

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**MESANE TÜMÖRLÜ OLGULARIN BİYOPSİ
ÖRNEKLERİNDE SİNYAL İLETİ YOLAKLARININ
ROLLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

AYŞE GÜL BAYRAK

**DANIŞMAN
PROF.DR.ŞÜKRÜ PALANDUZ**

**GENETİK ANA BİLİM DALI
GENETİK PROGRAMI**

İSTANBUL-2012

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü GENETİK Anabilim Dalı GENETİK Programında AYŞE GÜL BAYRAK tarafından hazırlanan "Mesane Tümörlü Olguların Biyopsi Örneklerinde Sinyal İleti Yolaklarının Rollerinin Araştırılması" başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

16 / 07 / 2012

Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Prof.Dr.Şükrü PALANDUZ (Tez Danışmanı-Tez İzleme Komitesi Üyesi)	
2.Prof.Dr.Uğur Özbek (Tez İzleme Komitesi Üyesi)(İ.Ü.DETAE Genetik ABD)	
3.Prof.Dr.Kıvanç ÇEFLE (İ.Ü.İTF.İç Hastalıkları ABD.Tıbbi Genetik BD.)	
4.Doç.Dr.Abdullah ARMAĞAN (Bezm-i Alem Vakıf Ü.Tıp Fak.Üroloji ABD.)	
5.Doç.Dr.Duran ÜSTEK (İ.Ü.DETAE Genetik ABD.)	

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

AYŞE GÜL BAYRAK



İTHAF

Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim boyunca kendimi geliştirmemde büyük katkıları olan, bana her konuda, her koşulda ve her zaman destek veren, bilgi ve deneyimleriyle yol göstericim olan, çalışma hayatımda her daim değerli fikirlerinden ve tecrübelerinden yararlanacağım danışman hocam sayın Prof.Dr.Şükrü PALANDUZ'a;

Çalışmama fikirleriyle katkıda bulunan ve desteğini esirgemeyen İ.Ü.DETAE müdürü sayın Prof.Dr.Uğur ÖZBEK'e;

Tezim için kullandığım mesane tümör dokusu örneklerini sağlama konusundaki yardımları için İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof.Dr.Faruk ÖZCAN'a, Doç.Dr.Öner ŞANLI'ya, Dr.Serkan KARAKUŞ'a, Bezm-i Alem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi sayın Doç.Dr.Abdullah ARMAĞAN'a ve Uzm.Dr.Ramazan TOPAKTAŞ'a;

Tez çalışmamın, gerek laboratuvar gerekse istatistik aşamasında yardımlarını esirgemeyen, her konuda kapısını aşındırdığım ve desteğini gördüğüm sevgili arkadaşım Uzm.Biyolog Ender COŞKUNPINAR'a;

Doktora çalışmalarım sırasında rutin iş yükümü hafifleten, bana her zaman bir abi olan sevgili dostum Dr.Ali UÇUR'a;

Sıcak ve içten davranışlarıyla çalışma ortamını mükemmelleştiren tüm laboratuvar arkadaşlarıma;

Ve fedakarlıklarıyla, emekleriyle beni bugünlere getiren, hayatımın her anında yanımda yer alan sevgili Aileme;

SONSUZ TEŞEKKÜRLER.....

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 9951.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİİ
ÖZET	XV
ABSTRACT.....	XVI
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. MESANE KANSERİ'NİN EPİDEMİYOLOJİSİ :	5
2.2. MESANE KANSERİ'NİN ETYOLOJİSİ :	7
2.2.1. Sigara:	7
2.2.2. Mesleki Karsinogenler :	7
2.2.3. Analjezik Kullanımı :	8
2.2.4. Kronik Enfeksiyonlar :	8
2.2.5. Radyasyon :	8
2.2.6. Genetik Yatkınlık :	8
2.3. MESANE KANSERİ'NİN SINIFLANDIRILMASI :	9
2.3.1. Normal Ürotelyum :	11
2.3.2. Flat Üroteliyal Hiperplazi :	11
2.3.3. Atipik Flat Lezyonlar :	11
2.3.3.1. Reaktif Atipi:.....	11
2.3.3.2. Önemi Bilinmeyen Atipi :	11
2.3.3.3. Üroteliyal Displazi (düşük-derece intra-üroteliyal neoplazi) :	12
2.3.3.4. Karsinoma in situ (yüksek-derece intra-üroteliyal neoplazi) :	12
2.3.4. Papiller Neoplazmalar :	12
2.3.4.1. Papilloma :	12

2.3.4.2. Inverted papilloma :	12
2.3.4.3. Düşük malign potansiyelli papillar üroteliyal neoplazi (PUNLMP) :	13
2.3.4.4. Papillar karsinoma, düşük derece :	13
2.3.4.5. Papillar karsinoma, yüksek derece :	13
2.3.5. İnvaziv neoplazmalar :	13
2.3.5.1. Lamina propria invazyonu :	13
2.3.5.2. Muskularis propria invazyonu :	13
2.4. MESANE KANSERİ'NDE EVRELENDİRME :	14
2.5. MESANE KANSERİ'NİN TANISI :	16
2.5.1. Bulgular ve Semptomlar:	16
2.5.2. Tanı Yöntemleri :	17
2.6. MESANE KANSERİNİN TEDAVİSİ:	17
2.7. MESANE KANSERİ'NİN TÜMÖR BELİRTEÇLERİ :	18
2.7.1. Teşhise göre kanser biyobelirteçleri:	20
2.7.2. Prognostik kanser biyobelirteçleri:	20
2.7.3. Prediktif kanser biyobelirteçleri:	20
2.8. MESANE KANSERİ'NİN MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ :	20
2.8.1. Kromozom Anomalileri :	23
2.8.2. Gen Düzeyindeki Değişimler:	24
2.8.3. Ekspresyon Değişimleri :	26
2.8.4. Protein Düzeyindeki Değişimler :	27
2.9. MESANE KANSERİNİN OLUŞUMUNDA ROL OYNAYAN YOLAKLAR :	28
2.9.1. SİNYAL İLETİMİ VE İLİŞKİLİ YOLAKLAR:	29
2.9.1.1. FGF SİNYAL İLETİ YOLAĞI VE FGFR1 GENİ :	29
2.9.1.2. JAK-STAT SİNYAL İLETİ YOLAĞI VE STAT3 GENİ :	31
2.9.1.3. RAS SİNYAL YOLAĞI VE HRAS GENİ :	32
2.9.1.4. HÜCRE SIKLUSU YOLAĞI VE SİKLİN D1-SİKLİN D3 GENLERİ :	34
2.9.1.5. APOPTOZİS YOLAĞI VE FAS GENİ :	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	40
3.1. Gereç :	40
3.1.1. Materyal :	40
3.1.2. Kimyasal Maddeler ve Malzemeler :	40
3.1.2.1. Kullanılan Kimyasallar :	40

3.1.2.2. Kullanılan Kitler :	41
3.1.2.3. Kullanılan Markırlar :	41
3.1.2.4. Kullanılan Cihazlar:	41
3.1.2.5. Tampon Solüsyonlar ve Çözeltiler :	42
3.2. Yöntem :	43
3.2.1. AMBION KİT ile Dokudan RNA İzolasyonu :	44
3.2.2. RNA Konsantrasyonunun Ölçümü:	44
3.2.3. cDNA Eldesi:	45
3.3. İstatistik Analiz:	48
4. BULGULAR.....	49
4.1. Olguların Belirlenmesi:.....	49
4.2. Tümörlerin Derece ve Evrelerinin Belirlenmesi:.....	50
4.3. Gen Ekspresyonu Sonuçları:.....	53
5. TARTIŞMA	62
KAYNAKLAR	69
FORMLAR	81
ETİK KURUL KARARI	84
ÖZGEÇMİŞ	86

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1 : Mesane tümörlerinin WHO 2004 morfolojik sınıflandırılması.....	9
Tablo 2-2 : Üriner sistem tümörlerinin WHO 2004 histolojik sınıflandırılması.....	10
Tablo 2-3 : Mesane kanseri için TNM sınıflandırma sistemi.....	15
Tablo 2-4 : Mesane tümörünün tedavi protokolü.....	17
Tablo 2-5 : Mesane tümörünün teşhis ve takibinde kullanılan tümör biyobelirteçleri...	19
Tablo 3-1 : cDNA sentezi PZR içeriği.....	45
Tablo 3-2 : Beta globin geni kontrol PZR içeriği.....	45
Tablo 2.1-3: Beta globin geni PZR koşulları.....	47
Tablo 3-4 : Gen ekspresyonu için PZR içeriği.....	47
Tablo 3-5: Gen ekspresyonu için PZR koşulları.....	47
Tablo 4-1 : Olguların cinsiyete göre dağılımları.....	49
Tablo 4-2 : Hastaların sigara kullanımına göre dağılımları.....	50
Tablo 4-3 : Hastaların sitotoksik kemoterapi alımına göre dağılımları.....	50
Tablo 4-4 : Olguların tümör lokalizasyonlarına göre dağılımları.....	50
Tablo 4-5 : Tümörlerin büyüme paternine göre dağılımları.....	50
Tablo 4-6 : Tümörlerin derecelere göre dağılımları.....	51
Tablo 4-7 : Tümörlerin evrelere göre dağılımları.....	51
Tablo 4-8 : Olgu ve tümör verileri.....	52
Tablo 4-9 : HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ve %95 güven aralığı farkları.....	53
Tablo 4-10 : HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ve tümörlerin evreleri arasındaki istatistiki değerlendirme.....	54

Tablo 4-11 : HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ve tümörlerin dereceleri arasındaki istatistiki değerlendirme.....	55
Tablo 4-12 : HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ve tümörlerin lokalizasyonları arasındaki istatistiki değerlendirme.....	56
Tablo 4-13 : HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ve tümörlerin büyüme paternleri arasındaki istatistiki değerlendirme.....	57
Tablo 4-14 : HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ve olguların yaşları arasındaki istatistiki değerlendirme.....	57
Tablo 4-15 : HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ve olguların cinsiyetleri arasındaki istatistiki değerlendirme.....	58
Tablo 4-16 : HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ve olguların sigara kullanım alışkanlıkları arasındaki istatistiki değerlendirme.....	59
Tablo 4-17 : HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ve olguların sitotoksik kemoterapi maruziyetleri arasındaki istatistik.....	59

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1 : Dünyada, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde en yaygın görülen kanserlerin erkekler arasındaki insidans ve mortalite oranları.....	5
Şekil 2-2 : Türkiye’de Mesane Kanserinin diğer kanserler arasındaki yeri.....	6
Şekil 2-3 : Primer mesane kanserinin kapsamı.....	14
Şekil 2-4 : Mesane tümörünün moleküler mekanizması.....	20
Şekil 2-5 : Mesane tümörögenezis ve progresyonu için birleşik model.....	21
Şekil 2-6 : Gen ekspresyonu profil analizinin prensibi.....	26
Şekil 2-7 : Mesane tümörü oluşumuna katkıda bulunan hücresel süreçler.....	27
Şekil 2-8 : FGF Sinyal Yolağı.....	29
Şekil 2-9 : FGFR-1 geninin kromozomal lokalizasyonu.....	30
Şekil 2-10 : STAT Sinyal Yolağı.....	30
Şekil 2-11 : STAT-3 geninin kromozomal lokalizasyonu.....	31
Şekil 2-12 : Ras Sinyal Yolağı.....	32
Şekil 2-13 : HRAS geninin kromozomal lokalizasyonu.....	33
Şekil 2-14 : Hücre Siklusu ve Kontrol noktaları.....	34
Şekil 2-15 : Hücre Siklusu Yolağı.....	35
Şekil 2-16 : CCND1 geninin kromozomal lokalizasyonu.....	36
Şekil 2-17 : CCND3 geninin kromozomal lokalizasyonu.....	36
Şekil 2-18 : Fas yolağı.....	37
Şekil 2-19 : FAS geninin kromozomal lokalizasyonu.....	38
Şekil 3-1 : Çalışma yönteminin diyagramı.....	43
Şekil 0-2: Beta globin kontrol PZR'ı jel elektroforezi görüntüsü.....	46
Şekil 0-3: Gen ekspresyonu için PZR koşulları.....	48
Şekil 4-1 : Tümör olgu gruplarının cinsiyete göre dağılımı.....	49

Şekil 4-2: Gen ekspresyonu analiz sonuçları (amplification plots).....	53
Şekil 4-3: HRAS genine ait beş olgunun ekspresyonu.....	60
Şekil 4-4: CCND1 genine ait beş olgunun ekspresyonu.....	60
Şekil 4-5: CCND3 genine ait beş olgunun ekspresyonu.....	60
Şekil 4-5: STAT3 genine ait beş olgunun ekspresyonu.....	60
Şekil 4-6: FGFR1 genine ait beş olgunun ekspresyonu.....	61
Şekil 4-7: FAS genine ait beş olgunun ekspresyonu.....	61

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

RAS-MAPK : Ras-Mitojen Aktive Protein Kinaz (Mitogen-Activated Protein Kinase).

PLC-PKC : Fosfolipaz C-Protein kinaz C sinyal kaskadı.

JAK-STAT : Janus kinaz - Sinyal Transdüktörü ve Transkripsiyon Aktivatörü yolağı.

PI3K-Akt : Phosphatidylinositol 3–kinaz-Akt yolağı.

FGFR1 : Fibroblast büyüme faktörü reseptörü 1.

FGFR3 : Fibroblast büyüme faktörü reseptörü 3.

HRAS : Harvey RAS.

KRAS : Kristen RAS.

NRAS : Neuroblastoma RAS.

CIS : Karsinoma İn Situ.

CCND1 : Siklin D1.

CCND3 : Siklin D3.

Rb : Retinoblastoma.

STAT3 : Sinyal Transdüktörü ve Transkripsiyon Aktivatörü 3.

TNFR-1 : Tümör Nekroz Faktör Reseptörü-1.

TCC : Transizyonel Hücreli (üroteliyal) Karsinoma.

WHO : Dünya Sağlık Örgütü.

UICC : Dünya Kanser Örgütü (International Union Against Cancer).

TNM : Primer tümörün evresi (T), lenf düğümlerinin statüsü (N) ve metastatik lokalizasyonlarına (M).

TUR : Transüretral Rezeksiyon.

İntravesikal BCG : Bacillus-Calmette-Guerin uygulaması.

TSG : Tümör Süpressör Gen.

CDK : Siklin-bağımlı serin/treonin protein kinaz.

CDI : Siklin-bağımlı kinaz inhibitörleri.

FADD : Fas ilişkili ölüm domain proteini (Fas-associated death domain protein).

FasL : Fas Ligand.

FISH : Floresan in situ hibridizasyon (Fluorescence In Situ Hybridization).

SNP : Tekli nükleotid değişimi (Single-Nucleotide Polymorphism).

CGH : Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (Comperative Genomic Hybridization).

ÖZET

BAYRAK A. Mesane Tümörlü Olguların Biyopsi Örneklerinde Sinyal İleti Yolaklarının Rollerinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2012.

Mesane kanseri, dünyada en yaygın 7. kanserdir ve tüm kanserlerin %5'ini oluşturur. Mesanenin malign transformasyon süreci, organizmada normal biyolojik koşulların devam ettirilmesinden sorumlu olan moleküler yolaklardaki değişikliklerden kaynaklanır. Bu yolakların düzenlenmesi üzerindeki kontrolün kaldırılması, sinyal iletimini değiştirir ve genlerin anormal regülasyonuna neden olur. Tümör oluşumu ve progresyonu sırasında kritik hücresel süreçleri düzenleyen genler, hücre siklusu düzenlenmesi, hücre büyümesi, hücre ölümü, sinyal iletimi ve gen anlatımının düzenlenmesi gibi çeşitli yolaklarda etkili olurlar. Bu çalışmada sinyal iletimi ve onunla ilişkili yolaklarda rol oynayan 6 genin ekspresyon seviyelerindeki değişikliklerin, mesane kanseri oluşumunda ve progresyonundaki rollerinin ne olduğu araştırıldı. Bu amaçla mesane kanseri tanısı konulan 44 hastanın tümör dokularında FGFR1, HRAS, CCND1, CCND3, STAT3 ve FAS genlerinin ekspresyon düzeylerindeki değişiklikler RT-PCR yöntemi ile incelendi. Çalışmada sinyal iletimi ve onunla ilişkili yolaklarda rol oynayan genlerin ekspresyon düzeylerinin incelenmesinde “One Sample Test” kullanıldı ve HRAS, CCND1, CCND3 ve STAT3 genlerinin ekspresyon seviyeleri anlamlı oranda artmış bulundu. FGFR1 ve FAS genlerinin ekspresyonlarında ise istatistiksel açıdan anlamlı bir artış saptanmadı. Bu genlerle, yaş, cinsiyet, sigara kullanımı, kemoterapi, tümör derecesi ve tümörün büyüme paterninin değerlendirilmesinde “Independent Samples Test” kullanıldı ve CCND1 geninin ekspresyonu ile hastaların sigara kullanımları ve cinsiyetleri arasında anlamlı bir ilişki saptandı. Bu genlerin ekspresyonları ile tümör lokalizasyonu ve tümör evresinin değerlendirilmesinde “Anova test” kullanıldı ve aralarında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Sonuç olarak; HRAS, CCND1, CCND3 ve STAT3 genlerinin aşırı ekspresyonlarının, mesane kanseri oluşumunda ve progresyonunda rol oynayabileceği, sigara kullanımının CCND1 geninin ekspresyonu ile önemli ölçüde ilişkili olduğu ve bunun sonucunda mesane kanseri gelişimine sebep olabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler : Mesane Kanseri, HRAS , CCND1, CCND3, STAT3.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 9951

ABSTRACT

BAYRAK A. The Role Of Signal Transducer Pathways Of The Investigation In Biopsies Of Patients With Bladder Tumors. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Genetic, Thessis of PhD. İstanbul. 2012.

Bladder cancer, is the 7th most frequent cancer in the world and it accounts for 5 % of all cancers. The process of malignant transformation of the bladder is caused by the changes in the molecular pathways which maintain the normal biological conditions. Removal of the control over these pathways could lead to changes in signal transduction and abnormal regulation of the genes. The genes involved in tumor formation and progression regulate critical cellular processes such as cell cycle regulation, cell growth, cell death, and regulation of gene expression in a variety of signal transduction pathways. In this study, the expression levels of six genes involved in signal transduction pathways are investigated for a possible role in the development and progression of bladder cancer. For this purpose, in tumor tissues of 44 patients diagnosed with bladder cancer, FGFR1, HRAS, CCND1, CCND3, FAS and STAT3 gene expression levels were examined by RT-PCR method. The expression levels of genes involved in signal transduction and related pathways were analyzed by using “One Sample Test”. Expression levels of HRAS, CCND1, CCND3 and STAT3 genes were found to be significantly increased. There was no statistically significant increase in the expression of FGFR1 and FAS genes. The relation between the expression levels of these genes and age, gender, smoking, chemotherapy, tumor grade and tumor growth pattern evaluated by using “Independent Samples Test”. CCND1 gene expression showed a significant association between cigarette smoking and sex. The relation between gene expression and tumor stage and tumor localization was evaluated by using “Anova Test” and we found that there was no statistically significant relationship between them. In conclusion, over-expression of HRAS, CCND1, CCND3 and STAT3 genes may play a role in bladder cancer development and progression. Cigarette smoking is significantly associated with CCND1 gene expression and therefore it maybe implicated in the development of bladder cancer.

Key Words: Bladder cancer, HRAS, CCND1, CCND3, STAT3.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No: 9951

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mesane kanseri, dünyada en yaygın 7. kanserdir ve tüm kanserlerin %5'ini oluşturur. Her yıl yaklaşık 336.000 yeni vaka görülmektedir ve yaklaşık 179.000 kişi bu hastalıktan ölmektedir (22,95). Erkeklerde 4. sıklıkla görülen mesane kanseri, bütün tümörlerin %8'ini oluşturur, kadınlarda ise 8. sıklıkla görülür ve bütün tümörlerin %3'ünü oluşturur (48). Her yaşta görülmekle birlikte sıklıkla orta yaş ve üstü hastalığıdır. Teşhiste yaş ortalaması erkeklerde 69, kadınlarda 71'dir. Erkeklerde kadınlardan 3 kat daha sık görülür. 40 yaşından önce görülme oranı azdır, ancak sanayileşmenin artmasıyla yaş sınırı giderek aşağı inmektedir (116).

Moleküler ve patolojik çalışmalar, mesane kanserinin invaziv ve non-invaziv olmak üzere en az iki ana grup içerdiğini göstermiştir (56,122). Üroteliyal kanserlerin yaklaşık %70'i non-invaziv papiller tümörlerdir (evre Ta), nadiren ilerlerler ve iyi prognoz gösterirler. İnvaziv mesane tümörleri ise daha agresiftir ve lamina propria invazyonu (evre T1) ya da kas içine invazyon (evre T2) olarak görülürler. İnvaziv tümörlü hastalar daha kötü prognoza sahiptirler ve %50'sinin ortalama yaşam süresi 5 yıldır (107).

Mesane kanserinin malign transformasyon süreci, organizmada normal şartların devam ettirilmesinden sorumlu olan moleküler yollardaki değişikliklerden kaynaklanır (39). Bazı anahtar moleküller ve yollar, tümör oluşumu ve progresyonu sırasında önemli kritik hücresel süreçleri düzenlerler. Bunlar, hücre siklusunu düzenlenmesi, hücre büyümesi, hücre ölümü, sinyal iletimi ve gen ifadesinin düzenlenmesi gibi genetik değişikliklerden dolayı içten denetimi kaldıran ya da yabancı karsinojenik ajanlardan etkilenen beş esas süreci içerir. Ayrıca, anjiyogenezis ve tümör hücrelerinin yayılımı, iki dış süreç olarak, bitişikteki hücrelerin ve yapısal elementlerin birbirini etkilemesi ile tümörün idamesine ve ilerlemesine katkıda bulunur. Hücre yüzeyi reseptörlerinden nükleustaki transkripsiyon faktörlerine sinyal iletiminde çeşitli yollar rol oynar. Bu yolların düzenlenmesi üzerindeki kontrolün kaldırılması, sinyal iletimini değiştirir ve genlerin anormal regülasyonuna neden olur. Mesane kanserinde rol oynayan en önemli sinyal ileti yolları; Ras-Mitojen Aktive Protein Kinaz (Mitogen-Activated Protein Kinase, RAS-MAPK), Fosfolipaz C-Protein kinaz C (PLC-PKC) sinyal kaskadı, Janus

kinaz - Sinyal Transdüktörü ve Transkripsiyon Aktivatörü (JAK-STAT) yolağı, Phosphatidylinositol 3-kinaz (PI3K)-Akt yolağıdır (71).

Ras-MAPK sinyal ileti yolağı, kanser hücrelerinde yolakta yer alan genlerin mutasyonları ya da farklı ekspresyonları nedeniyle sıklıkla kontrolsüzdür (52). Bu yolağın aktive olmasına neden olan gen ailelerinden biri Fibroblast büyüme faktörü reseptörleri (FGFR)'dir. FGFR ailesi 4 hücre yüzey reseptörünü içerir. FGFR1-2-3-4. FGFR3, fibroblast büyüme faktörü için reseptördür ve büyüme sinyallerinin iletilmesinde rol oynar. Mutasyonları, düşük dereceli (low grade) Ta mesane tümörlerinin yaklaşık %70'inde bulunur ve bu tümörlerin oluşumuyla yakından ilişkilidir. Aktivasyonu, hastalığın tekrarlama riskini artırır (5,90,112). FGFR3'ün rolü mesane kanserinde çok araştırılmıştır, ancak FGFR ailesinin diğer üyelerinin etkileri ve ekspresyonları hakkında çok az şey bilinmektedir. FGFR1'in ekspresyonu mesane tümörü hücre soyunda artmış olarak bulunmuştur. FGFR1'in, proliferasyonu ve hücre yaşam süresinin artmasını indüklediği, tümör büyümesini ve yaşamını düzenlediği bildirilmiştir (107).

Sinyal iletiminde rol oynayan diğer bir etken olan RAS gen ailesi üç fonksiyonel gen içerir: Harvey RAS (HRAS), Kristen RAS (KRAS) ve Neuroblastoma RAS (NRAS). Mesane tümörlerinde RAS mutasyonlarının farklı tipleri tespit edilmiştir (75) ve bu mutasyonlar Ta mesane tümörlerinin yaklaşık %13'ünde bulunur (13). RAS proteininin disfonksiyonu, sadece RAS genindeki mutasyonlar sonucu oluşmaz, gen amplifikasyonu ya da overekspresyondan dolayı ekspresyondaki kantitatif değişiklikler, hücre çoğalması için gerekli sürekli proliferatif sinyallere yol açabilir. Çalışmalar Karsinoma İn Situ (CIS) ve yüksek dereceli (high grade) tümörlerde RAS proteininin ekspresyonunun artışı tanımlamışlardır (50). Artmış RAS m-RNA seviyesi mesane kanserinin gelişimini işaret eder (10). Bunlar arasında HRAS aktivitesi mesane kanserinin takibinde kullanılan, hastalığın ilerlemesini gösteren belirteçlerden biri olarak kabul edilir (35).

Hücre siklusu, sinyal iletimi ile yakından ilişkili bir süreçtir ve düzenlenmesi kanser gelişimi için bir ön koşul olarak görülür. Bununla birlikte bu siklusun düzenlenmesini değiştiren mekanizmalar kanser tipine göre farklılık gösterir (95). Hücre siklusu düzenlenmesinde rol oynayan genlerden biri siklinlerdir. D tip (D1, 2, 3) siklinler “başlama siklinleri” olarak adlandırılırlar ve büyüme faktörleri veya

mitojenlere yanıt olarak eksprese edilirler. Hangi tip siklin D'nin eksprese edileceği doku tipine özgüdür. Yüksek derecede korunmuş siklin ailesinin iki üyesi Siklin D1 (CCND1) ve Siklin D3 (CCND3), CDK4 ya da CDK6 subünitlerinin düzenleyicisi olarak fonksiyon görür ve bir kompleks oluştururlar, aktiviteleri hücre siklusunun G1/S geçişi için gereklidir. CCND1 geni, 11q13'e lokalizedir ve mutasyon, amplifikasyon (artma) ve overekspresyonu (ki hücre siklusu progresyonunu değiştirir) çeşitli tümörlerde sıklıkla gözlenir ve tümöröenezise katkıda bulunabilir. CCND3 geni ise 6p21'e lokalizedir ve mesane tümörlerinde deregüledir, prognostik önemi hakkında sınırlı bilgi vardır (63,95).

Janus kinaz (JAK) ailesi, çeşitli sinyal yollarına aracılık eder ve büyüme reseptörleri ve sitokinler tarafından aktive edilen bir tirozin kinaz grubudur. JAK'lar seçici olarak Sinyal Transdüktörü ve Transkripsiyon Aktivatör (STAT)'lerinin fosforilasyon yoluyla aktivasyonuna yol açar (81,103). STAT ifadenmesinin artması, insan kanserlerinde sıklıkla gösterilmiştir. Artmış STAT aktivitesinin, onkogenik transformasyonda rolü olduğu düşünülmektedir (103). Bunlar arasında 17q21.31'e lokalize olan STAT3 geninin ekspresyonunun artması, mesane kanserli hastaların yaşam sürelerinin azalmasına ve tekrarlama riskinin artmasına neden olur (71).

Tümör büyümesi, hücre proliferasyonunun artmasına ve yetersiz apoptozise bağlıdır. Özellikle apoptozise direnç, immün denetimden kaçan kanser hücrelerine yardım eder. Apoptozis, hücre ölüm reseptörleri olarak bilinen Fas (APO-1 ya da CD95 olarak ta bilinir) ve Tümör Nekroz Faktör Reseptörü-1 (TNFR-1)'in ilgili ligandları ile etkileşime girmesi sonucu indüklenir (114). FAS ve Fas Ligand (FasL) sistemi en önemli pro-apoptotik sinyallerdir, tümör gelişiminde ve progresyonunda rol oynarlar. FAS ekspresyonunun artması apoptozisi artırır, azalması ise apoptozisi azaltır ve tümör oluşumunu indükler (46,64). Tümörlerde FAS geninin ekspresyonu, prognoz tayini ve tümörlü hastanın tedavisi için önemli bir unsurdur. Mesane kanserinde azalmış ekspresyonu, kanserin evresi (stage), derecesi (grade) ve gelişmesiyle ilişkilidir (15,58).

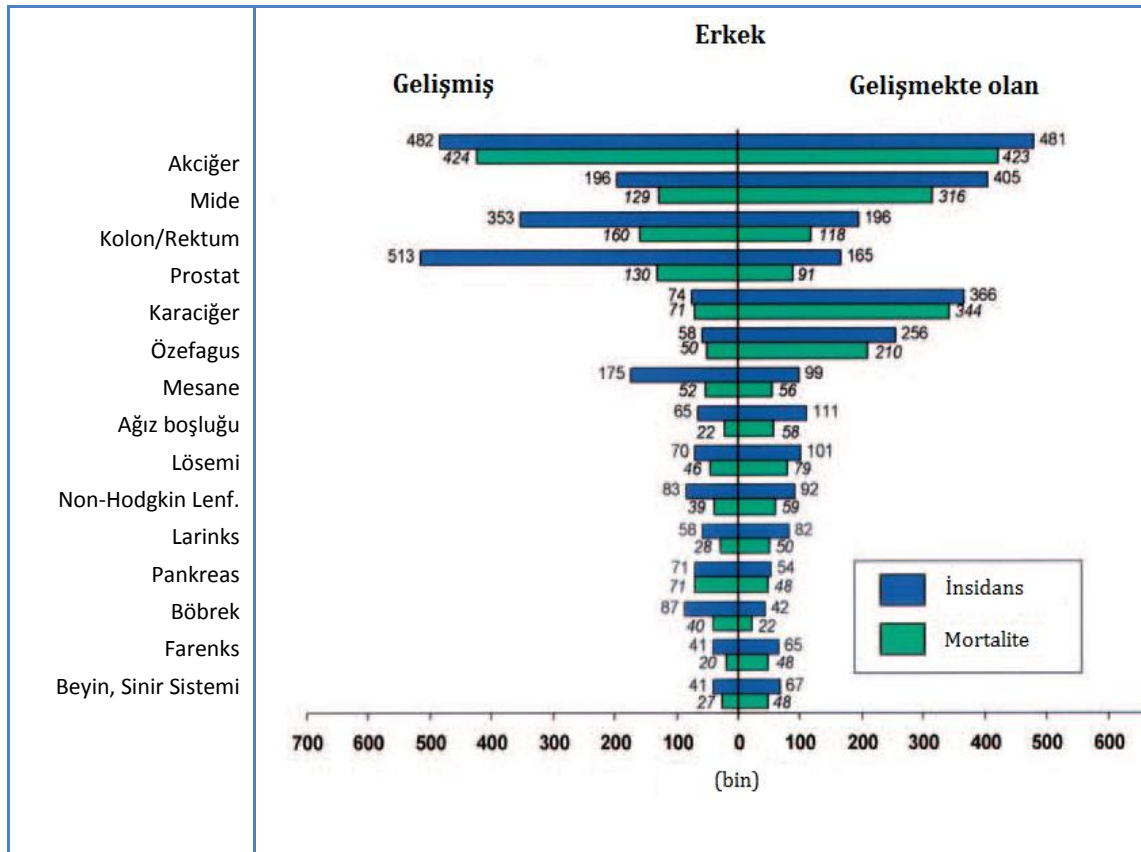
Sinyal iletim yollarında ve bu yollar ile ilişkili olarak hücre düzenlenmesinde ve apoptoziste rol oynayan genlerin ekspresyon durumları mesane tümörünün çeşitli evrelerinde farklılıklar gösterir. Bu çalışmada amacımız; mesane tümörü oluşumunda, sinyal iletim yollarında kritik roller üstlenen bu genlerin (FGFR1, HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FAS) ekspresyon durumlarının mesane

tümörü ile ilişkili olup olmadığını inceleyip, oluşum sürecine katkılarını ve prognostik değerlerini araştırmaktır. Ayrıca bu çalışmada, mesane tümörü ile araştırdığımız genler arasında cinsiyet, yaş, patolojik evreleme ve sigara kullanımı gibi faktörlerin etkisinin olup olmadığı da araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

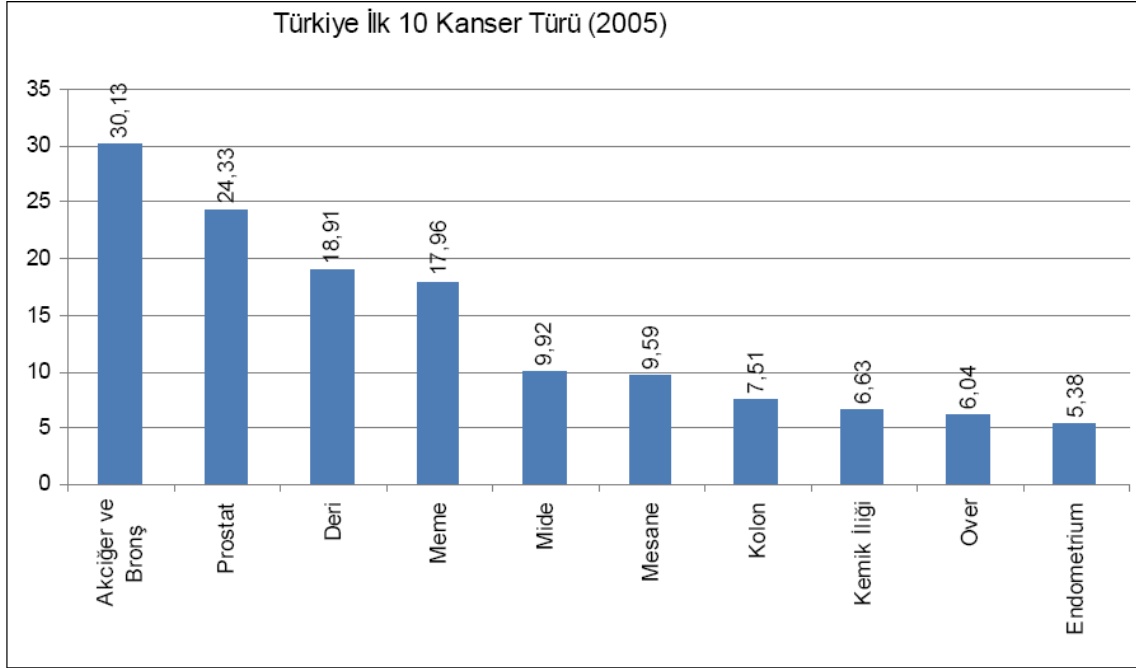
2.1. MESANE KANSERİ'NİN EPİDEMİYOLOJİSİ :

Mesane kanseri, tüm dünyada en yaygın 7.kanserdir ve her yıl yaklaşık 336.000 yeni vaka görülmektedir (22). Erkekler arasında en sık görülen 4. kanser tipidir ve kanserden kaynaklanan ölümler arasında 9. sıradadır (Şekil 2.1). 2011 yılı boyunca ABD'deki yeni kanser vakalarının 70.530'undan ve ölümlerin 14.680'inden sorumlu olduğu bildirilmektedir (48).



Şekil 2-1 : Dünyada, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelere en yaygın görülen kanserlerin erkekler arasındaki insidans ve mortalite oranları (85).

T.C.Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı'nın 2005 yılı verilerine göre mesane kanseri, Türkiye'de sık görülen kanserler arasında 6. sıradadır (Şekil 2.2). Erkeklerde en sık görülen 4. kanser iken, kadınlarda sık görülen ilk 10 kanser arasında yer almamaktadır (108).



Şekil 2-2 : Türkiye’de Mesane Kanserin diğer kanserler arasındaki yeri (108).

Mesane kanseri prevalansı gelişmiş ülkelere göre 6 kat daha fazladır. Sık nüks ile karakterize olduğundan, sistoskopi ve idrar sitolojisi ile yoğun takip gereksiniminden dolayı sağlık sistemlerinin en pahalı malignitesi haline gelmiştir (72). Her yaşta görülmekle birlikte sıklıkla orta yaş ve üstü hastalığıdır. Teşhiste yaş ortalaması erkeklerde 69, kadınlarda 71’dir. Erkeklerde kadınlardan 3 kat daha sık görülür (116). Ülkemizde ise erkek/kadın oranı 9/1-11/1 gibi çok farklıdır (47). Bu durum, erkeklerin kadınlara göre mesleki etkilenelemelere daha fazla maruz kalması ve farklı sigara alışkanlıklarından kaynaklanmaktadır (22). Üroteliyal neoplaziler genç hastalarda nadir olarak görülür. Yetişkinlere göre genç hastalar, düşük derece (grade) ve iyi prognoza sahiptirler. Yaşlı hastalarda sık görülen genetik değişiklikler genç hastalarda oldukça nadirdir (36).

Yeni teşhis edilen mesane kanseri vakalarının yaklaşık %70-80’i kas invazyonu olmayan (non-muscle) hastalıktır. Endoskopik ve intravesikal tedavilere rağmen bunların %50-70’i nüks eder ve %10-30’u kas invazyonu yapan hastalığa dönüşür. Nüks en fazla beş yılda olur (48).

Yapılan çalışmalar mesane kanserinin ortaya çıkışında %31 oranında kalıtsal faktörlerin, %69 oranında ise çevresel faktörlerin etkisi olduğunu ortaya çıkarmıştır (59).

2.2. MESANE KANSERİ'NİN ETYOLOJİSİ :

Mesane kanseri eksojen karsinojenlere maruz kalmayla ilişkili başlıca kanser türüdür (117). Gelişiminde rol oynadığı ortaya konan etyolojik faktörler şunlardır: sigara, aromatik aminler, ionize radyasyon, analjezik ilaç kullanımı, çeşitli enfeksiyon durumları (özellikle schistosomiasis), arsenik, klor, mesleki karsinojenler, kahve ve yapay tatlandırıcılar (48,116,120).

2.2.1. Sigara:

Dünyadaki ölüm nedenleri arasında en önlenebilir tek nedendir. 2030 yılına kadar 8 milyondan fazla insanın ölümünden sorumlu olacağı düşünülmektedir. Sigara içimi gelişmiş ülkelerde kanserden kaynaklanan ölümlerin %30'unun nedenidir. 4000'den fazla kimyasal içerir ve bunların bazıları da (polisiklik aromatik hidrokarbon, N-nitrosaminler, aromatik aminler, aldehytler, benzen) karsinojendir (60). Tütün kullanımı, mesane kanseri için en önemli eksojen risk faktörüdür (101). Erkek hastaların yaklaşık yarısında, kadın hastaların ise 1/3'ünde hastalık sigara kullanımına dayandırılmaktadır. Sigara dumanındaki belli bazı karsinojenler DNA hasarına ve tümör süpressör genlerin ekspresyonlarında değişimlere neden olabilmektedir (117). Sigara içenlerde içmeyenlere göre, mesane tümörü daha yüksek derece ve evrelemededir. Sigara kullanımının bırakılması, bir yıl içinde mesane kanseri riskini %40 oranında azaltır. Bununla birlikte risk gene de gelecek 25 yıl için artmış olarak kalır (116). Halen sigara içenler, içmeyenlere oranla 3 kat artmış riske sahiptirler, sigara içilen yıl sayısının fazlalığı ve günlük sigara kullanım oranı yüksek riskle bağlantılıdır. Sigara kullanmaya başlama yaşıyla mesane kanseri oluşum riski ters orantılıdır (123). Teşhisten sonra sigara kullanımına devam edilmesi hastalığın daha hızlı nüks etmesine neden olur (120). Sigara dumanına ikincil maruz kalma da mesane kanseri riskini artırır. Sigaranın mesane kanserini indükleme mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte sigaradaki kimyasallar artmış riske neden olmaktadır (123).

2.2.2. Mesleki Karsinojenler :

Mesleki etkilenme, tüm mesane kanseri vakalarının yaklaşık %20'sinin nedeni olarak görülmektedir. Anilin boyalarında bulunan aromatik aminler (benzidin, betanaftilamin vb.) ve diğer endüstriyel kimyasalların çoğunun mesane kanserine neden olduğu çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (38,91). Mesleki üriner mesane kanseri,

kuaförlerde, kuru temizleme, boya, vernik, tekstil, kağıt, lastik, kimya ve deri endüstrisi çalışanlarında görülmektedir. Mesleki karsinojenlere maruz kalma ile klinik tanı arasındaki latensi dönemi, kümülatif doz ve 30-50 yıl arası maruz kalma süresi ile ilişkilidir (75).

Yapılan bir çalışmada, 10 yıl ve daha fazlasında saç boyasına mesleki maruz kalan kuaförlerde, kalmayanlara göre mesane kanseri için riskin 5 kat artmış olduğu tespit edilmiştir (34).

2.2.3. Analjezik Kullanımı :

Bileşiminde özellikle fenasetin içeren analjeziklerin mesane kanseri oluşumuyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu gözlem, steroid olmayan anti-enflamatuar ilaçlar ve asetaminofen kullanımı ile ilgili olarak ortaya atılmıştır (13). Bunun aksine bazı çalışmalar ise asetaminofen içeren steroid olmayan anti-enflamatuar ilaçları azalmış riskle ilişkili bulmuşlardır (35).

2.2.4. Kronik Enfeksiyonlar :

Üriner sistem enfeksiyonları, gonore, sifilis, insan papiloma virüsü (HPV) gibi çeşitli enfeksiyon durumları, mesane kanseri için potansiyel risk faktörleri olarak bildirilmektedir. Bunlar arasında sadece Schistosomiasis mesane kanseri ile ilişkili bulunmuştur. Mesanede kronik schistosomal enfeksiyonu, kanser gelişimi için özellikle de skuamöz hücreli karsinoma için oldukça yüksek risk oluşturur (1). Ayrıca üriner katater takılması, mesane taşları gibi kronik iritasyona neden olan durumlarda da skuamöz hücreli karsinoma için yüksek risk söz konusudur (98).

2.2.5. Radyasyon :

Pelvik radyasyona maruz kalma durumunda mesane kanseri için artmış risk görülür. Prostat kanseri için radyoterapi alan hastalarda mesane kanserine yakalanma riski 1,5 kat artmış bulunur. Ayrıca bu durumdaki hastalarda mesane kanseri yüksek derecede gelişir ve daha hızlı kas invazyonu yapan hastalığa dönüşüm vardır (94).

2.2.6. Genetik Yatkınlık :

Mesane kanserinde aile öyküsü bilinen bir risk faktörüdür. Ancak yeni çalışmalar aile öyküsünün, diğer kanserlerde mesane kanserine göre daha etkili olduğunu ortaya çıkarmıştır. Aile hikayesi mesane kanserlerinde daha çok sağkalım

süresi üzerine etkilidir (41). Mesane kanseri vakalarının çoğunda kalıtsallık için çok az kanıt olmasına rağmen, iki farklı genetik patern içeriği öne sürülmüştür. Bunlardan biri otozomal dominant paterndir ve çok az sayıda vakada görülmüştür. Diğeri ise multifaktöriyel ve poligenik paterndir, genetik ve çevresel etkileşimi bir arada içerir (105).

2.3. MESANE KANSERİ’NİN SINIFLANDIRILMASI :

Mesaneden kaynaklanan kanserlerin büyük bir çoğunluğu (%90) Transizyonel Hücreli Karsinoma (TCC), yaklaşık %5’i skuamöz hücreli karsinoma, %2’den azı adenokarsinoma ve geri kalanı da diğer nadir subtiplerdir (44). TCC’ler histolojik görünüm ve klinik özelliklerine göre iki grupta kategorize edilirler. Bu tümörlerin yaklaşık %80’i yüzeysel (superficial), papiller lezyonlardır. Yüksek oranda nüks etme eğiliminde olan bu lezyonlar, nadiren malign hastalığa progresse olurlar. İkinci histolojik subgrup, flat lezyonlarla karakterizedir, sıklıkla yüksek dereceli, invaziv tümörlerdir. Hastalık progresyonuyla ve kötü sağkalım süresiyle ilişkilidirler (89,121).

Mesane tümörlerinde sınıflandırma Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından histolojik ve morfolojik açıdan farklı şekillerde yapılmıştır. Morfolojik açıdan 2004 yılı sınıflandırması Tablo 2.1’de gösterilmektedir.

Tablo 2-1 : Mesane tümörlerinin WHO 2004 morfolojik sınıflandırılması (74).

➤ Normal
➤ Hiperplazi
• Flat(düz) hiperplazi
• Papiller hiperplazi
➤ Atipik flat(düz) lezyonlar
• Reaktif (enflamatuvar) atipi
• Önemi bilinmeyen atipi
• Displazi (düşük-dereceli intra-üretyal neoplazi)
• Karsinoma in situ (yüksek-dereceli intra-üretyal neoplazi)
➤ Papiller neoplazmalar
• Papilloma
• Inverted papilloma
• Düşük malign potansiyelli papillar üretyal neoplazi
• Papillar karsinoma, düşük dereceli
• Papillar karsinoma, yüksek dereceli
➤ İnvaziv neoplazmalar
• Lamina propria invazyonu
• Muscularis propria invazyonu

Histolojik olarak mesane tümörlerinin WHO 2004 yılı sınıflandırılması ise Tablo 2.2’de görülmektedir.

Tablo 2-2 : Üriner sistem tümörlerinin WHO 2004 histolojik sınıflandırılması (99).

Üroteliyal Tümörler	Nöroendokrin tümörler
İnfiltratif üroteliyal karsinoma • <i>skuamöz diferansiasyonlu</i> • <i>glanduler diferansiasyonlu</i> • <i>trofoblastik diferansiasyonlu</i> • <i>Nested</i> • <i>Mikrokistik</i> • <i>Mikropapiller</i> • <i>Lenfoepitelioma benzeri</i> • <i>Lenfoma benzeri</i> • <i>Plazmasitoid</i> • <i>Sarkomatoid</i> • <i>Dev hücreli</i> • <i>Undifferansiye</i>	• <i>Küçük hücreli karsinom</i> • <i>Karsinoid</i> • <i>Paraganglioma</i>
Non-invaziv üroteliyal neoplaziler • <i>Üroteliyal karsinoma in situ (CİS)</i> • <i>Non-invaziv papiller üroteliyal karsinoma, yüksek dereceli</i> • <i>Non-invaziv papiller üroteliyal karsinoma, düşük dereceli</i> • <i>Non-invaziv papiller üroteliyal neoplazi, düşük malign potansiyelli</i> • <i>Üroteliyal papilloma</i> • <i>Inverted üroteliyal papilloma</i>	Melanositik tümörler • <i>Malign melanom</i> • <i>Nevüs</i>
Skuamöz neoplaziler • <i>Skuamöz hücreli karsinoma</i> • <i>Verrüköz karsinoma</i> • <i>Skuamöz hücreli papilloma</i>	Mezenkimal tümörler • <i>Rabdomyosarkom</i> • <i>Leiomyosarkom</i> • <i>Anjiosarkom</i> • <i>Osteosarkom</i> • <i>Malign fibröz histiositom</i> • <i>Leiomyom</i> • <i>Hemanjiom</i> • <i>Diğer</i>
Glandüler neoplaziler • <i>Adenokarsinoma</i> - <i>Enterik</i> - <i>Musinöz</i> - <i>Taşlı yüzük hücreli</i> - <i>Berrak hücreli</i> • <i>Villöz adenom</i>	Hematopoetik ve lenfoid tümörler • <i>Lenfoma</i> • <i>Plazmasitom</i>
	Diğer tümörler • <i>Skene, Cowper and Littre glandlarının karsinomları</i> • <i>Metastatik tümörler ve diğer organlardan uzanan tümörler</i>

2.3.1. Normal Ürotelyum :

Normal ürotelyum, yüzeysel, ara ve bazal hücrelerden oluşan çok tabakalı bir epitelyumdur. Epitel hücreleri farklı görünümündedirler. Yüzey hücreleri, şemsiye hücreler olarak da bilinirler ve nükleer genişleme yapabilirler. Orta hücreler, bazal membranın uzun eksenine dik konumlanmışlardır. Çekirdekleri ovaldir, sitoplazmaları geniştir ve glikojen bakımından zengindir. Bazal hücreler ise küçük ve kübiktirler (74).

Normal ürotelyumun kalınlığı mesanenin durumuna göre değişir. Açıldığı zaman 2-4 hücre, büzüldüğü zaman ise 5-7 hücreden oluşan katmanlı bir yapıya sahiptir (74).

2.3.2. Flat Üroteliyal Hiperplazi :

Flat üroteliyal hiperplazi, oldukça kıvamlı bir ürotelyum içerir ve hücre katmanlarının sayısında artışla karakterizedir (genellikle 10 hücreden daha fazla) (74). İzole bir lezyon olarak hiperplazi, premalign bir durum değildir. Sıklıkla düşük derece papiller üroteliyal tümörlerle birlikte bulunur (120). Yapılan genetik çalışmalar, vakaların %50'sinde, flat üroteliyal hiperplazi ve ona eşlik eden üroteliyal karsinoma arasında klonal bir ilişki olduğunu iddia etmektedir. Düşük ya da yüksek derece üroteliyal karsinomayla ilişkili üroteliyal hiperplazili hastalarda yapılan bir çalışmada, FGFR3 mutasyonu, hiperplazilerin %50'sinde düşük derece papiller üroteliyal karsinomayla beraber tanımlanmıştır. Bundan dolayı moleküler datalar, mesane kanserli hastalarda görülen üroteliyal hiperplazi morfolojili bir lezyonun aslında bir preneoplastik lezyon olabileceğini söylemektedirler (110).

2.3.3. Atipik Flat Lezyonlar :

2.3.3.1. Reaktif Atipi:

Reaktif atipide, akut ya da kronik inflamasyonlu epitelyumdan kaynaklanan nükleer anomaliler görülür. Bu nükleer anomaliler, ürotelyal onarıma ya da yenilenmeye bağlanabilir. Ürotelyumun kalınlığı ve hücrelerin polaritesi korunmuştur (74,120).

2.3.3.2. Önemi Bilinmeyen Atipi :

Önemi bilinmeyen atipi, inflamasyon derecesi ile orantısız olarak, reaktif atipideki değişikliklere benzer nükleer anomalili lezyonları kapsar. Bu lezyonlar,

olumsuz sonuçlar ile ilişkili değildirler ve makul reaktif değişiklikler ile tanısal olarak birleştirilebilirler (120).

2.3.3.3. Üroteliyal Displazi (düşük-derece intra-üroteliyal neoplazi) :

Üroteliyal displazide ürotelyumun kalınlığı genellikle normaldir (4-7 katman), ancak artabilir ya da azalabilir. Displastik lezyonlar sıklıkla üroteliyal neoplazili mesanelerde görülür ve üroteliyal neoplazinin olmadığı hastalarda yaygın değildirler. Bazı genetik anomaliler displazi ile karsinoma in situ (CIS) arasında ortaktır, bu nedenle displazi bir prekürsör lezyon olarak düşünülebilir. Morfolojik olarak displastik lezyonu olanlarda sıklıkla anöploidi, del(9q) ve p53 mutasyonu görülür. Sonuç olarak displazi, genetik olarak stabil olmayan bir neoplastik süreçtir (62).

2.3.3.4. Karsinoma in situ (yüksek-derece intra-üroteliyal neoplazi) :

Karsinoma in situ (CIS), histolojik olarak ciddi sitolojik atipi ile karakterizedir (74). CIS'te bir yüzeysel lezyondur. Bununla birlikte tipik olarak yüksek derece displazi ve progresyon riskinin artışıyla ilişkilidir (89). Primer ya da izole CIS, 5 yılda %28 progresyon riskine sahiptir. Genellikle yüksek dereceli üroteliyal karsinomaya sekonder olarak gelişen CIS'te 10 yılda progresyon riski %40-59'dan azdır (61,78). CIS lezyonlarının %80 kadarında p53 mutasyonu ve 9.kromozomun delesyonu görülür (40), FGFR3 mutasyonları çok yaygın değildir (7).

2.3.4. Papiller Neoplazmalar :

2.3.4.1. Papilloma :

Üroteliyal papilloma, normal kalınlık ve sitolojideki ürotelyum ile kaplı merkezi bir fibrovasküler çekirdekli ayrı bir papiller büyüme olarak tanımlanır. Bu genellikle küçük izole büyüme olarak ortaya çıkan nadir benign bir durumdur ve genç hastalarda görülür. Progresyon göstermeyen, düşük nüks oranlı benign bir lezyon olarak kabul edilir (62). Papillomaların %75'inde FGFR3 mutasyonu görülür (111).

2.3.4.2. Inverted papilloma :

Inverted papilloma, inverted bir büyüme modeline sahip benign üroteliyal tümörleri tanımlamak için kullanılır. Histolojik olarak inverted papilloma, normal ürotelyum tarafından düz bir zemin kaplamasıyla kaplanmıştır. Üroteliyal hücrelerin endofitik kordları, yüzey epitelinden altındaki lamina proprianın içine doğru büyük

ölçüde katlanmıştır. Muskular mesane duvarının içine gelmemiştir. Inverted papilloma tamamen alındığı zaman, çok düşük bir tekrarlama riskine sahiptir (62).

2.3.4.3. Düşük malign potansiyelli papillar üroteliyal neoplazi (PUNLMP) :

Böyle bir neoplazma, hücre kalınlığına bakmaksızın, minimal nükleer atipi ve minimal yapısal anomalili düzenli dizilmiş hücrelerden oluşan bir papiller üroteliyal lezyondur. Papillayı kaplayan ürotelyum, flat hiperplazidekine benzer. Yaygın prognostik bilgiye göre PUNLMP, düşük dereceli papiller karsinomaya göre daha düşük tekrarlama ve progresyon oranına sahiptir. Tümörün tekrarlama riski yaklaşık %35, evre progresyonu riski yaklaşık %4 ve tümörle ilgili ölüm oranı da yaklaşık %2'dir (62).

2.3.4.4. Papillar karsinoma, düşük derece :

Düşük derece papillar karsinoma, yapısal farklılıkları kolayca tanınabilir, genel görünümü düzenli bir papiller üroteliyal lezyondur. Papillayı kaplayan ürotelyum, flat hiperplazidekine benzer. Tümörün tekrarlama riski yaklaşık %50, evre progresyonu riski yaklaşık %10 ve tümörle ilgili ölüm oranı da yaklaşık %5'tir (62).

2.3.4.5. Papillar karsinoma, yüksek derece :

Yüksek derece papillar karsinoma, hem yapısal hem de sitolojik olarak anomalili, genel görünümü çoğunlukla dağınık bir papiller üroteliyal lezyondur. Papillayı kaplayan ürotelyum, flat CIS'tekine benzer (74). Yüksek derece papillar karsinoma, %15 ile %40 arasında değişen yüksek progresyon riskine sahiptir ve tanı sırasında invaziv hastalıkla ilişkilidir (42,92).

2.3.5. İnvaziv neoplazmalar :

İnvaziv tümörlü hastalar, metastaz ve ölüm için yüksek riske sahiptirler (89).

2.3.5.1. Lamina propria invazyonu :

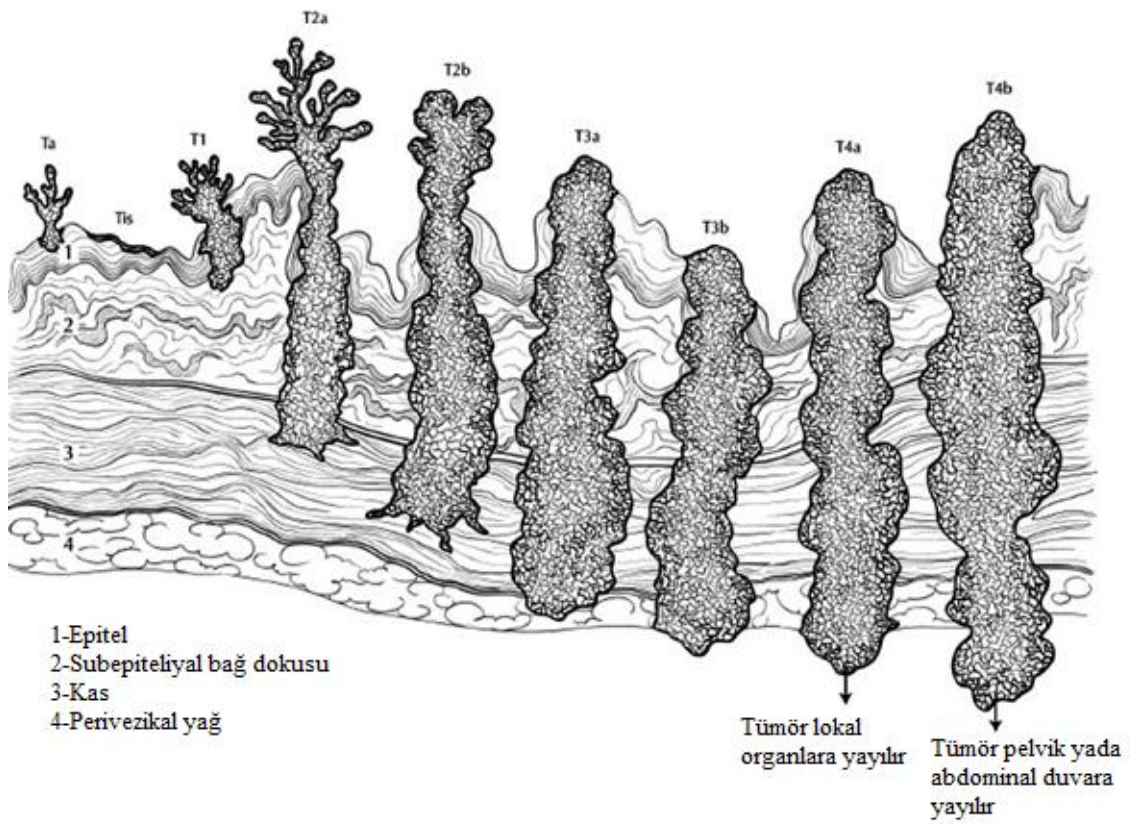
Lamina propria invazyonu, lamina propria içinde kümelenmiş ya da tek tek bulunan hücrelerin varlığıyla karakterizedir. İnvazyon derecesi hastanın prognozuyla ilişkilidir (29).

2.3.5.2. Muskularis propria invazyonu :

Muskularis propria invazyonu, tümör infiltrate kalın düz kas demetleri şeklinde görüldüğü zaman teşhis edilir (29).

2.4. MESANE KANSERİ'NDE EVRELENDİRME :

Patolojik açıdan mesane kanserleri; primer tümörün evresi (T), lenf düğümlerinin statüsü (N) ve metastatik lokalizasyonlarına (M) göre evrelendirilir (48). Mesane tümörlerinin evrelendirilmesinde 1997 yılında International Union Against Cancer (UICC)'in önerdiği TNM evreleme sistemi kullanılmaktadır. 2009 yılı TNM evrelendirme sistemi Tablo 2.3'de (99), tümör invazyonunun kapsamını gösteren resim ise Şekil 2.3'de (48) görülmektedir.



Şekil 2-3 : Primer mesane kanserinin kapsamı (48).

Mesane kanserinin pT0 evresi insidansı yaklaşık %10'dur. Bu evredeki hastaların klinik sonuçları çeşitlilik gösterir (21). pT0 karsinomalı hastalar üzerinde yapılan en geniş serili çalışmaya göre; 5 yıl nüks olmama oranı %84, spesifik kanser oranı %88, genel sağkalım oranı %84'tür (51).

Tablo 2-3 : Mesane kanseri için TNM sınıflandırma sistemi (99).

- Primer Tümör (T)			
TX	- Primer tümör değerlendirilemiyor		
T0	- Primer tümör kanıtı yok		
Ta	- Non-invaziv papiller karsinom		
Tis	- Karsinoma in situ “flat tümör”		
T1	- Tümör subepitelyal bağ dokusunu (lamina propria) invaze etmiş		
T2	- Tümör kas tabakasını (muscularis propria) invaze etmiş		
T2a	- Tümör yüzeysel kas tabakasını (iç yarı) invaze etmiş		
T2b	- Tümör derin kas tabakasını (dış yarı) invaze etmiş		
T3	- Tümör perivezikal dokuları invaze etmiş		
T3a	- Mikroskopik olarak		
T3b	- Makroskopik olarak (ekstra vezikal kitle)		
T4	- Tümör mesane dışına (prostat, uterus, vajina, pelvis ve karın duvarı) yayılmış		
T4a	- Tümör prostat, uterus ya da vajinayı invaze etmiş		
T4b	- Tümör pelvis veya abdominal duvar invaze etmiş		
- Bölgesel Lenf Nodları (N)			
NX	- Lenf nodları değerlendirilemiyor		
N0	- Lenf nodu metastazı yok		
N1	- Tek bir lenf nodu metastazı, en büyük çapı ≤2 cm.		
N2	- Tek bir lenf nodu metastazı, çapı >2 cm. ve ≤5 cm. veya çok sayıda lenf nodu metastazı, en büyük çapı ≤5 cm.		
N3	- En büyük çapı >5 cm olan lenf nodu metastazı		
-Uzak Metastaz (M)			
M0	- Uzak metastaz yok		
M1	- Uzak metastaz var		
ANATOMİK EVRE / PROGNOSTİK GRUP			
Evre 0a	Ta	N0	M0
Evre 0is	Tis	N0	M0
Evre I	T1	N0	M0
Evre II	T2a	N0	M0
	T2b	N0	M0
Evre III	T3a	N0	M0
	T3b	N0	M0
	T4a	N0	M0
Evre IV	T4b	N0	M0
	Any T	N1-3	M0
	Any T	Any N	M1

pTa ve Tis karsinoma, invaziv olmayan papiller karsinoma olarak tanımlanır ve lamina propriaya invazyon olmaması ile pT1 karsinomadan ayırt edilir, mukozayla sınırlı lezyonlar içerirler (21,48). Tis (CIS), tedavisiz 5 yıllık süreçte çok yüksek progresyon ve nüks oranı olan flat, yüksek dereceli bir invaziv olmayan mesane kanseridir (48).

pT1 karsinoma, lamina proprianın içine bazal membranın aşağısına invazyon ile tanımlanır. pT2 de ise, muskularis proprianın içine invazyon söz konusudur. Organa sınırlı hastalık (pT2a ve pT2b), perivezikal dokuları invaze etmiş (pT3) olana göre daha iyi bir prognoza sahiptir (48). pT4 karsinomada ise, tümör mesane dışını (prostat, uterus, vajina, pelvis ve karın duvarı) invaze etmiştir (21). Çalışmalar, hastalığın evresi yükseldikçe genel sağkalım oranının kötü olduğunu göstermiştir (48).

2.5. MESANE KANSERİ'NİN TANISI :

2.5.1. Bulgular ve Semptomlar:

Mesane kanserinin en sık görülen semptomu ağrısız hematüridir ve hastaların %85'inde görülür. Sistoskopi ile mesane kanseri olduğu tespit edilen tüm hastalarda idrar örnekleri test edildiğinde en azından mikrohematürilerinin olduğu tespit edilebilir (68).

Mesane kanseri tanısı, çoğu hastalarda hematüri saptanmasıyla konulmaktadır. Hematürinin dikkatlice değerlendirilmesi, kanamanın lokalizasyonunu tespit etmek açısından önemlidir. Bu nedenle belirgin hematüri hastalarda, fleksible sistoskopi ile yüksek mesane kanseri riski açısından modern muayeneler zorunlu olmaktadır. Bununla birlikte hematüri aralıklı olabilir, bu yüzden bir ya da iki örnekten elde edilen negatif sonuç, mesane kanseri riskini bertaraf etmez (55).

50 yaş üstü hastalar, makroskopik olduğu kadar mikroskopik hematüri içinde değerlendirilmelidir. Zira, 50 yaş üstü semptomatik hematüri hastalarda malignite insidansı %10.5 iken, asemptomatik hematüri hastalarda %5'tir (102).

Mesane kanserinin en yaygın ikincil semptomları; mesane iritabilitesi, sık ve acil idrara çıkma ve dizüridir (ağrılı idrar yapma) ve genellikle diffüz CIS veya invaziv mesane kanseri ile ilişkilidir (55).

Mesane kanserinin diğer semptomları ise; alt ekstremitelerde ödem, pelvik kitle ve üreteral obstrüksiyona bağlı ağrıdır. Çok nadir olarak bazı hastalarda, metastaz nedenli oluşan abdominal ağrı ya da kemik ağrısı ve kilo kaybı gibi ilerlemiş hastalık semptomları görülebilir. Bütün bu semptomlar mikroskopik ya da makroskopik hematüri görülmeden ortaya çıkmaz (55).

2.5.2. Tanı Yöntemleri :

Mesane kanserli hastaların çoğunda hematüri görülür. Bu hastalarda mesane tümörü tespit edilmeden önce hematürinin değerlendirilmesinde sıklıkla İntravenöz Ürografi (IVU) yapılır (55).

Sistoskopi, mesane tümörlerinin kesin tanısında altın standart değerinde bir yöntemdir. Yüzeyel tümörlerde tanının yanında, rezeksiyon ile birlikte tedavi imkanını vermektedir (80). Sistoskopi ile tümörün sayısı, büyüklüğü, şekli ve lokalizasyonu kolaylıkla tespit edilebilmektedir. Tümör yüzeyinin ve bulunduğu yerin karakteristik özelliklerinin görülmesi, mesane kanserinin sınıflandırılmasını sağlar. Ürotelial tümörlerin yaklaşık %70'i papiller, %10'u nodüler, %20'si ise miks tiptir (55).

Mesane kanserinde evrelendirmede, perivezikal dokuyu görüntülemek için Bilgisayarlı Tomografi (CT) ve Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI) kullanılır. Fakat elde edilen doğru evreleme değerleri %40 ile %98 arasında değişkendir. MRI, CT'ye göre daha doğru evrelendirme değeri vermektedir. Günümüzde bu iki yöntemde metastazların varlığının değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (6,83,115).

2.6. MESANE KANSERİNİN TEDAVİSİ:

Yüzeyel mesane lezyonlarının tanı ve tedavisindeki esas yöntem endoskopik olup, genellikle sistoskopi ve Transüretral Rezeksiyon(TUR) ile yapılmaktadır. İntravesikal tedaviler rezidüel hastalıkta ya da hastalık profilaksisinde tamamlayıcı tedavi olarak faydalı olmaktadır. Sistoskopi, yüzeyel hastalığın tanısını doğru koymada ve tedavide oldukça önemlidir. Yüzeyel mesane kanserlerinde, TUR yapılmasını takiben %50-70 nüks etme ve %10-20 invazyon olasılığı bulunmaktadır. Buna karşı intravesikal Bacillus-Calmette-Guerin (BCG) veya immünoterapi ile tedavi uygulanmalıdır. T1 tümörler veya CIS saptananlar progresyon ve nüks açısından daha

yüksek bir risk altında olup, TUR yapılmasının ardından intravesikal kemoterapi tedavisi de görmelidir. Daha invaziv tümörleri (T2,T3) taşıyan hastalara ise radikal sistektomi, kemoterapi ve radyoterapi kombinasyonlarını içeren daha agresif tedaviler uygulanmalıdır (28). Mesane tümörünün tedavi protokolü Tablo 2.4’de özetlenmiştir.

Tablo 2-4 : Mesane tümörünün tedavi protokolü (116).

Stage	Tedavi	Açıklama
CIS	İntravesikal BCG**+TUR**	Standart tedavi
	Sistektomi	Inkomplet cevap/nüks olan hastalarda
Ta-T1	TUR	Düşük risk grubu için
	TUR+intravesikal kemoterapi	Orta risk grubu için
	TUR+ İntravesikal BCG	Yüksek risk grubu için
	Radikal sistektomi	BCG başarısızlığında,multiple nükste,yüksek grade tümörlerde,CIS eşliğinde
T2-T4a	Radikal sistektomi	Standart tedavi,%68’inde nüksüz 5 yıllık sağkalım
	Eksternal ışın radyoterapisi	Sistektomi için uygun olmayan durumlarda
	Multimodal tedavi	TUR+Kemoterapi+Radyoterapi
	Neoadjuvan kemoterapi+Radikal sistektomi	%5-7 geliştirilmiş sağkalım
T4b	Radikal sistektomi	Geçici
N+	Radikal sistektomi+ Neoadjuvan kemoterapi	-
M+	Kemoterapi	-

* İntravesikal BCG: Bacillus-Calmette-Guerin uygulaması. **TUR: Transüretral rezeksiyon.

2.7. MESANE KANSERİ’NİN TÜMÖR BELİRTEÇLERİ :

Tüm kanserlerde olduğu gibi mesane kanserlerinin de prognozu ve klinik takibi, kanserin ilk teşhis edildiği safhaya bağlıdır. Kanser dikkatli takibi sadece erken teşhis değil aynı zamanda iyi bir histolojik değerlendirme gerektirir ve doğru safha tespiti yaşam süresini etkiler. Günümüzde teşhis ve görüntüleme testlerinin sınırlı ve çok yüksek maliyetli olması sebebiyle mesane kanseri için alternatif belirteçler araştırılmıştır. İdeal bir biyobelirteç; daha erken teşhise olanak tanımalı, daha hassas, spesifik ve güvenilir olmalı, kolay uygulanabilmeli ve düşük maliyetli olmalıdır (87). Mesane kanserinin teşhis ve takibinde kullanılabilecek olan biyobelirteç testleri Tablo 2.5’te özetlenmiştir (48).

Tablo 2-5 : Mesane tümörünün teşhis ve takibinde kullanılan tümör biyobelirteçleri (48).

BELİRTEÇ	HEDEF	FDA ONAYI	AÇIKLAMALAR
İdrar sitolojisi	Üroteliyal hücreler	Var	Düşük grade hastalıklar için düşük duyarlılık
FISH	3,7,17. kromozomlar ve 9p21	Var	Pozitif test için standardizasyon kriterleri eksik; pahalı
NMP-22	Nuklear mitotik protein, replikasyon boyunca kromatin düzenlenmesinde rol oynar	Var	Sonuçlar, benign ürolojik durumlarca etkilenebilir
BTA- Stat	Komplement faktor H ile ilişkili protein	Var	Özgüllüğü, benign ürolojik durumlu hastalar arasında düşük
BTA-Trak	Komplement faktor H ile ilişkili protein	Var	BTA stat ile aynı
Floresan immunositokimya	Sülfatlanmış musin glikoproteinler ve glikosile karsinoembriyonik antijen	Yok	Verilerin yorumlanması için ciddi bir deneyim ve slaytları incelemek için zamana ihtiyaç var
BLCA-4	Nükleer mitotik protein	Yok	Mesanenin hem normal bölgelerinde hem de tümörde bulunabilir
BLCA-1	Nükleer mitotik protein	Yok	Sadece mesanenin tümörlü bölgelerinde ekspresse oluyor
AURKA (aurora kinaz A)	Mitozun regülasyonunda anahtar kodlayan gen	Yok	AURKA aşırı ekspresyonu, üroteliyal hücrelerde anoploidilere neden olabilir
CXCL1	CXC kemokin ailesinin bir parçasında salgılanan protein	Yok	CXCL1, tümörögenезis ile ilişkili olabilir, invaziv mesane kanserinde artmış miktarda olabilir
Matriks metalloproteinaz (MMP) kompleksleri	Çinko bağımlı endopeptidaz	Yok	MMP'ler, anjiyogeneziste ve tümör büyümesinde düzenleyicidirler
FGFR3	Tirozin kinaz reseptör ailesinin bir parçasındaki glikoprotein	Yok	FGFR3 mutasyonları, kasa invaze olmayan mesane kanserleri ile ilişkilidir
Metilasyon belirteçleri	Bir gen lokusunun metilasyonu	Yok	DNA dizisinin promotör hipermetilasyonu, tümör süpresör genlerin sessizleşmesi için bir mekanizmadır

Kansere spesifik biyobelirteçler genellikle, teşhise, prognoza ve öngörü değerine göre sınıflandırılır:

2.7.1. Teşhise göre kanser biyobelirteçleri:

Klinik teşhisten önce bir tümörün varlığını ya da yokluğunu gösterebilen belirteçlerdir. Böyle biyobelirteçler, görüntüleme testi olarak, tedaviye yanıtı değerlendirmede ya da rutin olarak teşhiste kullanılabilirler.

2.7.2. Prognostik kanser biyobelirteçleri:

Klinik sonuçlarla (nüks ve genel sağkalım) ilişkili biyobelirteçlerdir. Teşhise yardımcı oldukları gibi kemoterapi ve radyoterapinin sonuçlarını belirlemede kullanılırlar.

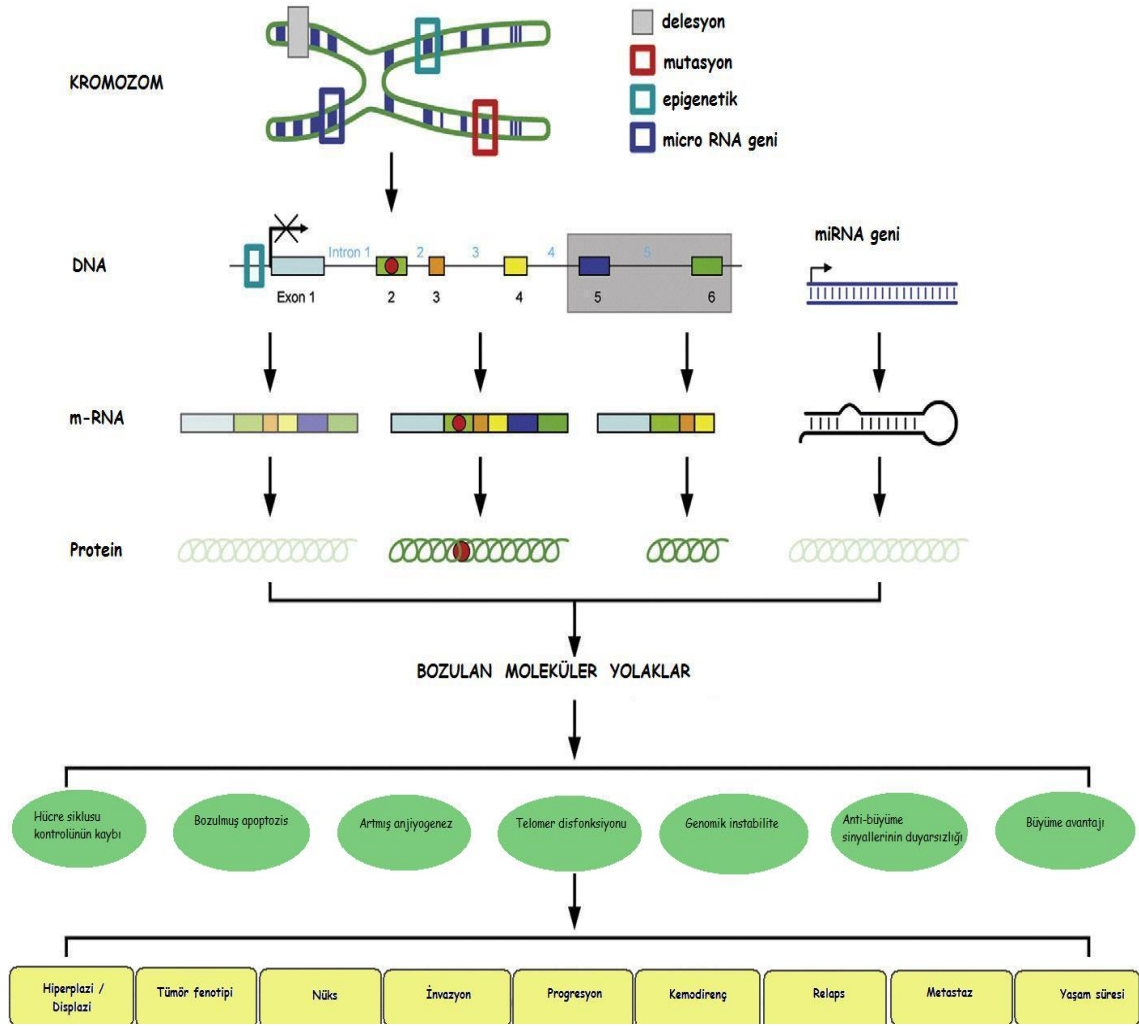
2.7.3. Prediktif kanser biyobelirteçleri:

Diğer belirteçlerin aksine tedavi yöntemleri arasında daha spesifik seçimler yapmakta kullanılırlar (67).

Mesane tümör biyobelirteçleri arasında; idrar sitolojisinin özgünlüğü %78-100, duyarlılığı %12-85; BTA-Stat testinin özgünlüğü %52-93, duyarlılığı %24-89; BTA-Trak testinin özgünlüğü %48-95, duyarlılığı %51-79; NPM22'nin özgünlüğü %46-88, duyarlılığı %50-91; floresan immünositokimya kullanımının özgünlüğü %62-79, duyarlılığı %63-85; FISH yönteminin kullanımının özgünlüğü %65-96, duyarlılığı %69-96 olarak belirtilmiştir (87).

2.8. MESANE KANSERİ'NİN MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ :

Çok aşamalı karsinogenezis, birbirini takip eden genetik değişikliklerin birikmesi, normal hücresel proliferasyonu ve farklılaşmayı kontrol eden düzenleyici devrenin aşamalı bir şekilde bozulmasıyla gerçekleşir. Tümörögenenezis, altında moleküler değişikliklerin yattığı çok aşamalı kompleks bir süreçtir. Bu değişikliklerin her biri hücrelere çeşitli yetenekler kazandırır (Şekil 2.4). Örneğin; kendi kendine büyüme, anti-büyüme sinyallerine duyarsızlık, apoptozisten kaçma, sınırsız replikasyon potansiyeli, sürekli anjiyogenezis, invazyon ve metastazın gelişmesi (39).



Şekil 2-4 : Mesane tümörünün moleküler mekanizması (22).

Karsinogenezi ana yollar; tümör süpresör genlerin inaktivasyonu ve/veya onkogenlerin aktivasyonunu içerir. Çalışmalar, TCC'lerin farklı yollar aracılığıyla geliştiğini ve sıklıkla farklı biyolojik ve morfolojik özelliklerin çeşitliliğini sergilediğini göstermiştir (122).

TCC'deki moleküler yollar genel hatlarıyla 4 farklı grupta sınıflandırılır:

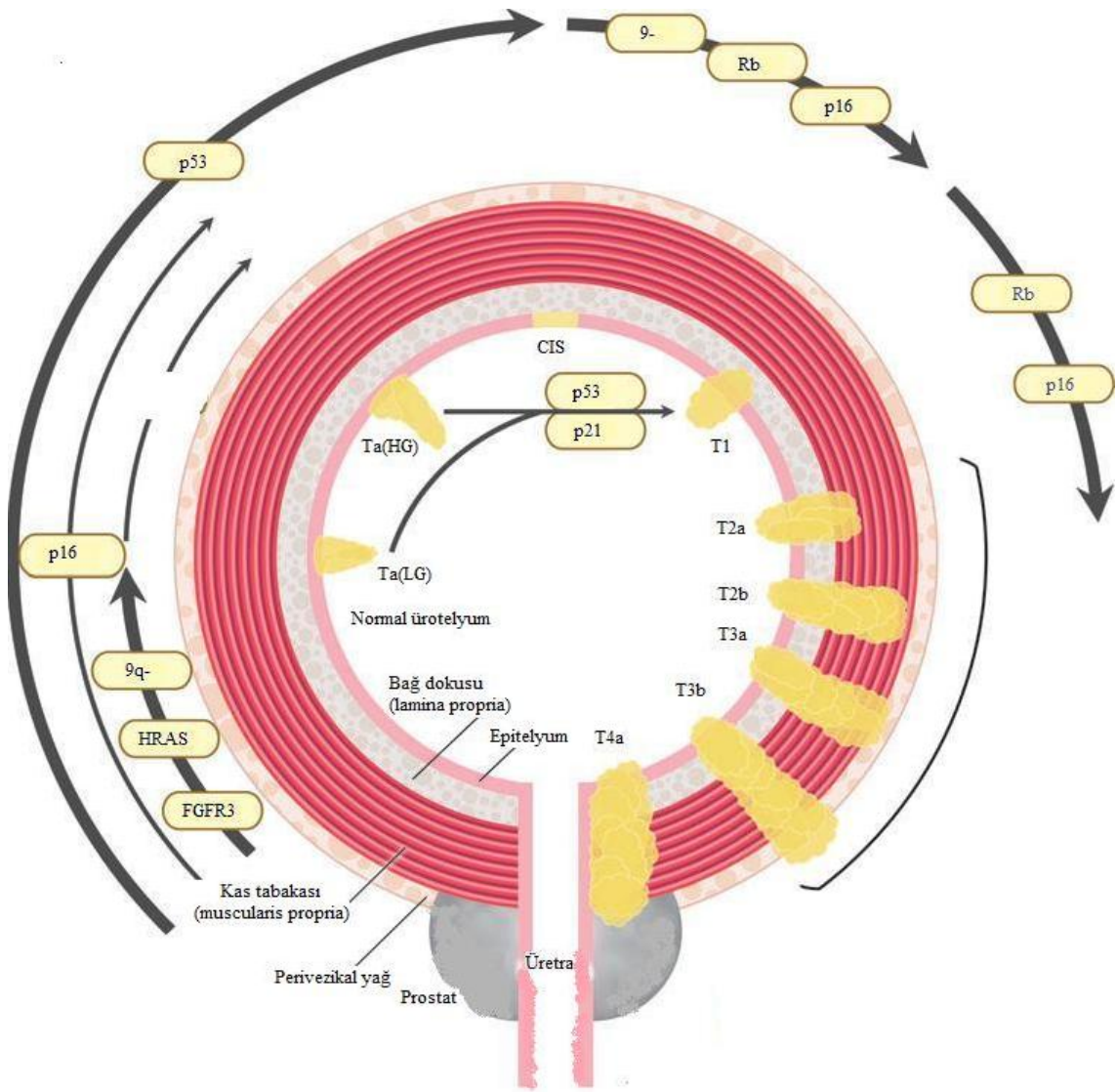
1-Kromozom düzeyindeki değişimler, sayısal ve/veya yapısal kromozom anomalilerini içerir.

2-Gen düzeyindeki değişimler, genetik mutasyonları, fragman delesyonlarını, amplifikasyonları ya da anormal epigenetik değişimleri içerir.

3-Ekspresyon değişimleri.

4-Protein düzeyindeki değişimler, up ya da down regüle protein ekspresyonlarını, tümörle ilişkili proteinleri ve füzyon proteinlerini içerir (22).

Mesane kanserinin karakteristik yapısı, yeni teşhiste, çeşitli derece ve evrelerde, ve nüks tümörlerde mevcut olan genomik değişikliklerin araştırılmasına imkan verir. Hem erken aşamalarda hem de progresyonla ilişkili olarak birçok yapısal ve sayısal değişiklik tanımlanmıştır (Şekil 2-5)(9,57).



Şekil 2-5 : Mesane tümörögenезis ve progresyonu için birleşik model (71).

2.8.1. Kromozom Anomalileri :

Sitogenetik analizler, mesane kanserinin başlangıcında ve progresyonunda yer alan genetik değişikliklerin tanımlanmasına yardımcı olur. Farklı subtiplerde oluşan non-random (tesadüfi olmayan) değişiklikler, tümör süpressör genlerin (TSG) ve onkogenlerin katkısını ortaya çıkaran moleküler çalışmalara yol göstermiştir (24,56,69). Kromozomal aberasyonlar Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH), Tekli Nükleotid Değişimi (SNP) ya da Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon (CGH) ile tayin edilebilir (44). CGH ve SNP array temelli çalışmalardan kaynaklanan iki temel gözleme göre; farklı evredeki tümörler farklı kromozomal anormallikler gösterir. En yüksek kromozom aberasyon oranı yüzeyel tümörlerle (evre Ta-T1) karşılaştırıldığında, muscle invaziv tümörlerde (evre $\geq$ T2) görülür (9,57). Ayrıca ileri evre tümörlerdeki kazanım ve amplifikasyonlar genellikle predominant aşırı (over) delesyonlar olarak olarak görülür. Bütün bu aberasyonlar, füzyon ürünlere ve bunun sonucunda da TSG'lerin ya da onkogenlerin ekspresyonlarının bozulmasına yol açabilir (116).

Sayısal kromozom aberasyonları mesane kanserinin teşhisinde, olası prognozunda ve taranmasında oldukça yararlı olabilir. Yapılan bir FISH (UV testi) çalışmasında intravesikal tedavisi süren yüksek riskli yüzeyel mesane tümürlü hastalarda tedavi sonrası pozitif UV testi yüksek oranda nüksü öngörür (119). 15 ayı takiben yapılan çalışmalarda anormal UV testi olan hastaların %45'inde, normal UV testi olan hastaların %12.5'inde nüks tümörler geliştiği tespit edilmiştir (37).

Yapılan bir çalışmada, üroteliyal kanserli yaklaşık 200 olgu rutin sitogenetik analiz ile çalışılmış ve genelde yüzeyel tümörlerin birkaç kromozomal değişiklik içerdiği ve diploide yakın olma eğiliminde oldukları gösterilmiştir. Muscle invaziv tümörlerde ise poliploidi, kompleks karyotipler ve multiple rearrangementler saptanmıştır. Bu çalışmada mesane kanserinin karyotipik analizinde rapor edilen en yaygın otozomal dengesizlikler; 4,9,10,14,15,16,18,21 ve 22. kromozomların tam kaybı, 7,16,19 ve 20. kromozomların kazanımı olarak belirlenmiştir. Özellikle 1p,5q,8p,9p, 11p, 17p kayıpları ve 1q,3q,5p,8q,13q,17q kazanımları sıklıkla görülmüştür (31).

Mesane kanserinin tüm derece ve evrelerinde gözlenen en yaygın kromozomal değişim 9.kromozomdaki heterozigosite kaybı (LOH) dır (43). LOH, bir genin bir allelinde bir DNA fragmantının kaybıyla ifade edilir, bu gen sıklıkla bir TSG'dir ve diğer allel mutasyon ile inaktivedir. Bu nedenle LOH, TSG'nin inaktivasyonu

sonuçlanır ki bu da hücre transformasyonuna yol açar (22). 9.kromozomun delesyonları da mesane kanserinde saptanmıştır. Bu bulgular, mesane karsinogenezisinde 9.kromozom aberasyonlarının muhtemelen erken, hatta ilk olay olduğu yönündeki hipotezleri destekler (3). Olguların çoğunda 9.kromozomun uzun kolu (9q22, 9q32-33, 9q34) etkilenir (2). 9p21 delesyonu da üroteliyal karsinogenezisin erken dönemlerinde sıklıkla görülür ve düşük nüks oranlı yaşam süresini işaret eder (54).

Bir yüzeysel mesane tümörünün, muscle invaziv hastalığa progresyonu genetik aberasyonların yaygın görünümüyle ilişkilidir. Genel olarak invaziv tümörlerde predominant olarak gözlenen kromozomal aberasyonlar 6q,11p,18q delesyonları ve 1q,8q,17q kazanımlarıdır. Bu aberasyonların bazıları; del(17p13), p53 inaktivasyonu, del(13q14), Rb1 inaktivasyonu gibi bilinen gen bozukluklarını ile sonuçlanır, bazılarının ise önemi belirsizdir (16).

Mesane kanserinde yapılan sitogenetik çalışmaların en önemli katkısı klinik olarak önemli iki subtipin tanımlanmasıdır. Bazı tümörler nispeten benignirler, ama sıklıkla nüks ederler, birkaç sitogenetik değişikliğe ve stabil bir karyotipe sahiptirler. Bazı tümörler ise agresif bir fenotip sergilerler, genetik instabilite sergileme eğilimindedirler ve non-random sitogenetik değişikliklere sahiptirler (93).

2.8.2. Gen Düzeyindeki Değişimler:

DNA dizisindeki aberasyonlar (mutasyonlar), fonksiyonel olmayan ya da kesik protein üretimi, DNA metilasyon bölgesinde üretim ya da tahribat gibi genomda çeşitli anomalilerin yol açtığı DNA dizisindeki değişikliklerdir. Mutasyon analizi, çeşitli insan kanserlerinde fonksiyonel role sahip yüzlerce aday genin tanımlanmasını sağlar (22).

TCC'deki gen mutasyonları sıklıkla, Fibroblast Büyüme Faktor Reseptör 3 (FGFR3)'ün aktive mutasyonu ve p53'ün fonksiyon kaybı mutasyonları ile ilişkilidir ve TCC patogenezindeki alternatif genetik yollarla karakterizedir. FGFR3 mutasyonları genellikle, düşük derece ve evre, düşük nüks oranı gibi olumlu hastalık özellikleri ve daha iyi prognoz ile ilişkilidir. p53 genindeki mutasyonlar ise kötü prognoz ile karakterizedir, sıklıkla invaziv mesane tümörlerinde görülürler, çok nadiren iyi diferansiye yüzeysel tümörlerde görülürler (112).

Birçok gen sitozin-guanin dinükleotid (CpG) bakımından zengin bölgelere sahiptir, bu bölgeler CpG adaları olarak gruplanırlar ve promotör bölgenin yakınında ya

da içerisinde bulunurlar. CpG adalarındaki DNA metilasyonu, bir genin promotör bölgesinde sitozinin 5.pozisyonuna bir metil grubunun eklenmesiyle gerçekleşir. Bu bölgelerin hipermetilasyonu, DNA'nın baz dizisini değiştirmeden, genin fonksiyonunu değiştirir, genin sessizleşmesi ve gen ekspresyonunun kaybıyla sonuçlanır. Bu mekanizma gen inaktivasyonu için özellikle tümör gelişiminin erken aşamalarında ortak bir alternatif yol olarak kabul edilmiştir. Metilasyonun, transkripsiyonel aktivasyonun engellenmesinde, anahtar gen promotörlerinin fonksiyonunda çok önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bu temel epigenetik mekanizma karsinogeneizde de rol oynayabilir (22,116).

CpG adalarının hipermetilasyonu, transkripsiyonel baskı ile ilişkili iken hipometilasyonu gen aktivitesinde ya da kromozomal instabilitede artış potansiyeline yol açar (25). Epigenetik olarak inaktive olan tümör baskılayıcı genler, karsinogenezis, tümörün derecesiyle, evresiyle, progresyonuyla ve klinik sonuç ile ilişkilidir.

TCC ile ilişkili TSG'lerin bir kaçında, anormal metilasyon, bunu takiben down-regülasyon ve gen ekspresyonunun sessizleşmesi ispatlanmıştır. Bu TSG'lerin arasında p16 (INK4a), siklin bağlı kinaz-4 ve 6 tarafından inaktive edilerek, G1'den S fazına kadar progresse olur. p16'nın metilasyonu, TCC'lerin %7-60'ında sıklıkla görülür. Aksine, aynı lokusa lokalize p15 metilasyonu, TCC'lerin çok az bir kısmında rapor edilmiştir (116).

98 mesane kanser dokusunda, 10 farklı genin metilasyonunun araştırıldığı bir çalışmanın sonuçlarına göre; en sık metile olan 4 gen belirlenmiştir. Bunlar, E-cadherin (cdh1), H-cadherin (cdh13), RAS association domain family protein 1A (RASSF1A) ve Adenomatous polyposis coli (APC)'dir. Bu genlerin metilasyonu, kısa yaşam süresi, ileri evre ve kötü prognoz ile ilişkilidir ve mesane kanseri gelişim süreci boyunca metiledirler (65).

Başka bir çalışmada 110 mesane tümörlü hastanın tümör dokularında bazı genlerin promoter bölgesi hipermetilasyonlarına bakılmıştır. Hipermetilasyon oranları, apoptotic protein-activating factor (APAF-1) için %100, Caspase 8 (CASP-8) için %3,6, death-associated protein kinase (DAPK-1) için %74 ve insulin-like growth-factor-binding protein-3 (IGFBP-3) için de %66 olarak bulunmuştur. Normal ürotelyum grubunda ise bu genlerin hipermetilasyon seviyeleri düşüktür ya da tespit edilememiştir.

APAF-1'in metilasyon durumu tümör evre ve derecesi ile ilişkili bulunmuştur. APAF-1 ve IGFBP-3'ün metilasyon seviyeleri ile yüksek nüks riskli tümörlerle düşük riskli tümörler birbirinden ayırtedebilir. Böylece, hastalığın progresyonu ve nüksü için değerli prognostik belirteçler olarak tercih edilebilirler (23).

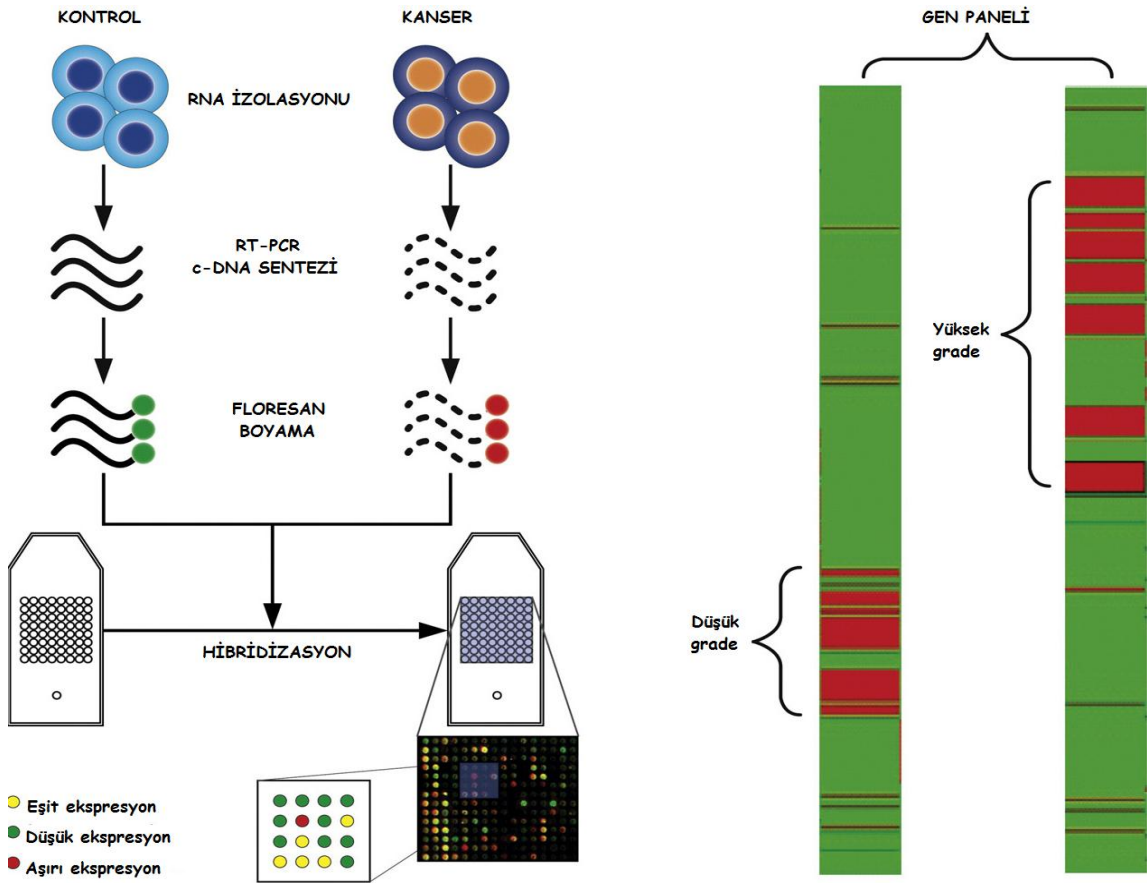
Metilasyon, karsinogenezis sürecinde erken aşamada meydana gelir, hem ürün hem de serum örneklerinde invaziv girişimsiz metotlarla tayin edilebilir. Daima aynı DNA lokalizasyonunda meydana geldiğinden, diğer genetik biyobelirteçlerle karşılaştırıldığında daha kolay tespit edilebilir, daha duyarlıdır ve düşük derece tümörler için daha spesifiktir (30).

2.8.3. Ekspresyon Değişimleri :

Gen ekspresyon profili, aynı orjinli hücrelerin birbiriyle kıyaslanarak ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi esasına dayanır. Yaygın olarak kullanılan metodlar komplementer DNA (c-DNA) ve kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)'dur (Şekil 2.6). Ekspresyon çalışmalarının sonunda; kanserin varlığını ya da yokluğunu, tümörün derecesini, evresini ve klinik yansımaları tanımlayabilen gen panelleri oluşturulabilir. Her tümör için bir gen paneli olması, daha doğru tanı konmasını ve klinik durumun tahminini kolaylaştırabilir. Agresif tümör davranışlarının önceden tahmin eder ve gelecekteki tedavileri geliştirmek için hedefler belirler. Ekspresyon profil analizi teşhis, tümör evresi, tümör derecesi, CIS varlığı/yokluğu, nüks riski, progresyon riski, metastaz riski, kemoterapi yanıtı tayininde yararlıdır (22).

Son dönemlerde yapılan çalışmalarda, m-RNA translasyonunu hedefleyerek down-regüle gen ekspresyonuna neden olan mikroRNA (miRNA)'ların tümör oluşumunda kritik bir rol oynadıkları tespit edilmiştir (118). MiRNA'lar, m-RNA'lar ile etkileşime girerek gen ekspresyonunu düzenleyen, 19-24 nükleotid uzunluğunda, protein kodlamayan RNA'lardır ve translasyonu baskırlarlar (4). Bu yolla kanser gelişimine ve progresyonuna katkıda bulunurlar ve hem tümör supressör gen (miR-17-5p, miR-21, miR-126, miR-221) hem de onkogen (miR-26a, miR-29c, miR-30c, miR-30e-5p) olarak rol oynayabilirler (27,116). MiRNA'lar, normal ve kanser dokularında farklı ekspresyon olurlar. Kanser metastazıyla direkt ilişkili bulunan spesifik miRNA'lar, metastatik kanser genlerinin karakterizasyonunda bir diagnostik araç olarak kullanılabilirler (4). Bugüne kadar bilinen yaklaşık 1400 mikroRNA tanımlanmıştır. Yapılan bir çalışmada miRNA'ların up regülasyonları yerine down regülasyonlarının

hastalarda mesane tümörü gelişimi için kritik olduğu tespit edilmiştir (118). Bir miRNA'nın ekspresyon profili analizi, mesane tümörünün evresi için bilgi sağlayabilir, progresyonu ve prognozu için belirleyici olabilir (116).



Şekil 2-6 : Gen ekspresyonu profil analizinin prensibi (22).

2.8.4. Protein Düzeyindeki Değişimler :

Proteomiks, benzer tipteki hücrelerde protein yapılarının ve fonksiyonel değişikliklerinin analiz edildiği çalışmalardır. Bu konudaki araştırmalar, protein üretim miktarına ve proteinlerdeki modifikasyonların tanımlanmasına odaklanmıştır. Çünkü bu proteinler hücrelerdeki metabolik yollarda rol oynar. Proteomiks çalışmalarının TCC'nin teşhisinde, nüksün takibinde, invazyon ve prognoz tahmininde yönlendirici olduğu düşünülmektedir. Birçok protein belirtecinin mesane kanseri gelişiminde ve

progresyonunda etkili olan mekanizmalardaki rolleri araştırılmıştır. Bu belirteçler, onkogenlerin, tümör süpressör genlerin, hücre siklusu düzenleyicilerinin, büyüme faktörlerinin ve hücre adhezyon moleküllerinin ekspresyonlarını etkiler (22).

2.9. MESANE KANSERİNİN OLUŞUMUNDA ROL OYNAYAN YOLAKLAR :

Kanserin oluşum sürecinin, hücresel homeostazinin devam ettirilmesinden sorumlu olan moleküler yollardaki değişikliklerden kaynaklandığı bilinmektedir (39).



Şekil 2-7 : Mesane tümörü oluşumuna katkıda bulunan hücreyel süreçler (71).

Bazı anahtar moleküller ve yollar, tümör oluşumu ve progresyonu sırasında önemli kritik hücreyel süreçleri düzenlerler. Bunlar, hücre siklusu düzenlenmesi, hücre büyümesi, hücre ölümü, sinyal iletimi ve gen anlatımının düzenlenmesi gibi genetik değişikliklerden dolayı içten denetimi kaldıran ya da yabancı karsinojenik ajanlardan etkilenen beş esas süreci içerir (Şekil 2.7). Ayrıca, anjiyogenezis ve tümör hücresinin

yayılımı, iki dış süreç olarak, bitişikteki hücrelerin ve yapısal elementlerin birbirini etkilemesi ile tümörün idamesine ve ilerlemesine katkıda bulunur (71).

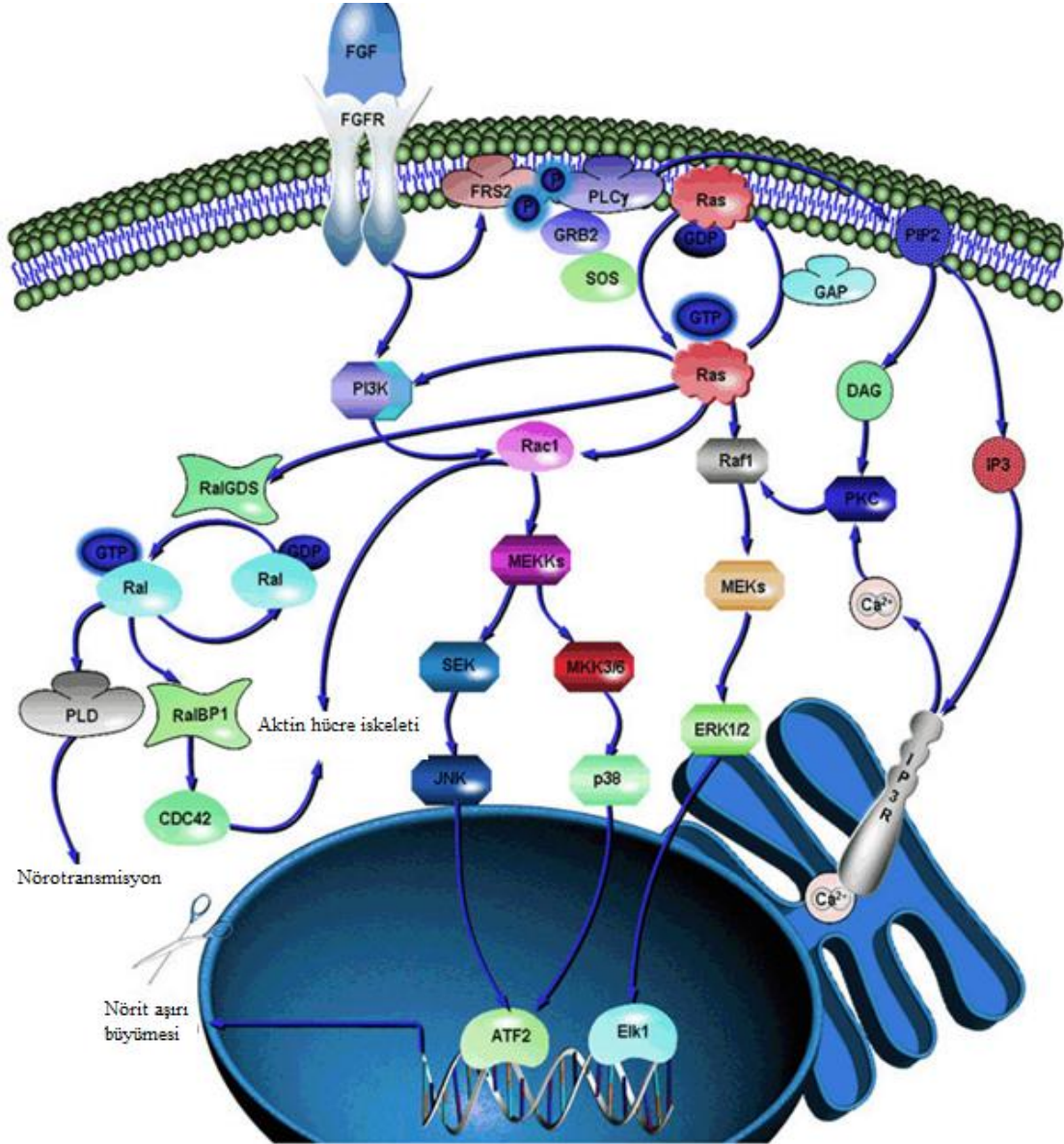
2.9.1. SİNYAL İLETİMİ VE İLİŞKİLİ YOLAKLAR:

Hücre yüzeyi reseptörlerinden nukleustaki transkripsiyon faktörlerine sinyal iletiminde çeşitli yollar rol oynar. Bu yolların düzenlenmesi üzerindeki kontrolün kaldırılması, sinyal iletimini değiştirir ve genlerin anormal regülasyonuna neden olur. Mesane kanserinde rol oynayan en önemli sinyal ileti yolları; Ras-Mitojen Aktive Protein Kinaz (Mitogen-Activated Protein Kinase, RAS-MAPK), Fosfolipaz C-Protein kinaz C (PLC-PKC) sinyal kaskadı, Janus kinaz - Sinyal Transdüktörü ve Transkripsiyon Aktivatörü (JAK-STAT) yolağı, Phosphatidylinositol 3-kinaz (PI3K)-Akt yolağıdır (71).

2.9.1.1. FGF SİNYAL İLETİ YOLAĞI VE FGFR1 GENİ :

Fibroblast büyüme faktörü reseptörleri (FGFR), tümör oluşumunda, farklılaşmada ve proliferasyonda anahtar rol oynarlar (106). FGFR ailesi 4 hücre yüzey reseptörünü içerir (FGFR1-2-3-4) ve tirozin kinaz reseptör ailesinin üyeleridirler. FGFR tarafından nükleusa bağlanan FGF sinyali, multipl sinyal iletim yollarını (MAPK, RAS gibi) aktive eder. Bunu üç ana yol ile yapabilir: RAS/MAPK yolu, PI3K (Phosphatidylinositol-3 Kinase) yolu ve PLC-Gamma/ Ca^{2+} yolu. En sık RAS/MAPK yolu kullanılır. FGFR aktivasyonu, FRS2 (SNT) (FGFR Stimulated2 Grb2 binding protein) fosforilasyonunu, dolayısıyla GRB2 (Growth Factor Receptor Bound Protein-2), SOS, GAB1 (GRB2 Associated Binding protein-1), and SHP2 (Src Homology 2 Phosphatase-2) alımını indükler. Bu şekilde RAS devamlı olarak aktive edilir ve gen transkripsiyonunda değişikliğe yol açan Raf1-MEK-MAPK yolağı aktive olur (Şekil 2.8) (46).

Mesane kanserinde FGFR ailesinden sıklıkla FGFR3'ün rolü araştırılmıştır. FGFR3 mutasyonları, düşük dereceli Ta mesane tümörlerinin yaklaşık %70'inde bulunur ve bu tümörlerin oluşumuyla yakından ilişkilidir. Aktivasyonu, hastalığın tekrarlama riskini arttırır (5,90,112).



Şekil 2-8 : FGF Sinyal Yolağı (46).

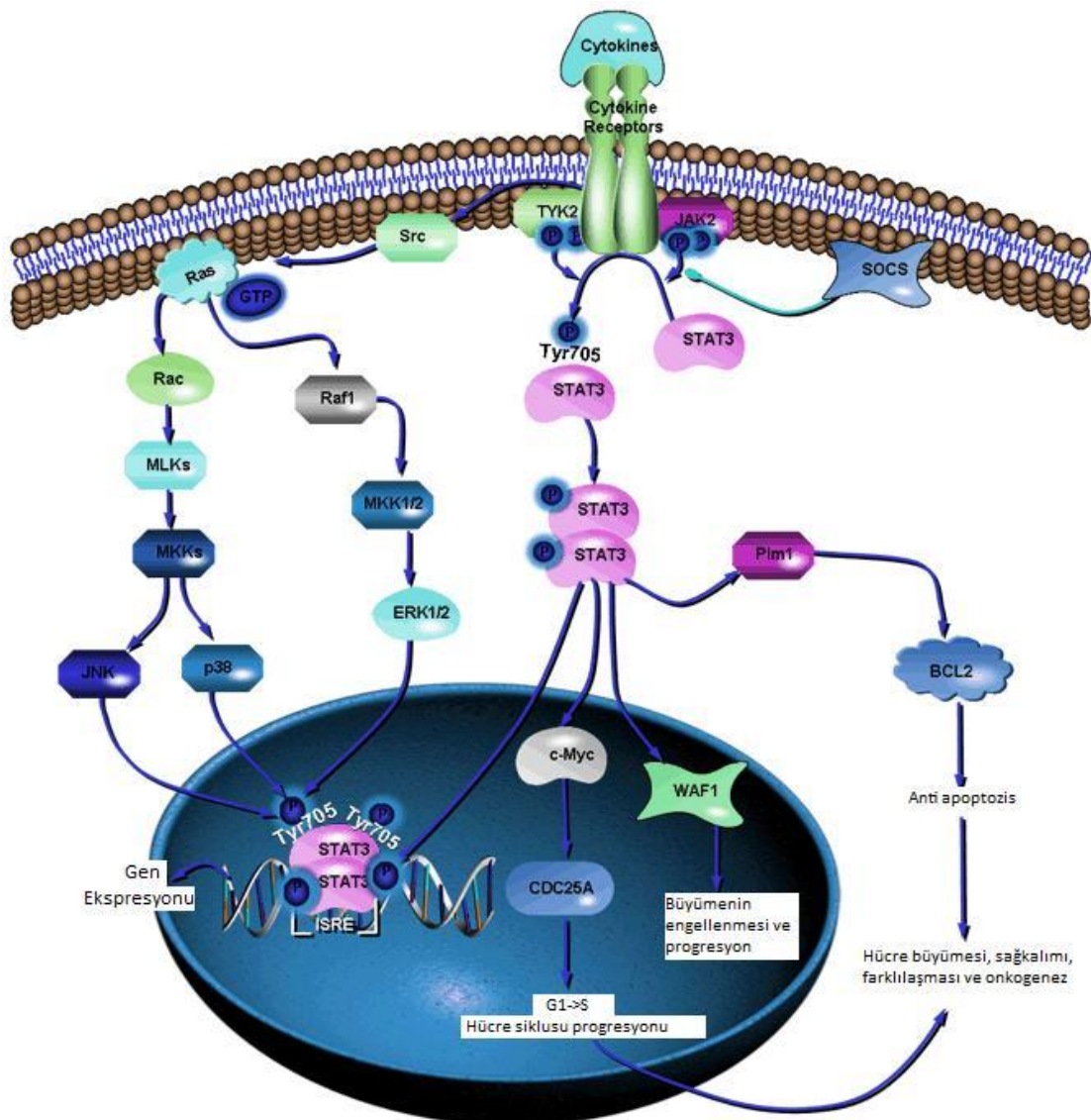
FGFR ailesinin diğer üyelerinin mesane tümörögenезisindeki etkileri ve ekspresyonları hakkında çok az şey bilinir. Tümör dokularında 8p12'ye lokalize olan FGFR1, bir onkogen olarak tanımlanır ve normal doku ile karşılaştırıldığında ekspresyonu artmıştır (Şekil 2.9). FGFR1-4 transkript seviyelerini araştırıldığında FGFR1 ekspresyonunun mesane kanseri hücre hattında (cell line) ve tümör dokularının çoğunda, tümör evre ve derecesinden bağımsız olarak yüksek oranda artmış olduğu bulunmuştur. FGFR1 ekspresyonunun artmasının mesane kanseri gelişiminde erken bir olay olduğu düşünülmektedir (107).



Şekil 2-9 : FGFR-1 geninin kromozomal lokalizasyonu (45).

2.9.1.2. JAK-STAT SİNYAL İLETİ YOLAĞI VE STAT3 GENİ :

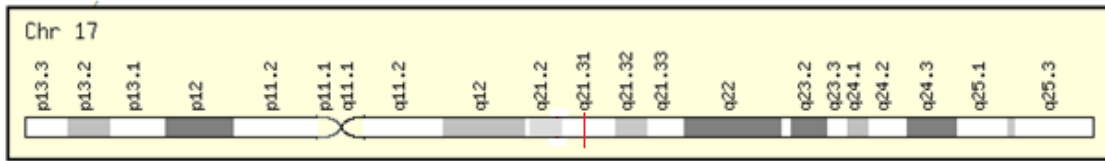
JAK-STAT sinyal ileti yolağı (Şekil 2-10), sitokinlere ve büyüme faktörlerine hücrel yanıtın ve hücrelerde proliferasyon, farklılaşma ve apoptozisin düzenlenmesinde rol oynar (81,103).



Şekil 2-10 : STAT Sinyal Yolağı (46).

JAK-STAT yolağı, Tip I ve Tip II sitokin reseptörlerine bağlanan sitokinlerin JAK'ları etkilemesiyle aktive olur. JAK protein ailesi dört üyeden oluşur (JAK1, JAK2, JAK3 ve Tyk2). JAK'lar seçici olarak STAT'ların fosforilasyon yoluyla aktivasyonuna yol açar. Fosforillenen STAT'lar, JAK'dan ayrılarak dimerize olurlar ve çekirdeğe yönelirler. Daha sonra özellikle büyüme faktörleri üzerinden hücre büyümesine veya hücre sağkalımına etki eden hedef genin promotör bölgesine bağlanarak gen ekspresyonunda değişikliklere neden olurlar (81,103)

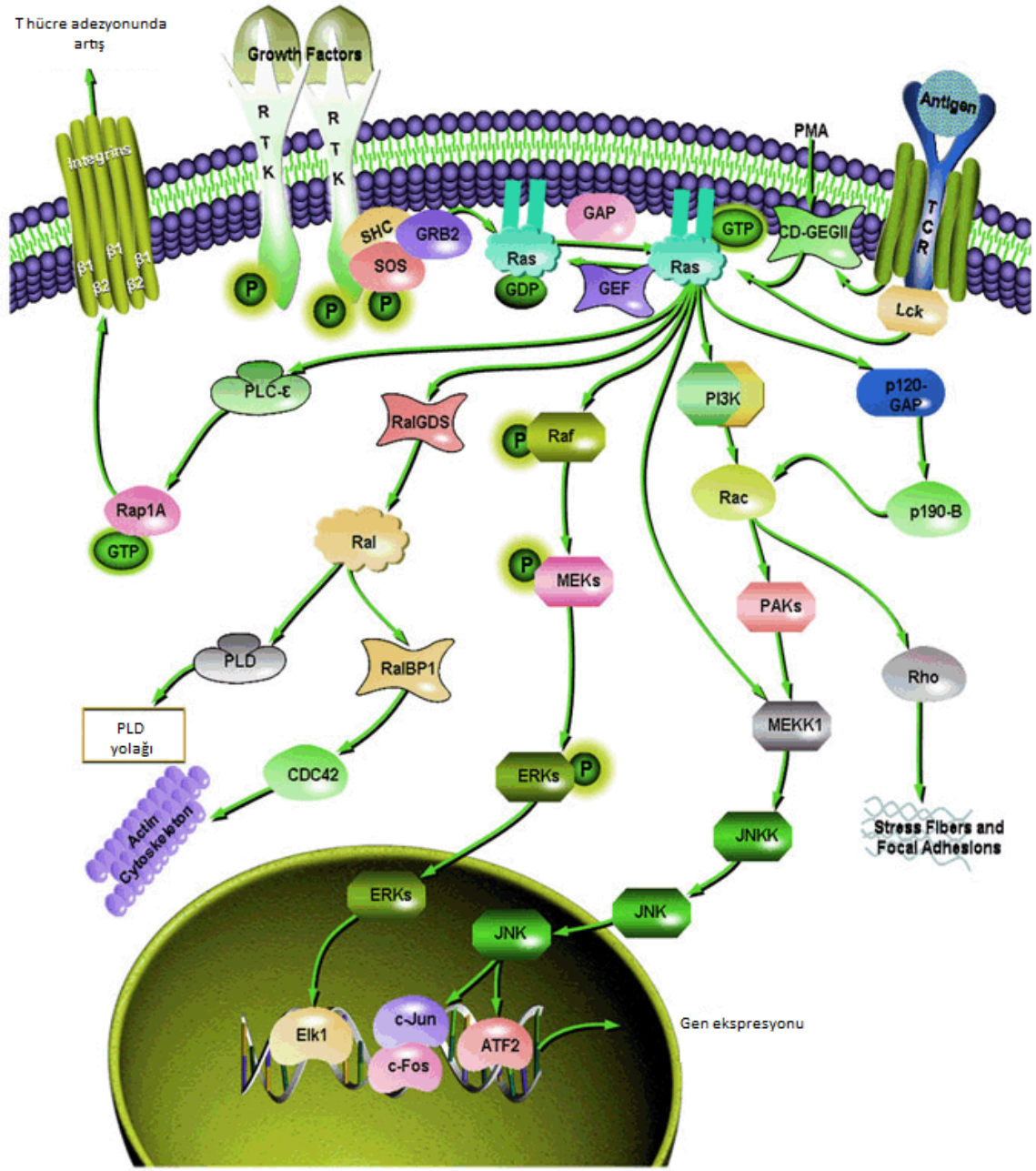
STAT ailesi yedi üyeden oluşmaktadır (STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B ve STAT6) (88). STAT ifadenmesinin artması, insan kanserlerinde sıklıkla gösterilmiştir. Artmış STAT aktivitesinin, onkojenik transformasyonda rolü olduğu düşünülmektedir (103). Bunlar arasında 17q21.31'e lokalize olan STAT3 geninin (Şekil 2-11) aşırı ekspresyonunun, mesane kanserli hastaların yaşam sürelerinin azalmasına ve tekrarlama riskinin artmasına neden olduğu bildirilmiştir (71).



Şekil 2-11 : STAT-3 geninin kromozomal lokalizasyonu (45).

2.9.1.3. RAS SİNYAL YOLAĞI VE HRAS GENİ :

Birçok sinyal kaskadını aktive eden RAS ailesi, Harvey RAS (HRAS), Kristen RAS (KRAS), Neuroblastoma RAS (NRAS) olmak üzere 3 fonksiyonel gen içerir ve 21 kDa (p21) moleküler ağırlıklı oldukça benzer ve korunmuş proteinleri kodlar. Ras ailesi proteinleri GTP (guanozin trifosfat) bağlı veya GDP (guanozin difosfat) bağlı formları ile, iki konformasyon arasında gidip gelerek hücre içerisindeki çeşitli proteinleri etkiler, fosforillenmelerine yol açarak hücre içi sinyal iletimini tetiklerler. Bu proteinler, hücre membranının iç kısmına lokalizedir. GTP, sinyal iletiminde moleküler anahtardır ve farklı çeşitte extrasellüler sinyalleri stimüle ederek (uyararak), RAS-GDP'den RAS-GTP'ye aktif geçişi sağlar (10,50) (Şekil 2-12).

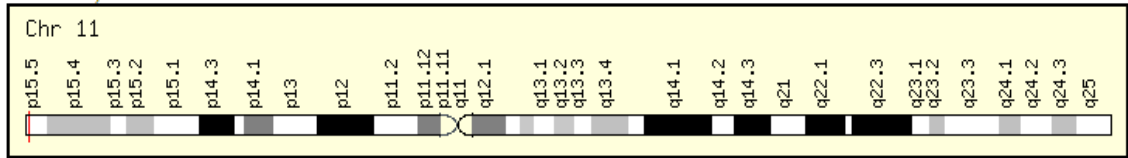


Şekil 2-12 : Ras Sinyal Yolağı (46).

Ras ve Ras ailesi proteinleri hücre içi sinyal iletimin anahtarları olarak görev yapmakta ve hücrelerdeki çoğalma, farklılaşma, ve hücre ölümü fonksiyonlarını düzenlemektedirler. Ras aktivitesi GTP hidrolizi ile kontrol edilir ve GDP bağlı formu etkisizken, GTP bağlı formu etkin bir enzim olarak görev yapar. Bu aktivitenin düzenlenmesinde GTPaz Aktive edici Proteinler (GAP), ve Guanin Değişim Faktörleri (GEF; Guanine Exchange Factors) görev alır. GAP ve GEF'ler çeşitli ligandlara bağlı olarak farklı hücre tiplerinde aktive olur ve kontrolleri altındaki G-proteinlerin etkilerini

düzenlerler. Buna bağlı olarak ortaya çıkan etkileşimlerde, efektör proteinler fosforillenerek etkin hale geçer ve sinyal iletim yollarının çalışmasını sağlarlar. Bu yollar arasında en bilinenleri MAPK/ERK ve PI3-Kinaz sinyal iletim yollarıdır (104).

Ras genlerinde aktivasyona yol açan mutasyonlar hücre çoğalmasını tetiklemekte olup, yapılan tüm çalışmalar bir araya getirilerek incelendiği zaman bu tür mutasyonların insanlardaki kanserlerinin %30'unda görüldüğü belirlenmektedir (104). RAS proteininin disfonksiyonu (işlev yitimi), sadece RAS genindeki mutasyonlar sonucu olmaz, gen amplifikasyonu ya da overekspresyondan dolayı ekspresyondaki kantitatif değişiklikler, hücre çoğalması için gerekli sürekli proliferatif sinyallere yol açabilir. Önceki çalışmalar CIS ve yüksek dereceli (high grade) tümörlerde RAS proteininin ekspresyonunun artışı tanımlanmıştır (50). Artmış RAS m-RNA seviyesi mesane kanserinin gelişimini işaret eder (10).



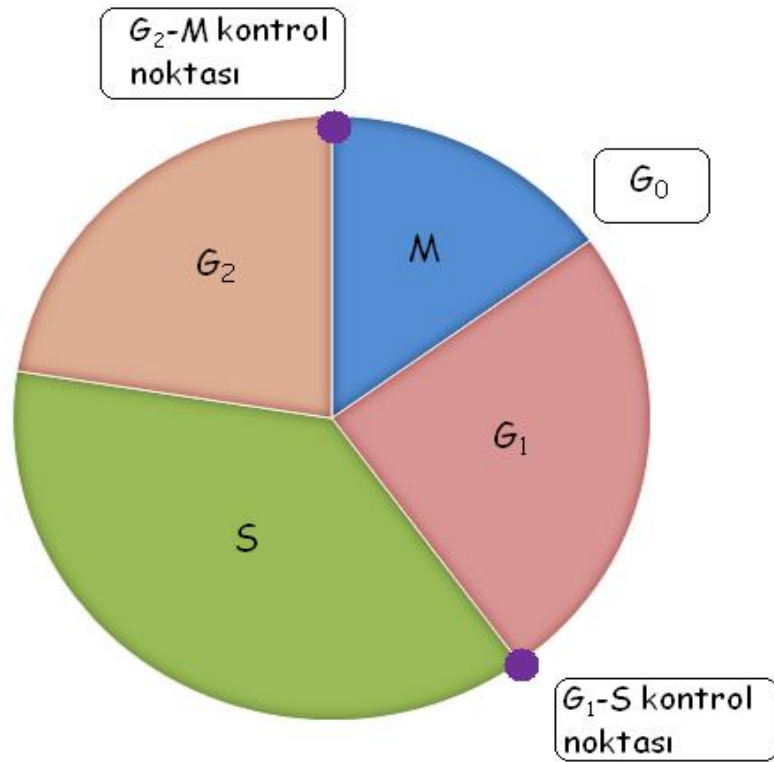
Şekil 2-13 : HRAS geninin kromozomal lokalizasyonu (45).

Ras genleri arasında yer alan 11p15.5'e lokalize HRAS (Şekil 2-13), sinyal iletiminde de rol oynayan, hücre membranının sitoplazmik tarafına demirlenmiş bir protein kodlar. Mesane kanserinde HRAS mutasyonları %36 oranında saptanır. HRAS geninde sıklıkla 12.kodonu (guanin→adenin) içeren tek nokta mutasyonları görülmekle birlikte 13.kodonu (guanin→timin) ve 61.kodonu (adenin→timin) içeren başka mutasyonlarda tanımlanmıştır (49). HRAS geninin aşırı ekspresyonu ise yüzeysel mesane tümörlerinde erken nüks ile ilişkili bulunmuştur (33).

2.9.1.4. HÜCRE SİKLUSU YOLAĞI VE SİKLİN D1-SİKLİN D3 GENLERİ :

Hücre siklusu, proliferere olmak üzere uyarılmış bir hücrede gerçekleşen ve bir dizi geçici biyokimyasal aktivitelerin ve morfolojik değişikliklerin görüldüğü bir

süreçtir. DNA sentezinin gerçekleştiği S evresi, mitoz bölünmenin izlendiği M evresi ve bu iki temel süreç arasında kalan geçici duraklama evreleri olan G1 ve G2 evreleri olmak üzere, 4 evrede gerçekleşir (Şekil 2-14) . Vücuttaki hücrelerin büyük çoğunluğu G0 olarak adlandırılan, normalde hücre siklusu içinde yer almayan ve siklusunu tamamladıktan sonra siklustan çıkan hücrelerin bulunduğu fazda istirahat halindedir. Hücreler bölünme uyarısı aldıkları zaman bu fazdan ayrılıp G1 fazına yani siklusun ilk fazına girmiş olurlar. Bölünmeye devam etmeyip G1 fazından ayrılan hücreler ise diferansiye olmak üzere farklı bir yöne kayarlar (113).

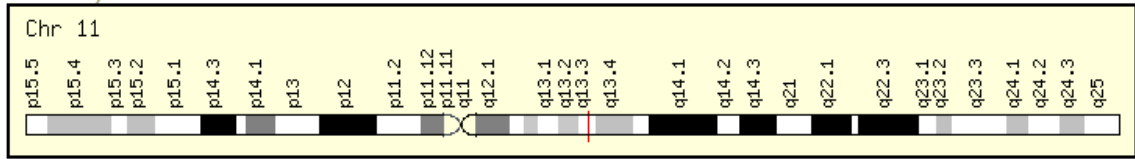


Şekil 2-14 : Hücre Siklusu ve Kontrol noktaları.

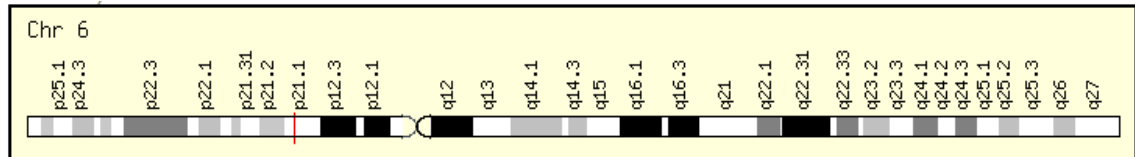
Hücre siklusu, siklusa özgü bir takım proteinler olan siklinler, siklin-bağımlı serin/treonin protein kinazlar (CDK) ve siklin-bağımlı kinaz inhibitörleri (CDI) tarafından özgün olarak kontrol edilir. Siklinler, kendilerine spesifik olan ve siklin-bağımlı kinazlar olarak adlandırılan tirozin kinazlarla kombine olurlar, onları aktifleştirirler ve etkilerini düzenlerler (109).

Hücre siklusunda çeşitli fazlarda çeşitli siklinler sentezlenir, ve düzeyleri senkronize bir şekilde siklusun çeşitli fazları boyunca azalır ya da artar. CDK'lar kendi başlarına bulunduklarında inaktiftirler. Ancak, siklin'e bağlandıklarında aktifleşirler ve

D tip (D1, 2, 3) siklinler başlama siklinleri olarak adlandırılırlar ve büyüme faktörleri veya mitojenlere yanıt olarak eksprese edilirler. Mitojenler ortamdan uzaklaştırıldığında ise hızla yıkılırlar. Hangi tip siklin D'nin eksprese edileceği doku tipine özgüdür. Yüksek derecede korunmuş siklin ailesinin iki üyesi Siklin D1 (CCND1) ve Siklin D3 (CCND3), CDK4 ya da CDK6 subunitlerinin düzenleyicisi olarak fonksiyon görür ve bir kompleks oluştururlar, aktiviteleri hücre siklusunun G1/S geçişi için gereklidir. CCND1 geni, 11q13'e lokalizedir (Şekil 2-16) ve mutasyon, amplifikasyon (artma) ve overekspresyonu (ki hücre siklusu progresyonunu değiştirir) çeşitli tümörlerde sıklıkla gözlenir ve tümörögenezise katkıda bulunabilir. Proteinini, tümör süpressör Rb proteinini ile etkileşime girer ve bu genin ekspresyonu Rb tarafından pozitif olarak düzenlenir. CCND3 geni ise 6p21'e lokalizedir (Şekil 2-17) ve mesane tümörlerinde deregüledir, prognostik önemi hakkında sınırlı bilgi vardır. Proteinini ise, tümör süpressör protein Rb'nin fosforilasyonuna karışır (63,95).



Şekil 2-16 : CCND1 geninin kromozomal lokalizasyonu (45).

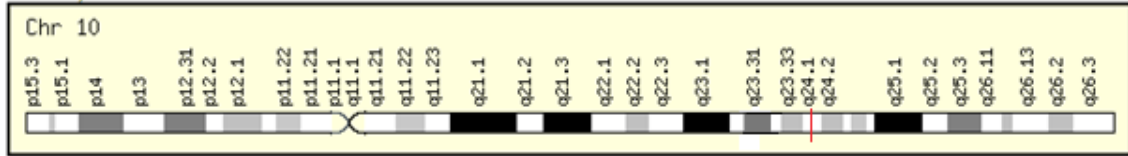


Şekil 2-17 : CCND3 geninin kromozomal lokalizasyonu (45).

Bu proteinler, biyokimyasal olarak ifade etmek gerekirse, birbirleriyle protein:protein kompleksleri (interaksiyonları) oluşturarak birbirlerinin aktivitelerini düzenlerler. Bu aktivitelerin düzenlenmesi, fosforillenme yoluyla gerçekleşir. CDK'lar siklinlerle interaksiyon sonucu aktive olurlarken, CDI'leriyle interaksiyon yapmaları halinde ise inhibe olurlar. CDK'ların aktif formları, substratları fosforilleyerek onları aktif hale getirir. Böylece substrat aktivasyon durumuna göre hücre siklusu ya durur ya da bir sonraki aşamaya geçer (109).

Fas, immün sistem hastalıkları ve çeşitli malignitelerin patogenezi de içeren programlı hücre ölümünün düzenlenmesinde merkezi bir rol oynar. FAS ve Fas Ligand (FasL) sistemi en önemli pro-apoptotik sinyallerdir, tümör gelişiminde ve progresyonunda rol oynarlar. FasL sitotoksik T lenfositlerinde ve doğal öldürücü (natural killer) hücrelerde bulunur. Fas reseptörünün ligandı ile etkileşimi, Fas ilişkili ölüm domain proteini (Fas-associated death domain protein= FADD), kaspaz 8 ve kaspaz 10'u içeren, apoptozise neden olan sinyal kompleksinin oluşmasına izin verir. Kompleksteki kaspazların aktivasyonu bir downstream (aşağı) kaspaz kaskadını harekete geçirir ve apoptozise yol açar (Şekil 2-18). FAS ekspresyonunun artması apoptozisi artırır, azalması ise apoptozisi azaltır ve tümör oluşumunu indükler. Tümör hücrelerinin önemli stratejisi, down regüle FAS içeren doğal öldürücü hücreler ve sitotoksik T lenfositleri tarafından saldırılmaktan yani immün yanıtı kurtulmaktır (46,64).

Tümörlerde 10q24.1'e lokalize olan FAS geninin (Şekil 2-19) ekspresyonu, prognoz tayini ve tümörlü hastanın tedavisi için önemli bir unsurdur. Mesane kanserinde azalmış ekspresyonu, kanserin evresi, derecesi ve gelişmesiyle ilişkilidir (15,58).



Şekil 2-19 : FAS geninin kromozomal lokalizasyonu (45).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç :

3.1.1. Materyal :

Çalışmada, İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji ABD. ve Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Üroloji ABD. kliniğine başvurarak yapılan tetkikler sonucu mesane tümörü tanısı almış , 4'ü kadın (yaş ortalaması $64,25 \pm 12,42$) ve 40'ı erkek (yaş ortalaması $64,37 \pm 9,53$) toplam 44 olgudan alınan tümör ve çevre dokuları materyal olarak kullanıldı. Alınan doku örnekleri sıvı azotta dondurulup, azot tankı ile transportu yapılarak çalışma yapılana kadar -80 derecede saklandı.

3.1.2. Kimyasal Maddeler ve Malzemeler :

3.1.2.1. Kullanılan Kimyasallar :

- Agaroza (Sigma, A-6013)
- Amonyum asetat (Sigma A-1542)
- Beta-merkapto-etanol (Sigma, M7522)
- Etil alkol (Merc)
- Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA) (Sigma, 9884)
- Etidyum Bromid (Sigma, E1510)
- Hidroklorik asit (Sigma, H1758)
- Hidrojen peroksit (Sigma, 349887)
- İzopropanol (Sigma, 19516)
- Ksilan siyanol (Sigma, X4126)
- PBS (Fosfat tampon çözeltisi)
- Proteinaz K (Sigma, P2308)
- Sodyum Dedodesil Sülfat (Sigma, L4390)
- Sodyum Klorid (Sigma, S3014)
- Tripan mavisi (Gibco, 15250061)
- Tris Baz (BioChemika, 93362)

3.1.2.2. Kullanılan Kitler :

• PureLink RNA Mini Kit, Ambion, Cat.No. 12183018A (Carlsbod, Ca, 92008, North America)
• TaqMan Gene Expression Assays (Applied Biosystems, Foster City, CA 94404, USA)
• TaqMan Gene Expression Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA 94404, USA)
• High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit, (Applied Biosystems, Foster City, CA 94404, USA)
• Magna Lyser Green Beads (REF 03358941001, Manheim, Germany)

3.1.2.3. Kullanılan Markırlar :

Puc Mix Marker, 8 (Fermentas, GmbH, Litvanya)

3.1.2.4. Kullanılan Cihazlar:

Buzdolabı ve Derin Dondurucu	(+4°C ve -20°C , -80°C Forma Scientific)
Çalkalayıcı	(Belly dancer) (Stovall life science)
Çeker Ocak	(Kermanlar)
Derin dondurucu -80 derece	(Heraeus Sepatech)
Distile su cihazı	(Millipore)
Elektroforez sistemi	(Thermo)
Elektroforez sistemi	(Fisher Biotech FB-SB710)
Etüv	(Heraeus) (Nüve)
Güç kaynağı	(Stratagene)
Hassas terazi	(Shimadzu)
Hibridizasyon fırını	(Techne)
Isı bloğu	(Fisher scientific model111004)
Light Cycler RT- PZR cihazı	(Stratagene, MxPro 3005)

Masaüstü mini santrifüj	(Eppendorf) (Hettich)
Otomatik pipetler	(Gilson) (Eppendorf)(Thermo)
PZR cihazı	(MJ Research PTC200,Eppendorf,Techne 512, BioRad)
Soğutmalı santrifüj	(Heraus)
Spektrofotometre	(NanoDrop)
CCD kamera-bilgisayar donanımı	Bio Rad -Universal Hood II-SN
Su banyoları	(Fisher scientific)
Laminar Flow kabin	(Hepa filtreli) (Thermo, Scientific)
İnkübatörler (37°C %5-10 CO2)	(Forma scientific)
Masaüstü mini santrifüj	(Hettich)

3.1.2.5. Tampon Solüsyonlar ve Çözeltiler :

- **Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) %10 (pH 7.2)**

10 g SDS steril distile su ile 100 ml’de çözüldü. pH’ı HCl ile 7.2’ye ayarlandı. Sterilizasyon için 0.2 mikronluk filtreden geçirildi ve oda ısısında saklandı.

- **EDTA (0.5 M)**

86.1 g EDTA distile su ile 1000 ml’ye tamamlandı ve otoklavlandı. Oda ısısında saklandı.

- **6X Agaroz Jel Yükleme Tamponu**

2.5 mg Bromfenol mavisi 10 ml distile suda çözüldü. Oda ısısında saklandı.

- **50 X TAE (Tris-Asetik asit-EDTA)**

242 g Tris baz

57,1 g Glasiyal asetik asit

100 ml EDTA (0.5M)

Distile su ile 1000 ml’ye tamamlandı ve otoklavlanarak steril edildi.

- **5 X TBE (Tris baz-Borik asit-EDTA)**

60,57 g Tris baz

30,90 g Borik asit

40 ml EDTA (0.5M)

Distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı ve otoklavlanarak steril edildi.

- **%70'lik Etil Alkol:**

70 ml etil alkol steril distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

3.2. Yöntem :

-80 derecede saklanan doku örneklerinden sırasıyla RNA izolasyonu, cDNA sentezi, gerçek zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PZR) yapıldı (Şekil 3.1).

Doku örneklerinin toplanması



Doku homojenizasyonu



RNA izolasyonu



cDNA sentezi



RT- PZR



Data analizi

Şekil 3-1 : Çalışma yönteminin diyagramı.

3.2.1. AMBION KİT ile Dokudan RNA İzolasyonu :

1. Dokular, -80°C 'den çıkarılıp, oda sıcaklığında çözünmeye bırakıldı.
2. Dokular homojenize edilmesi için pens yardımıyla homojenizasyon tüpüne ("bead"li tüplere) aktarıldı ve üzerine 600 μl . tissue lysis buffer eklendi.
3. Tüpler homojenizatörde 6500 speed'de 1 dakika homojenize edildi.
4. Homojenizatörden çıkarılan tüpler cold block'ta 3-5 dakika (köpükleri gidinceye kadar) bekletildi (-20°C 'de de bekletilebilir.)
5. Homojenat (600 μl) temiz ependorflara aktarıldı. Üzerine %70 lik etanol (600 μl) eklendi. (1+1 etanol eklendiğinden baştaki hacim kadar eklendi.) Ve karışım vortekslendi.
6. Bu karışımın içinden 700 μl . alınıp spin kolonlara aktarıldı. 13000 RPM'de 15 sn. santrifüj edildi.
7. Toplama tüpleri değiştirildi. Bir önceki aşamada kalan homojenat filtreli tüpe aktarıldı. 13000 RPM'de 15 sn. santrifüj edildi.
8. Toplama tüpleri değiştirildi ve üzerine 700 μl Wash Buffer I eklendi. 13000 RPM'de 15 sn. santrifüj edildi.
9. Toplama tüpleri değiştirildi ve üzerine 500 μl Wash Buffer II ilave edildi. 13000 RPM'de 15 sn. santrifüj edildi. (Wash Buffer II, 60ml. Ethanol ile sulandırılarak hazırlandı).
10. Aynı işlem bir kez daha tekrar edildi.
11. Toplama tüpleri atıldı. Filtreler ependorflara yerleştirildi ve üzerine 30 μl RNase Free Water eklenerek RNA çözüldü ve 1-2 dk. beklendikten sonra 13.000 RPM'de 2 dakika santrifüj edilerek RNA'nın çökmesi sağlandı.
12. Elde edilen RNA -80°C 'de saklandı.

3.2.2. RNA Konsantrasyonunun Ölçümü:

1. İzole edilen total RNA örneklerinin konsantrasyonları NanoDrop kullanılarak ölçüldü.
2. $\text{RNA Konsantrasyonu} = 50 (\text{sulandırma oranı}) \times 40 (\text{sabit}) \times \text{OD } 260 = \text{ng } / \mu\text{l}$.
3. RNA örnekleri aynı zamanda %1 agoroz jelde yürütülerek, degrade olup olmadığı ve miktarı kontrol edildi.

3.2.3. cDNA Eldesi:

cDNA eldesi için total RNA örnekleri eşit konsantrasyona getirildi ve aşağıdaki karışım hazırlandı (Tablo-3.1).

Tablo 3-1 : cDNA sentezi PZR içeriği.

	Miktar
10 X RT Buffer	4 µl
25xdNTP mix (100 mM)	1,6 µl
Random Primer	4 µl
Reverse transkriptaz (200 u/ µl)	2 µl
dH ₂ O	8,4 µl
Toplam	20 µl

Hazırlanan bu karışıma 20 µl RNA eklendi. 10 dakika 25°C’de, 120 dakika 37°C’de, 5 dakika 85°C’de bekletildi.

Kontrol geni olarak kullanılan β-globin geni ile PZR yapıldı ve cDNA’lar kontrol edildi. (Tablo 3.2)

Tablo 3-2 : Beta globin geni kontrol PZR içeriği.

	Miktar
dH ₂ O	33.7 µl
Buffer	5 µl
MgCl ₂	3 µl
dNTP (10mm)	4 µl
Primer (F) 10 pmol	1 µl
Primer (R) 10 pmol	1 µl
Taq polimeraz 2.5 U	0.3 µl
cDNA	2 µl
Toplam	50 µl

Agaroz jel elektroforezi

- Hazırlanacak jelin yoğunluğu yürütülecek DNA dizisinin uzunluğuna göre belirlendi.
- Uygun miktardaki toz agaroz 1X TAE solüsyonu içerisine eklenerek mikrodalga fırında ısıtıldı ve çözünmesi sağlandı.
- Çeker ocak altında, üzerine 2 µl etidyum bromid eklenerek karıştırıldı. Jel kabına hava kabarcığı bırakmayacak şekilde döküldü ve örnek sayısına uygun taraklar yerleştirilerek katılaşması için beklendi.
- Katılaşan jel, içerisinde 1X TAE solüsyonu bulunan elektroforez tankına yerleştirildi. Taraklar yavaşça çıkartılarak yüklemeler yapıldı.
- Örnekler yükleme boyası ile karıştırılarak jeldeki kuyucuklara yüklendi.
- Uygun markırda yüklendikten sonra 60-90 volt elektrik akımında yürütüldü
- Bu işlemin sonunda jelde ilerlemiş olan ürünler ultraviyole ışığı altında CCD kamera ile görüntülendi.

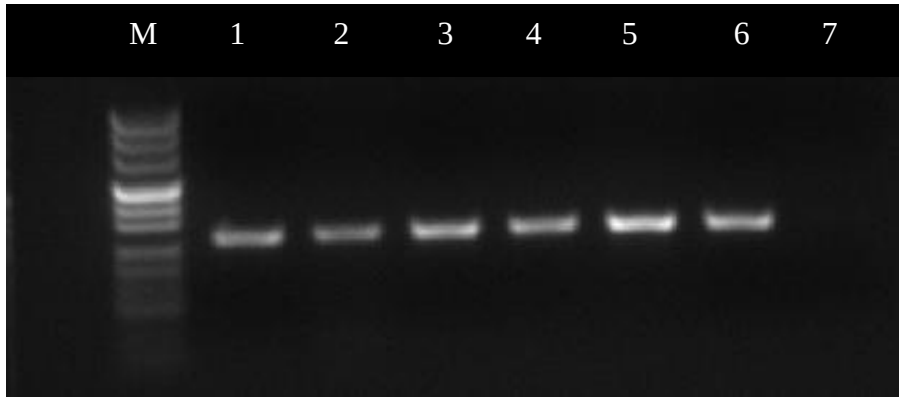
β-Globin Geni primerleri:

Forward : 5' GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC 3'

Reverse : 5' CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC 3'

PZR Ürün boyu : 345 bç

PZR sonrası elde edilen ürünler %2'lik agaroz jelde yürütüldü. (Şekil 3.2)



M: Markır (puc 8) / 1,2,3,4,5,6 : Örnekler / 7: Negatif

Şekil 3-2: Beta globin kontrol PZR'ı jel elektroforezi görüntüsü.

Tablo 3.2-3: Beta globin geni PZR koşulları.

	Sıcaklık	Zaman	
Ön denatürasyon	95°C	5 dakika	
Denatürasyon	94°C	45 saniye	} 35 döngü
Primer bağlanması	59°C	45 saniye	
Zincir uzaması	72°C	45 saniye	
Son uzama	72°C	10 dakika	

cDNA'lar β -globin geni ile kontrol edildikten sonra ekspresyon çalışması için PZR içeriği hazırlandı (Tablo 3.4).

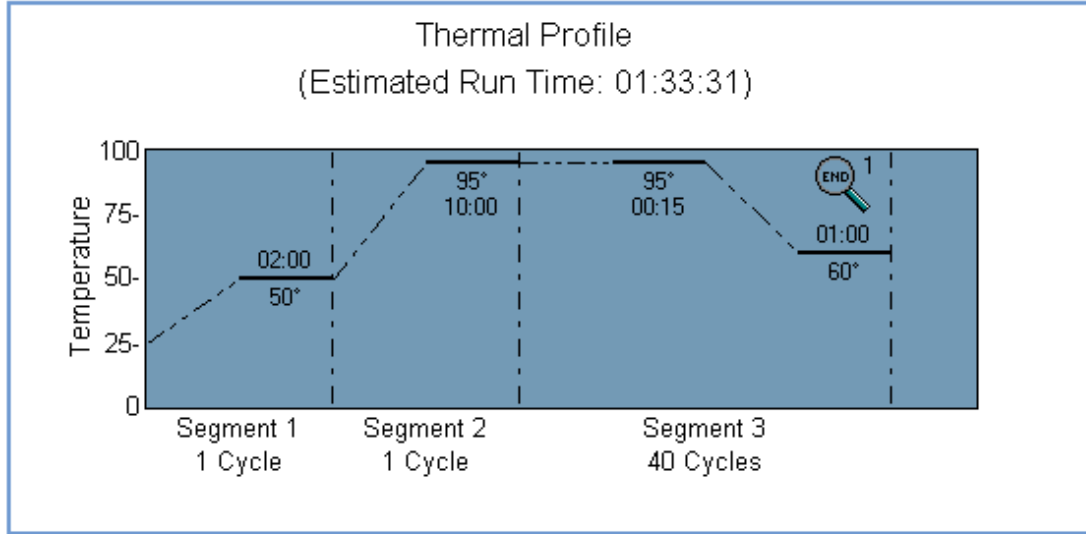
Tablo 3-4 : Gen ekspresyonu için PZR içeriği.

	Miktar
dH ₂ O	5 μ l
Master mix	10 μ l
Assay	1 μ l
cDNA	4 μ l
Toplam	20 μl

Uygun koşullarda eş zamanlı PZR yapıldı (Tablo 3.5)(Şekil 3.3).

Tablo 3-5: Gen ekspresyonu için PZR koşulları.

	Sıcaklık	Zaman	
Ön denatürasyon	50°C	2 dakika	
Denatürasyon	95°C	10 dakika	
Primer bağlanması	95°C	15 saniye	} 40 döngü
Zincir uzaması	60°C	1 dakika	
Son uzama	72°C	10 dakika	



Şekil 3-3: Gen ekspresyonu için PZR koşulları.

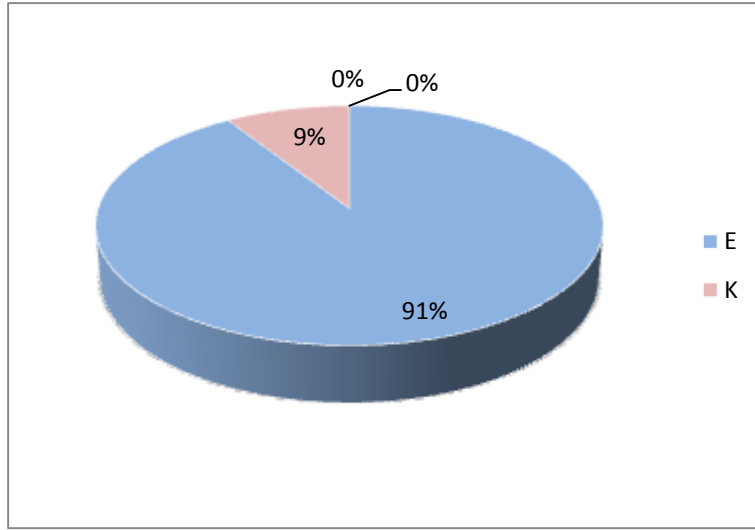
3.3. İstatistik Analiz:

Hastaların demografik özellikleri (yaş, cinsiyet, sigara kullanımı, kemoterapi alımı), tümörün evresi, derecesi, büyüme paterni ile genlerin ekspresyon düzeyleri arasındaki ilişkiler *SPSS Version 12.0* programı kullanılarak istatistiksel olarak incelendi. Gen ekspresyon düzeylerinin incelenmesinde “*One Sample Test*”; yaş, cinsiyet, sigara kullanımı, kemoterapi, tümör derecesi ve tümörün büyüme paterninin değerlendirilmesinde “*Independent Samples Test*” ; tümör lokalizasyonunun ve tümörün evrelemesinin incelenmesinde ise “*Anova test*” kullanıldı. Anlamlılık sınırı olarak $p < (\alpha/2)$ $\alpha=0.05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Olguların Belirlenmesi:

İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji ABD. ve Bezmîâlem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Üroloji ABD. kliniğine başvurarak yapılan tetkikler sonucu mesane tümörü tanısı almış, 4'ü kadın (yaş ortalaması $64,25 \pm 12,42$) ve 40'ı erkek (yaş ortalaması $64,37 \pm 9,53$) toplam 44 olgu (Şekil 4.1) çalışıldı .



Şekil 4-1 : Tümör olgu gruplarının cinsiyete göre dağılımı.

Olgulardan ameliyat ile alınan örnekler materyal olarak kullanıldı. Olguların cinsiyet (Tablo 4.1), sigara kullanımları (Tablo 4.2) ve sitotoksik kemoterapi alımına (Tablo 4.3) göre dağılımları yapıldı.

Tablo 4-1 : Olguların cinsiyete göre dağılımları.

Cinsiyet	Yaş Ortalaması	Frekans	Yüzde (%)
Erkek	$64,37 \pm 9,53$	40	90,9
Kadın	$64,25 \pm 12,42$	4	9,1
Total		44	100,0

Tablo 4-2 : Hastaların sigara kullanımına göre dağılımları.

Sigara Kullanımı	Frekans	Yüzde (%)
var	30	68,2
yok	14	31,8
Total	44	100,0

Tablo 4-3 : Hastaların sitotoksik kemoterapi alımına göre dağılımları.

Sitotoksik Kemoterapi	Frekans	Yüzde (%)
var	8	18,2
yok	36	81,8
Total	44	100,0

4.2. Tümörlerin Derece ve Evrelerinin Belirlenmesi:

Alınan 44 tümör dokusu, Patoloji Anabilim Dalı'nda eş zamanlı olarak tümörün tipi ve derecesini belirlemek üzere histopatolojik olarak değerlendirildi. Bu histopatolojik değerlendirmeler sonucunda, tümör lokalizasyonlarına (Tablo 4.4), tümörlerin büyüme paternlerine (Tablo 4.5), derecelerine (Tablo 4.6) ve evrelerine (Tablo 4.7) göre sınıflandırmalar yapıldı.

Tablo 4-4 : Olguların tümör lokalizasyonlarına göre dağılımları.

Tümör Lokalizasyonu	Frekans	Yüzde (%)
Yaygın tumor	12	27,3
Sağ yan duvar	11	25,0
Sol yan duvar	10	22,7
Karşı duvar	3	6,8
Taban	5	11,4
Kubbe	3	6,8
Total	44	100,0

Tablo 4-5 : Tümörlerin büyüme paternine göre dağılımları.

Büyüme Paterni	Frekans	Yüzde (%)
Papiller	35	79,5
Diğer	8	18,2
Total	43	100,0

Tablo 4-6 : Tümörlerin derecelere göre dağılımları.

Tümörün Derecesi (Grade)	Frekans	Yüzde (%)
Yüksek	12	27,3
Düşük	32	72,7
Total	44	100,0

Tablo 4-7 : Tümörlerin evrelere göre dağılımları.

Tümörün Evresi (Stage)	Frekans	Yüzde (%)
pTa	16	36,4
pT1	9	20,5
pT2	7	15,9
pT1a	6	13,6
Diğer	6	13,6
Total	44	100,0

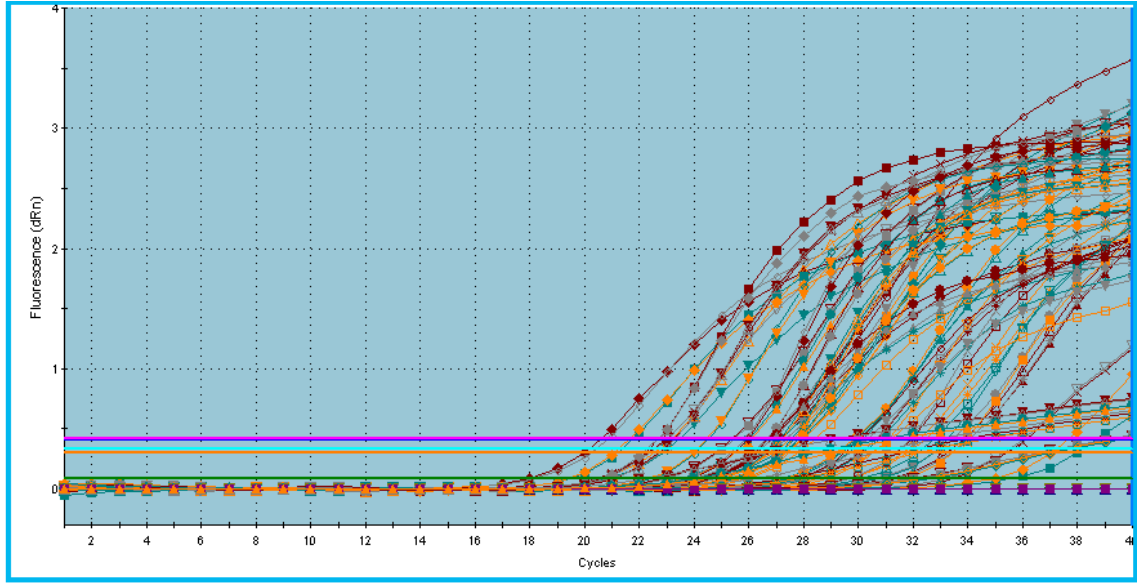
Olguların yaş, cinsiyet bulguları ile tümör dokularına ait evre, derece, lokalizasyon, büyüme paterni ve histopatolojik tanıların yer aldığı genel tablo toplu olarak Tablo 4.8’de verildi.

Tablo 4-8 : Olgu ve tümör verileri.

N	Y	C	Lokalizasyon	Büyüme paterni	Histopatolojik T.	Derece	Evre
1	58	E	yaygın tümör	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pTa
2	66	E	yaygın tümör	papiller	ürotelyal karsinom	düşük	pTa
3	69	E	sağ yan duvar	papiller	ürotelyal karsinom	düşük	pTa
4	66	E	sol yan duvar	squamoz dif.	ürotelyal karsinom	yüksek	pTx
5	54	K	karşı duvar	papiller	ürotelyal karsinom	düşük	pTa
6	70	E	sol yan duvar	papiller	ürotelyal karsinom	düşük	pTa
7	64	E	sağ yan duvar	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pT1
8	71	E	sol yan duvar	solid	ürotelyal karsinom	yüksek	pT2
9	56	E	sol yan duvar	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pT1+CIS
10	69	E	yaygın tümör	papiller	ürotelyal karsinom	düşük	pTa
11	62	E	yaygın tümör	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pT1b
12	64	E	yaygın tümör	papiller+fkl.sqz.dif.	ürotelyal karsinom	yüksek	pT1a
13	69	E	sağ yan duvar		k.hücreli karsinom	yüksek	pT2
14	71	E	sol yan duvar	squamoz dif.	ürotelyal karsinom	yüksek	pT2
15	85	E	sağ yan duvar	squamoz dif.	ürotelyal karsinom	yüksek	pT2
16	53	K	yaygın tümör	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pT1b
17	51	E	sağ yan duvar	papiller	ürotelyal karsinom	düşük	pTa
18	34	E	taban	papiller	ürotelyal karsinom	düşük	pT1a
19	66	E	yaygın tümör	squamoz dif.	ürotelyal karsinom	yüksek	pT1a
20	83	E	sol yan duvar	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pT1b
21	60	E	taban	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pT1
22	45	E	yaygın tümör	papiller	ürotelyal karsinom	düşük	pT1a
23	70	E	sağ yan duvar	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pT1a
24	67	E	yaygın tümör	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pT1
25	70	E	taban	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pTa
26	51	E	taban	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pT2
27	63	E	yaygın tümör	papiller	ürotelyal karsinom	düşük	pTa
28	68	E	sağ yan duvar	papiller	ürotelyal karsinom	düşük	pTa
29	62	E	sağ yan duvar	Fkl.sqz.Mpap.Kmp.	ürotelyal karsinom	yüksek	pT2
30	54	E	kubbe	papiller	ürotelyal karsinom	düşük	pTa
31	76	E	sol yan duvar	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pTa
32	66	E	sol yan duvar	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pT1
33	74	E	yaygın tumor	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pTa
34	58	E	Sag yan duvar	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pT1
35	59	E	Sag yan duvar	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pTx
36	75	K	kubbe	squamoz dif.	ürotelyal karsinom	yüksek	pT2
37	67	E	sol yan duvar	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pT1
38	64	E	yaygın tümör	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pT1a
39	74	E	sağ yan duvar	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pTa
40	75	K	sol yan duvar	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pT1
41	68	E	kubbe	papiller	ürotelyal karsinom	düşük	pTa
42	71	E	karşı duvar	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pTa
43	59	E	karşı duvar	papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pT1
44	68	E	taban	Papiller	ürotelyal karsinom	yüksek	pT1

4.3. Gen Ekspresyonu Sonuçları:

Çalışmamızda, sinyal iletimi ve onunla ilişkili yollarda rol oynayan 6 genin (FGFR1, HRAS, CCND1, CCND3, STAT3 ve FAS) ekspresyon durumlarını, normal mesane dokusundaki ekspresyon düzeyleri ile karşılaştırdık (Şekil 4.2).



Şekil 4-2: Gen ekspresyonu analiz sonuçları (amplification plots).

Çalışmamızda HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait belirlediğimiz ekspresyon değerleri ve %95 güven aralığı farkları Tablo 4.9’da verildi.

Tablo 4-9 : HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ve %95 güven aralığı farkları.

Genler	Test Değeri = 1				
	t	P değeri	Ortalama fark	%95 Güven aralığı farkı	
				Alt sınır	Üst sınır
HRAS	5,750	,000*	4,36667	2,8197	5,9137
CCND1	4,563	,000*	3,42147	1,8961	4,9469
CCND3	2,320	,027*	1,79394	,2191	3,3687
STAT3	4,157	,000*	3,35300	1,7213	4,9847
FGFR1	,481	,633	,34325	-1,0994	1,7859
FAS	1,272	,213	,99065	-,6002	2,5815

One Sample Test: OR: (Odds Ratio) (Güven Aralığı)

P<0,05 anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.

Fold change değerleri, gen kontrole göre upregüle ya da downregüle olmadığı durumda '1' olacaktır. Bu durumda ölçümlerin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık gösterip göstermediğinin tespiti için ortalamalarının 1'e eşit olup olmadığı incelendi. HRAS, CCND1, CCND3, STAT3 genlerinin ekspresyonları $P < 0,05$ olması sebebiyle anlamlı bulundu. FGFR1 ve FAS genlerinin P değerleri ise 0.05'ten büyüktü. Bu sebeple, FGFR1 ve FAS genlerinin ekspresyonları arasında anlamlı fark bulunmadı.

HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ile tümörlerin evreleri (stage) arasındaki istatistiki değerlendirme Anova testi kullanılarak değerlendirildi ve sonuçlar Tablo 4.10'da verildi.

Tablo 4-10 : HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ve tümörlerin evreleri (stage) arasındaki istatistiki değerlendirme.

Genler		Kareler toplamı	df	Ortalama kare değeri	F	p-değeri
HRAS	Gruplar arası	8,404	4	2,101	,098	,982
	Gruplar içinde	600,687	28	21,453		
	Toplam	609,091	32			
CCND1	Gruplar arası	59,048	4	14,762	,749	,567
	Gruplar içinde	571,678	29	19,713		
	Toplam	630,726	33			
CCND3	Gruplar arası	27,713	4	6,928	,321	,861
	Gruplar içinde	603,484	28	21,553		
	Toplam	631,197	32			
STAT3	Gruplar arası	28,191	4	7,048	,250	,908
	Gruplar içinde	986,968	35	28,199		
	Toplam	1015,158	39			
FGFR1	Gruplar arası	64,156	4	16,039	,770	,552
	Gruplar içinde	729,411	35	20,840		
	Toplam	793,567	39			
FAS	Gruplar arası	26,571	4	6,643	,321	,861
	Gruplar içinde	537,711	26	20,681		
	Toplam	564,283	30			

alpha=0.05

Bu testte, $p\text{-değeri} < (\alpha/2)$ ($<0,025$) kabul edildi ve bu örneklerden hiçbirinde bu koşul sağlanamadı. Bu durumda tümör dokuları ile normal dokulardaki ekspresyon ölçümleri arasındaki farkın tümör dokularının evrelerine göre değiştiği söylenemez.

HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ile tümörlerin dereceleri (grade) arasındaki istatistiki değerlendirme Independent Samples Test kullanılarak yapıldı ve sonuçlar Tablo 4.11’de verildi.

Tablo 4-11 : HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ve tümörlerin dereceleri (grade) arasındaki istatistiki değerlendirme.

Genler	Ortalamalar eşitliği için t-testi					
	t	P değeri	Ortalama fark	Std. hata farkı	%95 Güven aralığı farkı	
					Alt sınır	Üst sınır
HRAS	-,501	,635	-1,44630	2,88624	-8,60561	5,71302
CCND1	-1,523	,179	-3,81060	2,50206	-9,95298	2,33179
CCND3	-,239	,820	-,75444	3,15642	-8,64056	7,13167
STAT3	,100	,923	,25993	2,60380	-5,57068	6,09054
FGFR1	,338	,743	,74419	2,20384	-4,16872	5,65710
FAS	-1,145	,305	-2,92669	2,55603	-9,54085	3,68747

$\alpha=0.05$

Bu değerlendirmede, $p\text{-değeri} < (\alpha/2)$ ($<0,025$) kabul edildi ve bu örneklerden hiçbirinde bu koşul sağlanamadı. Bu durumda tümör dokuları ile normal dokulardaki ekspresyon ölçümleri arasındaki farkın tümör dokularının derecelerine göre değiştiği söylenemez.

HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ile tümörlerin lokalizasyonları arasındaki istatistiki değerlendirme Anova Test kullanılarak değerlendirildi ve sonuçlar Tablo 4.12’de verildi.

Tablo 4-12 : HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ve tümörlerin lokalizasyonları arasındaki istatistiki değerlendirme.

		Kareler toplamı	df	Ortalama kare değeri	F	P-Değeri
HRAS	Gruplar arası	129,483	5	25,897	1,458	,236
	Gruplar içinde	479,608	27	17,763		
	Toplam	609,091	32			
CCND1	Gruplar arası	123,484	5	24,697	1,363	,268
	Gruplar içinde	507,242	28	18,116		
	Toplam	630,726	33			
CCND3	Gruplar arası	190,855	5	38,171	2,340	,069
	Gruplar içinde	440,343	27	16,309		
	Toplam	631,197	32			
STAT3	Gruplar arası	129,737	5	25,947	,996	,435
	Gruplar içinde	885,421	34	26,042		
	Toplam	1015,158	39			
FGFR1	Gruplar arası	46,283	5	9,257	,421	,831
	Gruplar içinde	747,284	34	21,979		
	Toplam	793,567	39			
FAS	Gruplar arası	51,191	4	12,798	,649	,633
	Gruplar içinde	513,092	26	19,734		
	Toplam	564,283	30			

alpha=0.05

Bu değerlendirmede, p-değeri <0,05 olarak kabul edildi ve bu örneklerden CCND3 anlamlılık sınırına yakın bulunurken diğer genler için bu koşul sağlanamadı. Bu durumda tümör dokuları ile normal dokulardaki ekspresyon ölçümleri arasındaki farkın tümörlerin lokalizasyonlarına göre değiştiği söylenemez.

HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ile tümörlerin büyüme paternleri arasındaki istatistiki değerlendirme Independent Samples Test kullanılarak değerlendirildi ve sonuçlar Tablo 4.13'de verildi.

Tablo 4-13 : HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ve tümörlerin büyüme paternleri arasındaki istatistiki değerlendirme.

	Ortalamalar eşitliği için t-testi					
	t	p-değeri	Ortalama fark	Std. hata farkı	%95 Güven aralığı farkı	
					Alt sınır	Üst sınır
HRAS	-,179	,862	-,28551	1,59933	-3,81761	3,24659
CCND1	-,322	,755	-,54611	1,69517	-4,37700	3,28478
CCND2	,369	,722	,70769	1,91935	-3,70399	5,11937
STAT2	,378	,712	,62103	1,64436	-2,91938	4,16143
FGFR1	,067	,948	,12429	1,84728	-4,04211	4,29068
FAS	-1,054	,319	-1,87250	1,77583	-5,87528	2,13028

alpha=0.05

Bu değerlendirmede, $p\text{-değeri} < (\alpha/2)$ ($< 0,025$) kabul edildi ve bu örneklerden hiçbirinde bu koşul sağlanamadı. Bu durumda tümör dokuları ile normal dokulardaki ekspresyon ölçümleri arasındaki farkın tümörlerin büyüme paternlerine göre değiştiği söylenemez.

HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ile olguların yaşları arasındaki istatistiki değerlendirme Independent Samples Test kullanılarak değerlendirildi ve sonuçlar Tablo 4.14’de verildi.

Tablo 4-14 : HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ve olguların yaşları arasındaki istatistiki değerlendirme.

	Ortalamalar eşitliği için t-testi					
	t	p-değeri	Ortalama fark	Std. hata farkı	%95 Güven aralığı farkı	
					Alt sınır	Üst sınır
HRAS	-1,287	,210	-1,73556	1,34845	-4,51333	1,04221
CCND1	,748	,460	,92129	1,23100	-1,59199	3,43457
CCND3	-1,450	,157	-1,79139	1,23558	-4,31325	,73048
STAT3	-,246	,808	-,44595	1,81034	-4,22026	3,32835
FGFR1	-,558	,585	-,97964	1,75713	-4,69330	2,73402
FAS	-1,077	,291	-1,46793	1,36281	-4,26864	1,33279

alpha=0.05

Bu değerlendirmede, $p\text{-değeri} < (\alpha/2)$ ($<0,025$) kabul edildi ve bu örneklerden hiçbirinde bu koşul sağlanamadı. Bu durumda tümör dokuları ile normal dokulardaki ekspresyon ölçümleri arasındaki farkın olguların yaş durumuna göre değiştiği söylenemez.

HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ile olguların cinsiyetleri arasındaki istatistiki değerlendirme Independent Samples Test kullanılarak değerlendirildi ve sonuçlar Tablo 4.15’de verildi.

Tablo 4-15 : HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ve olguların cinsiyetleri arasındaki istatistiki değerlendirme.

	Ortalamalar eşitliği için t-testi					
	t	p-değeri	Ortalama fark	Std. hata farkı	%95 Güven aralığı farkı	
					Alt sınır	Üst sınır
HRAS	-1,048	,456	-2,56903	2,45203	-22,33140	17,19333
CCND1	-3,233	,003	-2,67063	,82594	-4,36006	-,98119
CCND3	-1,727	,094	-1,42226	,82354	-3,10346	,25894
STAT3	1,544	,214	2,86090	1,85300	-2,81497	8,53677
FGFR1	1,369	,267	2,48640	1,81681	-3,39059	8,36338
FAS	,078	,939	,06483	,83416	-1,64367	1,77332

alpha=0.05

Bu değerlendirmede, $p\text{-değeri} < (\alpha/2)$ ($<0,025$) kabul edildi ve bu örneklerden sadece CCND1 grubu için bu koşul sağlandı. Bu durumda tümör dokuları ile normal dokulardaki ekspresyon ölçümleri arasındaki farkın olguların cinsiyetine göre değiştiği CCND1 geni için söylenebilir.

HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ile olguların sigara kullanım alışkanlıkları arasındaki istatistiki değerlendirme Independent Samples Test kullanılarak değerlendirildi ve sonuçlar Tablo 4.16’da verildi.

Tablo 4-16 : HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ve olguların sigara kullanım alışkanlıkları arasındaki istatistiki değerlendirme.

	Ortalamalar eşitliği için t-testi					
	t	p-değeri	Ortalama fark	Std. hata farkı	%95 Güven aralığı farkı	
					Alt sınır	Üst sınır
HRAS	1,173	,268	2,52083	2,14896	-2,26988	7,31154
CCND1	3,119	,004	4,71364	1,51132	1,63518	7,79211
CCND3	,228	,824	,51417	2,25061	-4,49896	5,52729
STAT3	1,134	,274	2,28762	2,01736	-1,99498	6,57021
FGFR1	,530	,603	,93321	1,75931	-2,78546	4,65188
FAS	1,290	,230	2,89027	2,23990	-2,20598	7,98652

alpha=0.05

Bu değerlendirmede, $p\text{-değeri} < (\alpha/2)$ ($< 0,025$) kabul edildi ve bu örneklerden sadece CCND1 grubu için bu koşul sağlandı. Bu durumda tümör dokuları ile normal dokulardaki ekspresyon ölçümleri arasındaki farkın olguların sigara kullanım alışkanlıklarına göre değiştiği CCND1 geni için söylenebilir.

HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ile olguların kemoterapi maruziyetleri arasındaki istatistiki değerlendirme Independent Samples Test kullanılarak değerlendirildi ve sonuçlar Tablo 4.17’de verildi.

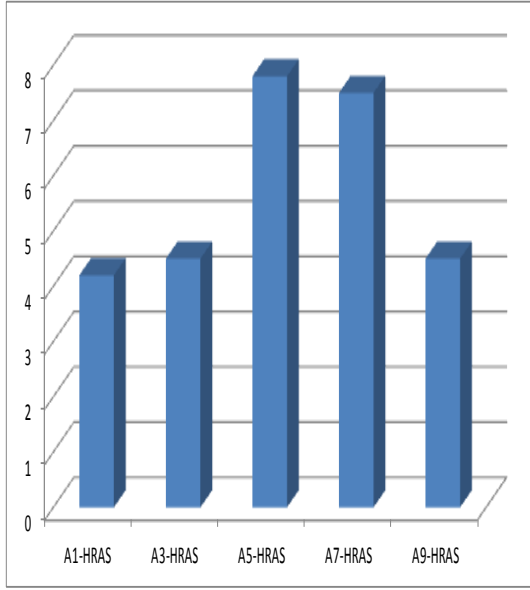
Tablo 4-17 : HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerine ait ekspresyon değerleri ve olguların sitotoksik kemoterapi maruziyetleri arasındaki istatistik.

	Ortalamalar eşitliği için t-testi					
	t	p-değeri	Ortalama fark	Std. hata farkı	%95 Güven aralığı farkı	
					Alt sınır	Üst sınır
HRAS	,693	,505	1,48222	2,13815	-3,33334	6,29779
CCND1	,987	,347	1,94518	1,97047	-2,44400	6,33435
CCND3	-,072	,944	-,14056	1,95500	-4,51195	4,23084
STAT3	,273	,790	,56416	2,07026	-3,94013	5,06845
FGFR1	-,406	,693	-,84453	2,07869	-5,48921	3,80014
FAS	,296	,773	,61157	2,06415	-3,93027	5,15341

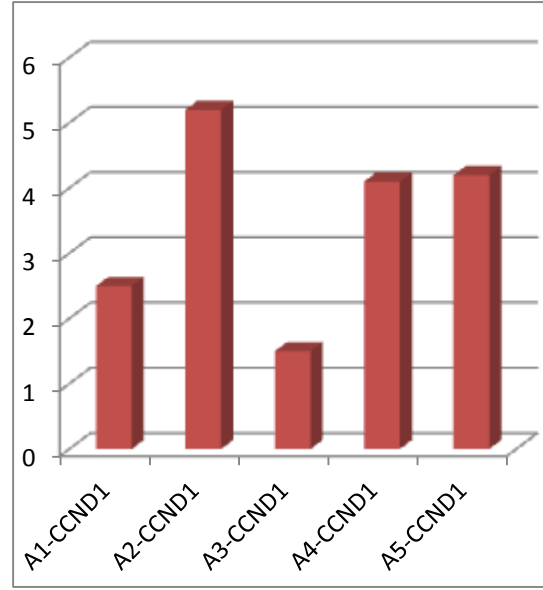
alpha=0.05

Bu değerlendirmede, $p\text{-değeri} < (\alpha/2)$ ($< 0,025$) kabul edildi ve bu örneklerden hiçbirinde bu koşul sağlanamadı. Bu durumda tümör dokuları ile normal dokulardaki ekspresyon ölçümleri arasındaki farkın olguların kemoterapi alımına göre değiştiği söylenemez.

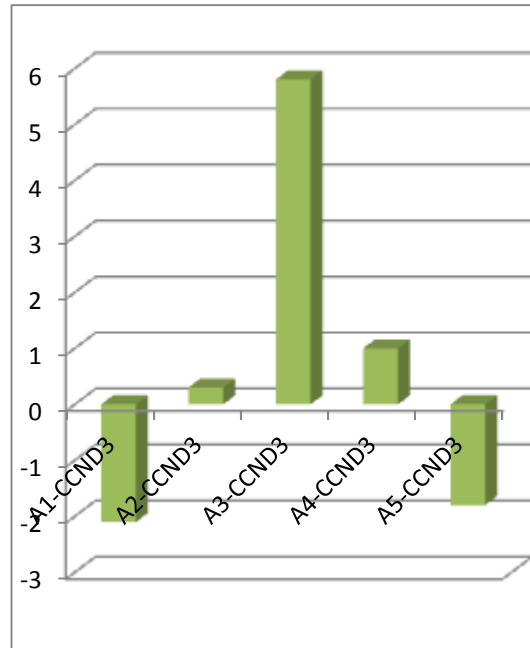
Çalışılan 5 olguya ait örnek ekspresyon grafikleri aşağıda verilmiştir (şekil 4.3, şekil 4.4, şekil 4.5, şekil 4.6, şekil 4.7, şekil 4.8).



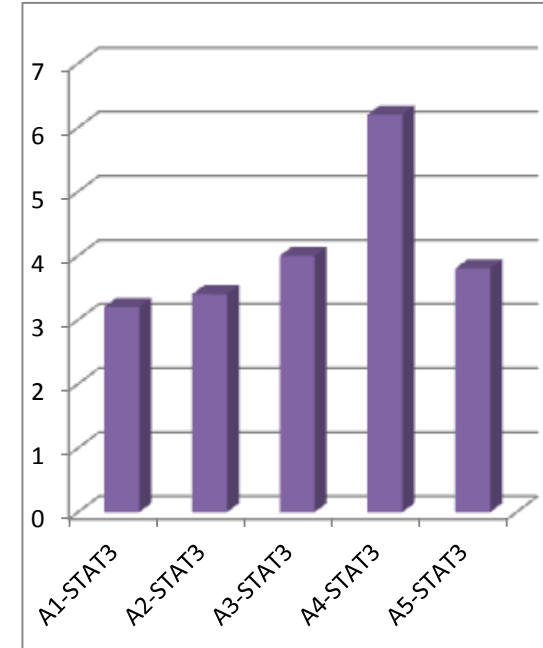
şekil 4-3:HRAS genine ait beş olgunun ekspresyonu.



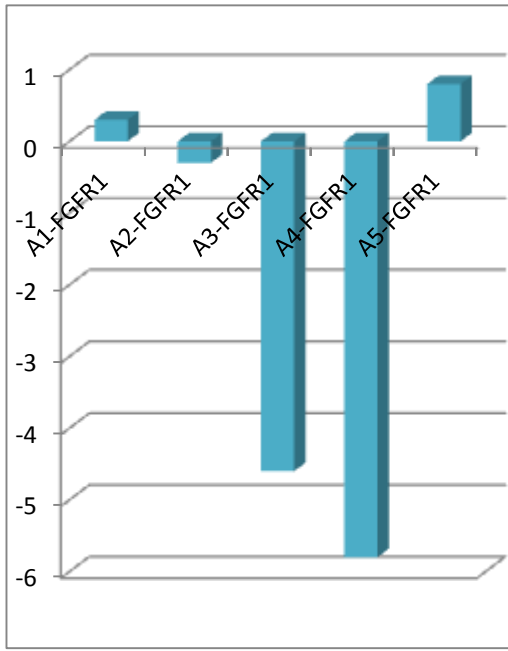
şekil 4-4:CCND1 genine ait beş olgunun ekspresyonu.



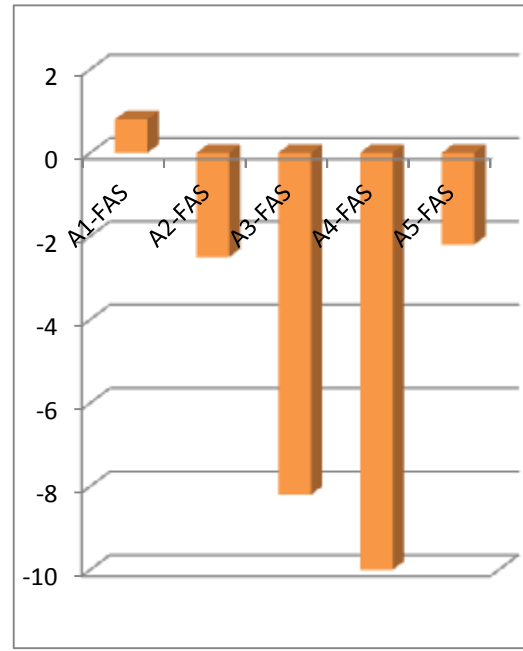
şekil 4-5:CCND3 genine ait beş olgunun ekspresyonu.



şekil 4-5:STAT3 genine ait beş olgunun ekspresyonu.



Şekil 4-6:FGFR1 genine ait beş olgunun ekspresyonu.



Şekil 4-7:FAS genine ait beş olgunun ekspresyonu.

5. TARTIŞMA

Mesane kanserini de içeren birçok kanser tipinde, normal bir hücrenin malign hale dönüşmesi çok aşamalı bir mekanizmayı içerir. Kademeli olarak, farklı sınıflardaki genlerin (onkogenler, tümör süpressör genler, hücre siklusu genleri ve DNA tamir genleri) ekspresyonları değişikliğe uğrar. Bu değişiklikler, mutasyonları ve kromozomal aberasyonları da içerir (11). Bu genetik hasarlar, malign hücrelerin ayırdedici bir özelliğidir ve tümöral gelişmenin başlamasında ve ilerlemesinde önemli rol oynarlar (26).

Tümör oluşumu ve progresyonu sırasında kritik hücresel süreçleri düzenleyen genler, hücre siklusu düzenlenmesi, hücre büyümesi, hücre ölümü, sinyal iletimi ve gen anlatımının düzenlenmesi gibi çeşitli yollarda etkili olurlar. Bu yolların düzenlenmesi üzerindeki kontrolün kaldırılması, sinyal iletimini değiştirir ve genlerin anormal regülasyonuna neden olur (71).

Bu çalışmada sinyal iletimi ve onunla ilişkili yollarda rol oynayan 6 genin ekspresyon seviyelerindeki değişikliklerin, mesane kanseri oluşumunda ve progresyonunda rolleri olup olmadığı araştırıldı. Bu amaçla mesane kanseri tanısı konulan 44 hastanın tümör dokularında FGFR1, HRAS, CCND1, CCND3, STAT3 ve FAS genlerinin ekspresyon düzeylerindeki değişiklikler eş zamanlı PZR (RT-PCR) yöntemi ile incelendi.

Sinyal iletim yollarının aktivasyonu aracılığıyla tümör oluşumuna ve büyümesine katkıda bulunan gen ailelerinden biri Fibroblast büyüme faktörü reseptörleri (FGFR)'dir. FGFR'ler tirozin kinaz reseptörüdürler ve 4 hücre yüzey reseptörünü içerirler (86). Bunlar arasında FGFR3'ün rolü mesane kanserinde çok araştırılmıştır, ancak FGFR ailesinin diğer üyelerinin etkileri ve ekspresyonları hakkında çok az şey bilinmektedir. Diğer tümör tiplerinde, FGFR1 bir onkogen olarak bildirilmiştir ve ekspresyonu normal dokuyla karşılaştırıldığında artmış bulunmuştur. FGFR1'in aktivasyonu, çeşitli hücre tiplerinde hem mitojenik hem de kemotaktik yanıtı neden olur. FGFR1 transkriptleri normal ürotelyumda düşük seviyede ekspresse olurlar. Tomlinson ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada FGFR1 ekspresyonu mesane kanseri hücre hattında ve tümör dokusunda çoğunlukla artmış bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada, artmış FGFR1 ekspresyonunun normal üroteliyal hücrelerdeki etkisi de incelenmiş ve FGFR1'in, hücrelerin çoğalmasında ve sağkalım sürelerinde artışa neden

olduğu gösterilmiştir. Mesane tümöründen köken alan hücre hattında yapılan çalışmada ise FGFR1'in tümör büyümesini ve sağkalımını düzenlediği ortaya koyulmuştur. Bu sonuçlar, FGFR1'in normal mesane hücrelerinin kansere dönüşümünde önemli bir rol oynadığını kanıtlamıştır (107).

Yapılan diğer bir çalışmada, MAPK yolağının aktivasyonu aracılığıyla proliferasyonu ve sağkalımı teşvik eden FGFR1 ekspresyonunun, üroteliyal karsinoma hücre hattında ve tümörlerinde artmış olduğu bildirilmiştir (106).

Bizim çalışmamızda ise, normal mesane dokusu ile mesane tümörü dokuları karşılaştırıldığında, FGFR1 geninin ekspresyonunda anlamlı bir artış saptanmamıştır. Literatür bilgisinde de mesane tümörü dokularının ve hücre hatlarının bir kısmında FGFR1 gen ekspresyonunun düşük olduğu belirtilmiştir. Bu durumda FGFR1 geninin ekspresyonunun, dokuların evre veya derecelerine göre değiştiği düşünülebilir. Ancak çalışmamızda tümör dokularının evre ve dereceleriyle, dokuların ekspresyonları arasında da anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Tomlinson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da, tümörün evre ya da derecesi ile ekspresyon seviyesi arasında ilişki gözlenmemiştir (107). Bu sonuçlar FGFR1 geninin tümör dokularındaki ekspresyon seviyesi farklılıklarının, tümör lokalizasyonlarındaki farklılıklardan kaynaklanmış olabileceğini düşündürmektedir.

Sinyal iletim yolaklarını aktive eden diğer bir gen ailesi RAS'tır. RAS proteininin disfonksiyonu sadece RAS genindeki mutasyonlarla meydana gelmez, protein seviyesindeki değişikliklerden dolayı da olabilir. Gen amplifikasyonu yada overekspresyonlardan dolayı ekspresyondaki kantitatif değişiklikler, hücre çoğalması için ihtiyaç duyulan devamlı proliferatif sinyallere yol açabilir. Çalışmalar, CIS ve yüksek dereceli tümörlerde RAS proteininin ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir. Vageli, mesane kanserlerinin yaklaşık %40'ında RAS transkriptlerinde bir artış rapor etmiştir. RAS onkogeninin nokta mutasyonu ya da overekspresyon ile aktivasyonu, mesane kanserlerinin progresyonu ve karsinogeneziste önemli olabilir (50).

Spandidos ve Lang, RAS geninin proteini olan normal p21'in bile aşırı ekspresyonunun karsinojenik olduğunu rapor etmişlerdir (100). Bozulmuş RAS fonksiyonu kanser gelişimine katkıda bulunur. RAS mRNA seviyelerindeki artış mesane kanseri gelişimine işaret eder, ancak bu genlerin progresyonla ilgili rolleri açık değildir (10).

Boulalas ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, KRAS ve NRAS genlerinin her birinde yüksek oranda (%50) ekspresyon saptamışken, HRAS geninde düşük oranda (%27) ekspresyon saptamışlardır (10).

HRAS geni, sinyal iletiminde rol oynayan hücre membranının sitoplazmik tarafına konuşlanmış bir proteini kodlar ve mesane kanserinin oluşumunda rol oynar. Fontana ve arkadaşları, HRAS overekspresyonu ile yüzeysel mesane kanserinde erken nüks arasında bir ilişki tanımlamışlardır (49). HRAS, invaziv hastalığa ilerleyenlerle karşılaştırıldığında progresse olmayan Ta tümörlerinde önemli ölçüde overekspresse bulunmuştur (70). Yapılan diğer bir çalışmada ise non-invaziv papiller tümörlerde, HRAS geninin özellikle, nüks ve progresyonda güçlü bir saptayıcı olduğu öne sürülmüştür (8).

Bizim çalışmamızda da, normal mesane dokusu ile karşılaştırıldığında mesane tümör dokularında HRAS geni ekspresyonu anlamlı oranda artmış bulunmuştur. Tümör dokularının evre ve dereceleriyle, dokuların ekspresyonları arasında ise bir ilişki bulunmamıştır.

Kanser hücrelerinin büyümesi, hücre siklusunun fazları arasındaki geçişin hızlanmasıyla karakterizedir. Buna sıklıkla $G1 \rightarrow S$ geçişindeki düzensizlik (deregülasyon) neden olur (82). Hücre siklusunda önemli bir rol oynayan siklin genleri CCND1 ve CCND3, siklin bağımlı kinazlara (CDK4/6) bağlanarak, Retinoblastoma (RB) geninin fosforilasyonunu teşvik eder ve böylece G1 kısıtlama noktası üzerinden ilerlemeyi düzenlerler (26). RB'nin fosforilasyonu, hücrenin sentez fazına girmesi için gerekli olan aşamaları başlatır. Hayvan modellerinde ve hücre hatlarında yapılan çalışmalarda, D tipi siklinlerin aşırı ekspresyonlarında, G1 fazının kısaltıldığı, hücrenin büyüklüğünün ve mitojenlere bağımlılığının azaldığı görülmüştür (97).

CCND1 gen ürünü, G1/S fazı geçişinin düzenlenmesine katkıda bulunur ve bir aday onkogendir. Mesane kanseri progresyonunda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. CCND1'in artmış ekspresyonu, G1 fazını hızlandırır ve tümör hücrelerine proliferatif avantaj sağlar (96). Yapılan çalışmalar, düşük evre ve dereceli tümörlerde daha sık görülen CCND1'in aşırı ekspresyonunun, genel sağkalım ile ilişkili olduğunu tespit etmiştir (76,96).

CCND1 değişikliklerinin, mesane kanserinde erken aşamada olduğu ve ekspresyon kaybının nüks ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (66,82,97).

Oya ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, mesane tümör dokusunda ve mesane hücre hattında, CCND1 ve CCND2 ile CDK2 ve CDK4'ün ekspresyonlarını araştırmışlardır. CCND1'in ekspresyonunu, mesane hücre hattında normal ama tümör dokularında aşırı ekspresse bulmuşlardır (82).

Siklin genlerindeki değişiklikler, Ta mesane kanserlerinde yaygın olarak görülür. İmmünohistokimyasal boyamalar, CCND1'in ekspresyonunun invazyonun ters indikatörü olduğunu göstermiştir (77).

CCND1'in ekspresyonu, çeşitli kanserlerde farklılık gösterir, deregülasyonunun tümör oluşumuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada, CCND1'in immünreaktivitesi, kontrollerle karşılaştırıldığında mesane kanserinde artmış bulunmuştur. Ancak mesane kanserli hastaların klinik yada patolojik karakteristikleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. CCND1'in ekspresyonunun kaybı, univariate (tek değişkenli) analiz ile incelendiğinde mesane kanserine bağlı ölüm oranı ve hastalığın nüks etme olasılığının artması ile ilişkili bulunmuştur. Bu ilişki multivariate (çoklu) analizlerde anlamlı bulunmamıştır (97).

Hücre siklusunda yer alan diğer bir siklin geni CCND3, çok sayıda malign tümörde deregüledir. Mesane kanserinde de deregüle olan CCND3'ün mesanedeki prognostik önemi hakkında sınırlı bilgi vardır (63).

Lopez-Beltran ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, tümör boyutu ile CCND1 ve CCND3'ün ekspresyonlarının, bağımsız ilerlemesiz sağkalım öngörücüsü olduklarını ortaya koymuşlardır. CCND3 ekspresyonu yüksek dereceli mesane kanserinin prognozunda da bir role sahip olabilir. Bu çalışmada CCND1 ekspresyonu, bir prognostik belirteç olarak tartışmalı bulunmuştur. CCND3 overekspresyonu ise, geniş tümör boyutu ve yüksek tümör proliferasyonu ile ilişkilidir. CCND3 ekspresyonu, Ta ve T1 evre mesane tümörlerinde artmış bulunmuştur. Ancak, diğer klinikopatolojik parametrelerle ilişkili değildir. Bu çalışmada CCND3 ekspresyonunun, Ta/T1 mesane kanserli hastaların ilerlemesiz sağkalımı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (63).

Birkhahn ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise, non-invaziv papiller tümörlerde nüks ve progresyon üzerinde etkili olan genler araştırılmış ve CCND3 geninin, nüks ve progresyonda güçlü bir öngörücü olduğu ileri sürülmüştür (8).

Bizim çalışmamızda, normal mesane dokusu ile karşılaştırıldığında mesane tümör dokularında CCND1 ve CCND3 genlerinin ekspresyonları anlamlı oranda artmış

bulunmuştur. Tümör dokularının evre ve dereceleriyle, dokuların ekspresyonları arasında ise bir ilişki bulunmamıştır. Bu bulgular literatür bilgileriyle uyumludur.

Sinyal iletim yolları arasında yer alan STAT3'ün yapısal aktivasyonu insan kanserlerinin çeşitli tiplerinde sıklıkla saptanmıştır. Mesane kanseri hücreleri, STAT3 yolağını hücre büyümesi ve sağkalımı için kullanır. Bu yolda rol oynayan STAT3 geninin yapısal aktivasyonunun, mesane kanseri gelişiminde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (18).

Yapılan bir çalışmada mesane kanserinde STAT3'ün durumu tümör dokularında ve hücre hattında araştırılmıştır. Hem tümör dokularında hem de hücre hattında STAT3 proteininin ekspresyonu yüksek bulunmuştur (18).

STAT3 geninin aşırı ekspresyonu, kötü prognozun habercisidir ve invaziv mesane kanseri hücre hattında ekspresyonunun artmış olduğu bildirilmiştir (73). Artmış STAT3 ekspresyonu, mesane kanserli hastalarda yaşam süresini azaltan ve nüks riskini arttıran bir öngörüdür (70).

Bizim çalışmamızda, normal mesane dokusu ile karşılaştırıldığında mesane tümör dokularında STAT3 geni ekspresyonu anlamlı oranda artmış bulunmuştur. Bu bulgular literatür bilgilerini desteklemektedir. Tümör dokularının evre ve dereceleriyle, dokuların ekspresyonları arasında ise bir ilişki bulunmamıştır.

Tümör büyümesi, hücre proliferasyonunun artmasıyla birlikte yetersiz apoptozise de bağlıdır. Özellikle apoptozise direnç, immün takipten kaçan kanser hücrelerine yardım eder (64). Apoptozis, hücre ölümü ile sonuçlanan basamakları ayarlayan kompleks bir süreçtir. Apoptozis yollarındaki değişiklikler, tümör oluşumunda ve progresyonunda önemlidir, çünkü malign hücrelerin daha uzun süre yaşamalarına, çeşitli gerilimlere direnç kazanmalarına ve proliferasyon olmalarına izin verir (66). Tümör oluşumunda ve progresyonunda önemli bir rol oynayan, Fas ve Fas ligand sistemi en önemli proapoptotik sinyallerden biridir. Fas, TNFR süperaillesine bağlıdır ve sitotoksik immün yanıtta aracılık eder. Sitotoksik T lenfositlerinin ve doğal öldürücü hücrelerin aktivasyonu, hücre yüzeyindeki Fas ligandlarının upregülasyonu ile sonuçlanır ve Fas'ın ekspresyonu ile hedef hücrelerde apoptozis indüklenir. Fas fonksiyonunun kaybı ve immün sistemden kaçan tümör mekanizmaları, hastalık progresyonuna neden olur ve ileri düzeydeki tümörlerin bir karakteristiğidir (64).

Fas, apoptoziste, immün yanıtta ve sinyal iletiminde rol alır. Anormal Fas ekspresyonu, tümör progresyonu ile ilişkilidir. Fas, apoptozisin başlaması için önemlidir

ve azalmış ekspresyonu ileri mesane kanserinin evre, derece ve progresyonuyla ilişkili bulunmuştur (15,66,70).

Fas proteini ekspresyon kaybı, tümörün progresyonuna neden olur. Mesane tümörlerinde normal doku ile karşılaştırıldığında Fas ekspresyonunun total kaybı ya da azalması görülür (79)

Ürogenital malign hücrelerde normal hücrelerden daha düşük Fas ekspresyonu, üriner malign tümörlerin oluşumunun ve progresyonunun sebebi olabilir (58).

Bizim çalışmamızda, normal mesane dokusu ile karşılaştırıldığında mesane tümör dokularında Fas geni ekspresyonunda anlamlı bir fark bulunmamıştır. Tümör dokularının evre ve dereceleriyle, dokuların ekspresyonları arasında da bir ilişki saptanmamıştır. Literatürde de Fas ekspresyonu tümör derecesi ile ilişkili bulunmamıştır. Literatüre göre, ileri evredeki mesane kanserlerinde Fas proteini down regüledir. Bu durum tümör derecesi ile ilişkili değildir ama Fas down regülasyonu tümör evresi ile önemli derecede ilişkilidir. (64)

Sigara kullanımı, mesane kanseri oluşumundaki en önemli risk faktörlerinden biridir (101). Fleshner ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, maligniteleri için tedavi alırken sigara kullanan mesane kanserli hastaların, sigara kullanmayanlara göre tedaviye yanıtta daha kötü neticeye sahip olduklarını göstermişlerdir. Sigara kullanmaya devam eden mesane kanserli hastalar, sigara kullanmayı bırakanlara göre daha hızlı nüks etme eğilimindedirler (32)

Chen ve arkadaşları çalışmalarında, 3 yıl nüksüz yaşamın, sigara kullananlar, kullanmayanlar, daha önce kullanmış olanlar ve kullanmayı bırakanlar arasında değerlendirildiğinde; sigara kullanmaya devam edenlerde nüksüz sağkalım süresinin daha kısa olduğunu göstermişlerdir. Sigara kullanmaya devam edenlerde, sigara kullanmayı bırakanlara göre, hastalığın nüks etme riski 2.2 kat fazla bulunmuştur (17)

Nikotin, sadece sigara kullanımında bağımlılık yapmaktan sorumlu ana komponent değildir, bazı hücresel fonksiyonların (mitojenik yolakların aktivasyonu, anjiyogenezis gibi) değişmesinden de sorumludur. Nikotin maruziyetinin, tedaviye direnç sebep olabileceği ve kanser terapilerinin etkilerini azaltabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Mesane kanserinde uzun süreli nikotin maruziyetinin tedaviye direnç neden olup olmadığının araştırıldığı bir çalışmada, nikotinin STAT3'ü aktive ettiği ve CCND1 geninin aşırı ekspresyonuna yol açarak hücre proliferasyonuna neden olduğu saptanmıştır (20).

Bizim çalışmamızda da CCND1 gen ekspresyonu ile hastaların sigara kullanımları arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Sigara kullanımının, CCND1 gen ekspresyonunu indüklediği düşünülebilir.

Mesane kanseri erkeklerde kadınlardan 3 kat daha sık görülür (116). Ülkemizde ise erkek/kadın oranı 9/1-11/1 gibi çok farklıdır (47). Bu durum, erkeklerin kadınlara göre mesleki etkilenmelere daha fazla maruz kalması ve farklı sigara alışkanlıklarından kaynaklanmaktadır (22). Bizim çalışma grubumuzda 4 kadın, 40 erkek olgu bulunmaktadır. Erkek/kadın oranı 10/1 dir. Bu da Türk toplumundaki görülme sıklığına uygundur.

Tümördeki moleküler değişiklikler, belirlenebilen morfolojik değişikliklerden önce gelirler ve onların biyolojik davranışlarından, prognozdan ve tedaviye yanıtta sorumludurlar. Bu nedenle, ürotelyal karsinomada histopatolojik evrelendirme, moleküler değişikliklerle birlikte tamamlayıcıdır, klinik neticeyi ve tedaviye yanıt tahmin edilmesine yardımcı olur (73). Mesane kanseri yaygın malignitelerden biridir ve progresyonunda ve gelişimdeki moleküler nedenler sıklıkla araştırılmıştır (18). İstatistiksel analizler, mesane kanserinde erken teşhisin sağkalım süresini arttırabileceğini göstermiştir (50).

Sonuç olarak;

- Bu çalışma Türk toplumunda HRAS, CCND1, CCND3, STAT3, FGFR1 ve FAS genlerinin ekspresyon seviyelerinin birlikte incelendiği ilk çalışmadır.
- CCND1 geninin aşırı ekspresyonunun sigara kullanımıyla önemli ölçüde ilişkili olduğu ve bunun sonucunda mesane kanseri gelişimine sebep olabileceği düşünülmüştür.
- FGF sinyal ileti yolağında rol oynayan FGFR1 ve apoptozis yolağında rol oynayan FAS genlerinin ekspresyonları çalışmamızda anlamlı bulunmamıştır.
- RAS sinyal yolağında rol oynayan HRAS, hücre siklusu yolağında rol oynayan CCND1 ve CCND3, STAT yolağında rol oynayan STAT3 genlerinin ekspresyonları çalışmamızda anlamlı oranda artmış bulunmuştur.
- Sinyal iletimi ve onunla ilişkili yolaklarda rol oynayan HRAS, CCND1, CCND3 ve STAT3 genlerindeki ekspresyon artışının, mesane kanseri oluşumunda ve progresyonunda rol oynadığı düşünülebilir.

KAYNAKLAR

1. Abol-Enein H. Infection: is it a cause of bladder cancer. *Scand J Urol Nephrol Suppl.* 2008.Sep;(218):79-84.Review.
2. Aboulkassim TO, LaRue H, Lemieux P, Rousseau F, Fradet Y. Alteration of the PATCHED locus in superficial bladder cancer. *Oncogene.* 2003.May 15;22(19):2967-71.
3. Abraham R, Pagano F, Gomella LG, Baffa R. Chromosomal deletions in bladder cancer: shutting down pathways. *Front Biosci* 2007.Jan 1;12:826-38.
4. Baffa R, Fassan M, Volinia S, O'Hara B, Liu CG, Palazzo JP, Gardiman M, Rugge M, Gomella LG, Croce CM, Rosenberg A. MicroRNA expression profiling of human metastatic cancers identifies cancer gene targets. *J Pathol.* 2009.Oct;219(2):214-21.
5. Bakkar AA, Wallerand H, Radvanyi F, Lahaye JB, Pissard S, Lecerf L, Kouyoumdjian JC, Abbou CC, Pairon JC, Jaurand MC, Thiery JP, Chopin DK, de Medina SG. FGFR3 and TP53 gene mutations define two distinct pathways in urothelial cell carcinoma of the bladder. *Cancer Res.* 2003 Dec 1;63(23):8108-12.
6. Barentsz JO, Witjes JA, and Ruijs JHJ: What is new in bladder cancer imaging. *Urol Clin North Am.* 1997.24: 583–602.
7. Billerey C, Chopin D, Aubriot-Lorton MH, Ricol D, Gil Diez de Medina S, Van Rhijn B, Bralet MP, Lefrere-Belda MA, Lahaye JB, Abbou CC, Bonaventure J, Zafrani ES, van der Kwast T, Thiery JP, Radvanyi F. Frequent FGFR3 mutations in papillary non-invasive bladder (pTa) tumors. *Am J Pathol.* 2001.Jun;158(6):1955-9.
8. Birkhahn M, Mitra AP, Williams AJ, Lam G, Ye W, Datar RH, Balic M, Groshen S, Steven KE, Cote RJ. Predicting recurrence and progression of noninvasive papillary bladder cancer at initial presentation based on quantitative gene expression profiles. *Eur Urol.* 2010 Jan;57(1):12-20. Epub 2009 Sep 9.
9. Blaveri, E., Brewer, J., Roydasgupta, R., Fridlyand, J., DeVries, S., Koppie, T., et al. Bladder cancer stage and outcome by array-based comparative genomic hybridization. *Clin. Cancer Res.* 2005.11, 7012–7022.

10. Boulalas I, Zaravinos A, Karyotis I, Delakas D, Spandidos DA. Activation of RAS family genes in urothelial carcinoma.*J Urol*.2009 May;181(5):2312-9. Epub 2009 Mar 19.
11. Brandau S, Böhle A Bladder cancer. I. Molecular and genetic basis of carcinogenesis.*Eur Urol* 2001 May;39(5):491-7.
12. Cabadak H.Hücre siklusu ve kanser.*ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*.2008;9(3):51–61.
13. Castela JE, Yuan JM, Gago-Dominguez M, Yu MC, Ross RK.Non-steroidal anti-inflammatory drugs and bladder cancer prevention.*Br J Cancer*.2000 Apr; 82(7):1364-9.
14. Castillo-Martin M, Domingo-Domenech J, Karni-Schmidt O, Matos T, Cordon-Cardo C.Molecular pathways of urothelial development and bladder tumorigenesis.*Urol Oncol*. 2010. Jul-Aug;28(4):401-8. Review.
15. Catto JW, Abbod MF, Wild PJ, Linkens DA, Pilarsky C, Rehman I, Rosario DJ, Denzinger S, Burger M, Stoeckl R, Knuechel R, Hartmann A, Hamdy FC. The application of artificial intelligence to microarray data: identification of a novel gene signature to identify bladder cancer progression.*Eur Urol*.2010 Mar; 57(3): 398-406. Epub 2009 Nov 6.
16. Chan MW, Hui AB, Yip SK, Ng CF, Lo KW, Tong JH, Chan AW, Cheung HY, Wong WS, Chan PS, Lai FM, To KF.Progressive increase of genetic alteration in urinary bladder cancer by combined allelotyping analysis and comparative genomic hybridization. *Int J Oncol*.2009.Apr;34(4):963-70.
17. Chen CH, Shun CT, Huang KH, Huang CY, Tsai YC, Yu HJ, Pu YS. Stopping smoking might reduce tumour recurrence in nonmuscle-invasive bladder cancer. *BJU Int*. 2007 Aug;100(2):281-6; discussion 286. Epub 2007 Apr 5.
18. Chen CL, Cen L, Kohout J, Hutzen B, Chan C, Hsieh FC, Loy A, Huang V, Cheng G, Lin J. Signal transducer and activator of transcription 3 activation is associated with bladder cancer cell growth and survival.*Mol Cancer*. 2008 Oct 21;7:78.
19. Chen RJ, Ho YS, Guo HR, Wang YJ. Rapid activation of Stat3 and ERK1/2 by nicotine modulates cell proliferation in human bladder cancer cells.*Toxicol Sci*. 2008 Aug;104(2):283-93.

20. Chen RJ, Ho YS, Guo HR, Wang YJ. Long-term nicotine exposure-induced chemoresistance is mediated by activation of Stat3 and downregulation of ERK1/2 via nAChR and beta-adrenoceptors in human bladder cancer cells. *Toxicol Sci.* 2010 May;115(1):118-30. Epub 2010 Jan 27.
21. Cheng L, Montironi R, Davidson DD, Lopez-Beltran A. Staging and reporting of urothelial carcinoma of the urinary bladder. *Mod Pathol.* 2009 Jun;22 Suppl 2: S70-95. Review.
22. Cheng L, Zhang S, MacLennan GT, Williamson SR, Lopez-Beltran A, Montironi R. Bladder cancer: translating molecular genetic insights into clinical practice. *Hum Pathol.* 2011 Apr;42(4):455-81. Epub 2010 Nov 24. Review.
23. Christoph F, Weikert S, Kempkensteffen C, Krause H, Schostak M, Miller K, Schrader M. Regularly methylated novel pro-apoptotic genes associated with recurrence in transitional cell carcinoma of the bladder. *Int J Cancer.* 2006 Sep 15;119(6):1396-402.
24. Cordon-Cardo C, Cote RJ, Sauter G. Genetic and molecular markers of urothelial premalignancy and malignancy. *Scand J Urol Nephrol Suppl.* 2000;(205):82-93. Review.
25. Cote RJ, Laird PW, Datar RH. Promoter hypermethylation: a new therapeutic target emerges in urothelial cancer. *J Clin Oncol.* 2005 May 1;23(13):2879-81.
26. Del Rey J, Prat E, Ponsa I, Lloreta J, Gelabert A, Algaba F, Camps J, Miró R. Centrosome clustering and cyclin D1 gene amplification in double minutes are common events in chromosomal unstable bladder tumors. *BMC Cancer.* 2010 Jun 11;10:280.
27. Dyrskjöt L, Ostensfeld MS, Bramsen JB, Silahtaroglu AN, Lamy P, Ramanathan R, Fristrup N, Jensen JL, Andersen CL, Zieger K, Kauppinen S, Ulhøi BP, Kjems J, Borre M, Orntoft TF. Genomic profiling of microRNAs in bladder cancer: miR-129 is associated with poor outcome and promotes cell death in vitro. *Cancer Res.* 2009 Jun 1;69(11):4851-60.
28. Emil A. Tanagho, Jac W. McAninch (Editörler). *Smith Genel Üroloji*. Çeviren: G. Kazancı. Bölüm: 20. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2004.
29. Epstein JI. Diagnosis and classification of flat, papillary, and invasive urothelial carcinoma: the WHO/ISUP consensus. *Int J Surg Pathol.* 2010 Jun;18(3 Suppl): 106S-111S.

30. Esteller M. DNA methylation and cancer therapy: new developments and expectations. *Curr Opin Oncol*. 2005 Jan;17(1):55-60.
31. Fadl-Elmula I. Chromosomal changes in uroepithelial carcinomas. *Cell Chromosome*. 2005 Aug 7;4:1.
32. Fleshner N, Garland J, Moadel A, Herr H, Ostroff J, Trambert R, O'Sullivan M, Russo P. Influence of smoking status on the disease-related outcomes of patients with tobacco-associated superficial transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer*. 1999 Dec 1;86(11):2337-45.
33. Fontana D, Bellina M, Scoffone C, Cagnazzi E, Cappia S, Cavallo F, Russo R, Leonardo E. Evaluation of c-ras oncogene product (p21) in superficial bladder cancer. *Eur Urol*. 1996;29(4):470-6.
34. Gago-Dominguez M, Castelao JE, Yuan JM, Yu MC, Ross RK. Use of permanent hair dyes and bladder-cancer risk. *Int J Cancer*. 2001 Feb 15;91(4):575-9.
35. Genkinger JM, De Vivo I, Stampfer MJ, Giovannucci E, Michaud DS. Nonsteroidal antiinflammatory drug use and risk of bladder cancer in the health professionals follow-up study. *Int J Cancer*. 2007 May 15;120(10):2221-5.
36. Giedl J, Wild PJ, Stoehr R, Junker K, Boehm S, van Oers JM, Zwarthoff EC, Blaszyk H, Fine SW, Humphrey PA, Dehner LP, Amin MB, Epstein JI, Hartmann A. Urothelial neoplasms in individuals younger than 20 years show very few genetic alterations and have a favourable clinical outcome. *Verh Dtsch Ges Pathol*. 2006;90:253-63. Abstract.
37. Gofrit ON, Zorn KC, Silvestre J, Shalhav AL, Zagaja GP, Msezane LP, Steinberg GD. The predictive value of multi-targeted fluorescent in-situ hybridization in patients with history of bladder cancer. *Urol Oncol*. 2008 May-Jun;26(3):246-9. Epub 2008 Feb 20.
38. Golka K, Wiese A, Assennato G, Bolt HM. Occupational exposure and urological cancer. *World J Urol*. 2004 Feb;21(6):382-91. Epub 2003 Nov 26.
39. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100:57-70.
40. Hartmann A, Schlake G, Zaak D, Hungerhuber E, Hofstetter A, Hofstaedter F, Knuechel R. Occurrence of chromosome 9 and p53 alterations in multifocal dysplasia and carcinoma in situ of human urinary bladder. *Cancer Res*. 2002 Feb 1;62(3):809-18.

41. Hemminki K, Bermejo JL, Ji J, Kumar R. Familial bladder cancer and the related genes. *Curr Opin Urol*. 2011 Sep;21(5):386-92.
42. Herr HW: Tumor progression and survival of patients with high grade,noninvasive papillary (TaG3) bladder tumors: 15-year outcome. *J Urol* 163: 79-80, 2000.
43. Hirao S, Hirao T, Marsit CJ, Hirao Y, Schned A, Devi-Ashok T, Nelson HH, Andrew A, Karagas MR, Kelsey KT. Loss of heterozygosity on chromosome 9q and p53 alterations in human bladder cancer.*Cancer*.2005 Nov 1;104(9):1918-23.
44. Houskova L, Zemanova Z, Babjuk M, Melichercikova J, Pesl M, Michalova K. Molecular cytogenetic characterization and diagnostics of bladder cancer. *Neoplasma*. 2007;54(6):511-6.
45. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene>
46. <http://www.sabiosciences.com/pathwaycentral.php?application=SIGNAL>
47. İnci O. *Ürogenital Tümörler*. İstanbul. Nobel Tıp Kitapevleri 1995.
48. Jacobs BL, Lee CT, Montie JE.Bladder cancer in 2010: how far have we come?*CA Cancer J Clin*. 2010 Jul-Aug;60(4):244-72. Epub 2010 Jun 21.
49. Jung I, Messing E.Molecular mechanisms and pathways in bladder cancer development and progression. *Cancer Control*. 2000 Jul-Aug;7(4):325-34.
50. Karimianpour N, Mousavi-Shafaei P, Ziaee AA, Akbari MT, Pourmand G, Abedi A, Ahmadi A, Afshin Alavi H. Mutations of RAS gene family in specimens of bladder cancer. *Urol J*. 2008 Fall;5(4):237-42.
51. Kassouf W, Spiess PE, Brown GA, Munsell MF, Grossman HB, Siefker-Radtke A, Dinney CP, Kamat AM.P0 stage at radical cystectomy for bladder cancer is associated with improved outcome independent of traditional clinical risk factors.*Eur Urol*. 2007 Sep;52(3):769-74.
52. Katherine L. Dunn, Paula S. Espino, Bojan Drobic, Shihua He, and James R. Davie.The Ras-MAPK signal transduction pathway, cancer and chromatin remodeling.*Biochem. Cell Biol*.2005, 83: 1–14.
53. Kaufman DS, Shipley WU, Feldman AS. Bladder cancer.*Lancet*. 2009 Jul 18;374(9685):239-49.
54. Kawauchi S, Sakai H, Ikemoto K, Eguchi S, Nakao M, Takihara H, Shimabukuro T, Furuya T, Oga A, Matsuyama H, Takahashi M, Sasaki K.9p21 index as estimated by dual-color fluorescence in situ hybridization is useful to predict

- urothelial carcinoma recurrence in bladder washing cytology.*Hum Pathol.* 2009 Dec;40(12):1783-9. Epub 2009 Sep 5.
55. Kirkali Z, Chan T, Manoharan M, Algaba F, Busch C, Cheng L, Kiemeny L, Kriegmair M, Montironi R, Murphy WM, Sesterhenn IA, Tachibana M, Weider J. Bladder cancer: epidemiology, staging and grading, and diagnosis. *Urology.* 2005 Dec;66(6 Suppl 1):4-34.
 56. Knowles MA. Molecular subtypes of bladder cancer: Jekyll and Hyde or chalk and cheese? *Carcinogenesis.* 2006 Mar;27(3):361-73.
 57. Koed, K., Wiuf, C., Christensen, L., Wikman, F., Zieger, K., Møller, K., von der Maase, H., Orntoft, T. High-density single nucleotide polymorphism array defines novel stage and location-dependent allelic imbalances in human bladder tumors. *Cancer Res.* 65, 34–45, 2005.
 58. Li HJ, Yu LZ, Guo YL, Ding Y. [Expression of Fas in six human urogenital malignant cell lines]. *Ai Zheng.* 2002 May;21(5):456-9. Chinese. Abstract.
 59. Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvuo M, Pukkala E, Skytthe A, Hemminki K. Environmental and heritable factors in the causation of cancer--analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med.* 2000 Jul 13;343(2):78-85.
 60. Lodovici M, Bigagli E. Biomarkers of induced active and passive smoking damage. *Int J Environ Res Public Health.* 2009 Mar;6(3):874-88.
 61. Lopez-Beltran A, Cheng L, Andersson L, Brausi M, de Matteis A, Montironi R, Sesterhenn I, van der Kwast KT, Mazerolles C. Preneoplastic non-papillary lesions and conditions of the urinary bladder: an update based on the Ancona International Consultation. *Virchows Arch.* 2002 Jan;440(1):3-11.
 62. Lopez-Beltran A, Cheng L, Mazzucchelli R, Bianconi M, Blanca A, Scarpelli M, Montironi R. Morphological and molecular profiles and pathways in bladder neoplasms. *Anticancer Res.* 2008 Sep-Oct;28(5B):2893-900.
 63. Lopez-Beltran A, Requena MJ, Luque RJ, Alvarez-Kindelan J, Quintero A, Blanca AM, Rodriguez ME, Siendones E, Montironi R. Cyclin D3 expression in primary Ta/T1 bladder cancer. *J Pathol.* 2006 May;209(1):106-13.
 64. Maas S, Warskulat U, Steinhoff C, Mueller W, Grimm MO, Schulz WA, Seifert HH. Decreased Fas expression in advanced-stage bladder cancer is not related to p53 status. *Urology.* 2004 Feb;63(2):392-7.

65. Maruyama R, Toyooka S, Toyooka KO, Harada K, Virmani AK, Zöchbauer-Müller S, Farinas AJ, Vakar-Lopez F, Minna JD, Sagalowsky A, Czerniak B, Gazdar AF. Aberrant promoter methylation profile of bladder cancer and its relationship to clinicopathological features. *Cancer Res.* 2001. Dec. 15; 61(24): 8659-63.
66. Matsushita K, Cha EK, Matsumoto K, Baba S, Chromecki TF, Fajkovic H, Sun M, Karakiewicz PI, Scherr DS, Shariat SF. Immunohistochemical biomarkers for bladder cancer prognosis. *Int J Urol.* 2011 Sep; 18(9): 616-29.
67. McShane LM, Altman DG, Sauerbrei W. Identification of clinically useful cancer prognostic factors: what are we missing? *J. Natl Cancer Inst.* 2005; 97: 1023–1025.
68. Messing EM, and Vaillancourt A: Hematuria screening for bladder cancer. *J Occup Med* 32: 838–845, 1990.
69. Mhawech-Fauceglia P, Cheney RT, Schwaller J. Genetic alterations in urothelial bladder carcinoma: an updated review. *Cancer.* 2006 Mar 15; 106(6): 1205-16.
70. Mitra AP, Bartsch CC, Cote RJ. Strategies for molecular expression profiling in bladder cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2009 Dec; 28(3-4): 317-26.
71. Mitra AP, Cote RJ. Molecular pathogenesis and diagnostics of bladder cancer. *Annu Rev Pathol.* 2009; 4: 251-85. Review.
72. Mitra N, Indurkha A. A propensity score approach to estimating the cost-effectiveness of medical therapies from observational data. *Health Econ.* 2005 Aug; 14(8): 805-15. abstract.
73. Mitra AP, Pagliarulo V, Yang D, Waldman FM, Datar RH, Skinner DG, Groshen S, Cote RJ. Generation of a concise gene panel for outcome prediction in urinary bladder cancer. *J Clin Oncol.* 2009 Aug 20; 27(24): 3929-37.
74. Montironi R, Mazzucchelli R, Scarpelli M, Lopez-Beltran A, Cheng L. Morphological diagnosis of urothelial neoplasms. *J Clin Pathol.* 2008 Jan; 61(1): 3-10.
75. Mundt KA, Birk T, Burch MT. Critical review of the epidemiological literature on occupational exposure to perchloroethylene and cancer. *Int Arch Occup Environ Health.* 2003 Sep; 76(7): 473-91.
76. Niehans GA, Kratzke RA, Froberg MK, Aeppli DM, Nguyen PL, Geradts J. G1 checkpoint protein and p53 abnormalities occur in most invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder. *Br J Cancer.* 1999 Jun; 80(8): 1175-84.

77. Nord H, Segersten U, Sandgren J, Wester K, Busch C, Menzel U, Komorowski J, Dumanski JP, Malmström PU, Díaz de Ståhl T. Focal amplifications are associated with high grade and recurrences in stage Ta bladder carcinoma. *Int J Cancer*. 2010 Mar 15;126(6):1390-402.
78. Obermann EC, Junker K, Stoehr R, Dietmaier W, Zaak D, Schubert J, Hofstaedter F, Knuechel R, Hartmann A. Frequent genetic alterations in flat urothelial hyperplasias and concomitant papillary bladder cancer as detected by CGH, LOH, and FISH analyses. *J Pathol*. 2003 Jan;199(1):50-7.
79. O'Kane HF, Watson CJ, Johnston SR, Petak I, Watson RW, Williamson KE. Targeting death receptors in bladder, prostate and renal cancer. *J Urol*. 2006 Feb;175(2):432-8. Review.
80. Oosterlinck W. Guidelines on diagnosis and treatment of superficial bladder cancer. *Minerva Urol Nefrol*. 2004 Mar;56(1):65-72.
81. Ortmann RA, Cheng T, Visconti R, Frucht DM, O'Shea JJ, 2000. Janus kinases and signal transducers and activators of transcription: their roles in cytokine signaling, development and immunoregulation. *Arthritis Res*, 2: 16–32.
82. Oya M, Schmidt B, Schmitz-Dräger BJ, Schulz WA. Expression of G1-->S transition regulatory molecules in human urothelial cancer. *Jpn J Cancer Res*. 1998 Jul;89(7):719-26.
83. Paik ML, Scolieri MJ, Brown SL, *et al*: Limitations of computerized tomography in staging invasive bladder cancer before radical cystectomy. *J Urol* 163: 1693–1696, 2000.
84. Parkin DM. The global burden of urinary bladder cancer. *Scand J Urol Nephrol Suppl*. 2008 Sep;(218):12-20. Review.
85. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*. 2005 Mar-Apr;55(2):74-108.
86. Powers CJ, McLeskey SW, Wellstein A. Fibroblast growth factors, their receptors and signaling. *Endocr Relat Cancer*. 2000 Sep;7(3):165-97.
87. Proctor I, Stoeber K, Williams GH. Biomarkers in bladder cancer. *Histopathology*. 2010 Jul;57(1):1-13.
88. Rakesh K, Agrawal DK, 2005. Controlling cytokine signaling by constitutive inhibitors. *Biochem Pharmacol*, 70: 5, 649-657.

89. Reuter VE. The pathology of bladder cancer. *Urology*. 2006 Mar;67(3 Suppl 1):11-7; abst.
90. Rieger-Christ KM, Mourtzin A, Lee PJ, Zagha RM, Cain J, Silverman M, Libertino JA, Summerhayes IC. Identification of fibroblast growth factor receptor 3 mutations in urine sediment DNA samples complements cytology in bladder tumor detection. *Cancer*. 2003 Aug 15;98(4):737-44.
91. Rouissi K, Ouerhani S, Marrakchi R, Ben Slama MR, Sfaxi M, Ayed M, Chebil M, El Gaaied AB. Combined effect of smoking and inherited polymorphisms in arylamine N-acetyltransferase 2, glutathione S-transferases M1 and T1 on bladder cancer in a Tunisian population. *Cancer Genet Cytogenet*. 2009 Apr 15;190(2):101-7.
92. Saika T, Tsushima T, Nasu Y, Arata R, Kaku H, Kusaka N and Kumon H: Clinical study of G3 superficial bladder cancer without concomitant CIS treated with conservative therapy. *JpnJ Clin Oncol* 32: 461-565, 2002.
93. Sandberg AA Cytogenetics and molecular genetics of bladder cancer: a personal view. *Am J Med Genet*. 2002 Oct 30;115(3):173-82.
94. Sandhu JS, Vickers AJ, Bochner B, Donat SM, Herr HW, Dalbagni G. Clinical characteristics of bladder cancer in patients previously treated with radiation for prostate cancer. *BJU Int*. 2006 Jul;98(1):59-62.
95. Schulz WA. Understanding urothelial carcinoma through cancer pathways. *Int J Cancer*. 2006 Oct 1;119(7):1513-8.
96. Sgambato A, Migaldi M, Faraglia B, De Aloysio G, Ferrari P, Ardito R, De Gaetani C, Capelli G, Cittadini A, Trentini GP. Cyclin D1 expression in papillary superficial bladder cancer: its association with other cell cycle-associated proteins, cell proliferation and clinical outcome. *Int J Cancer*. 2002 Feb 10;97(5):671-8.
97. Shariat SF, Ashfaq R, Sagalowsky AI, Lotan Y. Correlation of cyclin D1 and E1 expression with bladder cancer presence, invasion, progression, and metastasis. *Hum Pathol*. 2006 Dec;37(12):1568-76. Epub 2006 Aug 10.
98. Shokeir AA. Squamous cell carcinoma of the bladder: pathology, diagnosis and treatment. *BJU Int*. 2004 Jan;93(2):216-20.
99. Sobin L, Gospodarowicz M, Wittekind C. (Editörler) Renal pelvis and ureter. In: TNM classification of malign tumours. Urological tumours.

- International Union Against Cancer*.ed 7 rev.New York, NY: Wiley-Blackwell; 2009,p. 258-61.
- 100.Spandidos DA, Lang JC.In vitro cell transformation by ras oncogenes. *Crit Rev Oncog*. 1989;1(2):195-209.
 - 101.Stewart SL, Cardinez CJ, Richardson LC, Norman L, Kaufmann R, Pechacek TF, Thompson TD, Weir HK, Sabatino SA; Centers for Disease Control and Prevention (CDC).Surveillance for cancers associated with tobacco use--United States, 1999-2004.*MMWR Surveill Summ*. 2008 Sep 5;57(8):1-33.
 - 102.Sultana SR, Goodman CM, Byrne DJ, Baxby K.: Microscopic haematuria: urological investigation using a standard protocol. *Br J Urol* 78: 691–698, 1996.
 - 103.Steelman LS, Abrams SL, Whelan J, Bertrand FE, Ludwig DE, Basecke J, Libra M, Stivala F, Milella M, Tafuri A, Lunghi P, Bonati A, Martelli AM, McCubrey JA. Contributions of the Raf/MEK/ERK, PI3K/PTEN/Akt/mTOR and Jak/STAT pathways to leukemia. *Leukemia* 22(4): 686-707, 2008.
 - 104.Telkoparan P, Tazebay UH. Ras Family of Proteins: Cellular Function, Molecular Control, and its Role in Oncogenesis. *Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem]* 2011; 36 (4) ; 367–373.
 - 105.Terai A. Familial bladder cancer. *Nihon Rinsho*. 1995 Nov;53(11):2749-53.
 - 106.Tomlinson DC, Knowles MA. Altered splicing of FGFR1 is associated with high tumor grade and stage and leads to increased sensitivity to FGF1 in bladder cancer. *Am J Pathol*. 2010 Nov;177(5):2379-86.
 - 107.Tomlinson DC, Lamont FR, Shnyder SD, Knowles MA.Fibroblast growth factor receptor 1 promotes proliferation and survival via activation of the mitogen-activated protein kinase pathway in bladder cancer.*Cancer Res*. 2009 Jun 1;69(11):4613-20.
 - 108.Tuncer M.(Ed). *T.C. Sağlık Bakanlığı, Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı, Ulusal Kanser Pprogramı* (2009-2015),NO:760, Nisan-2009. Erişim Tarihi:05.04.2011 <http://www.kanser.gov.tr/index.php?cat=51>.
 - 109.ULUKAYA E.Bölüm III.Hücre Siklusu ve Apoptozis.ENGİN K., ÖZYARDIMCI N. (Ed).*Akciğer Kanserleri, Tanı ve Tedavide Temel İlkeler ve Uygulamalar*, Avrupa Tıp Kitapçılık Bursa,2001.
 - 110.Van Oers JM, Adam C, Denzinger S, Stoeck R, Bertz S, Zaak D, Stief C, Hofstaedter F, Zwarthoff EC, van der Kwast TH, Knuechel R, Hartmann

- A. Chromosome 9 deletions are more frequent than FGFR3 mutations in flat urothelial hyperplasias of the bladder. *Int J Cancer*. 2006 Sep 1;119(5):1212-5.
111. Van Rhijn BW, Montironi R, Zwarthoff EC, Jöbsis AC, van der Kwast TH. Frequent FGFR3 mutations in urothelial papilloma. *J Pathol*. 2002 Oct;198(2):245-51.
 112. Van Rhijn BW, van der Kwast TH, Vis AN, Kirkels WJ, Boevé ER, Jöbsis AC, Zwarthoff EC. FGFR3 and P53 characterize alternative genetic pathways in the pathogenesis of urothelial cell carcinoma. *Cancer Res*. 2004 Mar 15;64(6):1911-4.
 113. Vermeulen K, Van Bockstaele DR, Berneman ZN. The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer. *Cell Prolif*. 2003 Jun;36(3): 131-49. Review.
 114. Vermeulen K, Van Bockstaele DR, Berneman ZN. Apoptosis: mechanisms and relevance in cancer. *Ann Hematol*. 2005. 84: 627–639.
 115. Voges GE, Tauschke E, Stockle M, *et al*: Computerized tomography: an unreliable method for accurate staging of bladder tumors in patients who are candidates for radical cystectomy. *J Urol* 142: 972–974, 1989.
 116. Volanis D, Kadiyska T, Galanis A, Delakas D, Logotheti S, Zoumpourlis V. Environmental factors and genetic susceptibility promote urinary bladder cancer. *Toxicol Lett*. 2010 Mar 15;193(2):131-7. Epub 2010 Jan 4. Review.
 117. Wallerand H, Bakkar AA, de Medina SG, Pairon JC, Yang YC, Vordos D, Bittard H, Fauconnet S, Kouyoumdjian JC, Jaurand MC, Zhang ZF, Radvanyi F, Thierry JP, Chopin DK. Mutations in TP53, but not FGFR3, in urothelial cell carcinoma of the bladder are influenced by smoking: contribution of exogenous versus endogenous carcinogens. *Carcinogenesis*. 2005 Jan;26(1):177-84.
 118. Wang G, Zhang H, He H, Tong W, Wang B, Liao G, Chen Z, Du C. Up-regulation of microRNA in bladder tumor tissue is not common. *Int Urol Nephrol*. 2010 Mar;42(1):95-102.
 119. Whitson J, Berry A, Carroll P, Konety B. A multicolour fluorescence in situ hybridization test predicts recurrence in patients with high-risk superficial bladder tumours undergoing intravesical therapy. *BJU Int*. 2009 Aug;104(3):336-9. Epub 2009 Feb 10.
 120. Williamson SR, Montironi R, Lopez-Beltran A, MacLennan GT, Davidson DD, Cheng L. Diagnosis, evaluation and treatment of carcinoma in situ of the urinary

- bladder: the state of the art. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2010 Nov;76(2):112-26. Epub 2010 Jan 25.
121. Wolff DJ. The genetics of bladder cancer: a cytogeneticist's perspective. *Cytogenet Genome Res*. 2007;118(2-4):177-81.
122. Wu XR. Urothelial tumorigenesis: a tale of divergent pathways. *Nat Rev Cancer* 2005;5:713-25.
123. Zeegers MP, Kellen E, Buntinx F, Van Den Brandt PA. The association between smoking, beverage consumption, diet and bladder cancer: a systematic literature review. *World J Urol*. 2004. Feb;21(6):392-401.

FORMLAR

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIBBİ GENETİK BİLİM DALI**

MOLEKÜLER ARAŞTIRMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Proje Adı: “MESANE TÜMÖRLÜ OLGULARIN BİYOPSİ ÖRNEKLERİNDE SİNYAL İLETİ YOLAKLARININ ROLLERİNİN ARAŞTIRILMASI”

Hastalık adı: MESANE TÜMÖRÜ

Versiyon no :

Tarih :

Mesane idrar depolamakla görevli organımızdır.İdrar böbrekte oluşur ve iç idrar yollarıyla (ureter) mesaneye ulaştırılır. Yaklaşık yarım litreye yakın idrar depolama kabiliyetine sahiptir.Mesane dolduğunda ortaya çıkan sinyaller bizde idrar yapma ihtiyacı doğurur. İdrar kesesi idrar yaparken aktif olarak kasılarak oluşturduğu iç basıçla idrarı alt idrar yolundan(uretra) dışarı atar. Mesane iç yüzeyi özel bir hücre tabakasıyla döşelidir.Bu hücreler idrar kesesini, idrarın tahriş edici etkisinden korurlar.Yaşam döngüleri boyunca çoğalarak ölürlar ve yerlerini genç hücrelere bırakırlar.Kanserde ise bu hücreler kontrolsüz olarak çoğalarak sağlam dokuları işgal ederler.Bu durum bazen tümör gelişimi olarak adlandırılırsa da her tümör kanser özelliği taşımayabilir. Bu nedenle hastalık için 'kötü huylu tümör' tanımlaması daha uygun olur. Tümörle ilgili kanıtlar ortaya çıkınca tanı için ufak bir doku örneği alınarak mikroskop altında incelenir. Dokunun iyi huylu mu yoksa kötü huylu mu olduğu ortaya konur.Eğer kaba görünüm olarak tümör tanısı kesinse ufak bir parça almak yerine tümörün hepsi kazanarak da tanıya gidilebilir.Mesane tümörlerinin çoğunun kötülük derecesi düşük seviyededir. Kötülük derecesi yüksek olan tümörler, idrar kesesi çeperine, komşu organlara ve uzak vücut bölgelerine yayılma gösterirler. Ancak en kötü dereceli mesane tümörleri bile erken evrelerde idrar kesesini aşmamış halde bulunur ve bu evrede tedavi tümörü tümüyle temizleyebilir. Tedavi başarılı olsa bile yeni tümör gelişme riski yüksek olduğundan düzenli takip gereklidir.

Bu araştırmada, Mesane tümörü ön tanısıyla gelen vakalarda, ameliyatla alınan tümör dokusundan moleküler genetik incelemeler yapılacaktır.Bu incelemelerin amacı, mesane tümörü oluşumuna katkıda bulunan genleri (Gen; vücudumuzun gereksinim duyduğu tüm bilgileri içeren, canlının kalıtsal özelliklerinden herhangi birini taşıyan parçasıdır) belirlemek ve bunların hastalık sürecine etkisini araştırmaktır. Böylesi bir çalışmaya katılma kararı vermeden önce sizleri çalışmanın amacı, riskleri ve yararları konusunda bilgilendirmek istiyoruz. Aşağıdaki **Moleküler Araştırmalar için Bilgilendirilmiş Olur Formunu** okuduktan sonra çalışmaya katılma kararı verirsiniz formu lütfen imzalayınız.

1.Yapılacak işlemin tanımı:

Araştırmanın amacı sizde/ aile bireylerinizde yukarıda belirtilen genetik hastalığa yol açan genetik faktörleri tanımlamaktır. İncelememizde, Mesane tümörünün oluşum sürecine katkıda bulunan genlerin yapısındaki değişiklikleri inceleyerek, bu değişikliklerin hastalığın seyri üzerine etkisini araştırmayı amaçlamaktayız. Bu çalışmalar İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıbbi Genetik Bilim Dalı tarafından yürütülecektir. Yapılan epidemiyolojik ve genetik çalışmalar, bu hastalığa genetik faktörlerin yol açabileceğini düşündürmektedir. Hastalığa neden olan gen ve genlerin tanımlanabilmesi amacı ile yapılacak analizler için sizden tanı/tedavi amacı ile alınmış olan mevcut tümör doku örnekleriniz

kullanılacaktır. Eldeki örneklerin yetersiz olması ya da kullanılamaması durumunda sizden yeniden doku örnekleri istenmeyecektir, sadece rutin analiz için patoloji bölümüne gönderilecek olan materyalde araştırmalar yapılacaktır.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmada gönüllü katılım esas alınmıştır. Bu çalışma için sizden alınan doku örneklerinizden elde edilecek DNA/RNA örnekleri başka bir çalışma için kullanılmayacaktır.

2. Olası riskler ve faydalar :

Yapılacak genetik testin getirebileceği olası riskler: Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir. Size ait genetik bilgi kesinlikle gizli kalacaktır. Ancak yaptığımız testlerin sizin veya ailenizin bir bireyinin gelecekte bu genetik hastalıktan etkileneneğini ortaya çıkarabileceğini belirtmek isteriz. Bu bilginin kötü yönde kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizde psikolojik sorun da yaratabilir. Sizde böyle bir gen bulunduğunu saptadığımızda bulgularımızı istediğiniz takdirde size bildireceğiz. Ancak bu bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Bu bilgiyi sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin izninize bağlı olacaktır. Genetik testlerin önemli bir riski de bu testler sonucunda anne yada babanın biyolojik kimliğinin saptanmasıdır. Bu durumlarda da gizlilik ilkesine bağlı kalınacaktır.

ve bunun ilerdeki kuşaklar için bir risk oluşturduğunu bulabiliriz. Bu bulgularımız çocuklara erişkin çağa ulaşmaya kadar anlatılmayacak ve onlarla tartışılmayacaktır. Erişkin dönemlerinde kendi arzuları doğrultusunda bilgi ve genetik danışma sağlanacaktır. Bu açıklamalar doğrultusunda çocuğunuzun bu çalışmaya katılması için tercihen her iki ebeveynin, eğer mevcut değilse bir tanesinin izin formunu imzalaması gerekmektedir.

Olası yararlar: Bu çalışmanın esas amacı hastalığınız sırasında ortaya çıkan/çıkma olasılığı bulunan gen düzeyindeki değişiklikleri araştırmaktır. Mesane tümörünün gelişimi/oluşumu konusuna ışık tutabilir. Biz bu aşamada size veya çocuğunuza doğrudan yada dolaylı bir yararının olup olmayacağını henüz bilmiyoruz. Fakat kesin olan bu hastalığın nedenleri konusunda daha çok şey öğrenebileceğimiz ve böylece gelecekte diğer hastalara daha çok yardımcı olabileceğimizeyizdir.

Diğer seçenekler: Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz.

Uygulanacak işlemin yapısı ve amacı hakkında, olası riskleri ve yararları tarafımdan ,

(Doktor Adı)

hastaya,

(Aile Adı)

anlatılmıştır. Sorulan sorular tarafımdan cevaplandırılmış ve cevaplandırılmaya devam edilecektir.

Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek yeni riskler ve/veya yararlar tarafımdan katılımcıya iletilecektir.

Tarih :

Doktorun imzası:

Kontak kurulabilecek kişiler:

Ulaşılabilecek Tel. No.'ları:

Ulaşım Adresi:

Elektronik Posta Adresi:

İzin: Yukarıda tanımlanan araştırmanın uygulanması, riskleri ve yararları ile ilgili yeterince bilgi aldım. Bu çalışmaya kendimin (çocuğumun) katılmasına izin veriyorum. Çalışmanın herhangi bir aşamasında şayet vazgeçersem onayımı çekmek hakkında özgür olduğumu biliyorum. Bu nedenle kendimin/çocuğumun bir zarar görmeyeceğini anladım. Araştırma bulguları, ailemdaki genetik hastalığın klinik ve moleküler tanısına ve tedavisine faydalı sonuçlar vermesi durumunda bana rapor edileceğini kabul ettiğimi bildirmek istiyorum.

[illegible]

ETİK KURUL KARARI



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
ETİK DEĞERLENDİRME KOMİSYONU



Sayı : 492

Tarih : 11/08/2010

Konu : Prof.Dr. Şükrü PALANDUZ hk,

Sayın Prof.Dr. Şükrü PALANDUZ
İç Hastalıkları Anabilim Dalı
Tıbbi Genetik Bilim Öğretim Üyesi
İlgi : 28.07.2010 tarihli 3059 sayılı yazınız

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve doktora öğrencisi Ayşe Gül BAYRAK'ın yürüteceği 2010/105-25 dosya numaralı "Mesane Tümörlü Olguların Biyopsi Örneklerinde Sinyal İletim Yollarının Rollerinin Araştırılması" başlıklı doktora tez çalışması Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmesi şartı ile komisyonumuzun 09.06.2010 tarihli 01 sayılı toplantısında onaylanmış olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize saygılarımla rica ederim.

Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakültesi Dekanlığı
Etik Değerlendirme Komisyon Başkanı

Eki: Tutanak

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
ETİK DEĞERLENDİRME KOMİSYONU



Toplantı Tarihi : 09/06/2010

Toplantı Yeri : Behçet Kütüphanesi Etik Değerlendirme Komisyonu Toplantı Salonu

Toplantı Sayısı : 01

Sorumlu araştırmacılığını Fakültemiz İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıbbi Genetik Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Şükrü PALANDUZ'un üstlendiği ve doktora öğrencisi Ayşe Gül BAYRAK'ın yürüteceği 2010/105-25 dosya numaralı "Mesane Tümörlü Olguların Biyopsi Örneklerinde Sinyal İletici Yolaklarının Rollerinin Araştırılması" başlıklı doktora tez çalışması komisyonumuzca incelendi.

Etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmesi şartı ile uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN

İ.Ü. Farmakoloji ve Klinik Far. A.D.
Etik Değerlendirme Komisyon Başkanı

Prof.Dr. Berrin UMMAN

İ.Ü. Kardiyoloji A.D. (Bşk. Yardımcısı)

Prof.Dr. Ahmet GÜL

İ.Ü. İç Hastalıkları A. D.

Prof.Dr. Oğuzhan ÇOBAN

İ.Ü. Nöroloji A. D.

Prof.Dr. Pınar SAİP

İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü

Prof.Dr. Rukiye Eker ÖMEROĞLU

İ.Ü. Çocuk Sağ. ve Hast. A. D.

Uzm.Dr. Ahmet Rıza URAS

Vakıf Gureba E. ve Araş. Hst. Biyokimya

Doç.Dr. H. Hanzade DOĞAN

İ.Ü. Cerrahpaşa T.F. Deontoloji

Prof.Dr. Ayşen BULUT

Halk Sağlığı (Emekli)

Doç.Dr. Tufan TÜKEK

Vakıf Gureba E. ve Araş. Hst. İç Hast.

Prof.Dr. Ünal KUZGUN (T. Katılmadı)

Şişli Etfal Eğitim ve Araş. Hst. Ortopedi

Prof.Dr. Ahmet O. ARAMAN (T. Katılmadı)

İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Eczacı

Prof.Dr. Demir TIRYAKI

Biyofizik (Emekli)

Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK

İstanbul Üniversitesi

M. Kerim AKMAN

İİBF İktisat Bölümü (Özel)

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	AYŞE GÜL	Soyadı	BAYRAK
Doğ.Yeri	OF	Doğ.Tar.	1976
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	29171426440
Email	bayrak.aysegul@yahoo.com abayrak@istanbul.edu.tr	Tel	(0212) 414 20 00 / 31371

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İ.Ü.Sağlık Bilimleri Enstitüsü-Genetik Programı	2012
Yük.Lis.	İ.Ü.Sağlık Bilimleri Enstitüsü-Genetik Programı	2000
Lisans	İ.Ü.Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	1997
Lise	Beşiktaş Lisesi	1993

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Uzm.Biyolog	İÜ.İstanbul Tıp Fakültesi,İç Hast.Tıbbi Genetik	2002-halen
2.	Uzm.Biyolog	İÜ.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	2002-2002
3.	Müdür Yardımcısı	Edirnekapi İ.Ö.O.	1999-2002
4.	Öğretmen	Edirnekapi İ.Ö.O.	1998-1999

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	iyi	orta	orta	71.250	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Windows	Çok iyi
Microsoft Office Programları	Çok iyi
Sitogenetik analiz programları (Lucia cytogenetics, Metasystem, Applied imaging, Ankagen)	Çok iyi

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri:

Uluslararası Bilimsel Yayınlar :

1. Palanduz S, **Bayrak A**, Sirma S, Vural B, Cefle K, Ucur A, Ozturk S, Yenerel MN, Besisik SK, Yavuz S, Diz-Kucukkaya R, Sargin D, Nalcaci M, Pekcelen Y, Ozbek U. Comparison of the cytogenetic and molecular analyses in the assessment of imatinib response in chronic myelocytic leukemia. Genet Test Mol Biomarkers. 2009 Oct;13(5):599-602.
2. Pehlivan D, Abe S, Öztürk Ş, Kayhan KB, Gündüz E, Çefle K, **Bayrak A**, Ark N, Gündüz M, PalAnduz Ş. Cytogenetic analysis and examination of SOS1 gene mutation in a Turkish family with hereditary gingival fibromatosis. Journal of hard tissue biology.18(3),2009:131-134.
3. Cefle K, Ucur A, Guney N, Ozturk S, Palanduz S, Tas F, Asoglu O, **Bayrak A**, Muslumanoglu M, Aydinler A. Increased sister chromatid exchange frequency in young women with breast cancer and in their first-degree relatives. Cancer Genet Cytogenet. 2006 Nov;171(1):65-7.

Ulusal Bilimsel Yayınlar :

1. Yavuz AS, Elçioğlu ÖC, Akpınar T, Coşan F, Uçur A, **Bayrak A**, Çefle K, Öztürk Ş, Palanduz Ş, Yenerel MN, Aktan M, Nalçacı M. Nilotinib efficacy in 21 imatinib resistant or intolerant t(9;22) positive chronic myeloid leukemia patients with and without additional chromosomal changes. Nobel Medicus. 2010.6(2):57-62.

Sempozyum ve Kurslar :

1. Moleküler Biyolojide Yeni Teknolojiler Kursu. 26.10.2011, Antalya.
2. Teorik ve Uygulamalı Sitogenetik-FISH Kursu. 4-8.10.2010, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi.
3. Gene Therapy Symposium, November 2-3, 2007, Yeditepe University.
4. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu. 13-14.06.2005, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi.