

Yüzeyel Mesane Tümörlerinde Tanısal ve Prognostik Yeni Belirleyiciler

Novel Diagnostic Markers and Prognosticators in Superficial Bladder Cancer

Cem GÜLER, Emre TÜZEL, Murat ŞAMLI, Murat DEMİRBAŞ

Afyon Kocatepe Üniversitesi Üroloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

ÖZET: Mesane kanseri en sık görülen genito-üriner kanserler arasında yer almaktadır. Hastalığın tanısı sistoskopik inceleme ve transüretral rezeksiyon ile konulmaktadır. Yüzeyel mesane tümörlerinin üçte ikisi tekrarladığından sistoskopi ile yakın izlem yapmak gerekmektedir. Sistoskopik incelemelerin invaziv yapısı ve yüksek maliyeti nedeniyle yüzeyel mesane tümürlü hastalarda hastalığı non-invaziv bir şekilde saptamak amacıyla yeni moleküler belirleyiciler araştırılmaktadır. Bu yeni moleküler tümör belirleyicileri idrar sitolojisinin tanısal duyarlılığını artırarak, hastalığın seyri sırasında rekürren hastalığın non-invaziv şekilde saptanabilmesini olanaklı kılabirler ve mesane kanserli hastaların tanı ve incelemesinin değişmesine yol açabilirler. Günümüzde hiçbir tümör belirleyicisi %100 doğruluğa sahip değildir. Bu derlemede literatürde yer alan mesane kanseri tanı ve izleminde kullanılan yeni moleküler tümör belirleyicilerinin gözden geçirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Mesane kanseri, tanı, moleküler belirleyiciler

ABSTRACT: Bladder cancer is one of the most common genito-urinary malignancies. The diagnosis of the disease is made via cystoscopic examination and transurethral resection. Because two-thirds of bladder cancers recur close cystoscopic surveillance is mandatory. Due to the invasiveness and expense of frequent cystoscopies, novel molecular markers have been investigated in order to detect the tumors non-invasively early in its course.

In this review we summarize the available literature regarding new molecular markers for the detection and follow-up of superficial bladder tumors.

Key Words: Bladder cancer, diagnosis, molecular markers.

GİRİŞ

Mesane tümörü (MT) günümüzde ikinci en sık izlenen genitoüriner malignitedir (1). Temel tanı aracı günümüzde, sistoskopik değerlendirme ve transüretral rezeksiyondur (TUR). Yüzeyel lezyonların intravezikal kemoterapötik veya immünolojik ajanlara rağmen TUR sonrası tekrarlama eğilimi ve carcinoma in situ ile invaziv hastalığın oldukça agresif doğası sık takipleri zorunlu kılmaktadır (2). MT'li hastaların tanı ve takibinde kullanılan rutin yöntemler sistoskopi ve şüpheli alan biopsileridir. MT tanısı ve izleminde altın standart sistoskopi olduğu için, her MT belirleyicisinin etkinliği sistoskopi ile karşılaştırılarak saptanır. Bununla bir-

likte sistoskopi invaziv ve pahalı bir yöntemdir. Sistoskopi sayısını azaltmak, hastanın hayat kalitesini bozmamak ve maliyeti azaltmak için MT tanısında invaziv olmayan tanı yöntemleri geliştirilmeye ihtiyaç duyulmuştur. MT belirleyicilerinin tanı protokolüne konulmasıyla, MT tanısından önemli derecede ödün vermeden sistoskopi sayısında azaltma sağlanabileceği bildirilmiştir (3). İdrarda ölçülebilen yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip, basit, invaziv olmayan MT belirleyicilerinin kullanılması MT'nün bilinen tanı ve takibine yeni bir bakış açısı kazandırabilir. Bu özelliklere sahip bir belirleyici, mevcut yöntemlerle birlikte kullanılabilir veya tek başına MT tanı ve takibinde daha etkili bir yöntem olarak çalışabilir. İnvaziv olmayan, güvenilir bir MT belirleyicisine duyulan klinik ihtiyaç çok amaçlıdır. Böyle bir tümör belirleyicisi; tarama amaçlı olarak, uygun tedavi yönteminin seçilmesi, tedaviye verilen yanıtın izlenmesi, rekürrensün belirlenmesi ve prognozun öngörülmesinde kullanılabilir (4). MT belirleyicilerinin tarama amaçlı kullanılmasıyla, tümör; kasa invaze olmadan tanı alabilecektir. Böyle-

likle metastatik hastalığın oluşturabileceği morbidite önlenilecek ve yaşam süresi uzatılabilecektir.

İdrar MT hücreleri ve ürünleri ile sürekli temas halinde olduğundan, MT için tümör belirleyicisi geliştirmek kolaydır. BTA-Stat/TRAK, NMP-22, UBC-Rapid, HA-HAase gibi testler, idrarda çözünbilir tümör ürünleri ve moleküllerini belirlerken, FISH, telomeraz, mikrosatelit DNA analizi gibi testler de, eksfoliy hücrelerin test edilmesine ihtiyaç duyar (5).

Bir MT belirleyicisi, güvenilir ve doğru bir şekilde idrarda ve tümör hücrelerindeki biyokimyasal değişiklikleri belirleyebilmeli ve tümör sistoskopi ile görülebilir hale gelmeden tümör gelişimini tespit edebilmelidir. Aynı idrar örneğine farklı zamanlarda aynı veya benzer yöntemlerle yineleyen tetkikler uygulandığında aynı sonucu vermemelidir. Bir MT belirleyicisinin etkinliği (duyarlılığı ve özgüllüğü) yüksek olmalıdır. Pek çok MT belirleyicisi normal sağlıklı insanlarda yüksek özgüllüğe sahipken, benign genitoüriner hastalıklarda (üriner sistem enfeksiyonu, üriner sistem taş hastalığı, sistit, mikrohematüri ve benign prostat hiperplazisi) düşük özgüllüğe sahiptir.

Sistoskopinin pahalı ve invaziv olması, idrar sistolojisinin de nisbeten düşük duyarlılığı, araştırmacıları mesane kanserinin tanı ve takibinde kullanılmak üzere non-invaziv yeni idrar ve hücre bağımlı belirleyiciler bulmaya itmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Yüzeysel Mesane Tümörlerinde prognostik belirleyiciler

Hücre Bağımlı Belirleyiciler	İdrar Bağımlı Belirleyiciler
Akım Sitometri	BTA-Stat
uCyt +	BTA-Trak
DD23	NMP22
Quanticyt	BLCA-4
Urovysion (FISH)	UBC-Rapid
SNP Analizi	UBC-Elisa
Mikrosatellit DNA analizi	CK-18 (Sitokeratin 18)
Sentrozomal Anomaliler	CYFRA 21-1 (Sitokeratin 19)
Telomeraz-TRAP	CK 20 (Sitokeratin 20)
Telomeraz-h TERT	TPA (Sitokeratin 8,18,19)
MUC7	Aura Tek FDP
	Accu-Dx
	HA-HAase
	Ürokinaz Tip
	Plazminojen Aktivatör
	Survivin
	PSCA
	TATI

BTA (Bladder tumor antigen)

-Stat ve BTA-Trak

Bu testler, kompleman faktör H proteini ve kompleman faktör H ile ilgili proteini belirler. BTA-Stat testi, 2 farklı monoklonal antikor kullanan kalitatif bir immünoassaydir. Pek çok çalışmada duyarlılığı %36-89 arasında değişir (5-7). Özgüllüğü sağlıklı kişilerde yüksek (%97) olmakla birlikte, benign genitoüriner hastalıklarda %46'ya kadar düşer (8). BTA-Trak testi ise, kantitatif bir sandviç ELISA testi olup kompleman factor H ve kompleman faktör H-ile ilişkili proteine karşı 2 monoklonal antikor kullanır. Duyarlılığı %57-83, özgüllüğü %50-70 arasında değişir (8). Bu sonuçlara göre, BTA testleri tanıdan çok rekürrensiz izleminde faydalı olmaktadır.

NMP22

NMP22 testi, mitozda görev alan bir nükleer matriks proteini üzerindeki farklı epitoplara tanıyan 2 farklı monoklonal antikor kullanan kantitatif bir sandviç ELISA testidir. Değişik çalışmalarda NMP22'nin duyarlılığı %47-100 arasında değişmektedir. Bu geniş aralık tümörün büyüklüğünden, histolojik derecesinden, evresinden ve farklı kestirim değerlerinin kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Testin özgüllüğü ise düşüktür (%60-80). Özellikle böbrek taşı, BPH, sistit, idrar yolu enfeksiyonu gibi durumlarda %40'a kadar geriler (10).

UBC-Rapid

Klinisyenlerin kullanabileceği kadar pratik olan -urinary bladder cancer (UBC) testi- idrarda sitokeratin 8 ve 18'i ölçer. BTA-Stat testi gibi immünokromatografi temeline dayanır. Bu testin duyarlılığı %57-83 arasında, özgüllüğü ise %70-90 civarında değişmektedir (11).

Hyaluronik asit (HA)-Hyaluronidaz (HAase)

Bir glikozaminoglikan olan hyaluronik asit (HA) fizyolojik özelliklerinin yanı sıra spesifik hücre yüzey reseptörlerine (CD44, hyaluronectin vs.) bağlanarak hücre adezyon, migrasyon ve proliferasyonunda rol alır. HA, hidrate edilince genişler, tümör hücrelerinin migrasyonu için boşluklar oluşmasını sağlar. HA ile zenginleşmiş tümör matriksi içinde tümör hücresi hücre yüzey reseptörlerini kullanarak göç eder. Ayrıca tümör hücrelerini çevreleyerek immün sistemden izole eder ve kemorezistan hale gelmelerini sağlar (12). HA seviyesinin MT'li hastaların idrarında tümör derecesine bağlı olmaksızın 3-6 kat arttığı gösterilmiştir (13). HA'nın bir endoglikosidaz olan hyaluronidaz (HAase) tarafından parçalanması sonucu anjiyogenik özelliğe

sahip küçük fragmanları ortaya çıkmaktadır. MT'lü hastaların idrarlarında hem HA hem de HA fragmanlarının varlığı, HA ve HAase'in birlikte değerlendirilmesinin, MT tanısında daha etkili olacağı yönünde ipuçları vermiştir. HAase tümör dokusu tarafından salgılanır ve HAase seviyesi tümörün invaziv potansiyeli ile korelasyon gösterir (14). G2 ve G3 MT'lü hastaların idrarlarında HAase seviyelerinin 3-7 kat arttığı gösterilmiştir (15).

HA-HAase testi iki ayrı ELISA benzeri testin kombinasyonu olup, MT tanısında tümörün derecesine bakmaksızın, birlikte %91.9 duyarlılık ve %84.4 özgüllük oranlarına sahiptir (13). HA testinin tümörün histolojik farklılaşma derecesine bağlı kalmaksızın MT'nü belirlemesi, HAase testinin ise yüksek dereceli tümörleri daha iyi belirlemesi sebebiyle, iki testin birlikte değerlendirilmesi; MT ve histolojik derecesinin belirlenmesinde basit ve yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip bir testin ortaya çıkmasını sağlamıştır. Kombine HA-HAase testinde, HA veya HAase testinde veya her ikisinde pozitif sonuç veren idrar örneği pozitif kabul edilir (14). Her iki testin pozitif olması G2/G3 bir tümörün varlığını gösterirken HA testinin pozitif, HAase testinin negatif olması G1 tümörün varlığını gösterdiği bulunmuştur.

Survivin

Apopitoz'un inhibisyonunda rol oynayan bir protein olan survivin'in değişik tümörlerde arttığı saptanmıştır (2). Shariat ve ark.'da (16) mesane kanserli hastalarda idrar survivin düzeylerini incelemişler, duyarlılık, özgüllük, (+) öngörüsül değer ve (-) öngörüsül değerleri sırasıyla %64, %93, %92, ve %67 bulmuşlardır. Yüksek idrar survivin düzeylerinin, artmış mesane kanseri riski ve daha ileri histolojik dereceyle ilişkili olduğu saptanmıştır. Ku ve ark. ise (17) yüzeysel mesane kanserli hastalarda monoklonal antikolarla immunohistokimyasal boyama yaparak, yüksek survivin ekspresyonunun daha kötü hastalıklı sağkalım göstergesi olduğunu bulmuşlardır. Çok değişkenli analizde survivin ekspresyonunun hastalıklı sağkalım için bağımsız bir prognostik belirteç olduğunu saptamışlardır.

Prostat Kök Hücre Antijeni

Hücre yüzey antijenlerinden -Ly-6/Thy-1 glikozilfosfatidilinozitol- ailesinin homoloğu olan prostat kök hücre antijeninin (PSCA), değişici epitel karsinomlarının çoğunda fazla miktarda salındığı gözlenmiştir (2). Cheng ve ark.'nın çalışmasında (18) immunositokimyasal analiz yapılmış, sadece PSCA kullanıldığında duyarlılık %80, özgüllük %85.7 bulunmuş, test sitoloji ile kombine edildiğinde, duyar-

lılığın %83.3'a ilerlediği, ancak özgüllüğün aynı kaldığı saptanmıştır.

Diğer moleküler tanısal testleri yaparken gereksinim duyulan sıkıcı, zaman israfına sebep olan tekniklerin aksine, PSCA'nın arşivlenmiş lameller üzerinde immunohistokimyasal yöntemlerle kolaylıkla yapılabilir olması, tetkik lehine önemli bir faktördür. Ancak bu sonuçların geniş kullanım için kabul görmesinden önce daha ileri çalışmalara gereksinim vardır. Bununla birlikte ilk veriler cesaret vericidir (2).

İdrar Ürokinaz-tip Plazminojen Aktivatör

Ürokinaz plazminojen aktivatör (uPA) sistemi tümör hücrelerinin migrasyon, adezyon ve proteolizini düzenleyerek, tümörün invazyon ve metastaz süreçlerine katılır. uPA anjiogenezde etkili olan metalloproteinazların ve çeşitli büyüme faktörlerinin aktivasyonuna katkıda bulunan bir serin proteazdır. Aynı zamanda plazminojenin plazmine dönüşümünü katalizler. Plazmin ise bazal membran ve ekstrasellüler matriks bileşenlerinin ayrışmasına sebep olup, sonuçta tümörün lenfatiklere ve damarlara invazyonuna sebep olur. uPA'nın inaktif prekürsörü spesifik hücre yüzeyi reseptörüne (uPA reseptörü, uPAR) bağlanarak aktive olur. uPA ve/veya uPAR'ın artmış düzeyleri, MT'ünde sağkalım ve progresyonla korele olabilir (2).

Shariat ve ark.'nın (19) enzim-immünoassay yöntemini kullanarak yaptıkları çalışmada, MT'lü olgularda kontrol grubuna göre artmış plazma uPA ve uPAR düzeyleri saptanmıştır. Ayrıca, yüksek preoperatif plazma uPA düzeylerinin, radikal sistektomiye takiben kötü sonuçla ilgili bağımsız prognostik belirteç olarak bulunması da bu çalışmanın bir ek bulgusudur. Aynı araştırmacılar, başka bir çalışmalarında artmış idrar uPA ve uPAR düzeylerini MT'nün non-invaziv belirteci olarak değerlendirilip değerlendirilemeyeceğini araştırmışlar, uPA'nın NMP22'den daha duyarlı olduğunu saptamışlardır (20). Çok değişkenli analizde uPA, NMP22 ve sitolojinin, belirgin olarak MT riski ile birlikte oldukları bulunmuştur. Ayrıca, NMP22 ve sitolojik testleri yanlış (-) olan MT'lerinin yarısından fazlasında idrar uPA düzeylerinin, ortalamanın üzerinde olduğu saptanmıştır. Bu çalışma bir kez daha MT riskini en doğru şekilde saptamada, tanısal belirteçlerin bir panel şeklinde ele alınması gerektiğini ortaya koymuştur.

Müsin 7

Müsinler, üriner yolu döşeyen glandüler epitelyal hücrelerden sentezlenen glikoproteinler olup ürotelyal mukozayı koruyan bariyer olarak gö-

rev yaparlar. Müsin genlerinin (MUCs), özellikle MUC7'nin artışı, anormal glikozilasyon paternine yol açarak, tümörün invazyon ve metastaz potansiyelini artırır (2). Okegawa ve ark. (21) -nested RT-PCR- tekniğini kullanarak, işenen idrar örneklerindeki MUC7 ekspresyonunu, MT belirteci olarak test ettikleri çalışmalarında, duyarlılığı %68, özgüllüğü %87 olarak bulmuşlardır. Ancak MUC7 ekspresyonu ile, tümör derecesi, evresi ve büyüklüğü ile ilişki saptanamamıştır. Tekniğin iyileştirilmesi ve bu erken sonuçların doğrulanması için daha ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır. MUC7 gen ekspresyonu potansiyel non-invaziv bir test olabilir.

Immunocyt

Sitoloji ile bir immüno floresan testin birleşimi olan bir immüno sitokimyasal testdir. Bu testte idrar fikse edildikten sonra ekfoliyeli hücreler izole edilerek floresanla işaretlenmiş 3 monoklonal antikolarla (karsinoembriyonik antijene ve müsinlere karşı oluşturulan monoklonal antikolar) boyanır. Duyarlılığı %50-86 arasında, özgüllüğü ise %69-79 arasında değişir. Bu iki testin kombinasyonu ile G1 tümörlerin tanısında duyarlılık artarken, sitolojinin sağladığı yüksek özgüllük azalmaktadır. Yanlış pozitif sonuçta neden olan durumlar ise BPH, sistit ve mikrohematüridir (22).

Telomeraz

Telomerler kromozomların uç kısımlarında yerleşik tandem ..TTAGGG.. tekrarlarından oluşan yapılarıdır. Normal somatik hücrelerde her hücre siklusunun sonunda bu telomerler kısalırlar. Telomerlerin bu tekrarlayıcı kayıpları, kromozomal instabiliteye yol açıp, sonuçta normal hücre ölümüne sebep olur. Telomeraz normal somatik hücrelerde olmayan bir ribonükleoprotein polimeraz olup, yıkılan telomerleri onararak hücrenin ölümsüz hale gelmesine neden olur. Matür somatik hücrelerde inaktive olan telomeraz, mesane kanserinin de dahil olduğu çeşitli epitelial tümörlerde aşırı aktive olarak (2). Telomeraz, ekfoliyeli hücrelerde iki yöntemden birisi kullanılarak ölçülebilir. Birisi; -telomeric repeat amplification protocol assay, TRAP- (bir polimeraz zincir reaksiyonu, PCR), diğeri ise; -human telomerase RT-PCR, HTERT- (bir reverse transkriptaz, PCR) testidir.

Erdem ve ark.ları (23) TRAP yöntemini kullandıkları çalışmalarında duyarlılık, özgüllük, (+) ve (-) öngörülse değerleri sırasıyla %77.4, %93.5, %82.7, ve %91.1 olarak bulmuşlardır. Bununla birlikte, telomeraz aktivitesi ile tümör derecesi ve evre-

si arasında bir ilişki saptamamışlardır. Makroskobik hematürinin varlığı ise, %66.7 hastada hatalı (-) sonuçlar alınmasına sebep olmuştur. Melissourgos ve ark. ise (24) hTERT yöntemi uyguladıklarında, telomeraz aktivitesinin özellikle düşük dereceli tümörlerin saptanmasında konvansiyonel sitolojiye göre daha duyarlı, ancak eşdeğer özgüllüğe sahip olduğunu saptamışlardır (duyarlılık %92, özgüllük %96, (+) öngörülse değer %96, (-) öngörülse değer %91). Glas ve ark. (25) farklı tümör belirteçlerinin kullanıldığı (konvansiyonel sitoloji, BTA-Stat, BTA-Trak, NMP22) çeşitli çalışmaları karşılaştırdıkları metaanaliz araştırmalarında, telomerazı en yüksek duyarlılığa, sitolojiyi ise en yüksek özgüllüğe sahip bulmuşlardır.

Telomeraz aktivitesinin araştırılması, MT'nün saptanmasında umut vermekle birlikte tetkikin rutin klinik kullanıma sokulmadan önce teknik yönden standardize edilmeye ihtiyacı olduğu açıktır.

İdrarda Genetik Değişikliklerin Saptanması Tek Nükleotid Polimorfizm DNA Değişiklikleri

Pek çok kanser genomik instabilite ile karakterizedir. Bu instabilite, genomdaki çok sayıdaki allelik imbalans ve genetik değişimlerin birikiminin sonucudur. Kanser hücrelerini saptamanın diğeri bir yolu ise, neoplastik hücrelerden kaynaklanan atipik nükleik asitlerin ortaya çıkarılmasıdır. Heterozigot alleler arasında doğal olarak var olan oranda ortaya çıkan değişiklikler, genomik delesyonları ve/veya neoplastik hücrelerin karakteristiği olan amplifikasyonları saptayarak, normal hücrelerle kanserli hücreleri ayırt etmemize yardımcı olur. Bu orandaki değişimler, mikrosatellit analizler ya da tek nükleotid polimorfizm (SNP) analizleri ile saptanabilir (2).

SNP analizinin MT'lü dokudaki allelik imbalansı saptama özelliği, Hoque ve ark. tarafından ortaya konmuştur (26). Aynı araştırmacılar başka bir çalışmada (27), idrardan sağlanan DNA ile testin yapılabilirliğini test etmişlerdir. Otuzbir MT'lü (10 pTa, 4 pT1, 17 > pT2) hastanın idrarından elde ettikleri DNA'yı incelemişler, tüm hastaların 24 veya daha fazla SNP DNA değişikliği gösterdiklerini saptamışlardır. Araştırmacılar SNP değişikliklerinin yüksek evre tümörlerde daha sık ortaya çıkmakta olduğunu bulmuşlardır.

SNP analizi, tüm kromozomlarda 312 lokustaki odak bilgilerini sağladığı için, -13-20 mikrosatellit-belirteç göre belirgin olarak üstündür. Ayrıca SNP analizi moleküler değişiklikler gösteren az miktardaki hücreyi saptamada, geleneksel mikrosatellit analize göre daha duyarlıdır (27). Bu sonuçlar geniş hasta gruplarında doğrulanmalıdır.

Mikrosatellit DNA Analizi

Mikrosatellitler; kısa, oldukça polimorfik sıralı DNA dizinleridir (GTGT...; CACA....gibi). Bir kişinin somatik hücrelerinde bir kromozomun 2 kopyası (paternal ve maternal alleller) farklı sayıda fakat aynı mikrosatellit sekansına sahiptir. Bu nedenle özel bir mikrosatelliti içeren bir kromozomal DNA segmentinin PCR ile amplifikasyonu sonucunda biri maternal diğeri paternal allelden 2 PCR ürünü elde edilir. MT' de kromozom 4p, 8p, 9p, 9q, 11 p, 13p, 16q, 17p' de heterozigosite kaybı (LOH) tespit edilmiştir. Mikrosatellit DNA analizinin MT rekürsini belirlemede duyarlılığı %72-97'dir. Sağlıklı bireylerde özgüllüğü ise %95'in üzerindedir. Benign prostat hiperplazisi ve sistit'in de LOH ve mikrosatellit instabilitesi gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca farklı çalışmalarda, farklı mikrosatellit belirleyicilerinin kullanılması sonuçları karşılaştırılmasını güçleştirmektedir. MT'ne özgü yeni ve etkili mikrosatellit belirleyicileri ile testin özgüllüğünün artırılabilirliği düşünülmektedir. Test henüz kullanıma girmemiştir (28).

Sentrozomal Anormallikler

Kromozomların anormal dengelenmesine bağlı anöploid, kanser hücrelerindeki genetik instabilitenin bir başka sebebidir (29). Anöploidinin, dengeli kromozomal ayırışmadan sorumlu sitoplazmik organel olan sentrozomun tam işlev görmemesinin bir sonucu olarak ortaya çıktığı iddia edilmektedir (2).

M.D. Anderson Kanser Araştırma Merkezinde 45 MT'lü, 10 MT (-) hastanın mesane yıkama örnekleri incelenmiş, hücre içinde sentrozomların dağılımı ve sayısının saptanması için, sentrozomun temel bileşeni γ -tubulin'e karşı gelişen antikolar araştırılmıştır. MT'lü 45 hastanın 40'ında defektif sentrozom bulunurken, kontrollerin hiçbirinde bu patoloji saptanmamıştır. Ek bir bulgu olarak, tümörün derecesi arttıkça (derece 1'lerin %69'u, derece 2'lerin %93'ü, derece 3'lerin %100'ü) sentrozomal anormalliklerin sayı ve büyüklükçe arttığı bulunmuştur. Anöploid (DNA ploidi imaj analizi kullanılarak) gösteren tüm örneklerin sentrozomal bozukluklara sahip olması da ilginç bir bulgu olarak belirtilmiştir. Yazarlar, sentrozomal anormallikleri saptamak için, γ -tubulin immünoassay kullanımının veya kromozomal bozuklukları saptamak için çokhedefli bir FISH yöntemi kullanımının, DNA anöploid saptamasından daha basit, daha duyarlı testler olabileceğini ileri sürmüşlerdir (30). Düşük dereceli tümörlerde bile önemli miktarda sentrozomal bozukluklar olduğu göz önüne alınacak olursa, bu belirleyici MT'nün erken tanısında ve özellikle progresyonun bir belirteci olarak kullanım alanı bulabilir (2).

Floresan in situ hibridizasyon (FISH)

Mesane tümörü hücrelerinde bulunan kromozomal düzensizliklerin belirlenmesi prensibine dayanır. Bu testte eksfoliy hücreler fikse edilir, sonra kromozom 3,7,17 ve 9p21 lokusları sırasıyla kırmızı, yeşil, mavi ve sarı renklerinde DNA problemleri ile boyanır. Boyanmış bu hücreler floresan mikroskopu ile incelenir. Anöploid hücrelerin sayısının >%10-20 yi geçmesi halinde test (+) kabul edilir (2). FISH duyarlılığı %81-84 arasında değişmektedir. Fakat düşük dereceli tümörler için %36'ya kadar inmektedir. FISH'in özgüllüğü ise %92-96 arasında değişmektedir. FISH rekürsini izlenmesine yönelik olarak FDA onayı almıştır. Ancak henüz hangi hücrelerin anormal kabul edileceği ve MT tanısı konulması için ne kadar hücrenin kromozom anomalisi göstermesi gerektiği konusunda bir fikir birliği bulunmamaktadır (31). Hücresel morfolojik değişikliklerin saptanması temeline dayanan sitolojik çalışmaların aksine, kromozomal anormalliklere dayandırılan bir test olduğu için, FISH, inflamatuvar hücrelerle malign hücrelerin ayırımına izin verir. BTA-Stat, NMP22 gibi ticari kullanımda olan bazı testler ise, üriner enfeksiyon, taş hastalığı, yabancı cisim, yakın dönemde alınmış intrakaviter tedavi, ve interpoze edilmiş barsak segmenti gibi hücresel morfolojiyi etkileyen durumlara bağlı olarak yanlış (+) sonuçlar verirler (2).

Rekürs, Progresyon, Sonucu Öngörmede Moleküler Belirleyiciler

Mesane kanseri ile ilgili araştırmalar, onkogenleri, tümör baskılayıcı genleri ve DNA onarım mekanizmalarının moleküler bozukluklarını araştıran diğer kanser araştırmaları ile büyük benzerlik içindedirler. Tüm gruplar ilgilerini apoptotik yol kusurları, büyüme sinyalleri, anjiogenez, invazyon ve metastaz üzerine yoğunlaştırmışlardır. Bu durum mesane kanseri üzerinde araştırma yapan bilim adamlarını mesane kanserinin çeşitli fenotipleri altında yatan kromozomal ve moleküler bozuklukları kapsamlı bir şekilde araştırmaya itmiştir. TaGI bir lezyonla kromozom 9'daki bir anormallığı, T2GIII de de p53 mutasyonunu ilişkilendirebilmemize rağmen, moleküler yolların çeşitliliği ve karmaşıklığı herhangi bir tek moleküler belirleyicinin yararlılığını sınırlandırmaktadır.

Apoptoz/Hücre Döngüsü Proteinleri: p53/retinoblastoma proteini/Fas

p53, mesane tümör örneklerini inceleyen pek çok araştırma grubu için temel proteinlerden biridir. Eğer p53 değişikliğe uğramamışsa, tümör papiller ve

noninvaziv kalmayı tercih ederken, mutasyona uğramışsa invaziv yolu seçer. Toplum araştırmalarında %10 kadar mutasyona rastlanırken, immünohistokimyasal araştırmalarda disregüle p53 oranının %66 kadar olduğu bulunmuştur (32). Son yayımlar p53 ve retinoblastoma proteinini (pRb) mesane kanseri biyobelirleyicisi olarak kabul etme yönünde görüş bildirmektedirler. p53 ve pRb'nin, agresif yaklaşımın planlandığı yüksek riskli yüzeyel hastalıklı kişileri değerlendirmede, benzer şekilde, invaziv hastalığı olanlarda cerrahi, kemoterapi, radyoterapinin faydaları konusunda karar vermeye yardımcı olmakta yararlı olduğu da gösterilmiştir (33).

Retinoblastoma geni, DNA replikasyonundan sorumlu transkripsiyon faktörlerini inaktive eden tümör baskılayıcı bir genidir. Ancak, MT konusunda yapılan bazı çalışmalar, yüksek pRb ekspresyonu gösteren olguların, proteinin tümör baskılayıcı etkilerini göstermediğini ortaya koymuşlardır. Hem p53 hem de pRb'de ortaya çıkan değişiklikler tümör progresyonunu artırma yönünde beraber hareket ediyor olabilirler.

Son zamanlarda p53'e duyulan ilgi p63 ve p73 gibi izoformların keşfine yol açmıştır. Bu proteinler, p53 ile homoloji ve bağlanma özelliklerine sahip olup, güçlü bir siklin bağımlı kinaz inhibitörü olan p21 ortak yolunu kullanarak etkili olurlar. Son zamanlarda p73'ün hastalık progresyonu ile ilgili önemli bir belirleyici olduğu gösterilmiştir (34). p53 tümör süpresör geni ile bir proto-onkogen olan mdm-2 ekspresyonunun özellikle yüksek dereceli ve rekürren tümörlerde fazla olduğu bulunmuştur(35).

Fas-Fas ligand sistemi değişici epitel karsinomunda temel apoptotik yollardan biridir. Fas sistemindeki somatik mutasyonların daha ileri evre ve daha yüksek dereceli MT'leri ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (36).

Mesane tümörleri erkeklerde kadınlara göre daha sık görülmektedir. Bu etyolojik farklılığı araştırmak için mesane tümörlerinde seks hormon reseptörleri ekspresyonunu inceleyen araştırmalar yapılmıştır (37). Yüksek dereceli yüzeyel mesane tümörlü hastalarda östrojen reseptörlerinin daha fazla eksprese olduğu bulunmuş olmasına rağmen, yüzeyel mesane tümörlerinde östrojen reseptörlerinin düzeyinin daha az olduğu gözlenmiştir (37).

Proliferatif/Mitojenik Proteinler

Bol ve ark.nın (38) çalışmasında rekürrens ve progresyonu öngörmeye en iyi faktörlerden birisi olarak anormal ortalama mitotik indeks bulunmuş, ilginç olarak aynı çalışmada, tek başına moleküler faktörlerin aynı prognostik önem düzeyine ulaşmadığı saptanmıştır.

Anjiogenez/Hücre Sinyalleri veya Adezyon/İnvazyon

İnvazyon ve progresyon, hastanın nihai durumu açısından anahtar belirleyicilerdir. Tümör hücrelerini epiteliyal mezensimal değişime sürükleyen, adezyon molekülü E-cadherin (39), Rho/ROCK aile üyeleri (40) ve ekstrasellüler matriks degradasyonundan sorumlu proteazlardan, cathepsin B (41) ve elastaz (42), adezyon moleküllerinden fibronektin ve laminin P1 (42) mapsin (43), tümöre eşlik eden tripsin inhibitör (44), matriks metalloproteinazlar (45) gibi katalizörlerin rolü çeşitli çalışmalarla araştırılmıştır. Anjiogeneze eşlik eden belirleyiciler, siklooksijenaz-2 (46), vasküler endotelial büyüme faktörün (VEGF) (47) rolleri de MT'de araştırılmaktadır.

İnvazyon, metastaz, konağın immun yanıtı ile ilişkili daha yeni belirteçlerin yanı sıra, intrasellüler hipoksi belirteçlerinin araştırılması da gündemde olan çalışmalardır (48).

Mesane Tümör Hücrelerinin Moleküler Profili

Tek belirleyici, tek yol yaklaşımından ziyade, her bir bireydeki tümör hücrelerinin global değerlendirmesine yönelik yaklaşımların daha akılcı olduğu açıktır. Tek bir moleküler belirleyicinin varlığı veya yokluğunun tümörün fenotipik davranışını saptayamayabileceği de çalışmalarla saptanmıştır. Pek çok molekül ve moleküler yol tümöral oluşumda rol alır. Tümör hücrelerinin moleküler biyolojisi sürekli evrimleşen bir süreçtir. Biopsi, tümör hücrelerinin belli bir klonunda devam etmekte olan moleküler süreçlerle ilgili anlık bir bilgi sağlar. Çevresel etkenlerin, değişikliğe uğrayan kan akımının veya herhangi bir tedavi uygulanıp uygulanmamasının moleküler profili belirgin bir şekilde etkileyeceği açıktır (49).

Kanser biyolojisinin temel hedefi, tümörögenizde rol oynayan genleri tanımlamak ve onları anlamaktır. Moleküler profil ve proteomikleri kullanarak küçük doku örneklerinde DNA değişiklikleri, mRNA ve proteinlerle ilgili global bir görüş ortaya koymak mümkündür. Bu teknoloji, normal hücrenin moleküler anatomisi ile kanserin progresif evrelerindeki hücrelerin anatomisini karşılaştırma, yeni tanısalsal & terapötik hedefler tayin etme, insanlarda genotip ile fenotip arasındaki ilişkiyi açıklamak konularında yardımcı olur (49).

Moleküler profilin sitopatolojiyi tamamlayıcı olarak kullanımı ilginç olup, daha sağlıklı sitolojik sonuçların elde edilmesini sağlayabilir (49). Bu progresyona ve invazyona kadar geçecek süreyi önceden kestirmeye ve böylece sistektominin zamanlamasına da yardımcı olabilir. Günümüzde daha

karmaşık teknikler olan -high-throughput cDNA- ve -doku mikro arrayleri- de kullanılmaktadır (50).

Bir başka teknoloji de proteomiklerin kullanımıdır. Normal ürotelyum ile skuamöz hücre karsinomunda protein ekspresyonunu karşılaştırmak amacıyla proteomik teknolojiler kullanılmaktadır (51). Benzer şekilde, proteomikler, normal ürotelyumda olanın aksine, invaziv lezyonlarda regülasyonu bozulan proteinleri tanımlamak için de kullanılmaktadır (52). Proteomiklerin, MT'de giderek daha çok yararlı olacağına dair artan kanıtlar vardır (53).

SONUÇ

Yeni tümör belirleyicilerinin araştırılması MT erken tanısında, izlenmesinde ve prognozun belirlenmesinde ilgi çekici bir konudur. Bazı testlerin idrar sitolojisi ile kombine kullanımları faydalı olabilir de, mevcut MT belirleyicilerinin hiçbirisi %100 özgül ve duyarlı değildir (54). Bu testlerin çoğunun standardizasyonunda yaşanan sorunlar ve daimi kullanımlarına olanak verebilecek üretimlerinin kısıtlılığı gibi nedenlerle klinikte rutin kullanımları henüz mevcut değildir. Bu nedenle, bu belirleyicilerin gelecekteki potansiyel uygulanabilirliği göz ardı edilemez de; %100 güvenilir bir yöntem bulunana kadar, şimdilik, bu belirleyicilerin hiçbirisi, bilinen yöntemler olan sistoskopi ve sitolojinin yerini dolduramazlar. Bu nedenlerden dolayı bunca moleküler prognostik faktör araştırması yapılmasına rağmen günümüzde MT'li hastalarda rekürrens ve progresyon yönünden risk gruplarını belirlemede, tümör sayısı, ilk sistoskopiye tümör tekrarlamasının varlığı, tümör boyutu ve anaplazinin histopatolojik derecesi kullanılmaktadır (55). Bu faktörler kullanılarak yüzeysel mesane tümörlü hastalarda düşük, orta ve yüksek risk grupları saptanarak tedavi bu risk grupları doğrultusunda belirlenmektedir (56). Bunlara ek olarak multifokal tümörlerin biyolojik davranışının daha agresif olabileceği ve bu tip tümörlerde prostatik üretra tutulumunun daha sık olduğu bulunmuştur (57). MT taramasında idrar sitolojisi altın standart yöntem olarak yerini korumaya devam etmelidir.

Prognozu belirlemeye yönelik gündeme gelen yeni hücresel profillemeye teknikleri, tek belirteç (p53, Bcl2) / tek yol (apoptoz) yaklaşımlarına önemli üstünlükler göstermektedir. Bununla birlikte bu tekniklerin anlık moleküler profil sağlamaları gibi bazı kısıtlamalarının olduğu da unutulmamalıdır. Bu tekniklerle elde edilen sonuçlar tümörün o an içinde bulunduğu özgün evresindeki hücrelerin durumu hak-

kında bilgi verir. Bu nedenle verilerin yorumlanması, karsinogenezin dinamiklerinin, tümörün kalıtsal heterojenitesinin dikkatlice gözden geçirilmesini gerektirir. Ayrıca, eksprese edilen genler her zaman işlevsel proteinlerin oluşumuna neden olmazlar. Bu nedenle genetik analizle birlikte, tümör hücreleri içindeki proteinlerin de analizi yapılmalıdır. Buradan yola çıkarak genlerle proteinler arasındaki etkileşimleri karşılaştırmak üzere bazı araştırmacılar "transkriptom-intereraktom korelasyon haritalaması" şeklinde isimlendirdikleri bir yaklaşım önermişlerdir (54).

Ancak laboratuvarında araştırılan belirleyicilerin hiçbirisi şu anda klinik karar verme sürecinin bir parçası olarak günlük kullanım aracı olarak değerlendirilemez.

KAYNAKLAR

1. Messing EM. Urothelial tumors of the urinary tract. In Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ (eds), 8. baskı, WB Saunders Co, New York, 2002, cilt 4, s2732-2784.
2. Quek ML, Sanderson K, Daneshmand S ve ark. New molecular markers for bladder cancer detection. *Curr Opin Urol*, 2004; 14: 259-264.
3. Lotan Y, Roehrborn CG. Cost-effectiveness of a modified care protocol substituting bladder tumor markers for cystoscopy for the followup of patients with transitional cell carcinoma of the bladder: A decision analytical approach. *J Urol*, 2002; 167: 75-79.
4. LokeshwarVB, Soloway MS. Current bladder tumor tests: Does their projected utility fulfill clinical necessity. *J Urol*, 2001; 165: 1067-1077.
5. Ramakumar S, Bhuiyan J, Besse JA ve ark. Comparison of screening methods in the detection of bladder cancer. *J Urol*, 1999; 161: 388-389.
6. Pode D, Shapiro A, Wald M ve ark. Noninvasive detection of bladder cancer with the BTA Stat test. *J Urol*, 1999; 161: 443-446.
7. Lokeshwar VB, Schroeder GL, Selzer MG ve ark. Bladder tumor markers for monitoring recurrence and screening comparison of hyaluronic acid--hyaluronidase and BTA-Stat tests. *Cancer*, 2000; 95: 61-72.
8. Tsihlias J, Grossman HB. The utility of fibrin/fibrinogen degradation products in superficial bladder cancer. *Urol Clin North Am*, 2000; 27: 39-46.
9. Thomas L, Leyh H, Marberger M ve ark. Multicenter trial of the quantitative BTA-TRAK assay in the detection of bladder cancer. *Clin Chem*, 1999; 45: 472-477.

10. Grocela JA, McDougal WS. Utility of nuclear matrix protein (NMP22) in the detection of recurrent bladder cancer. *Urol Clin North Am*, 2000; 27: 47-51.
11. Mian C, Lodde M, Haitel A ve ark. Comparison of two qualitative assays, the UBC-Rapid test and the BTA-Stat test, in the diagnosis of urothelial cell carcinoma of the bladder. *Urology*, 2000; 56: 228-231.
12. Knudson W. Tumor associated hyaluronan: providing an extracellular matrix that facilitates invasion. *Am J Pathol*, 1996; 148: 1721-1726.
13. LokeshwarVB, Obek C, Pham HT ve ark. Urinary hyaluronic acid and hyaluronidase: Markers for bladder cancer detection and evaluation of grade. *J Urol*, 2000; 163: 348-356.
14. LokeshwarVB, Young MJ, Goudarzi G ve ark. Identification of bladder tumor-derived hyaluronidase: Its similarity to HYAL1. *Cancer Res*, 1999; 59: 4464-4470.
15. LokeshwarVB, Rubinowicz D, Schroeder GL ve ark. Stromal and epithelial expression of tumor markers hyaluronic acid and HYAL1 hyaluronidase in prostate cancer. *J Biol Chem*, 2001, 276: 11922-11932.
16. Shariat SF, Casella R, Khoddami SM ve ark. Urine detection of survivin is a sensitive marker for the noninvasive diagnosis of bladder cancer. *J Urol*, 2004; 171: 626-630.
17. Ku JH, Kwak C, Lee HS ve ark. Expression of survivin, a novel inhibitor of apoptosis, in superficial transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol*, 2004; 171: 631-635.
18. Cheng L, Reiter RE, Jin Y ve ark. Immunocytochemical analysis of prostate stem cell antigen as an adjunct marker for the detection of urothelial transitional cell carcinoma in voided urine specimens. *J Urol*, 2003; 169: 2094-2100.
19. Shariat SF, Monoski MA, Andrews B ve ark. Association of plasma urokinase-type plasminogen activator and its receptor with clinical outcome in patients undergoing radical cystectomy for transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology*, 2003; 61: 1053-1058.
20. Shariat SF, Casella R, Monoski MA ve ark. The addition of urokinase-type plasminogen activator to urinary nuclear matrix protein 22 and cytology improves the detection of bladder cancer. *J Urol*, 2003; 170: 2244-2247.
21. Okegawa T, Kinjo M, Horie S ve ark. Detection of mucin 7 gene expression in exfoliated cells in the urine from patients with bladder tumor. *Urology*, 2003; 62: 182-186.
22. Mian C, Pycha A, Wiener H ve ark. Immunocyt: a new tool for detecting transitional cell cancer of the urinary tract. *J Urol*, 1999; 161: 1486-1489.
23. Erdem E, Dikmen G, Atsü N ve ark. Telomerase activity in diagnosis bladder cancer. *Scand J Urol Nephrol*, 2003; 37: 205-209.
24. Melissourgos N, Kastrinakis NG, Davilas I ve ark. Detection of human telomerase reverse transcriptase mRNA in urine of patients with bladder cancer: evaluation of an emerging tumor marker. *Urology*, 2003; 62: 362-367.
25. Glas AS, Roos D, Deutekom M ve ark. Tumor markers in the diagnosis primary bladder cancer: a systematic review. *J Urol*, 2003; 169: 1975-1982.
26. Hoque MO, Lee CC, Cairns P ve ark. Genome-wide genetic characterization of bladder cancer: a comparison of high-density single-nucleotide polymorphism arrays and PCR-based microsatellite analysis. *Cancer Res*, 2003; 63: 2216-2222.
27. Hoque MO, Lee J, Begum S ve ark. High-throughput molecular analysis of urine sediment for the detection of bladder cancer by high-density single nucleotide polymorphism array. *Cancer Res*, 2003; 63: 5723-5726.
28. Utting M, Werner W, Dahse R ve ark. Microsatellite analysis of free tumor DNA in urine, serum and plasma of patients: a minimally invasive method for the detection of bladder cancer. *Clin Cancer Res*, 2002; 8: 35-40.
29. Duesberg P, Rausch C, Rasnick D ve ark. Genetic instability of cancer cells is proportional to their degree of aneuploidy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998; 95: 13692.
30. Jiang F, Caraway NP, Sabichi AL ve ark. Centresomal abnormality is common in and a potential biomarker for bladder cancer. *Int J Cancer*, 2003; 106: 661-665.
31. Halling KC, King W, Sokolova IA ve ark. A comparison of cytology and fluorescence in situ hybridization for the detection of urothelial carcinoma. *J Urol*, 2000; 164: 1768-1775.
32. Kelsey KT, Hirao T, Schned A ve ark. A population-based study of immunohistochemical detection of p53 alteration in bladder cancer. *Br J Cancer*, 2004; 90: 1572-1576.
33. Cordon-Cardo C. p53 and RB: simple interesting correlates or tumor markers of critical predictive nature? *J Clin Oncol*, 2004; 22:975-977.
34. Puig P, Capodiceci P, Drobnjak M ve ark. p73 Expression in human normal and tumor tissues: loss of p73alpha expression is associated with tumor progression in bladder cancer. *Clin Cancer Res*, 2003; 9: 5642-5651.
35. Tuna B, Yörükoğlu K, Tüzel E, Güray M, Mungan U, Kırkalı Z. Expression of p53 and mdm2 and their significance in recurrence of superficial bladder cancer. *Pathol Res Pract*, 2003; 199: 323-328.

36. Maas S, Warskulat U, Steinhoff C ve ark. Decreased Fas expression in advanced-stage bladder cancer is not related to p53 status. *Urology*, 2004; 63:392-397.
37. Başakçı A, Kirkali Z, Tüzel E, Yörükoğlu K, Mungan MU, Sade M. Prognostic significance of estrogen receptor expression in superficial transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Eur Urol*, 2002; 41: 342-345.
38. Bol MG, Baak JP, van Diermen B ve ark. Proliferation markers and DNA content analysis in urinary bladder TaT1 urothelial cell carcinomas: identification of subgroups with low and high stage progression risks. *J Clin Pathol*, 2003; 56: 447-452.
39. Matsumoto K, Shariat SF, Casella R ve ark. Preoperative plasma soluble E-cadherin predicts metastases to lymph nodes and prognosis in patients undergoing radical cystectomy. *J Urol*, 2003; 170: 2246-2252.
40. Kamai T, Tsujii T, Arai K ve ark. Significant association of Rho/ROCK pathway with invasion and metastasis of bladder cancer. *Clin Cancer Res*, 2003; 9: 2632-2641.
41. Eijan AM, Sandes EO, Riveros MD ve ark. High expression of cathepsin B in transitional bladder carcinoma correlates with tumor invasion. *Cancer*, 2003; 98: 262-268.
42. Kırkalı G, Tüzel E, Güler C, Gezer S, Kırkalı Z. Significance of Tissue laminin P1, elastase and fibronectin levels in transitional cell carcinoma of the bladder. *Eur Urol*, 2001; 39: 292-299.
43. Sugimoto S, Maass N, Takimoto Y ve ark. Expression and regulation of tumor suppressor gene maspin in human bladder cancer. *Cancer Lett*, 2004; 203: 209-215.
44. Kelloniemi E, Rintala E, Finne P ve ark. Tumor-associated trypsin inhibitor as a prognostic factor during follow-up of bladder cancer. *Urology*, 2003; 62: 249-253.
45. Vasala K, Paakko P, Turpeenniemi-Hujanen T. Matrix metalloproteinase-2 immunoreactive protein as a prognostic marker in bladder cancer. *Urology*, 2003; 62: 952-957.
46. Shariat SF, Matsumoto K, Kim J ve ark. Correlation of cyclooxygenase-2 expression with molecular markers, pathological features and clinical outcome of transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol*, 2003; 170: 985-989.
47. Slaton JW, Millikan R, Inoue K ve ark. Correlation of metastasis related gene expression and relapse-free survival in patients with locally advanced bladder cancer treated with cystectomy and chemotherapy. *J Urol*, 2004; 171: 570-574.
48. Hoskin PJ, Sibtain A, Daley FM ve ark. GLUT1 and CAIX as intrinsic markers of hypoxia in bladder cancer: relationship with vascularity and proliferation as predictors of outcome of ARCON. *Br J Cancer*, 2003; 89: 1290-1297.
49. Duggan B, Williamson K. Molecular markers for predicting recurrence, progression and outcomes of bladder cancer (do the poster boys need new posters?). *Curr Opin Urol*, 2004; 14: 277-286.
50. Sanchez-Carbayo M, Cordon-Cardo C. Applications of array technology: identification of molecular targets in bladder cancer. *Br J Cancer*, 2003; 89: 2172-2177.
51. Celis JE, Celis P, Ostergaard M ve ark. Proteomics and immunohistochemistry define some of the steps involved in the squamous differentiation of the bladder transitional epithelium: a novel strategy for identifying metaplastic lesions. *Cancer Res*, 1999; 59: 3003-3009.
52. Celis JE, Celis P, Palsdottir H ve ark. Proteomic strategies to reveal tumor heterogeneity among urothelial papillomas. *Mol Cell Proteomics*, 2002; 1: 269-279.
53. Ferguson RE, Selby PJ, Banks RE. Proteomic studies in urological malignancies. *Contrib Nephrol*, 2004; 141: 257-279.
54. Ge H, Liu Z, Church GM ve ark. Correlation between transcriptome and interactome mapping data from *Saccharomyces cerevisiae*. *Nat Genet*, 2001; 29: 482-486.
55. Kırkalı Z, Tüzel E. Yüzeysel mesane tümörlerinde Avrupa Kanseri Araştırma ve Tedavi Derneği (EORTC) Deneyimi. *Hemato-Onkoloji*, 2004; 6: 47-50.
56. Kırkalı Z, Tüzel E. Yüzeysel mesane kanserinde tedavi. *Hemato-Onkoloji* 2004; 6: 42-46.
57. Mungan MU, Canda AE, Tüzel E, Yörükoğlu K, Kırkalı Z. Risk factors for mucosal prostatic involvement in superficial transitional cell carcinoma of the bladder. *Eur Urol*, 2005; 48:760-763.

