İSTANBUL-2016

← 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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

MESANE KANSERLİ HASTALARDA MYC VE MYCT1 GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

SOYDAN DOĞAN

DANIŞMAN
PROF.DR. A. NUR BUYRU

SAĞLIK BİLİMERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK PROGRAMI

İSTANBUL-2016

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)

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.

Soydan DOĞAN

İMZA

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

‘ya teşekkür ederim

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: **45590**

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... İİ
BEYAN ..... İİİ
İTHAF ..... İV
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER ..... Vİ
TABLOLAR LİSTESİ ..... Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... Xİ
ÖZET ..... Xİ
ABSTRACT ..... İ
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Mesane Kanseri Epidemiyolojisi 3
2.2. Mesane Kanserlerinde Histolojik Tipler 4
2.3. Mesane Kanserlerinde Evreleme 5
2.4. Karsinogenez 9
2.4.1. Onkogenler 11
2.4.2. MYC Geni ve İşlevi (Avian Myelocytomatosis Viral Oncogene Homolog) 14
2.4.3. MYCT1 Geni ve İşlevi 20
2.4.4. TÜMÖR BASKILAYICI GENLER 24
2.5. Mesane Kanserlerinde Prognostik Etmenler 25
3. GEREÇ VE YÖNTEM 29
3.1. Gereç 29
3.1.1. Materyal 29
3.1.2. Kullanılan Cihazlar 30
3.1.3. Vorte(VelpScientifica,İtalya)3.1.3. Kullanılan Tampon ve Çözeltiler 30
3.1.3. 3.1.3. Kullanılan Tampon ve Çözeltiler 31
3.1.3.1. cDNA Sentezinde Kullanılan Tampon ve Çözeltiler 31
3.1.3.2. Gerçek Zamanlı PZR'da Kullanılan Primer Dizileri 31
3.2. Yöntem 32

3.2.1. Dokudan RNA Eldesi....32
3.2.2. Spektrofotometrik Analiz....35
3.2.3. cDNA Eldesi....35
3.2.4. MYC VE MYCT1Genlerinin İfade Analizleri....37
3.3. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi....38
4. BULGULAR....40
4.1. Hastalara Ait Klinik Parametreler....40
4.2. Myc ve MYCT1 Genlerinin İfade değerlerinin Histopatolojik Bulgularla ilişkisi 45
5. TARTIŞMA....58
KAYNAKLAR....62
HAM VERİLER....70
FORMLAR....71
ETİK KURUL KARARI....72
PATENT HAKKI İZNİ....73
TELİF HAKKI İZNİ....74
ÖZGEÇMİŞ....75

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1. İnsan tümörlerinde işlev gören onkogeneler.....12

Tablo2-2 Yüzeyel Mesane Tümörlerinde Prognostik Belirleyiciler 27

Tablo- 3-1: cDNA karışımında kullanılan Tampon ve Çözeltiler.....31

Tablo 3-2: Hedef ve housekeeping genlerin primer dizileri.....32

Tablo 3-3: Taze dokudan RNA Eldesi.....33

Tablo 3-4: FFPE dokularından RNA eldesi.....34

Tablo 3-5: cDNA Tepkime Karışımı ve Koşulları.....36

Tablo 3-6: İfade analizi karışımının hazırlanması.....37

Tablo 3-7: Gerçek Zamanlı PZR Tepkime Koşulları.....38

Tablo 4-1: Klinikopatolojik bulgular.....40

Tablo 4-2 : Myc Geninin Normal ve Tümör Örneklerinin Ct Değerleri ve Tümör Dokusundaki İfade Düzeyinin Normal Dokudaki İfade Seviyesine Göre Değişimi.....42

Tablo 4-3 : MYCT1 Geninin Normal ve Tümör Örneklerinin Ct Değerleri ve Tümör Dokusundaki İfade Düzeyinin Normal Dokudaki İfade Seviyesine Göre Değişimi.....44

Tablo 4-4: Myc geninin tümör ve normal örneklerde ortalama ifade değeri.....46

Tablo 4-5: Mesane Kanserli Hastaların Myc ve MYCT1 ifadesi ile Cinsiyet dağılımı arasındaki ilişki.....48

Tablo 4-6: Mesane Kanserli Hastaların Myc ve MYCT1 ifadesi ile İnvazyon Durumu arasındaki ilişki.....49

Tablo 4-7: Mesane Kanserli Hastaların Myc ve MYCT1 ifadesi ile sigara kullanımı arasındaki ilişki.....50

Tablo 4-8: Mesane Kanserli Hastaların Myc ve MYCT1 ifadesi ile yaş dağılımı arasındaki ilişki.....51

Tablo 4-9: Mesane Kanserli Hastaların Myc ve MYCT1 ifadesi ile tümör evrelemesi arasındaki ilişki.....52

Tablo 4-10: Mesane Kanserli Hastaların Myc ve MYCT1 ifadesi ile tümör çapı arasındaki ilişki.....54

Tablo 4-11: Mesane Kanserli Hastaların Myc ve MYCT1 ifadesi ile Tümör Odak Durumu arasındaki ilişki.....56

Tablo 4-12: Mesane Kanserli Hastaların Myc ve MYCT1 ifadesi ile Patoloji T Evresi arasındaki ilişki.....57

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Cinsiyete göre yüz bin kişide mesane kanseri görülme sıklığı.....3

Şekil 2-2: Mesane tümörün katmanlara göre derinliği.....7

Şekil 2-3: Tümörün mesane duvarındaki geçiş gösterdiği derinliğe göre sınıflaması.....8

Şekil 2-4 c-MYC geni kromozomal bölge şeması.....9

Şekil 2-5 c-myc geninin yapısı.....16

Şekil 2-6: Myc-Max dimerinin E-kutusu.....18

Şekil 2-7: Myc-Max heterodimer yapısı.....19

Şekil 2-8: MYC'in diğer genlerle ilişkisi.....20

Şekil 2-9: MYCT1 kromozomal lokasyonu.....21

Şekil 2-10 MYCT1 UTR, ekson ve intron bölgeleri.....22

Şekil 2-11: MYCT1'in Myc geni ve diğer genlerle ilişkisi.....23

Şekil 4-1: Mesane Kanserli Hastaların Cinsiyet Dağılımı.....47

Şekil 4-2: Mesane Kanserli Hastaların İnvazyon Durumu.....48

Şekil 4-3: Mesane Kanserli Hastaların Sigara Kullanımı Dağılımı.....50

Şekil 4-4: Kasa İnvaze Mesane Kanserli Hastaların Yaş Dağılımı.....51

Şekil 4-5: Mesane Kanserli Hastaların Tümör Evrelemesi.....52

Şekil 4-6: Mesane Kanserli Hastaların Tümör çapı.....53

Şekil 4-7: Mesane Kanserli Hastaların Tümör Odak Durumu.....55

Şekil 4-8: Mesane Kanserli Hastaların Patoloji T Evresi.....56

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

CDNK2- Cyclin Dependent Kinase 2

DNA-Deoxyribo**N**ucleic**A**cid; (Deoksiribonükleik Asit)

dNTP– Deoxyribo**N**ucleotide**T**ri**p**hosphate

EGF- Epidermal Growth Faktor

FGF- Fibroblast Growth Faktor

HEK293- Human Embriyonic Kidney Cell Line 293

Hep2- Human Hela Contaminan Cell Line

HIV- Human Immunodeficiency Virus

HTLV- Huıman T-Cell Leukamia Virus

LSCC- Skuamöz Hücreli Larenks Kanseri

MAD- Max Dimerization Protein

Max- Myc Associated Factor X

p53- p53 Protein

PCR –**P**olymerase**C**hain**R**eaction (Polimeraz Zincir Tepkimesi)

PDGF- Platelet Derived Growth Faktor

Rb1- Retinablatom

RNA-Ribo**N**ucleic**A**cid; (Ribonükleik Asit)

SDHA -succinate dehydrogenase complex, subunit A, flavoprotein)

TBP -TATA box binding protein

TCC- Transitioanal Cell**C**arcinoma(Yassı Epitel Hücreli Karsinom)

TUR- Transüreteral Rezeksiyon

ÖZET

Soydan D. Mesane Kanserli Hastalarda MYC ve MYCT1 Geninin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2015.

Amaç Myc gen ailesi DNA yazılım faktörü de olan çekirdek fosfoproteinlerini kodlar ve hücre çoğalmasını düzenler. MYCT1 geninin ise tümör baskılayıcı olarak işlev gören bir protein kodladığı düşünülmektedir. Çalışmamızda mesane kanserinde MYC ve MYCT1 ifadedüzeylerinin klinik parametreler ve sağkalım üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem Ağustos 2006 ve Mayıs 2012 arası kasa invazif mesane kanseri nedeni ile radikal sistektomi yapılan ve klinik takipleri 2014 Aralık'a kadar mevcut olan 30 olgunun parafin (FFPE) preperatlarından elde edilen RNA'larından ve Eylül 2013–Eylül 2014 tarihleri arasında primer veya nüks nedeni ile TUR-MT yapılmış ve -80 derecede saklamış 23 adet kasa invaze olmayan mesane kanserli hastalardan alınan taze dokulardan MYC ve MYCT1 ifade analizi yapıldı. Housekeeping gen olarak TATA binding Box (TBP) ve Süksinat Dehidrogenaz (SDHA) genleri kullanıldı.

Bulgular 30 adet FFPE dokusundan 27'sinde, 23 yüzeyel mesane kanseri dokusunun 20 housekeeping gen ve MYC / MYCT1 ifadeleri elde edilebildi. MYCT1 ifadesi kasa invaze olmayan mesane kanserlerinde normal dokuya kıyasla istatistiksel olarak anlamlı azalma gösterirken kasa invazif kanserlerde artmış gösterdi (p=0.005). MYC ifadesi ise her iki grupta benzer oranlarda artış gösterdi. Kasa invaze olmayan mesane kanseri ve kasa invazif olgularda kliniko-patolojik parametreler ve gen ifadeleri arasında ilişki saptanmadı.

Sonuç MYC ifadesi yüzeyel mesane kanserlerinde ve kasa invazif kanserlerde benzer oranlarda artış gösterirken MYCT1 ifadesi yüzeyel mesane kanserlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gösterirken kasa invaziv kanserlerde artış göstermiştir.

Anahtar Kelimeler :

- Mesane
- Kanser

- MYC
- MYCT1
- Gen İfadesi

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: **45590**

ABSTRACT

Soydan D.Investigation of MYC and MYCT1 genes in the patients with bladder cancer. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Genetics. İstanbul. **2015**.

Objective Bladder cancer is one of the most common cancers of the urinary tract in the world. Non-muscle invasive bladder cancer has a low progression rate and long survival whereas muscle-invasive bladder cancer (MIBC) has a higher risk of cancer-specific mortality. In this study we aimed to determine expression patterns of MYC proto-oncogene and a tumor supressor gene, MYCT1.

Methods MYC and MYCT1 mRNA expression levels were analyzed by qRT-PCR in 20 patients with non-muscle-invasive and 27 patients with muscle-invasive tumors and compared with the surrounding non-malignant tissue. Tissue samples for superficial bladder cancer were taken from patients with primary or recurrent bladder cancer during transurethral resection operation. Muscle-invasive bladder cancer tissue samples were obtained from FFPE pathology specimens of patients who underwent radical cystectomy for muscle invasive bladder cancer.

Result The frequency of MYC overexpression in bladder carcinoma was 71,4% which was higher than that in normal bladder tissue (p=0.034). The overexpression rate was higher in the non-muscle-invasive group when compared to the muscle-invasive group (p=0.416). High MYCT1 expression was observed in a substantial number 60% of the tumors (p=0.184). However, high MYCT1-expressing tumors were more frequent in the non-muscle-invasive patient group than among the muscle-invasive patients.

Conclusion We can conclude that down-regulation of MYCT1 in MYC-over-expressing tumors results in muscle invasion in bladder cancer. On the other hand, we suggest that over-expression of MYCT1 may prevent the tumorigenic effects of MYC. MYCT1 expression rate may be an indicator to distinguish muscle-invasive and non-muscle invasive bladder tumors or non-muscle invasive tumors with potential to progress.

Keywords :

- Bladder
- Cancer
- MYC
- MYCT1
- Gene Expression

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. **45590**

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mesane kanserine yol açan genetik değişiklikler tam olarak bilinmemekle birlikte tüm kanserlerde olduğu gibi onkogenlerin etkinleşmesi ve tümör baskılayıcı genlerin etkinliklerini kaybetmesi temel mekanizmalardan biridir. MYC protoonkogeni gerçekte az da olsa bütün hücrelerde ifade edilen ancak sessiz bir hücre sinyal aldığı zaman ifadesi artarak hızla hücreyi bölünmeye götüren Myc proteinini kodlar. Myc gen ailesi hücre çoğalmasını sağlayan ve DNA'ya bağlanabilen çekirdek fosfoproteinlerinin düzenlenmesinde işlev görür. Mesane kanseri c-Myc onkogeninin aşırı ifade edildiği birkaç insan tümörlerinden biri olmakla birlikte c-Myc geninin aşırı ifade edilmesinin mesane kanserinin gelişimindeki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Farklı gruplar tarafından yapılan çalışmalar sonucunda ileri evre ve prognoz ile c-Myc genin aşırı ifade edilmesinin ilişkili olduğu gösterilmiştir. MYCT1, Myc'in doğrudan yazılımını arttırdığı Myc hedef genlerinden biridir. Apoptozun artması, morfolojik değişimler, büyümenin artması, tümörojenik değişim, genomik kararsızlığın artması ve hematopoietik farklılaşmanın bozulması gibi Myc'in aşırı ifadesi ile ilişkili olduğu bilinen fenotipik özelliklerin çoğuna MYCT1 aracılık etmektedir.

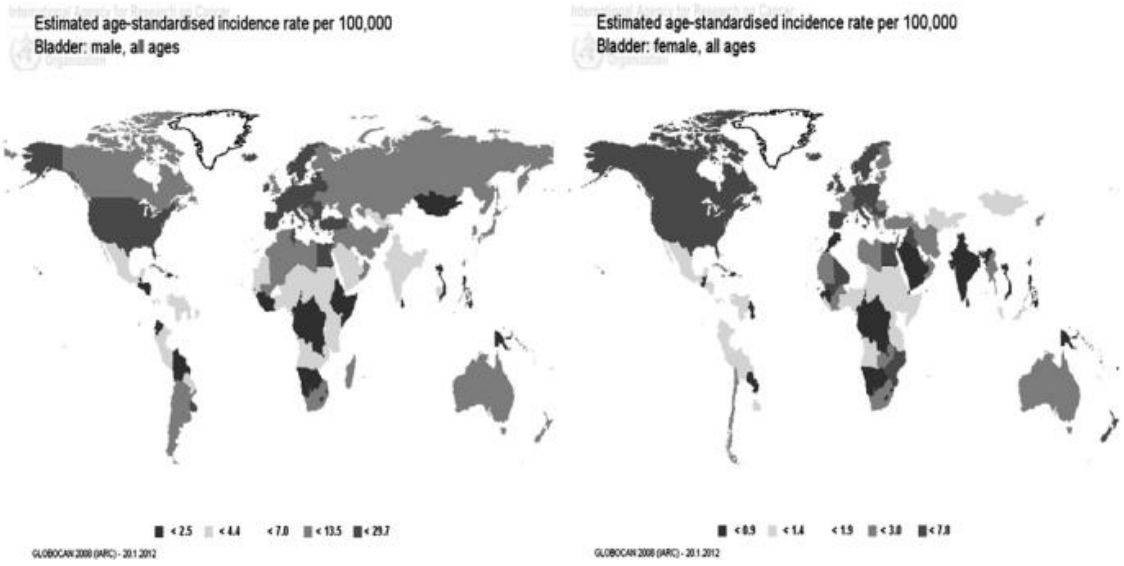
Bu çalışmada, mesane kanserli hastalardan elde edilen tümörlü ve normal dokulardan RNA elde edilerek ters transkriptaz polimeraz zincir tepkimesi ile cDNA'ya dönüştürülmüştür. Kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir tepkimesi ile her bir örneğin cDNA'sı ile internal kontrol olarak kullanılan SDHA ve TBP genlerinin kopya sayılarının eş zamanlı olarak karşılaştırılması sonucu elde edilen $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değeri kullanılarak genlerin ifade düzeyi belirlenerek analiz edilmiştir.

Bu çalışmada c-Myc protoonkogenin aşırı ifadesini ve bunun hedef genlerinden biri olarak kabul edilen, pek çok kanser türünde ifadesi azalan MYCT1 genin mesane kanserindeki rolünü araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mesane Kanseri Epidemiyolojisi

Dünyada, 2008 yılında, 386300 yeni mesane kanseri olgusunun ortaya çıktığı ve 150200 kişinin bu nedenle öldüğü tahmin edilmektedir. Az gelişmiş ülkelerde ortaya çıkan yeni olgu sayısı gelişmiş batılı ülkelerden %70 daha az olup, en düşük ve en yüksek görülen ülkeler arasındaki fark 14 kata ulaşmaktadır. Mesane kanserinin risk faktörleri arasında bulunan şistosomiyazisin endemik olduğu Orta Doğu ve Kuzey Afrika ülkelerinde de insidansı yüksektir (Ferlay J ve ark 2008, Jemal A ve ark 2011, Curado MP ve ark 2007). Erkeklerde mesane kanserinin en yüksek oranda gözlendiği bölgeler İtalya (Napoli 47,2/100000), İspanya (Mursia 37,6/100000), ABD (Michigan-Detroid beyazlarda 28,8/100000), ve Mısır (Garbiya 27,9/100000) bulunmaktadır. Kadınlarda ise İtalya (Sondrio 10,1/100000, Napoli 6,4/100000), ABD (Michigan Detroid 7,1/100000) ve İspanya (Tarragona 5,5/100000) en yüksek insidanslara sahiptirler. Mesane kanseri insidansı Orta Afrika, Güney Asya ve uzak doğu ülkelerinde düşük olup, erkeklerde yüz bin kişide görülme sıklığı Uganda'da 3,0, Malezya'da 3,1, Hindistan'da 0,2 ve Cezayir'de 0,5 olarak bildirilmiştir (Curado MP ve ark 2007). Şekil 2-1'de, GLOBOCAN 2008 verilerine göre dünyada mesane kanserinin yüz binde görülme oranı sunulmuştur (Jemal A ve ark 2011).



Şekil 2-1. Cinsiyete göre yüz bin kişide mesane kanseri görülme sıklığı

Ülkemizde kanser kayıt merkezi (nüfus tabanlı) bulunan sekiz ilin (Eskişehir, İzmir, Edirne, Trabzon , Erzurum, Bursa , Samsun, Antalya) verilerine dayanarak yapılan çalışmada, 2006 yılında mesane kanserinin erkeklerdegörülme oranı yüz binde 19,6, kadınlarda 2,5 olarak tahmin edilmektedir (Eser S ve ark 2006). Ferlay J 2012 verilerine göre mesane kanseri hem kadın hem de erkeklerde yüz bin 15,2 oranında rastlandığı bulunmuştur. Ülkemizde erkeklerde en sık görülen üçüncü kanser türü olup, tüm kanserler içindeki payı %8,5'tir (Eser S ve ark 2006).

Mesane kanseri dünyada ise tüm kanserler içerisinde %3,2'lik bir paya sahip olup, cinsiyet karşılaştırmasında sigara kullanım oranlarının daha yüksek olması ve maruz kaldıkları mesleki karsinojenler nedeniyle erkeklerde kadınlardan daha sık görülmektedir (Messing EM 2002, Quek ve ark. 2004, Lotan ve ark. 2002, Lokeshwar ve ark. 2001, Ramakumar ve ark. 1999). Mesane kanseri genel olarak ileri yaş yetişkin kanserleri arasında yer almakla birlikte çocuklarda ve genç erişkinlerde de görülmektedir. Erken yaşlarda görülen mesane kanserleri genel olarak yavaş seyirli ve düşük dereceli olsa da çok nadir kötü prognostik gidişli mesane kanserlerine de bu genç hasta gruplarında rastlanmaktadır (Ramakumar ve ark. 1999).

Mesane kanserli hastaların büyük çoğunluğunda (%75) tanı esnasında hastalık mesane mukozası veya submukoza (pTa, CIS, pT1) ile sınırlı olup bu grup kasa invaze olmayan mesane kanseri (eski isimlendirme yüzeyel mesane kanseri) olarak adlandırılmaktadır (Ge ve ark. 2001). Bu tabakalardan daha ileri katmanlara yayılım gösteren mesane kanseri olguları ise kasa invaze olan mesane kanseri olarak adlandırılmaktadır. Karşılaştırıldıklarında kasa invaze olmayan mesane kanserinde hastalığın daha yavaş seyirli olması nedeniyle uzun yaşam süresi beklentisi mevcut iken kasa invaze olan mesane kanserinde ölüm oranının yüksek olduğu görülmektedir. (Ge ve ark. 2001).

2.2. Mesane Kanserlerinde Histolojik Tipler

Mesane kanseri, mesanenin iç yüzeyini döşeyen hücrelerden kaynaklanmakta olup bu hücre türlerine göre alt türlere ayrılmaktadır.

Üroepiteliyal karsinom (Değişici epitel hücreli karsinom): Bu kanser türünde, kanser mesanenin iç yüzeyini örten ve epitel hücre olarak isimlendirilen hücrelerden

kaynaklanır. Tüm mesane kanserleri içinde %90 görülme payı ile en sık rastlanan mesane kanseri türüdür.

Yassı epitel hücreli karsinom (Skuamöz hücreli karsinom): Mesanenin uzun süre enfeksiyon ve tahriş ile karşılaşması sonrasından mesanenin skuamöz hücrelerinde (yassı epitel hücreler) oluşan kanserdir. Mesane kanserlerinin hemen hemen %6-8'i bu tür kanserden oluşmaktadır.

Adenokarsinom: Bu kanser türü, mesane duvarını örten ve mukus oluşumunu sağlayan glandüler (salgı yapan, sekretuar) hücrelerden kaynaklanır. Mesane kanserlerinin %2'de bu kanser tipi görülür.

2.3. Mesane Kanserlerinde Evreleme

Kanserin mesanenin tabakalarına (kas tabakları ve mukoza) veya vücudun başka bölümlerine yayılım durumunun incelenmesine "kanserin evrelemesi" denilmektedir. Kanserin evrelenmesi sonrasında hastalığın hangi evrede olduğu hakkında bilgi edinilir. Kanserin evresinin bilinmesi, bundan sonra uygulanacak tedavilerin planlanmasında önem teşkil etmektedir. Mesane kanserlerinin evrelendirmesinde aşağıda belirtilen tanı koyma yöntemleri kullanılmaktadır.

Sistoskopi: Üretra diye adlandırılan idrar kanalları ile birlikte mesane içinin direk değerlendirilmesi işlemidir. Işıklı bir teleskoptan oluşan sistoskopun uretradan sokularak mesaneye kadar ilerleyerek bu endoskopik işlem gerçekleştirilir. Bu endoskopik işlem esnasında tümör bölgesinden biopsi alınabilir.

Bilgisayarlı tomografi: Başka pek çok organda yapıldığı gibi mesane kanserinde de özellikle tümörün mesane içindeki yeri, büyüklüğü ve durumu, mesanenin duvarına sirayet etme derecesinedir, mesane dışına da yayılım göstermişmidir gibi konular ile ilgili bilgi edinilir.

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI): Mesane kanserinin değerlendirilmesi bakımından bilgisayarlı tomografiden üstünlüğü yoktur. Bilgisayarlı tomografi ile benzer düzeyde mesane kanseri ile ilgili bilgi verir.

Kemik sintigrafisi: Kanser hücrelerinin kemiklere yayılıp yayılmadığı hakkında bilgi edinilmesi için yapılan bir değerlendirme yöntemidir. Damardan verilen az miktardaki radyoaktif madde, kanın dolaşımına girerek kemikte toplanır. Bu radyoaktif maddenin toplandığı kemik görüntüleri bir tarayıcı tarafından alınır. Kanserin yayılım gösterdiği kemik yapılarda radyoaktif maddenin toplanması daha fazladır olur ve yüksek bir etkinlik gösterir.

Akciğer Bilgisayarlı Tomografi : Mesane kanserinin akciğerlerde yayılımının olup olmadığı ile ilgili bilgi edinmek için yapılan işlemdir.

Evreleme:

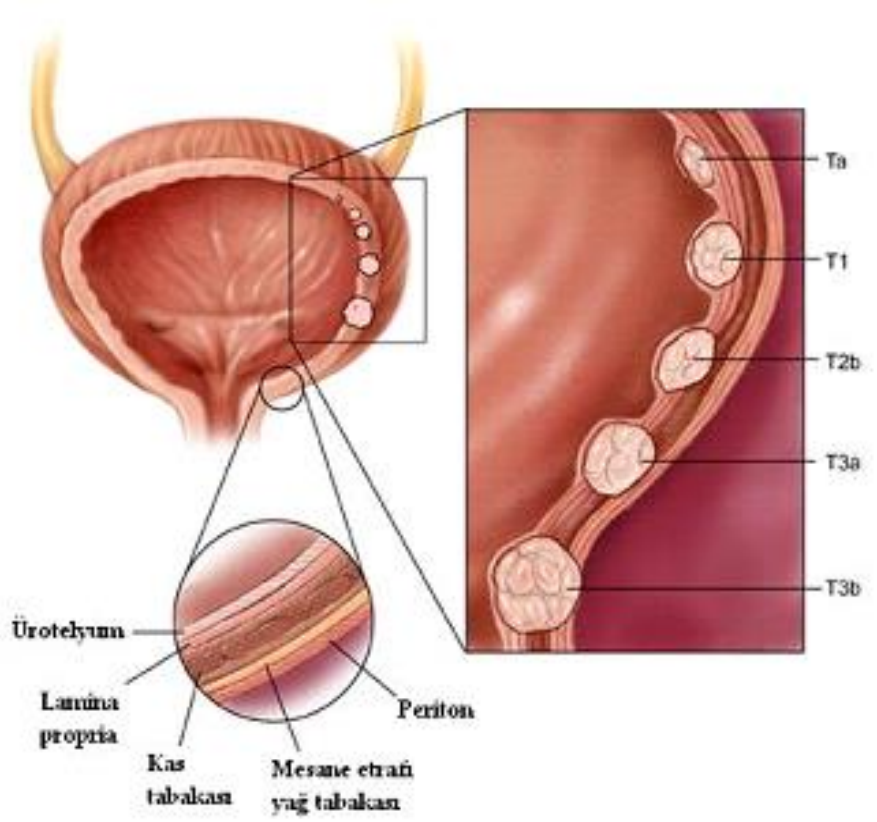
Günümüzde mesane kanserlerinde evreleme TNM sınıflamasına göre yapılmaktadır.

T: tümörün mesanedeki sirayet ettiği derinliği ve durumunu ifade eder

N: mesane kanserinin lenf bezlerine geçip geçmediğini ifade eder

M: mesane kanserinin uzaktaki diğer organlara yayılım gösterip göstermediğini ifade eder

Mesane duvarını iç taraftan dışa tarafa doğru mukoza submukoza (lamina propria) kas katmanı (yüzeysel ve derin) mesane çevresindeki yağ katmanını oluşturur. Mesanedeki tümör mukoza katmanından çıkar ve derinlerdeki katmanlara işledikçe “T” derecesi artar (Şeki2-2)



Şekil 2-2: Mesane tümörün katmanlara göre derinliği

Tümör Evrelemesi (Şekil-2-2)

Tx: Değerlendirilmemiş olan evre

T0: Tümör bulunmayan

Ta: Mukozada sınırlı kalmış, bir alt katmana geçişi olmamış papiller tümör

Tis: Yayvan tümör (Karsinoma in situ)

T1: Tümör submukoza katmanına, diğer bir deyişle lamina propriaya geçiş göstermiş

T2: Tümör kas katmanına geçiş göstermiş

T2a: Tümörün yüzeyel kas tabaksına geçiş göstermiş (kasın sadece içteki %50'lik kısmına)

T2b: Tümör kas tabaskının derinlerine de geçiş göstermiş

T3: Tümör mesane etrafındaki yağ katmanına geçiş göstermiş

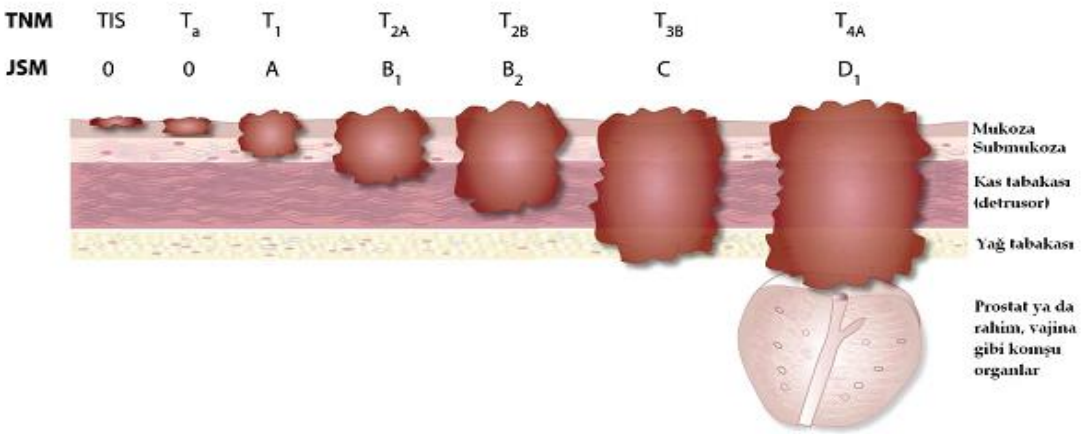
T3a: Yağ katmanına mikroskopik düzeyde geçiş göstermiş

T3b: Yağ katmanına görülür şekilde geçiş göstermiş

T4: Tümör komuşu leğen kemiğine, prostat, karın duvarı, vajina, rahime kadar ilerlemiş

T4a: Tümör prostata veya vajina-rahime geçiş göstermiş

T4b: Tümör karın duvarı, leğen kemiğine kadar ilerlemiş



Şekil 2-3: Tümörün mesane duvarındaki geçiş gösterdiği derinliğe göre sınıflaması

Bölgesel lenf bezleri

Nx: Tümör varlığı Bölgesel lenf bezlerinde araştırılmamış

N0: Bölgesel lenf bezlerinde tümör bulunmayan

N1: ‹2 cm lenf bezi yayılımı olan

N2: Bölgesel lenf bezlerinde 2 ile 5cm aralığında tek veya 5 cm den küçük birden fazla lenf bezi yayılımı olan

N3: ›5 cm lenf bezi yayılımı olan

Uzak yayılım

Mx: Uzak organlara yayılım gösterip göstermediği araştırılmamış

M0: Uzak organlara yayılımı olmayan

M1: Uzak organlara (akciğer, karaciğer, kemik) yayılımı olan.

2.4. Karsinogenez

Kanser, hücrelerin yaşam döngülerini düzenleyen mekanizmalarda meydana gelen olası değişimler sonucunda hücrenin kontrolsüz ve aşırı çoğalmasıyla ilerleyen, çağımızın en önemli sağlık sorunlarından birisidir. Kanser gelişiminde hücre döngüsü kontrolü ve hücre metabolizmasının önemli basamaklarında rol alan genlerde meydana gelebilecek olası genetik değişimler aktif rol oynamaktadır. Bu genetik değişimler sonucunda ilgili genin aşırı etkinleşmesi ya da baskılanması sonucu karsinogenez süreci başlayabilmektedir. Bu hücre içi faktörlerin yanında kanser gelişiminde çevresel etmenlerin de rol oynadığı gösterilmiştir. Bunlara örnek olarak akciğer kanseri gelişiminde sigaranın, deri kanseri gelişiminde UV ışığının, beyin tümörü gelişiminde pestisitlerin rol oynadıklarını gösteren çalışmalar verilebilir.

Mesane kanseri, batı ülkelerinde erkekler arasında görülen en yaygın kanserler arasında dördüncü, kadınlarda ise sekizinci sırada yer alır (Sanyal ve ark. 2004). Türkiye'de erkekler arasında 10., kadınlar arasında 19. en sık ölüm nedeni (The Health Ministry report, 2000) olan mesane kanseri erkeklerde tüm kanserlerin %5,5'ini oluştururken, kadınlarda bu oran %2,3 civarındadır. Ülkemizde Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu'nun hazırladığı Kanser Yükü 2006 Raporu'na göre mesane kanseri, görülen kanser türleri arasında yaklaşık %5,4 ile dördüncü sırada yer almaktadır. Çocuklar da dahil olmak üzere her yaşta görülmekle birlikte orta ve ileri yaşlarda görülme sıklığı daha yüksektir.

Mesane kanserleri yüzeyel, kas invazif ve metastatik olmak üzere 3 temel gruba ayrılmaktadır. Mesane tümörlerinin histopatolojik olarak; yaklaşık %90'ını transizyonel hücreli karsinom (TCC), %6-8'sini skuamoz hücreli karsinoma, %2'sini adenokarsinoma, %1-2'sini de nondifferansiye karsinom ve mikst tümörler

oluşturmaktadır. Nadir görülen mesane epitel tümörleri; villoz adenom, karsinoid tümör, karsinosarkom ve melanomdur. Ayrıca mesanede feokromasitoma, lenfoma, koriokarsinoma ve mezenşimal tümörler gibi epitel kökenli olmayan tümörler de oldukça nadir olsa da görülmektedir.

Mesane kanseri, kanser olguları içinde tanı anından ölüme kadar, hastaya uygulanan tedavi masrafları açısından en pahalı kanser türlerinden biridir (Botteman ve ark. 2003). Günümüzde, yüzeyel ve yavaş ilerleyen mesane tümörlerinin oluşumunda genetik yatkınlığın, agresif değişici epitel karsinomlarının ve skuamoz hücre karsinomlarının oluşumunda ise çeşitli karsinojenlerin, kimyasalların etkin olduğu düşünülmektedir. Mesane kanserinin oluşumunda birçok faktörün rol aldığı bilinmektedir. Etiyolojik faktörler arasında genetik yatkınlığın dışında, sigara, mesleki karsinojenler, kronik enfeksiyonlar, mesane taşı veya yabancı cisimler, analjezikler, pelvik radyasyon, sitotoksik kemoterapi ve bazı gıdalar sayılabilir (Colombel ve ark. 2008).

Mesane kanserleri etiyolojisinde mesleki karsinojenler ikinci sırada yer alır. Bunlar arsında boya, lastik, deri, kağıt, kozmetik ve petrol sanayiinde çalışanların maruz kaldıkları mesleki karsinojenler arasında; anilin boyaları, 2-naftilamin, 4-aminobifenil ve benzidin bulunur (Stadler ve ark.1993). Mesane kanserinin, endüstriyel karsinojenlere uzun yıllar maruz kalındıktan ve uzun bir süre geçtikten sonra gelişebileceği öne sürülmektedir (Jung ve ark.2000).

Karsinogenezin temelinde büyümeyi kontrol eden protoonkogen, tümör baskılayıcı genler ile programlı hücre ölümü veya apopitozu düzenleyen genlerdeki mutasyonlar bulunur. Mesane kanseri ile ilgili deneysel çalışmalarda, karsinojenlerin genomik DNA üzerinde oluşturduğu mutasyonların onkogenlerde etkinleşmeye, tümör baskılayıcı genlerde ise etkinlik kaybına neden olduğu gösterilmiştir. Karsinojenlerin

ayrıca tümör baskılayıcı genlerde delesyon ve allel kaybına neden oldukları da bilinmektedir.

2.4.1. Onkogenler

Bilinen pek çok farklı onkogenden ras, K-sam, myc, c-abl, sis, erb ve gip ailesine dahil olanların çeşitli mutasyonlarla etkinleşerek insanlarda mesane kanseri gelişimine neden oldukları saptanmıştır.

Protein ürünleri, normal hücre büyümesi ve sinyal iletisinde önemli role sahip olup aşırı ifade edildikleri zaman kontrolsüz hücre büyümesine ve tümör oluşumuna yol açan proto-onkogenlere, onkogen adı verilir. Günümüzde insanlarda 40'ın üzerinde protoonkogenin olduğu bilinmektedir ve bu genlerin en azından birinin etkinleşerek onkogene dönüşmesinin insan tumor gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Onkogenler büyüme etmenleri ve almaçları (hst-1, EGFR/erbB, C-erbB- 2/Her-2, sis, int-2), hücre içi sinyal ileti molekülleri (raf, stat-3,ras), yazılım etmenleri (jun,fos, myc, c-myb), hücre döngüsünü düzenleyen proteinler (siklin D1) ve apoptozda işlev gören proteinler (blc- 2, Bax) olarak sınıflanabilir (Nagpal JK. ve ark. 2003). Proto-onkogenler, özellikle hücre içi sinyal ileti yolaklarında işlev gören normal hücresel proteinleri kodlar. Proto-onkogenler mutasyona uğradıkları zaman normal hücresel işlevlerinin dışında işlev görmeye başlayan onkoproteinlerin yapılmasına neden olur.

Onkogenlerin etkinleşmesi gen amplifikasyonu, kromozomal translokasyon, viral insersiyon ve nokta mutasyonu mekanizmaları ile gerçekleşir (Trent R.J,2005). İnsan kanserleri ile ilişkili DNA virüsleri; Human Papilloma Virüs, Human İmmunodeficiency Virüs (HIV-1), Hepatit B Virüs, RNA virüsleri; Human T- Cell Leukomia Virüs Type 1 (HTLV-1), HTLV-5, HTLV-2'dir. İnsanda tümör oluşumuna

yol açan retroviral onkogenler ise; v-ERBA, v-ABL, v-ERBB, v-HRAS, v-KRAS, v-FMS, v-MYB, v-JUN, v-SIS, v-SRC, v-MYC dir .

Onkogenlerin bir kısmı da PDGF (Platelet Derived Growth Factor), EGF (Epidermal Growth Factor), TGF Alfa,Beta (Transforming Growth Factor Alfa,Beta), FGF1-7 (Fibroblast Growth Factor 1-7), IGF1-2 (Insulin Like Growth Factor 1-2), gibi büyümeyi uyaran onkogenlerdir. Ayrıca büyümeyi uyaran yazılım etmenleri; MYC, MYB, SKI, FOS, REL, JUN, EV1'dir. İnsan tümörlerinde yer aldığı bilinen onkogenler aşağıdaki tabloda verilmiştir (Macdonald F., 2004).

Tablo 2-1. İnsan tümörlerinde işlev gören onkogeneler

Tümör	Onkogen
Mesane	HRAS, KRAS
Beyin	SIS, ERBB1
Meme	KRAS, ERBB2,MYC
Servikal	MYC
Kolorektal	HRAS, KRAS,MYC, MYB
Mide	HST, ERBB1, NRAS, MYC, MYB
Akciğer	KRAS,HRAS, ERBB1, MYCN, MYCL, MYC
Melanom	HRAS
Nöroblasom	NMYC
Yumurtalık	KRAS, ERBB2
Pankreas	MYC, KRAS
Prostat	MYC
Testis	MYC

Lösemi	BCL1, BCL2, ABL, MYC, BCR

Bu onkogenler arasında ras; mesane, kolon, akciğer ve meme kanserlerinin yaklaşık %15'inden sorumlu tutulmaktadır (Luis ve ark.2007). K-ras, H-ras ve N-ras genlerinden birinde 61., 13. ya da 12. kodonlarında meydana gelen mutasyon ras protoonkogenlerini etkinleştirir. Her ras geninin farklı kanser türlerinde etkinleştiği gösterilmiştir. Örneğin pankreas, akciğer, ve kolon adenokarsinomlarında K-ras geni mutasyon sonucu etkinleşirken miyeloid lösemide daha çok N-ras geninin mutasyonlar sonucu etkinleştiği bildirilmiştir. Mesane ve böbrek kanserlerinde ise H-ras geninin mutasyon sonucu etkinleştiği bilinmektedir (Williams S.G. ve ark.2004). Bir diğer onkogen olan HER-2/neu (c-erbB-2) protoonkogeninin ise meme, prostat ve mesane kanserlerinde etkinleştiği gösterilmiştir. Meme kanserinde HER-2/neu'nun tümörün ilerlemesi ve yaşam süresi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bir kaç araştırmada c-erbB-2 ifade düzeyi ile mesane kanserli hastalarda tümör ilerme hızı, metastaz sıklığında artma ve yaşam kalitesindeki azalma arasında ilişki olduğu raporlanmıştır. mdm-2 onkogenin ise mesane tümörlü hastalarda %20-30 civarında aşırı ifade edildiği bildirilmiştir (Williams S.G. ve ark.2004).

Bir onkogen olan bcl-2 ifadesindeki artış, hücre döngüsünü etkileyip apoptoza gidişi engelleyerek karsinogenezde işlev gösterir. BAX proapoptotik işlevine antagonist bir gen olan bcl-2'nin mesane kanseri de dahil olmak üzere pek çok tümörde aşırı ifade edildiği ve hastalığın agresif seyri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Maluf FC ve ark. 2006). Yapılan ön çalışmalarda ileri evre ürotelyal hücreli karsinomlarda düşük bir düzeyde BAX ve aşırı seviyede bcl-2 ifade edildiği gösterilmiştir. Sistektomi uygulanmış olan bir grup hastada aşırı bcl-2 ifadesi ve ortalama yaşam süresiyle herhangi bir ilişki bulunamamasına rağmen, radyoterapi almış olan hastalarda

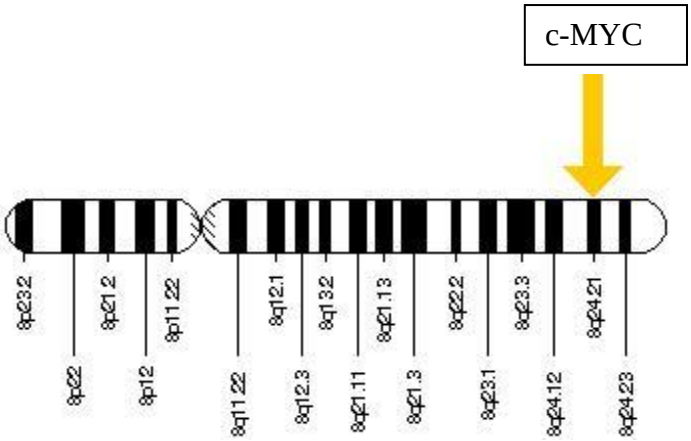
hastalığın ilerlemesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Maluf FC ve ark. 2006, Tekin A, 2007).

Büyüme etmenleri, hücre zar almaçları aracılığı ile hücre içi sinyal iletisini başlatan polipeptid veya peptidlerdir. Endokrin, otokrin veya parakrin yollarla hücre üzerinde etki gösterirler. Hücre büyümesinin yanı sıra hücre çoğalması ve göçü gibi diğer hücre işlevleri üzerinde de etkileri vardır. Değişik tümörlerde büyüme etmeni almaçlarını kodlayan genlerde mutasyon bulunduğu gösterilmiştir. Mutant almaç proteinleri, çevrede büyüme faktörü olmadığı zamanlarda dahi, hücreye sürekli olarak mitojenik sinyal iletir. Üretel kökenli kanserlerin %4,6'sında Epitel kökenli büyüme etmeni almaçları (EGFR1) gen amplifikasyonu, %23'ünde de EGFR1 proteinin aşırı yapıldığı gösterilmiştir. Aşırı EGFR1 yapılması ise tümör proliferasyonu, tümörün daha agresif olması ve prognozun kötü olması ile ilişkilendirilmiştir. (Mhawech-Fauceglia P., ve ark., 2006).

2.4.2. MYC Geni ve İşlevi (Avian Myelocytomatosis Viral Oncogene Homolog)

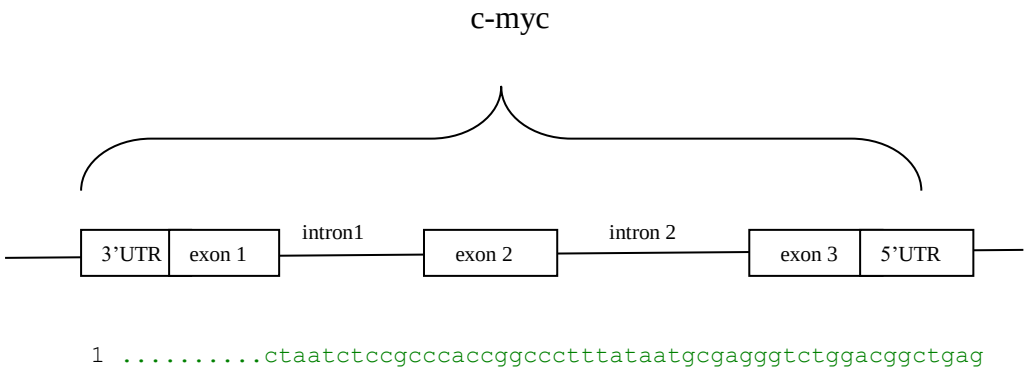
Protoonkogenler özellikle, hücreler arası sinyal iletisinin önemli proteinlerini kodlama özelliğine sahip olan normal hücresel genlerdir. Onkoproteinler, protoonkogenlerin mutasyona uğramış şekillerinin yazılımı sonucu kodlanan proteinleridir. Mutasyona uğramış genler tarafından kodlanan bu proteinler normal işlevlerini yerine getiremezler.

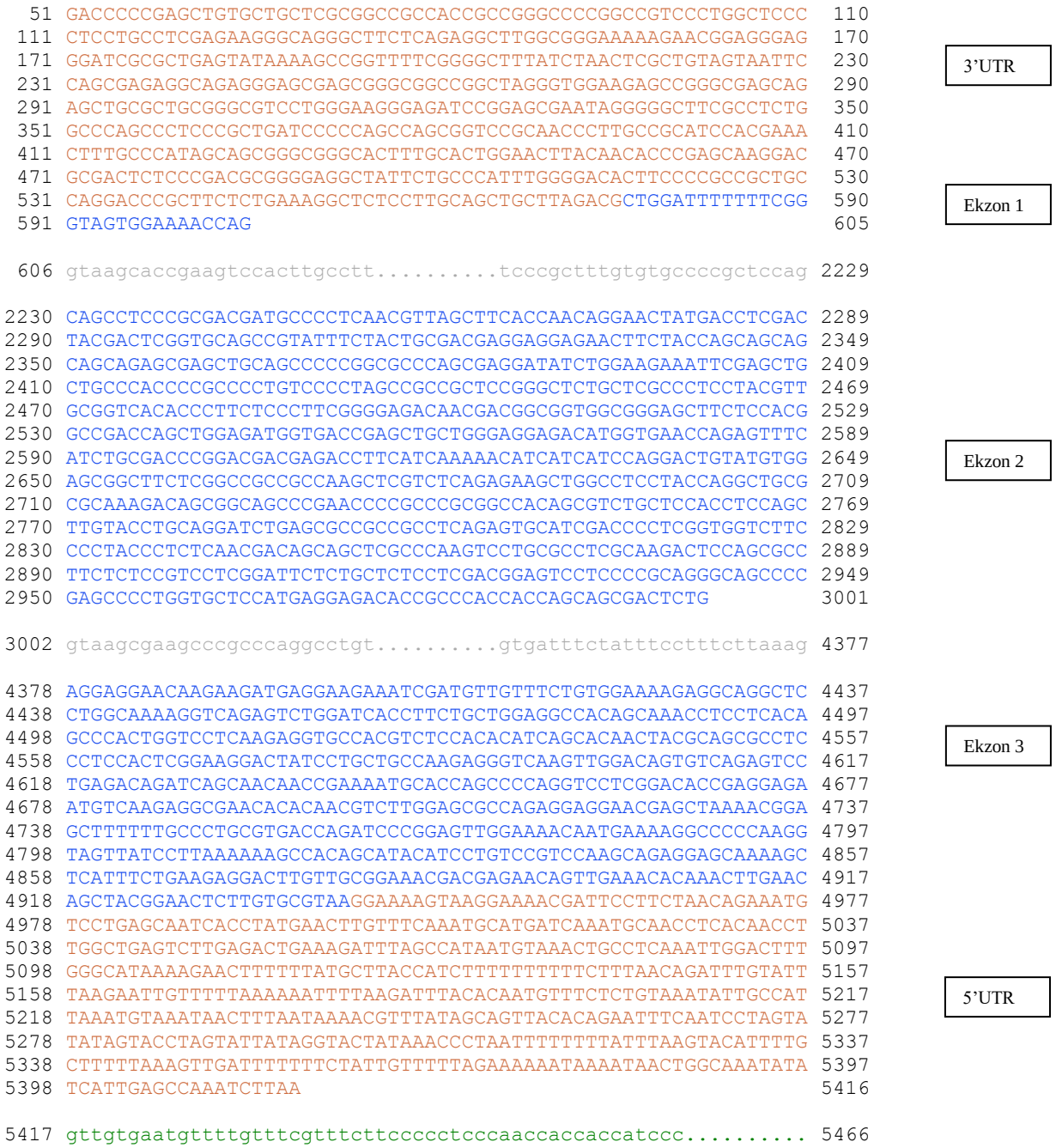
c-Myc geni, avian myelositik lösemi virüsünün insandaki hücresel benzeşiğidir. c-Myc; N-myc ve B-myc'in de yer aldığı myc protein ailesinin bir üyesi olup 8. kromozomun uzun kolunda yer alan myc geni tarafından kodlanır (Şekil2-4).



Şekil 2-4 c-MYC geni kromozomal bölge şeması

Üç eksondan oluşan gende aynı zamanda üç farklı promotör bölge bulunmaktadır. 2. ekzondan başlayıp devam eden çevirim sonucu 439 aminoasitlik, 64 kDa ağırlığında c-myc proteini üretilir. Diğer alternatif başlangıç bölgelerinden başlayan çevrimler sonucu p67, Myc ve MycS gibi daha uzun ya da daha kısa proteinler yapılır (Bertino JR., 2002). In situ hibridizasyon çalışmaları sonucu myc geninin bulunduğu bölgenin Burkit lenfoma translokasyonlarının kırılma noktası olan 8. kromozomun q24 bölgesinde yer aldığı bildirilmiştir (Rabbitts TH, 1983).






```
  51 GACCCCCGAGCTGTGCTGCTCGCGGCCGCCACCGCCGGGCCCCGGCCGTCCCTGGCTCCC  110
 111 CTCCTGCCTCGAGAAGGGCAGGGCTTCTCAGAGGCTTGGCGGGAAAAAGAACGGAGGGAG  170
 171 GGATCGCGCTGAGTATAAAAGCCGGTTTTCGGGGCTTTATCTAACTCGCTGTAGTAATTC  230
 231 CAGCGAGAGGCAGAGGGAGCGAGCGGGCGGCCGGCTAGGGTGGAAGAGCCGGGCGAGCAG  290
 291 AGCTGCGCTGCGGGCGTCCTGGGAAGGGAGATCCGGAGCGAATAGGGGGCTTCGCCTCTG  350
 351 GCCCAGCCCTCCCGCTGATCCCCCAGCCAGCGGTCCGCAACCCTTGCCGCATCCACGAAA  410
 411 CTTTGCCCATAGCAGCGGGCGGGCACTTTGCACTGGAACTTACAACACCCGAGCAAGGAC  470
 471 GCGACTCTCCCGACGCGGGGAGGCTATTCTGCCCATTTGGGGACACTTCCCCGCCGCTGC  530
 531 CAGGACCCGCTTCTCTGAAAGGCTCTCCTTGCAGCTGCTTAGACGCTGGATTTTTTTCGG  590
 591 GTAGTGGAAAACCAG                                              605

 606 gtaagcaccgaagtccacttgcctt.....tcccgctttgtgtgccccgctccag 2229

2230 CAGCCTCCCGCGACGATGCCCCTCAACGTTAGCTTCACCAACAGGAACTATGACCTCGAC 2289
2290 TACGACTCGGTGCAGCCGTATTTCTACTGCGACGAGGAGGAGAACTTCTACCAGCAGCAG 2349
2350 CAGCAGAGCGAGCTGCAGCCCCCGGCGCCCAGCGAGGATATCTGGAAGAAATTCGAGCTG 2409
2410 CTGCCCACCCCGCCCCTGTCCCCTAGCCGCCGCTCCGGGCTCTGCTCGCCCTCCTACGTT 2469
2470 GCGGTCACACCCTTCTCCCTTCGGGGAGACAACGACGGCGGTGGCGGGAGCTTCTCCACG 2529
2530 GCCGACCAGCTGGAGATGGTGACCGAGCTGCTGGGAGGAGACATGGTGAACCAGAGTTTC 2589
2590 ATCTGCGACCCGGACGACGAGACCTTCATCAAAAACATCATCATCCAGGACTGTATGTGG 2649
2650 AGCGGCTTCTCGGCCGCCGCCAAGCTCGTCTCAGAGAAGCTGGCCTCCTACCAGGCTGCG 2709
2710 CGCAAAGACAGCGGCAGCCCGAACCCCGCCCGCGGCCACAGCGTCTGCTCCACCTCCAGC 2769
2770 TTGTACCTGCAGGATCTGAGCGCCGCCGCCTCAGAGTGCATCGACCCCTCGGTGGTCTTC 2829
2830 CCCTACCCTCTCAACGACAGCAGCTCGCCCAAGTCCTGCGCCTCGCAAGACTCCAGCGCC 2889
2890 TTCTCTCCGTCCTCGGATTCTCTGCTCTCCTCGACGGAGTCCTCCCCGCAGGGCAGCCCC 2949
2950 GAGCCCCTGGTGCTCCATGAGGAGACACCGCCCACCACCAGCAGCGACTCTG          3001

3002 gtaagcgaagcccgcccaggcctgt.....gtgatttctatttcctttcttaaag 4377

4378 AGGAGGAACAAGAAGATGAGGAAGAAATCGATGTTGTTTCTGTGGAAAAGAGGCAGGCTC 4437
4438 CTGGCAAAAGGTCAGAGTCTGGATCACCTTCTGCTGGAGGCCACAGCAAACCTCCTCACA 4497
4498 GCCCACTGGTCCTCAAGAGGTGCCACGTCTCCACACATCAGCACAACTACGCAGCGCCTC 4557
4558 CCTCCACTCGGAAGGACTATCCTGCTGCCAAGAGGGTCAAGTTGGACAGTGTCAGAGTCC 4617
4618 TGAGACAGATCAGCAACAACCGAAAATGCACCAGCCCCAGGTCCTCGGACACCGAGGAGA 4677
4678 ATGTCAAGAGGCGAACACACAACGTCTTGGAGCGCCAGAGGAGGAACGAGCTAAAACGGA 4737
4738 GCTTTTTTGCCCTGCGTGACCAGATCCCGGAGTTGGAAAACAATGAAAAGGCCCCCAAGG 4797
4798 TAGTTATCCTTAAAAAAGCCACAGCATACATCCTGTCCGTCCAAGCAGAGGAGCAAAAGC 4857
4858 TCATTTCTGAAGAGGACTTGTTGCGGAAACGACGAGAACAGTTGAAACACAAACTTGAAC 4917
4918 AGCTACGGAACTCTTGTGCGTAAGGAAAAGTAAGGAAAACGATTCCTTCTAACAGAAATG 4977
4978 TCCTGAGCAATCACCTATGAACTTGTTTCAAATGCATGATCAAATGCAACCTCACAACCT 5037
5038 TGGCTGAGTCTTGAGACTGAAAGATTTAGCCATAATGTAAACTGCCTCAAATTGGACTTT 5097
5098 GGGCATAAAAGAACTTTTTTATGCTTACCATCTTTTTTTTTTCTTTAACAGATTTGTATT 5157
5158 TAAGAATTGTTTTTAAAAAATTTTAAGATTTACACAATGTTTCTCTGTAAATATTGCCAT 5217
5218 TAAATGTAAATAACTTTAATAAAACGTTTATAGCAGTTACACAGAATTTCAATCCTAGTA 5277
5278 TATAGTACCTAGTATTATAGGTACTATAAACCCTAATTTTTTTTATTTAAGTACATTTTG 5337
5338 CTTTTTAAAGTTGATTTTTTTCTATTGTTTTTAGAAAAAATAAAATAACTGGCAAATATA 5397
5398 TCATTGAGCCAAATCTTAA                                          5416

5417 gttgtgaatgttttgtttcgtttcttccccctcccaaccaccaccatccc..... 5466
```

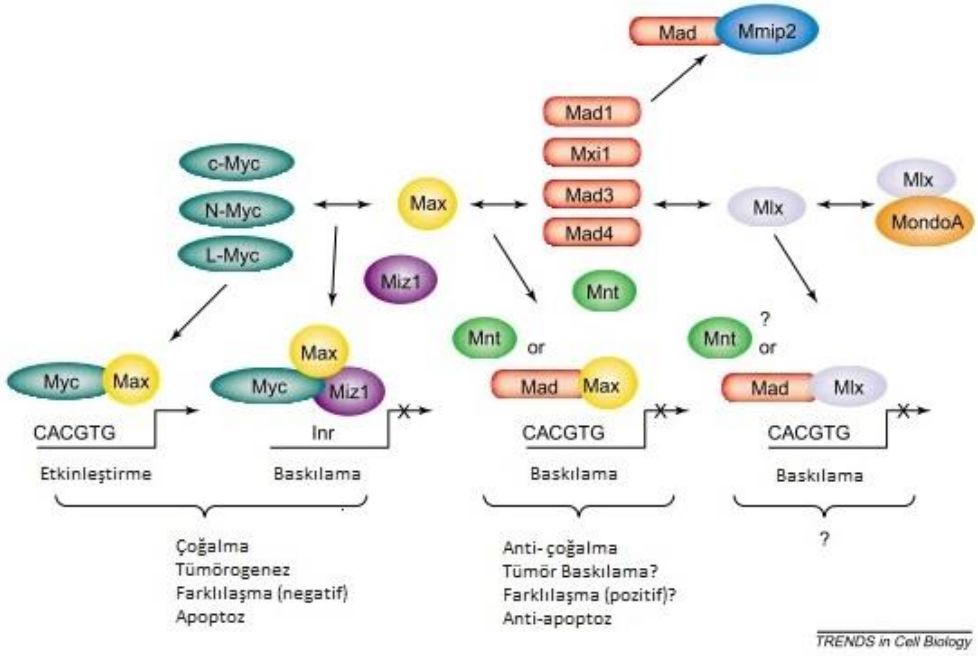
Şekil 2-5 c-myc geninin yapısı

c-Myc tavuk (avian) myelositomatozis virüsü MC29'dan izole edilen viral transformasyon onkogeni olan v-myc'in normal hücresel benzeşiğidir (Snyder RC ve ark., 1992). c-Myc geninin 2. ve 3. eksonunun çevrimi sonucu oluşan Myc onkoproteinin, birkaç protein kinaz tarafından fosforillenebildiği ve çekirdeğe yerleştiği bilinmektedir. Ancak, diğer kromozomlar tarafından V-myc, N-myc, L-myc benzeri

birçok proteinin kodlandığı bilinmektedir. Dimerleşerek DNA'ya güçlü bir şekilde bağlanabilmeleri ve çekirdeğe yerleşik olmaları bu proteinlerin işlevlerinin yazılımı düzenlemek olduğunu göstermektedir (Cole MD ve ark, 1986).

Myc hücre çoğalma ve farklılaşmasında önemli sorumluluklar üstlenmiştir. Amplifikasyon, kromozomal translokasyon ya da nokta mutasyonu sonucu c-myc genindeki oluşan moleküler değişimler, büyüme faktör gereksiniminin azalmasına, hücre döngüsünün G1 evresinin kısalmasına, normal hücrelerin transformasyonuna ve immobilizasyonuna neden olduğu bildirilmiştir (Snyder RC ve ark., 1992). Myc geninin küçük hücre akciğer kanserinde, kolon kanseri ve diğer pekçok kanser türünde amplifiye olduğu bilinmektedir (Saksela K ve ark, 1985).

Myc proteinlerinin tümü (c-myc, N-myc ve L-myc) sarmal-ilmek-sarmal ve lösin fermuar bölgesi içerir. Başka bir sarmal-ilmek-sarmal lösin fermuar proteini olan Max ile heterodimer oluşturarak özgün DNA bölgelerine (E-kutularına) bağlanırlar.



Şekil 2-6: Myc-Max dimerinin E-kutusu dizilerine bağlanması hedef genin etkinleşmesi ile ilişkiliyken, Miz1 ve Inr dizilerine bağlanması hedef genin bakılanması ile sonuçlanır.

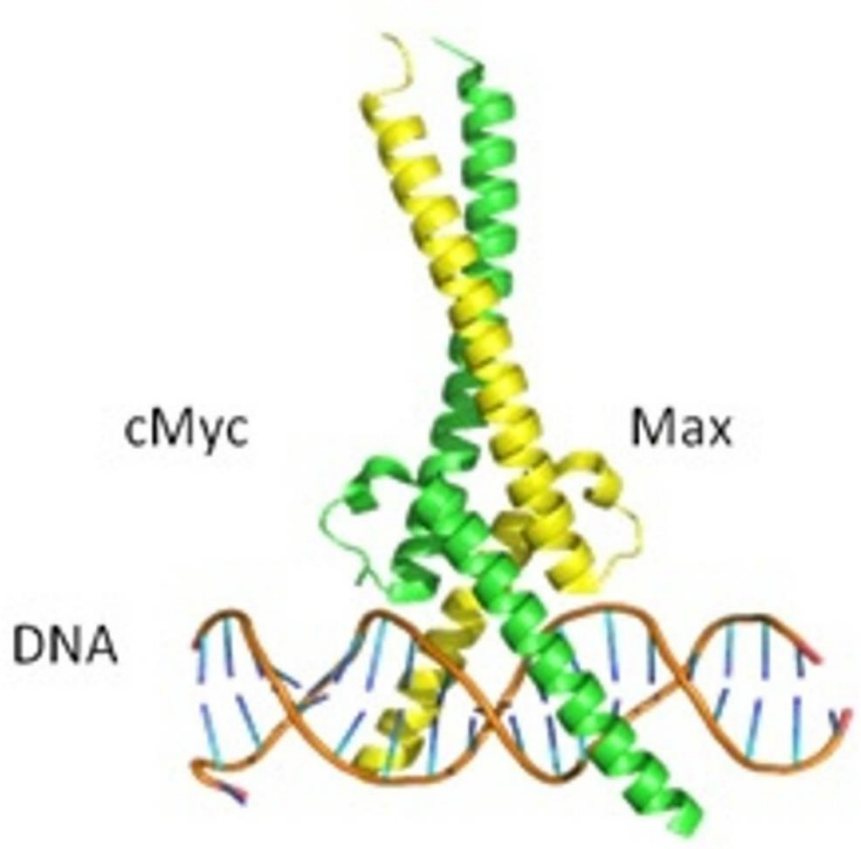
Myc gen ürünlerinin başlıca işlevi hücre çoğalmasını uyarmak ve mitojenik uyarıya karşılık olarak son dönem farklılaşmayı engellemektir. Bu genler, insan tümörlerin çoğunda sıklıkla, amplifikasyon sonucu aşırı ifade edilerek etkilerini gösterirler (DePinho R ve ark., 1991, Wallis YL ve ark., 2004).

2.3.1.1 İŞLEVLERİ

MYC gen ailesi, DNA'ya bağlanma özgünlüğü olan ve hücresel çoğalmanın düzenlenmesinde önemli rol oynayan çeşitli çekirdek fosfoproteinlerini kodlar. c-myc gen ailesinde, gen amplifikasyonu ve kromozomal translokasyon sonucu fazla ifade edilmeleriyle, hücre çoğalmasındaki kontrol bozulur (Hipfner DR ve ark., Sears RC ve ark., Miltra AP ve ark.).

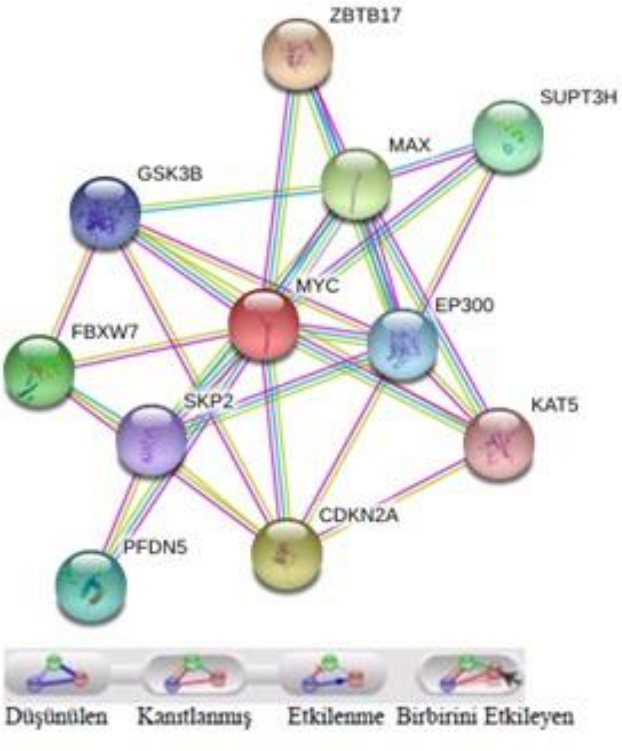
MYC geninin onkogenik etkisini anlayabilmek için öncelikle normal hücre büyümesindeki işlevini anlamak gerekir. Çoğunlukla büyüme etmenlerinin tetiklemesi ile başlayan çoğalma uyarısında ön basamak büyüme etmenlerinin hücre zarındaki kendilerine özgü almaçlara bağlanmasıdır. Bu yolla oluşan sinyal, sinyal taşıyan proteinlerle önce sitoplazmaya ve sonra ikincil bir mesaj üretimi ile çekirdeğe kadar iletilir. c-Myc onkoproteini, MAD ve MAX adlı proteinlerle heterodimerler oluşturma özelliğine sahiptir. Oluşan bu heterodimerler hücre çoğalması ve apopitozda önemli işlevler gösterir. MAD/MAX ile c-myc/MAX heterodimerleri aynı DNA dizilerine bağlanarak yazılım üzerinde ters etki gösterirler. c-Myc'in MAX ile yaptığı heterodimerler yazılımı etkinleştirirken, MAD/MAX heterodimerleri yazılımı

baskılamaktadır (Amati B ve ark. 1994, Vastrik I ve ark. 1995, Hurlin PJ ve ark. 1995, Lüscher B ve ark. 1999).



Şekil 2-7: Myc-Max heterodimer yapısı

Çekirdekte bulunan pek çok farklı protein düzenleyici ile birlikte, myc, jun, fos, myb protonkogenlerinin ürünleri olan yazılım etmenleri ile DNA yazılımı başlatılır. c-Myc sadece çoğalan ve farklılaşmamış hücrelerde sentezlenir. Mesane kanserinde c-myc gen ailesiyle ilgili veriler, tartışmalı olsa da prognostik belirteç olarak kullanılabileceğini önesürmektedir (Habuchi T ve ark.).



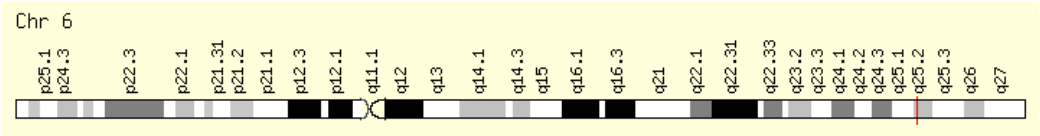
Şekil 2-8: MYC'in diğer genlerle ilişkisi (http://string-db.org/). MYC-MAX kompleksi yazılımsal bir etkinleştirici iken, MAD-MAX kompleksi ise bir bakılayıcıdır.

c-Myc onkogeni mesane kanseri de dahil olmak üzere pek çok tümörde aşırı ifade edilir. c-Myc geninin mesane kanserindeki mekanizması tam bilinmemekle birlikte, bu genin aşırı ifade edilmesinin yüksek dereceli mesane kanseri ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Sardi ve ark.1998). Kromozom 8q bölgesinde gözlenen myc gen kopya sayı artışının mesane tümörlerinde sık gözlenen bir genetik değişim olduğu ve bu genetik değişimin hastalığın daha agresif seyretmesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Williams ve ark.2004).

2.4.3. MYCT1 Geni ve İşlevi

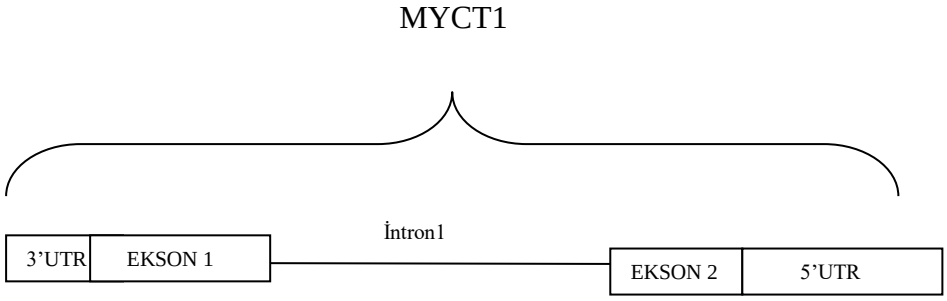
2003 yılında Qiu ve arkadaşları tarafından klonlanan MYCT1 ilk başta MTLC (c-Myc target from laryngeal cancer cells GeneBank giriş numarası AF527367) olarak

adandırılmıştır. 6q25 bölgesinde bulunan ve iki eksondan oluşan MYCT1 geni 21 kb uzunluğundadır.



Şekil 2-9: MYCT1 kromozomal lokasyonu

MYCT1'in protein kodlayan 3 farklı transkripti vardır. Çalışmamızda kullanılan transkript, MYCT1-001, 1006 bç uzunluğunda ve 235 amino asitlik bir protein kodlar.




```
    1 ..........aaaaacagttgctaatttgagtataaaagcaggaaacatgatacacttat    50

51 TTCCTTTTATGCGAACACAAGTATATGAGGGGTTGTGTAAAAATTATTTTTCTCTTGCTG   110
111 TACTACAAAGAGATAGAATCAAACTGCTTTTTTTCGACATACTGGTTTTTCTTTCTGTTT   170
171 TTCTTCTCTTTCTTCTATTTCTTGTGGATATTATGGCTAATAACACAACAAGTTTAGGGA   230
231 GTCCATGGCCAGAAAACTTTTGGG                                       254

255 gtaaggtattttcttttactgttta..........tagcaatttgttttctttgtttcag 23897

23898 AGGACCTTATCATGTCCTTCACTGTATCCATGGCAATCGGGCTGGTACTTGGAGGATTTA 23957
23958 TTTGGGCTGTGTTCATTTGTCTGTCTCGAAGAAGAAGAGCCAGTGCTCCCATCTCACAGT 24017
24018 GGAGTTCAAGCAGGAGATCTAGGTCTTCTTACACCCACGGCCTCAACAGAACTGGATTTT 24077
24078 ACCGCCACAGTGGCTGTGAACGTCGAAGCAACCTCAGCCTGGCCAGTCTCACCTTCCAGC 24137
24138 GACAAGCTTCCCTGGAACAAGCAAATTCCTTTCCAAGAAAATCAAGTTTCAGAGCTTCTA 24197
24198 CTTTCCATCCCTTTCTGCAATGTCCACCACTTCCTGTGGAAACTGAGAGTCAGCTGGTGA 24257
24258 CTCTCCCTTCTTCCAATATCTCTCCCACCATCAGCACTTCCCACAGTCTGAGCCGTCCTG 24317
24318 ACTACTGGTCCAGTAACAGTCTTCGAGTGGGCCTTTCAACACCGCCCCCACCTGCCTATG 24377
24378 AGTCCATCATCAAGGCATTCCCAGATTCCTGAGTAGGGTGGCTTTTGGTTTTTGTTTCTT 24437
```

3'UTR

EKSON 1

EKSON 2

5'UTR

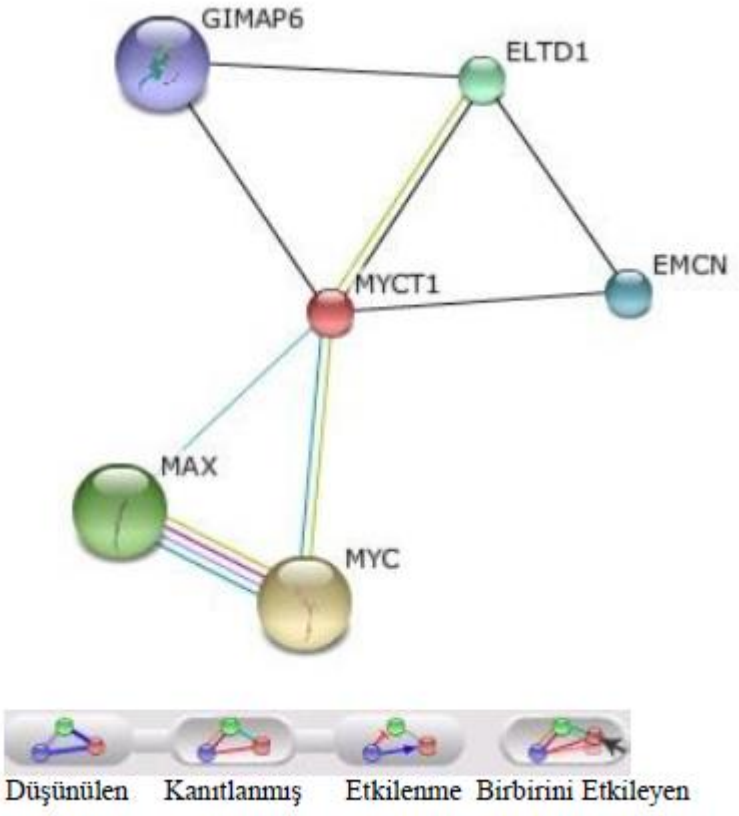
```
24438 TCTTGTCTTGTCTTTTATTGAAAGGAAATCAAAAATAGGCTAAACAGAATTTTGAGGGCA 24497
24498 TGGCCCAAATAACTCATGAGTTCCAAGTTGAAACATGGTTGTGCAAGTTGGACATTACAA 24557
24558 TGTAAAACACATTTTCTTCAAACACGTTTTCCCTTTTGTTTCAAAAAATGTAATATTTTC 24617
24618 CCCCAAGCGTTTTATATTTATGTATTTTGTATTCAATGTGAGGCTTATTAAAAATAGTGA 24677
24678 TTCTAATGTAAGAATCAGCTAAGATGCATTATATATATTTTAATTAAAATTAAAACTTCA 24737
24738 GATATTTGTGGATTACAATCCTCATTTACTTCCAATGTGACTAAAAAGAGAAAAAAAATC 24797
24798 ACTGTGTCACTTTAAAGAAAAATCTTCTAAGGGATTTGGATTTTACTTTCTTTAGAATGA 24857
24858 CAAGTGAATCATATTGACATTTTACAATCTTAGATTTTTCTTTTTTTTTCTTTTGAGACA 24917
24918 GGGTCTTGATCCGTCGCCCAGGCGGGAGTTGCAGTAGCATGATCAGGACTCACTGCAGCC 24977
24978 TCTATCTCCCAGGCTCAAGTAATCCTCCCATCTTAGTGCCCCAAGTAGCTGGGACTACAG 25037
25038 GGGTGCACTACCACACCGGGTTGAATTTTTTTTTAATTTTAGTAGAGATGAAGTGTCACT 25097
25098 ATGTTACCAAGGCTGGTCTCAAACTCCTAAACTCAGATGATCCTCCTGCCTCGGCCTCCC 25157
25158 AAAGTGCTGGAATTAGCCTGGCCAATCTTGGATTTTTAATGGAATATGTGGGCACAAAAT 25217
25218 GACAGAACATAGGACATTCTAAAGTTCCTTGATTTGATCATTATAAGAAGTGTGGGACTC 25277
25278 AAGCACAGGAAACTGAACTCTTTTGGTGTCATTGGATGTTTCATTTTTGACACTAATTTT 25337
25338 TTCTGGACAAACTCTTTATGTGTTTTTCCCAAGAATAGTTATCTACTTCCTGGAGGCAAA 25397
25398 ATCCTTGGATTTACTAACATGATGATTTACCTTTTCTTCACCGTTGTCGTTACATTGTTA 25457
25458 GAAAAGCAACAGGAAAAAATCCAATTCATTTGACCTAAAAACAAGCCTCAAGTTTAAAAC 25517
25518 CAAGCTCACGTTTTTCTTAAGGGAAAAATTTTCTTTCTTAAACTTACATCTAGCAACTTG 25577
25578 GAAAGCACTTTCTCTGGGGATCTTCTTTTGTAACTTTGCAGACAAATAAGTATGAGTCAC 25637
25638 TGGGGAGAGAGTTTGTTATTGAAATAGATGTTGCCCATGAAGAATTCTCCTTCCTGGATT 25697
25698 GACTCTTAATCATCAGGCATCATTCCTGGTTTGCTTCTCTACGAATCTCAATTCCAACTT 25757
25758 CTCTGCAGAGTCTGTACAGTGATTAAGCCATGCCAGATGGTCTTTGGTGCACACAGTTAT 25817
25818 TTAAGAATCCACTTCCACAGGTGGCTGCCCTTGTAAGGAAGAATGCATCCCTAAATGTGG 25877
25878 CCACCAGAGAGTTCCAGTGGGCAGATGTCTGTGGCTGCCCTTCTCATTTAAGGACATGAG 25937
25938 TTCACTGGAGTATTACTCAAAAAGTCTGTGGTTCATTTCCAGTATTGTGAATATTTAGTT 25997
25998 TATGTGGCCGTTTCTTTGTTTCTTTGAACAGTGGGATTTTCAGTGAAAAAGTACCCTCTT 26057
26058 TTTCATTTCCTATTGCAGTGGTCACAGCTAATAGTGTCTGAACATGGTTCAAGAATAAGA 26117
26118 GATTCCATGTAGCATTTTCTTTATTATTTTCATTTCCCTTATATTATCCATCATTCCTTA 26177
26178 AGGACAATTATTCTTAATAATGCTTATAGAAAATGTTCTCTAATTAAACATGCCAAAAGG 26237
26238 AAAAAGTAAGAGAAAGAGGGAGCAAGAAGAAAATGGAAGAAAAAGGGAAAAAAGCTAACC 26297
26298 GGATAACCAATTTGTTATAAGTTGGTTTTCAACAAAGAAATTTAGCAGCCAAGTAAGGTT 26357
26358 TCAAGGGAATATTAACTTGGTATCAGGGCTACTTTTTTTTTTTTTTTTTTACTTGCATGT 26417
26418 CATCCTTAATGTCTAACATGAAAAATCAGCAAAGAGTATGGTTTTTATCAAGAATTTGTG 26477
26478 TTGGGAGTAAAAACTGCTTTATAGCTCCCAAATTAGGAAGAGAAGAGCAGAAATCCTCTG 26537
26538 GGGCATTTAACCATCTGGCAGAATTGTTGCTGCACCCTTATCCCAGTTATAAGACAGTCA 26597
26598 AAATGACTATTTCCTAAATATTGTGAGTGTATGAAATGTGAAATTAAAGCAAAAACTGGA 26657
26658 GACTTTTAATGTATTTCTTTAATTTGAAATGTTTTGTGGATTGTGAAATAAAAATAAATT 26717
26718 TATGTC                                                       26723

26724 aagttttattcaaaattcatttatgaaataatgccaacactgttctaaaa..........  26773
```

Şekil 2-10: MYCT1 UTR, ekson ve intron bölgeleri

MYCT1 geninin tüm dokularda ifade edildiği gösterilmiş olmakla birlikte yapılan ilk çalışmalarda insan hepatosellüler karsinoma hücrelerinin çekirdeğinde proteinin varlığı gösterilmiştir (Qiu ve ark. 2003). MYCT1'in en yakın benzeşiği olan fare MT-MC1 (c- Myc target in myeloid cells-1) geninin miyeloid hücrelerinde c-Myc hedef genlerini düzenleyebildiği gösterilmiş olmakla birlikte MYCT1'in de tıpkı MT-

MC1 gibi c-Myc sinyal ağı boyunca hücre işlevinin düzenlenmesine katılabileceği düşünülmektedir (Rogulski ve ark.2005; Reymann ve ark. 2008; Li ve ark.2007).



Şekil 2-11: MYCT1'in Myc geni ve diğer genlerle ilişkisi (http://string-db.org/)

c-Myc yazılım etmeni, MYCT1 yazılımının düzenlenmesine katılır ve MYCT1 promotor bölgesine c-Myc proteinin bağlanması ile MYCT1'in DNA metillenmesi engellenir. (Min ve ark.2012). MYCT1 geninin kasinogenez ve metastazda tümör baskılayıcı bir gen olduğu ileri sürülmektedir. Habis oluşum sürecinde tümör baskılayıcı genlerinin ifadesindeki azalma öncelikle heterozigotluk kaybı, nokta mutasyonları ve epigenetik değişimler sonucu ortaya çıkar (Sharp ve ark.2012).

İlk kez skuamöz hücreli larenks kanserli hücre hatlarından klonlanan MYCT1 geni c-myc proteinin doğrudan hedefi olan bir gendir. Mürin MYCT1 (MT-MC1)

kısıtlı işlev gösteren diğer pek çok c-myc hedef genin aksine, MT-MC1'in aşırı ifadesi morfolojik değişimleri, hücre döngüsü ve apoptozu, hücre dönüşümü ve genomik kararsızlığı da içeren pek çok hücresel süreci etkiler (Rogulski ve ark. 2005, Rothermund ve ark. 2005, Yin X ve ark. 2002). Yin ve ark. MT-MC1 proteininin dizisini analiz ederek proteinin yapısında bir çekirdek yerleşim sinyali ve düşük DNA Helikaz etkinliği olan bir bölgenin bulunduğunu göstermişler. Rogulski ve ark. yazılımsal profilleme yöntemi ile MT-MC1'in düzenlediği 47 gen tanımlamışlardır. Bununla birlikte, MT-MC1 proteininde veya DNA dizisinde (consensus DNA binding sequences) DNA bağlanma alanı (DNA binding domain) bulamamışlardır. Bu nedenle MT-MC1 geninin hedef genlerini nasıl düzenlediği tam olarak aydınlatılamamıştır.

2.4.4. TÜMÖR BASKILAYICI GENLER

Tümörogenez onkogenlerin etkinleşmesinin yanı sıra diğer genlerde de işlev kaybına neden olan mutasyonlardan da kaynaklanabilmektedir. Her ne kadar pozitif dominant etkilerinden dolayı onkogenler daha kolay fark edils de, karsinogenez sürecinde, hücre büyümesinin kontrolü, DNA tamiri ya da apoptozu sağlayan proteinleri kodlayan genlerin etkinliğini kaybetmesi de yer alır. Tümör baskılayıcı genlerin etkinliğini kaybetmesi ya da kromozom bölgesindeki kaybı büyümenin kontrolünde veya hasarlı DNA hücrelerini öldürme programındaki bir bozukluğa sebep olabilir ve sonunda genomu değişikliğe uğramış hücrelerin kontrolsüz çoğalması ile sonuçlanır. Tümör baskılayıcı genlerdeki değişikliğin tümörle sonuçlanması için, bu gen tarafından kodlanan proteinin (gen ürünü) işlev kaybına uğramış olması gerekir. Mesane kanserinde kayıp görülen birçok kromozomal bölgede tümör baskılayıcı genler bulunmaktadır. Bir kopya kaybolurken kalan gen kopyalarının yapılan moleküler analizlerinde bu bölgelerin de ya hiç ürüne dönüşmediği ya da işlevsel olmayan bir ürün

kodlanmasına yol açan mutasyon taşıdığı gösterilmiştir. Mesane kanseri ile ilişkilendirilen tümör baskılayıcı genler 17p13.1'de p53; 13q14.2'de bulunan retinoblastom (Rb1) geni; CDNK2 (Cyclin dependent kinase 2) yada p16 deseninin bulunduğu 9. kromozomda bulunan 9p21 bölümüdür.(Kamb ve ark., 1994). p53 geni insan kanserlerinde en sık değişikliğe uğrayan gendir. p53 mutasyonu görülen mesane kanserlerinin daha agresif davranış sergilediği rapor edilmiştir (Campbell-Walsh Urology 2011).

2.5. Mesane Kanserlerinde Prognostik Etmenler

Mesane tümörü günümüzde en sık karşılaşılan ikinci sıradaki genitoüriner sistem kanseridir (Eble ve ark. 2004). Günümüzde, mesane kanseri tanısı için kullanılan temel yol sistoskopik değerlendirme ve transüretral rezeksiyondur (TUR). Mesane kanserli hastaların tanısında ve takibinde rutin olarak kullanılan yöntemler sistoskopi ve de şüpheli alan biopsileridir. Mesane kanseri tanısı ve izleminde altın standart sistoskopi olduğundan, tüm mesane kanseri belirleyicilerinin etkinlikleri sistoskopi ile karşılaştırılarak değerlendirilir. Bununla beraber sistoskopi pahalı ve invaziv bir yöntemdir. Yüzeyel lezyonların intravezikal kemoterapatik ya da immünolojik ajanlara karşın TUR sonrası tekrar etme eğilimi ve karsinoma in situ ile invaziv hastalığın oldukça agresif tabiatı sık takip edilmesini mecburi kılmaktadır (Ferlay ve ark. 2015). Hastanın hayat kalitesini bozmamak, sistoskopi sayısını en aza indirmek, ve maliyeti düşürmek için mesane kanseri tanısında invaziv olmayan tanı için yöntemler geliştirilmeye ihtiyaç duyulmaktadır. Mesane kanserinde belirteçlerin tanı sistematiğine konulmasıyla, mesane kanseri tanısından önemli bir ödün vermeden yapılan sistoskopi sayısının azaltılabileceği düşünülmektedir (Forsythe ve ark. 1996). İdrarda ölçülebilen yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip, basit, invaziv olmayan mesane kanseri belirteçlerinin kullanılması mesane kanserinin bilinen tanı ve takibine yeni bir bakış

açısı kazandırabilir. Bu tip özelliklere sahip olan bir belirteç, mevcut uygulanan yöntemlerle beraber kullanabileceği gibi tek başına da mesane kanseri tanı ve takibinde etkili bir yöntem olarak kullanılabilir. Klinikte invaziv olmayan, güvenilir mesane kanseri belirteçleri birden fazla amaç için değerlendirilebilir. Bu tarz bir tümör belirteci; uygun tedavi yönteminin seçilmesi, tarama amaçlı olarak, nüksün belirlenmesi, tedaviye verilen cevabın izlenmesi, ve prognozun öngörülmesinde fayda sağlayabilir (Zhong ve ark. 1999). Mesane kanseri belirteçlerinin tarama amaçlı kullanılması ile birlikte, tümör kasa invaze olmadan saptanarak metastaz yapan hastalığın oluşturabileceği morbiditenin önüne geçilerek yaşam süresinin uzatılması olasıdır. İdrar, hem mesane kanseri hücreleri hemde ürünleri ile temas durumunda olduğundan, mesane kanserine tümör belirteci geliştirmek kolaydır (Reuter ve ark. 2004). Bir mesane kanseri belirteci, doğru ve güvenilir bir biçimde idrarda ve tümör hücrelerinde gerçekleşen biyokimyasal değişiklikleri belirleyebilmesi ve tümör sistoskopi yolu ile görülebilir düzeye gelmeden tümör gelişimini tespit edebilmesi gerekmektedir. Aynı idrar örneğine farklı zamanlarda aynı veya benzer yöntemlerle tekrarlanan tetkikler uygulandığında sonucu aynı olmalıdır. Bir mesane kanseri belirtecinin etkinliği (özgül ve duyarlı) yüksek olmalıdır. Birçok mesane kanseri belirteci sağlıklı olan insanlarda yüksek bir özgüllük gösterirken, kötü huylu olmayan genitoüriner hastalıklarda (mikrohematüri, üriner sistem taş hastalığı, üriner sistem enfeksiyonu, selim prostat hiperplazisi ve sistit) aynı özgüllüğü gösterememektedir. Sistoskopinin pahalı ve invaziv olması, idrar sitolojisinindeki nispeten düşük duyarlılığı, araştırmacıları mesane kanserinin tanı ve takibinde kullanılmak için invaziv olmayan yeni idrar ve hücre temelli belirteçler geliştirmeye yönlendirmiştir (Tablo 2-2).

Tablo2-2: Yüzeyel Mesane Tümörlerinde Prognostik Belirleyiciler

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

Tümör belirteçlerinin araştırılması mesane kanserinin erken tanısı, izlenmesi ve prognozun ortaya çıkarılması açısından önemlidir. Yapılan testlerin bazıları idrar sitolojisi ile beraber kullanılmaları fayda gösterse de mevcut mesane kanseri belirteçlerinin tamamının %100 duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmadığı görülmektedir (Ge ve ark. 2001). Bu çalışmaların büyük çoğunluğunun standardizasyonunda yaşanan sorunlar ve devamlı olarak kullanımlarını sağlayabilecek ürünlerinin kısıtlı olması klinikte rutin bir şekilde kullanımlarını kısıtlamaktadır. Bu sebeple, yeni belirteçlerin gelecekteki potansiyeli göz ardı edilemese de tamamen güvenilebilecek bir yöntem bulunana kadar, hiçbiri yöntem sistoskopi ve sitolojinin yerini alamamıştır. Bu gibi nedenler yüzünden moleküler belirteçler konusunda araştırmalar devam ettiği halde henüz mesane kanserli hastalarda ilerleme ve nüks yönünden risk gruplarını belirlemede tümör sayı ve ebatı, yapılan ilk sistoskopide tümör nüksünün varlığı ve anaplazinin histopatolojik derecesi değerlendirilmeye alınmaktadır (Kırkalı ve ark. 2004). Bu etmenler kullanılarak yüzeyel mesane tümörü olan hastalarda düşük, orta ve yüksek risk etmenlerine bağlı tedavi belirlenmektedir (Kırkalı ve ark. 2004). Mesane tümörü taramasında idrar sitolojisi altın standart yöntem olarak yerini korumaya devam etmektedir. Bunlara ilaveten çok odaklı tümörlerin biyolojik olarak daha agresif olabileceği ve bu tür tümörlerde prostatik üretra tutulumunun sıklığının daha fazla olduğu gösterilmiştir (Mungan ve ark 2005). Prognozu belirlemeye yönelik yeni hücresel profillemeler, tek yol (apoptoz)/tek belirteç (p53,Bcl2) yaklaşımlarına karşın önemli üstünlükler göstermektedir. Bununla beraber prognostik olarak önem teşkil edebilecek yeni gen araştırmaları da sürmektedir. Bu nedenle bu tez çalışması kapsamında c-Myc ve MYCT1 genleri birlikte araştırılarak olası bir belirteç olup olmayacağı da belirlenmeye çalışılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Materyal

83045809/604/02-12468 numaralı bu proje Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onay almıştır. Çalışmada kullanılan tümör ve buna komşu normal dokuların kasa invaze olanları (FFPE) Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji ABD'ndan ve kasa invaze olmayan taze dokular ise Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji ABD'ndan temin edilmiştir.

Kasa invaze olmayan mesane kanserleri için toplanan mesane doku örnekleri transüretral kazıma ameliyatı boyunca birincil veya nükseden mesane kanseri hastalarından alınmıştır. Alınan dokulardan RNA elde edilerek, cDNA'ya çevrilmiş ve bir sonraki aşamaya kadar -80˚C'de muhafaza edilmiştir.%95.7'si erkek, %4.3'ü kadın olan hastaların ortalama yaşı 68.0±13.8'dır. Tüm vakalar Yassı Hücreli Epitel kanserleri olup %73.9'unun patolojik evresi pTa ve %26.1'i pT1'dir. Mesane kanserli örnelerin %73.7'si tek odaklı olup ortalama çapı 19.84±13.86 mm'dir. Olguların %70'i teşhis anında birincil iken %30'luk bir kısmı nüks eden vakalardır.

Kasa invaze doku örnekleri ise radikal sistektomi altına alınan hastaların FFPE pataloji örneklerinden elde edilmiştir. Ortalama yaşı 59.67 ±8.02 olan hastalar ameliyat sonrası 39.3±26.9 ay (aralık 1-100 ay) süresince izlenmiştir. Bu süreçteki hastalık ile ilişkili ölüm oranı %36.7'dir. Hastaların %83.3'ü erkek ve %16.7'si ise kadın hastalardan oluşmaktadır. Histopatolojilerine göre örneklerin %70'inin Yassı Hücreli Epitel kanser (TCC), %3.3'ünün in situ (CIS), %16.7'sinin farklılaşmış skuamöz TCC ve %10'unda farklılaşmış sarkomatoid TCC olduğu belirlenmiştir. Mesane Kanserlerinde esas çapı 33.07±20.62 mm olan olguların %72.4'ü tek odaklıdır.

Doku alımından sonra yapılan bütün işlem basamakları, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Moleküler Genetik Laboratuarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Çalışma, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Genetik Laboratuarı'nda aşağıda belirtilen gereçler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

-80°C Derin Dondurucu (Sanyo, Japonya)

LightCycler 480-II Gerçek Zamanlı PZR cihazı (Roche, Almanya)

Applied Bio Systems 9700 Termal Döngü Cihazı (PCR) (ABI, Singapur)

-20°C Derin Dondurucu (İndesit, Türkiye)

Distile Su Cihazı (Nüve, Türkiye)

Etüv (Hybaid, İngiltere)

Nanodrop Spektrofotometre (Thermo Scientific, Amerika)

Hassas Terazi (Shimadzu, Japonya)

Otoklav (Hırayama, Japonya)

Otomatik Pipetler (Eppendorf, Amerika)

Soğutmalı Mikrosantrifüj (Hettich, Almanya)

3.1.3. Vorte(VelpScientifica,İtalya)

3.1.3. Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

- **LightCycler 480 Probes Master (Roche, Germany)**

  2X LightCycler 480 Probes Tepkime Karışımı, su.

- **İnsan SDHA (succinate dehydrogenase complex, subunit A, flavoprotein) ve TBP (TATA box binding protein) Gene Assay (Roche, ALMANYA)**
  10 µM primer karşımı, 10 µM prob çözeltisi.

- **LightCycler 480 Multiwell Plate, White (Roche, ALMANYA)**

- **PureLink RNA Mini Kit (Ambion, USA)**

  Parçalama tamponu, yıkama tamponu I, yıkama tamponu II, RNaz içermeyen su, spin kartuşu, toplama tüpleri, geri kazanım tüpleri.

3.1.3.1. cDNA Sentezinde Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

cDNA karışımında kullanılan Tampon ve Çözeltiler Tablo 3-1'de belirtilmiştir.

Tablo 3-1: cDNA karışımında kullanılan Tampon ve Çözeltiler

Ters Transkriptaz Tepkime Tamponu 5X	
Tris-HCl (pH 8.4)	250mM
KCl	250mM
$MgCl_2$	20mM
DTT	50mM

3.1.3.2. Gerçek Zamanlı PZR'da Kullanılan Primer Dizileri

Gerçek zamanlı PZR'da kullanılan hedef ve housekeeping genlerin primer dizileri Tablo 3-2'de gösterilmiş olup tasarlandıktan sonra ticari olarak sentezlenmiştir.

Tablo 3-2: Hedef ve housekeeping genlerin primer dizileri

Primerler		Dizi	Amplikon Uzunluğu
MYC	**İleri**	GCTGCTTAGACGCTGGATTT	73 bp
	Geri	TAACGTTGAGGGGCATCG	
MYCT1	**İleri**	GGCCTCAACAGAACTGGATT	61 bp
	Geri	GGCTGAGGTTGCTTCGAC	
SDHA	**İleri**	GGACCTGGTTGTCTTTGGTC	93 bp
	Geri	CCAGCGTTTGGTTTAATTGG	
TBP	**İleri**	GAACATCATGGATCAGAACAACA	87 bp
	Geri	ATAGGGATTCCGGGAGTCAT	

3.2. Yöntem

3.2.1. Dokudan RNA Eldesi

MYC ve MYCT1 genlerinin tümör ve normal dokudaki ifadesinin gerçek zamanlı PZR yöntemi ile kıyaslanabilmesi için, toplam 49 tümör ve tümör dokusuna komşu normal doku kullanıldı. Bu dokuların 27 tanesi kasa invaze tümör örneklerinden hazırlanmış FFPE olup, 22 tanesi kasa invaze olmayan taze alınmış dokudur. Taze ve FFPE dokulardan RNA elde etme yöntemlerinin akış şemaları sırasıyla Tablo 3-3 ve Tablo 3-4'te gösterilmektedir.

Tablo 3-3: Taze dokudan RNA Eldesi

30-50 mg doku + 500µl parçalama tamponu + 5µl β-merkaptoetanol ile lizat homojen hale getirilir

↓ 26000 x g'de 5'' oda sıcaklığında santrifüj

Süpernatan + %70'lik soğuk etanol.

↓ 12000 x g'de 15'' oda sıcaklığında santrifüj

700 µl yıkama tamponu 1.

↓ 12000 x g'de 15'' oda sıcaklığında santrifüj

500 µl yıkama tamponu 2

↓ 12000 x g'de 15'' oda sıcaklığında santrifüj

Filtre üzerine 100µl RNAzsız dH_2O eklenir ve1'' oda ısısında inkübe edilir

↓ 12000 x g'de 2'' oda sıcaklığında santrifüj

-80°C'de saklanmak üzere RNA'lar elde edilir

Tablo 3-4: FFPE dokularından RNA eldesi

10 µm kalınlığında FFPE doku (3-8 adet) + 300 µl Erime Tamponu.

↓ 10-20" maksimum hızda santrifüj

72°C de 10' inkübasyonedilir ve üst Faz toplanır

↓

20 µl Proteinase K (20 mg/ml) ekleriz

↓ 1" maksimum hızda santrifüj

Üst Faz alınır

↓

Total RNA ayrıştırılması .

↓

400 µl Bağlanma Tamponu (L3) + 800 µl 100% etanol.

↓ 800x g'de 1" santrifüj

Yıkama Aşaması

↓

Tüpe 500 µl Yıkama Tamponu (W5) + etanol eklenir.

↓ 1" maksimum hızda sentrifüj (3 defa tekrar edilir)

Elüsyon Aşaması

Son elde edilen 1.5 ml RNA Toplama Tüpünün içine toplanır.

↓

50 µl RNase-free su eklenir

↓

1dk . 65ºC'de inkübe edilir.

↓ 1" maksimum hızda sentrifüj

-80°C'de saklanmak üzere RNA'lar elde edilir.

3.2.2. Spektrofotometrik Analiz

RNA'ların miktarı ve saflığı ND-1000 NanoDrop spektrofotometrede ölçüldü. RNA örneklerinin 260nm /280nm oranlarından saflık değerleri ~2 olarak bulundu.

3.2.3. cDNA Eldesi

RNA miktarı ve saflığına uygun olarak cDNA derişimleri ayarlandı ve cDNA sentezi 'Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit, (Fermentas, Lithuania) kiti ile sentezlendi. cDNA Tepkime karışımı ve koşulları Tablo 3-5'te belirtilmiştir.

Tablo 3-5: cDNA Tepkime Karışımı ve Koşulları

cDNA Sentezi Tepkime İçeriği	**İlk Derişim**	**Son Derişim**
RandomHexamerPrimer (0,2 µg/µl)	100 µM	5 µM
DietilPirokarbonat muamele edilmiş su	-	12 µl'ye tamamlandı.
BaşlangıçKalıpRNA'sı 300 ng olacak şekilde ayarlandı. Karışım 80°C'de 3 dakika inkübe edildi.		
TersTranskriptazTepkimeTamponu	5X	1X
Deoksinükleotid karışımı (dNTP)	10mM	1 mM
RNAase Engelleyici	20 U/µl	1 U/µl
Ters Transkriptaz	200 U/µl	10 U/µl
37°C'de 90 dakika inkübe edildi.		
94°C'de 2 dakika inkübe edilen örnekler -80'de muhafaza edildi.		

3.2.4. MYC VE MYCT1Genlerinin İfade Analizleri

Çalışmada kullanılan mesane kanserli hastaların tümör ve normal dokularındaki MYC ve MYCT1 gen ifadeleri, gerçek zamanlı PZR (Real Time PCR) yöntemi ile analiz edildi. Bu yöntem, floresan işaretli boyalar kullananılması ile eş zamanlı olarak DNA sentezlenmesi ve miktarının tespit edilerek izlenmesine dayanmaktadır. Floresan sinyali analiz sırasında PZR ürünü ile doğru orantılı olarak artıp sonuçlar sentez esnasında elde edilmektedir. Light Cycler 480-II cihazında yapılan bu çalışma, Light Cycler Software kullanılarak analizi gerçekleştirildi. Hedef gen olarak kullanılan MYC ve MYCT1 genlerinin ifade analizleri için hazır problar kullanıldı (sırasıyla Roche kütüphanesinden seçilmiş #66 ve #76 numaralı Roche universal probları). Hedef genlerinin problarının 5' ucu floresan ışıma yapabilen 'FAM' boyası ile boyalı iken, 3' uçları 'DARK QUENCHER'ile işaretlidir ve FAM boyası 465-510 nm dalga boyu aralığında ışıma yapabilme özelliğine sahiptir.

SDHA (succinate dehydrogenase complex, subunit A, flavoprotein) ve TBP (TATA box binding protein) genleri, normal ve kansreli mesane dokularında MYC ve MYCT1genlerinin ifade oranlarını saptamak için referans genler olarak kullanıldı. SDHA VE TBP problarının 5' ucu *'FAM'*, 3' ucu ise *'DARK QUENCHER'*ile işaretlidir. Referans genlerin problarının (SDHA #80 ve TBP #87) dalga boyu, 465-510 nm dalga aralığında olup UPL (Universal Probe Library) hidroliz probu özelliğindedir.

.

Tablo 3-4: İfade analizi karışımının hazırlanması

	İlk Derişim	**Hacim**	**Son Derişim**
LC480 Probes Master	2X	10µl	1X
Su		3,8µl	
İleriPrimer	10µM	0,4µl	200nM
Geri Primer	10µM	0,4µl	200nM
Prob	10µM	0,4µl	200nM
		Toplam: 15µl	
+ cDNA	100ng	5µl	

Tepkime çözeltisi 96'lık kuyuların içine konularak Light Cycler 480-II cihazına yerleştirildi.

Gen ifade analizi çalışması Light Cycler 480-II cihazında Tablo-9'daki tepkime koşulları ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3-5: Gerçek Zamanlı PZR Tepkime Koşulları

Analiz Modu	**Döngü**	**Bölüm**	**Sıcaklık Değişim Hızı (˚C/s)**	**Hedef Sıcaklık**	**Süre**	**Ölçüm Sayısı**
Denatürasyon						
Yok	1	-	4.4 (˚C/s)	95 ˚C	10 dk.	Yok
Çoğalma						
Miktar Ölçümü	45	Bozunma	4,4 (˚C/s)	95 ˚C	10 sn.	Yok
		Bağlanma	2,2 (˚C/s)	60 ˚C	30 sn.	Yok
		Uzama	4,4 (˚C/s)	72 ˚C	1 sn.	Tek
Soğuma						
Yok	1		2,2 (˚C/s)	40 ˚C	30 sn.	Yok

3.3. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Mesane normal ve tümör dokularında MYC ve MYCT1 genlerindeki ifade değişikliklerini saptamak için; göreceli mRNA miktarları $2^{-\Delta\Delta CT}$ methodu kullanılarak

hesaplanmıştır (Schmittgen TD, Livak KJ, 2008). Bunun için hedef genlere ve iki referans gene ait Ct değerlerinden yararlanılmıştır. Ct değerlerinden $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri aşağıda gösterilen formül kullanılarak hesaplanmıştır. $2^{-\Delta\Delta CT} = 2^{-[\text{Tümörlü doku (Hedef gen CT'si-Referans gen CT'si)-Normal doku (Hedef gen CT'si-Referans gen CT'si)}]}$. İstatistik analizleri SPSS 17 programı kullanılarak yapılmış olup istatistiksel anlamlılık $p<0.05$ olarak tanımlanmıştır

4. BULGULAR

Çalışmamızda 22'si kasa invaze olmayan tümörlü taze doku, 27 kasa invaze tümörlü FFPE doku olmak üzere toplam 49 örnek MYC ve MYCT1 genlerinin mRNA ifade düzeyleri qRT-PCR ile değerlendirilmiştir. Normal doku olarak her örneğin tümöre komşu kanser özelliği taşımayan dokular kullanılmıştır

4.1. Hastalara Ait Klinik Parametreler

Mesane kanserli hastalara ait bazı klinik parametreler aşağıdaki Tablo-10'da verilmiştir.

Tablo 4-1: Klinikopatolojik bulgular

Klinik Parametreler	Hasta Sayısı	Yüzdelik Oran
CİNSİYET		
Kadın	6	%12,2
Erkek	43	%87,7
KAS İNVAZYON DURUMU		
Kas İnvazyonu Var	27	%55,1
Kas İnvazyonu Yok	22	%44,9
SİGARA KULLANIMI		
Sigara İçen	39	%79,6
Sigara İçmeyen	4	%8,2
Bilinmeyen	6	%12,2

YAŞ GRUPLAMASI		
60 Yaş Altı	20	%40,8
60 Yaş ve Üzeri	29	%59,2
EVRELEME		
Erken Evre	25	%51,0
İleri Evre	24	%49,0
TÜMÖR ÇAPI		
Tümör Çapı 30mm altı	30	%61,2
Tümör Çapı 30mm ve üzeri	17	%34,7
Bilinmeyen	2	%4,1
TÜMÖR ODAK DURUMU		
Çok odaklı	30	%61,2
Tek odaklı	18	%36,7
Bilinmeyen	1	%2,0
PATOLOJİK T EVRELEMESİ		
pT1	7	%14,3
pT2	7	%14,3
pT3	10	%20,4
pT4	7	%14,3
pTa	18	%36,7

Schmittgen TD ve Livak KJ, 2008 makalesinde tanımlandığı gibi $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerinin 1'den küçük olduğu durumlarda hedef genlerin ifade değeri tümör dokusunda normal dokuya kıyasla azalmış olarak kabul edildi. $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerinin 1'den büyük olduğu

durumlarda ise hedef genlerin ifadeleri tümör dokusunda normal dokuya göre artmış olarak kabul edildi. Myc ve MYCT1 genlerinin tümör dokusundaki ifade seviyelerinin normal dokulardaki ifade seviyelerine göre değişimi Tablo 4-2 ve Tablo 4-3 de gösterilmiştir.

Tablo 4-2 : Myc Geninin Normal ve Tümör Örneklerinin Ct Değerleri ve Tümör Dokusundaki İfade Düzeyinin Normal Dokudaki İfade Seviyesine Göre Değişimi (1,00: ifadesi artmış ;- 1,00: ifadesi azalmış)

HASTAno	Normal Doku			Tumor Doku			$2^{-\Delta\Delta CT}$	Değişim
	SDHA	**TBP**	**MYC**	**SDHA**	**TBP**	**MYC**		
P1	25,96	31,93	26,31	27,2	32,8	27,02	1,27	1,00
p2	25,54	31,82	26,37	25,9	31,4	25,60	1,69	1,00
p3	29,79	40,00	32,53	29,7	-	36,57	0,00	-1,00
p4	27,14	34,23	29,36	29,5	35,2	28,97	4,10	1,00
p5	25,83	32,13	27,02	25,9	31,3	27,53	0,54	-1,00
p6	26,87	33,48	28,96	28,6	33,6	28,71	2,23	1,00
p7	27,96	33,16	27,77	26,6	33,0	27,02	0,99	-1,00
p8	27,76	34,50	29,76	26,5	32,4	26,63	2,76	1,00
p9	30,20	36,26	31,62	28,9	31,1	30,46	0,24	-1,00
p10	26,88	33,36	28,52	27,5	33,0	27,45	2,34	1,00
p11	29,52	36,29	30,22	34,2	36,2	35,90	0,09	-1,00
p12	29,24	33,57	29,09	30,7	36,3	31,53	0,79	-1,00
p13	29,66	33,36	29,83	30,1	33,2	28,72	2,43	1,00
p14	31,22	36,13	32,29	28,4	32,7	28,69	1,39	1,00
p15	33,96	-	34,22	39,0	-	37,34	3,78	1,00
p16	33,66	40,00	34,27	33,2	36,9	33,64	0,45	-1,00
p17	32,55	37,28	31,12	29,4	34,1	28,99	0,49	-1,00
p18	38,39	-	36,44	29,9	34,5	29,66	1,52	1,00
p19	28,94	33,50	29,08	31,1	34,7	30,96	0,86	-1,00
p20	29,84	34,60	31,00	33,6	36,2	33,45	1,19	1,00
p22	31,90	39,28	33,58	28,6	34,2	29,06	1,25	1,00
p23	26,24	30,96	28,27	31,3	36,0	29,91	10,41	1,00
p24	30,68	38,00	31,63	35,6	40,0	34,32	1,68	1,00

p26	36,90	-	40,00	37,5	-	37,37	9,58	1,00
p27	28,78	35,83	30,06	33,8	39,4	32,78	3,04	1,00
p28	29,93	35,99	32,02	30,8	38,0	32,03	2,72	1,00
p30	36,91	38,34	35,65	27,8	33,2	27,28	2,39	1,00
f1	26,59	31,27	25,92	26,8	30,5	26,81	0,44	-1,00
f2	25,22	29,03	25,46	24,0	27,9	23,91	1,27	1,00
f3	28,82	33,87	30,79	25,6	31,2	25,83	3,93	1,00
f4	24,22	28,94	26,65	25,1	29,7	25,76	3,20	1,00
f5	24,95	29,70	28,51	25,5	29,7	24,74	16,06	1,00
f6	27,14	31,96	27,26	31,3	34,5	32,55	0,26	-1,00
f7	28,79	32,92	31,36	27,6	31,6	29,65	1,33	1,00
f8	32,01	35,94	36,65	24,8	28,3	25,70	11,63	1,00
f9	24,52	29,48	27,79	25,7	31,3	28,16	2,16	1,00
f10	25,76	30,27	27,99	27,0	32,3	28,90	1,64	1,00
f11	29,08	33,68	32,87	24,0	28,0	25,03	5,45	1,00
f12	25,70	30,06	27,47	24,8	29,7	25,52	2,51	1,00
f13	23,25	28,00	27,15	26,0	30,9	26,69	9,75	1,00
f14	24,55	30,63	27,15	25,7	29,4	25,64	2,72	1,00
f15	24,05	28,87	26,16	23,5	27,1	23,46	2,89	1,00
f16	26,77	31,22	28,88	27,7	31,8	27,03	6,02	1,00
f17	27,94	32,56	28,20	23,8	28,1	25,62	0,30	-1,00
f18	25,84	29,87	25,91	29,3	32,4	33,93	0,03	-1,00
f19	25,15	29,63	26,66	25,8	30,6	26,04	2,69	1,00
f20	24,87	29,87	25,64	23,3	32,4	25,54	1,48	1,00
f21	28,81	33,88	31,44	29,4	34,1	31,93	0,92	-1,00
f23	30,49	34,85	32,87	28,9	32,7	29,74	2,37	1,00

Tablo 4-3 : MYCT1 Geninin Normal ve Tümör Örneklerinin Ct Değerleri ve Tümör Dokusundaki İfade Düzeyinin Normal Dokudaki İfade Seviyesine Göre Değişimi (1,00: ifadesi artmış ;- 1,00: ifadesi azalmış)

HASTAno	Normal Doku			Tumor Doku			$2^{-\Delta\Delta CT}$	Değişim
	SDHA	**TBP**	**MYCT1**	**SDHA**	**TBP**	**MYCT1**		
P1	25,96	31,93	29,62	27,2	32,8	29,01	3,17	1,00
p2	25,54	31,82	25,59	25,9	31,4	25,70	0,92	-1,00
p3	29,79	40,00	25,20	29,7	-	25,23	0,03	-1,00
p4	27,14	34,23	29,03	29,5	35,2	31,32	0,64	-1,00
p5	25,83	32,13	26,04	25,9	31,3	25,90	0,85	-1,00
p6	26,87	33,48	28,67	28,6	33,6	30,28	0,62	-1,00
p7	27,96	33,16	26,05	26,6	33,0	26,06	0,59	-1,00
p8	27,76	34,50	29,86	26,5	32,4	25,95	4,74	1,00
p9	30,20	36,26	28,90	28,9	31,1	28,11	0,18	-1,00
p10	26,88	33,36	25,07	27,5	33,0	-	-	-
p11	29,52	36,29	31,89	34,2	36,2	32,77	2,58	1,00
p12	29,24	33,57	31,40	30,7	36,3	33,25	1,19	1,00
p13	29,66	33,36	27,90	30,1	33,2	29,18	0,46	-1,00
p14	31,22	36,13	29,06	28,4	32,7	31,73	0,02	-1,00
p15	33,96	-	30,63	39,0	-	28,99	102,54	1,00
p16	33,66	40,00	30,78	33,2	36,9	32,28	0,10	-1,00
p17	32,55	37,28	32,33	29,4	34,1	30,24	0,48	-1,00
p18	38,39	-	29,64	29,9	34,5	30,87	0,01	-1,00
p19	28,94	33,50	30,79	31,1	34,7	34,81	0,20	-1,00
p20	29,84	34,60	31,68	33,6	36,2	31,46	7,59	1,00
p22	31,90	39,28	29,49	28,6	34,2	31,03	0,02	-1,00
p23	26,24	30,96	30,50	31,3	36,0	32,92	6,06	1,00
p24	30,68	38,00	28,60	35,6	40,0	29,73	4,94	1,00
p26	36,90	-	29,04	37,5	-	29,08	1,51	1,00
p27	28,78	35,83	30,86	33,8	39,4	34,03	2,23	1,00
p28	29,93	35,99	27,63	30,8	38,0	28,89	1,14	1,00
p30	36,91	38,34	30,58	27,8	33,2	28,21	0,04	-1,00
f1	26,59	31,27	27,56	26,8	30,5	24,75	5,70	1,00
f2	25,22	29,03	27,83	24,0	27,9	28,03	0,38	-1,00
f3	28,82	33,87	29,18	25,6	31,2	24,24	3,88	1,00

f4	24,22	28,94	25,85	25,1	29,7	25,50	2,20	1,00
f5	24,95	29,70	26,54	25,5	29,7	23,95	7,09	1,00
f6	27,14	31,96	25,43	31,3	34,5	23,90	29,14	1,00
f7	28,79	32,92	28,11	27,6	31,6	26,60	1,16	1,00
f8	32,01	35,94	29,17	24,8	28,3	24,70	0,13	-1,00
f9	24,52	29,48	25,57	25,7	31,3	25,28	3,41	1,00
f10	25,76	30,27	25,19	27,0	32,3	26,27	1,45	1,00
f11	29,08	33,68	29,86	24,0	28,0	25,41	0,52	-1,00
f12	25,70	30,06	27,65	24,8	29,7	25,59	2,71	1,00
f13	23,25	28,00	25,72	26,0	30,9	24,11	21,63	1,00
f14	24,55	30,63	27,11	25,7	29,4	23,54	11,35	1,00
f15	24,05	28,87	25,39	23,5	27,1	24,06	1,12	1,00
f16	26,77	31,22	26,42	27,7	31,8	26,65	1,42	1,00
f17	27,94	32,56	24,78	23,8	28,1	23,89	0,09	-1,00
f18	25,84	29,87	24,30	29,3	32,4	22,84	21,86	1,00
f19	25,15	29,63	26,51	25,8	30,6	25,85	2,76	1,00
f20	24,87	29,87	26,75	23,3	32,4	26,49	1,65	1,00
f21	28,81	33,88	24,51	29,4	34,1	24,79	1,07	1,00
f23	30,49	34,85	24,63	28,9	32,7	26,46	0,08	-1,00

.

4.2. Myc ve MYCT1 Genlerinin İfade değerlerinin Histopatolojik Bulgularla ilişkisi

Mesane kanserli hastaların %71,4 (35/49)'unda Myc geni ifade düzeyinde artış görüldü. Ortalama Myc mRNA ($2^{-\Delta\Delta CT}$) ifade düzeyinin mesane tümörlü doku örneklerinde %40 artış olduğu saptandı.

	Myc Ct(ort)	TBP Ct(ort)	SDHA Ct(ort)	ΔCt (ort)	ΔΔCt	$2^{-\Delta\Delta CT}$
Tümör	29,1	32,68	28,5 (30,67)	-1,57	-0,5	1,41
Normal	29,91	33,27	28,51(30,98)	-1,07	0	1

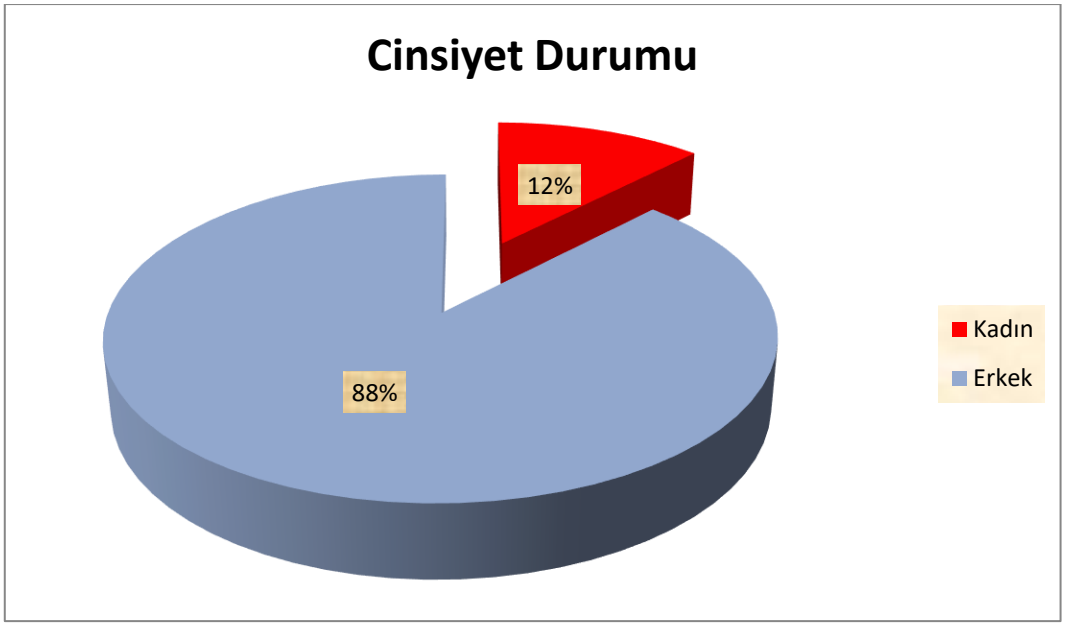
Tablo4-4: Myc geninin tümör ve normal örneklerde ortalama ifade değeri

Ayrıca istatistiksel analizler için hastalar, kasa invaze olan ve kasa invaze olmayan olarak iki grup altında da incelenmiştir. Kasa invaze olmayan grupun %77,3'ünde kasa invaze olanların ise %66,7'sinde myc ifade düzeyinde artış görülmüş olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır (p=0,414). MYC gen ifadesi araştırılan örneklerde aynı zamanda MYCT1 mRNA ifadesi de araştırılmıştır ve MYCT1'in tümör örneklerin %57,1 (28/49)'unda artmış olduğu olduğu görülmüştür. MYCT1 ifadesinin kasa invaze örneklere (%40,7) örneklere kıyasla kasa invaze olmayan hastaların dokularında (%77,3) artmış olduğu görülmüştür (p=0,033).

Mesane kanseri olan hastaların ameliyat sırasında yaş ortalamaları 62,19 ± 10,78 ve arasında ameliyat sonrası ortalama izlem 39,30 ± 28,46 ay (1-100 ay aralığında) olarak, izlem süresi içerisinde kanserle ilişkilendirilmiş ölüm oranı %40,7 (11/27) olduğu görülmüştür.

Yapılan değerlendirme sonucunda MYC ve MYCT1 ifade düzeylerindeki artışın birbiri ile ilişkili olduğu saptandı. Tümör dokularının %61,2'sinde, MYC ve MYCT1 mRNA'larında eşzamanlı olarak artma ve azalma görülmüştür. Bununla birlikte, bu pozitif ilişki istatistiksel olarak anlamlılık göstermemektedir (p=0,304).

Hastaların cinsiyete göre dağılımlarının yüzde olarak ifadesi Şekil 4-1 de gösterilmiştir.



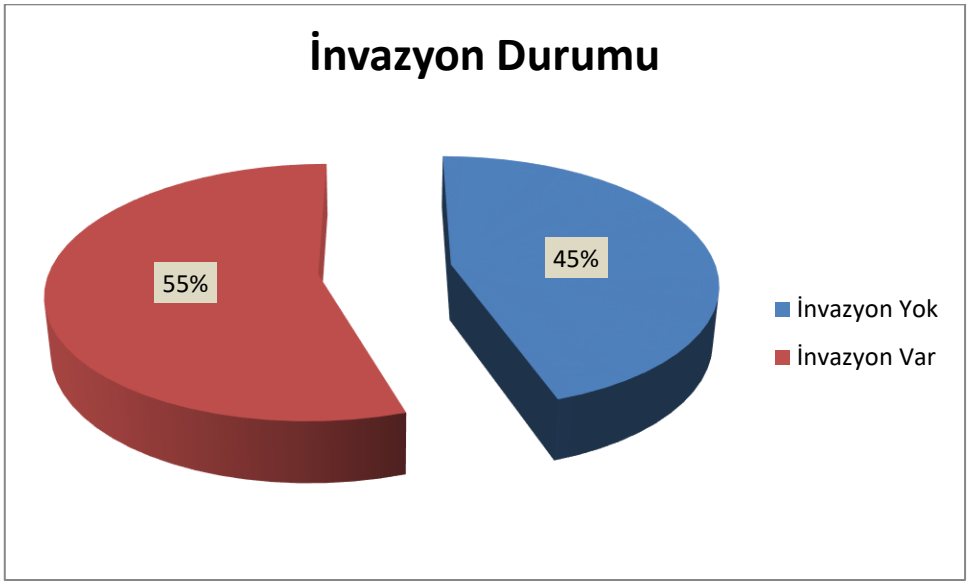
Şekil 4-1: Mesane Kanserli Hastaların Cinsiyet Dağılımı

Tablo 4-5'de Myc ve MYCT1 ifadesi ile Cinsiyet Dağılımı arasındaki ilişki gösterilmektedir. İstatistiksel değerlendirme sonucunda tümörlü örneklerdeki Myc ve MYCT1 ifadeleri ile cinsiyet dağılımı arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Tablo 4-5: Mesane Kanserli Hastaların Myc ve MYCT1 ifadesi ile cinsiyet dağılımı arasındaki ilişki

	İfade Düzeyi	Cinsiyet		P
		Kadın	Erkek	
Myc	**Azalmış**	1	13	0,491
	Artmış	5	30	
MYCT1	**Azalmış**	2	18	0,843
	Artmış	4	24	

Hastaların tümör odaklarındaki invazyon dağılımlarının yüzde olarak ifadesi Şekil 4-2 de gösterilmiştir.



Şekil 4-2: Mesane Kanserli Hastaların İnvazyon Durumu

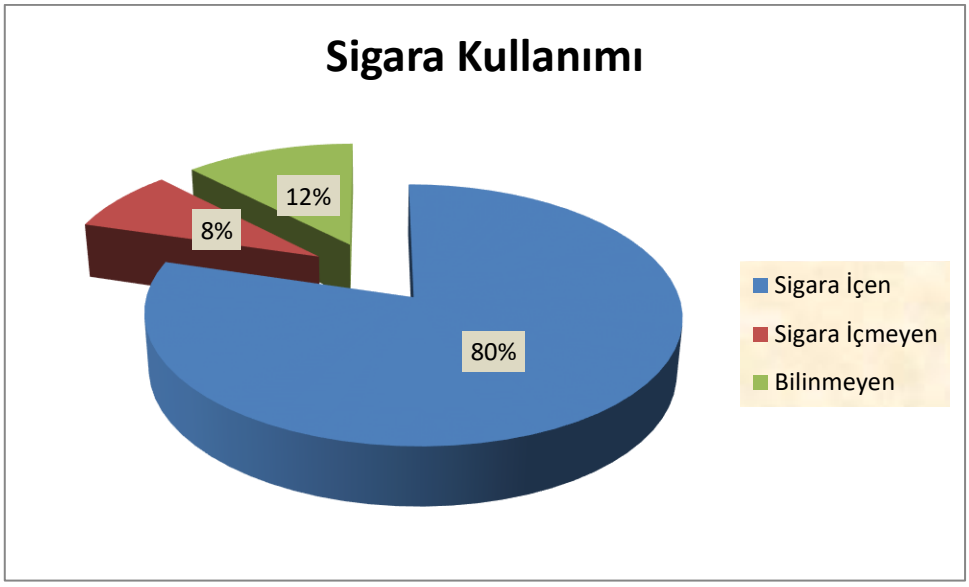
Tablo 4-6'de Myc ve MYCT1 ifadesi ile İnvazyon Durumu arasındaki ilişki gösterilmektedir. İstatistiksel değerlendirme sonucunda tümörlü örneklerdeki Myc ifadesi ile invazyon durumu arasında anlamlı bir ilişki bulunamamasına karşın MYCT1

ifadesi ile invazyon arasında anlamlı bir ilişki olduğu ve MYCT1 ifade artışının invazyon önleyici etkisi olduğu görülmektedir. (p= 0,033)

Tablo 4-6: Mesane Kanserli Hastaların Myc ve MYCT1 ifadesi ile İnvazyon Durumu arasındaki ilişki

		İnvazyon Durumu		p
	İfade Düzeyi	İnvazyon Yok	İnvazyon Var	
Myc	Azalmış	5	9	0,414
	Artmış	17	18	
MYCT1	Azalmış	5	15	0,033
	Artmış	17	11	

Hastaların sigara kullanımları yüzde olarak ifadesi Şekil 4-3 de gösterilmiştir.



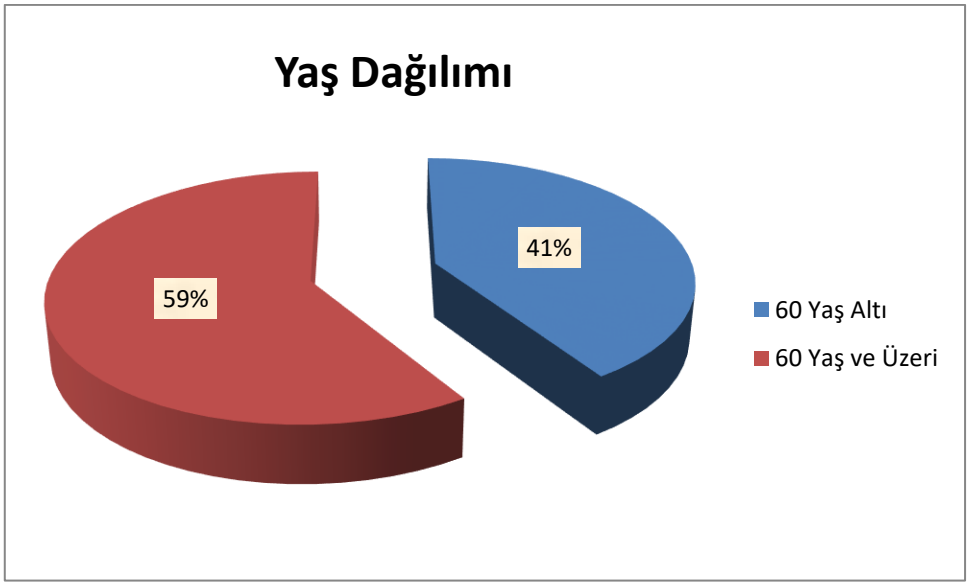
Şekil 4-3: Mesane Kanserli Hastaların Sigara Kullanımı Dağılımı

Tablo 4-7'de Myc ve MYCT1 ifadesi ile Sigara kullanımı arasındaki ilişki gösterilmektedir. İstatistiksel değerlendirme sonucunda tümörlü örneklerdeki Myc ve MYCT1 ifadesi ile sigara kullanımı arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Tablo 4-7: Mesane Kanserli Hastaların Myc ve MYCT1 ifadesi ile sigara kullanımı arasındaki ilişki

		Sigara Kullanımı			p
	İfade Düzeyi	İçen	İçmeyen	Bilinmeyen	
Myc	Azalmış	11	1	2	0,954
	Artmış	28	3	4	
MYCT1	Azalmış	14	2	4	0,678
	Artmış	24	2	2	

Hastaların yaş dağılımı yüzde olarak ifadesi Şekil 4-4 de gösterilmiştir.



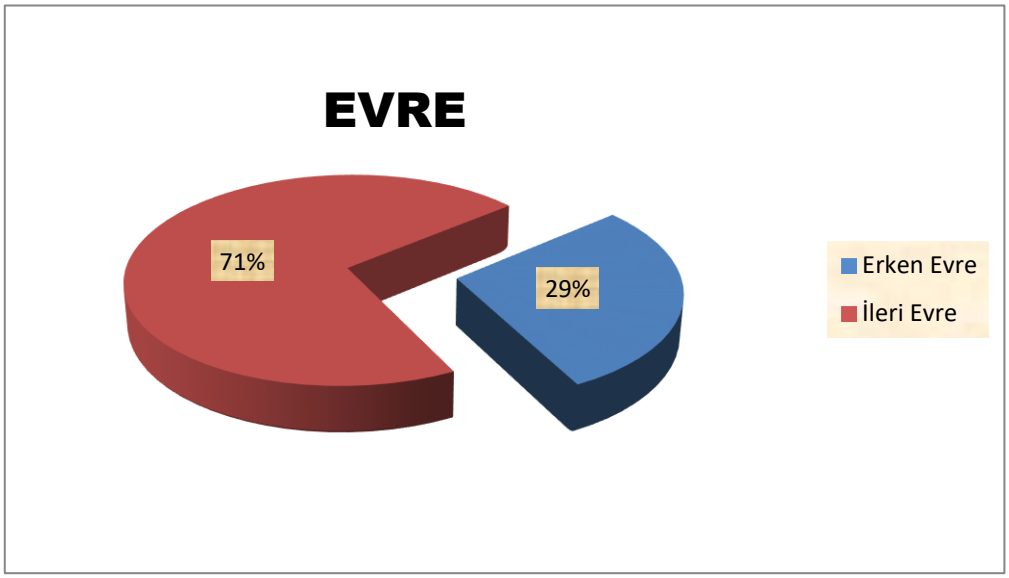
Şekil 4-4: Kasa İnvaze Mesane Kanserli Hastaların Yaş Dağılımı

Tablo 4-8'de Myc ve MYCT1 ifadesi ile yaş arasındaki ilişki gösterilmektedir. İstatistiksel değerlendirme sonucunda tümörlü örneklerdeki MYCT1 ifadesi ile yaş dağılımları arasında anlamlı bir ilişki bulunamamış olup Myc ifadesindeki artışın ileri yaştaki hastalarda istatistiksel olarak daha fazla olduğu saptandı. (p= 0,035)

Tablo 4-8: Mesane Kanserli Hastaların Myc ve MYCT1 ifadesi ile yaş dağılımı arasındaki ilişki

		Yaş Dağılımı		p
	İfade Düzeyi	**60 Yaş altı**	**60 Yaş ve üzeri**	
Myc	**Azalmış**	9	5	0,035
	Artmış	11	24	
MYCT1	**Azalmış**	11	9	0,199
	Artmış	9	19	

Tümörün evrelemesi yüzde olarak ifadesi Şekil 4-5 de gösterilmiştir.



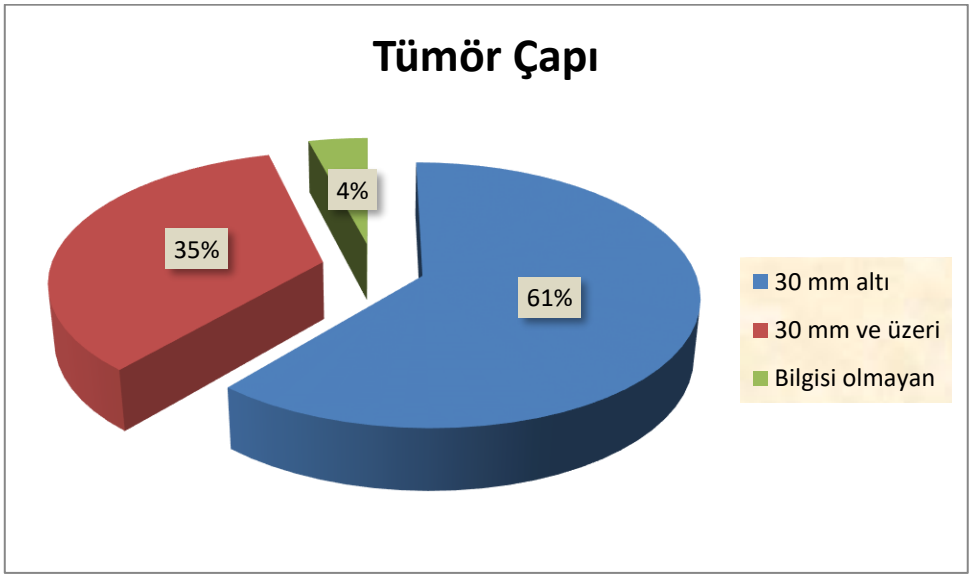
Şekil 4-5: Mesane Kanserli Hastaların Tümör Evrelemesi

Tablo 4-9'de Myc ve MYCT1 ifadesi ile tümör evrelemesi arasındaki ilişki gösterilmektedir. İstatistiksel değerlendirme sonucunda tümörlü örneklerdeki Myc ve MYCT1 ifadesi ile tümör evrelemesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Tablo 4-9: Mesane Kanserli Hastaların Myc ve MYCT1 ifadesi ile tümör evrelemesi arasındaki ilişki

		Evreleme		p
	İfade Düzeyi	Erken Evre	İleri Evre	
Myc	Azalmış	7	7	0,928
	Artmış	18	17	
MYCT1	Azalmış	7	13	0,079
	Artmış	18	10	

Hastaların Tümör çapı yüzde olarak ifadesi Şekil 4-6 de gösterilmiştir.



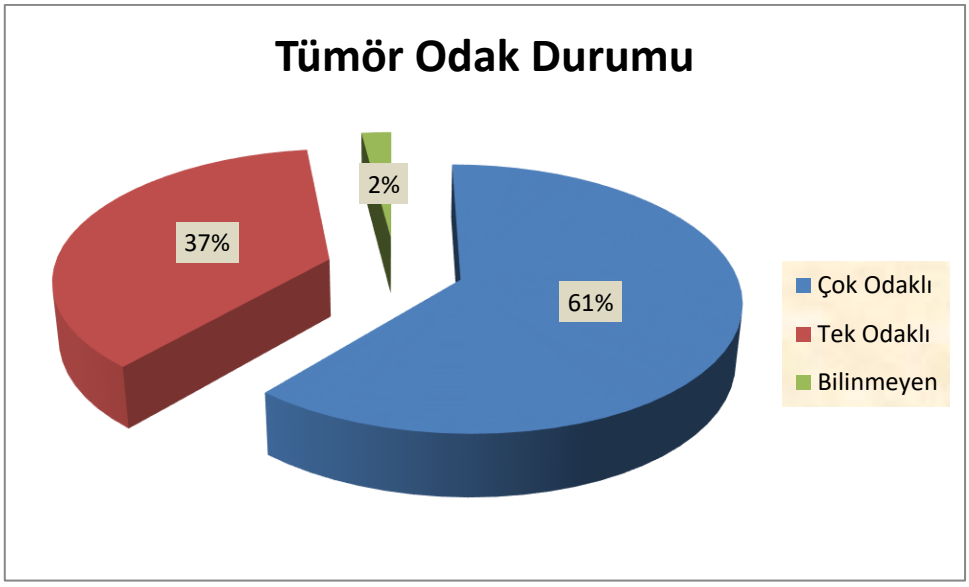
Şekil 4-6: Mesane Kanserli Hastaların Tümör çapı

Tablo 4-10'da Myc ve MYCT1 ifadesi ile Tümör Çapı arasındaki ilişki gösterilmektedir. İstatistiksel değerlendirme sonucunda tümörlü örneklerdeki Myc ve MYCT1 ifadesi ile tümör çapı arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Tablo 4-10: Mesane Kanserli Hastaların Myc ve MYCT1 ifadesi ile tümör çapı arasındaki ilişki

		Tümör Çapı				p
		İfade Düzeyi	**30 mm altı**	**30 mm ve üzeri**	**Bilinmeyen**	
Myc	**Azalmış**	7	5	2		0,067
	Artmış	23	12	0		
MYCT1	**Azalmış**	11	8	1		0,603
	Artmış	19	8	1		

Hastaların Tümör Odak Durumu yüzde olarak ifadesi Şekil 4-7 de gösterilmiştir.



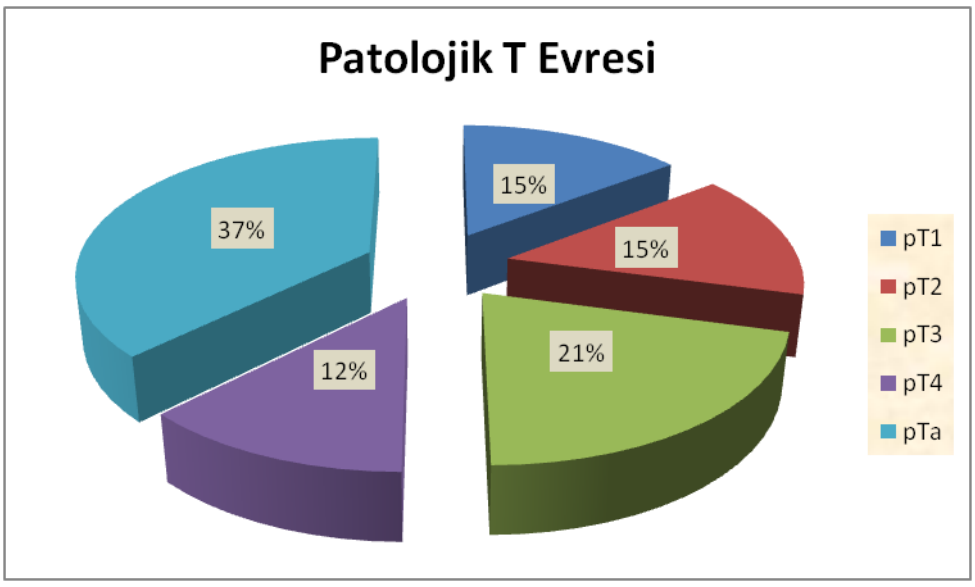
Şekil 4-7: Mesane Kanserli Hastaların Tümör Odak Durumu

Tablo 4-11'da Myc ve MYCT1 ifadesi ile Tümör Odak Durumu arasındaki ilişki gösterilmektedir. İstatistiksel değerlendirme sonucunda tümörlü örneklerdeki Myc ve MYCT1 ifadesi ile Tümör Odak Durumu arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Tablo 4-11: Mesane Kanserli Hastaların Myc ve MYCT1 ifadesi ile Tümör Odak Durumu arasındaki ilişki

		Tümör Odak Durumu			p
	İfade Düzeyi	Çok Odaklı	Tek Odaklı	Bilinmeyen	
Myc	Azalmış	9	4	1	0,236
	Artmış	21	14	0	
MYCT1	Azalmış	12	7	1	0,521
	Artmış	18	10	0	

Hastaların Patoloji T Evresi yüzde olarak ifadesi Şekil 4-8 de gösterilmiştir.



Şekil 4-8: Mesane Kanserli Hastaların Patoloji T Evresi

Tablo 4-12'de Myc ve MYCT1 ifadesi ile Patoloji T Evresi arasındaki ilişki gösterilmektedir. İstatistiksel değerlendirme sonucunda tümörlü örneklerdeki hem Myc hem de MYCT1 ifadesi artışı ile Patoloji Evresi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (sırasıyla p= 0,045 ve p= 0,010). Myc ve MYCT1 ifade düzeyindeki artışın özellikle pTa evreli hastalarda daha fazla olduğu saptandı.

Tablo 4-12: Mesane Kanserli Hastaların Myc ve MYCT1 ifadesi ile Patoloji T Evresi arasındaki ilişki

		Patoloji T Evresi					**p**
	İfade Düzeyi	**pT1**	**pT2**	**pT3**	**pT4**	**pTa**	
Myc	**Azalmış**	3	1	1	5	4	0,045
	Artmış	4	6	9	2	14	
MYCT1	**Azalmış**	4	4	3	6	3	0,010
	Artmış	3	3	7	0	15	

5. TARTIŞMA

Mesane kanserlerinin yaklaşık %90'ı, üroteliyal hücre hatlarından kaynaklanan tranzisyonel hücre karsinomlarıdır (TCC) (Reuter ve ark. 2004). Buna rağmen, biyolojik davranış ve tanısal olarak tamamen farklılık gösteren iki farklı oluşumu mevcuttur. Kas invazyonu gösteren tümörler çoğunlukla kötü seyirlidir ve sistektomi gibi daha radikal bir tedaviye gereksinim duyar. Fakat agresif tedaviler, hastalığın tekrarlanması ve ilerleme göstermesine neden olur. Kasa invaze olmayan tümörlerde hastalığın seyridaha iyi olup sadece bölgesel çoğalma gösterir. Yüzeyel yani kasa invaze olmayan tümörler aralıklı sistoskopi ve mesane içi tedaviler ile kontrol altına alınırken kasa invaze ancak uzak yayılım göstermeyen mesane kanserleri sistektomi ile kontrol altına alınabilir (Burger M ve ark. 2013). Bu nedenle, kasa invaze olan ve kasa invaze olmayan tümörlerin farklılığını tanımlamayave invaziv olmayanların ileride metastaz yapma olasılığını belirleyebilmeye yardımcı olabilecek moleküler belirteçler saptamak üzere yoğun araştırmalar yapılmaktadır.

Myc gen ailesi, DNA'ya bağlanma etkinliği gösterip hücresel çoğalmanın düzenlenmesinde öncülük eden bazı fosfoproteinleri kodlar.c-Myc gen ailesinde, gen amplifikasyonu ve kromozomal translokasyon sonucu oluşan mutasyonlar, hücre çoğalmasındaki kontrolün bozulmasına yol neden olur (Mitra AP ve ark. 2005). c-myc etkinliğini, Mad (max dimerization protein) ve Max (myc-associated factor X) proteinleri ile heterodimerik bir karmaşım oluşturarak gösterir (Amati B ve ark. 1994). Aralarında mesane kanserinin de olduğu birçok insan kanserinde c-Myc genin ifadesinde bozulma sıklıkla karşılaşılan bir durumdur (Denis N ve ark. 1991, Christoph F ve ark. 1999). İfadede görülen değişiklik genellikle artış şeklinde olup kopya

sayısındaki artıştan kaynaklanmaktadır. Mesane tümörlerindegörülen c-Myc kopya sayısı artışının görülme sıklığının %30 olduğu bildirilmiştir (Schmitz-Dräger BJ ve ark. 1997, Nord H ve ark. 2010). Çoğunlukla, kopya sayısı değişiklikleri, mRNAifadesinde artışa neden olmakla birlikte herzaman ifade düzeyi ile kopya sayısı artışı arasında aynı oranda bir artış görülmemektedir. Mesane tümörlerinde c-myc mRNA düzeyine baktığımız çalışmada ifade düzeyindeki artışın %71,4 olarak bildirilen kopya sayısı artışının çok üstünde olduğunu saptadık. Bunun nedeni mRNA düzeyinin kontrolünde kopya sayısındaki artışın yanı sıra promotör metillenmesi gibi başka epigenetik değişimlerin rolünün olması olabilir. Ancak çalışmamız sonucunda daha önce bildirilen sonuçlar ile uyumlu olarak MYC ifadesinin hem kasa invaze olan hem de kasa invaze olmayan tümörlerde artış göstermiştir olduğunu saptadık (Schmitz-Dräger BJ ve ark. 1997, Nord H ve ark. 2010). Literatürde c-Myc'in protein seviyesinin artarak ifade edildiği mesane kanserli hastalarda düşük derece ve erken evre arasında doğrudan bir ilişki olduğu bidirilmiş olup (Sauter G ve ark. 1995) bizim mRNA düzeyinde yapmış olduğumuz çalışmamızda da c-Myc'in artarak ifade edildiği örneklerde erken evre ve düşük derece ile ileri evre ve derece arasında doğrudan ilişki olduğunu gördük.

c-Myc'inbilinen işlevleri hedef genler aracılığı ile çoğalma, büyüme, gelişme, farklılaşma ve apoptozu düzenlemektir (Qiu G ve ark. 2003). Son yıllarda tanımlanan myc hedef genlerinden bir tanesi larenks kanser hücre hatları ile yapılan çalışmalar sonucu tanımlanan MYCT1'dir(Qiu GB ve ark. 2003, Schmitz-Dräger BJ ve ark 1997). Pek çok farklı dokuda MYCT1'in ifade edilmesine rağmen özellikle gastrik ve skuamöz hücreli larenks kanserinde (LSCC) tümör dokularında normal dokulara kıyasla daha az ifade edildiğinin görülmesi tümör baskılayıcı işlevi olduğunu düşündürmüştür (Qiu GB ve ark. 2003, Fu S ve ark. 2011).Ancak bu konuda elde edilen veriler birbiri ile çelişir nitelikte olup Lavelle ve ark. MYCT1'in akut miyeloid lösemide ifadesinin arttığını

bildirmiştir (Lavallee VP ve ark. 2015).Literatürde MYCT1'in araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle yaptığımız çalışma sonucunda mesane tümör örneklerinde MYCT1'in ifadesinin arttığını saptadık. Ancak bu ifade artışının kas invazyonu göstermeyen tümörlerde daha fazla olması kasa invaze olmayan mesane kanserinde tümör baskılayıcı olarak işlev görebileceğini destekler niteliktedir. Bu daMyc'in aşırı ifadesine karşın MYCT1'in aşırı ifadesinin kas invazyonunu engelleyebileceğini göstermektedir.

MYCT1 2003 yılında tanımlanmasına rağmen düzenleme mekanizması ve işlevi henüz tam olarakaydınlatılamamıştır. Promotor bölgesinde bulunan 12 CpG adacığından biri olan -695-692 konumda yer alan bir tanesininaşırı metillenmesinin c-myc'inpromotora bağlanmasını engelleyerekMYCT1'in ifadesini değiştirebileceği rapor edilmiştir (Yang M 2012). Ancak promotor bölgesinde yer alan diğer 11 CpG adacığının metillenmesinin ifade düzeyi üzerindeki etkisi bilinmemektedir. MYCT1'in epigenetik düzenlenmesinin ve ifade düzeyinin doku ya da tumor tipine göre farklılık gösterebileceği öne sürülmektedir.

Mide kanserli hastalarda MYCT1 geninin ters transkriptaz-PCR yöntemi ile mRNA düzeyinin azaldğı ve bunun sonucu olarak hücre büyümesinin ve apoptozun engellendiği gösterilmiştir (Qiu GB ve ark. 2003). MYCT1 ifade azalmasının LSCC gelişimi ve invazyonuyla ilişkili bulunmuş olmasıyla birlikte aşırı ifade edilmesinin de Hep2 (human HeLa contaminan cell line) hücre hatlarında invazyon kapasitesi ve hücre yaşam süresini anlamlı bir biçimde azalttığı rapor edilmiştir. Buna ilaveten HEK293(human embrionic kidney cell line 293) hücre hatlarında MYCT1'in aşırı ifade edilmesinin programlanmış hücre ölümü ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir (Fu S ve ark. 2011).

Daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda mesane kanserinde c-Myc geninin aşırı ifade eddildiği belirlenmiş olmasına rağmen hedef geni olan MYCT1 geni ile yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle yapmış olduğumuz çalışma sonucunda elde ettiğimiz veriler MYCT1'in kasa invazeolan ve kasa invaze olmayan mesane tümörleri ya da ilerleme potansiyeli olan kasa invaze olmayan tümörlerde farklı şekilde düzenlendiğini düşündürmektedir. MYCT1'in mesane kanserindeki etki mekanizmasının tam olarak anlaşılabilmesi için alt grubları oluşturan hasta sayıları arttırılarak hem MYCT1 geninin hem genetik hem de epigenetik düzeyde daha detaylı şekilde araştırılması gerekmektedir.MYC'in fazla ifade edildiği tümörlerde MYCT1 ifadesinin azalması daha detaylı yapılacak çalışmalar sonucunda MYCT1'in alt tiplerin ve invazyon kapasitesi olan tümörlerin ayırt edilmesinde yol gösterici bir belirteç olabileceğini göstermektedir. Elde ettiğimiz veriler sonucunda MYCT1'deki ifade artışının MYC'nin tumor oluşturucu etkisini engelleyebileceğini gösterir niteliktedir.

KAYNAKLAR

Amati B, Land H. Myc-Max-Mad: a transcription factor network controlling cell cycle progression, differentiation and death. Curr Opin Genet Dev 1994;4(1):102-8.

Arioz DT, Camuzcuoglu H, Toy H, Kurt S, Celik H, Erel O. Paraoksanazın Endometrium kanseri ile ilişkisi (Assessment of serum paraoxonase and arylesterase activity in patients with endometrial cancer). Eur J Gynaecol Oncol. 2009;30(6):679-82.

Bertino JR, editor. The Encyclopedia of Cancer, 2nd ed. USA: Academic Press; 2002

Burger M, Catto JW, Dalbagni G, Grossman HB, Herr H, Karakiewicz P, Kassouf W, Kiemeney LA, La Vecchia C, Shariat S, Lotan Y. Epidemiology and risk factors of urothelial bladder cancer. Eur Urol. 2013; 63:234-41.

Campbell-Walsh Urology Tenth Edition . Alan J. Wein, Louis R. Kavoussi, Andrew C. Novick, Alan W. Partin and Craig A. Peters . Saunders , 2011 ; 10th revised edition, ; ISBN-10 : 1416069119 , ISBN-13 : 978-1416069119

Christoph F, Schmidt B, Schmitz-Dräger BJ, Schulz WA. Over-expression and amplification of the c-myc gene in human urothelial carcinoma. Int J Cancer. 1999; 84:169-73.

Cohen DE, Prochownik EV. A functional hierarchy for c-Myc target genes? Lessons from MT-MC1. Cell Cycle. 2006; 5:392-3.

Cole MD, The myc oncogene:it's role in transformation and differentiation. Ann Rev Genet 1986;20:361-84.

Cotterman R, Jin VX, Krig SR, Lemen JM, Wey A, Farnham PJ, Knoepfler PS.N-Myc regulates a widespread euchromatic program in the human genome partially independent of its role as aclassical transcription factor. Cancer Res. 2008;68: 9654–62.

De Pinho R, Schreiber-Agus N, Alt FW. Myc family oncogenes in the development of normal and neoplastic cells. Advances in Cancer Research 1991;57:1-46.

Denis N, Kitzis A, Kruh J, Dautry F, Corcos D. Stimulation of methotrexate resistance and dihydrofolate reductase gene amplification by c-myc. Oncogene. 1991; 6:1453-7.

Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA (eds). World Health Organisation Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs. IARC Pres. Lyon. 2004. 93-124

Eser S, Yakut C, Özdemir R, et al. Cancer Incidence Rates in Turkey in 2006: A Detailed RegistryBased Estimation. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention 2010; 11:1731-39

Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. Int J Cancer. 2015; 136:E359-86.

Fernandez PC, Frank SR, Wang L, Schroeder M, Liu S, Greene J, Cocito A, Amati B. Genomic targets of the human c-Myc protein. Genes Dev. 2003; 17:1115-29.

Forsythe JA, Jiang B, Iyer NV, Agani F, Leung SW, Koos RD, Semenza GL. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by-hypoxia-inducible factor 1. Mol. Cell. Biol.1996. 16. 4604-4613

Fu S, Guo Y, Chen H, et al. MYCT1-TV, a novel MYCT1 transcript, is regulated by c-Myc and may participate in laryngeal carcinogenesis. PLoS ONE. 2011; 6: e25648.

Ge H, Liu Z, Church GM ve ark. Correlation betweentranscriptome and interactome mapping data fromSaccharomyces cerevisiae. Nat Genet, 2001; 29: 482-486.

Gearhart J, Pashos EE, Prasad MK. Pluripotency redux--advances in stem-cell research. N Engl J Med. 2007; 357:1469-72.

Habuchi T, Marberger M, Droller MJ, Hemstreet GP 3rd, Grossman HB, Schalken JA, et al. Prognostic markers for bladder cancer: International Consensus Panel on bladder tumor markers. Urology 2005;66(6 Suppl 1):64-74.

Henriksson M, Lüscher B. Proteins of the Myc network: essential regulators of cell growth and differentiation. Adv Cancer Res. 1996; 68,109-82.

Hipfner DR, Cohen SM. Connecting proliferation and apoptosis in development and disease. Nat Rev Mol Cell Biol 2004;5(10):805-15.

Hurlin PJ, Quéva C, Koskinen PJ, Steingrímsson E, Ayer DE, Copeland NG, et al. Mad3 and Mad4: novel Max-interacting transcriptional repressors that suppress c-myc dependent transformation and are expressed during neural and epidermal differentiation. EMBO J 1995;14(22):5646-59.

Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global Cancer Statistics, CA Cancer J Clin 2011; 61: 69-90

IARC, IACR. Cancer incidence in five continents, Vol IX. Eds. Curado MP, Edwards B, Shin HR, Storm H, Ferlay J, Heanue M, Boyle P. IARC Scientific Publications No: 160, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2007

Kamb A., Gruis N.A., Weaver-Feldhaus J. (1994). A cell cycle regulator potentially involved in the genesis of many tumor types. Science, 264, 436-440.

Kırkalı Z, Tüzel E. Yüzeyel mesane kanserinde tedavi.Hemato-Onkoloji 2004; 6: 42-46.

Kırkalı Z, Tüzel E. Yüzeyel mesane tümörlerinde AvrupaKanser Araştırma ve Tedavi Derneği (EORTC)Deneyimi. Hemato-Onkoloji, 2004; 6: 47-50.

Lavallée VP, Gendron P, Lemieux S, D'Angelo G, Hébert J, Sauvageau G. EVI1-rearranged acute myeloid leukemias are characterized by distinct molecular alterations. Blood. 2015;125:140–3. doi: 10.1182/blood–2014–07–591529.

Levens DL. Reconstructing MYC. Genes Dev. 2003;17,1071–7.

LokeshwarVB, Soloway MS. Current bladder tumortests: Does their projected utility fulfill clinicalnecessity. J Uro1, 2001; 165: 1067-1077.

Lotan Y, Roehrborn CG. Cost-effectiveness of amodified care protocol substituting bladder tumormarkers for cystoscopy for the followup of patientswith transitional cell carcinoma of the bladder: Adecision analytical approach. J Urol, 2002; 167: 75-79.

Lüscher B, Larsson LG. The basic region/helix-loop-helix/leucine zipper domain of Myc proto-oncoproteins: function and regulation. Oncogene. 1999 May 13;18(19):2955-66.

Macdonald F., Ford C.H.J., Casson A.G.: Oncogenes. Molecular Biology of Cancer Second edition. Garland Science/BIOS Scientific Publishers, 2004 ;2:12-31

Maluf FC, Cordon-Cardo C, Verbel DA, Satagopan JM, Boyle MG, Herr H,et al. Assessing interactions between mdm-2, p53 and bcl2 as prognostic varrables in muscle invasive Bladder cancer treated with neo-adjuvant chemotherapy followed by locoregional surgical treatment. Ann Oncol 2006; 17: 1677-86

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.

Mhawech-Fauceglia P., Cheney R.T., Schwaller J.: Genetic Alterations in Urothelial Bladder Carcinoma. Cancer. 2006;106(6): 1205-1216

Mitra AP, Lin H, Cote RJ, Datar RH. Biomarker profiling for cancer diagnosis, prognosis and therapeutic management. Natl Med J India 2005;18(6):304-12

Mungan MU, Canda AE, Tüzel E, Yörükoğlu K, KırkalıZ. Risk factors for mucosal prostatic involvementin superficial transitional cell carcinoma of thebladder. Eur Urol, 2005; 48:760-763

Nagpal JK, Das BR. Oral cancer: reviewing the present understanding of its molecular mechanism and exploring the future directions for its effective management. Oral Oncol 2003;39:213-221.

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;126:1390–402.

Obaya, A.J., Mateyak, M.K., Sedivy, J.M. 1999.”Mysterious liaisons: the relationship between c-Myc and the cell cycle”, Oncogene, 18 (19), 2934-41.

Ouyang XM, Huang SZ, Mei KY. Expression and significance of MTLC gene in breast cancers and their surrounding tissues. Chinese Journal of Coal Industry Medicine, 2006;9: 695-696.

Qiu G, Qiu G, Xu Z, Huang D, Gong L, Li C, Sun X, Sun K. [Cloning and characterization of MTLC, a novel gene in 6q25]. Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi. 2003; 20:94-7.

Qiu GB, Gong LG, Hao DM, Zhen ZH, Sun KL. Expression of MTLC gene in gastric carcinoma. World J Gastroenterol. 2003; 9:2160-3.

Quek ML, Sanderson K, Daneshmand S ve ark. Newmolecular markers for bladder cancer detection. CurrOpin Urol, 2004; 14: 259-264.

Rabbitts TH, Hamlyn PH, Baer R. Altered nucleotide sequences of a translocated c-myc gene in Burkitt lymphoma. Nature 1983;306:760-765

Ramakumar S, Bhuiyan J, Besse JA ve ark.Comparison of screening methods in the detection ofbladder caneer. J Uro1, 1999; 161: 388-389.

Rogulski KR, Cohen DE, Corcoran DL, et al. Deregulation of common genes by c-Myc and its direct target, MT-MC1. Proc Natl Acad Sci USA. 2005; 102: 18968 – 73.

Reuter V. The Urethelial Tract : Renal pelvis, Ureter, Urinary Bladder, And Urethra. In: Carter D, Greenson JK, Oberman HA, Reuter V, Stoler MH. Sternberg's Diagnostic Surgical Patology (4th ed.) Philadelphia, Lipincott Williams and Wilkins, 2004: 2035-2074

Rothermund K, Rogulski K, Fernandes E, et al. C-Myc-independent restoration of multiple phenotypes by two C-Myc target genes with overlapping functions. Cancer Res. 2005; 65: 2097 – 107.

Saksela K, Bergh J, Lehto VP, Nilsson K, Alitalo K. Amplification of the c-myc oncogene in a subpopulation of human cell lung cancer Cancer Research 1985;45:1823-27.

Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. Nat Protoc. 2008; 3:1101-8.

Schmitz-Dräger BJ, Schulz WA, Jürgens B, Gerharz CD, van Roeyen CR, Bültel H, Ebert T, Ackermann R. Urol Res. 1997;25:S45-9.

Sears RC, Nevins JR. Signaling networks that link cell proliferation and cell fate. J Biol Chem 2002;277(14):11617-20.

Shiina H, Igawa M, Shigeno K, Terashima M, Deguchi M, Yamanaka M, Ribeiro-Filho L, Kane CJ, Dahiya R. Beta-catenin mutations correlate with over expression of C-myc and cyclin D1 Genes in bladder cancer. J Urol. 2002;168:2220–6.

Snyder RC, Miller DM. Regulation of c-myc transcription initiation and elongation Critical Reviews in Oncogenesis 1992;3:283-291.

Tekin A.: Mesane Kanserlerinde Etyoloji, Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri. Ürotelyal Karsinomlar. Özen H., Türkeri L.; Üroonkoloji Kitabı 1. Baskı Cilt 1, 2007 (II);12:149-157

Trent R.J.: Oncogenesis. Complex Genetic Traits. Molecular Medicine (Third Edition) An Introductory Text Copyright © 2005 Elsevier. 2005;4: 77-118

Türk Hematoloji Derneği, Klinisyen-Patolog Ortak Lenfoma Kursu, 6-7 Mart 2004, Grand Cevahir Otel, İstanbul

Västrik I, Mäkelä TP, Koskinen PJ, Alitalo K. Determination of sequences responsible for the differential regulation of Myc function by delta Max and Max. Oncogene 1995;11(3):553-60.

Walhout AJ, Gubbels JM, Bernards R, van der Vliet PC, Timmers HT. c-Myc/Max heterodimers bind cooperatively to the E-box sequences located in the first intron of the rat ornithine decarboxylase (ODC) gene. Nucleic Acids Res. 1997; 25:1493-501.

Wallis YL, Macdonald F, Molecular Pathology Demystified.. Oncogenes. British Medical Journal 1999; 52: 55-63.

Williams S. G., Stein J.P.: Molecular Pathways in Bladder Cancer. Urological Research. 2004;32(6): 373-426

Yang M, Li W, Liu YY, Fu S, Qiu GB, Sun KL, Fu WN. Promoter hypermethylation-induced transcriptional down-regulation of the gene MYCT1 in laryngeal squamous cell carcinoma. BMC Cancer. 2012 6;12:219. doi: 10.1186/1471–2407-12-219.

Yin X, Grove L, Rogulski K, et al. Myc tar- get in myeloid cells-1, a novel c-Myc target, recapitulates multiple c-Myc phenotypes. J Biol Chem. 2002; 277: 19998 – 20010.

Zhong H, De Marzo AM, Laughner E, Lim M, Hilton DA, Zagzag D, Buechler P, Isaacs WB, Semenza GL, Simons JW. Overexpression of HIF-1α in common human cancers and their metastases. Cancer. Res. 1999. 59. 5830-5835

HAM VERİLER

FORMLAR

ETİK KURUL KARARI

PATENT HAKKI İZNİ

TELİF HAKKI İZNİ

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Soydan	**Soyadı**	DOĞAN
Doğ.Yeri	ŞİŞLİ	**Doğ.Tar.**	20.09.2016
Uyruğu	T.C.	**TC Kim No**	31009512652
Email	soydan.dogan@hotmail.com	**Tel**	05375827087

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mez. Yılı**
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	Abant İzzet Baysal Üniversitesi	2011
Lise	Sarıyer Hüseyin Kalkavan Lisesi	2005

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1.	Ar-Ge ve Aplikasyon	Medsantek	2014-2016
2.			-
3.			-

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

***Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
Ofis programları	iyi

seqscape	iyi
genemapper	iyi

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

DIDEM SEVEN, SOYDAN DOGAN, ERKAN KILIÇ, EMIN KARAMAN, HIKMET KOSEOGLUand NUR BUYRU Downregulation of Rab25 activates Akt1 in head and neck squamous cell carcinoma. Oncol Lett. 2015 Sep; 10(3): 1927–1931. Published online 2015 Jun 29. doi: 10.3892/ol.2015.3433

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Futbol, Scuba Diving