

MESANE TÜMÖRLERİNİN TANI VE İZLEMİNDE İDRAR ÖRNEKLERİNİN SİTOLOJİK TETKİKİ İLE DNA İÇERİK ANALİZİNİN BİRLİKTE KULLANIMI

COMBINATION OF CYTOLOGY AND DNA CONTENT ANALYSIS OF URINE SPECIMEN IN DIAGNOSIS AND FOLLOW-UP OF BLADDER TUMORS

*BAYKAL, M., *ÇULHA, M., **DEMİRBAĞ, N., *MERDER, E., *MUTLU, N., *CANBAZOĞLU, N.

ÖZET :

Üroepitelyal tümörlerin erken tanı ve izlemi için kolay ve noninvaziv bir tetkik olması, bu hastaları izleyen hekimlerin işini kolaylaştıracaktır. Bunun için bu çalışmada mesane tümörü tanısıyla izlenen hastaların idrar örneklerinden ve mesane yıkantı materyallerinden yapılan sitolojik tetkik ve DNA analizinin ne kadar etkili olabileceğini araştırdık. Mesane tümörü tanısıyla takip edilen 67 hastada ve kontrol grubu olarak benign hastalık nedeniyle takip edilen 25 hastada sitolojik tetkik ve DNA içerik analizi yaptırıldı. Sadece sitolojik inceleme sonrası spesifite %92.8 ve sensitifite %75 olarak bulundu. Her iki tetkik birleştirildiğinde bu oranlar sırasıyla %98.2 ve %88.8'e yükseldi. Sonuçta tek başına sitolojik tetkikin de oldukça faydalı olduğu fakat özellikle düşük dereceli tümörlerdeki tanı etkinliğini arttırmada DNA flow sitometri ile birlikte kullanımının yararlılığı düşünüldü. Ayrıca her iki incelemenin de noninvaziv ve kolay uygulanabilir olması hekim ve hasta için başka bir avantaj olacaktır.

SUMMARY:

An easy and noninvasive investigation for early diagnosis and follow-up of uroepithelial tumors will be helpful for physicians. So, we studied the value of cytologic examination and DNA analysis of urine and bladder washing material. We have made cytologic examination and DNA analysis of 67 patients who were followed up for bladder tumor and 25 patients with benign disease. Specificity and sensitivity of cytologic examination was %92.8 and %75 respectively. But with the combination of DNA analysis the ratios increased to %98.2 and %88.8 respectively. As a result cytologic examination of urine, alone, is useful, but especially in low grade tumors the effectiveness is higher with the combination of DNA analysis. The noninvasiveness and the easiness of both examinations are other advantages for physicians and patients.

Anahtar kelimeler: Mesane tümörü, sitoloji, DNA analizi

Key words: Bladder tumor, cytology, DNA analysis

GİRİŞ

Son yıllarda flow sitometri ile yapılan DNA analizlerinin üroepitelyal tümörlü hastaların tanı ve izleminde önemi gösterilmiştir (1-6). Alınan biopsilerden, mesane yıkantı materyallerinden ve idrar örneklerinden hücre süspansiyonları elde edilip DNA analizleri gerçekleştirilir. (7,8) Anaploid ve proliferatif hücre toplulukları saptanan analizler histolojik tetkik ile karşılaştırılır. Son yapılan çalışmalarda sitoloji ve DNA flow sitometri arasında uyum

olduğu görülmüştür. (8,9,10) Her ikisinin birlikte kullanımında ise incelemenin duyarlılığının artacağı düşünülmüştür. (11)

Bu çalışmada da, kliniğimizde halen çeşitli evrelerde mesane tümörü tanısıyla izlenen hastaların gerek miksiyon sonrası idrar örneğinden, gerekse kateter ile alınan mesane yıkantı materyalinden hem sitolojik tetkik hem de DNA analizleri yapıp sonuçlar değerlendirildi. DNA analizinin tanı ve izleminde sitolojiye ne kadar yardımcı olabileceği araştırıldı.

* HASEKİ HASTANESİ ÜROLOJİ KLİNİĞİ

** HASEKİ HASTANESİ PATOLOJİ KLİNİĞİ

Tablo 1: Olgularımızın histopatolojik sınıflandırılması

	İlk defa tanı konan	Oran	Evvelce tanı konup izlemede olan	Oran	Toplam	Oran
Olgu	29	%43	38	%67	67	%100
Histopatolojik sınıflama	Grade I-II (9 olgu)	%31	Grade I-II (16 olgu)	%42	Grade I-II (25 olgu)	%37
	Grade III (14 olgu)	%48	Grade III (13 olgu)	%34	Grade III (27 olgu)	%40
	Grade IV (6 olgu)	%21	Grade IV (9 olgu)	%24	Grade IV (15 olgu)	%23

MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada Haseki Hastanesi Üroloji Kliniğinde değişik evre ve derecede mesane tümörü tanısıyla izlenen ve biopsileri yapılmış, 60 erkek ve 7 kadın hastadan çeşitli dönemlerde alınan idrar örneklerinden ve mesane yıkantı materyallerinden hem sitolojik tetkik hem de DNA analizi yapıldı. Hasta grubu 52-79 yaşları arasında ve yaş ortalaması 60.3 idi. Ayrıca benign hastalıklar nedeniyle izlenen 25 hastaya da aynı işlem uygulandı. Hastalarımızın 29 tanesinde çalışma yapıldığı anda radyolojik tetkikler ve sistoskopi ile tespit edilen aktif tümör vardı. Bu hastalar kliniğimize ilk defa müracaat etmişlerdi, tetkikleri yapıldıktan sonra uygun tedavi seçenekleri uygulandı. Geri kalan 38 hasta ise, evvelce mesane tümörü tanısı konulup tedavilerine başlanan ve rutin zaman aralıkları ile kontrollerine devam eden hastalardı. Çalışmaya dahil edilen hastalar hakkındaki bilgiler Tablo 1'de özetlenmiştir.

Hem DNA analizinde, hem de sitolojide noninvaziv olması nedeniyle hastadan miksiyon sonrası alınan idrar örneği incelenmişti. Hücre içeriği yetersiz olan örneklerde tetkik tekrar edilirken, mesane ince bir katkater ile boşaltılıp serum fizyolojik ile irrije edilmiş ve bu yıkantı materyalinden alınan örnek incelemeye yollanmıştır.

Üriner sitolojik inceleme 3 gün ardaşık olarak yapılmış ve yaymaların hazırlanmasında sitosantrifüj cihazı kullanılmıştır. Sitolojik preparatlar Hemotoksilen-Eozin ile boyanarak incelenmiş sitolojik incelemeler sonucunda normal mukoza elamanlarının görüldüğü olgular negatif olarak malign epitel hücrelerinin görüldüğü olgular pozitif olarak kabul edilmiştir (Resim 1).



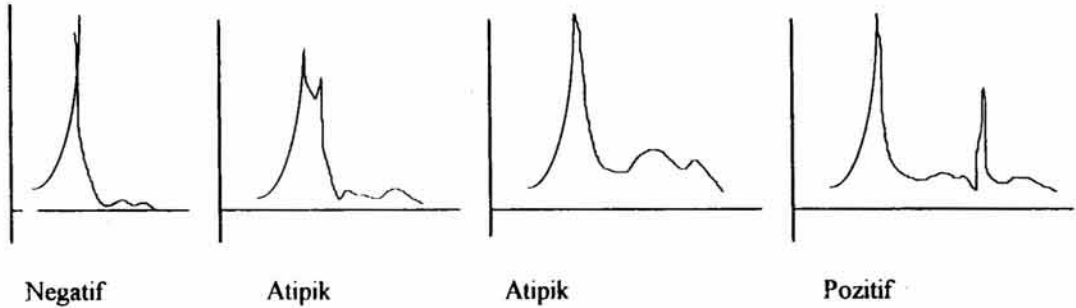
Resim 1: Düşük grade li değişici epitel hücreli karsinom (HE: x200)

Bazı olgularda ise reparatif veya rejeneratif hücrelerle düşük gradeli malign hücrelerin ayırıcı tanısı kesin olarak yapılamadığından bu grup şüpheli veya atipik olarak kabul edilmiştir (Resim 2).



Resim 2: Atipik epitel hücreleri (HE : x500)

Alınan materyalin bir kısmından da DNA analizi yapıldı. DNA analizi için Beckson



Şekil 1 : Negatif - Atipik - Pozitif DNA histogramları

Dickenson tip cihazın pachsen modelinden faydalanılmıştır. DNA analizlerinde histogramlarda anaploidi* tespit edilenler pozitif olarak kabul edilirken, anaploidi tespit edilemeyen ve %90 civarında diploidi görülen histogramlar negatif kabul edildi. Sentez fazındaki hücrelerin** ve diploidiye yakın hücre topluluklarının yüksek oranlarda görüldüğü analizler ise şüpheli, yani atipik olarak yakın hücre topluluklarının yüksek oranlarda görüldüğü analizler ise şüpheli, yani atipik olarak kabul

edildi. Bu açıklamanın grafik olarak tarifi Şekil 1.'de gösterilmiştir.

Mesane tümörü takip edilen hastaların ve kontrol grubunun sitolojik sonuçları ve DNA histogramları ayrı ayrı değerlendirilip sonuçları karşılaştırıldı.

BULGULAR

Çalışma grubumuzdaki hastaların sitolojik sonuçları Tablo II.'de gösterilmiştir.

Tablo 2 : Çalışma grubumuzdaki hastaların sitolojik sonuçları

Sonuç	Benign hast	Aktif mesane tümörü	Takip edilen mesane tümörleri	Toplam
Negatif	23	2	22	47
Atipik	2	5	7	14
Pozitif	-	22	9	31
Toplam	25	29	38	92

Tablo 3 : Sitoloji neticesine göre atipik sonuçlar negatif gruba dahil edildiğindeki gruplandırma

Sonuç	Tümörü olmayan hasta	Tümörlü hasta	Toplam
Negatif	52	9	61
Pozitif	4	27	31
Toplam	56	36	92

Sitolojik inceleme sonucunda takip edilen eski mesane tümörlü hastalardan 9 tanesinde pozitif ve 7 tanesinde atipik sonuç alınınca bu hastalara flow sitometri ile birlikte radyolojik tetkik ve sistoskopi yapıldı ve şüpheli olanlardan biopsi alındı. Sonuçta takip edilen mesane tümörlü hastalarda sitolojinin pozitif olarak değerlendirdiği 9 hastanın 5 tanesinde ve atipik olarak değerlendirdiği 7 hastanın 2 tanesinde tümör tespit edildi. Eski 22 mesane tümörlü hastanın yapılan tetkiklerinde ise tümör saptanmadı.

Sitoloji neticesinde, tümörü olan ve olmayan hastalar tekrar ayrı ayrı gruplandı ve atipik sonuçlarda negatif gruba dahil edilerek Tablo III.'de gösterildi.

*Anaploidi: Diploid hücrelerden daha çok DNA içeren hücre topluluklarının histogramlarda normalden yüksek oranda bulunması olarak kabul edilmiştir.

**Fazla miktarda hücre kaybı olan dokularda, diğer sağlam hücrelerin bölünme yoluyla çoğalıp bu kaybı telafi etme esnasında, bu dokudan alınan hücre histogramlarında, farklı miktarlarda ve yüksek DNA içerikli ve hemen hemen hepsi birbirine yakın oranlarda olan ve oran olarak da Diploid topluluktan çok daha az ve normalden biraz yüksek oranda hücre toplulukları görülecektir.

Böylece sadece sitoloji sonuçları göze önüne alındığında Spesifite %92.8 ve Sensitivite de %75 olarak hesaplanmıştır.

Bu hastaların tümünün DNA analizleri sonucunda ise tümör saptanmayan hastaların 55 tanesinde negatif sonuç alınınca spesifite %98.2'ye ve tümörlü hastaların da 5 tanesinde DNA analizi pozitif çıkınca sensitivite de %88.8'e yükseldi.

TARTIŞMA

Mesane tümörlü hastaların takibinde güvenilir ve kolay uygulanabilecek tetkiklere ihtiyaç vardır. Noninvaziv, güvenli, ekonomik ve duyarlı bir tetkik bizim için en iyi olanıdır. Hastanın yaptığı idrarın araştırılması aslında en kolay yöntem olarak gözükmektedir. (12)

Mesane tümörlerinin tedavisi, tümörün doğasına, hastanın durumuna göre değişmektedir. Yüzeysel mukozal lezyonlar çok başarı ile tedavi edilmekte ve hastanın yaşam kalitesi etkilenmemektedir. (13) Fakat en kolay tedavi edilebilen lezyonların bile tekrar ortaya çıkma olasılığı vardır. Yüksek dereceli tümörler de invaziv tümörlere dönüşebilir. Bunun için yeni ortaya çıkan ve nüks yapan tümörlerin en kısa zamanda saptanması ve tedavisi gerekmektedir.

Erken tanı hastaların riskini hızla azaltacaktır. Yüzeysel mesane tümörü nedeniyle izlenen hastalar kısa süre aralıkları ile nüks açısından izlenirler. Tümör açısından devamlı negatif bulunmaların bile senelerce izlenmesinin yararlılığı düşünülmüştür. Aslında hiç mesane tümörü tanısı olmayan, fakat risk taşıyan hastaların bile aralıklı kontrollerinin yararlı olacağı sanılmaktadır. (13)

İdrarın sitolojik tetkiki en basit ve en az invaziv olan yöntemdir. Fakat bu yöntem subjektiftir ve patoloğun tecrübesine dayanmaktadır. (14) İdrar örnekleri çok az hücre içerdiği için bunların hazırlanması da önemli olacaktır. Sitolojik tetkik çoğunlukla Grade I ve Grade II tümörleri tespit edemeyebilir. Bu alanda sensitivitesi düşüktür. (15) Bu çalışmada sitolojinin negatif olarak değerlendirdiği 9 tümörlü hastanın 8 tanesinin patolojisi Grade I-II değişici epitel hücreli karsinomdu. Flow sitometri ise tüm mesane tümörlerinin ancak %80'ini tespit edebilir. (12)

Bundan dolayı DNA analizleri sitolojiye yardımcı olarak kullanılmıştır. Sitoloji ile birlikte flow sitometri DNA incelemelerinin yapılması sonucunda sensitivite %95'e çıkmıştır. (11) Bizim çalışmamızda sensitivite %88.8 olarak bulunmuştur. Karsinoma insitu'nun tanısında sitoloji kadar histogramlarda anaploidi tespiti de önemlidir. (16) Flow sitometri sonuçları genelde sitoloji ile çok yakın bulunmuştur ve ikisinin beraber kullanımında hassaslığın artacağı düşünülmüştür. (11, 17, 18) Eğer mesane tümörü tanısı konulmamış bir hastada anaploidi ile birlikte şüpheli bir sitoloji varsa karsinoma insitu açısından araştırılması gereklidir. (19,20) DNA analizleri aynı zamanda prognoz açısından da önemlidir. (9, 19) İntravezikal tedavi kullanan hastalarda takip amacı ile başarı ile kullanılmıştır. (17, 21) Flow sitometrinin hastalardaki nüksleri ortaya koyma açısından oldukça önemli olduğu düşünülmüştür. (7,22) Sitoloji ve DNA flow sitometrinin kombine edilmesi de daha invaziv yöntemlerin kullanılmasını azaltacaktır. (13)

Bu çalışmada bu iki tetkikin kombine olarak başarı ile kullanılabileceği gösterilmek istendi. Flow sitometrinin sitolojinin duyarlılığını arttırmada ve rakamsal objektif veriler ortaya koymadaki başarısını izledik. Flow sitometride de, gerek materyalin alınma tekniği sonucunda, hastada mevcut inflamatuvar hücreler varsa ve gerekse incelenilen hücrelerin üst üste gelmesi ile spesifite ve sensitivitede azalmalar görülebilir. Flow sitometri ile yapılan çalışmalarda kronik

sistit veya üriner taşı olan olgularda %12 ile %38 arası yanlış pozitif sonuçlar elde edilmiştir. (23)

Sonuçta her iki incelemenin de bazı dezavantajları nedeniyle tek başlarına çok başarılı olmadıkları halde, beraberce kullanıldıklarında birbirlerini tamamladıklarını ve hekimleri yönlendirmede avantaj sağladıklarını düşündük. Çalışmamızda her ikisinin birlikte kullanımında spesifite ve sensitivitede artış olması bu düşüncelerimizi kuvvetlendirmektedir.

SONUÇ

Bu çalışmada amaç sitolojik tetkike yardımcı olarak flow sitometri kullanımının yararlılığını göstermek idi. Sonuçta her iki tetkikin de bazı dezavantajları olduğunu ve tek tek kullanımda yararlılıklarının mükemmel olmadığı gözlemlendi. Sitolojik tetkik uzun zamandan beri hekimlere yardımcı olabilen bir yöntemdi. Bu yöntemin düşük dereceli tümörlerdeki başarısızlığının flow sitometri ile azaltılabileceği gösterilmek istendi. Çalışmanın sonucunda her iki tetkikin beraberce kullanımında spesifite ve sensitivitede önemli artışlar gözlemleyince mesane tümörü nedeniyle takip edilen hastalarda güvenle kullanılabileceği düşünüldü. Her iki tetkikin basit, noninvaziv ve her hastaya yapılabilecek olması hekim ve hasta için ayrı bir avantaj sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Levi PE, Cooper FH Phil D, Anderson CK, Path MC, Williams RE. Analyses of DNA content, nuclear size and cell proliferation of transitional cell carcinoma in man *Cancer* 23: 1074, 1969
2. Fossa SD, Kaalhus O, Scott-Knudsen O. The clinical and histopathological significance of Feulgen DNA values in transitional cell carcinoma of human urinary bladder. *Eur. J Cancer* 13:1155, 1977
3. Hofstadter F., Jakse G, Lederer B. Mikuz G. Cytophotometric investigations of DNA content in transitional cell tumors of the bladder: Comparison of results with clinical follow up *Pathol Res Pract* 167, 254, 1980
4. Hofstadter F, Jakse G, Lederer B. Mikuz G, Delgado R, Biological behavior of DNA cytophotometry of urethelial bladder carcinoma *Br.J.Urol.* 56 289, 1984
5. Auffermann W, Urquarat M, Rübgen H, Wohlrmann D, Böcking A. DNA grading of urethelial carcinoma of the bladder. *Anticancer Res.* 1 6 27, 1986

6. Stöckle M, Tanke HJ, Mesker WE, Ploem JS, Jonas U, Hohenfelner R, Automated DNA image cytometry: A prognostic tool in infiltrating bladder carcinoma. *World J.Urol.* 5:127, 1987
7. Tribukait, B., Gustafson, H. and Esposti, P.L.: Ploidy and proliferation in human bladder tumors as measured by flow-cytofluorometric DNA analysis and its relations to histopathology and cytology *Cancer*, 43: 1742, 1979
8. Tribukait, B., Gustafson, H. and Esposti, P.L.: The significance of ploidy and proliferation in the clinical and biological evaluation of bladder tumours: A study of 100 untreated cases. *Brit. J.Urol.*, 564. 130, 1982
9. de Vere White, R.W., Deitch, A.D., West, B. and Fitzpatrick, J.M.: The predictive value of flow cytometric information in the clinical management of stage 0 (Ta) bladder cancer. *J.Urol.*, 139:279, 1988
10. Chin, J.L., Huben, R.P., Nava, E., Rustum, Y.M., Greco, J.M., Pontes, J.E. and Frankfurt, O. S.: Flow cytometric analysis of DNA content in human bladder tumors and irrigation fluids. *Cancer*, 56:1677, 1985
11. Murphy, W.M., Emerson, L.D., Chandler, R.W., Moinuddin, S.N. and Soloway, M.S.: Flow cytometry versus urinary cytology in the evaluation of patients with bladder cancer. *J.Urol.*, 136: 815, 1986.
12. Emil A. Tonogha, Jack W. HcAninch. *Smith's Generd Urology* 1991-345
13. Amberson JP., Lamo JP.: Image Cytometric deoxyribonucleic acid analysis of urine spercimens as an adjunct to visual cyology in the detection of urothelial cell carcinoma: *J.Urol*, 149, 42, 1993
14. Weber, J.W., Bartels, P.H., Bartels, H.G. and Bibbo, M.: Discrimination of DNA ploidy patterns by order statistics. *Anal. Quant. Cytol. Histol.*, 9:60, 1984
15. Bales, C.E.: A semi-automated method for prepaation of urine sediment for cytologic evaluation. *Acta Cytol.*, 25:323, 1981.
16. Shermen, A.B., Koos, L.G. and Adams, S.E.: Interobserver and intraobserver differences in the diagnosis of urethelial cells. Comparison with classification by computer. *Anal. Quant. Cytol. Histol.*, 9:60, 1987.

17. Klein, F.A., Herr, H.W., Whitmoer, W.F., Jr., Sogani, P.C. and Melamed, M.R.: An evaluation of automated flow cytometry (FCM) in detection of carcinoma in situ of the urinary bladder. *Cancer*, 50:1003, 1982.
18. Farsund, T.Kearum, O.D., Hostmark, J. and Jordfald, G.: Local chemotherapeutic effects in bladder cancer demonstrated by selective sampling and flow cytometry. *J.Urol.*, 131:22, 1984
19. Badalament, R.A., Kimmel, M., Gay, H., Cibas, E.S., Whitmore, W.F., Jr., Herr, H.W., Fair, W.R. and Melamed, M.R.: The sensitivity of flow cytometry compared with conventional cytology in the detection of superficial bladder carcinoma. *Cancer*, 59: 2078, 1987.
20. Klein, F.A., Herry, H.W., Sogani, P.C., Whitmoer, W.F., Jr. and Melamed, M.R.: Detection and follow-up of carcinoma of the urinary bladder by flow cytometry. *Cancer*, 50:389, 1982.
21. de Were White, R.W., Olsson, C.A. and Deitch, A.D.: Flow cytometry: Role in monitoring transitional cell carcinoma of bladder *Urology*, 28:15, 1986.
22. Badalament, R.A., Gay, H., Whitmore, W.F., Jr., Herr, H.W., Fair, W.R., Oettgen, H.F. and Melamed, M.R.: Monitoring intravesical bacillus Calmette-Guerin treatment of superficial bladder carcinoma by serial flow cytometry. *Cancer*. 58:2751, 1981.
23. Klein AF, White FKH. Flow Deoxyribonucleic acid determinations and cytology of bladder washings. *Practical Experience. J.Urol* 1988; 139 275.