

MESANE TÜMÖRLERİNİN TANISINDA AKIM SİTOMETRİSİ VE ÜRİNER SİTOLOJİNİN ETKİNLİĞİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

THE DIAGNOSTIC EFFICIENCY OF FLOW CYTOMETRY AND URINARY CYTOLOGY IN BLADDER CANCER

GÜNEY S., KARAMAN M.İ., DALKILIÇ A., SELİM G., ÇAŞKURLU T., ERGENEKON E.
Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. Üroloji Kliniği, İSTANBUL

ÖZET

Mesane tümörü tanı ve takibinde en güvenilir yöntem olan sistoskopi ve biyopsiden daha az invazif olan idrar sitolojisi, mesane yıkama sıvısı sitolojisi ve akım sitometrisinin tanısal etkinliğini araştırdık. Çalışmaya Şubat 1996–Aralık 1998 tarihleri arasında kliniğimizde mesane değişici epitel karsinomu olduğu histopatolojik olarak ispatlanmış 34 hasta dahil edildi. Mesane yıkama sıvısı sitolojisi, idrar sitolojisi ve akım sitometrisinin sensitiviteeleri sırasıyla %60, %39 ve %58 olarak bulunmuştur. Yüzeyel tümörlerde akım sitometrisinin (%55'e %40), invaziv tümörlerde ise sitolojinin (%71'e %57) tanısal etkinliği üstün görülmektedir. Tüm olgular değerlendirildiğinde sadece sitoloji ile olguların %53'üne, sadece akım sitometrisi ile olguların %56'sına, iki yöntemin kombinasyonu ile de olguların %71'ine tanı konulmuştur. Kombine kullanım ile 14 invaziv tümörün 11'ine (%79) tanı konulmuştur. Mesane tümörü takibinde sitoloji ve akım sitometrisinin birlikte kullanılması tanısal değerliliğini arttırmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Mesane kanseri, sitoloji, akım sitometrisi, teşhis

ABSTRACT

We investigated the diagnostic efficiency of flow cytometry, urinary cytology and bladder wash cytology which are less invasive than cystoscopy and biopsy in the diagnosis and follow-up of bladder cancer. Between 1996-1998, 34 patients who presented with bladder tumor and proved to have transitional cell carcinoma histologically were included in our study. The mean age was 65 (43-85). Urinary cytology, bladder wash cytology and flow cytometry was performed for each patients and the results were analyzed. The sensitivity of voided cytology, bladder wash cytology and flow cytometry were 39%, 60% and 58% respectively. In superficial tumors, flow cytometry was found superior while cytology has more diagnostic efficacy in invasive bladder cancers. When all cases were evaluated, 53% were diagnosed by cytology only, 56% by flow cytometry only and 71% by combination of two methods.

We concluded that combined using of cytology and flow cytometry in bladder tumors enhances the diagnostic efficacy of two methods

Key Words: Bladder cancer, cytology, flow cytometry, diagnosis

GİRİŞ

Mesane tümörlerinde gerek tarama ve tanı amaçlı gerekse prognozu belirleyecek bir marker bulabilmek için pek çok çalışma yapılmaktadır. Ancak ne yazık ki günümüzde mesane tümörleri için ideal bir tümör belirleyicisi arayışları halen sürmektedir. Mesane tümörlerinin tespitinde altın standart olarak kabul edilen sistoskopiye daha az invaziv bir yöntem arayışı, 1945'te Papanicolaou ve Marshall'ın üriner sitoloji ile ilgili deneyimlerini yayınlamalarından sonra ve 1980'de Collste ve arkadaşlarının akım sitometrisi deneyimleri ile kısmen cevap bulmuştur. Çeşitli serilerde akım sitometrik DNA ploidi sonuçlarının mesane tümörlerinin değerlendirilmesinde sistoskopik ve sitolojik bulgularla iyi korele olduğu

gösterilmiştir¹⁻⁶. Bu çalışmadaki amacımız mesane tümörlü hastalarda mesane yıkantı suyunda akım sitometrisinin tanısal değerini tümörün grade, evre ve konvansiyonel sitoloji sonuçları ile karşılaştırmak ve yüzeyel mesane tümörlerinde rekürrens ve progresyon açısından prognostik değerini ortaya koymaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Kliniğimizde Şubat 1996-Aralık 1998 tarihleri arasında mesane tümörü tanısı ile değerlendirilen 29 erkek ve 5 kadın toplam 34 olgu çalışmaya alındı. Hastaların yaşları 43-85 arasında (ortalama yaş: 65) değişmekteydi. Prospektif olarak yapılan bu çalışmada polikliniğe başvuran hastalara sırası ile şu işlemler yapıldı: Sistoskopi-

den bir gün önce miksiyoner sitoloji için idrar örneği alındı. Sistoskopide tümör şüphesi olan hastalardan biyopsi alındı ya da transüretral tümör rezeksiyonu yapıldı ve bu hastalardan mesane yıkantı suyunun yarısı akım sitometrisi analizi için ayrıldı. Sitolojik inceleme için alınan idrar örneğinin günün ikinci idrarı olmasına ve 20cc'den az olmamasına dikkat edildi. Mesane yıkantı sıvıları ise sistoskopi esnasında 200cc. izotonik serum fizyolojinin boş mesaneye birkaç kez enjekte edilip geri çekilmesi ile elde edildi. Örnekler fikse edilmeden direkt sitopatoloji laboratuvarına gönderildi. Laboratuvarında örnekler bekletilmeden bir saat içerisinde işleme alındı. İdrar örneğinden alınan 10cc. idrar 5 dakika süre ile dakikada 1500 devirde santrifüje edildi. Üstte kalan idrar atılarak çöktürülen beşer damla örnekler alınarak Heraeus Function Line sitosantrifüj cihazında 5 dakika süre ile dakikada 800 devirde yeniden santrifüj yapıldı. Elde edilen idrar ve mesane yıkama sıvısından birer damla lam üzerine damlatılarak, lamlar hemen %96'lık alkol dolu şalelere daldırılıp 5 dakika fikse edildi. Fikse preparatlar Hematoksilen Eozin ile boyandı. Tüm preparatlar aynı iki patolog tarafından değerlendirildi. Yorumlama işlemi sırasında preparatlar tümör var, yok, şüpheli ve yetersiz materyal şeklinde tanımlandı. Akım sitometri çalışması için mesane yıkantı suları santrifüj edilerek Phosphat Buffer Saline(PBS) tamponu ile iki kez yıkanıp çöktürüldükten sonra Tripsin veya %0,6'lık Nonionic Detergent (Sigma I-3021) ile 37 derecede yarım saat bekletildi. BS ile yıkanarak 30 mikronluk naylon tüllerden geçirildi. Elde edilen materyal hipotonik Propidium İodit ile boyandı. 30 dakika içerisinde en az 20000 hücre sayılarak akım sitometrisi yapıldı. DNA içeriğinin analizi için Becton Dickinson markalı cihaz kullanıldı. 480 nm'lik laser eksitasyonu yapabilen cihaz üç renkli analiz filtresine sahipti. Cihazın kalibrasyonu DNA QC Briticles (BD) ile, değerlendirmeler ise Becton Dickinson Modfit LT software ile yapıldı. Akım sitometrisinin sonuçları diploid, anaploid ve yetersiz olarak sınıflandırıldı. Tümörün derecelendirilmesinde WHO üçlü gradeleme sistemi temel alındı. Patolojik değerlendirme AJCC (1988) sınıflamasına göre yapıldı. İstatistiksel değerlendirmeler için ki-kare testi kullanıldı.

BULGULAR

Sitoloji için alınan örneklerden 5 hastada idrar örneği, 3 hastada ise mesane yıkantı suyu örneği asellüler veya yetersiz bulundu. Akım sitometrisi için alınan örneklerden de birinde hücre sayısı yetersizdi. 34 değişici epitel hücreli karsinom olgusu arasında CİS ve anaplastik karsinom yoktu. Hastaların dağılımı evrelere ve grade'e göre tablo-1'de özetlenmiştir.

	G1		G2		G3		Hasta Sayısı	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Ta	5		-		-		5	15
T1	11		4		-		15	44
T2	-		2		3		5	15
T3	-		3		2		5	15
T4	-		1		3		4	11
hasta sayı.	16	47	10	29	8	24	34	100

Tablo 1.

Yetersiz materyaller hariç tutulursa ve sitolojik olarak şüpheli olgular negatif kabul edilirse, sitoloji açısından idrar ve mesane yıkama sıvısı sensitivitesi sırası ile %39 ve %60 bulundu. Şüpheli sonuçlar pozitif olarak değerlendirildiğinde idrar ve mesane yıkama sıvısı sitolojisinin sensitivitesi %46 ve %67'ye yükseldi. Akım sitometrisi yalnızca anaploidi anormal olarak kabul edildiğinde %58 sensitivite gösterdi. S fazı fraksiyonunun (SPF) %10'un üzerinde olması malignite kriteri olarak değerlendirildiğinde akım sitometrisinin sensitivitesi %67'ye yükselmektedir. Yetersiz materyaller hariç tutularak tümör grade'i ile idrar ve mesane yıkama sıvısı sitolojisinin sonuçları tablo 2'de karşılaştırılmıştır. Buna göre mesane yıkantı suyu pozitifliği idrar sitolojisine göre yüksek bulunmuştur.

	G1		G2		G3	
	N	%	N	%	N	%
İdrar Sitolojisi	3/12	25	4/9	44	4/7	57
MYS Sitolojisi	6/14	43	5/9	56	7/7	100

Tablo 2.

Yetersiz materyal olan 1 olgu hariç tutulduğunda 13 ileri evre tümörün 8'ine (%62), 20 yüzeysel mesane tümörünün ise 11'ine (%55) DNA ploidi ile tanı konulmuştur.

Sitoloji ileri evre tümörlerde akım sitometrisine üstün görülmektedir. 12 ileri evre mesane

tümörlü hastadan yalnızca birinde sitoloji negatif sonuç vermiş, birinde de şüpheli bulunmuştur. İnvazif yüksek gradeli tümörlerde akım sitometrisi sensitivitesi %62 iken sitoloji sensitivitesi %83 bulunmuştur. Yüzeyel ve düşük gradeli tümörlerde ise sitoloji pozitifliği (%44) akım sitometrisine göre (%55) düşüktür. ($p>0.05$).

Yüzeyel tümörlerde akım sitometrisi, invaziv tümörlerde ise sitoloji üstün gözükmektedir. Yüzeyel tümörü olan ve yeterli süre takibi yapılabilen 10 vakada rekürrens ve/veya progresyon görülmüştür. Bu 10 olgunun 8'inde başlangıç tanısı sırasında anaploidi tespit edilmiştir. Rekürrens görülen 8 olgunun 6'sında ise S fazı fraksiyonu %10'un üzerinde bulunmuştur.

Akım sitometrisi ile sitoloji kombine edildiğinde ise yüzeyel tümörlerin %65'ine, invaziv tümörlerin ise %79'una tanı konulabilmektedir.

TARTIŞMA

Sitolojik analiz mesane tümörlerinin tanı ve takibinde sistoskopiye yardımcı bir yöntemdir. Özellikle makroskopik hale gelmemiş malignitelerin tanısında çok değerlidir. Akım sitometrisi ise çok daha fazla sayıda hücre sayımına çok daha kısa sürede imkan veren objektif, kolay tekrarlanabilen, kantitatif multiparametrik bir sitoloji yöntemidir.

Literatürde sitolojinin sensitivitesi %37-87 olarak bildirilmektedir.^{3,8,9} Bu oran yüksek gradeli tümörlerde %85-100 arasında iken düşük gradeli tümörlerde %10-75 arasında kalmaktadır. Mesane yıkama sıvısı sitolojisinin miksiyoner idrar örneklerine göre daha yüksek sensitivitede olduğunu bildiren^{10,11} yayınlar yanında, aralarında anlamlı fark olmadığını, bu farkın ancak akım sitometrisi için geçerli olduğunu bildirenler de vardır.^{3,6,8} Çalışmamızdaki yetersiz materyaller ve şüpheli olgular hariç tutulursa sensitivite oranımız miksiyoner idrar için %39, mesane yıkama sıvısı için %60'tır. Sitolojinin yapan kişiye bağımlı olması serimizdeki oran farkını kısmen açıklayabilir. Olgu grubumuzda 6 vakada miksiyoner idrar 4 vakada ise mesane yıkantı sıvısı yetersiz materyal olarak bulundu. Alınan idrar örneğindeki hücre sayısını artırmaya yönelik olarak geliştirilebilecek yöntemler sitolojinin duyarlılığını artıracaktır. Günün ikinci idrar örneğinin alınması, sistoskopiye mesane boşaltılmadan ya-

kama sıvısının en az 4-5 kez irrige edilerek alınması, idrar örneğine zaman kaybetmeden bakılması, yada alkolle fiksasyon gibi faktörlere dikkat edilmesi yeterli materyal elde edilme şansını artıracaktır.

Çalışmamızda sitoloji pozitifliğinin grade ile iyi korele olduğu görülmektedir. Sensitivite grade 1, 2 ve 3 için sırası ile %43, %56 ve %100'dür. Sitoloji tümörün evresi ile de iyi koreledir. Sensitivite pTa tümörlerde %40 dan pT1 de %50 ye, pT2 de %80 'e ve pT3-pT4 tümörlerde %100'e çıkmaktadır. Sitolojinin invaziv tümörlerde sensitivitesi %83 iken yüzeysel tümörlerde ancak %44'dür.

Mesane tümörlerinde akım sitometrisinin tanısal değerinin saptanması amacı ile yapılan çalışmalar^{2,8,12} yanında akım sitometrisinin konvansiyonel patolojik yöntemlerle elde edilemeyen prognostik bilgiler verdiğini gösteren çalışmalar da vardır.^{3,13,14} Histolojik grade ve DNA anaploidisini karşılaştıran literatürdeki çalışmalarda DNA anaploidisinin ortalama sıklığı %29'dur.^{13,15,16,17} Grade I tümörlerin büyük çoğunluğu diploiddir ve yaklaşık bütün grade III tümörler anaploiddir. Grade II tümörlerde ise oran hemen hemen eşittir. Bazı yazarlar grade II tümörleri diploid ve anaploid olarak iki alt grupta incelemek gerektiğini ileri sürmektedir.¹⁸ Bu yazarlar davranışı farklı iki grup içeren grade II tümörlerde akım sitometrisi ile ayırımın prognostik değerlendirmede faydalı olduğunu bildirmektedir. Çalışmamızda DNA anaploidisinin ortalama sıklığı %58 olup grade I tümörlerde %50'den grade II de %60'a ve grade III tümörlerde %71'e yükselmektedir. Literatürde tümörün evresi ile DNA anaploidisi arasında yakın korelasyon bildirilmiştir. Tümörün evresi ilerledikçe anaploidi oranı %24'den %84'e yükselmektedir.^{19,20} Bizim serimizde muhtemelen olgu azlığından bu tür bir ilişki gösterilmemiştir.

Mesane tümörlerinde akım sitometrisi ve sitoloji ile ilgili çeşitli çalışmaları karşılaştırmak zordur. Çünkü alınan örnek sayısı, idrar veya yıkantı sıvısı kullanılması, şüpheli sonuçların pozitif kabul edilmemesi, akım sitometrisinde normalin sınırlarını araştırmaya göre değişmesi gibi bir çok değişkenlik mevcuttur. Murphy ve ark. mesane tümörü histopatolojik olarak ispatlanmış

68 hastada sitoloji ile pozitiflik oranını %75, akım sitometrisi, ile anaploidi oranını %78 bulmuşlardır. Her iki yöntemi kombine kullandıklarında doğru tanı oranının %95'e ulaştığını bildirmişlerdir. İnvaziv tümörlerde sitolojinin non-invasivlerde ise akım sitometrisinin daha üstün olduğunu ancak aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını bildirmektedirler⁸. Bizim çalışmalarımızda yalnız sitoloji ile %53, yalnız anaploidi ile ise %56 tanı konulmuştur. Sitoloji pozitifliği anaploidi ile kombine edildiğinde bu oran %71'e yükselmiştir. İki yöntemin tek tek birbirine üstünlüğü olmamakla birlikte kombine kullanımları doğru tanı oranını artırmaktadır. Olgu sayısının kısıtlılığı nedeni ile sonuç istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır ($p>0.05$). Kombine kullanım yöntemi ile 14 invaziv tümörün 11'ine (%79) tanı konulmuştur. Tanı konulamayan 3 olgunun birinde sitolojik olarak yetersiz materyal mevcut olup birinde sitoloji şüpheli sonuç vermişti, birinde S fazı fraksiyonu %16.5 idi. Tekrarlanan sitolojik muayeneler, şüpheli olguların da sitolojik olarak pozitif kabul edilmesi ve S fazı fraksiyonu yüksekliğinin malignite kriteri alınmasıyla invaziv mesane tümörlerinin hemen tümüne tanı konulabileceği görülmektedir. Murphy'nin bulgularına paralel olarak yüzeysel tümörlerde akım sitometrisi (%55) sitolojiden (%40), invaziv tümörlerde ise sitoloji (%71) akım sitometrisinden (%57) daha üstün görülmektedir. Giella yalancı pozitif akım sitometril hastalarda 1 yıllık takipte %30, 4 yıllık takipte %87 tümör rekürrensi gözlenmiştir¹⁴. Yalancı pozitif sitolojinin belirlendiği hastalarda 4 yıl içinde aynı oranda rekürrens ortaya çıkmıştır. Bu yüzden özellikle tümör sistokopide görünür olmadan önce bu testlerin rekürrensin belirlenmesinde kullanılabileceği görüşü ileri sürülmüştür. Fakat yine de anormal DNA ploidisinin kanserle eş anlamlı olmadığı da unutulmamalıdır. Olgularımızda rekürrens ve/veya progresyon gösteren 10 olgunun 8'inde başlangıç tanısı sırasında anaploidi tespit edilmiştir. Anaploidi olup rekürrens görünen 8 olgunun 6'sında S fazı fraksiyonu %10'un üzerindeydi.

Akım sitometrisinde normalin sınırları çalışmalara göre subjektif olarak belirlenmektedir. Bazı araştırmacılar anaploid hücre oranı sınırını bizim gibi %10 kabul ederken diğerleri %15 olarak almışlardır^{12,21}. Ayrıca hücre debrislerinin yük-

sek düzeyi S fraksiyonunun saptanmasında yalancı pozitifliğe yol açabilmektedir²². Bu nedenle SBF nin tanısal değeri şüphelidir ve malignite kriterleri arttıkça testin spesifitesi düşmektedir. Yukarıdaki dezavantajları yanında akım sitometrisinin pahalı olması ve özel eğitilmiş personel ihtiyacı nedeniyle mesane tümürlü olguların tanı ve takibinde sitolojinin yerini alıp rutin kullanımı mümkün olamamıştır.

Akım sitometrisinin prognostik açıdan incelendiğinde de rolü tartışmalıdır. Pek çok araştırmacı DNA ploidi ve patolojik parametreler ile mesane tümürlü hastaların sürvisi arasındaki ilişkiyi araştırmış^{13,22,23} ve grade, stage ve ploidinın ayrı ayrı düşünüldüğünde prognostik açıdan önemli olduğu bulunmuştur. Fakat burada sorulması gereken soru DNA içeriğinin, patolojik faktörlerle (stage, grade) karşılaştırıldığında ek bir prognostik bilgi verip vermediğidir.

Murphy ve ark.¹³ akım sitometrisinin grade'in verdiğinden fazla bilgi vermediğini bildirirken Tachibana ve ark.²⁴ ile Al-Abadi ve ark.²³ ise özellikle grade II tümörlerde ek prognostik bilgi sağladığını bildirmişlerdir.

Sonuç olarak sitoloji ve akım sitometrisi sistoskopinin yerini almaktan uzaktır ancak yardımcı bir yöntem olarak değerlendirilmelidir. Tarama amaçlı kullanımları son derece sınırlıdır. Tanısal amaçlı kullanıldığında sitoloji ve akım sitometrisi karsinoma insitu ve yüksek grade'li tümörlerde değerlidir. Birlikte kullanımları durumunda tanısal değerlilik daha da artar. Postoperatif sitoloji pozitifliği intravezikal tedavilerin endikasyonudur. Prognostik değerlendirmede akım sitometrisinin değerli bir yöntem olarak kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- 1- Collett LG, Devonec M, Darzynkiewicz Z, Traganus F, Sharpless TK, Witmore WF and Jrand Melamed MR: Bladder cancer diagnosis by flow cytometry. Correlation between cell samples from biopsy and bladder irrigation fluid. Cancer, 45: 2389, 1980.
- 2- Covan DF, Wu B, Young GP and Khanna OP: Correlation of histopathological, cytological and flow cytometric findings in neoplastic lesion of the bladder. J Urol , 138: 753, 1987.
- 3- Klein FA and White FKH: Flow cytometry deoxyribonucleic acid determinations and cytology

- of bladder washings: Practical experience . J Urol 139: 275, 1988.
- 4- **De Vere White RW, Deitch AD, West B and Fitzpatrick JM:** The predictive value of flow cytometric information in the clinical management of stage 0(Ta) bladder cancer. J Urol, 139: 279, 1988
 - 5- **Klein FA, Herr HW, Sogani PC, Withmore WF Jr and Melamed MR:** Detection and follow up of carcinoma of urinary bladder by cytometry. Cancer, 60: 1423, 1987.
 - 6- **Badelement RA, Hermansen DK, Kimmel M, Gays H, Herr HW, Fair WR, Witmore WF Jr and Melamed MR:** The sensitivity of bladder wash cytometry, bladder wash cytology and voided cytology in detection of bladder carcinoma. Cancer, 60: 1423, 1987.
 - 7- **Wolley RL, Schreiber K, Koss LG:** DNA distribution in human colonic carcinoma and its relationship to clinical behavior JNCL, 69: 15, 1987
 - 8- **Murphy WM, Emerson LD, Chandler RW, Mainuddin SM and Soloway MS:** Flow cytometry versus urinary cytology in the evaluation of patient with bladder cancer. J Urol, 136:815, 1986.
 - 9- **Rone VR:** Urogenital tract and prostate. Clinical cytopathology and aspiration biopsy (Ramzy I, ed). Norwalk, Appleton and Lange. 197-220, 1990.
 - 10- **Türkeri LN:** Mesane kanserlerinin biyolojisi ve tümör belirleyicileri, Mesane kanserleri, (Kitap), Akdaş A, Türkeri LN (ed.) 3-21, 1996
 - 11- **Haag D, Fetcher G, Carttler K:** Influence of systematic errors on the evaluation of the S phase potions from DNA distributions of solid tumors as shown 328 breast carcinomas Cytometry 8: 377, 1987.
 - 12- **Badelement RA, Kimmel M, Gay H. Et al:** The sensitivity of flow cytometry compared with conventional cytology in the detection of superficial bladder carcinoma, Cancer 59: 2078-2085, 1987.
 - 13- **Hiddemann W, Schuman J, Andereff L:** Convention on nomenclature for DNA cytometry Cancer Genet Cytogenet, 13: 181, 1984.
 - 14- **Giella JG, Ring K, Carl AO, Frieda S et al:** The predictive value of flow cytometry and urinary cytology in the follow up of patients with transitional cell carcinoma of the bladder, J Urol, 148: 293-296, 1992.
 - 15- **Gustafson H, Tribukait B:** Characterization of bladder carcinomas by flow DNA analysis. Eur Urol , 11: 410 - 417, 1985,
 - 16- **Chin JL, Hubben RD, Nava E, et al:** Flowcytometric analysis of DNA content in human bladder tumors and irrigations fluids. Cancer, 56: 1677-1681, 1988.
 - 17- **De Vita R, Forte D, Maggi F, et al:** Cellular DNA content and proliferative activity evaluated by flow cytometry versus histopathological and staging classifications in human bladder tumors. Eur Urol, 19: 65-73, 1991.
 - 18- **Tribukait B, Gustafson H, Estposti P:** Ploidy and proliferation in human bladder tumors as measured by flow-cytofluorometric DNA-analysis and its relations to histopatology and cytology. Cancer, 43: 1742-1751, 1979.
 - 19- **Hamano K, Kinjo M, Kumuzava J:** Flow cytometric deoxyribonucleic acid analysis of the human bladder cancers with reference to histopathological findings. Eur Urol, 22: 153-7, 1992.
 - 20- **Lippolen PK, Eskelinen MJ, Juahianinen K, et al:** Proliferation indices as independent prognostic factors in papillary Ta-T1 transitional cell bladder tumors . Br J Urol , 72: 451-7, 1993.
 - 21- **Melamed MR:** Flow cytometry of urinary bladder. Urol Clin North Am , 11: 599-608, 1984.
 - 22- **Bitard H, Lamy B, Billery C:** Clinical evaluation of cell deoxyribonucleic acid content measured by flow cytometry in bladder cancer. J Urol, 155(6): 1887-91, 1996.
 - 23- **Al-Abadi H, Nagel R:** Deoxyribonucleic acid content and survival rates of patients with transitional cell carcinoma of the bladder. J. Urol, 151: 37, 1994.
 - 24- **Tachibana M, Deguchi N, Jitsukawa S, et al:** Quantification of cell kinetic characteristics using flow cytometric measurements of deoxyribonucleic acid and bromodeoxyuridine for bladder cancer. J Urol, 145: 963, 1991.