

Mesane Tümörlerinde Sitogenetik Çalışmalar

Ünal EGELİ*
Bülent OKTAY**
Mustafa ÖZYURT**

ÖZET

Bu çalışmada 8 mesane kanserli hastadan direkt kromozom analizi yöntemi ile sitogenetik değerlendirme yapılarak tümör hücrelerindeki karyotipik değişiklikler araştırıldı. Tümörlerin hepsinde gerek sayısal gerekse yapısal kromozom kusurları saptandı. Sayısal kusurların genellikle near triploidi ve near tetraploidi şeklinde olduğu belirlendi. Yapısal kusurların ise kırık, delesyon, translokasyon ve ring kromozomu şeklinde olduğu gözlemlendi. Yapılan karyotiplerde A_1q^- , A_2p^- , q^- , A_3p^- , q^- , B_4q^+ , B_5p^- , q^- , D_{13p}^+ ve G_{21r} marker kromozomlar belirlendi.

SUMMARY

Cytogenetic Study in Bladder Tumors

In this study a cytogenetic evaluation of karyotypical changes of tumor cells was made by using chromosome analysis method for 8 patients with bladder cancer. It has determined that all tumor cells have

* Yard. Doç. Dr.; U.Ü. Fen Fakültesi, Genel Biyoloji Anabilim Dalı.

** Doç. Dr.; U.Ü. Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı.

*** Prof. Dr.; U.Ü. Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı.

structural and numerical chromosome defects. The numerical chromosome defects were in the form of near triploid and near tetraploid. The structural chromosome defects breaks, deletions, translocations and in the form of ring chromosomes. In these investigated karyotypes A_1q^- , A_2p^- , q^- , A_3p^- , q^- , B_4q^+ , B_5p^- , q^- , $D_{13}p^+$ and $G_{21}r$ marker chromosomes are observed.

GİRİŞ

İnsan neoplazilerinde onkogenlerin aktivasyonu ile neoplazi gelişimi arasında yakın bir ilişkinin olduğu birçok araştırmacı tarafından belirlenmiştir^{1,2}. Belli bir kromozom bölgesi içine lokalize olan bazı protoonkogen ya da onkogenler direkt olarak kromozomu etkileyerek özellikle kırıklar yoluyla translokasyon, delesyon, inversiyon ve ring kromozomu gibi kromozom yapı kusurlarına sebep olurlar^{1,2}. Son yıllarda yapılan ileri sitogenetik ve gen analizi çalışmaları ile bazı kanserlerde belirli fragil bölgelerin varlığı saptanmış olup, bunların protoonkogen ve onkogenleri içeren kanser oluşum bölgeleri olabilecekleri düşünülmektedir². Buna karşın kromozomal değişikliklerin onkogen aktivasyonu ile direkt alakalı olduğu belirlenmiş bulunmaktadır³. Mesane kanserli hastalarda tümör hücrelerinin sitogenetik analizi mesanenin transisyonel hücre karsinomunun biyolojik davranışı hakkında önceden bize faydalı bilgiler verebilir^{4,5,6}. Bugüne kadar mesane tümörleri ile yapılan çalışmalarda 1, 2, 3, 4, 5, 6, 11, 13. cü kromozomlarda yapısal kusurlar, 7. ci kromozomda trisomi, 19. cu kromozomda ise monosomi belirlenmiştir^{7,8,9}. Biz araştırmamızda mesane tümörlerinden sitogenetik değerlendirme yaparak kromozomlardaki yapısal ve sayısal değişiklikleri ve yapısal kusurlar sonucu oluşan marker kromozomları belirlemeye çalıştık. Tümör dokusu hücrelerinde marker kromozomların genel olarak A, B ve D grubu kromozomlarda oluştuğunu gözlemledik.

MATERYAL VE METOD

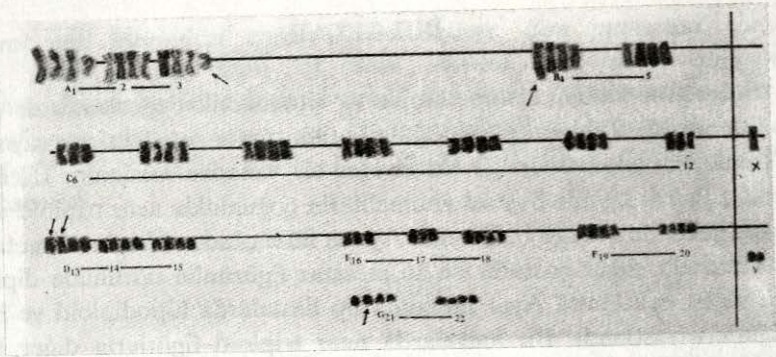
Daha önceden radyoterapi veya kemoterapi tedavisi görmemiş 8 mesane tümürlü hastadan alınan tümör dokuları 0.05 µg/ml cholcicine içeren T.C. Medium 199 solüsyonu içine alındı. 30-45 dakika 37°C'lik etüvde bekletildi. Bu sürenin sonunda 30 dakika süre ile 0.075 M KCl solüsyonu içinde hipotonik şok uygulandı. Bu işlemden sonra 30 dakika süre ile 3/1 methanol acetic acid solüsyonu ile fixe edildi^{8,9,10}. En son aşamada ise preparatlar havada kurutulularak gimza boyası ile boyandı ve ışık mikroskopunda değerlendirilecek hale getirildi. Ayrıca doku örneklerinden bir kısmı da patoloji laboratuvarına gönderilerek tümör stage ve grade'i belirlendi.

BULGULAR

Bulguların klinik, histopatolojik ve sitogenetik değerlendirme sonuçları Tablo I'de verildi. Tabloda görüldüğü gibi tüm tümör örneklerinde sayısal ve yapısal kromozom anomalileri gözlemlendi. Her bir vakadan minimum 15, maximum 25 metafaz figürü sayıldı. Sayısal anomalilerin çoğunlukla near triploid veya near tetraploid şeklinde olduğu belirlendi. Ayrıca iki hastadan birinin 25 metafaz figürünün sekizinde, diğer hastada ise 16 metafaz figürünün dördünde diploid kromozom yapısı belirlendi. Aynı zamanda bu hastalarda hipodiploid ve hiperdiploid figürlere rastlandı. Bu hastalarda near triploid figürlerin diğer hastalara göre daha az oranda olduğu gözlemlendi. Near tetraploid figürlere ise hiç rastlanılmadı. Hastaların tümünden yapılan karyotip değerlendirmelerinde A_1q^- , A_2p^- , q^- , A_3p^- , q^- , B_4q^+ , B_5p^- , q^- , D_{13p}^+ , G_{21r} şeklinde marker kromozomlar belirlendi.

Tablo: I- 8 Mesane Tümörlü Hastanın Klinik, Histopatolojik ve Sitogenetik Bulguları

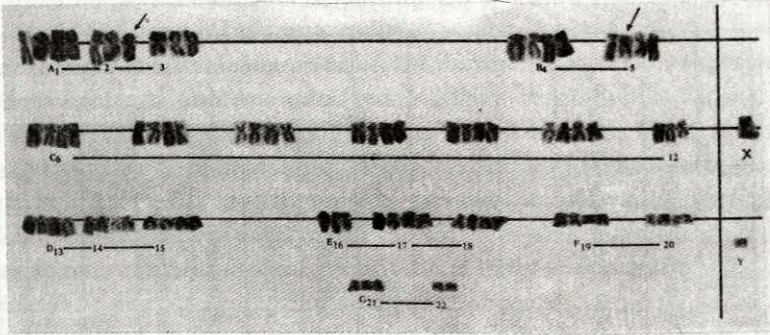
Vaka No.	Seks	Yaş (Yıl)	İncelenen Metafaz Sayısı	Model Kromozom Sayısı	Stage	Grade	Diploid	Kromozom Sayı Anomalileri				Kromozom Yapı Anomalileri			
								Hipodiploid	Hiperdiploid	Near triploid	Near tetraploid	Kırık	Delesyon	Translokasyon	Ring Kromozom
1	E	47	20	65-87	III	II-III	—	—	—	5	9	1	2	2	1
2	E	63	25	44-77	I	II	8	5	6	3	—	1	1	1	—
3	E	76	15	58-85	III	II-III	—	—	2	2	8	1	1	—	1
4	E	57	25	75-90	III	III	—	—	—	—	19	1	1	2	2
5	E	59	20	67-89	III	III	—	—	—	5	7	3	1	3	1
6	E	65	18	69-91	III	II-III	—	—	—	3	8	1	4	—	2
7	E	67	19	43-71	I	II	4	3	5	2	—	3	2	—	—
8	E	61	20	68-89	III	III	—	—	—	5	9	1	3	2	—



Figür: 1

Vaka no 4: 88XYY, +Y, +1, +1, +2, +2, +3, +3 del (p^- , q^-), +4 $t(q^+)$, +4, +5, +6, +7, +7, +8, +8, +9, +9, +10, +10, +11, +11, +12, +13 $t(p^+)$, +13 $t(p^+)$, +14, +14, +15, +15, +16, +17, +18, +18, +19, +19, +20, +20, +21, +21r, +22, +22.

Near tetraploid karyotip yapısı.



Figür: 2

Vaka no 6: 83XY, +1, +1, +2 del (p^- , q^-), +3, +4, +4, +5, +5 del (p^-), +6, +6, +7, +7, +8, +8, +9, +9, +10, +10, +11, +11, +12, +13, +13, +14, +14, +15, +15, +16, +17, +17, +18, +18, +19, +19, +20, +20, +21. Near tetraploid karyotip yapısı.

TARTIŞMA

Kanserde sitogenetik çalışmaların temel amacı gerek primer, gerekse sekonder kromozom değişikliklerini saptayarak bu değişiklikleri klinik, etiyolojik, patolojik, terapeutik ve prognostik parametrelerle birleştirmektir^{11,12}. Bugüne kadar yapılan sitogenetik çalışmalarda mesane tümörlerinde 5p izokromozom,

trisomi 7 ve monosomi 9 şeklinde primer kromozom değişiklikleri ve buna ilaveten 1, 3, 4, 5, 8, 11, 13 ve 17. kromozomlarda sekonder spesifik kromozom strüktür kusurları belirlenmiştir^{2,9,12}. Genel olarak bu kromozomlar marker kromozomlar olarak düşünülmüştür. Son yıllarda yapılan ileri sitogenetik ve gen analizi çalışmalarında 11. kromozomun kısa kolunda c-Ha-ras-1, 5. kromozomda c-fms, 7. kromozomda c-erb-B ve 9. kromozomda c-abl onkogenlerinin saptanması onkogen aktivasyonu ile kromozomal değişiklikler ve malignite arasında direkt bir ilişkinin olduğunu ortaya koymuş bulunmaktadır^{2,3}. 8 mesane kanserli hasta üzerinde gerçekleştirilen bu çalışmada hem sayısal hem de yapısal kromozom kusurları değerlendirildi. Sitogenetik değerlendirme ve karyotip analizi sonucunda tüm tümör doku örneklerinde hem yapısal hem de sayısal kromozom defektlerine rastlanıldı. Genel olarak tümör hücrelerindeki kromozom sayısının 43-91 arasında değiştiği saptandı. Sayısal anomalilerin hipodiploid, hiperdiploid, near triploid ve near tetraploid şeklinde olduğu belirlendi. Fakat en yüksek oranda near tetraploidiye rastlanıldı. Sadece iki hastanın tümör hücre metafaz figürlerinde diploidi gözlemlendi. Bu durumun bu iki hastanın stromanın düşük olmasından kaynaklanabileceği düşünüldü. Çünkü literatürde bazı araştırmalarda belirtildiği gibi tümör grade ve stage'i ile kromozom sayısı değişiklikleri arasında doğru bir orantı bulunmaktadır². Stage ve grade ilerledikçe buna paralel olarak kromozom sayısı artmaktadır². Biz tümör hücrelerinden elde ettiğimiz metafaz figürlerinde ve karyotip değerlendirmelerinde tüm örneklerde delesyon, translokasyon ve ring kromozomu şeklinde kromozom yapı kusurları saptadık. En sık oranda A_1q^- , $A_3p^- q^-$, B_4q^+ , B_5p^- ve D_{13p}^+ şeklinde kromozom yapı kusurları belirlendi ve bunların marker kromozomlar olduğu sonucuna varıldı. Bu bulgularımızın literatürle de paralellik göstermesine rağmen^{2,8,13,14,15,16,17} $11p^-$ ve 9 monosomi şeklinde kromozom yapı ve sayı kusurlarına rastlanmadı. Bu durumun nedenini bazı araştırmalarda^{2,15} belirtilen mesane kanserlerinde farklı karyotipik değişikliklerin sebebinin farklı etiyolojik dayanaklarının olmasından ve farklı moleküler ve histolojik yapılarından kaynaklanmış olabileceği şeklinde yorumladık. Bunun yanında bizim kullandığımız direkt kromozom analiz yönteminde az sayıda metafaz figürü elde edildiğinden ve bu nedenle de bantlama tekniği uygulayamadığımızdan dolayı bu anomalilerin gözden kaçmış olabileceğini düşündük. Noninvasive ya da süperfizyal invasive mesane tümörlerinde diploid normal kromozom yapısının olduğu ve bunun paralelinde de klinik tablonun iyi huylu (selim tabiatlı) seyrettiği belirtilmiştir¹⁵. Oysa invasive mesane tümörlerinde kromozom konfigürasyonunun aneuploididen near tetraploidiye kadar değiştiği ve marker kromozomlara sıklıkla rastlandığı belirtilmiştir^{11,18,19,20}. Malignitenin derecesinin artmasında temel neden marker kromozomlar ve diploid yapıdan artarak uzaklaşan kromozom sayısıdır. Marker kromozom sayısı ve poliploidinin derecesi arttığında hastalığın daha malign seyrettiği yaşamın buna paralel olarak kısaldığı belirtilmiştir². Bizim hastalarımızda da genel olarak hiper-

diploidi, near triploidi ve özellikle near tetraploidi ve muhtelif marker kromozomların gözlenmesi tümörün malign seyreden invasive karakterli olduğunu göstermektedir.

Biz yaptığımız sözlü danışmada hastaların hepsinin çok uzun yıllar (40-50 yıl) ortalama günde 1-1,5 paket sigara içtiğini gözlemledik. Bu durumda bu tür hastalarda kanser oluşumunun en büyük nedeninin sigara kullanımına bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Nikotinin protoonkogen ya da onkogenleri stimüle eden bir faktör olduğunu sanıyoruz. Özellikle bazı araştırmalarda^{10,21} sigara içenlerde mesane tümörü sıklığının arttığı belirlenmesi bu düşüncemizi destekler nitelikte görülmektedir.

Sonuç olarak güncel bir sorun olan kanser probleminin aydınlatılabilmesi için daha gelişmiş teknik olanaklar ve daha ileri sitogenetik ve gen analizi yöntemleri kullanılarak daha fazla vaka ile çalışılması gerektiği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. ROWLEY, J.D.: Human oncogene locations and chromosome aberrations. *Nature.*, 301: 290-291, 1983.
2. SANDBERG, A.A.: Chromosome changes in bladder cancer. *Cancer. Genet. Cytogenet.*, 19: 163-175, 1986.
3. SLAMON, D.J., deKERNION, J.S.B., VERMA, I.M., CLINE, M.J.: Expression of cellular oncogenes in human malignancies. *Science.*, 224: 256-262, 1984.
4. COON, S.J., SCHWARTS, D., SUMMERS, L.J., MILLER, W.A., WEINSTEIN, S.R.: Flow cytometric analysis of deparaffinized nuclei in urinary bladder carcinoma. *Cancer.*, 57: 1594-1601, 1986.
5. FALOR, W.H.: Chromosomes in noninvasive papillary carcinoma of the bladder. *Jama.*, 216: 791-794, 1971.
6. SUMMERS, J.L., FALOR, W.H., WARD, R.A.: A 10-year analysis of chromosomes in noninvasive papillary carcinoma of the bladder. *J. Urol.*, 125: 177-178, 1981.
7. ATKİN, B.N., BAKER, C.M.: Cytogenetic study of ten carcinomas of the bladder: Involvement of chromosomes 1 and 11. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 15: 253-268, 1985.
8. VANNI, R., PERETTI, D., SCARPA, M. R., USAI, E.: Cytogenetics analysis in urothelial cell carcinoma. *J. Urol.*, 137: 210-215, 1987.
9. VANNI, R., SCARPA, M.R., NIEDDA, M., USAI, E.: Cytogenetic investigation on 30 bladder carcinoma. *Cancer. Genet. Cytogenet.*, 30: 35-42, 1988.

10. ÖZYURT, M., OKTAY, B., KAYA, A., TURGUT, A.: Yüzsekiz mesane tümörü olgusu. U.Ü. Tıp Fak. Der., 2: 165-171, 1987.
11. FALOR, W.H.: Chromosomes in non-invasive papillary carcinoma of the bladder. J. Am. Med. Assoc., 216: 791-794, 1971.
12. LAMB, D.: Correlation of chromosome counts with histological appearances and prognosis of transitional cell carcinoma of bladder. Br. Med. J., 1: 273-277, 1967.
13. BABU, R.V., LUTZ, D.M., MILES, J.B., FARAH, N.R., WEISS, L., VANDYKE, L.D.: Tumor behavior in transitional cell carcinoma of the bladder in relation to chromosomal markers and histopathology. Cancer Res., 4: 6800-6805, 1987.
14. FALOR, H.W., SKINNER, W.M.R.: The importance of marker chromosomes in superficial transitional cell carcinoma of the bladder: 50 patients followed up to 17 years. J. Urol., 139: 929-932, 1988.
15. HECHT, F., BERGER, C.S., SANDBERG, A.A.: Nonreciprocal chromosome translocation t (5; 14) in cancers of the kidney: Adenocarcinoma of the renal parenchyma and transitional cell carcinoma of the kidney pelvis. Cancer. Genet. Gytogenet., 14: 197-203, 1985.
16. VANNI, R., PARETTI, D., SCARPA, M.R., USAI, E.: Derivative 11 marker chromosome in bladder carcinoma. Cancer. Genet. Gytogenet., 16: 289-295, 1985.
17. PAUWELS, P.R., SMEETS, W.W., GERAEDTS, P.J., DEBRUYNE, M.F.: Cytogenetic analysis in urothelial cell carcinoma. J. Urol., 137: 210-215, 1987.
18. FALOR, W.H., WARD, R.M.: Cytogenetic analysis: A potential index for recurrence of early carcinoma of the bladder. J. Urol., 115: 49-52, 1976.
19. FALOR, W.H., WARD, R.M.: Prognosis in well-differentiated noninvasive carcinoma of the bladder based on chromosomal analysis. Surg. Gynecol. Obstet., 144: 515-518, 1977.
20. FRASER, C., SULLIVAN, D.L., KALOUSEK, K.: A routine method for cytogenetic analysis of small urinary bladder tumor biopsies. Cancer. Genet. Gytogenet., 29: 103-108, 1987.
21. KERR, W.K., BARKIN, M., LEVERS, P.E.: The effect of cigarette smoking on bladder carcinogens in man. Can. Med. Assoc. J., 93: 1-7, 1965.

Yard. Doç. Dr. Ünal EGELİ
U.Ü. Fen Fakültesi
Genel Biyoloji Anabilim Dalı
BURSA