anlamak, sayma kriterinin doğruluğunu artırmak ve rapor verilebilir oranını devam ettirmeyi garantilemek için düşünülmüştür (59).

Aynı kromozom için sentromer-spesifik ve lokus spesifik problemlerinin her ikisinin kullanılması stratejisi farklı test duyarlılıkları sağlamak ve birkaç çeşit kromozom anomalisini eş zamanlı belirlemek amacıyla uygulanmıştır (59).

2.12.3. FISH Tekniğinin Temel Mekanizması

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

FISH prosedürü 6 aşamada gerçekleştirilir;

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

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

Bu koşullarda etkili olan dört parametre vardır;

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

Hibridizasyonda üç temel aşama önemlidir;

1. Hedef dizilerin hibridizasyon sırasında geçirgenliklerini korunmaları,
2. Proba hedefin yüksek etkinlikle birbirlerine bağlanması,

3. Hibridizasyonun spesifik aktivitesi yüksek bir reporter ile en az zemin sinyali olan en parlak şekilde görüntülenmesidir (6).

Bir hibridizasyon reaksiyonunda tolere edilebilen yanlış eşleşme derecesi '**stringency**' olarak ifade edilir. Yüksek stringency koşullarında, sadece hedef sekansla tam homolog olan problar stabil hibridler oluştururlar. Düşük stringency koşullarında ise prob sadece % 70–90 homoloji gösteren sekanslara bağlanabilir. Bu spesifik olmayan sinyaller, hibridizasyon sonrası yıkamalarda yüksek stringency koşullarının (yüksek ısı + düşük tuz konsantrasyonu) sağlanmasıyla ortamdan uzaklaştırılır (6). FISH sonrası problardan elde edilen sinyaller epifloresan mikroskopta incelenirler. Kullanılan florokromların gözlenebilmesi için doğru prob setleri ve uygun filtrelerin seçilmesi gerekmektedir. Birden fazla hedef dizinin görüntülenmesi gerektiğinde doğru filtreler ile yeşil, kırmızı ve mavi florokromlar gözlenebilmektedir (6).

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. Gereç

3.1.1. Araştırma Grubu Bireyleri

Çalışmamız Ocak 2006 ve Nisan 2007 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı nın belirlediği 30 değişici epitel karsinomlu olgu ve 15 normal mesaneli kontrol olgu ile Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Sitogenetik ve Moleküler Sitogenetik laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya alınan Değişici Epitel Karsinomlu hastaların hepsi erkektir. Olguların yaş ortalaması 62.1/yıl olup, yaşları 41 ile 79 arasında değişmektedir. Kontrol grubunu oluşturan normal mesaneli hastaların 3 tanesi kadın 12 tanesi erkektir. Kontrol grubunun yaş ortalaması 60.06 olup, yaşları 40 ile 87 arasında değişmektedir. Hastaların histolojik tanısı ve tümör derecelemesi Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından AJCC/TNM Sınıflandırma sistemi ve 1998/2004 WHO/ISUP Sınıflandırma sistemine göre yapılmıştır. **Çizelge 3.1** de Çalışma hastalarının yaş, cinsiyet, histopatolojik verileri gösterilmiştir.

DEK lu olgulardan ve kontrol grubundan mesane yıkama ve boşaltılmış idrar örnekleri alınmış ve alınan bu örneklerden elde edilen hücrelerde FISH analizi ile 3, 7, 8, 11, 17 kromozomlarının sayısal anomalileri ile p16 (9p21) lokusunun delesyon ve amplifikasyonu değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.1: Çalışma hastalarının yaş, cinsiyet, histopatolojik aşaması

Hasta No	Yaş	Cinsiyet	Evre	Derece
1	67	E	T1	G3 (Yüksek)
2	69	E	T2	G3 (Yüksek)
3	60	E	T2	G3 (Yüksek)
4	66	E	Ta	G2 (Düşük)
5	68	E	T2	G3 (Yüksek)
6	41	E	T1	G2 (Yüksek)
7	58	E	T1	G2 (Düşük)
8	79	E	T1	G1-G2 (Düşük)
9	70	E	T2	G3 (Yüksek)
10	48	E	T1	G2 (Düşük)
11	63	E	T1	G2 (Yüksek)
12	62	E	T1	G2-G3 (Yüksek)
13	62	E	T1	G2 (Düşük)
14	53	E	T1	G2-G3 (Yüksek)
15	74	E	Ta	G2 (Düşük)
16	67	E	T2	G3 (Yüksek)
17	52	E	T1	G2 (Düşük)
18	56	E	T1	G2 (Yüksek)
19	61	E	T1	G2 (Düşük)
20	70	E	T2	G2 (Yüksek)
21	72	E	T2	G3 (Yüksek)
22	54	E	T2	G3 (Yüksek)
23	51	E	T1	G2 (Yüksek)
24	68	E	T1	G2-G3 (Yüksek)
25	57	E	T1	G1-G2 (Düşük)
26	41	E	T2	G3 (Yüksek)
27	76	E	T1	G2 (Yüksek)
28	79	E	T1	G2-G3 (Yüksek)
29	67	E	T2	G3 (Yüksek)
30	52	E	T1	G3 (Yüksek)

PDF Eraser Free

3.1.2. Kullanılan Araçlar

3.1.2.1. Kullanılan Aygıtlar

Bek

Ben Mari (Heto-DT Hetoterm)

Binoküler araştırma mikroskobu (Olympus CH-2)

Buzdolabı (Arçelik 415)

Cam Kalemi

Sensys Kamera (Sensys)

Deep-Freeze (Heraeus)

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

Enjektör

Etüv (Friocell MMM Med Center)

Floresan mikroskop (Olympus BX-61)

Image Analyser (Applied Imaging)

Kronometre

Lamin Air Flow (Heraeus ELB2448)

Mikropipet (Eppendorf)

Mikrosantrifüj (Eppendorf Centrifuge 5415)

pH Metre (Nel PH890) değişecek

Pipet Uçları

PDF Eraser Free

Soğutmalı Santrifüj (Heraeus Biofuge Stratos) Değişebilir

Termometre

Vortex (Janke and Kunkel, UF-2)

Zaman Ayarlı Santrifüj (Heraeus)

3.1.2.2. Cam Malzeme

Beher (500 ml, 1000 ml)

Erlenmayer (500 ml, 1000 ml)

Lam

Lamel

Mezür

Santrifüj Tüpü

Yatay ve Dikey Şale

3.1.3. Kimyasal Maddeler

Ethanol (Merck)

Antifade (Vector)

DAPI (Sigma)

Distile Su

Glacial acetic acid (Merck)

HCl (Merck)

İmmersiyon yağı (Merck)

PDF Eraser Free

KCl (Merck)

KH₂PO₄ (Merck)

Methanol (Merck)

MgCl₂ (Merck)

Na Citrat (Merck)

Na₂HPO₄ (Merck)

NaCl (Merck)

NaOH (Merck)

Parafilm

Serum Fizyolojik

Tween 20 (Sigma)

3.1.4. Kullanılan Problar ve Özellikleri

3.4.1.1. Urovysion Mesane Kanseri Kiti

Urovysion Mesane Kanseri Kitinde 3 adet alfa-satellit tekrar dizi probu ve 1 adet tek dizi probundan (lokus spesifik probu) oluşur. Bu kit mesane kanseri olduğundan şüphelenilen hematurili bireylerden alınan idrar örneklerine FISH metoduyla kromozom 3, 7 ve 17 anöploidisini ve 9p21 (P16 geni) lokusunun amplifikasyonun/delesyonunu belirlemek için tasarlanmıştır (36).

PDF Eraser Free

4 farklı floroforla direkt işaretli prob setinin detayları aşağıda verilmiştir;

CEP 3-Spektrum Red: 3 Numaralı kromozomun sentromer bölgesine hibridize olur.

CEP 7-Spektrum Green: 7 Numaralı kromozomun sentromer bölgesine hibridize olur.

CEP 17-Spektrum Aqua: 17 Numaralı kromozomun sentromer bölgesine hibridize olur.

LSI 9p21 (P16) Spektrum Gold: 9p21 bölgesinde bulunan P16 genine hibridize olur.

3.4.1.2.Cambio Problemleri

8 ve 11. kromozomların sentromerlerine spesifik direkt işaretli alfa satellit problemleri aşağıda detayları ile verilmiştir.

CEP 8-Spektrum Green: 8 Numaralı kromozomun sentromer bölgesine hibridize olur.

CEP 11-Spektrum Red: 11 Numaralı kromozomun sentromer bölgesine hibridize olur.

3.2. Yöntem

DEK tanısı alan olgulardan ve normal kontrol grubundan alınan mesane yıkama ve idrar örneklerinden elde edilen hücrelere interfaz FISH analizi uygulanmıştır.

3.2.1. Materyal Alımı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Bölümünde DEK tanısı alan 30 hastadan transüretral reseksiyon (TUR) öncesi mesane yıkama ve boşaltılmış idrar örnekleri alınmıştır. Sağlıklı 15 kontrol olgusundan mesane yıkama ve boşaltılmış idrar örnekleri alınmıştır. Her olgudan yaklaşık 30–100 ml idrar ve mesane yıkama örnekleri steril kap içerisine alınmıştır. Örnekler alındıktan sonra Anabilim Dalımız Sitogenetik Laboratuvarına getirilmiştir.

3.2.2. Örneklerin FISH Analizine Hazırlanması

1. Boşaltılmış idrar ve mesane yıkama örnekleri 10 ml ekim tüplerine aktarıldı.
2. Örnekler 1500 rpmde 10 dakika santrifüj edilip süpernatant atıldı ve dipte 0.5 ml pelet bırakıldı.
3. Hücreler taze hazırlanmış 10 ml PBS solüsyonu ile yıkandı ve tüpler 1300 rpmde 8 dakika santrifüj edilip süpernatant atıldı.
4. Pelet üzerine önceden 37 C'ye getirilmiş hipotonik (0.075M KCl) solüsyondan 5 ml ilave edilerek 37 C de 25–30 dakika inkübe edildi.
5. Süre sonunda vortex eşliğinde taze hazırlanmış Carnoy's Fiksatif Solüsyonundan 10 damla ilave edildi ve 1300 rpmde 8 dakika santrifüj edilip süpernatant atıldı.

6. Pelet üzerine 5 ml Carnoy's Fiksatif Solüsyonu ilave edilerek 1300 rpmde 8 dakika santrifüj edilip süpernatant atıldı.

7. 6. basamak 2 defa tekrarlandı.

8. Tüplere 5 ml Carnoy's Fiksatifi ilave edildi ve kapakları kapalı şekilde buzdolabında -20 derecede FISH analizi yapılmak üzere saklandı.

3.2.3. FISH Analizi

FISH analizleri için preparat hazırlama aşaması oldukça önemlidir. Kaliteli sinyal almak ve ideal şartlarda analizi gerçekleştirmek için lamın belirli bölgelerine yayılmış yeterli sayıda ve kalitede protoplazmadan arındırılmış nükleusun bulunması gerekir.

3.2.3.1. FISH Tekniğinin Uygulaması

FISH tekniğinde Rieder ve arkadaşları tarafından geliştirilen protokol modifiye edilerek uygulanmıştır (67).

3.1.3.1.1. Preparatların Ön Yıkaması ve Denatürasyonu

- Preparatlar her biri 1 dakika olmak üzere sırasıyla % 100-70-50-30 luk alkol serisinden ve 1 dakika 0.1XSSC solüsyonundan geçirilerek dehidrate edilmiştir.

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

- Süre sonunda 2XSSC solüsyon ısısının 37 °C ye gelmesi beklenmiştir.

- Bundan sonra preparatlar 1 dk 0.07 M lık NaOH solüsyonunda denatüre edilmiştir.

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

-Süre sonunda preparatlar her biri 1 dakika olmak üzere sırasıyla % 30 – 50 – 70 – 100 lük alkol serisinde dehidrate edilip, kurumaya bırakılmıştır.

3.2.3.1.2. Prob Denatürasyonu

-Urovysion prob seti ile 8. ve 11. kromozomların sentromerlerine spesifik probun su banyosunda 5 dakika 70 °C de bekletilerek denatüre edilmişlerdir.

3.2.3.1.3. Hibridizasyon

-Her preparata uygulanacak Urovysion prob setinin bulunduğu ependorf tüpü ile 8. ve 11. kromozomların sentromerlerine özgü prob içeren ependorf tüpleri santrifüj edilerek tüm probun dibe çökmesi sağlanmıştır.

-Denatüre edilen preparatlarda 2 alan seçilmiş bir alana Urovysion diğer alana 8. ve 11. kromozomların sentromerlerine özgü miks (5 µl Urovysion prob seti ve 5 µl 8. ve 11. kromozomların sentromerlerine özgü prob karışımı) eklenmiş ve üzerlerine 20 mm lik kare lamel kapatılmıştır.

-Lamel çevresi su geçirmeyecek şekilde yalıtılmıştır.

-Preparatlar 37 °C de bir gece nemli ortamda hibridizasyona bırakılmıştır.

3.2.3.1.4. Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar

Bu yıkamalarda spesifik olarak bağlanmayan prob DNA sının ortamdan uzaklaştırılması ve olgu DNA sına tam komplementer olan (% 80–100) dizilerin hedef bölgede sabit hale getirilmesi amaçlanmaktadır.

Aşamaları:

-Hibridizasyonu tamamlanan preparatlar etüvden çıkartılarak lamellerin çevresindeki yalıtım maddesi dikkatlice temizlenmiştir.

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

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

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

3.2.3.1.5. Hibridize Olan Bölgelerin Görüntülenmesi

Bu aşamada prob ve nukleus DNA sının hibridize olduğu bölgelerin görünür hale getirilmesi amaçlanmıştır.

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

3.2.3.1.6. Preparatların Mikroskopta İncelenmesi

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

3.2.3.1.7. Değerlendirme

DEK tanısı alan ve kontrol grubu olarak kullanılan olguların idrar ve mesane yıkama örneklerinden hazırlanan preparatlara uygulanan FISH analizlerinde her olguda her prob için en az 100 interfaz nükleusu değerlendirilmiştir. Sinyaller değerlendirilirken birbirine çok yakın olan sinyaller ve sinyal çap büyüklüğü birbirinden farklı olan (iki katı ya da daha fazla olan) sinyaller değerlendirmeye alınmamıştır. Preparatlarda sayma işlemi yapılırken, nükleusun aşırı büyük olmasıyla, düzensiz nükleus zarıyla ve kötü DAPI boyamayla karakterize olan sitolojik olarak atipik hücreler değerlendirmeye alınmıştır (52).

FISH pozitifliği değerlendirmesi için Halling ve arkadaşlarının önerdiği kriterler kullanılmıştır (29). Bulgumuz aşağıdaki kriterlerin en az birine uyduğunda ;

I. 3, 7 veya 17 numaralı kromozomlar için en az iki farklı kromozoma ilişkin amplifikasyon (polizomi) saptanan nükleus sayısının ≥ 5 olarak görüldüğünde,

II. 3, 7, 8, 11, 17 numaralı kromozomlar için polizomi saptanan nükleus sayısının ≥ 10 olarak görüldüğünde,

III. 9p21 lokusuna ait heterozigot ve homozigot delesyon olarak değerlendirilen nükleus sayısı $\% \geq 15$ olarak görüldüğünde, bir örnek DEK açısından FISH pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.4. İstatistiksel Analizler

“Medikal Tanı Testlerinin Güvenilirliği” ile ilgili olarak FISH testinin sensitivite ve spesifitesinin belirlenmesi için aşağıdaki istatistik metodu uygulanmıştır (Çizelge 3.2). Tümör derecesi ve evresi ile polizomi arasındaki korelasyonu değerlendiren Univariate analiz için Fisher’s exact test kullanıldı. Odds oranı ve %95 confidence interval değerleri doğru limitler kullanılarak hesaplandı (63).

Çizelge 3.2: Medikal testin gerçek durumu yansıtması

		Gerçek Durum (Referans)		Toplam
		H +	H -	
Medikal Test Sonucu	H +	Gerçek Pozitif (GP=a)	Yalancı Pozitif (YP=b)	T(T+)
	H -	Yalancı Negatif (YN=c)	Gerçek Negatif (GN=d)	T(T-)
Toplam		G(H+)=a+c	G(H-)=b+d	Toplam

Duyarlılık (Sensitivity) Oranı: $P(D)=a/(a+c)=GP/(GP+YN)$

Özgüllük (Specificity) Oranı: $P(Ö)=d/(b+d)=GN/(YP+GN)$ (63).

3.3. Kullanılan Stok Solüsyonlar

Çizelge 3.3.: Hipotonik Solüsyon (0.075 M)

KCl	1.398 gr
Distile su	250 ml

Çizelge 3.4.:_Carnoy's Fiksatif Solüsyon

Methanol	3 kısım
Glacial Acetic Acid	1 kısım

Çizelge 3.5.: PBS Solüsyonu

Buffer Solüsyonu

A solüsyonu	50, 8 ml
B solüsyonu	49.2 ml
HCl ile pH 6.8 e ayarlanır.	

A Solüsyonu

Potasyum fosfat (KH_2PO_4)	4.539 g
Distile su	500 ml

B solüsyonu

Sodyum Fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$)	5.938 g
Distile su	500 ml

Çizelge3.6.: Ön Yıkama Sölüsyonları

20XSSC Solüsyonu

NaCl (3 M)	175,3 gr
Tri Sodyum Sitrat (0,3 M)	88,24 gr
Distile su	1000 ml
HCl ile pH 7.0 a ayarlanır.	

2XSSC Solüsyonu

20XSSC	40 ml
Distile su	360 ml
HCl ile pH 7.0 a ayarlanır.	

0,1XSSC Solüsyonu

20XSSC	3 ml
Distile su	597 ml

Çizelge 3.7.: Denatürasyon Solüsyonu

0,07 M NaOH	14 ml
Distile su	200 ml

Çizelge 3.8.: Hibridizasyon Sonrası Yıkama Solüsyonları

1XSSC Solüsyonu

20XSSC	10 ml
Distile su	190 ml

2XSSC Solüsyonu

20XSSC	20 ml
Distile su	180 ml

2XSSC/Tween-20 Solüsyonu

20XSSC	20 ml
Tween 20	100 µl
Distile su	180 ml

Tüm solüsyonlar HCl ile pH 7.0 a ayarlanır.

DAPI/Antifade Solüsyonu

2XSSC	20 ml
DAPI	100 µl
Distile su	80 ml

4. BULGULAR

Çalışmamız Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı Sitogenetik ve Moleküler Sitogenetik laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada toplam 30 olgu ve 15 sağlıklı kontrol kullanılmıştır. Olgulardan ve kontrol grubundan hem mesane yıkama hem de idrar örnekleri alınmıştır.

Çalışma grubunu oluşturan 30 DEK olgusunun mesane yıkama örneklerinin tümüne FISH analizi yapılmıştır. Bu 30 olgunun üçünde (% 10) idrar örneklerinden yeterince hücre elde edilememesi veya başarısız hibridizasyondan dolayı FISH analizi yapılamamıştır. Sonuç olarak 30 DEK olgusunun tümünden mesane yıkama örneği analiz edilmiş ve bu olguların 27 tanesinde idrar örneği analiz edilmiştir. Kontrol grubunu oluşturan 15 olgunun hepsinin mesane yıkama ve idrar örnekleri analiz edilmiştir.

4.1.Yönteme İlişkin Bulgular

Araştırma grubunu oluşturan 30 DEK olgusunun 30 mesane yıkama örneği ve 27 idrar örneğinden elde edilen hücrelere UroVysion prob seti (CEP 3, CEP 7, CEP 17 ve LSI 9p21) ile CEP8 ve CEP 11 problemleri uygulanarak FISH analizleri yapılmıştır. Kontrol grubunu oluşturan 15 olgunun mesane yıkama ve idrar örneklerinden elde edilen hücrelere UroVysion prob seti (CEP 3, CEP 7, CEP 17 ve LSI 9p21) ile CEP8 ve CEP 11 problemleri uygulanarak FISH analizleri yapılmıştır.

4.1.1.DEK Tanısı ile İlgili FISH Bulguları

DEK tanısı için mesane yıkama ve idrar örneklerinde UroVysion prop seti ve CEP8 ve CEP 11 problemleri kullanılmıştır. Çalışma grubunu oluşturan olguların mesane yıkama örneklerine ilişkin FISH analiz sonucu % 96.7 sı (29 olguda) pozitif ve % 3.3 ü negatif (1 olguda) olarak bulunmuştur. Aynı olguların, idrar örneklerine ait FISH sonucu % 92.6 sı (25 olguda) pozitif % 7.4 ü (2 olguda) negatif olarak bulunmuştur. Bir olgumuzun mesane yıkama örneğine ait FISH sonucu pozitif iken idrar örneğine ait FISH sonucu negatif çıkmıştır (Çizelge 4.2).

Kontrol grubunu oluşturan normal mesaneli 15 olgunun mesane yıkama ve idrar örneklerinin hepsinde FISH analiz sonucu negatif bulunmuştur (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.1: Çalışma hastalarının histopatolojik aşaması ve FISH sonuçları

Hasta No	Evresi	Derece	Mesane yıkama FISH Sonuçları	İdrar FISH Sonuçları
1	T1	G3 (Yüksek)	Pozitif	Pozitif
2	T2	G3 (Yüksek)	Pozitif	Pozitif
3	T2	G3 (Yüksek)	Pozitif	Pozitif
4	Ta	G2 (Düşük)	Pozitif	Pozitif
5	T2	G3 (Yüksek)	Pozitif	Pozitif
6	T1	G2 (Yüksek)	Pozitif	Pozitif
7	T1	G2 (Düşük)	Pozitif	Pozitif
8	T1	G1-G2 (Düşük)	Pozitif	Pozitif
9	T2	G3 (Yüksek)	Pozitif	FISH analizi yapılamadı.
10	T1	G2 (Düşük)	Pozitif	FISH analizi yapılamadı.
11	T1	G2 (Yüksek)	Pozitif	FISH analizi yapılamadı.
12	T1	G2-G3 (Yüksek)	Pozitif	Pozitif
13	T1	G2 (Düşük)	Pozitif	Pozitif
14	T1	G2-G3 (Yüksek)	Pozitif	Pozitif
15	Ta	G2 (Düşük)	Pozitif	Pozitif
16	T2	G3 (Yüksek)	Pozitif	Pozitif
17	T1	G2 (Düşük)	Pozitif	Pozitif
18	T1	G2 (Yüksek)	Pozitif	Pozitif
19	T1	G2 (Düşük)	Pozitif	Pozitif
20	T2	G2 (Yüksek)	Pozitif	Pozitif
21	T2	G3 (Yüksek)	Pozitif	Pozitif
22	T2	G3 (Yüksek)	Pozitif	Pozitif
23	T1	G2 (Yüksek)	Negatif	Negatif
24	T1	G2-G3 (Yüksek)	Pozitif	Pozitif
25	T1	G1-G2 (Düşük)	Pozitif	Negatif
26	T2	G3 (Yüksek)	Pozitif	Pozitif
27	T1	G2 (Yüksek)	Pozitif	Pozitif
28	T1	G2-G3 (Yüksek)	Pozitif	Pozitif
29	T2	G3 (Yüksek)	Pozitif	Pozitif
30	T1	G3 (Yüksek)	Pozitif	Pozitif

Çizelge 4.2: Kontrol grubunu oluşturan olguların yaş, cinsiyet ve FISH sonuçları

Hasta No	Yaş	Cinsiyet	Mesane yıkama FISH Sonuçları	İdrar FISH Sonuçları
1	87	E	Negatif	Negatif
2	62	B	Negatif	Negatif
3	58	B	Negatif	Negatif
4	40	B	Negatif	Negatif
5	64	E	Negatif	Negatif
6	59	E	Negatif	Negatif
7	61	E	Negatif	Negatif
8	65	E	Negatif	Negatif
9	64	E	Negatif	Negatif
10	61	E	Negatif	Negatif
11	52	E	Negatif	Negatif
12	48	E	Negatif	Negatif
13	65	E	Negatif	Negatif
14	56	E	Negatif	Negatif
15	59	E	Negatif	Negatif

Olguların histopatolojik bulgularıyla mesane yıkama ve idrar örneklerinde elde edilen FISH sonuçları karşılaştırılarak FISH analizinin sensitivitesi belirlenmiştir. FISH analizinin spesifikliğı, sağlıklı kontrol grubunun mesane yıkama ve idrar örneklerinde elde edilen FISH sonuçlarına göre belirlenmiştir.

Yapılan istatistiki değerlendirme sonucunda, FISH tekniğinin sensitivitesi mesane yıkama ve idrar örneklerinde sırasıyla % 96.7 ve % 92.6 olarak, spesifikliğı ise her iki örnekte de %100 olarak saptanmıştır (Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4).

Çizelge 4.3: Mesane yıkama örneklerinden elde edilen FISH testinin sensitivitesi ve spesifitesi

		Gerçek Durum (Referans)		Toplam
		H+	H-	
FISH Test Sonucu	H+	29	0	29
	H-	1	15	16
Toplam		30	15	N

Sensitivite Oranı: $29/30 = 96.7$ (% 96.7)

Spesifite Oranı: $15/15=1$ (% 100)

Çizelge 4.4: İdrar örneklerinden elde edilen FISH testinin sensitivitesi ve spesifitesi

		Gerçek Durum (Referans)		Toplam
		H+	H-	
FISH Test Sonucu	H+	25	0	25
	H-	2	15	17
Toplam		27	15	N

Sensitivite Oranı: $25/27 = 92.6$ (%92.6)

Spesifite Oranı: $15/15=1$ (%100)

4.1.2. Olgularda Görülen Kromozom Anomalileri

DEK tanısı almış mesane yıkama örneği alınan 30 olgunun 29 unda (% 96.7) çalışılan kromozomlara ait en az bir aberasyon saptanmıştır. Histopatolojisi T1 G2 (Yüksek) olan 1 olguda (% 3.3) çalışılan kromozomlara ait herhangi bir aberasyon saptanmamıştır. Çalışmamızda DEK da kromozom 3, 7, 8 ve 11 için sadece polizomi saptanırken, kromozom 17 ve 9p21 bölgesi için polizomi ve delesyon saptanmıştır.

Olguların mesane yıkama örneklerinde görülen FISH bulguları:

- % 73.3 (22) oranında 3. kromozoma ilişkin polizomi
- % 76.6 (23) oranında 7. kromozoma ilişkin polizomi
- % 73.3 (22) oranında 8. kromozoma ilişkin polizomi
- % 73.3 (22) oranında 11. kromozoma ilişkin polizomi
- % 90 (27) oranında kromozom 17 aberasyonları
- % 73.3 (22) oranında 17. kromozoma ilişkin polizomi
- % 20 (6) oranında 17. kromozom delesyonu
- % 86.6 (26) oranında 9p21 aberasyonları
- % 50 (15) oranında 9p21 lokusuna ilişkin polizomi
- % 53.3 (16) oranında 9p21 bölge delesyonu (Çizelge 4.5).

Olguların mesane yıkama örneklerinde en sık görülen FISH bulgusu % 90 (27 olguda) oranında görülen kromozom 17 aberasyonlarıdır.

Çizelge 4.5: Mesane yıkama örneklerinin histopatolojik tanıları ve FISH ile genetik analiz sonuçları (Amp.: Amplifikasyon, Del.: Delesyon).

Hasta No	Evre	Derece	Kr. 3	Kr. 7	Kr. 8	Kr. 11	Kr 17	9p21
1	T1	G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Del.	Amp.
2	T2	G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.
3	T2	G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	N.
4	Ta	G2 (Düşük)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	N.
5	T2	G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.
6	T1	G2 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.
7	T1	G2 (Düşük)	N	N	Amp.	N	Del.	Del.
8	T1	G1-G2 (Düşük)	N	N	N	N	Del.	N
9	T2	G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.
10	T1	G2 (Düşük)	N	N	N	N	Del.	Del.
11	T1	G2 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Del.
12	T1	G2-G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.
13	T1	G2 (Düşük)	N	N	N	N	Del.	Del.
14	T1	G2-G3 (Yüksek)	Amp.	Amp	Amp.	Amp.	Amp.	Del.
15	Ta	G2 (Düşük)	N	N	N	N	N	Del.
16	T2	G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	N	Amp.	Amp.	Del.
17	T1	G2 (Düşük)	Amp.	Amp.	N	N	Amp.	Amp.
18	T1	G2 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.-Del
19	T1	G2 (Düşük)	Amp.	Amp	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.-Del
20	T2	G2 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Del.
21	T2	G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.-Del
22	T2	G3 (Yüksek)	N	Amp	Amp.	Amp.	Amp.	Del.
23	T1	G2 (Yüksek)	N	N	N	N	N	N
24	T1	G2-G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.-Del
25	T1	G1-G2 (Düşük)	N	N	N	N	N	Del.
26	T2	G3(Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Del.
27	T1	G2 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.
28	T1	G2-G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.-Del.	Amp.-Del
29	T2	G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.
30	T1	G3(Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.

Çalışmamızda idrar örneği alınıp FISH analizi yapılan 27 olgunun 25 inde (% 92.6) analiz edilen kromozomlara ait en az bir aberasyon saptanmıştır. Histopatolojisi T1 G2 (Yüksek) ve T1 G1-G2 (Düşük) olan 2 olguda (% 7.4) çalışılan kromozomlara ait herhangi bir aberasyon saptanmamıştır. Çalışmamızda DEK da kromozom 3, 7, 8, ve 11 için sadece polizomi saptananırken, kromozom 17 ve 9p21 bölgesi için polizomi ve delesyon saptanmıştır.

Olguların idrar örneklerinde görülen FISH bulguları:

- % 70.3 (19) oranında 3. kromozoma ilişkin polizomi
- % 66.6 (18) oranında 7. kromozoma ilişkin polizomi
- % 59.2 (16) oranında 8. kromozoma ilişkin polizomi
- % 62.9 (17) oranında 11. kromozoma ilişkin polizomi
- % 74 (20) oranında kromozom 17 aberasyonları
- % 62.9 (17) oranında 17. kromozoma ilişkin polizomi
- % 14.8 (4) oranında 17. kromozom delesyonu
- % 85.2 (23) oranında 9p21 aberasyonları
- % 37 (10) oranında 9p21 lokusuna ilişkin polizomi
- % 51.8 (14) oranında 9p21 bölge delesyonu (Çizelge 4.6)

Olguların idrar örneklerinde en sık görülen FISH bulgusu %85.2 (23 olguda) oranında, 9p21(P16 geni) lokusu aberasyonlarıdır.

Çizelge 4.6: İdrar örneklerinin histopatolojik tanıları ve FISH ile genetik analiz sonuçları (Amp.: Amplifikasyon, Del.: Delesyon)

Hasta No	Evresi	Derecesi	Kr. 3	Kr. 7	Kr. 8	Kr. 11	Kr 17	9p21
1	T1	G3 (Yüksek)	N	N	N	N	Del.	Del.
2	T2	G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.
3	T2	G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	N
4	Ta	G2 (Düşük)	Amp.	Amp.	N	N	N	Del.
5	T2	G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.-Del.
6	T1	G2 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.-Del	Amp.
7	T1	G2 (Düşük)	Amp.	N	N	N	Del.	N
8	T1	G1-G2 (Düşük)	N	N	N	N	N	Del.
9	T2	G3 (Yüksek)						
10	T1	G2 (Düşük)						
11	T1	G2 (Yüksek)						
12	T1	G2-G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp	Amp.
13	T1	G2 (Düşük)	N	N	N	N	Del.	Del.
14	T1	G2-G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp	Del.
15	Ta	G2 (Düşük)	N	N	N	N	N	Del.
16	T2	G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	N	Amp.	Amp.	Del.
17	T1	G2 (Düşük)	N	N	N	N	N	Del.
18	T1	G2 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp	Del.
19	T1	G2 (Düşük)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.-Del.
20	T2	G2 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Del.
21	T2	G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp	Amp.
22	T2	G3 (Yüksek)	N	N	N	N	N	Del.
23	T1	G2 (Yüksek)	N	N	N	N	N	N
24	T1	G2-G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp	Del.
25	T1	G1-G2 (Düşük)	N	N	N	N	N	N
26	T2	G3(Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp	Amp.
27	T1	G2 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp	Amp.
28	T1	G2-G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp	Del.
29	T2	G3 (Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp	Amp.
30	T1	G3(Yüksek)	Amp.	Amp.	Amp.	Amp.	Amp	Amp.

G1-G2(Düşük) dereceli 9 olgunun mesane yıkama örneklerinde görülen FISH bulguları;

- % 33.3 (3) oranında 3. kromozoma ilişkin polizomi
- % 33.3 (3) oranında 7. kromozoma ilişkin polizomi
- % 33.3 (3) oranında 8. kromozoma ilişkin polizomi
- % 22.2 (2) oranında 11. kromozoma ilişkin polizomi
- % 33.3 (3) oranında 17. kromozoma ilişkin polizomi
- % 22.2 (2) oranında 9p21 lokusuna ilişkin polizomi
- % 66 (6) oranında 9p21 bölge delesyonu
- % 44 (4) oranında 17. kromozom delesyonu

G1-G2 (Düşük) dereceli tümörlere sahip olguların mesane yıkama örneklerinde en sık görülen değişiklikler 9p21 delesyonu % 66 ile ve %44 ile 17 kromozomun delesyonudur.

G2-G3(Yüksek) dereceli 21 olgunun mesane yıkama örneklerinde görülen FISH bulguları;

- % 90.4 (19) oranında 3. kromozoma ilişkin polizomi
- % 95.2 (20) oranında 7. kromozoma ilişkin polizomi
- % 90.4 (19) oranında 8. kromozoma ilişkin polizomi
- % 95.2 (20) oranında 11. kromozoma ilişkin polizomi
- % 95.2 (20) oranında 17. kromozoma ilişkin polizomi
- % 61.9 (13) oranında 9p21 lokusuna ilişkin polizomi
- % 47.6 (10) oranında 9p21 lokusuna ilişkin delesyon
- % 9.5 (2) oranında 17. kromozom delesyonu

G1-G2(Düşük) dereceli 8 olgunun idrar örneklerinde görülen FISH bulguları;

- % 25 (2) oranında 3. kromozoma ilişkin polizomi
- % 25 (2) oranında 7. kromozoma ilişkin polizomi
- % 12.5 (1) oranında 8. kromozoma ilişkin polizomi
- % 12.5 (1) oranında 11. kromozoma ilişkin polizomi
- % 12.5 (1) oranında 17. kromozoma ilişkin polizomi
- %12.5 (1) oranında 9p21 lokusuna ilişkin polizomi
- % 75 (6) oranında 9p21 lokusuna ilişkin delesyon
- % 25 (2) oranında 17. kromozom delesyonu

G1-G2 (Düşük) dereceli tümörlere sahip olguların idrar örneklerinde en sık görülen değişiklik %75 (6/8) ile 9p21 delesyonudur.

G2-G3(Yüksek) dereceli 19 olgunun idrar örneklerinde görülen FISH bulguları;

- % 84.2 (16) oranında 3. kromozoma ilişkin polizomi
- % 84.2 (16) oranında 7. kromozoma ilişkin polizomi
- % 78.9 (15) oranında 8. kromozoma ilişkin polizomi
- % 78.9 (15) oranında 11. kromozoma ilişkin polizomi
- % 84.2 (16) oranında 17. kromozoma ilişkin polizomi
- % 52.6 (10) oranında 9p21 lokusuna ilişkin polizomi
- % 47.3 (9) oranında 9p21 lokusuna ilişkin delesyon
- % 10.5 (2) oranında 17. kromozom delesyonu

Ta-T1 evreli 21 olgunun mesane yıkama örneklerinde görülen FISH bulguları;

- % 66.6 (14) oranında 3. kromozoma ilişkin polizomi
- % 66.6 (14) oranında 7. kromozoma ilişkin polizomi
- % 66.6 (14) oranında 8. kromozoma ilişkin polizomi
- % 66.6 (14) oranında 11. kromozoma ilişkin polizomi
- % 61.9 (13) oranında 17. kromozoma ilişkin polizomi
- % 47.6 (10) oranında 9p21 kromozoma ilişkin polizomi
- % 57.1 (12) oranında 9p21 lokusna ilişkin delesyon
- % 28.5 (6) oranında 17. kromozom delesyonu

T2 evreli 9 olgunun mesane yıkama örneklerinde görülen FISH bulguları;

- % 89 (8) oranında 3. kromozoma ilişkin polizomi
- % 100 (9) oranında 7. kromozoma ilişkin polizomi
- % 89 (8) oranında 8. kromozoma ilişkin polizomi
- % 100 (9) oranında 11. kromozoma ilişkin polizomi
- % 100 (9) oranında 17. kromozoma ilişkin polizomi
- % 55.5 (5) oranında 9p21 bölgesine ilişkin polizomi
- % 44.5 (4) oranında 9p21 bölgesine ilişkin delesyon

Ta-T1 evreli 19 olgunun idrar örneklerinde görülen FISH bulguları;

- % 57.8 (11) oranında 3. kromozoma ilişkin polizomi
- % 57.8 (11) oranında 7. kromozoma ilişkin polizomi
- % 52.6 (10) oranında 8. kromozoma ilişkin polizomi
- % 47.3 (9) oranında 11. kromozoma ilişkin polizomi
- % 52.6 (10) oranında 17. kromozoma ilişkin polizomi
- % 31.5 (6) oranında 9p21 bölgesine ilişkin polizomi
- % 57.8 (11) oranında 9p21 bölgesine ilişkin delesyon
- % 26.3 (5) oranında 17. kromozom delesyonu

T2 evreli 8 olgunun idrar örneklerinde görülen FISH bulguları;

- % 87.5 (7) oranında 3. kromozoma ilişkin polizomi
- % 87.5 (7) oranında 7. kromozoma ilişkin polizomi
- % 75 (6) oranında 8. kromozoma ilişkin polizomi
- % 87.5 (7) oranında 11. kromozoma ilişkin polizomi
- % 87.5 (7) oranında 17. kromozoma ilişkin polizomi
- % 50 (4) oranında 9p21 bölgesine ilişkin polizomi
- % 50 (4) oranında 9p21 delesyonu

Bu sonuçlarda görüldüğü gibi, yüksek dereceli veya invaziv tümörler çalışılan kromozomlar açısından düşük dereceli papiller DEK lardan daha fazla kromozomal değişiklik göstermektedir.

Mesane yıkama ve idrar örneklerinde 3, 7, 8, 11 ve 17 nolu kromozomlara ait polizomi frekansı tümör derecesi ve evresi arttıkça artmıştır. İdrar ve mesane yıkama örneklerinde 3, 7, 8, 11 ve 17. kromozomlara ait polizomi T1 G2-G3 (Yüksek) ve T2 G3 (Yüksek) karsinomlara spesifik olduğu bulunmuştur.

Çalışma grubuna ait mesane yıkama örneklerinde G1-G2 (Düşük) ve G2-G3 (Yüksek) dereceli olan tümörlerde kromozom 3, 7, 8, 11 ve 17 ye ait polizomi frekansı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde $P < 0,01$ olarak saptanmıştır (Çizelge 4.7).

Mesane yıkama örneklerinde Ta-T1 ve T2 evreli olan tümörlerde ise kromozom 3, 7, 8, 11 ve 17 polizomi frekansı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde $P > 0.05$ olarak saptanmıştır (Çizelge 4.7).

Çalışma grubuna ait idrar örneklerinde G1-G2 (Düşük) ve G2-G3 (Yüksek) dereceli olan tümörlerde kromozom 3, 7, 8, 11 ve 17 ye ait polizomi frekansı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde $P < 0,01$ olarak saptanmıştır (Çizelge 4.8).

İdrar örneklerinde Ta-T1 ve T2 evreli olan tümörlerde ise 3, 7, 8, 11 ve 17 polizomi frekansı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde $P > 0.05$ olarak saptanmıştır (Çizelge 4.8).

Kontrol grubunu oluşturan normal mesaneli 15 olgunun mesane yıkama ve idrar örneklerinin hepsinde çalışılan kromozomlara ait aberasyon bulunmamıştır.

Çizelge 4.7: Mesane Yıkama örnekleri için tümör derecesine ve evresine göre kromozom değişiklikliklerinin değerlendirilmesi

	Derecesi (%)			Evresi (%)				
Değişiklikler	G1-2(Düşük)	G2-3 (Yüksek)	P Değeri	OR (% 95 CI)	pT-a-T1	pT2	P Değeri	OR (% 95 CI)
Polizomi 3	33.3 (3/9)	90.4 (19/21)	<0.01	19 (2.54-141.93)	66.6 (14/21)	89 (8/9)	>0.05	4 (0.41-38.65)
Polizomi 7	33.3 (3/9)	95.2 (20/21)	<0.01	40 (3.49-458.98)	66.6 (14/21)	100 (9/9)	>0.05	0.67 (0.49-0.90)
Polizomi 8	33.3 (3/9)	90.4 (19/21)	<0.01	19 (2.54-141.93)	66.6 (14/21)	89 (8/9)	>0.05	4 (0.41-38.65)
Polizomi 11	22.2 (2/9)	95.2 (20/21)	<0.001	70 (5.47-896.59)	66.6 (14/21)	100 (9/9)	>0.05	0.67 (0.49-0.90)
Polizomi 17	33.3 (3/9)	95.2 (20/21)	<0.01	40 (3.49-458.98)	61.9 (13/21)	100 (9/9)	>0.05	0.62 (0.44-0.87)
Polizomi 9p21	22.2 (2/9)	61.9 (13/21)	>0.05	5.69 (0.94-34.46)	47.6 (10/21)	55.5 (5/9)	>0.05	1.38 (0.29-6.60)
17 Delesyonu	44.4 (4/9)	9.5 (2/21)	>0.05	0.13 (0.02-0.94)	28.5 (6/21)	0 (0/9)	>0.05	0.71 (0.55-0.94)
9p21 Delesyonu	66.6 (6/9)	47.6(10/21)	>0.05	0.46 (0.09-2.32)	57.1 (12/21)	44.5 (4/9)	>0.05	0.60 (0.12-2.89)

OR: odds ratio

CI= Confidence interval (Güven aralığı)

Parametiz içindeki veriler olgu sayısı/ toplam olgu sayısını ifade etmektedir.

Fisher's exact test, sayısal kromozomal aberasyonlarla G1-2 (Düşük) ve G2-3 (Yüksek) tümörler arasındaki ve pT-a-T1 ve pT2 arasındaki korelasyonu değerlendirmek için kullanılmıştır.

Çizelge 4.8: İdrar örnekleri için tümör derecesine ve evresine göre kromozom değişikliklerinin değerlendirilmesi

	Derecesi (%)	G1-2 (Düşük)	G2-3 (Yüksek)	P Değeri	OR (%95 CI)	pT-a-T1	pT2	P Değeri	OR (%95 CI)
Değişiklikler		25 (2/8)	84.2 (16/19)	<0.01	16 (2.12-120.65)	57.8 (11/19)	87.5 (7/8)	>0.05	5.09 (0.52-50.00)
Polizomi 3		25 (2/8)	84.2 (16/19)	<0.01	16 (2.12-120.65)	57.8 (11/19)	87.5 (7/8)	>0.05	5.09 (0.52-50.00)
Polizomi 7		25 (2/8)	84.2 (16/19)	<0.01	16 (2.12-120.65)	57.8 (11/19)	87.5 (7/8)	>0.05	5.09 (0.52-50.00)
Polizomi 8		12.5 (1/8)	78.9 (15/19)	<0.01	26.25 (2.50-280.20)	52.6 (10/19)	75 (6/8)	>0.05	2.70 (0.43-16.94)
Polizomi 11		12.5 (1/8)	78.9 (15/19)	<0.01	26.25 (2.50-280.20)	47.3 (9/19)	87.5 (7/8)	>0.05	7.78 (0.80-76.09)
Polizomi 17		12.5 (1/8)	84.2 (16/19)	<0.01	37.33 (3.28-424.58)	52.6 (10/19)	87.5 (7/8)	>0.05	6.3 (0.64-61.63)
Polizomi 9p21		12.5 (1/8)	52.6 (10/19)	<0.05	7.78 (0.80-76.09)	31.5 (6/19)	50 (4/8)	>0.05	2.17 (0.40-11.74)
17 Delesyonu		25 (2/8)	10.5 (2/19)	>0.05	0.35 (0.04-3.09)	26.3 (5/19)	0 (0/8)	>0.05	0.74 (0.56-0.96)
9p21 Delesyonu		75 (6/8)	47.3 (9/19)	>0.05	0.30 (0.05-1.88)	57.8 (11/19)	50 (4/8)	>0.05	0.73 (0.14-3.82)

OR: odds ratio

CI= Confidence interval (Güven aralığı)

Parantez içindeki veriler olgu sayısı/toplam olgu sayısını ifade etmektedir.

Fisher's exact test, sayısal kromozomal aberasyonlarla G1-2 (Düşük) ve G2-3 (Yüksek) tümörler arasındaki ve pT-a-T1 ve pT2 arasındaki korelasyonu değerlendirmek için kullanılmıştır.

TARTIŞMA

5.1. FISH Yönteminin Sensitivitesi

Placer ve arkadaşları, Halling ve arkadaşları, Skacel ve arkadaşları ile Varella-Garcia ve arkadaşlarının çalışmalarında Urovysion prob setiyle DEK belirlemede FISH analizinin sensitivitesi sırasıyla % 80.4, % 81, % 85 ve % 86 olarak bildirilmiştir (28, 70, 78, 85). Marin-Aguilera ve arkadaşlarının aynı yıl yaptıkları iki ayrı çalışmada Urovysion prob setiyle FISH tekniğinin DEK belirlemede sensitivitesi sırasıyla % 76.3, % 76.7 olarak bildirilmiştir (56, 57).

Çalışmamızda, Urovysion prob setiyle DEK belirlemede FISH tekniğinin sensitivitesi % 92.6 olarak saptanmış olup, diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Bizim sonuçlarımız diğer rapor edilen çalışma sonuçlarından (Çizelge 5.1) rakamsal olarak daha yüksek olmasının nedeni, çalışmamızdaki düşük dereceli (G1-G2(Düşük)) Ta evreli olgu sayısının az olmasından ve birde prob panelimizin diğer araştırmacıların prob panelinden daha geniş olmasından dolayı olabilir.

5.2. FISH Yönteminin Spesifitesi

Placer ve arkadaşları, Halling ve arkadaşları ile Varella-Garcia arkadaşlarının çalışmalarında Urovysion prob setiyle DEK belirlemede FISH tekniğinin spesifitesi %100 olarak bildirilmiştir (28, 70, 85). Skacel ve arkadaşlarının çalışmalarında Urovysion prob setiyle DEK belirlemede FISH tekniğinin spesifitesi % 97 olarak bildirilmiştir (78). Yine Marin-Aguilera ve arkadaşlarının aynı yıl yaptıkları iki ayrı çalışmada da Urovysion prob setiyle DEK belirlemede FISH tekniğinin spesifitesi % 94,7 olarak bildirilmiştir (56, 57).

Çalışmamızda da Urovysion prob setiyle DEK belirlemede FISH tekniğinin spesifitesi %100 olarak saptanmış ve diğer çalışmalarla uyumlu olduğu bulunmuştur.

Çizelge 5.1. UroVysion prob seti kullanarak yapılan FISH analiz sonuçlarının karşılaştırılması

Literatürler	Olgu	Kontrol	Örnek	FISH	
				Sensitivitesi (%)	Spesifitesi (%)
Halling ve ark. (2000)	73	43	İdrar	81	100
Placer ve ark. (2002)	46	34	İdrar	80.4	100
Skacel ve ark. (2003)	82	29	İdrar ve mesane yıkama	85	97
Varella-Garcia ark. (2004)	7	12	İdrar	86	100
Marin-Aguilera ve Ark. (2007)	93	19	İdrar	76.3	94.7
Marin-Aguilera ve Ark. (2007)	30	19	İdrar	76.7	94.7
Bizim çalışmamız (2007)	27	15	İdrar	92.6	100

5.3. Değerlendirilemeyen Olgu Oranı

Halling ve arkadaşları, Iswata ve arkadaşları ile Placer ve arkadaşlarının çalışmalarında idrar örneğinde değerlendirilemeyen olgu oranı sırasıyla % 2.7, % 6.8 ve % 6.9 olarak bildirilmiştir (28, 32, 70).

Çalışmamızda idrar örneğinde değerlendirilemeyen olgu oranı %10 olarak saptanmıştır. Değerlendirilememesinin nedeni yeterince hücre elde edilememesi veya başarısız hibridizasyondan dolayı FISH sinyallerinin sayılamamasıdır.

5.4. Mesane Yıkama ve İdrar Örneğinin FISH Sensitivitelerinin Karşılaştırılması

Skacel ve arkadaşlarının çalışmalarında mesane yıkama ve idrar örneklerinin FISH sensitivitesi sırasıyla % 88 ve % 80 olarak saptanmış ve sonuçların benzer olduğu bildirilmiştir (78).

Bizim çalışmamızda mesane yıkama ve idrar örneklerinin FISH sensitivitesi sırasıyla % 96.7 ve % 92.6 olarak saptanmış ve sonuçlar birbiri benzerdir. Sonucumuz diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

5.5. Çalışılan tüm kromozomlara ilişkin aberasyon oranı

Placer ve arkadaşları, Santos ve arkadaşları, Ribal ve arkadaşları, Steidl ve arkadaşlarının çalışmalarında sırasıyla % 75.7, % 94.7, % 96.4 ve % 100 oranında çalışılan kromozomlara ilişkin en az bir aberasyon olduğu bildirilmiştir (71, 74, 77, 81).

Bizim çalışmamızda olguların mesane yıkama ve idrar örneğinde sırasıyla % 96.6 ve %92.6 oranında en az bir aberasyon olduğu saptanmış olup, oranlarımız diğer çalışmalardaki oranlar ile uyumlu bulunmuştur.

5.6. Çalışılan tüm kromozomlara ilişkin tespit edilen anomaliler

5.6.1. Kromozom 3 Anomalileri

Mezzelani ve arkadaşlarının çalışmasında 18 olgunun 16 sında (% 88) yalnızca kromozom 3 artışı olduğunu bildirmişlerdir (60).

Çalışmamızda da mesane yıkama örneği alınan 30 olgunun 22 sinde (% 73,3), idrar örneği alınan 27 olgunun 19 unda (% 70,3) yalnızca kromozom 3 polizomisi saptanmış olup, Mezzelani ve arkadaşlarının çalışmalarıyla uyumlu bulunmuştur.

5.6.2. Kromozom 7 Anomalileri

Santos ve arkadaşlarının çalışmasında 75 olgunun 61 inde (% 81.3) kromozom 7 aberasyonu olduğunu ve kromozom aberasyonu bulunan olguların 57 sinde (% 76) polizomi ve dört olguda monozomi olduğu bildirilmiştir. Leonardo ve arkadaşlarının çalışmasında kromozom 7 aberasyonu 27 olgunun 20 sinde (% 74) olduğu bildirilmiştir. Ciancuilli ve arkadaşlarının çalışmasında 25 olgunun 18 inde (% 72) kromozom 7 aberasyonu olduğu bildirilmiştir. Placer ve arkadaşlarının çalışmasında 37 olgunun 22 sinde (% 59.4) kromozom 7 polizomisi olduğu bildirmiştir (12, 53, 71, 77).

Çalışmamızda da mesane yıkama örneği alınan 30 olgunun 23 ünde (% 76.6), idrar örneği alınan 27 olgunun 18 inde (% 66.6) yalnızca kromozom 7 polizomisi saptanmış olup, diğer çalışmalarla benzer sonuçlar bulunmuştur.

5.6.3. Kromozom 8 Anomalileri

Placer ve arkadaşlarının çalışmasında 37 olgunun 20 sinde (% 55.5) kromozom 8 polizomisi bildirilmiştir (71).

Çalışmamızda idrar örneği alınan 27 olgunun 16 sında (% 59.2) yalnızca kromozom 8 polizomisi saptanmış olup, Placer ve arkadaşlarının çalışmalarıyla uyumlu bulunmuştur.

5.6.4. Kromozom 11 Anomalileri

Panani ve arkadaşlarının çalışmalarında 35 olgunun 25 inde (% 71.43) kromozom 11 aberasyonu olduğu ve kromozom aberasyonu bulunan olguların 24 ünde (% 68,57) polizomi ve yalnızca bir olguda monozomi olduğu bildirilmiştir (64).

Bizim çalışmamızda da mesane yıkama örneği alınan 30 olgunun 22 sinde (% 73,3), idrar örneği alınan 27 olgunun 17 sinde (% 62,9) yalnızca kromozom 11 polizomisi saptanırken monozomi saptanmamıştır. Sonuçlarımız Panani ve arkadaşlarının sonuçları ile uygunluk göstermektedir.

5.6.5. Kromozom 17 Anomalileri

Santos ve arkadaşlarının çalışmalarında 75 olgunun 57 sinde (% 76) kromozom 17 aberasyonu olduğunu ve kromozom aberasyonu bulunan olguların 42 sinde (% 56) polizomi ve 15 inde (% 20) monozomi olduğu bildirilmiştir. Leonardo ve arkadaşlarının çalışmasında 27 olgunun 20 sinde (%74) kromozom 17 aberasyonu olduğu bildirilmiştir. Ciancuilli ve arkadaşlarının çalışmasında 25 olgunun 21 inde (% 81) kromozom 17 aberasyonu olduğu bildirilmiştir (12, 53, 77).

Bizim çalışmamızda da mesane yıkama örneği alınan 30 olgunun 27 sinde (% 90), idrar örneği alınan 27 olgunun 20 sinde (% 74) kromozom 17 aberasyonu saptanmıştır. Mesane yıkama örneği alınan olgularda kromozom 17 aberasyonu bulunan olguların 22 sinde (% 73.3) kromozom 17 polizomisi ve 6 olguda (% 20) monozomi saptanmış olup, diğer araştırmacıların sonuçları ile uygunluk göstermektedir.

5.6.6. Kromozom 9p21 Anomalileri

Mezzelani ve arkadaşları, Bollman ve arkadaşları ile Kruger ve arkadaşları yaptıkları çalışmada en sık FISH bulgusunun 9p21 ilişkin değişiklikler olduğunu rapor etmişlerdir(11, 50, 60).

Bizim çalışmamızda idrar örneğinde 9p21 ilişkin değişiklikler en sık FISH bulgusu olarak saptanmış olup, diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

Placer ve arkadaşlarının çalışmasında 37 olgunun 11 inde (% 29.7) 9p21 polizomisi ve 37 olgunun 12 sinde (% 32.4) 9p21 monozomisi bildirilmiştir (71).

Çalışmamızda idrar örneği alınan olgularda 27 olgunun 10 unda (% 37) 9p21 polzomisi ve 27 olgunun 14 ünde (% 51.8) 9p21 delesyonu saptanmıştır.

5.7. Kromozom Anomalisi ile Tümör histopatolojisi Arasındaki İlişki

Kruger ve arkadaşları çalışmalarında non invaziv (PTa) tümörlerde 9p21 delesyonunu % 83 oranında en sık genetik değişim olarak saptamışlardır. Bu sonucun 9p21 (p16) delesyonunun mesane kanserinin oluşmasında sorumlu erken olay olabileceği bildirilmiştir (50).

Bizim çalışmamamızda ise düşük dereceli G1-G2 (Düşük) yüzeysel (Ta ve T1) tümörlerde 9p21 delesyonu, mesane yıkama örneklerinde % 66 ve idrar örneklerinde ise % 75 oranı ile en sık görülen değişiklik olarak saptanmıştır. Sonucumuz diğer çalışmalarda rapor edilen 9p21 (p16) delesyonunun mesane kanserinin oluşmasında sorumlu olan erken olay olabileceği hipotezini desteklemektedir.

Steidl ve arkadaşları, Santos ve arkadaşları ile Ribal ve arkadaşlarının çalışmalarında yüksek derece invaziv tümörlerin, Çizelge 5.2 de belirtilen kromozomlar açısından düşük dereceli papiller DEK lardan daha fazla kromozomal değişiklik gösterdiğini bildirmişlerdir (74, 77, 81).

Çalışmamızda yüksek dereceli veya invaziv tümörlerin, Çizelge 5.2 de belirtilen kromozomlar açısından düşük dereceli papiller DEK lardan daha fazla kromozomal değişiklik gösterdiği saptanmış olup, diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

Acar ve arkadaşları, Ribal ve arkadaşları, Placer ve arkadaşları ile Mazzucchelli ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmalarda mesane karsinomunda kromozom 3, 7, 8, 11 ve 17 nin sayısal artışı ile yüksek derece ve yüksek evre ve agresif tümör davranışı ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (1, 58, 71, 74).

Bizim çalışmamızda da, DEK da hem mesane yıkama hem de idrar örneklerinde 3, 7, 8, 11 ve 17. kromozomlara ilişkin polizomi yüksek derece ve evre ve agresiv tümör davranışı ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Sonuçlarımız diğer araştırmacıların sonuçlarıyla uyumlu bulunmuştur.

Çizelge 5.2. Literatür ile çalışmamızın olgu sayısı, örnek, histopatoloji ve FISH analizinde kullanılan problar açısından karşılaştırılması

<u>Literatürler</u>	<u>Olgu sayısı</u>	<u>Örnek</u>	<u>Histopatolojileri</u>	<u>Kullanılan Problar</u>
Eleuteri ve arkadaşları (2001)	96	Mesane yıkama	14 G1, 65 G2 ve 17 G3; 60 pTa ve 36 T1	Cep 8 ve Cep 9
Steidl ve arkadaşları (2002)	11	Doku biyopsisi	1 G1, 6 G2, 2 G3, 2 Gx; 5 Ta, 2 Tis ve 4 T1	Cep1, Cep8, Cep 9, Cep11, Cep17, LSI 1p36, LSI 8p23, LSI 9p21, LSI 11q13 (cyclin D1), LSI 17p13 (p53)
Santos ve arkadaşları (2002)	75	Doku biyopsisi	G1 17, G2 34, G3 24; pTa 18, pT1 29, p T2 28	Cep 7, Cep 9 ve Cep 17
Acar ve arkadaşları (2003)	17	Doku biyopsisi	4 G3 ve 13 G2	Cep 8 ve Cep 11
Panani ve arkadaşları (2004)	35	Doku biyopsisi	G1 1, 12 G2 ve 22 G3; 12 pTa-T1, 3 pT1G3, 19 pT2 -T4 ve 1 CIS	Cep 9 ve Cep 11
Ribal ve arkadaşları (2004)	30	Doku biyopsisi	T1G2 12 ve T1G3 18	Cep 7, Cep 8, Cep 9 ve Cep 17
Degtyar ve arkadaşları (2004)	30	Mesane yıkama ve idrar	LG 16, HG 14; 22 pTa ve 8 pT1	Cep7 ve Cep 9
Placer ve arkadaşları (2005)	37	Doku biyopsisi	7 G1, 10 G2, 20 G3; 19 pTa, 7 pT1 ve 11 pT2-T4	Cep 7, Cep 8, Cep 9, Cep 17, LSI 9p21, LSI 9q34
Mazzucchelli ve arkadaşları (2005)	8	Doku biyopsisi	2 LG, 6 HG; 3 T2a 5 T1	Cep 3, Cep 7, Cep 9, Cep 17, LSI 9p21
Leonardo ve arkadaşları (2005)	27	Doku biyopsisi	2 G0, 4 G1, 18 G2, 3 G3; 2 T0, 13 Ta, 7 T1, 5 T2	Cep 7, Cep 9, Cep 17 ve LSI C-erb-2
Bizim Çalışmamız (2007)	30	Mesane yıkama	G1-G2 (Düşük) 9, G2-G3(Yüksek) 21, pTa 2, pT1 19, pT2 9	Cep 3, Cep 7, Cep 8, Cep 11, Cep 17, LSI 9p21

5.8. Kromozom Polizomisi ile Tümör histopatolojisi Arasındaki Bağlantı

Eleuteri ve arkadaşlarının çalışmasında, kromozom 8 polizomisi ile tümör derecesi arasında bağlantı olduğu bildirilmiştir ($P=0.001$) (22).

Degtyar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kromozom 7 polizomisi ile yüksek dereceli tümör arasında bağlantı olduğu gösterilmiştir (18).

Santos ve arkadaşlarının çalışmasında, kromozom 7 ve 17 artışı ile tümör derecesi ($P<0.05$) arasında bağlantı olduğu saptanmıştır (77).

Placer ve arkadaşlarının çalışmalarında kromozom 7, 8, 17 polizomisi ile tümör derecesi arasında bağlantı olduğu ($P<0.001$) bildirilmiştir.

Acar ve arkadaşları çalışmalarında, kromozom 8 ve 11 polizomisinin G3 tümörlerinde, G2 ye göre önemli ölçüde daha fazla olduğunu ($P=0,031$) saptamışlardır (1).

Bizim çalışmamızda da kromzom 7, 8, 11 ve 17 polizomisi ile tümör derecesi arasında korelasyon olduğu ($P<0.01$) saptanmış olup, diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Ayrıca çalışmamızda kromozom 3 polizomisi ile tümör derecesi arasında da korelasyon olduğu saptanmıştır.

Panani ve arkadaşları çalışmalarında kromozom 11 polizomisiyle tümör derecesi arasında korelasyon saptamamışlardır (64). Bizim çalışmamızda ise kromzom 11 polizomisi ile tümör derecesi arasında korelasyon olduğu ($P<0.01$) saptanmıştır. Çizelge 5.2 görüldüğü gibi çalışmamızdaki yüksek dereceli tümör olgu sayısı Panani ve arkadaşlarının olgu sayısından daha fazla olmasından dolayı bu bağlantı saptanmış olabilir.

Panani ve arkadaşları, kromozom 11 polizomisiyle tümör evresi arasında bağlantı saptamamışlardır (64). Bizim çalışmamızda da kromozom 11 polizomisiyle tümör evresi arasında bağlantı saptanmamış olup, Panani ve arkadaşlarının sonuçlarıyla uyumlu bulunmuştur.

Placer ve arkadaşları çalışmalarında kromozom 7, 8 ve 17 polizomisi ile tümör evresi arasında korelasyon olduğunu göstermişlerdir (71). Buna karşın bizim çalışmamızda kromozom 7, 8 ve 17 polizomisi ile tümör evresi arasında korelasyon ($P>0.05$) saptanmamıştır. Bunun nedeni çalışmamızda istatistiksel analizi Ta-T1 evreli tümörlerle T2 evreli tümörler arasında uygulamış olmamızdan dolayı olabilir. Çünkü Placer ve arkadaşları istatistiksel analizi Ta evreli tümörlerle T1-T4 evreli tümörler arasında uygulamışlardır. Bunun diğer bir nedeni de Çizelge 5.2 de görüldüğü gibi olgularımızın evrelerinin onlarınkinden farklı olması olabilir.

6. SONUÇ

Araştırma grubunu oluşturan 30 DEK ve olgusunun 30 mesane yıkama örneği ve 27 idrar örneğinden elde edilen hücrelere UroVysion prob seti ile CEP8 ve CEP 11 problemleri uygulanarak FISH analizleri yapılmıştır. Kontrol grubunu oluşturan 15 olgusunun mesane yıkama ve idrar örneklerinden elde edilen hücrelere UroVysion prob seti ile CEP8 ve CEP 11 problemleri uygulanarak FISH analizleri yapılmıştır.

Bu çalışmanın amacı, mesane değişici epitel karsinomu (DEK) tanısında non invaziv yaklaşımla elde edilen mesane yıkama ve idrar örneklerinde sık görülen kromozomal aberasyonları belirleyen interfaz FISH tekniğinin potansiyel klinik uygulamasını belirlemek ve kromozomal anöploidilerle tümörün derecesi ve evresi arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

1. FISH tekniğinin DEK tanısı koymada sensitivitesi, mesane yıkama ve idrar örneklerinde sırasıyla % 96.7 ve % 92.6 saptanırken, spesifikliğı her ikisinde %100 olarak saptanmıştır.
2. Düşük dereceli G1-G2 (Düşük) papiller (Ta ve T1) tümörlerde 9p21 kaybı, mesane yıkama ve idrar örneklerinde sırasıyla % 66 ve % 75 olarak görülen en yaygın değişiklik olarak saptanmıştır. G1-G2 (Düşük) dereceli tümörlerde 17. kromozomun delesyonu mesane yıkama ve idrar örneklerinde sırasıyla % 44 ve % 25 olarak saptanmıştır.
3. Kromozom 3, 7, 8, 11 ve 17 polizomisi ile tümör derecesi ($P < 0,01$) arasında korelasyon saptanırken, kromozom 3, 7, 8, 11 ve 17 polizomisi ile Ta-T1 evreli tümörlerle ve T2 evreli tümörler ($P > 0,05$) arasında korelasyon saptanmamıştır.

4. DEK da mesane yıkama ve idrar örneklerinde 3, 7, 8, 11 ve 17. kromozomlara ait polizomi T1 G2-G3 (Yüksek) ve T2 G3 (Yüksek) karsinomlara spesifik olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, interfaz FISH analizi mesane yıkama ve idrar örneklerinden elde edilen üretelyal hücrelerde sık görülen kromozomal aberasyonları belirleyerek, değişici epitel karsinomu tanısında kliniğe katkı sağlayabilecek potansiyele sahip noninvaziv bir tekniktir. Kromozom aberasyonlar ile tümör derecesi ve evresi arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılması için farklı histopatolojiye sahip daha fazla olgu serisiyle başka çalışmalar yapılması gerekli ve yararlı olacaktır.

7. KAYNAKLAR DİZİNİ

- 1- Acar, H., Kılınç, M., Yıldırım, M.S., Kaynak, M., Cenker, A. 2003, Evaluation of chromosome 8 and 11 aneuploidies in washing and biopsy materials of bladder transitional cell carcinoma, *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 142, 25-29.
- 2- Adsheed, J.M., Kessling, A.M., Ogden, C.W., 1998, Genetic initiation, progression and prognostic cell carcinoma of the bladder : a summary of the structural and transcriptional changes, and the role of developmental genes, *British Journal of Urology*, 82, 503-512.
- 3- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K.; Watson, J.D., 1994, *The molecular biology of the cell*, Third Edition, Garland Publishing Inc., New York&London.
- 4- Anafarta, K., Göğüş, O., Arıkan, N., Bedük, Y., 1998, *Temel üroloji*, Güneş Kitapevi, Ankara.
- 5- Anafarta, M.K. ve Yaman, Ö. (Editörler), 2005, *Campbell üroloji*, Sekizinci Baskı, Güneş Kitapevi, Ankara.
- 6- Artan, S., 1996, FISH tekniğinde hibridizasyon koşulları, teorik ve pratik floresan in situ hibridizasyon, Ed. BAŞARAN, N., ETAM, Eskişehir, s:34-39.
- 7- Artan, S., 1996, FISH tekniğinde kullanılan proplar ve özellikleri, teorik ve pratik floresan in situ hibridizasyon, Ed. BAŞARAN, N., ETAM, Eskişehir, s:14-25.
- 8- Artan, S., 1996, Rutin FISH uygulamaları, teorik ve pratik floresan in situ hibridizasyon, Ed. BAŞARAN, N., ETAM, Eskişehir, s:51-59.

- 9-** Awata, S., Sakagami, H., Tozawa, K., Sasaki, S., Ueda, K., Kohri, K., 2000, Aberration of chromosomes 8 and 11 in bladder cancer as detected by fluorescence in situ hybridization, *Urol Res*, 28, 185-190.
- 10-** Başaran, N., 1996, Moleküler sitogenetik analiz yöntemi ve uygulama alanları, teorik ve pratik floresan in situ hibridizasyon, Ed.BAŞARAN,N.; ETAM, Eskişehir, s:5-10.
- 11-** Bollmann, M., Heller, H., Bankfalvi, A., Griefingholt, H., Bollmann R., 2005, Quantitative molecular urinary cytology by fluorescence in situ hybridization: a tool for tailoring surveillance of patients with superficial bladder cancer?, *Bju International* 95, 1219-1225.
- 12-** Cianciulli, A.M.; Leonardo, C., Guadagni, F., Marzano, R.; Iori, F., De Nunzio, C., Franco, G., Merola, R., Laurenti, C., 2003, Genetic instability in superficial bladder cancer and adjacent mucosa: an interphase cytogenetic study, *Human Pathology*, Volume 34, No. 3.
- 13-** Constantinou, M., Binka-Kowalska, A., Borkowska, E., Zajac, E., Jalmuzna, P., Matych, J., Nawrocka, A., Kaluzewski, B., 2006, Application of multiplex FISH, CGH and MSSCP techniques for cytogenetic and molecular analysis of transitional cell carcinoma (TCC) cells in voided urine specimens, *J Appl Genet*, 47(3), 273–275.
- 14-** Coogan, C. L., Estrada, C. R., Kapur, S., Bloom, K. J., 2004, Her-2/Neu protein overexpression and gene amplification in human transitional cell carcinoma of the bladder, *Urology*, 63, 786–790.
- 15-** Cooper, M., 1997, *The cell, a molecular approach*, ASM Pres, Washington , D.C.
- 16-** Cox, T.M., Sinclair, J., 1997, *Molecular biology in medicine*, Blackwell Science.

- 17-** Daniely, M., Rona, R., Kaplan, T., Olsfanger, S., Elboim, L., Zilberstien, Y., Friberger, A., Kidron, D., Kaplan, E., Lew, S., Leibovitch, I., 2005, Combined analysis of morphology and fluorescence in situ hybridization significantly increases accuracy of bladder cancer detection in voided urine samples, *Urology*, 66, 1354–1359.
- 18-** Degtyar, P., Neulander, E., Zırkın, H., Yusim, I., Douvdevani, A., Mermershtain, W., Kaneti, J., Manor, E., 2004, Fluorescence in situ hybridization performed on exfoliated urotelial cells in patient with transitional cell carcinoma of the bladder, *Urology*, 63, 398-401.
- 19-** Dejmek, J., Vojtassak, J., Malova, J., 1992, Cytogenetic analysis of 1508 spontaneous abortions originatin from South Slovakia, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol*, 23, 46(23), 129-36.
- 20-** Denzinger, S., Mohren, K., Knuechel, R., Wild, P. J., Burger, M., Wieland, W. F., Hartmann, A., Stoehr, R., 2006, Improved clonality analysis of multifocal bladder tumors by combination of histopathologic organ mapping, loss of heterozygosity, fluorescence in situ hybridization, and p53 analyses, *Human Pathology*, 37, 143-151.
- 21-** Devoogt, H.J., Rathert, P., Bayer-Boon, M.E., 1977, *Urinary cytology*, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg.
- 22-** Eleuteri, P., Grollino, M.G., Pomponi, D., De Vita R., 2001, Chromosome 9 aberrations by fluorescence in situ hybridisation in bladder transitional cell carcinoma, *European Journal of Cancer*, 37, 1496-1503.
- 23-** Franks, L.M., Teich, N.M. 1998, *Cellular and molecular biology of cancer*, Thied edition, Oxford Uni. Pres.

- 24-** Frau, D.V., Usai, P., Dettori, T., Caria, P., De Lisa, A., Vanni, R., 2006, Fluorescence in situ hybridization patterns in newly diagnosed superficial bladder lesions and corresponding bladder washings, *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 169, 21–26.
- 25-** Gallucci, M., Guadagni, F., Marzano, R., Leonardo, C, Merola, R., Sentinelli, S., Ruggeri, E.M., Cantiani, R., Sperduti, I., De La Iglesia Lopez, F., Cianciulli, A.M., 2005, Status of the p53, p16, rb1, and her-2 genes and chromosomes 3, 7, 9, and 17 in advanced bladder cancer: correlation with adjacent mucosa and pathological parameters, *J Clin Pathol*, 58, 367–371.
- 26-** Gontero, P., Tizzani, A.H., Muir, G., Caldarera, E., Macaluso, M.P., 2001, The genetic alterations in the oncogenic pathway of transitional cell carcinoma of the bladder and its prognostic value, *Urol Res*, 29, 377-387.
- 27-** Habuchi, T., Marberger, M., Droller, M.J, Et. Al, 2005, Prognostic markers for bladder cancer: International consensus panel on bladder tumor markers, *Urology*, 66(Suppl 6A), 64-74.
- 28-** Halling, K.C., King, W., Sokolova, I.A., Meyer, R.G., Burkhardt, H.M., Halling, A.C., Cheville, J.C., Sebo, T.J., Ramakumar, S., Stewart, C.S., Pankratz, S., Okane, D.J., Seelig, S.A., Lieber, M.M., Jenkins R.B., 2000, A Comparison of cytology and fluorescence in situ hybridization for the detection of urothelial carcinoma, *The Journal of Urology*, Vol. 164, 1768-1775.
- 29-** Halling, K.C, King, W., Sokolova I.A., Karnes, R. J, Meyer, R.G, Powell, E.L, Sebo, T.J., Cheville, J.C., Clayton, A.C., Krajnik, K.L., Ebert, T.A., Nelson, R.E., Burkhardt, H.M, Ramakumar, S., Stewart, C.S, Pankratz, V.S., Lieber, M.M., Blute, M.L., Zincke, H., Seelig, S.A., Jenkins. R.B., O’kane D.J., 2002, A comparison of BTA stat, hemoglobin dipstick, telomerase and Vysis UroVysion assays for the detection of urothelial carcinoma in urine. *J Urol*, 167, 2001-2006.

- 30-** Höglund, M., Sall, T., Heim, S., Mitelman, F., Mandahl, N., Fadl-Elmula, I., 2001, Identification of cytogenetic subgroups and karyotypic pathways in transitional cell carcinoma, *Cancer Research*, 61, 8241–8246.
- 31-** Höglund, M., 2007, Bladder cancer, a two phased disease?, *Seminars in Cancer Biology*, 17, 225–232.
- 32-** Ishiwata, S., Takahashi, S., Homma, Y., Tanaka, Y., Kameyama, S., Hosaka, Y., Kitamura, T., 2001, Noninvasive detection and prediction of bladder cancer by fluorescence in situ hybridization analysis of exfoliated urothelial cells in voided urine, *Urology*, 57, 811–815.
- 33-** http://www.auanet.org/guidelines/patient_guides/BladderCancer_patguide.pdf
- 34-** http://www.auanet.org/guidelines/main_reports/bladder_cancer.pdf
- 35-** <http://www.saglikbakanligi.gov.tr>
- 36-** http://www.vysis.com/UroVysionBladderCancerTest_35630.asp
- 37-** Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., Murray, T., Xu, J., Smigal, C., Thun M.J., 2006, Cancer statistics 2006, *CA Cancer J Clin*, 56, 106-130.
- 38-** Jiang, F., Caraway, N.P., Sabichi, A.L., Zhang, H.Z., Ruitrok, A., Grossman, H.B., Gu, J., Lerner, S.P., Lippman, S., Katz R.L., 2003, Centrosomal abnormality is common biomarker for bladder cancer, *Int. J. Cancer*, 106, 661–665.
- 39-** Jones, J.S., 2006, DNA–based molecular cytology for bladder cancer surveillance, *Urology*, 67 (Suppl 3A), 35–47.
- 40-** Jung, I., Messing, E., 2000, Molecular mechanisms and pathways in bladder cancer development and progression, *Cancer Control*, Vol. 7, No.4, 324-334.

- 41-** Jungeria, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O., 1998, Basic histology, Sekizinci baskı, Barış Kitapevi, İstanbul.
- 42-** Junker, K., Boerner, D., Schulze, W., Utting, M., Schubert, J., Werner, W., 2003, Analysis of genetic alterations in normal bladder urothelium, *Urology*, 62, 1134–1138.
- 43-** Kang, J.U., Koo, S.H., Jeong, T.E., Kwon, K.C., Park, J.W., Jeon, C.H., 2006, Multitarget fluorescence in situ hybridization and melanoma antigen genes analysis in primary bladder carcinoma, *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 164, 32-38, s. 32.
- 44-** Kausch, I., Böhle, A., 2002, Molecular aspects of bladder cancer III. prognostic markers of bladder cancer, *European Urology*, 41, 15-29.
- 45-** Kirkali, Z., Tuzel, E., 2003, Transitional cell carcinoma of the ureter and renal pelvis, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 47, 155-169.
- 46-** Kırkali, Z., Chan, T., Manoharan, M., Algaba, F., Busch, C., Cheng, L., Kiemeneý, L., Kriegmair, M., Montironi, R., Murphy, W.M., Sesterhenn, I.A., Tachibana, M., Weider, J., 2005, Bladder cancer: epidemiology, staging and grading, and diagnosis, *Urology*, 66 (Suppl 6A), 4-34.
- 47-** Kitamura, H., Tsukamoto, T., 2006, Early bladder cancer: concept, diagnosis, and management, *Int. J. Clin. Oncol.*, 11, 28–37.
- 48-** Knowles, M.A., 1999, The genetics of transitional cell carcinoma : progress and potential clinical application, *BJU International*, 84, 412-427.
- 49-** Krause, F.S., Rauch, A., Schrott, K.M., Engehausen, D.G., 2006, Clinical decisions for treatment of different staged bladder cancer based on multitarget fluorescence in situ hybridization assays?, *World J Urol*.

- 50-** Krüger, S., Mess, F., Böhle, A., Feller, A. C., 2003, Numerical aberrations of chromosome 17 and the 9p21 locus are independent predictors of tumor recurrence in non-invasive transitional cell carcinoma of the urinary bladder, *International Journal of Oncology*, 23, 41-48.
- 51-** Kumar, V., Cotran, R.S., Robbins, S.L., 2003, Robbins temel patoloji, Yedinci baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.
- 52-** Laudadio, J., Keane, T.E., Reeves, H.M., Savage, S.J., Hoda, R.S., Lage, J.M, Wolff, D.J., 2005, Fluorescence in situ hybridization for detecting transitional cell carcinoma: implications for clinical practice, *Bju International*, 96,1280–1285.
- 53-** Leonardo, C., Merola, R., Orlandi, G., Leonardo, F., Rondoni, M., De Nunzio, C., 2005, C-Erb-2 gene amplification and chromosomal anomalies in bladder cancer: preliminary results, *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 24, 4.
- 54-** Leppert, J.T., Shvarts, O., Kawaoka, K., Lieberman, R., Belldergun, A.S., Pantuck, A.J., 2006, Prevention of bladder cancer: a review, *European Urology*, 49, 226–234.
- 55-** Lopez-Beltran, A., Montironi, R., 2004, Non-invasive urothelial neoplasms: according to the most recent who classification, *European Urology*, 46, 170–176.
- 56-** Marin-Aguilera, M., Mengual, L., Ribal, M.J., Burset, M., Arce, Y., Ars, E., Oliver, A., Villavicencio, H., Algaba, F., Alcaraz, A., 2007, Utility of a multiprobe fluorescence in situ hybridization assay in the detection of superficial urothelial bladder cancer, *Cancer Genetics and Cytogenetics*,173, 131-135.
- 57-** Marin-Aguilera, M., Mengual, L., Ribal, M.J., Musquera, M., Ars, E., Villavicencio, H., Algaba, F., Alcaraz, A., 2007, Utility of fluorescence in situ hybridization as a non-invasive technique in the diagnosis of upper urinary tract urothelial carcinoma, *European Urology*, 51, 409–415.

- 58-** Mazzucchelli, R., Barbisan, F., Stramazotti, D., Montironi, R., Lopez-Beltran, A., Scarpelli, M., 2005, Chromosomal abnormalities in macroscopically normal urothelium in patients with bladder PT1 and PT2a urothelial carcinoma, a fluorescence in situ hybridization study and correlation with histologic features, *Analytical and Quantitative Cytology and Histology*, Vol.27 No.3.
- 59-** Mcclatchey, K.D.: *Clinical Laboratory Medicine*, Second Edition,
- 60-** Mezzelani, A., Dagrada, G., Alasio, L., Sozzi, G., Pilotti, S., 2002, Detection of bladder cancer by multitarget multicolour FISH: comparative analysis on archival cytology and paraffin-embedded tissue, *Cytopathology*, 13, 317–325.
- 61-** Mhaweche-Fauceglia, P., Cheney, R.T., Schwaller, J., 2006, Genetic alterations in urothelial bladder carcinoma, *Cancer*, 106,1205–16.
- 62-** Nussbaum, R.L., Mcinnes,R.R., Willard, H.F., 2005, *Thompson&thompson tıbbi genetik*, Güneş Kitapevi, İstanbul.
- 63-** Özdamar, K. 2003, *SPSS ile Biyoistatistik*, Beşinci Baskı, Kaan Kitapevi, İstanbul.
- 64-** Panani, A.D., Babanaraki, A., Malianga E., Roussos, C.H., 2004, Numerical aberrations of chromosomes 9 and 11 detected by fish in greek bladder cancer patients, *Anticancer Research*, 24, 3857-3862.
- 65-** Panani, A.D., Kozirakis, D., Anastasiou, J., Babanaaki, A., Malovrouvas, D., Roussos, C., 2006, Is aneusomy of chromosome 9 alone a valid biomarker for urinary bladder cancer screening?, *Anticancer Research*, 26, 1161-1166.
- 66-** Panani, A.D., Roussos, C., 2006, Sex chromosome abnormalities in bladder cancer: Y polysomies are linked to PT1-grade III transitional cell carcinoma, *Anticancer Research*, 26, 319-324.

- 67-** Patsalis, P.C., Evangelidou, P., Charalambous, S., Sismani, C., 2004, Fluorescence in situ hybridization characterization of apparently balanced translocation reveals cryptic complex chromosomal rearrangements with unexpected level of complexity, *Eur. J. Hum. Genet.*, 1-7.
- 68-** Pergament E., 2000, New molecular techniques for chromosome analysis, *Bailliere's Clinical Obstetrics and Gynaecology*, Vol. 14, No. 4, pp.677-690.
- 69-** Phillips J.L., Richardson, I.C., 2006, Aneuploidy in bladder cancers: the utility of fluorescent in situ hybridization in clinical practice, *Bju International*, 98, 33–37.
- 70-** Placer, J., Espinet, B., Salido, M., Sole, F., Gelabert-Mas, A., 2002, Clinical utility of a multiprobe fish assay in voided urine specimens for the detection of bladder cancer and its recurrences, compared with urinary cytology, *European Urology*, 42, 547-552.
- 71-** Placer, J., Espinet, B., Salido, M., Sole, F., Gelabert-Mas A., 2005, Correlation between histologic findings and cytogenetic abnormalities in bladder carcinoma: a fish study, *Urology*, 65, 913–918.
- 72-** Reuter, V.E., 2006, The pathology of bladder cancer, *Urology* 67 (Suppl 3A), 11–18.
- 73-** Reznikof, C.A., Sarkar, S., Jülicher, K.P., Burger, M.S., Puthenveetil, J.A., Jarrard, D.F., Newton, M.A. 2000, Genetic alterations and biological pathways in human bladder cancer pathogenesis, *Urologic Oncology*, 5, 191–203.
- 74-** Ribal, M.J., Alcaraz, A., Mengual, L., Carrio, A., Lopez-Guillermo A., Mallofre, C., Palou, J., Gelabert, A., Villavicencio, H., 2004, Chromosomal high-polysomies predict tumour progression in T1 transitional cell carcinoma of the bladder, *European Urology*, 45, 593-599.

75- Sana A.S., Maha H., 2003, Molecular biology of transitional cell carcinoma, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 47, 181-193.

76- Sandberg, A.A., 2002, Cytogenetics and molecular genetics of bladder cancer: a personal view, *American Journal of Medical Genetics (Semin. Med. Genet.)*, 115, 173–182.

77- Santos, L., Pereira, S., Leite, R.P., Souto, M., Amaro, T., Criado B., 2003, Chromosome instability and progression in urothelial cell carcinoma of the bladder, *Acta Oncologica*, Vol. 42, No. 2, pp. 169-173.

78- Skacel, M., Fahmy, M., Brainard, J.A., Pettay, J.D., Biscotti, C.V., Liou, L.S., Procop, G.W., Jones, J.S., Ulchaker, J., Zippe, C.D., Tubbs R.R., 2003, Multitarget fluorescence in situ hybridization assay detects transitional cell carcinoma in the majority of patients with bladder cancer and atypical or negative urine cytology, *The Journal Of Urology*, Vol. 169, 2101–2105.

79- Sokolova, I.A., Halling, K.C., Jenkins, R.B., Burkhard, H.M., Meyer, R.G., Seelig, S.A., King W., 2000, The development of a multitarget, multicolorfluorescence in situ hybridization assay for the detection of urothelial carcinoma in urine, *Journal of Molecular Diagnostics*, Vol. 2, No. 3.

80- Srefford, J.C., Lillington, D.M., Steggall, M., Lane, T.M., Nouri, A.M.E., Young, B.D., Oliver, R.T.D., 2002., Novel chromosome findings in bladder cancer cell lines detected with multiplex fluorescence in situ hybridization, *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 135, 139-146.

81- Steidl, C., Simon, R., Bürger, H., Brinkschmidt, C., Hertle, L., Böcker, W., Terpe H.J., 2002, Patterns of chromosomal aberrations in urinary bladder tumours and adjacent urothelium, *J Pathol.*, 198, 115–120.

- 82-** Sternberg, S.S., 1997, *Histology for pathologist*, Second Edition, Lippincott- Raven Publishers, Philadelphia-New York.
- 83-** Theodorescu, D., 2003, Molecular pathogenesis of urotelial bladder cancer, *Histol Histopathol.*,18, 259-274.
- 84-** Trkova, M., Babjuk, M., Duskova, J., Benesova-Minarikova, L., Soukup, V., Mares, J., Minarik, M., Sedlacek Z., 2006, Analysis of genetic events in 17p13 and 9p21 regions supports predominant monoclonal origin of multifocal and recurrent bladder cancer, *Cancer Letters*, 242, 68–76.
- 85-** Varella-Garcia, M., Akduman, B., Sunpaweravong, P., Di Maria, M.V.E., Crawford. D., 2004, The UroVysion fluorescence in situ hybridization assay is an effective tool for monitoring recurrence of bladder cancer, *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 22, 16–19.
- 86-** Veeramachaneni, R., Nordberg, M.L., Shi, R., Herrera, G.A., Turbat-Herrera E.A., 2003, Evaluation of fluorescence in situ hybridization as an ancillary tool to urine cytology in diagnosing urothelial carcinoma, *Diagn. Cytopathol.*, 28, 301–307.
- 87-** Wang, H.T., Chang, J.W., 2004, Molecular pathology of low malignant bladder transitional cell carcinoma : a current perspective, *Histol Histopathol.*, 19, 147-153.
- 88-** Watters, A.D., Ballantyne, S.A., Going, J.J., Grigor, K.M., Bartlett, J. M. S., 2000, Aneusomy of chromosomes 7 and 17 predicts the recurrence of transitional cell carcinoma of the urinary bladder, *Bju International*, 85, 42-47.
- 89-** Watters, A.D., Going, J.J. ; Grigor, K.M., Bartlett, J.M.S., 2002, Progression to detrusor-muscle invasion in bladder carcinoma is associated with polysomy of chromosomes 1 and 8 in recurrent pTa/pT1 tumours, *European Journal of Cancer*, 38, 1593–1599.

90- Williams, S.G., Stein, J.P., 2004, Molecular pathways in bladder cancer, *Urol. Res.*, 32, 273-385.

91- Yamamoto, Y., Matsuyama, H., Furuya, T., Oga, A., Yoshihiro, S., Okuda, M., Kawauchi, S., Sasaki, K., Naito, K., 2004, Centrosome hyperamplification predicts progression and tumor recurrence in bladder cancer, *Clinical Cancer Research* 6449, Vol. 10, 6449–6455.

92- Zellweger, T., Benz, G., Cathomas, G., Mihatsch, M.J., Sulser, T., Gasser, T.C., Bubendorf, L., 2006, Multi-target fluorescence in situ hybridization in bladder washings for prediction of recurrent bladder cancer, *Int. J. Cancer*, 119, 1660–1665.

93- Zhao, J., Richter, J., Wagner, U., Roth, B., Schraml, P., Zellweger, T., Ackermann, D., Schmid, U., Moch, H., Mihatsch, M. J., Gasser, T. C., Sauter G., 1999, Chromosomal imbalances in noninvasive papillary bladder neoplasms, *Cancer Research*, 59, 4658-4661.

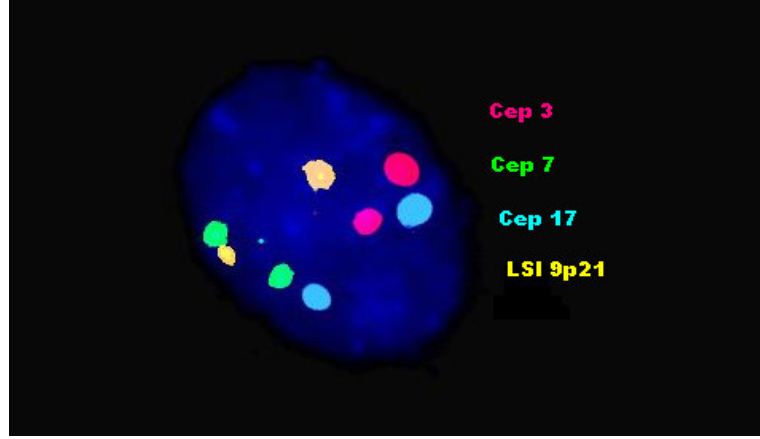
EKLER DİZİNİ

8.1. RESİMLER DİZİNİ

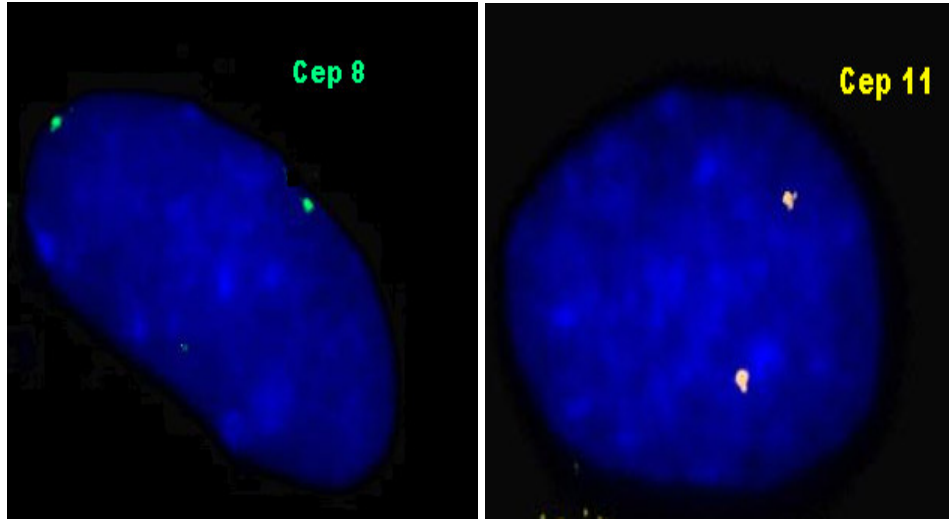
		Sayfa
Resim 4.1.	15 numaralı kontrol olgusunun mesane yıkama örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü	92
Resim 4.2.	15 numaralı kontrol olgusunun mesane yıkama örneğinden elde edilen CEP 8 ve CEP 11 problemlerine ait FISH analiz görüntüsü	92
Resim 4.3.	15 numaralı kontrol olgusunun idrar örneğinden, elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü	93
Resim 4.4.	15 numaralı kontrol olgusunun idrar örneğinden elde edilen CEP 8 ve CEP 11 problemlerine ait FISH analiz görüntüsü	93
Resim 4.5	Histopatolojisi Ta G2(Düşük) olan 15 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü	94
Resim 4.6.	Histopatolojisi Ta G2(Düşük) olan 15 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen CEP 8 ve CEP 11 problemlerine ait FISH analiz görüntüsü	94
Resim 4.7.	Histopatolojisi Ta G2(Düşük) olan 15 nolu olgunun idrar örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü	95

Resim 4.8.	Histopatolojisi T1 G2(Düşük) olan 10 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) ve prob setine ait FISH analiz görüntüsü	95
Resim 4.9.	Histopatolojisi T1 G2(Düşük) olan 17 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü	96
Resim 4.10	Histopatolojisi T1 G2(Yüksek) olan 18 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü	96
Resim 4.11	Histopatolojisi T1 G2(Yüksek) olan 18 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen CEP 8 ve CEP 11 problemlerine ait FISH analiz görüntüsü	97
Resim 4.12	Histopatolojisi T1 G2(Yüksek) olan 18 nolu olgunun idrar örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü	97
Resim 4.13	Histopatolojisi T1 G2(Yüksek) olan 18 nolu olgunun idrar örneğinden elde edilen CEP 8 ve CEP 11 problemlerine ait FISH analiz görüntüsü	98
Resim 4.14	Histopatolojisi T1 G2-G3(Yüksek) olan 14 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü	98
Resim 4.15	Histopatolojisi T1 G2-G3(Yüksek) olan 14 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen CEP 8 ve CEP 11 problemlerine ait FISH analiz görüntüsü	99

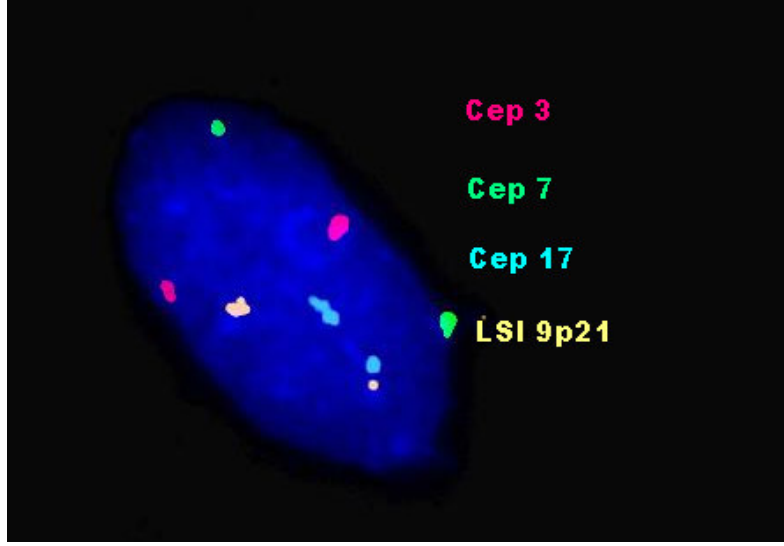
Resim 4.16	Histopatolojisi T1 G2-G3(Yüksek) olan 14 nolu olgunun idrar örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü	99
Resim 4.17	Histopatolojisi T1 G2-G3(Yüksek) olan 14 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen CEP 8 ve CEP 11 problemlerine ait FISH analiz görüntüsü	100
Resim 4.18	Histopatolojisi T2 G3(Yüksek) olan 20 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü	100
Resim 4.19	Histopatolojisi T2 G3(Yüksek) olan 20 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen CEP 8 ve CEP 11 problemlerine ait FISH analiz görüntüsü	101
Resim 4.20	Histopatolojisi T2 G3(Yüksek) olan 20 nolu olgunun idrar örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü	101
Resim 4.21	Histopatolojisi T2 G3(Yüksek) olan 20 nolu olgunun idrar örneğinden elde edilen CEP 8 ve CEP 11 problemlerine ait FISH analiz görüntüsü	102



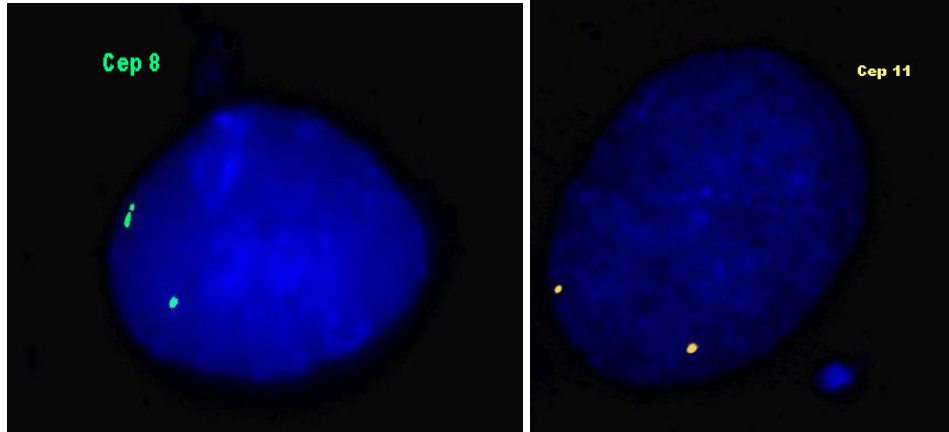
Resim 4.1. 15 numaralı kontrol olgusunun mesane yıkama örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü (İnterfaz nükleusunda kromozom 3, 7, 17 ve 9p21 bölgesi açısından normal ve FISH negatif olarak değerlendirilmiştir.) (CEP 3-Spektrum Red, CEP 7-Spektrum Green, CEP17-Spektrum Aqua, LSI P16 (9p21) Spektrum Gold)



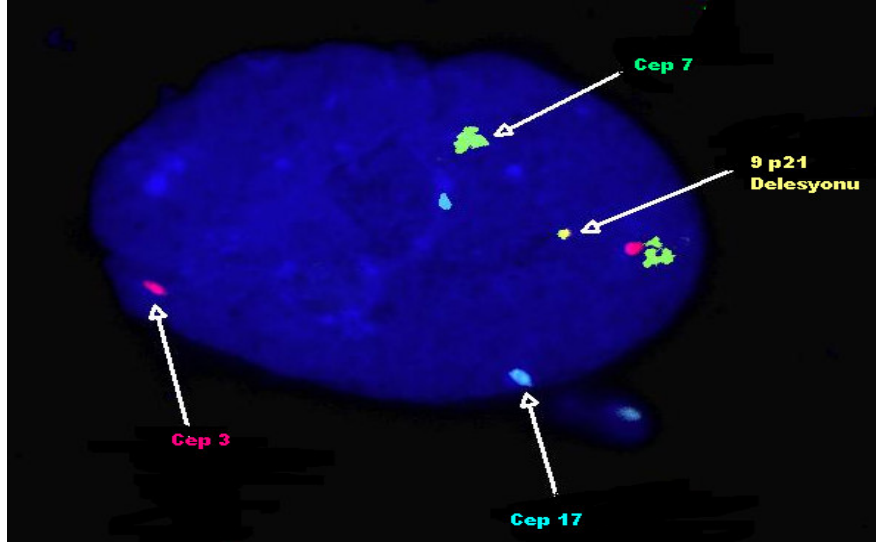
Resim 4.2. 15 numaralı kontrol olgusunun mesane yıkama örneğinden elde edilen CEP 8 ve CEP 11 proplarına ait FISH analiz görüntüsü (Normal interfaz nükleusu) (CEP 8-Spektrum Green, CEP 11-Spektrum Gold)



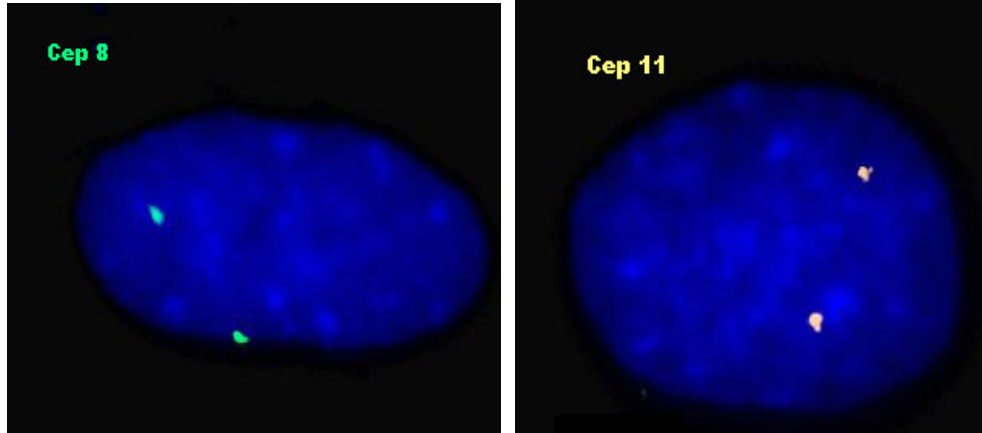
Resim 4.3. 15 numaralı kontrol olgusunun idrar örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü (İnterfaz nükleusunda kromozom 3, 7, 17 ve 9p21 bölgesi açısından normal ve FISH negatif olarak değerlendirilmiştir.) (CEP 3-Spektrum Red, CEP 7-Spektrum Green, CEP17-Spektrum Aqua, LSI P16 (9p21) Spektrum Gold)



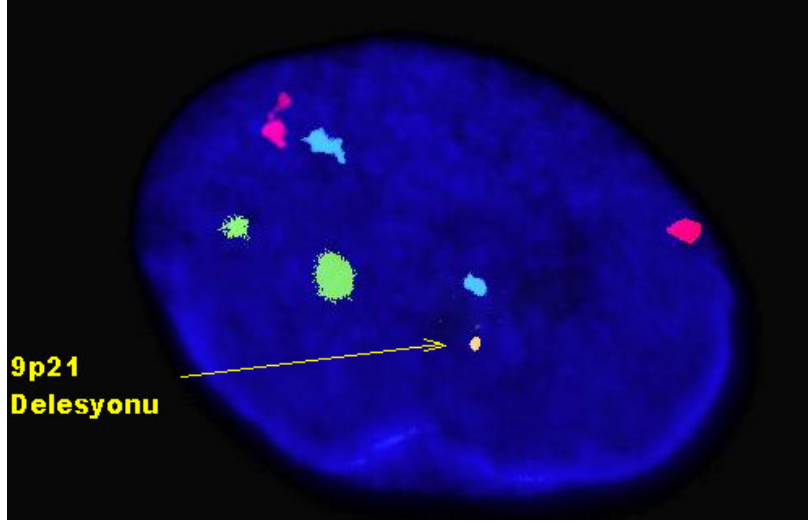
Resim 4.4. 15 numaralı kontrol olgusunun idrar örneğinden elde edilen CEP 8 ve CEP 11 problemlerine ait FISH analiz görüntüsü (Normal interfaz nükleusu) (CEP 8-Spektrum Green, CEP 11-Spektrum Gold)



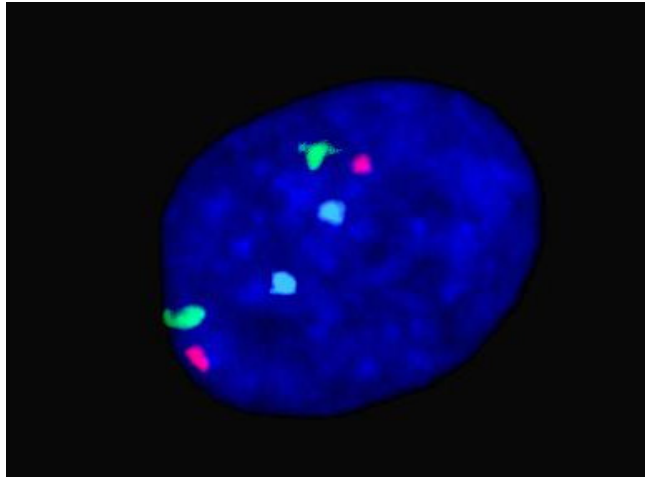
Resim 4.5. Histopatolojisi Ta G2(Düşük) olan 15 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü (İnterfaz nükleusunda kromozom 3, 7, 17 açısından normal ok ile gösterilen 9p21 bölgesinde heterozigot delesyon gözlenmiştir ve FISH pozitif olarak değerlendirilmiştir.) (CEP 3-Spektrum Red, CEP 7-Spektrum Green, CEP17-Spektrum Aqua, LSI P16 (9p21) Spektrum Gold)



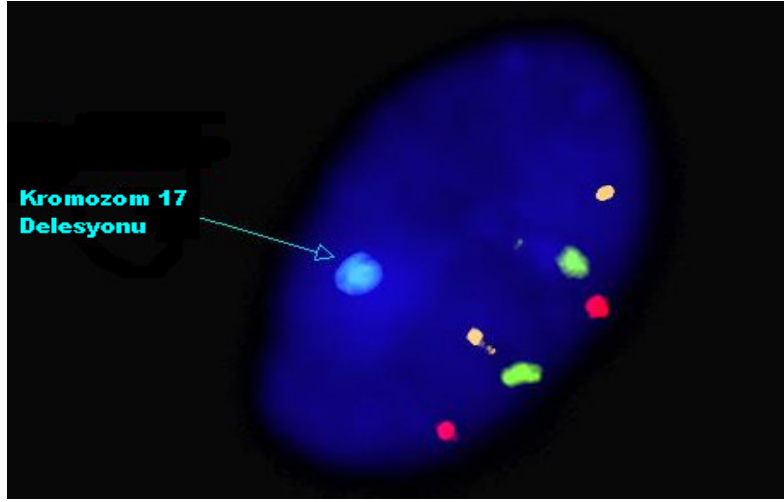
Resim 4.6. Histopatolojisi Ta G2(Düşük) olan 15 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen CEP 8 ve CEP 11 problemlerine ait FISH analiz görüntüsü (Normal interfaz nükleusu) (CEP 8-Spektrum Green, CEP 11- Spektrum Gold)



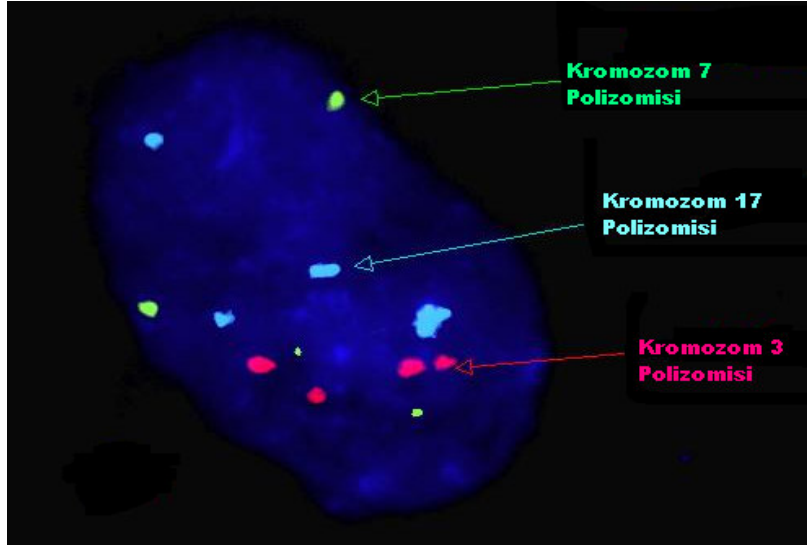
Resim 4.7. Histopatolojisi Ta G2(Düşük) olan 15 nolu olgunun idrar örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü (İnterfaz nükleusunda ok ile gösterilen 9p21 bölgesinde heterozigot delesyon gözlenmiştir ve FISH pozitif olarak değerlendirilmiştir.) (CEP 3-Spektrum Red, CEP 7-Spektrum Green, CEP17-Spektrum Aqua, LSI P16 (9p21) Spektrum Gold)



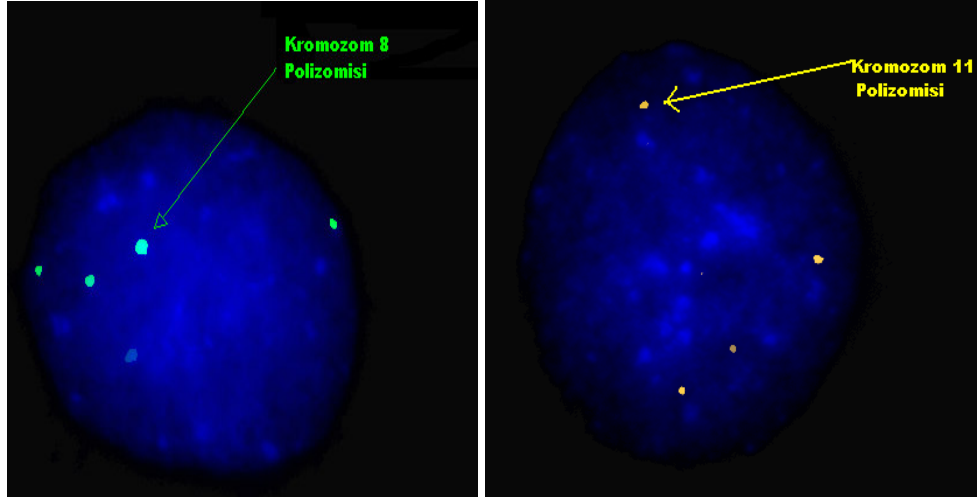
Resim 4.8. Histopatolojisi T1 G2(Düşük) olan 10 nolu olguya ait mesane yıkama örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) ve prob setine ait FISH analiz görüntüsü (İnterfaz nükleusunda 9p21 bölgesinde homozigot delesyon gözlenmiştir.) (CEP 3-Spektrum Red, CEP 7-Spektrum Green, CEP17-Spektrum Aqua, LSI P16 (9p21) Spektrum Gold). 9p21 bölgesine ilişkin gold sinyali gözlenmemektedir.



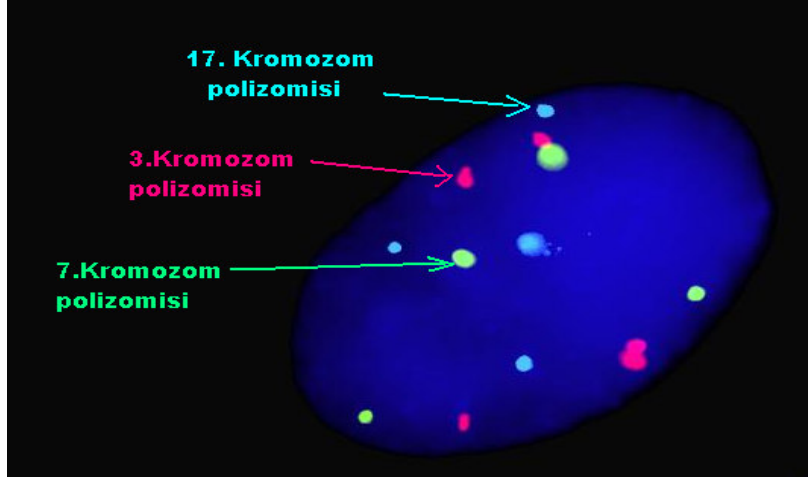
Resim 4.9. Histopatolojisi T1 G2(Düşük) olan 17 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü (İnterfaz nükleusunda ok ile gösterilen 17 kromozoma ait heterozigot delesyon gözlenmiştir.) (CEP 3-Spektrum Red, CEP 7-Spektrum Green, CEP17-Spektrum Aqua, LSI P16 (9p21) Spektrum Gold)



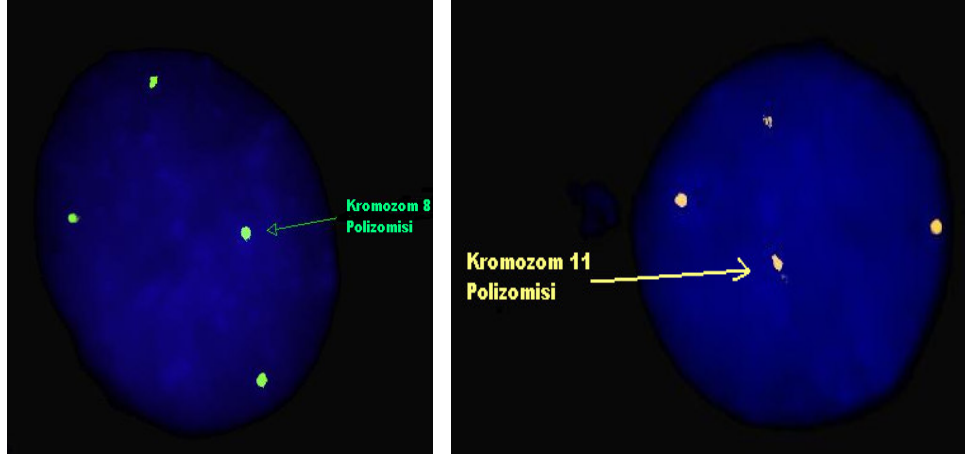
Resim 4.10. Histopatolojisi T1 G2(Yüksek) olan 18 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü. (İnterfaz nükleusunda oklarla gösterilen 3, 7, 17. kromozomlara ait polizomi ve 9p21 bölgesinde homozigot delesyon gözlenmiştir.) (CEP 3-Spektrum Red, CEP 7-Spektrum Green, CEP17-Spektrum Aqua, LSI P16 (9p21))



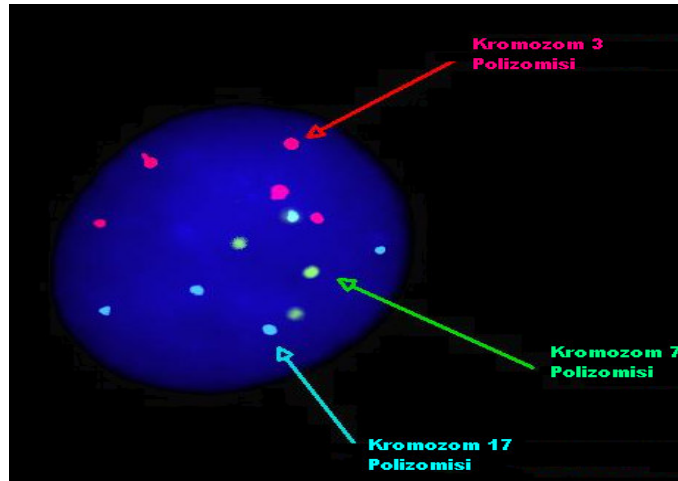
Resim 4.11. Histopatolojisi T1 G2(Yüksek) olan 18 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen CEP 8 ve CEP 11 problemlerine ait FISH analiz görüntüsü. (İnterfaz nükleusunda oklarla gösterilen 8 ve 11. kromozomlara ait polizomi) (CEP 8-Spektrum Green, CEP 11- Spektrum Gold)



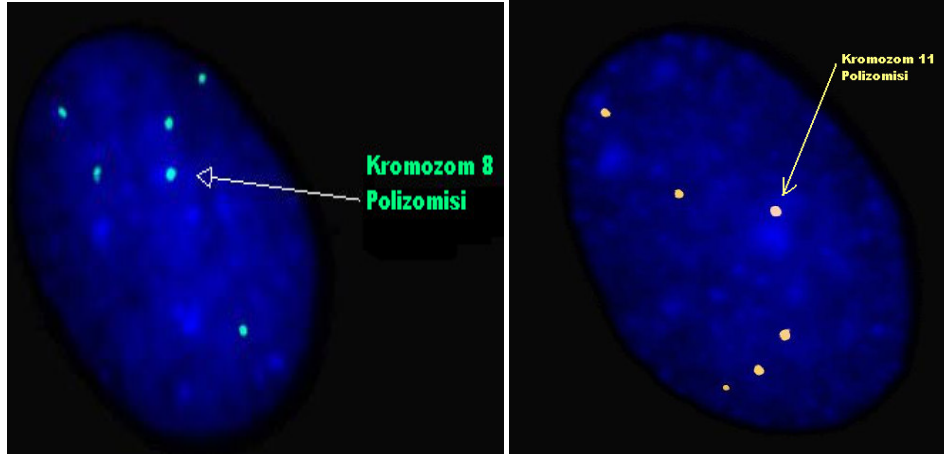
Resim 4.12. Histopatolojisi T1 G2(Yüksek) olan 18 nolu olgunun idrar örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü. (İnterfaz nükleusunda oklarla gösterilen 3, 7, 17. kromozomlara ait polizomi ve 9p21 bölgesinde homozigot delesyon gözlenmiştir.) (CEP 3-Spektrum Red, CEP 7-Spektrum Green, CEP17-Spektrum Aqua, LSI P16 (9p21))



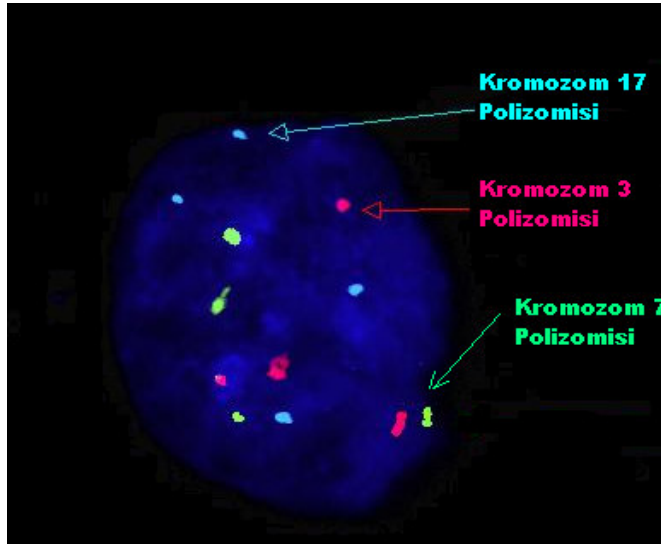
Resim 4.13. Histopatolojisi T1 G2(Yüksek) olan 18 nolu olgunun idrar örneğinden elde edilen CEP 8 ve CEP 11 problemlarına ait FISH analiz görüntüsü. (İnterfaz nükleusunda oklarla gösterilen 8 ve 11. kromozomlara ait polizomi) (CEP 8-Spektrum Green, CEP 11- Spektrum Gold).



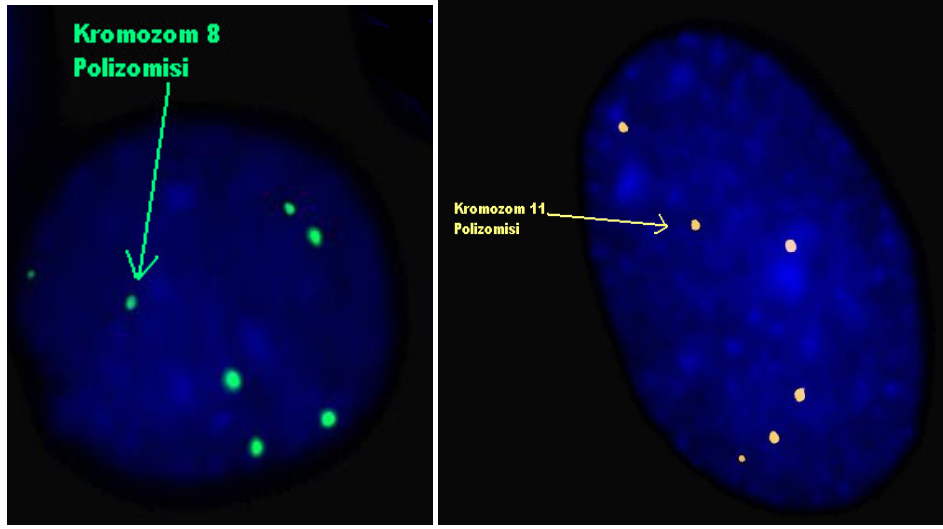
Resim 4.14. Histopatolojisi T1 G2-G3(Yüksek) olan 14 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü. (İnterfaz nükleusunda oklarla gösterilen 3, 7, 17. kromozomlara ait polizomi ve 9p21 bölgesinde homozigot delesyon gözlenmiştir.) (CEP 3-Spektrum Red, CEP 7-Spektrum Green, CEP17-Spektrum Aqua, LSI P16 (9p21) Spektrum Gold)



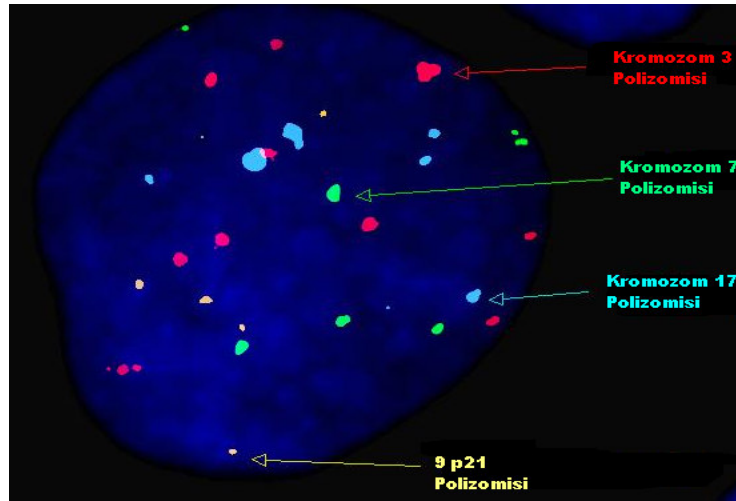
Resim 4.15. Histopatolojisi T1 G2-G3(Yüksek) olan 14 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen CEP 8 ve CEP 11 problemlerine ait FISH analiz görüntüsü. (İnterfaz nükleusunda oklarla gösterilen 8 ve 11. kromozomlara ait polizomi) (CEP 8-Spektrum Green, CEP 11- Spektrum Gold)



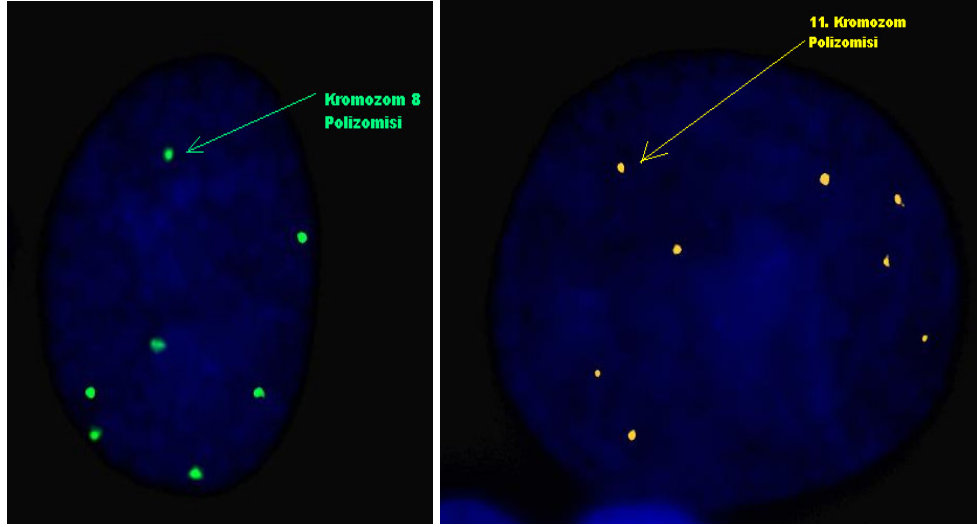
Resim 4.16. Histopatolojisi T1 G2-G3(Yüksek) olan 14 nolu olgunun idrar örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü. (İnterfaz nükleusunda oklarla gösterilen 3, 7, 17. kromozomlara ait polizomi ve 9p21 bölgesinde homozigot delesyon gözlenmiştir.) (CEP 3-Spektrum Red, CEP 7-Spektrum Green, CEP17-Spektrum Aqua, LSI P16 (9p21) Spektrum Gold)



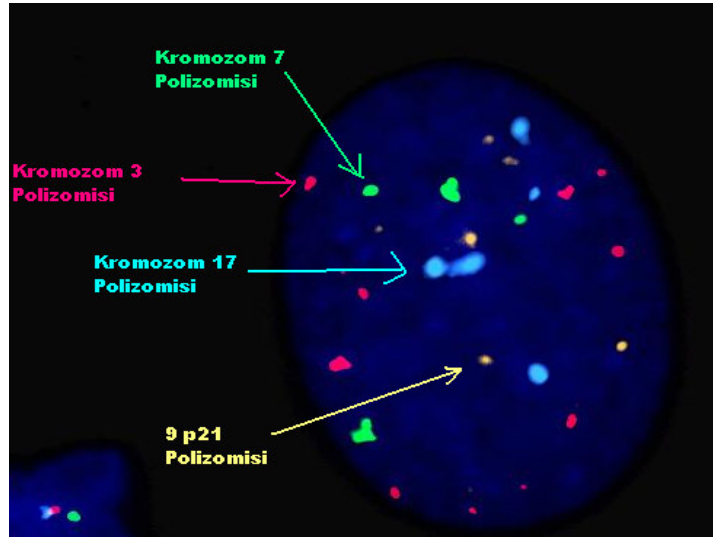
Resim 4.17. Histopatolojisi T1 G2-G3(Yüksek) olan 14 nolu olgunun idrar örneğinden elde edilen CEP 8 ve CEP 11 problemlerine ait FISH analiz görüntüsü. (İnterfaz nükleusunda oklarla gösterilen 8 ve 11. kromozomlara ait polizomi) (CEP 8-Spektrum Green, CEP 11- Spektrum Gold



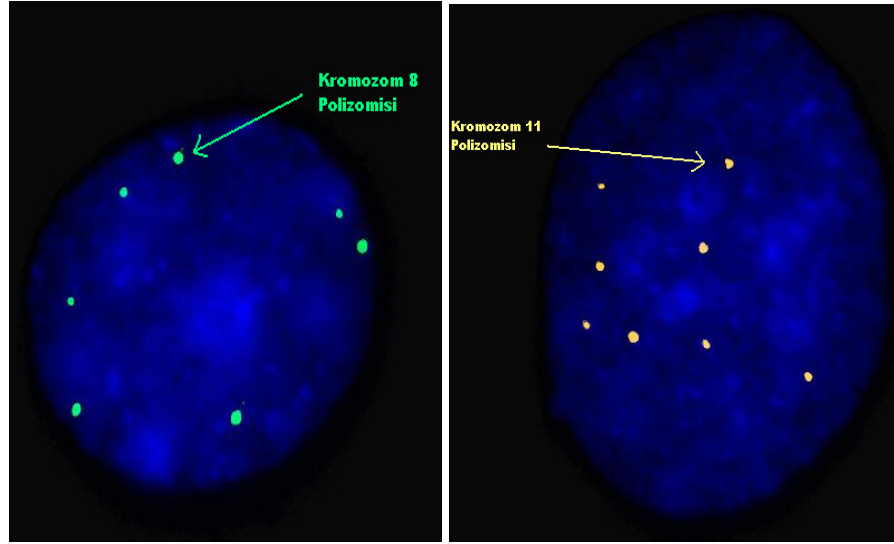
Resim 4.18. Histopatolojisi T2 G3(Yüksek) olan 20 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü (İnterfaz nükleusunda oklarla gösterilen 3, 7, 17. kromozomlarında ve 9p21 bölgesinde polizomi gözlenmiştir.) (CEP 3-Spektrum Red, CEP 7-Spektrum Green, CEP17-Spektrum Aqua, LSI P16 (9p21) Spektrum Gold)



Resim 4.19 Histopatolojisi T2 G3(Yüksek) olan 20 nolu olgunun mesane yıkama örneğinden elde edilen CEP 8 ve CEP 11 proplarına ait FISH analiz görüntüsü (İnterfaz nükleusunda oklarla gösterilen 8 ve 11 kromozomlarında polizomi gözlenmiştir.) (CEP 8-Spektrum Gren ve CEP 11- Spektrum Gold).



Resim 4.20. Histopatolojisi T2 G3(Yüksek) olan 20 nolu olgunun idrar örneğinden elde edilen UroVysion (CEP 3, CEP7, CEP 17 ve LSI 9P21) prob setine ait FISH analiz görüntüsü (İnterfaz nükleusunda oklarla gösterilen 3, 7, 17. kromozomlarında ve 9p21 bölgesinde polizomi gözlenmiştir.) (CEP 3-Spektrum Red, CEP 7-Spektrum Green, CEP17-Spektrum Aqua, LSI P16 (9p21) Spektrum Gold)



Resim 4.21. Histopatolojisi T2 G3(Yüksek) olan 20 nolu olgunun idrar örneğinden elde edilen CEP 8 ve CEP 11 proplarına ait FISH analiz görüntüsü (İnterfaz nükleusunda oklarla gösterilen 8 ve 11 kromozomlarında polizomi gözlenmiştir.) (CEP 8-Spektrum Gren ve CEP 11- Spektrum Gold)

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler:

Adı-Soyadı : İsmail Çimen
Doğum tarihi ve yeri : 17.09.1978, Osmaniye
Uyruğu : T.C
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresleri : Akyar Köyü no: 6 Merkez/Osmaniye
: ismailcimen78@gmail.com
: 0 544 768 14 03

Eğitim durumu

İlkokul :Osmaniye Mehmet Akif İlkokulu (1990)
Ortaokul ve Lise :Osmaniye Derviş Paşa Lisesi (1993-1996)
Üniversite :Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi
Biyoloji Bölümü (2003)

Mesleki Deneyim

1. Moleküler Genetik Laboratuvarı
2. Sitogenetik Laboratuvarı
3. Moleküler Sitogenetik Laboratuvarı

Yayımlar

Poster : Çilingir O1., Müslümanoğlu M.H1., Özdemir M1., Korkmaz C2., Kaşifoğlu T2., **Çimen İ1.**, Uzun D1., Basmacı T1., Kutlay Ö1., Artan S1. Ailesel Akdeniz Ateşi Tanısı Konmuş Hastalarda Mutasyon Anaizleri VII Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi 2006.