

**T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MESANE ÜROTELYAL KARSİNOMALARINDA
MMP-2,MMP-9,CD147,TIMP-1 VE TIMP-2
EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ**

Dr. Sami TURAN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Pınar ATASOY

KIRIKKALE

2013

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Patoloji Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:04/03/2013

Prof.Dr. Pınar ATASOY
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji AD
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Önder BOZDOĞAN
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji AD
Üye

Yrd. Doç. Dr.Mahi BALCI
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji AD
Üye

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda olduğu kadar insani ilişkilerde de yetişme ve gelişme katkıda bulunan Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr.Pınar Atasoy'a,

Uzmanlık eğitimimiz süresince bilgi ve deneyimini bizimle paylaşan ve her konuda desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof.Dr.Önder Bozdoğan'a,

Meslek hayatına hazırlanmamızda emeğini ve sabrını esirgemeyerek özveri ile çalışan değerli hocamız Yrd.Doç.Dr. Mahi Balcı ve Yrd.Doç.Dr.Ebru Şebnem Küpana Ayya'ya teşekkürlerimi sunarım.

Arkadaşlık, dayanışma ve paylaşmayı en güzel şekilde yaşadığımız asistan arkadaşlarım, Dr.Mustafa Emre Ercin, Dr.Fatma Tanrıkulu, Dr.Dilara YILDIZ ve Dr.Yeşim Yıldırım'a,

Uzmanlık eğitimimiz süresince verdikleri teknik destek ve uyumlu çalışma ortamına katkıları nedeniyle Uğur Esen'e, Selahattin Gönaylı'ya, Özlem Çakıroğlu'na,Muharrem Atlı'ya ve Yasin Dilbaz'a teşekkür ederim. Ayrıca tez çalışmam sırasında immünohistokimya konusundaki yardımlarından dolayı Nisa Tandoğan'a teşekkür ederim.

Her zaman hoşgörü, sabır ve desteği ile yanımda olan eşim, kızım,oğlum ve aileme çok teşekkür ederim.

Dr. Sami TURAN

ÖZET

Turan S., Mesane Ürotelyal Karsinomalarında MMP-2,MMP-9,CD147,TIMP-1 ve TIMP-2 Ekspresyonlarının İncelenmesi, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi,Patoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, KIRIKKALE,2013.

Amaç: Bir çok çalışmada MMP'lar ve TIMP'leri arasındaki dengenin tümör progresyonunu belirlediği görülmüştür. Önceki çalışmalarda larinks, özefagus, meme karsinomlarında ve deride melanomlarda MMP-2, MMP-9, CD147 protein ekspresyonu ile tumor progresyonu arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bu çalışmada mesanenin invaziv ve non-invaziv ürotelyal karsinomalarında, MMP-2, MMP-9, TIMP-1-TIMP-2 ve CD147 ekspresyonlarının incelemesi ve histopatolojik prognostik faktörler ile ilişkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 18 adet invaziv yüksek grade'li, 18 adet non-invaziv düşük grade'li, 8 adet invaziv düşük grade'li ve 6 adet non-invaziv yüksek grade'li ürotelyal karsinoma vakasında membranöz ve sitoplazmik MMP-2, MMP-9,TIMP-1-TIMP-2 ve CD147 ekspresyonları immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: İnvaziv tümör grubunun non-invaziv gruba göre MMP-2 ekspresyonlarının daha fazla olduğu saptanmıştır ($p=0,003$).Yüksek ve düşük gradeli gruplar arasında MMP-2 ekspresyonları açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,078$).

Gerek invaziv ve non-invaziv gruplar arasında ($p=0,130$) gerekse yüksek ve düşük gradeli gruplar arasında ($p=0,977$) MMP-9 ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

İnvaziv ve noninvaziv gruplar TIMP-1 ekspresyonları açısından değerlendirildiğinde fark non-invaziv grup değerlerinin daha fazla olduğu saptanmıştır ($p=0,004$). Yüksek ve düşük gradeli gruplar arasında TIMP-1 ekspresyonları açısından anlamlı fark tespit edilmemiştir ($p=0,075$).

İnvaziv ve non-invaziv tumor grupları ($p=0,077$) ile yüksek ve düşük riskli gruplar arasında TIMP-2 ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,930$).

İnvaziv grup tümörlerin CD147 ekspresyonları non-invaziv gruptakilere göre anlamlı düzeyde yüksektir ($p=0,001$). Benzer şekilde yüksek gradeli tümörlerin CD147 ekspresyonları düşük grade'li tümörlerden daha fazla bulunmuştur ($p=0,022$).

Sonuç: MMP-2 ve CD147'nin artmış ekspresyonları ürotelyal karsinomalarda önemli prognostik parametreler olan invazyon ve yüksek grade ile korelasyon göstermektedir. Bu özellikleri nedeniyle özellikle MMP inhibitörlerinin hedefe yönelik tedavide değerli olabileceği düşünülmüştür. Matriks metalloproteinazların prognostik değeriyle ilgili daha geniş hasta grubundan oluşan serilerde araştırmalara gereksinim vardır.

ABSTRACT

Turan S., Investigation of MMP-2, MMP-9, CD147, TIMP-1, TIMP-2 expressions in urothelial carcinomas of bladder, Kırıkkale University, Pathology Department, Theses for specialist degree, KIRIKKALE, 2013

Objective: The role of the balance between matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases in determination of tumor was investigated in several studies. Association between MMP-2, MMP-9, CD147 protein expressions and tumor progression were well defined in larynx, esophagus, breast carcinomas and malignant melanomas. In our study we aimed to investigate MMP-2, MMP-9, CD147, TIMP-1, TIMP-2 expressions in invasive and non-invasive urothelial carcinomas of the bladder and evaluate their relationship with histopathologic prognostic factors.

Material and Methods: In our study membranous and cytoplasmic expressions of MMP-2, MMP-9, CD147, TIMP-1 and TIMP-2 was evaluated by immunohistochemically in 18 invasive high grade, 18 non-invasive low grade, 8 invasive low grade and 6 non-invasive high grade urothelial carcinoma cases.

Results: We observed that the expression of MMP-2 in invasive tumor groups was higher than non-invasive tumor groups ($p=0,003$). Statistically there was no significant difference between high grade and low-grade groups for MMP-2 expressions ($p=0,078$).

There was no significant difference between high grade and low-grade groups ($p=0,130$) and also between invasive and non-invasive groups ($p=0,977$) for MMP-9 expressions.

We found that the expression of TIMP-1 in non-invasive tumor groups was higher than invasive tumor groups ($p=0,004$). Statistically there was no significant difference between high grade and low-grade groups ($p=0,0075$) in terms of TIMP-1 expressions.

There was no significant difference between neither high grade and low-grade groups ($p=0,930$) nor between invasive and non-invasive groups ($p=0,077$) for TIMP-2 expressions.

CD147 was higher in invasive tumors than the non-invasive ones ($p=0,001$). Also the expression of CD147 in high-grade tumor groups was higher than low-grade tumor groups ($p=0,022$).

Conclusion:

Increased expression of MMP-2 and CD147 in urothelial carcinomas of bladder is correlated with invasion and high grade which are both significant prognostic factors. Due to their properties MMP inhibitors will be valuable in targeted therapy. But still future studies with larger patient groups should be done to determinate the prognostic value of matrix metalloproteinases.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
RESİMLER	xii
TABLolar	xiii
ŞEKİLLER	xiv
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1.Mesane Anatomisi ve Histolojisi	3
2.2.Mesane Ürotelyal Karsinomu	4
2.2.1.Epidemiyoloji	4
2.2.2.Etyolojik Faktörler	5
2.2.3.Klinik Bulgular	7
2.2.4.Karsinogenez ve Ürotelyal Karsinomlarda Moleküler Değişiklikler	8
2.2.4.1.Karsinogenez	8
2.2.4.2.Ürotelyal Karsinomda Karsinogenez	8
2.2.4.3.Ürotelyal Karsinomda Moleküler Değişiklikler	9
2.2.5.Lokalizasyon	12
2.2.6.Makroskopik Özellikler	13
2.2.7.Histopatolojik Özellikler	13
2.2.8.Mesane Karsinomlarında Diğer Histopatolojik Tipler	19
2.2.9.Tedavi	22
2.2.10.Prognostik Faktörler	23
2.3.Ekstrasellüler Matris ve Matris Metalloproteinazlar	27
2.3.1.MMP'lerin Yapısı	28
2.3.2.MMP'lerin Sınıflandırılması	30
2.3.2.1.Jelatinazlar(MMP-2,MMP-9)	31
2.3.3.MMP Aktivitesinin Düzenlenmesi	33
2.3.3.1.CD147(EMMPRIN)	34
2.3.4.Matris Metalloproteinazların Spesifik Doku İnhibitörleri	34

2.3.5.Kanser ve Matriks Metalloproteinazlar	36
GEREÇ ve YÖNTEM	37
3.1.Olgu Seçimi	37
3.2.İmmunohistokimya	37
3.2.1.MMP-2, MMP-9 , TIMP-1, TIMP-2 ve CD 147 saptanması:	37
3.2.2. MMP-2, MMP-9 , TIMP-1, TIMP-2 ve CD 147 immünreaktivitesinin	38
değerlendirilmesi	
3.3.İstatiksel İncelme	45
3.4.Etik kurul kararı	45
BULGULAR	46
TARTIŞMA	53
SONUÇ	61
KAYNAKLAR	63

SİMGELER VE KISALTMALAR

ESM	:Ekstrasellüler matriks
MMP	:Matriks Metalloproteinazlar
EMMPRIN	:Ekstrasellüler matriks metalloproteinaz indükleyici
TIMP	:Matriks Metalloproteinaz Doku İnhibitörü
BCG	:Bacillus-Calmette-Guerin
TNM	:Tümör,Nod,Metastaz
IL-8	:İnterlökin-8
H-E	:Hematoksilen-Eozin
DNA	:Deoksiribonükleik asit
DAB	:Diaminobenzidin
ELISA	:Enzyme-linked immunosorbent assay
AJCC	:American Joint Comitte of Cancer
UICC	:International Union Against Cancer
WHO/ISUP	:Dünya Sağlık Örgütü/Uluslararası Ürolojik Patoloji Derneği
PBS	:Fosfat tampon solüsyonu
VEGF	:Vascular endothelial growth factor
EGFR	:Epidermal growth factor receptor
FGFR	:Fibroblast growth factor receptor
TSP-1	:Trombospondin-1
PTEN	:Phosphatase ve tensin homolog
Rb	:Retinoblastom proteini
CDK	:Siklin bağımlı kinazlar
GSTM1	:Glutatyon S-Transferaz
MDM2	:Murine double minute -2
CGH	:Comparative genomik hybridizasyon

RESİMLER

Resim no:	Sayfa no:
Resim 3.1:MMP-2 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde güçlü sitoplazmik boyanma (x200)	40
Resim 3.2:MMP-2 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde zayıf sitoplazmik boyanma (x200)	40
Resim 3.3: MMP-9 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde orta şiddette sitoplazmik boyanma (x100)	41
Resim 3.4: MMP-9 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde güçlü sitoplazmik boyanma (x200)	41
Resim 3.5: . TIMP-1 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde güçlü sitoplazmik boyanma (x200)	42
Resim 3.6: TIMP-1 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde zayıf sitoplazmik boyanma (x100)	42
Resim 3.7: TIMP-2 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde orta şiddette sitoplazmik boyanma (x200)	43
Resim 3.8: TIMP-2 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde zayıf sitoplazmik boyanma (x100)	43
Resim 3.9: CD147 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde güçlü sitoplazmik boyanma (x100)	44
Resim 3.10: CD147 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde zayıf sitoplazmik boyanma (x100)	44

TABLULAR

Tablo No:	Sayfa No:
Tablo 2.1: Mesane Ürotelyal Karsinomalarda Dünya Sağlık Örgütü (WHO/ISUP) Sınıflandırması	14
Tablo 2.2: Mesane Ürotelyal Karsinomalarda TNM klasifikasyonu (WHO/2004)	18
Tablo 2.3: Mesane Ürotelyal Karsinomalarda klinik evreleme	18
Tablo 2.4: Mesane Karsinomalarında diğer histopatolojik tipler	19
Tablo 2.5: Matriks metalloproteinazların sınıflandırılması	30
Tablo 2.6: Jelatinazların salınımını etkileyen faktörler	32

ŞEKİLLER

Şekil no:	Sayfa no:
Şekil 2.1: Ürotelyal karsinomalarda moleküler değişiklikler	10
Şekil 2.2: MMP enzimlerinin molekül yapısı	28
Şekil 2.3: MMP enzim aktivitesinin düzenlenmesi	33
Şekil 4.1: İnvaziv/non-invaziv ürotelyal karsinoma olgularında MMP-2 ekspresyonunun boxplot grafiği	48
Şekil 4.2: Yüksek/düşük grade'li ürotelyal karsinoma olgularında MMP-2 ekspresyonunun boxplot grafiği	48
Şekil 4.3: İnvaziv/non-invaziv ürotelyal karsinoma olgularında MMP-9 ekspresyonunun boxplot grafiği	49
Şekil 4.4: Yüksek/düşük grade'li ürotelyal karsinoma olgularında MMP-9 Ekspresyonunun boxplot grafiği	49
Şekil 4.5: İnvaziv/non-invaziv ürotelyal karsinoma olgularında TIMP-1 ekspresyonunun boxplot grafiği	50
Şekil 4.6: Yüksek/düşük grade'li ürotelyal karsinoma olgularında TIMP-1 ekspresyonununboxplot grafiği	50
Şekil 4.7: İnvaziv/non-invaziv ürotelyal karsinoma olgularında TIMP-2 ekspresyonunun boxplot grafiği	51
Şekil 4.8: Yüksek/düşük grade'li ürotelyal karsinoma olgularında TIMP-2 ekspresyonununboxplot grafiği	51
Şekil 4.9: İnvaziv/non-invaziv ürotelyal karsinoma olgularında CD147 ekspresyonunun boxplot grafiği	52
Şekil 4.10: Yüksek/düşük grade'li ürotelyal karsinoma olgularında CD147 ekspresyonununboxplot grafiği	52

GİRİŞ

Mesane tümörleri endüstrileşmiş ülkelerde çevresel faktörlere bağlı olarak giderek daha sık görülmektedir. Mesane kanseri dünyada sık görülen tümörler arasında yedinci sıradadır (4).

En sık 50-70 yaş arasında görülür. Erkeklerde kadınlardan üç- dört kat daha fazla bildirilse de (4) bu oran ülkemizde 6-7/1 olarak saptanmıştır (5).

Gelişmiş sanayi ülkelerinde mesane kanseri sıklığı, gelişmemiş ülkelere göre fazladır (7). Mesane kanserinin oluşumunda rol oynayan bir çok farklı karsinojen ve risk faktörü ileri sürülmektedir. Genetik yatkınlık, endüstriyel karsinojenler (β - naftilamin, benzidin, fenazetin) son zamanlarda en çok suçlanan ve riski 4 kat arttıran sigara içimi, kronik irritasyon ve sistit, idrar stazı, ve sitostatikler (siklofosfamid) en çok bilinenlerdir (4,8).

Mesane karsinomları üriner sistemin en sık izlenen tümörleridir: Mesanenin primer tümörlerinin %90'nını ürotelyal karsinomlar oluşturur. Bu kanserler biyolojik davranışı neredeyse benign sayılabilecek düşük gradeli papiller oluşumlardan, yüksek malignite gösteren anaplastik karsinoma kadar uzanan geniş bir spektrum oluştururlar(3).

Tanı esnasında % 70-80'i yüzeysel mesane kanserleridir. Bunların ilk klinik prezentasyonu papiller yapıdadır ve lamina propriaya sınırlı olan tümörlerdir. Yaklaşık %25-30 vakada tanı anında invazivdirler. Bunların en az yarısı da belirgin metastaz yapmıştır ve hastalık nedeni ile ölürlür. Yüzeysel kanserlerin %50-70'i yaklaşık 12 ay içerisinde nüks etmektedir (47).

Tümör hücrelerinin lokal invazyonu ve metastazları öncelikle bazal membran (BM) tabakasının yıkılmasını gerektirir. Bu amaçla kanser hücreleri proteolitik enzimler üretir. Matriks metalloproteinazlar (MMP), ekstrasellüler matriksi ve bazal membranı (BM) yıkabilen enzimlerdir. Organizmada doku inhibitör matriks metalloproteinazlar (TIMP-1,-2,-3,-4) tarafından inhibe edilerek dengede tutulurlar (88).

Nötral metal bağlayıcı proteazlar, kollejenazlar, metastaz oluşumundaki rolleri nedeniyle prognoz tayininde ve yeni tedavi hedeflerinin belirlenmesinde önemli role sahiptir. Matriks metalloproteinazlar (MMP) ekstrasellüler matrix komponentlerini ve bazal membranı parçalama yeteneğine katkıda bulunan proteinazlar ailesine aittirler (95).

Son yıllarda yapılan çalışmalar ile çeşitli solid tümörlerde tümör hücrelerinin invitro olarak MMP-2 ve MMP-9 ürettiği ve bu enzimlerin tümör invazyonu, kötü prognoz ve diferansiasyonla ilişkili olduğu gösterilmiştir (88).

Tümör hücrelerinin oluşturduğu ekstrasellüler matriks metalloproteinaz indükleyici (EMMPRIN;CD147) gibi faktörler peritümöral fibroblastlardan MMP üretimini uyarırlar(120).

Bir çok çalışmada MMP'lar ve TIMP'leri arasındaki dengenin tümör progresyonunu belirlediği görülmüştür. Daha önceki çalışmalarda larinks, özefagus,meme karsinomlarında ve deride melanomlarda MMP-2,MMP-9, CD147 protein ekspresyonu ile progresyonu arasındaki ilişki araştırılmıştır. Biz bu çalışmada mesanenin invaziv ve non-invaziv ürotelyal karsinomlarında, MMP-2,MMP-9,TIMP-1-TIMP-2 ve CD147 ekspresyonlarını incelemeyi ve histopatolojik prognostik faktörler ile ilişkisinin değerlendirmeyi amaçladık.

GENEL BİLGİLER

2.1. MESANENİN ANATOMİ VE HİSTOLOJİSİ

Dolu iken yuvarlak, boşken ters çevrilmiş dört kenarlı piramide benzer yapıya sahip olan mesane dört bölgeden oluşur: süperior yüz (kubbe olarak ta bilinen pelvik paryetal periton ile çevrili alan), arka yüz (taban olarak ta bilinen alan) ve inferolateral yüzler (1). Erkeklerde prostatın süperiorunda vesikula seminalislerin anterosüperiorunda, kadında uterus ve vajinanın önünde bulunur (2). Mesanenin taban kısmında bulunan trigon mesane boynu ile devamlılık göstererek üretraya açılır. Mesane boynu erkeklerde rektum, kadınlarda vajina üzerindedir (3).

Klinik olarak mesanenin posterior anatomik komşulukları çok önemlidir. Çünkü posterior duvardan kaynaklanan tümörler, invazyonla bitişik yumuşak dokuya ve komşu organlara yayılabilirler.

Arteria (a.) iliaca internadan dalları olan a. vezikalis inferior, a. vezikalis media ve a. vezikalis superior'la kanlanır. Superior dal mesane anterior ve superiorunu, inferior dal ise mesane tabanını besler. Obturator ve inferior gluteal arterlerin küçük dalları da mesaneye dal verir. Ayrıca erkeklerde seminal vezikül ve prostat arterleri, kadınlarda uterin ve vajinal arterler de mesaneye dal verirler. Mesanenin etrafında Santorini pleksusu adı verilen venöz bir ağ vardır. Bunlar hipogastik vene boşalırlar (2). Mesanenin lenfatik drenajı submukozal, intramusküler ve adventisyal olmak üzere üç ana pleksustan toplanarak, primer olarak eksternal ve internal iliak nodlarıdır; mesane boynu bölgesi sakral ve common iliak nodlarına da drene olabilir. Sempatik sinirlerini T11-L2 segmentlerinden; parasempatikleri ise S2-4 seviyesinden alır ve bunlar inferior hipogastrik pleksusa gelirler (2,3).

Mesane duvarı epitel (ürotelyum), lamina propria, muskularis propria ve adventisya olmak üzere dört tabakadan oluşmaktadır. Yerleşim yerine bağlı olarak bu tabakalar perivezikal yağ

dokusu ile çevrili olabilir. Döşeyici transizyonel epitelin kalınlığı mesanenin dolu veya boş olmasına bağlı olarak değişir. Ürotelyum; bazal, intermediate ve süperfisyal olmak üzere 3 tabakadan oluşur. Süperfisyal hücreler tek bir sıra halinde, büyük, geniş eozinofilik sitoplazmalı, eliptik hücrelerden oluşur ve “umbrella hücreleri” olarak adlandırılırlar.

Intermediate hücreler küboidal veya alçak kolumnar şekildedirler. Bazal tabaka devamlı bir bazal lamina üzerinde bir sıra küboidal hücrelerden oluşmaktadır (1). İnce bir bazal membran ürotelyumu altındaki lamina propriadan ayırır. Zengin vasküler ağa sahip lamina propria, lenfatik kanallar, sinir sonlanmaları ve elastik fiberler içeren bağ dokudan oluşur. Lamina propriada yağ dokusuna rastlanabilir. Muskularis propria mesane boynunda erkekte prostatın fibromuskuler dokusuyla; kadında ise üretra duvarının kas demetleri şeklinde devam eder. Muskularis propria en içte ve en dışta longitudinal, ortada da sirküler kas liflerinden oluşmaktadır. Kas tabakasının dışında adventisya tabakası yer alır. Yalnızca üst-arka yüzeyi pelvik peritonun serozası ile kaplı olan mesanenin diğer yüzeyleri komşu organlara bağ dokuları ile tutunmaktadır. Periton ile örtülü olan kısımlar ince barsak ve sigmoid kolonla komşuluk yapar. Üreterler mesaneye posterioinferiordan oblik olarak girerler(1,2).

2.2 MESANENİN ÜROTELYAL KARSİNOMU

2.2.1 EPİDEMİYOLOJİ:

% 3.2 görülme oranı ile mesane kanseri dünyadaki tümörler arasında yedinci sıradadır. En sık 50-70 yaş arasında görülür. Erkeklerde kadınlardan üç- dört kat daha fazla bildirilse de (4) bu oran ülkemizde 6-7/1 olarak saptanmıştır (5). İnsidansın gelişmiş ülkelerde, Asya ve Afrika gibi az gelişmiş ülkelere göre daha sık olduğu bildirilmektedir (6). Amerika Birleşik Devletleri'nde mesane tümörlerinin sıklığı geçmiş yıllarda sürekli artış göstererek yılda 67,000 yeni olguya ulaşmıştır. Tanı ve tedavideki gelişmelere karşın yıllık ölüm oranı 13,700 dolaylıdır (7).

2.2.2 ETYOLOJİK FAKTÖRLER:

Mesane kanserinin gelişiminde sosyal, çevresel, mesleki ve genetik faktörler ile beslenme alışkanlıkları gibi birçok risk faktörünün rolü vardır.

Çevresel faktörlerden en çok suçlanan sigaradır. Sigara tütününde yer alan benzoapiren, polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve aromatik aminlerin (2-naftilamin, 4-amino bifenil) ürotelyal karsinogenezde önemli rol oynadığı belirlenmiştir. Sigara içenlerde mesane kanseri gelişme riski, içmeyenlerle karşılaştırıldığında 3-4 kat daha fazladır (8) ve endüstrileşmiş ülkelerdeki mesane tümörü olgularının %25-60'ında sebep sigaradır (4). Risk, tüketilen sigara sayısı, içilen süre ve dumanın inhalasyon miktarıyla korelasyon göstermektedir. Mesane kanseri riski, sigarayı bıraktıktan 1-4 yıl sonra %30, 25 yıl sonra ise %60 oranında azalmaktadır (9). Halen sigara içen kişilerin sigarayı bıraktıkları takdirde mesane kanseri vakalarının erkeklerde %42'sinin, kadınlarda %13'unun önlenebileceği bildirilmektedir (10).

Mesane kanserlerinin %5-25'inin iş yerinde karsinojenlere maruziyet sonucu gelişmektedir (11). Özellikle kimya sanayi, petrol, baskı, demir ve alüminyum işlemeciliği, endüstriyel boyama işçileri, etyolojide önemli rol oynayan aromatik aminlere maruz kalan risk altındaki grubu oluşturmaktadır. Spesifik mesleki karsinojenler arasında benzidin, beta naftilamin ve 4-aminobifenil bulunmaktadır (12).

Bazı besin maddelerinin tüketimi ile mesane kanseri arasında ilişkiyi inceleyen bir çok çalışma gerçekleştirilmiştir. Yüksek sodyumlu ve özellikle yağ içeren yüksek kalorili gıdalar ile beslenen 65 yaşından genç kişilerde mesane tümörü gelişme riski artmaktadır. Yüksek kolesterol içeren diyetlerin artan mesane tümör riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (3,4). Kahve tüketimi ile mesane kanseri riski arasındaki ilişki de tam olarak açık değildir (13). Ayrıca, çay ve alkol tüketimi ile mesane kanseri riski arasında ilişki olmadığı bildirilmiştir (14).

Yüksek miktarlardaki sıvı alımının idrardaki metabolitleri sulandırdığı ve idrara çıkma sıklığını artırdığı için mesane epitelinin karsinojenlerle temasını önlediği ve böylelikle kansere karşı koruyucu olduğu bildirilmektedir (15). Mesane kanserinin etiolojisinde içme suyunun niteliği önemlidir. İçme suyunun dezenfeksiyon amacıyla klorlanması riski artırdığına ilişkin bulgular elde edilmiştir (16).

Bazı araştırmacılara göre mesane tümörleri ile üriner sistem infeksiyonları ve üriner sistem taşları arasında ilişki vardır. Tümör gelişiminin altındaki mekanizma epitelin kronik irritasyonuna bağlıdır. Şistosoma haematobiuma bağlı kronik sistit sonucunda genellikle skuamöz hücreli karsinom gelişir (3).

Bazı ilaçların kullanımının mesane kanseri riskini artırdığı saptanmıştır. Özellikle Fenasetin gibi anilin boyalarına kimyasal yapı açısından benzerlik gösteren analjezik preparatlarından on yıllık süre içinde 5-15 kg tüketilmesi mesanenin değişici hücreli karsinomu ile ilişkilendirilmiştir. Buna karşın fenasetinin en önemli metaboliti olan asetaminofen (parasetamol) kullanımının riski artırmadığı saptanmıştır (17). Siklofosfomid tedavisi almış hastalarda mesane kanseri riski yaklaşık 9 kat artmasına karşın, olgu kontrollü epidemiyolojik çalışmalarla bu ilişki gösterilememiştir (18).

Mesane kanserinin erkeklerde kadınlardan 3-4 kat fazla görülmesi, risk faktörlerine maruziyetteki farklılıkların yanı sıra, hormonal etkilere de bağlı olabilir. Çalışmalar, muhtemelen gebelikteki hormonal değişimlere bağlı olarak, doğum yapmış kadınların hiç yapmamışlara göre daha düşük riske sahip olduğunu ve riskin doğum sayısının artışıyla azaldığını göstermektedir (19).

Mesane kanserli hastaların birinci derece akrabalarında mesane kanseri gelişme riski, ailede bu hastalığa yakalanmış kişi bulunmayanlarla karşılaştırıldığında iki kat fazladır. İndeks olgu genç yaşta olduğu zaman riskin daha da arttığı bildirilmektedir (20).

Radyoterapinin mesane kanseri etiolojisinde rol oynadığı bildirilmektedir. Bir çalışmada radyoterapi uygulanan over kanserli hastaların, cerrahi yöntemlerle tedavi edilen hastalara oranla mesane kanseri riskinin daha yüksek olduğu saptanmış, radyoterapiye ek kemoterapi alanlarda riskin daha da arttığı belirtilmiştir (21).

Mesane kanserinin gelişmesine yol açan genetik olayların niteliği tam olarak aydınlatılmamakla birlikte çok sayıda onkogenlerin ve tümör süpresör genlerin çeşitli seviyelerdeki mutasyonlarının önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Ülkemizde yapılan çalışmada, GSTM1 null ve spesifik GSTP1 genotipinin mesane kanserinin gelişiminde rolü olduğu bildirilmiştir (22).

2.2.3 KLİNİK BULGULAR:

Mesane kanseri genellikle asemptomatiktir. Ekzofitik hatta duvar invazyonu yapmış ürotelyal karsinomlar bile çoğunlukla idrar bulgusu vermeyebilir. Klinik bulgu ve semptomlar tümörün lokalizasyonuna ve yaygınlığına bağlıdır. Hastaların çoğunda klinik bulgu mikroskopik hematüridir. En sık semptom ise hastaların %85'inde görülen makroskopik hematüridir (23). Hematüri kanser için spesifik değildir. İdrar mikroskopisinde en az iki kez tekrarlanan, bir büyük büyütme alanında 5 veya daha fazla kırmızı kan hücresi görülmesi durumunda kanserden şüphelenilmelidir.

Mesane irritabilitesi, sık idrara çıkma, “urgency” ve dizüri diğer sık görülen semptomlardır. Bunlar genellikle yaygın karsinoma in situ ya da invaziv mesane kanserini düşündürür. Bu semptomlar hemen hiçbir zaman mikroskopik hematüri olmadan görülmez (24).

2.2.4 KARSİNOGENEZ VE ÜROTELYAL KARSİNOMLARDA MOLEKÜLER DEĞİŞİKLİKLER

2.2.4.1 KARSİNOGENEZ

Kanserler normal hücre büyümesinin ve farklılaşmasının bozulmasına veya hücre ölümünün engellenmesine neden olan çevresel veya genetik kökenli bazı değişiklikler sonucu gelişirler. Karsinogenezin temelinde öldürücü olmayan genetik hasar yatar.

Genetik hasarın esas hedefi olan üç tür normal düzenleyici gen vardır (25).

- a) Büyümeyi uyaran proto-onkogenler
- b) Büyümeyi inhibe eden kanser baskılayıcı genler (tümör süpresor genler)
- c) Programlı hücre ölümü veya apoptozu düzenleyen genler

Üç gen türüne ek olarak hasara uğrayan DNA onarımını düzenleyen dördüncü gen türü de karsinogenezde önemli yer tutar (25).

Hanahan ve Weinberg kanser ile ilişkili genleri hücre fizyolojisindeki malign fenotipi belirleyen yedi temel değişiklik açısından ele almıştır. Bunlar;

- 1-Büyüme sinyallerinin kendi kendine yetmesi.
- 2-Büyümeyi inhibe eden sinyallere duyarsızlık
- 3-Apoptozdan kaçma
- 4-DNA onarımında defektler
- 5-Sınırsız çoğalma potansiyeli
- 6-Anjiogenezis
- 7-İnvazyon ve metastaz kabiliyeti (26).

2.2.4.2 ÜROTELYAL KARSİNOMADA KARSİNOGENEZ:

Ürotelyal tümörlerde moleküler ve genetik değişiklikler üç gruba ayrılır: (27)

- 1-Kromozomal değişiklikler (karsinogenezin başlamasından sorumludur)
- 2-Tümörün proliferasyonu; hücre siklusu düzeninin ve apoptozisin kaybı

3-Metastaz ; anjiogenezis ve hücre adezyon kaybı

2.2.4.3 ÜROTELYAL KARSİNOMADA MOLEKÜLER DEĞİŞİKLİKLER:

Mesane tümörlerinde “Comparative genomik hybridizasyon” (CGH) ile en az 7-10 arasında kromozomal anomali saptanmıştır. En sık kromozom bölgelerinde fonksiyon kayıp ve kazanç mutasyonları görülür. Mesane tümörlerinin karsinogenezinde en sık onkogenler (H-RAS c-erbB-2,EGF-R, FGF-R, MDM2), tümör süpresor genler (p53,Rb,p21,PTEN) kromozomal kayıplar (3q,4q,5q,8p,9p,9q,11p,13q,14q,17p,18q) sebep olarak saptanmıştır. 9q kromozom kayıpları tüm ürotelyal tümör morfolojilerinde en sık görülen kromozom harabiyetidir. Mesane kanserlerinin tüm derece ve evrelendirmelerinin %60’ından fazlasında kromozom 9 delesyonları görülmektedir. Yapılan moleküler ve sitogenetik çalışmalara göre kromozom 9 aberasyonları, hastalığın başlangıcında vardır ve hastalığın erken yaşta görülmesiyle ilişkilidir. Yalnız başına kromozom 9 delesyonları, nadiren hastalığın ilerlemesi, sıklıkla da tekrarlamasıyla ilişkilidir (28).

ONKOGENLER VE TÜMÖR SÜPRÖSER GENLER:

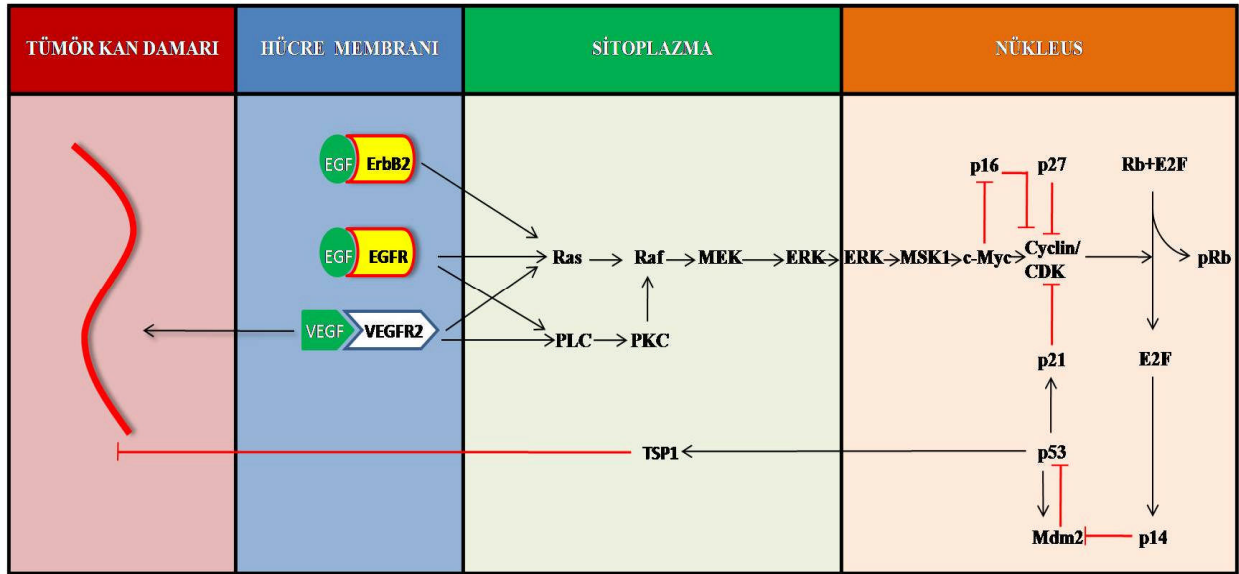
Tümör patogeneğinde yer alan veya bundan sorumlu olduğu düşünülen genler iki kategoriye ayrılmıştır : onkogenler ve tümör supresör genler. Proto-onkogenler (kısa adıyla onkogenler) hücrel proliferasyon ve diferansiasyonun düzenlenmesinde anahtar rol oynayan proteinleri kodlarlar. 100’ün üzerinde tanımlanmış olmakla beraber sürekli yenileri tanımlanmaktadır. Tümör supresör genler (anti-onkogenler – onkosupresör genler) kontrolsüz hücrel proliferasyon ve terminal diferansiasyonu önlemede yer alırlar. Tümör supresör genlerde fonksiyon kaybı tümör gelişimine sebep olabilir. En önemli tümör supresör genler retinoblastom (Rb) ve p53 genleridir (3).

ONKOGENLER:

Kanser hücrelerinde otonom hücre uyaran genler onkogen adını alır. İlk olarak hayvanlarda tümör oluşturan akut transforme edici retrovirüslerin genomunda bulunmuştur.

İnsanlarda da bu genlerin varlığı gösterilmiştir. Normalde hücre büyüme ve diferansiyasyonunu kontrol eden proto-onkogenlerde kromozomal fonksiyonel kazanç mutasyonları sonucunda meydana gelirler ve onkoprotein adı verilen proteinleri kodlarlar (25).

Şekil 2.1. Ürotelyal karsinomalarda moleküler değişiklikler



Bu şeklin hazırlanmasında (29) no'lu kaynaktan yararlanılmıştır.

Onkoproteinler normal proto-onkogenlere benzerler. Ancak farklı olarak önemli Düzenleyici elemanları yoktur ve transforme hücrelerde üretimleri büyüme faktörleri veya dış Uyarılara bağlı değildir.

Büyüme faktörleri, büyüme faktörü reseptörleri, sinyal üretimde görevli proteinler ve çekirdekteki nükleer düzenleyici proteinler; artmış ekspresyon, gen amplifikasyonu, nokta mutasyonları ve gen rearanjmanları yolu ile onkogenlere dönüşürler. RAS onkogen ailesi, EGF-R, c-erbB-2, MDM2 ve MYC önemli proto-onkogenlerden bazılarıdır (25).

TÜMÖR SÜPRESÖR GENLER:

Onkogenler hücre büyümesini uyararak proteinleri kodlarken, tümör baskılayıcı gen ürünleri hücre çoğalmasını frenler. Tümör süpresör genleri kodlayan kromozomlardaki fonksiyonel kayıp mutasyonları şeklindeki moleküler değişiklikler sonucunda tümör süpresör genler inaktive olur ve karsinogeneze yardımcı olur. Tümör süpresör genler, ilk kez herediter ve sporadik olarak görülen bir tümör olan retinoblastomda tespit edilmiştir. Retinoblastom inaktivasyonu sadece retinoblastomda değil meme, mesane, küçük hücreli akciğer karsinomları ve glioblastomlarda da görülür. Tümör süpresör genlerin en iyi bilinenleri retinoblastom (RB), p53, TGF(Transförmasyon edici büyüme faktörü), APC (Adenomatöz Polipozis Koli) genidir. P53, 17q23 kromozomunda lokalize 53kDA ağırlığında DNA onarımı, apoptoz, hücre büyümesinin kontrolü ve neovaskülarizasyonda rol oynar. İnsanlardaki tümörlerin yaklaşık % 50'sinde p53 mutasyonları vardır. P53 mutasyonları ürotelyal tümörlerde de tanımlanmış olup, prognostik faktör olarak değerlendirilmektedir (25).

SİKLİNLER:

Değişik hücre siklusu fazları ile hücrelerin düzenli olarak çoğalması siklinler olarak bilinen bir diğer protein ailesi ile bağlanarak aktive olan sikline bağımlı kinazlarla (CDK) düzenlenir. Hücre siklusu değerlendirildiğinde, G1'den S' e geçişin hücre siklusunda en önemli kontrol noktası olduğuna inanılır. Bir hücre büyümeyi uyararak bir sinyalle karşılaştığında, D siklin ailesi düzeyi artar ve CDK4 ve CDK6 aktive olur. CDK'ların etkisiyle olan pRb fosforilasyonu G1/S engelini aşar ve hücreyi DNA sentez fazına sokar. CDK aktivitesi iki CDK inhibitör (CDKI) ailesi tarafından düzenlenir. Biri CDK'ları inhibe eden p21(CDKN1A), p27 ve p57; diğeri siklinD/CDK4 ve siklinD/CDK6 üzerine selektif etkili p15, p16(CDKN2A), p18 ve p19'dur (25). Shariat ve ark. çalışmalarında p21'in erken

evre, p16'nın ileri evre mesane kanserlerinde klinik seyir ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (25).

ANJİOGENEZ VE HÜCRE ADHEZYON KAYBI:

Anjiogenik faktörlerin en önemlileri vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve temel fibroblast büyüme faktörüdür. Tümör hücreleri anjiogenik faktörlerin yanı sıra eş zamanlı olarak anjiogenezisi inhibe eden faktörler de üretir. Trombospondin-1 tümör hücreleri tarafından üretilen anti-anjiogenetik faktördür. Anjiogenezisi aktive eden moleküllerin temeli kesin bilinmese de anjiogenetik faktörlerin yapımında artış veya anjiogenez inhibitörlerinin kaybı olası mekanizmalardır. TP53 inaktivasyonu trombospondin-1 düzeyini düşürerek dengeyi anjiogenez yönünde değiştirir. Ayrıca RAS onkogeni aktivasyonu VEGF yapımını arttırarak anjiogeneze neden olur. Mesane tümörlerinde idrarda VEGF yüksek seviyededir ve Ta-T1 evre tümörlerde nüks ile orantılıdır. Maurizio Buscarini ve ark.'larının bir çalışmasında yüksek grade'li ve kas invazyonu gösteren tümörlerde idrada yüksek VEGF seviyesi bildirilmiştir (31).

ANJİOGENİK İNHİBİTÖRLER:

Trombospondin-1 (TSP-1) bir anjiogenik inhibitördür. Maurizio Buscarini ve ark.'ları düşük TSP-1 miktarlarının yüksek nüks oranı ve kısa sağ kalım süresi ile ilişkili olduğunu ve bu ilişkinin organda sınırlı tümörlerde daha fazla olduğu bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada TSP-1 ekspresyonunun nüks ve sağ kalımdan bağımsız prognostik faktör olduğu belirtilmiştir (31).

2.2.5 LOKALİZASYON:

Ürotelyal karsinomlar mesanede birçok yerden kaynaklanabilir. 1000 vakadan oluşan bir seride tümör lokalizasyonu % 37'si yan duvarlar, % 18'i arka duvar % 12'si trigon, % 11'i boyun bölgesi, % 10'u üreter orifisleri, % 8'i kubbe ve % 4'ü ön duvarda tanımlanmıştır (3).

2.2.6 MAKROSKOPİK ÖZELLİKLERİ:

İnfiltratif ürotelyal karsinomlar makroskopik olarak soliter yada multifokal olabilirler; papiller, nodüler, polipoid, endofitik ve ülseratif gelişim gösterirler. Tümör dışı mukoza genellikle normal veya eritematözdür (4).

2.2.7 HİSTOPATOLOJİK ÖZELLİKLERİ:

Ürotelyal tümörler için ilk olarak 1922’de Broder’in yaptığı yapısal özellikleri esas alan derecelendirme sistemi önerilmiştir. Günümüze kadar değişik histolojik derecelendirme sistemleri kullanılmakla birlikte, 1998 yılında o ana kadar kullanılan çeşitli sınıflama ve derecelendirme sistemlerinin yerini “World Health Organization “(WHO) ve “International Society of Urological Pathology” (ISUP) oluşturdukları yeni bir sınıflandırma ve derecelendirme sistemi almıştır. 1999, 2002 ve 2004 yılında yapılan küçük değişikliklerle halen kullanılan WHO -2004 sınıflandırma ve derecelendirme sistemi ortaya çıkmıştır. WHO/ISUP sınıflamasında ürotelyal neoplazmlar flat ve papiller lezyonlar olarak iki sınıfa ayrılmıştır. Papiller neoplazmlar ise histolojik derecesi ve invazyon özelliğine göre; papilloma; düşük malignite potansiyelli papiller neoplazm; low grade papiller karsinom ve high grade papiller karsinom olarak sınıflandırılmıştır. WHO-2004 sınıflamasına göre ise ürotelyal tümörler yapısal ve sitolojik özellikleri esas alınarak düşük histolojik derece ve yüksek histolojik derece (low/high grade) olarak gruplandırılmıştır (3,29). (Tablo 2.1)

Tablo 2.1: WHO(2004)/ISUP KONSENSUS SINIFLAMASI

NORMAL

HİPERPLAZİ

Flat (Düz) hiperplazi

Papiler hiperplazi

ATİPİLİ FLAT (DÜZ) LEZYONLAR

Reaktif (İnflamatuvar atipi)

Anlamı bilinmeyen atipi

Displazi (Düşük dereceli intraepitelyal neoplazi)

Karsinoma in situ (Yüksek dereceli intraepitelyel neoplazi)

PAPİLLER NEOPLAZMLAR

Papillom

İnverted papillom

Düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazi

Düşük dereceli papiller ürotelyal karsinom

Yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinom

İNVAZİV NEOPLAZİLER

Lamina propria invazyonu

Muskularis propria (detrüör kas) invazyonu

Bu tablonun hazırlanmasında (2) no'lu kaynaktan yararlanılmıştır.

HİPERPLAZİ:**FLAT (DÜZ) HİPERPLAZİ:**

Flat ürotelyal hiperplazi histolojik olarak sitolojik atipi içermeden ürotelyumun yedi hücre tabakasından daha fazla sayıda olmasıyla tanımlanmış mukozal kalınlaşmadır (33).

PAPİLLER HİPERPLAZİ:

Papiller hiperplazinin düşük dereceli papiller ürotelyal neoplazilerinin öncü lezyonu olduğuna inanılmaktadır. Ürotelyumda atipi olmaksızın papiller büyümeyle karakterli lezyonlardır (34).

ATİPİLİ FLAT (DÜZ) LEZYONLAR:**REAKTİF ATİPİ:**

Ürotelyumda kronik ya da akut inflamasyonda var olan nükleer anormalliklerdir. Hücreler belirgin tek bir nükleol ve düzenli dağılmış veziküler kromatin içerip üniform olarak genişlemişlerdir. Ancak bunlarda nükleer membran düzensizliği yoktur. Yüzey “umbrella” hücreleri ve polarite korunmuştur. Mitotik aktivite yoğun olabilir (2).

ANLAMI BİLİNMEYEN ATİPİ:

Displazinin ekarte edilemediği durumlarda, inflamasyonun şiddeti ile orantısız atipi derecesinin olduğu durumlar için kullanılan tanımlayıcı bir kategoridir. Bu hastalar yakın takibe alınmalı ve inflamasyon tedavisi sonrası tekrar biyopsilerle yeniden değerlendirilmelidirler (2).

DİSPLAZİ:

Displazi, karsinoma insitu (CIS) demek için yetersiz kalan fakat fark edilebilir düzeyde hücresel ve yapısal değişiklikler içeren preneoplastik bir ürotelyal lezyondur. Displazide genellikle hafif nükleer hiperkromazi, fokal nükleer yoğunlaşma ve hafif nükleer/nükleolar değişiklikler içeren koheziv hücreler görülür. Nükleus/sitoplazma oranı artar. Nükleer

membranda düzensizlik görülür ve nükleol küçüktür veya yoktur. Mitotik aktivite minimaldir

(2)

KARSİNOMA İN SİTU:

Karsinoma in situ, birçok vakada invaziv kanserin öncü flat lezyonudur. Epitel kalınlığının tamamını ya da bir kısmını tutan büyük, irregüler, hiperkromatik nükleuslu hücrelerle karakterizedir. Karakteristik bulgusu hücrelerde polarite ve kohezyon kaybının yol açtığı belirgin düzensizliktir. Tümör hücreleri genellikle orta-geniş sitoplazmalı, iri ve pleomorfik olma eğiliminde olsa da bazen nükleus sitoplazma oranı artmış küçük hücreler de olabilir. Mitozlar atipik olup genellikle ürotelyumun üst tabakalarında görülür. Ürotelyumda hücreler arası kohezyon kaybı sonucu dökülme görülebilir (35).

NON-İNVAZİV PAPİLLER ÜROTELYAL LEZYONLAR:

ÜROTELYAL PAPİLLOM

Fibrovasküler kor içeren ekzofitik papiller büyümelerdir. Olguların yarısı rekürrens gösterebilir (36).

İNVERTED PAPİLLOM

Ürotelyal traktın herhangi bir yerinde bulunabilen nadir lezyonlardır. Klinik ve patolojik olarak ürotelyal karsinom ile karışabilir (37). Epitel musküler tabaka içine girmez. Lamina propria içine doğru yuvalanmalar ve kordonlar yapacak şekilde invajinasyon yapar. Minimal sitolojik atipi görülebilir. Genellikle endofitik kitleler oluştururlar. Tedavisinde basit eksizyonları yeterlidir (2).

DÜŞÜK MALİGNİTE POTANSİYELLİ PAPİLLER ÜROTELYAL NEOPLAZİ

Ürotelyumun kalınlığı ile karakterize ekzofitik ürotelyal papilloma benzeyen papiller ürotelyal tümördür. Minimal sitolojik atipi görülebilir. Mitoz nadirdir ve genellikle bazal tabakada sınırlıdır. Polarite korunmuştur. Bu neoplazi tipik bazal palizadlanma gösterebilir

(38). Bu hastalar rekkürens açısından risk altındadır. Rekürrensleri genellikle ürotelyal karsinom olduğundan bu hastaların yakın takibi gerekmektedir (2).

DÜŞÜK DERECELİ İNVAZYON GÖSTERMEYEN PAPİLLER ÜROTELYAL KARSİNOM:

Düşük dereceli papiller ürotelyal karsinomalar genellikle kolay tannabilen, düzenli görünümde yapısal ve sitolojik farklılaşmalar gösterirler. Histolojinde polarite kaybı, nükleer boyut ve şekil farklılıkları ile kromatin patterninde düzensizlik saptanır. Bu atipik değişiklikler minimal düzeydedir. Mitoz nadirdir ve genellikle bazal tabakada sınırlıdır. Fokal yüksek dereceli alanlar varsa tümör yüksek dereceli olarak kabul edilir (2, 3, 35).

YÜKSEK DERECELİ İNVAZYON GÖSTERMEYEN PAPİLLER ÜROTELYAL KARSİNOM:

Papiller yapıları döşeyen ürotelyumun baskın olarak düzensiz paternde, orta ya da belirgin yapısal ve sitolojik atipi içeren tümörüdür. Kromatin kabalaşması ve nükleol belirginliği izlenir. Hücrel pleomorfizm orta derecede veya şiddetli olabilir. Her seviyede tipik ve atipik mitozlar görülebilir (2, 3).

İNVAZİV NEOPLAZİLER:

LAMİNA PROPRIA İNVAZYONU:

Lamina propriada belirgin ürotelyal topluluk ve küme oluşumu ya da tek hücre infiltrasyonu ile karakterizedir. Nükleoller oldukça değişken görünüm ve sayıdadır. Bazı hücreler tek veya çok sayıda küçük nükleol içerirken, diğerleri büyük ve tek eozinofilik nükleolus içerir. Mitotik figürler yaygındır ve anormal mitozlar görülebilir (2).

MUSKULARİS PROPRIA (DETRUSOR KAS) İNVAZYONU:

Muskularis propria invazyonu evreleme açısından önemlidir. Muskularis mukoza invazyonundan ayırım yapılmalıdır. Mesane kanserleri için evrelemede en önemli prognostik

faktör invazyon derinliğidir (2).

1963'te düzenlenen ve zamanla geliştirilen International Union Against Cancer (UICC) ve American Joint Committee of Cancer (AJCC)'nin TNM evreleme sistemi yaygın olarak kullanılmaktadır (Tablo 2.2).

Tablo2.2 Mesane ürotelyal karsinomlarında TNM klasifikasyonu(WHO/2004):

EVRELEME:

Tx Primer tümör değerlendirilemedi
 T0 Primer tümör kanıtı yok
 Tis Karsinoma insitu
 Ta Non-invaziv papiller karsinom
 T1 Subepitelyal bağ dokusu (L.Proprio)
 T2 Kas invazyonu
 T2a Süperfisyel kas invazyonu
 T2b Derin kas invazyonu
 T3 Perivezikal doku invazyonu
 T3a Mikroskopik
 T3b Makroskopik (ekstravezikal kitle)
 T4 Komşu organ invazyonu
 T4a Prostat, uterus ve/veya vajina invazyonu
 T4b Pelvik veya abdominal duvar invazyonu

Nx Bölgesel lenf nodu değerlendirilemedi
 N0 Bölgesel lenf nodu metastazı yok
 N1 Bölgesel tek bir lenf nodunda metastaz, büyük çapı 2 cm veya daha az
 N2 Büyük çapı 2-5 cm olan tek bir lenf nodu veya birden çok lenf nodu metastazı
 N3 Büyük çapı 5 cm'den fazla olan lenf nodu metastazı

Mx Uzak metastaz değerlendirilemedi
 M0 Uzak metastaz yok
 M1 Uzak metastaz var

Bu tablonun hazırlanmasında (4) no'lu kaynaktan yararlanılmıştır.

Tablo 2.3 Mesane Ürotelyal karsinomlarında klinik evreleme:

Stage 0a	Ta	N0	M0
Stage 0is	Tis	N0	M0
Stage I	T1	N0	M0
Stage II	T2a,b	N0	M0
Stage III	T3a,b	N0	M0
	T4a	N0	M0
Stage IV	T4b	N0	M0
	T	N1,N2,N3	M0
	T	N	M1

Bu tablonun hazırlanmasında (4) no'lu kaynaktan yararlanılmıştır.

2.2.8. MESANE KARSİNOMALARINDA DİĞER HİSTOPATOLOJİK TİPLER

Mesane tümörlerinin nadir görülen diğer tipleri tablo 2.4'de gösterilmiştir.

Tablo 2.4:DİĞER HİSTOPATOLOJİK TİPLER

SKUAMÖZ TÜMÖRLER

Skvamöz hücreli karsinom

Verrüköz karsinom

Skvamöz hücreli papillom

GLANDÜLER TÜMÖRLER

Adenokarsinom

Enterik

Musinöz

Taşlı yüzük hücreli

Berrak hücreli

Villöz adenom

NÖROENDOKRİN TÜMÖRLER

Küçük hücreli karsinom

Karsinoid

Paragangliyoma

MELANOSİTİK TÜMÖRLER

Malign Melanom

Nevüs

MEZENKİMAL TÜRÖRLER

Rabdomiyosarkom

Leiomyosarkom

Anjiosarkom

Osteosarkom

Malign fibröz histiyositom

Leiomyom

Hemanjiyom

Diğerleri

HEMATOPOİETİK VE LENFOİD TÜRÖRLER

Lenfoma

Plazmositom

DİĞER NADİR TÜRÖRLER

Skene, Cowper ve Littre bezinin karsinomu

Metastatik türörler ve diğer organlardan yayılım

Bu tablonun hazırlanmasında (30) no'lu kaynaktan yararlanılmıştır.

SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOMA:

Mesanenin skuamöz hücreli karsinomu tüm mesane kanserlerinin yaklaşık %5'ini oluşturmaktadır. Üriner şistozomiazisin endemik olduğu ülkelerde daha sık görüldüğü için prevalansı değişiklik göstermektedir (40). Bu tanı sadece yaygın keratinizasyon gösteren tümörler için kullanılmalıdır. Bunun dışında kalan olgular için “skuamöz diferansiyasyon gösteren ürotelyal karsinom” tanımlaması daha doğrudur. Bu tümörlerden bazıları kronik sistite bağlı skuamöz metaplazi zemininden gelişir (41). Skuamöz karsinom alanları ile birlikte olan mikst ürotelyal hücreli karsinomlar saf skuamöz hücreli karsinomalardan daha sık görülür (42).

VERRÜKOZ KARSİNOMA:

Etyolojide genellikle Şistosoma ve kondilomlar sorumlu tutulmaktadır. Klinik olarak sesiz seyreden skuamöz hücreli karsinomun nadir varyantıdır. Lokal invaziv tümörlerdir. Mikroskopik olarak papiller ve polipoid konfigürasyonu olan iyi differansiye skuamöz epitelden oluşmaktadır (2, 43).

ADENOKARSİNOMA:

Yaygın ekstraselüler musin varlığı içeren genellikle kolonik tip epitelden köken alan tümörlerdir (44). Prognozu klasik ürotelyal karsinomalardan farklı değildir. Klinik olarak genellikle ileri evrelerde tanı aldığı için seyri ağırdır. Villöz adenomlar eşlik edebilir. Ürotelyal karsinomalardan farklı genellikle tek kitle şeklinde görülürler (2,3).

KÜÇÜK HÜCRELİ KARSİNOMA:

Histolojik olarak akciğerin küçük hücreli karsinomuna benzer. Mesanede oldukça nadir görülür. Mikroskopik olarak, solid büyüme patterni gösteren, hiperkromatik küçük

nükleus ile dar sitoplazmalı hücrelerden oluşur. Roset formasyonu görülebilir. Tanı anında özellikle lenf nodu başta olmak üzere metastaz görülebilir. Prognozu genellikle kötüdür (45).

RABDOMYOSARKOM:

Pediyatrik yaş grubundaki genitoüriner sistemdeki tüm işçi hücreli ve mikzoid lezyonlarda akla gelmelidir. Ortalama 5 yaşta görülür. En sık embriyonel varyantı görülür. Prognoz çocuklarda daha iyidir (46).

METASTATİK TÜMÖRLER:

Mesaneyeye metastaz sıklıkla komşu organlardan özellikle başta kolon karsinomaları olmak üzere prostat, rektum ve servikstir. Ayrıca mide, deri, meme ve akciğerden de metastatik yayılım görülür (39).

2.2.9 TEDAVİ:

Mesane karsinomlarının tedavisi hastanın yaşı, cerrahi risk; tümörün yayılımı, evresi, mikroskopik derecesi ve mesanede herhangi başka bir yerde displazi veya karsinoma in situ bulunması göz önüne alınmak suretiyle bireyselleştirilmelidir (48). Küçük ve lokalize lezyonlar dışında karsinoma in situ için önerilen tedavi total sistektomidir. İntravezikal kemoterapi geçici ve bazen komplet remisyona sağlayabilir (49), yine de %40 ile %70 hastada ilk 6-12 ay içerisinde yeni tümörler gelişir (50). Başlangıçta tartışmalı olsa da şu anda gerek yüzeysel papiller gerekse in situ karsinomlarda genel olarak kabul gören tedavi şekli Bacillus-Calmette-Guerin (BCG) ile immünoterapidir. Bu tedavi sayesinde bazı serilerde rekürrens oranlarının belirgin olarak azaldığı saptanmıştır (51).Bu tedavinin dezavantajı ise mikroskopik olarak yüzeysel mukozal erozyon, submukozal granülomatöz inflamasyon ve reaktif epitel atipisine yol açmasıdır (51).

Kas invazyonu bulunmayan grade I ve II ürotelyal tümörler başlangıçta TUR ile tedavi

edilirler, bazen; özellikle multipl veya rekürren tümörlerde intravezikal kemoterapi ve radyoterapi eklenir (52). Derecesine bakılmaksızın kas invazyonu bulunan tümörler, grade III ve IV tümörler ve kemoterapiye dirençli tümörler genellikle en iyi kemoterapi veya radyoterapi destekli veya desteksiz radikal sistektomi ile tedavi edilirler (53). Bazı merkezlerde sadece radyoterapi ile tedavi edilirler (54). Radikal sistektomi erkeklerde mesane, prostat, vezikula seminalisler ve perivezikal dokuları içerirken kadınlarda mesane, uterus, tüpler, overler, anterior vajen ve üretrayı içermektedir. Erkeklerde de total ürektomi uygulamasına yönelik tartışmalar halen devam etmektedir (3). Bazı merkezlerde radikal sistektomiye en blok pelvik lenf nodu disseksiyonu eklenmektedir (55).

Günümüzde radikal sistektomide operatif mortalite düşük olup pyelonefrit izlenebilen bir komplikasyondur. İleri düzeydeki radikal sistektomi uygulanmış mesane karsinomlu hastalara neo-adjuvan kemoterapi uygulanması hastanın sağ kalım oranını iyileştirmiştir (56). Segmental (parsiyel) sistektomi rezidü mesanede rekürrens oranındaki yükseklik nedeni ile gözden düşmüştür (3).

2.2.10 PROGNOSTİK FAKTÖRLER

1-Evre:

En önemli prognostik parametredir. Tümör sağ kalımında müsküler duvar (muskularis propria) invazyonu ile birlikte görülen belirgin düşüş muhtemelen bu aşamada tümörün vaskülaritesindeki artışla bağlantılıdır. Bu özellik patoloğun bir spesimende müsküler tabakanın mevcut olup olmadığı ve eğer mevcutsa invazyon olup olmadığını belirtmesinin önemini göstermektedir. Perivezikal yağlı doku invazyonu kötü bir prognostik parametre olsa da bu hastaların bazılarında uzun süreli kürler elde edilmiştir. Yüzeysel mesane kanseri için geçerli 5 yıllık sağ kalım % 90'ın üzerindeyken derin kas invazyonu izlenen (evre B2 ve C) tümörlerde %45-55 arasındadır (3).

2-Lenf nodu tutulumu:

Evrelendirme şeması lenf nodu tutulumunu içermektedir ve kötü prognoz işaretidir. Bu hastalarda özellikle de birkaç lenf nodu tutulumu varsa uzun süreli sağkalım oranı 0'a yakındır (3).

3-Mikroskopik grade(derece):

Evre bağımsız prognostik parametre gibi görülse de Grade I ve Grade II tümörlerin çoğu yüzeysel olup, Grade III ve Grade IV tümörler derin invazyon yaparlar (3,55).Grade I lezyonlar (papillomlar) için lokal eksizyon sonrası rekürrens oranı multipl lezyonlarda soliter lezyonlara göre fazladır. Rekürren lezyonlar bazen orijinal lezyondan daha yüksek dereceli olabilir. Multisentrik gelişim veya implantasyon sonucu oluşan bu rekürrensler özellikle mesanenin kubbesinde sık görülür (3,59).

4-Hasta yaşı:

Hayatın ilk iki on yılında görülen tümörler genellikle iyi differansiye, invazyon yapmayan ve çok iyi prognoza sahip tümörlerdir (3).

5-Lokalizasyon:

Mesane boynundaki tümörler daha kötü prognoz ile ilişkilidir. Mesane kubbesindeki tümörler yüksek grade'li olma eğiliminde iken; lateral duvar ve üreterik orifis tümörlerinin düşük grade'li olma eğilimleri vardır (3).

6-Mesane mukozasındaki anormallikler:

Ana tümör kitlesinden uzaktaki, küçük tümör odakları veya displastik değişiklikler yüksek rekkürens oranı ile ilişkilidir (3).

7-Vasküler invazyon:

Lenf damarı ya da kan damarı invazyonu yüksek rekkürens ile ilişkili bulunmuştur. Şüpheli vakalarda vasküler invazyon faktör 8 ilişkili antijen, CD 31 ve CD34 kullanılarak bakılabilir (3,61).

8-Tümör marjini ve inflamatuvar cevap:

İtici sınırlara sahip lenfositik yanıt izlenen tümörler daha iyi prognoza sahiptirler (3).

9-Tümör boyutu:

Evre II tümörler için tümör boyutu metastaz riski ve sağ kalım açısından kas invazyonu invazyon derinliğinden daha değerlidir (3).

10-Tümöre infiltre lenfositler (TIL):

Tümörü infiltre eden lenfositlerin yoğunluğu tümör grade'i ve Ta-T1 olan tümörlerde progresyon ile ilişkili olarak bulunmuştur, ancak bu ilişki çok değişkenli analizler ile gösterilememiştir (3,64).

11-Mikrodamar dansitesi:

Bu özelliğin bağımsız bir prognostik gösterge olduğu ileri sürülmektedir, fakat değeri ıspatlanmalıdır (3).

12-Kan grubu antijenleri durumu:

ABH ve Lewis antijenleri normal ürotelyal mukoza tarafından eksprese edilir, fakat tümörlerde özellikle de yüksek dereceli olanlarda belirgin olarak azalır veya kaybolur. Bu silinme kırmızı kan hücresi adherens testi veya immünohistokimya ile tespit edilebilir. Agresif klinik seyir ve artmış rekürrens riski ile koreledir. Radyoterapinin yanlış pozitif sonuçlara yol açabileceği belirtilmektedir. T antijeni (Thomsen Friedenreich) ekspresyonunun invazyon ve lenf nodu tutulum riskini arttırdığı bildirilmektedir (3,66).

13-DNA Ploidi:

Flow sitometri veya statik tekniklerle ölçülen bu parametrenin mesane kanserlerinde özellikle

de grade II tümörlerde bağımsız prognostik değeri olduğu ıspatlanmıştır. DNA ploidi, mikroskopik grade ve klinik gidiş arasında yüksek dereceli bir korelasyon tespit edilmiştir (3,67).

14-Hücre proliferasyonu:

Hücre proliferasyon belirleyicileri derece ile ilişkili fakat evre ile ilişkisizdir. Bazı serilerde yüksek mitotik indeks veya yüksek S faz fraksiyonunun özellikle düşük evre tümörlerde bağımsız prognostik parametre olduğu saptanmıştır (3,69). Benzer sonuçlar grade II tümörlerde immünohistokimyasal Ki-67 pozitif hücrelerin tespiti ile de elde edilmiştir (70).

15-Kromozomal aberasyonlar:

Y kaybı veya 1 ve 17 polizomileri gibi bazı karyotipik sapmaların progresyon riskiyle bağlantılı olduğu söylenmektedir (3).

16-P53 overekspresyonu:

Mutasyonun bir göstergesi olan ve immünohistokimya ile belirlenebilen nükleer p53 overekspresyonu ile T1 ve T2a mesane kanserlerinin progresyonu arasında yüksek bir korelasyon saptanmıştır. Bu parametre hem derece hem de evre ile ilişkili görünmektedir (3,73).

17-Rb geni değisimi:

Azalmıs Rb gen ekspresyonu gösteren tümörlerin diğerlerine göre daha agresif oldukları söylense de henüz bağımsız bir prognostik parametre olduğu ıspatlanmamıştır (3).

18-E-cadherin kaybı:

Bir çalışmada E-cadherin kaybı olan tümörlerin yüzey antijeni izlenenlere göre daha kötü prognozlu oldukları gözlenmiştir (3).

19-CD44 varyant protein kaybı:

İmmünohistokimyasal olarak tespit edilen CD44'ün fokal kaybı yüzeyel mesane karsinomlarında kısa rekürrensiz süreç ile bağlantılıdır (3).

20-P27(Kip1) ve cyclin E kaybı:

Bu iki hücre döngüsü düzenleyicisi artmış histolojik saldırganlık ve azalmış hasta sağ kalımı ile ilişkilidir. Aynı çizgide bir siklin bağımlı kinaz inhibitörü olan WAF1/p21 ekspresyonunun da azalmış hastalısız dönem süresinin bir göstergesi olduğu gözlenmiştir (3,78).

21-Sitokeratin 20(CK20) :

Bir çalışmada anormal CK 20 paterni izlenen tümörlerin rekürrens risklerinin daha yüksek olduğunu izlenmiş olsa da istatistiksel bir fark bulunamamıştır (3,79).

2.3 EKSTRASELLÜLER MATRİKS VE MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR:

Matriks Metalloproteinazlar, ekstrasellüler matriks komponentlerini yıkıma uğratan çinko ve kalsiyum bağımlı nötral endopeptidazlardır (80). Ekstrasellüler matriks (ESM), hücreler arası boşlukta özel bir ortam oluşturan dinamik interaktif bir yapıdır (81).

Dokulardaki hücrelerin bir arada tutulmasına yardımcı olur. Bunun yanı sıra hücre büyümesi ve farklılaşmasını kontrol eden pek çok hormon için rezervuar görevi yapar. Bu yapı

hücrelerin özel fonksiyonları gerçekleştirmesi için kendilerini yönlendirecek hücre içi sinyalleme yolları ile direk ya da indirek olarak etkileşmesini sağlar (102). Matriks ile

hücreler arasında meydana gelen bu etkileşmeler organizmanın normal gelişimi ve fonksiyonu için kritik rol oynar (83).

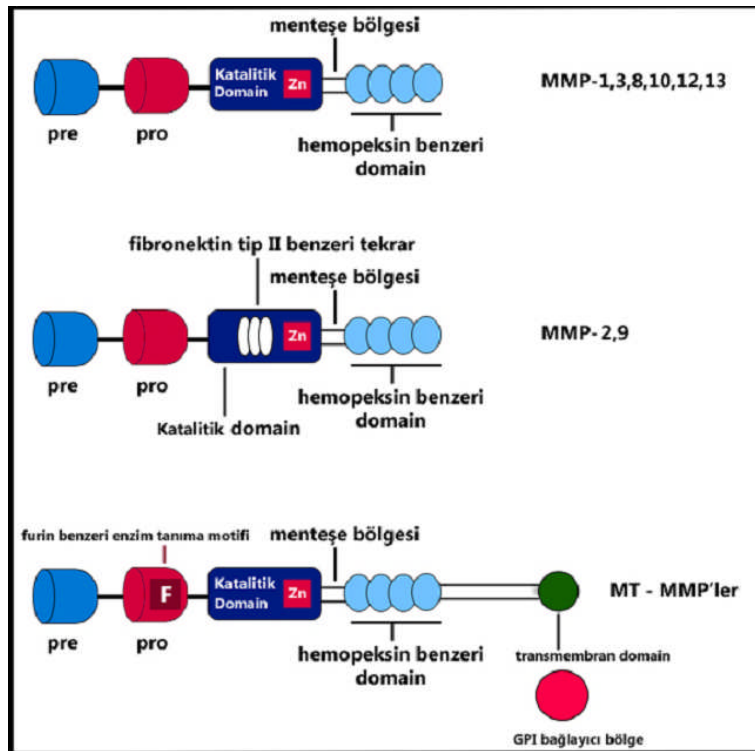
Hücre ve matriks etkileşmeleri ESM bileşenlerinin hidrolizinden sorumlu olan proteolitik enzimler tarafından düzenlenir. Bu enzimler ESM yapısının bileşimini ve bütünlüğünü düzenleyerek matriks molekülleri tarafından oluşturulan sinyallerin kontrolü, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve ölümünde de temel rol oynarlar (83,84).Bu enzim sistemlerinin içinde MMP'lar önemli bir grubu oluşturmaktadır. MMP'ların diğer isimleri matriksinlerdir (85).Türlerine göre endotel hücreleri, fibroblast, trombositler, T lenfositler,

kondrositler, epitel hücreleri, nötrofiller gibi oldukça çeşitli hücrelerden eksprese edilirler (80,86). Organizmada fizyolojik olayların sürdürülmesinde MMP aktivitesi ile onların spesifik endojen doku inhibitörleri (TIMP) arasında sürekli bir denge söz konusudur (87).

MMP'lar ve TIMP'lar normal dokularda düşük düzeyde eksprese edilirler ve birçok biyolojik süreçte rol oynarlar. Bunlar arasında embriyogenezis, endometrial döngü, kemiğin yeniden yapılanması, yara iyileşmesi, kardiyovasküler hastalıklar, anjiogenez, inflamasyon, apoptozis,immün cevap gelişimi önemli yer tutar (88).

2.3.1 MMP'LERİN YAPISI: Şekil 2.2'de MMP enzimlerinin moleküler yapısı gösterilmektedir.

Şekil 2.2. MMP enzimlerinin moleküler yapısı



Bu şeklin hazırlanmasında (89) no'lu kaynaktan yararlanılmıştır.

Tüm Matriks Metalloproteinazlar spesifik domainler taşır. Katalitik aktiviteleri, katalitik aktivite bölgesinde çinko bulunmasına bağlıdır. Proteolitik aktiviteleri TIMP (Matriks Metalloproteinaz Doku İnhibitörü) ile inhibe edilir (88). MMP'ler çeşitli ortak yapısal özelliklere sahiptirler. MMP'lerin tümü tipik olarak N terminalinde enzimin lider dizilimi olan pre-domain içerirler (90). Bu lider dizilim enzimi salgılanma için etiketler ve salgılanma sonrası kaybolur. İkinci bölge olan pro-domain enzimin latent formda kalmasından sorumludur ve enzim aktivasyonunu takiben kaybolur. Bir sonraki kısım Zn^{++} bağlayan bölgeyi içeren katalitik domaindir (86). Katalitik domain ek olarak yapısal bir Zn^{++} iyonu ve 2-3 Ca^{++} iyonu içerir. Bu bölge stabilite ve enzimatik aktivitenin oluşması için gereklidir (86).

MMP-7 ve MMP-26 dışındaki diğer bütün MMP'ler C terminalinde hemopeksin/vitronektin benzeri domain içerirler. Bu bölge aslında "heme" bağlayan bir peptiddir. Ayrıca endojen doku inhibitörleri olan TIMP'lerin jelatinaz grubu MMP (MMP-2 ve MMP-9)'lere ve MMP-13'e bağlanması ile ilişkilidir (86,88).

Katalitik domaini hemopeksin benzeri domaine bağlayan peptid pirolinden zengin olup, menteşe bölgesi adını alır (91). MMP-7 ve MMP-26'da hemopeksin benzeri domain ve menteşe bölgesi bulunmaz. Jelatinaz enzimleri katalitik bölümünde 3 adet fibronektin Tip 2 benzeri ilave bir domain bulundururlar. Bu kısım jelatinazların jelatin ve kollajene yüksek afinite ile bağlanmalarını sağlar, böylece proteolitik aktivitelerini artırır ve elastolitik aktivite için de temeldir (92).

Bu yapısal özelliklere ek olarak MT-MMP'ler, MMP-11, MMP-23, MMP-28 pro-domain ile katalitik domain arasında yer alan ve enzimin hücre içi furin benzeri proteazlar tarafından tanınmasını sağlayan "furin benzeri enzim tanıma motifi" içerirler. MT-MMP'ler salgılanma öncesi bu motifi tanıyan proteazlar ile aktive edilirler (93). Ayrıca MT-MMP'lerden bazıları

(MT1-,MT2-,MT3- ve MT5-MMP) C terminalinde transmembran domain içerirken bazıları da (MT4-ve MT6-MMP) glikozilfosfotidilinozitol (GPI) bağlayıcı bölge içerir (93).

2.3.2 MMP'LERİN SINIFLANDIRILMASI:

Matriks metalloproteinazlar hakkında ilk bilgi Jerome Gross ve Charles Lapiere tarafından 1962 yılında yayınlanmıştır. MMP lerin molekül ağırlıkları 19 - 92 kDa arasında değişmektedir (94). Günümüze kadar 23 çeşit MMP tanımlanmıştır. MMP'lar substrat spesifitesine göre 6 ana grupta sınıflandırılır (95) (Tablo 2.5).

Tablo 2.5 Matriks metalloproteinazlar

ENZİM	MMP
Kollajenazlar	
İnterstisyel kollajenaz(kollajenaz 1)	MMP-1
Nötrofil kollajenaz(kollajenaz 2)	MMP-8
Kollajenaz 3	MMP-13
Jelatinazlar	
Jelatinaz A	MMP-2
Jelatinaz B	MMP-9
Stromelisinler	
Stromelisin 1	MMP-3
Stromelisin 2	MMP-10
Matrisilinler	
Matrisilin 1	MMP-7
Matrisilin 2	MMP-26
Stromelisin 3	MMP-11
Membran tipi MMPs	
(A) Transmembran tip	
MT1-MMP	MMP-14
MT2-MMP	MMP-15
MT3-MMP	MMP-16
MT5-MMP	MMP-24
(B) GPI	
MT4-MMP	MMP-17
MT6-MMP	MMP-25
Diğerleri	
Makrofaj elastaz	MMP-12
-	MMP-19
Enamelisin	MMP-20
-	MMP-21
CA-MMP	MMP-23
-	MMP-27
Epilisin	MMP-28

Bu tablonun hazırlanmasında (95) no'lu kaynaktan yararlanılmıştır.

2.3.2.1 Jelatinazlar (MMP-2, MMP-9):

Jelatinaz enzimleri, diğer MMP'lerden farklı olarak katalitik bölgede 3 tane fibronektin tip II benzeri ilave bir domain bulundurlar. Bu kısım jelatin ve kollajene yüksek afinite ile bağlanmayı sağlayarak proteolitik aktiviteyi artırır, ayrıca elastolitik aktivite için de temel teşkil eder (96). Jelatinazlar, Tip IV, V, VII, X, XI ve XIV kollajen, jelatin, elastin, proteoglikan kor proteinleri, myelin temel protein, fibronektin, fibrillin-1 gibi proteinleri yıkmaya özelliğine sahiptirler (97). Diğer MMP'lar gibi inaktif proformlar olarak salınırlar ve ekstrasellüler olarak aktive edilirler. Alfa 2 makroglobulin ve TIMP'lar tarafından inhibe edilirler. Bu enzimler epitelyal tümörlerin lokal yayılımına neden olur. Jelatinazlar, ESM yıkımı, anjiogenez, doku "remodelling" ve hücre migrasyonu süreçlerinde önemli rol oynarlar. Ayrıca birçok sitokin ve kemokin üzerinde etkileri vardır. MMP-9, IL-8'i parçalayarak daha potent IL-8 ortaya çıkmasını sağlar (98). Yine TNF- α , TGF- β ve IL-1 β 'yi inaktif formdan aktif forma dönüştürür (99). MMP-9, VEGF'ün salınımını artırarak anjiogenezde rol alır. VEGF de MMP-2'nin endotel hücrelerinden salınımını artırarak bazal membran yıkımına yol açar ve yeni damar oluşumuna neden olur (100).

Matriks Metalloproteinaz 2 (Jelatinaz A):

Jelatinaz A olarak da isimlendirilir. Latent formu 72 kDa, aktif formu 66 kDa ağırlığındadır (101). Keratinositler, fibroblastlar, endotel hücreleri, kondrositler, osteoblastlar, monositler gibi birçok hücre ve transforme olmuş değişik hücrelerden salınırlar. MMP-2, jelatin, kollajen IV, V, VII, X, elastin, fibronektini parçalar (102). MMP-2 aynı zamanda tip 1 kollajeni yıkarak ESM'in "remodeling" olayında önemli rol üstlenir (103). MMP-2 solusyonlarda MMP-1 ve diğer kollajenazlara göre daha zayıf kollajenolitik aktivite gösterir. Çünkü proMMP-2 hücre yüzeyine yerleşmiştir ve membran tipi MT-MMP'lar tarafından aktive edilir. ProMMP-2 perisellüler alanda birikebilir ve lokal kollajenolitik aktiviteye neden

olabilir. Kollajenazların parçalamış olduğu küçük kollajen fragmanlarını parçalayarak işbirlikçi gibi davranabilir. Çünkü bu fragmanlar 37 ° C vücut ısısında denatüre olur (104).

MMP-2, TIMP-2, -3, -4 ve $\alpha 2$ makroglobulin tarafından inhibe edilir (105). Kolon (106), pankreas (107), meme (108), over (109), prostat (110) ve akciğer (111) gibi pek çok kanserde doku ekspresyonu artan MMP-2 kötü prognostik bir faktör olarak değerlendirilmiştir.

Matriks Metalloproteinaz 9 (Jelatinaz B):

Jelatinaz B olarak da adlandırılır. Latent formu 92 kDa, aktif formu 84 kDa ağırlığındadır (112). MMP-9, jelatin ve tip IV bazal membran kollajeni için substrat spesifiktir. Ayrıca MMP-9 Tip III, Tip V kollajen, elastin (112) ve fibronektini parçalar (114). Kolorektal, mesane, mide kanserinde ve derinin yassı hücreli karsinomlarında makrofajlarda saptanmıştır (115). Jelatinazların salınımını etkileyen faktörler Tablo 2.6’de gösterilmiştir.

Tablo 2.6 Jelatinazların salınımını etkileyen faktörler

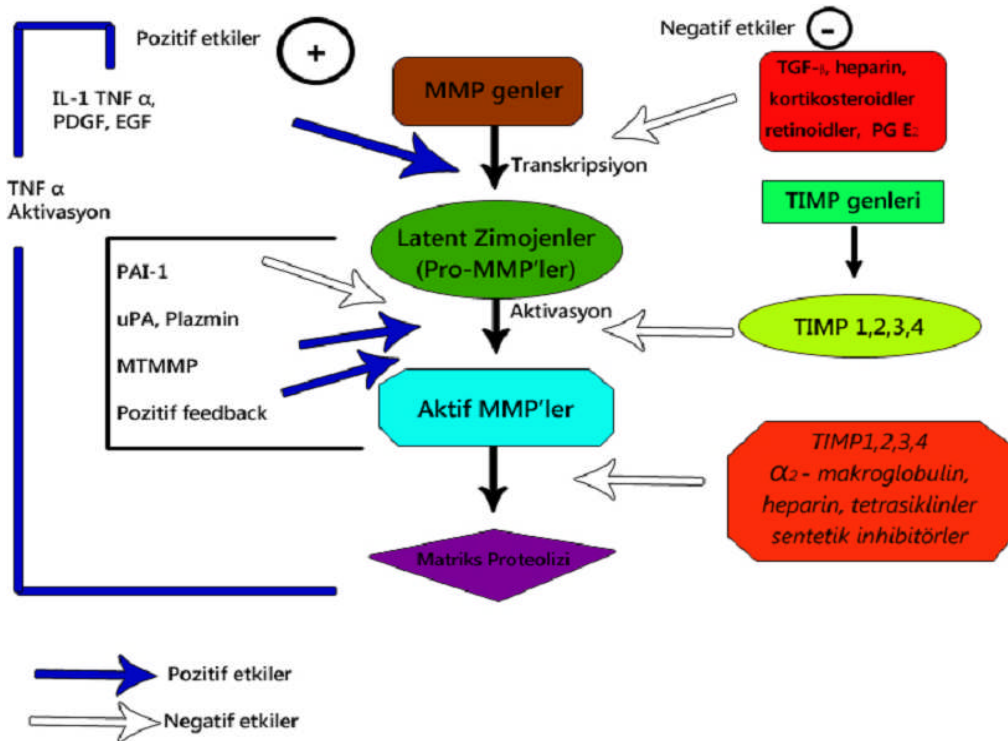
Aktive edici faktörler			İnhibe edici faktörler
Hücre yüzeyinde etkili faktörler	Kimyasal ajanlar	Diğerleri	
Kalsiyum iyonofor A23187 Konkanavalin A Kristaller Ürat Hidroksiapatit Kalsiyum pirofosfat İntegrin reseptör antikoru Polihidroksietilmethakrilat Fagositoz	C-AMP Kolsişin Lipopolisakkarit Mitomisin C Pentoksifilin Forbol diesterleri Prostaglandin E Trifluoperazin UV ışını	Viral transformasyon Onkogenler Otokrin ajanlar Fibroblastların yaşlanması İnterlökin 1 Epidermal büyüme faktörü Platelet büyüme faktörü TNF	Retinoik asit Glukokortikoidler Östrojen Progesteron Adenovirüs-5EIA geni

Bu tablonun hazırlanmasında(116) no’lu kaynaktan yararlanılmıştır.

2.3.3 MMP AKTİVİTESİNİN DÜZENLENMESİ

MMP'ler vasküler ESM'in yıkımında esansiyel rol oynarlar (117). MMP'lerin tümü preproenzim olarak sentezlenir ve bunların çoğu inaktif latent zimojen form olan pro-enzim formunda salgılanır (118). Latent zimojenlerin aktivasyonu hücre içinde MT-MMP'ler aracılığıyla, hücre yüzeyinde diğer proteazların etkisiyle, ekstrasellüler aralıkta ise ya "aktivasyon kaskadı" olarak adlandırılan şekilde ya da önceden aktive olmuş MMP'lerin diğerlerini aktive etmesiyle meydana gelebilir (119). Tümör hücrelerinin oluşturduğu ekstrasellüler matriks metalloproteinaz indükleyici (EMMPRIN;CD147) gibi faktörler peritümöral fibroblastlardan MMP üretimini uyarırlar (120).MMP'lerin proteolitik aktiviteleri 3 basamakta düzenlenir. Bunlar transkripsiyon, pro-enzimin aktivasyonu ve enzim aktivitesinin inhibisyonudur (121).

Şekil 2.3 MMP enzim aktivitesinin düzenlenmesi



Bu şeklin hazırlanmasında (122) no'lu kaynaktan yararlanılmıştır.

2.3.3.1 CD147(EMMPRIN):

Ekstrasellüler matriks indükleyicisi (EMMPRIN) immünglobulin ailesinin bir üyesidir. Tümör hücrelerinin yüzeyinde bulunan transmembran bir glikoproteindir.

Tümör hücreleri stromal fibroblastlardan MMP ekspresyonunu ya direkt olarak ya da immünoglobülin süper-ailesinin bir üyesi ve çözünebilir bir protein olan CD147 (EMMPRIN-Basigin) aracılığıyla yapar(123).

Tümör stromal ilişkisinde önemli bir mediatördür. Tümör büyümesinde, invazyonda ve anjiogenezde aracılık etmektedir(124).

CD147'nin ekspresyonunu uyardığı MMP'ler arasında MMP1, MMP2, MMP3, MMP9, MMP14 ve MMP15 bildirilmektedir (125).

MMP uyarımını sağladığı gibi tümör progresyonunda aynı zamanda VEGF ve EGFR üretimini de artırır.

Ayrıca CD147'nin hücre adhezyonu, apoptozis, inflamatuvar reaksiyon, anjiogenezis, ilaç rezistansı, ovulasyon, spermatogenezis ve embriyonik gelişim ile ilgisi saptanmıştır (126).

2.3.4 MATRİKS METALLOPROTEİNAZLARIN SPESİFİK DOKU

İNHİBİTÖRLERİ:

MMP'lerin proteolitik aktiviteleri hem non-spesifik (α -2 makroglobulin, α -1 antiproteaz gibi) hem de spesifik inhibitörler doku metalloproteinaz inhibitörleri ile engellenebilir (127). TIMP'lar bağ dokusu metabolizmasının düzenlenmesinde temel proteinlerdir (128). Endotel hücresi, vasküler kas hücresi, makrofajlar, kan hücreleri ve bağ dokusu hücrelerinden salınırlar (129). Günümüzde TIMP-1,-2,-3,-4 olmak üzere tanımlanmış 4 TIMP türü vardır (128). TIMP'lar, MMP enzim aktivitesini ve MMP/TIMP dengesini kontrol altında tutarlar. MMP'lara irreversibl ve nonkovalent bağlanarak latent enzim formunun aktivasyonunu ve katalitik aktivitenin sürdürülmesini inhibe ederler (130). EGF, TGF- β , IL-1 β , IL-6, retinoik asit, onkostatin, forbol esterleri, FGF gibi ajanlarla TIMP'ların aktivitesi artar. Konkonovalin, deksametazon ile inhibe olur. Yine TNF- α 'nın düşük

konsantrasyonlarında TIMP-1 üretimi artar, yüksek konsantrasyonlarında üretimi baskılanır (131). TIMP'lar, MMP enzim aktivitesini inhibe etme yönünde benzerlik göstermekle beraber matriksteki lokalizasyonları ve gen ekspresyonu düzenlenmesi açısından aralarında farklar vardır (132).

Aktif MMP inhibitörlerinden biri de $\alpha 2$ makroglobulindir. Yüksek molekül ağırlığı nedeniyle bağlandığı MMP'nin molekül ağırlığını artırıp hareket yeteneğini kısıtlar (86). Son yıllarda peptid ve nonpeptid yapıda sentetik MMP inhibitörleri üretilmiştir. Bu inhibitörler en çok kanser, kardiyovasküler hastalıklar, artrit, psöriazis gibi hastalıkların tedavisinde denenmiştir (133).

TIMP-1:

28,5 kDa ağırlıkta bir glikoproteindir ve ilk olarak tavşan kemiğinden elde edilmiştir. Sonradan insan vücut sıvıları ve dokularında da olduğu saptanmıştır. Bütün aktive kollajenazları inhibe edebilir. TIMP-1: Mt-1-MMP ve MMP-2 dışındakileri inhibe eder. Fibroblast büyüme faktörü, trombosit kaynaklı büyüme faktörü, forbol esterleri ve interlökin-1 gibi birçok uyarıcı TIMP-1'in fibroblastlardaki ekspresyonunu artırır (134). TIMP-1, proMMP-9'a bağlanarak proMMP-9/TIMP-1 kompleksini oluşturur. Bu kompleks bütün aktif MMP'ları inhibe eder ve daha aktif stabil form olan proMMP-9/TIMP-1/MMP kompleksini oluşturur (135). MMP'lar üzerine inhibitör etkileriyle tümör büyümesini, invazyon ve metastazını inhibe ederler (136).

TIMP-2:

21 kDa ağırlığında glikolize olmamış bir proteindir (137). TIMP-2, MMP-9 dışındaki MMP'ları inhibe eder. Spesifik olarak MMP-2'yi inhibe eder ve fibroblast gibi bazı hücrelerde pro-MMP-2 ile birlikte sekrete edilir. Ancak alveolar makrofajlarda olduğu gibi tek başına da sekrete edilebilirler (138).

TIMP-3:

21 kDa ağırlığında glikolize olmamış MMP inhibitörüdür. TIMP-3 ekstrasellüler matriksden transforme olmuş hücrelerin ayrılmasını kolaylaştırır ve morfolojik değişiklikleri başlatır (82). IMP-3, MMP-1,-2,-3,-9 ve -13'ü inhibe eder (134).

TIMP-4:

MMP-2,-7 ve MMP-9'u inhibe eder. Tümör invazyonunu ve metastazını inhibe ettiği gösterilmiştir (139).

2.3.5 KANSER VE MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR:

Kanser dokusunda tümör ile infiltre olmuş stromal hücrelerde matriksi degrade eden proteaz sisteminin komponentleri sıklıkla saptanmaktadır. Bu bulgular kanser invazyon sürecinde stromal hücrelerin aktif rol oynadığını göstermektedir. Kanser invazyonunda ekstrasellüler matriksin ve bazal membranın parçalanması önemli rol oynar. Bu parçalanma çeşitli ekstrasellüler proteolitik enzimlerin birlikte çalışmaları ile başarılır. Bu enzimler proteazlar olarak bilinir ve bu grupta serin proteaz ailesi ve MMP ailesi vardır. Bu enzimlerin aktivitesi, proenzim aktivatörleri, spesifik inhibitörleri ve hücre yüzey reseptörleri ile düzenlenmektedir (140).

MMP'lar, ekstrasellüler matriksi (ESM) parçalayarak hücre migrasyonu ve biyoaktif molekül salınımını sağlar. Böylelikle malign dönüşüme ve kanser progresyonuna katkıda bulunur (141).

MMP'lar uzak metastaz süreçlerinde de rol alır (142). MMP'lar anjiogenezde farklı mekanizmalarla pozitif ya da negatif etki gösterir. MMP-9, ESM'den vasküler endotelial growth faktörün (VEGF) mobilizasyonunu sağlar (143).

GEREÇ VE YÖNTEM:

3.1.Olgu Seçimi:

2001-2013 yılları arasında Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Bölümünde tanı almış WHO/ISUP sınıflandırmasına göre 18 adet non-invaziv düşük grade'li papiller ürotelyal karsinoma, 18 adet invaziv yüksek grade'li papiller ürotelyal karsinoma, 8 adet invaziv düşük grade'li papiller ürotelyal karsinoma ve 6 adet yüksek grade'li papiller ürotelyal karsinoma olgusu çalışmaya alındı. Olgulara ait H-E boyalı preparatlar tekrar değerlendirilerek immünohistokimyasal inceleme için uygun bloklar seçildi.

Vakaların 45'ini erkek (%90), 5'ini kadın (% 10) hastalar oluşturmaktaydı. Yaş aralığı 26 ile 87 arasında değişmekteydi. Ortalama yaş 66.36 olarak saptandı.

3.2. İmmünohistokimya:

3.2.1.MMP-2, MMP-9 , TIMP-1, TIMP-2 ve CD 147 saptanması:

İmmünohistokimya için primer antikor olarak MMP-2 antikor (ab78796,abcam) MMP-9 antikor (A-150,Dako),TIMP-1 antikor (ab1827,abcam),TIMP-2 antikor (ab1828,abcam) ve CD147(ab78106,abcam) antikor kullanıldı. Ön çalışmalarda optimal dilüsyon oranı 1/50 olarak saptandı ve bu dilüsyonda primer antikorlar uygulandı. Pozitif kontrol olarak MMP-2 için plasenta dokusu, MMP-9 için kolon dokusu, TIMP-1 için meme karsinomu, TIMP-2 için kolon karsinomu ve CD147 için testis tümörü kullanıldı.

İmmünohistokimyasal inceleme için sırayla aşağıdaki işlemler uygulandı.

Seçilen bloklardan 4 µm kalınlığında kesitler adeziv lama alındı ve preparatlar 1 gece boyunca 37 ° C'de etüvde bekletildi.Ertesi gün 60° C'de 20 dakika etüvde bekletildi.Etüvden alınan kesitler iki defa 5 er dakikalık sürelerde ksilenden geçirilerek değişen derecelerde alkollerde bekletilerek deparafinize edildi.Daha sonra kesitler distile su ile yıkandı.Antijen açığa çıkarma aşaması için preparatlar sitrat solüsyonuna (Ph=6) alınarak 23 dakika süreyle 98° C'de PT modüle (Labvision, UK) yerleştirildi.Preparatlar modülden çıkarılarak soğumaya

bırakıldı. Distile su ile yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek amacıyla %3 hidrojen peroksit 5 dakika süreyle uygulandı. Daha sonra distile su ile yıkanan preparatlar Sequenza Manuel boyama istasyonuna (Shandon Scientific Limited, Astmoor, UK) dizildi. Yıkama solusyonu olarak fosfat tampon solüsyonu (Phosphate Buffered Saline-PBS) kullanıldı. İki kez yıkandıktan sonra 5 dakika protein blok solüsyonu (Blocking Reagent, Ültrav blok, Labvision) ile protein blokaj uygulandı. Sonra PBS ile 2 kere yıkandıktan sonra primer antikor olarak MMP- 2, MMP-9, CD147, TIMP-1 ve TIMP-2 damlatılarak oda ısısında 1 gece nemli ortamda inkübasyona bırakıldı ve ertesi gün 2 kez PBS ile yıkanan preparatlar Biotin içeren sekonder antikor (Biotinylated Goat Anti, polyvalent) ile 45 dakika inkübe edildi. Sonrasında 2 kez PBS ile yıkanan kesitler Strep-AB kompleksi (Streptavidin Peroxidase, Labvision) damlatılıp 45 dakika bekletildi. Sonrasında 2 kez PBS ile yıkandı. Diaminobenzidin (DAB) kromojen olarak kullanıldı ve damlatıldıktan sonra 20 dakika beklenildi. Sonrasında 2 kez PBS ile yıkandı. Mayer's Hematoksilen (Merck Mayer's hemalum solution for microscopy) damlatılıp 5 dakika beklenerek karşıt boyama yapılan kesitler 2 kez PBS ile yıkandıktan sonra 5 dakika süre ile musluk suyu ile yıkandı. Yıkama işleminden sonra preparatlar 2 defa alkole batırılıp çıkarıldı. Kuruduktan sonra ksilene alınan boyalı preparatlar entalen (Merck) aracılığıyla lamel ile kapatıldı.

3.2.2. MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 ve CD147 immünreaktivitesinin değerlendirilmesi:

Bütün immün belirleyici ile boyanmanın mikroskoptaki değerlendirilmesinde modifiye immünohistokimyasal skor (H-SKOR) kullanıldı. Bu skorlama yöntemi i boyanma yoğunluğu ve P_i bu yoğunluktaki boyanan hücrelerin sayısı olmak üzere $HS = \sum (P_i \times i/100)$ olarak daha önce tariflenmiştir. Tüm antikorlar için sitoplazmik ve membranöz boyanma pozitif kabul edildi ve H-SKOR değerleri aşağıda belirtilen şekilde hesaplandı (144,145).

Negatif boyanan hücrelerin %'si (Skor 0) X 0

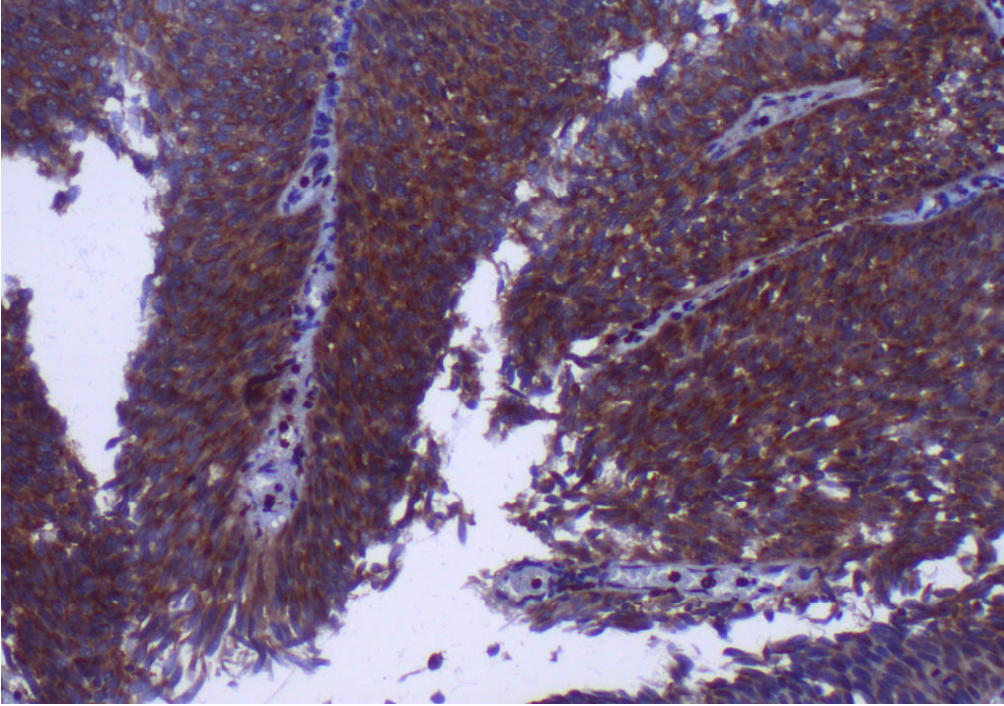
Zayıf pozitif boyanan hücrelerin %'si (Skor 1) X 1

Orta dereceli pozitif boyanan hücrelerin %'si (Skor 2) X 2

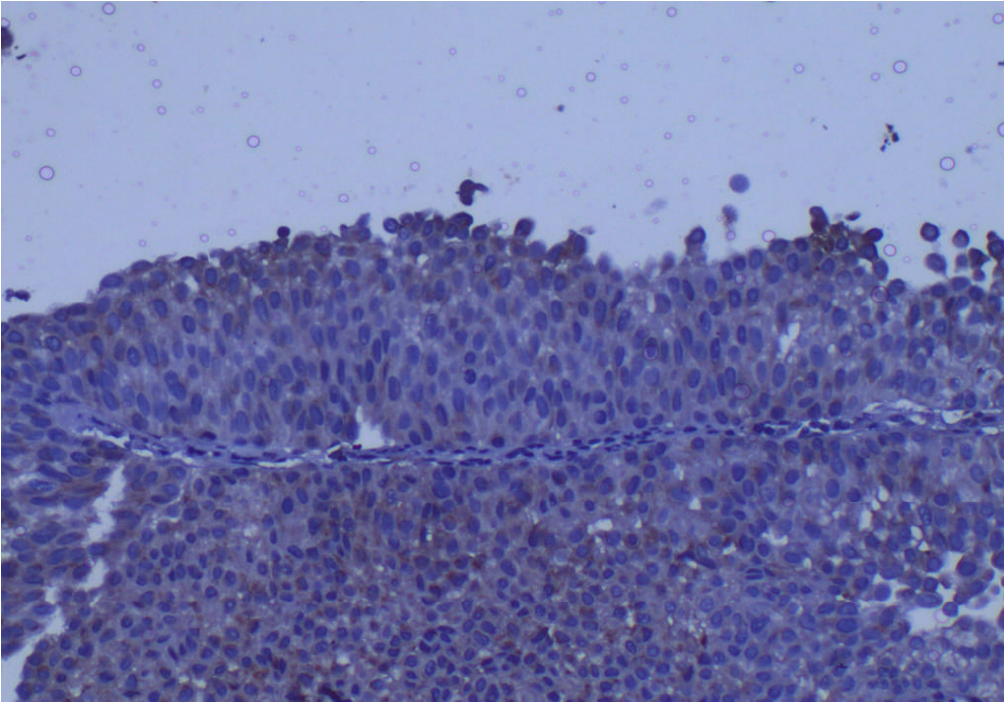
Güçlü pozitif boyanan hücrelerin %'si (Skor 3) X 3

Daha sonra bütün değerler toplanarak 0-300 arasında değişebilen değerler elde edildi.

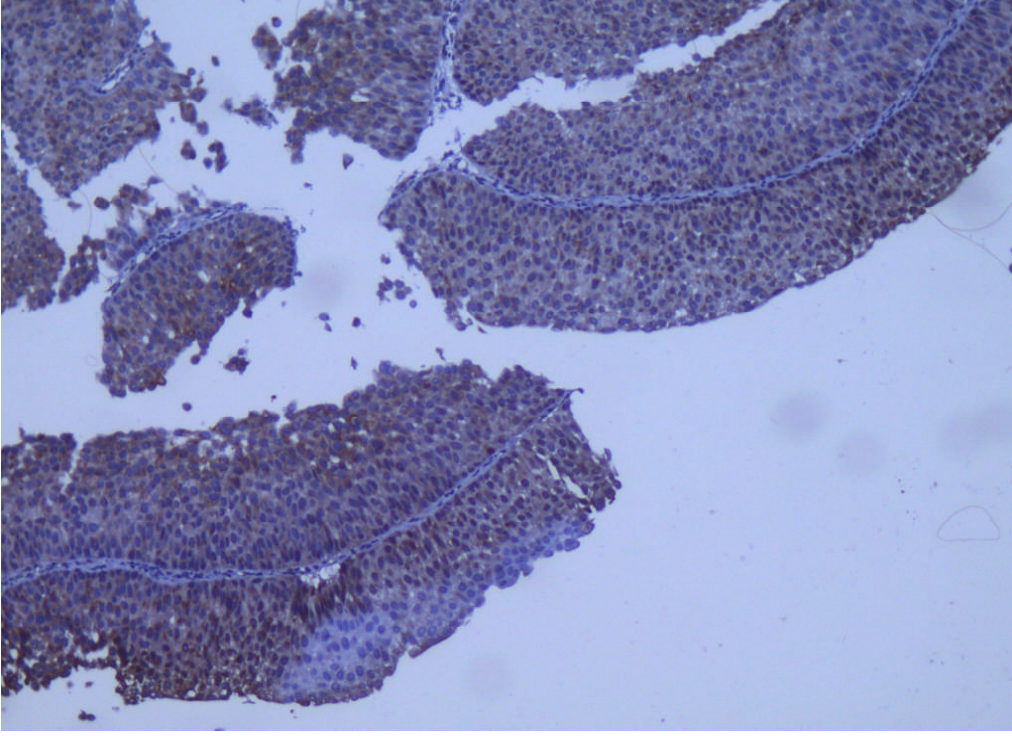
RESİMLER



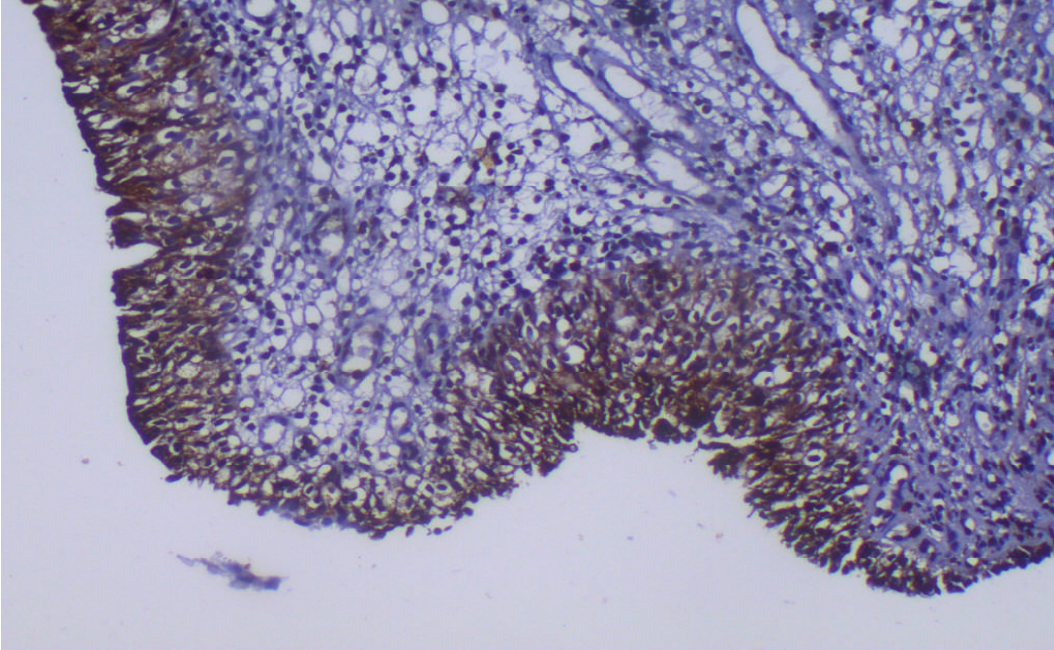
Resim 3.1.MMP-2 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde güçlü sitoplazmik boyanma
(x200)



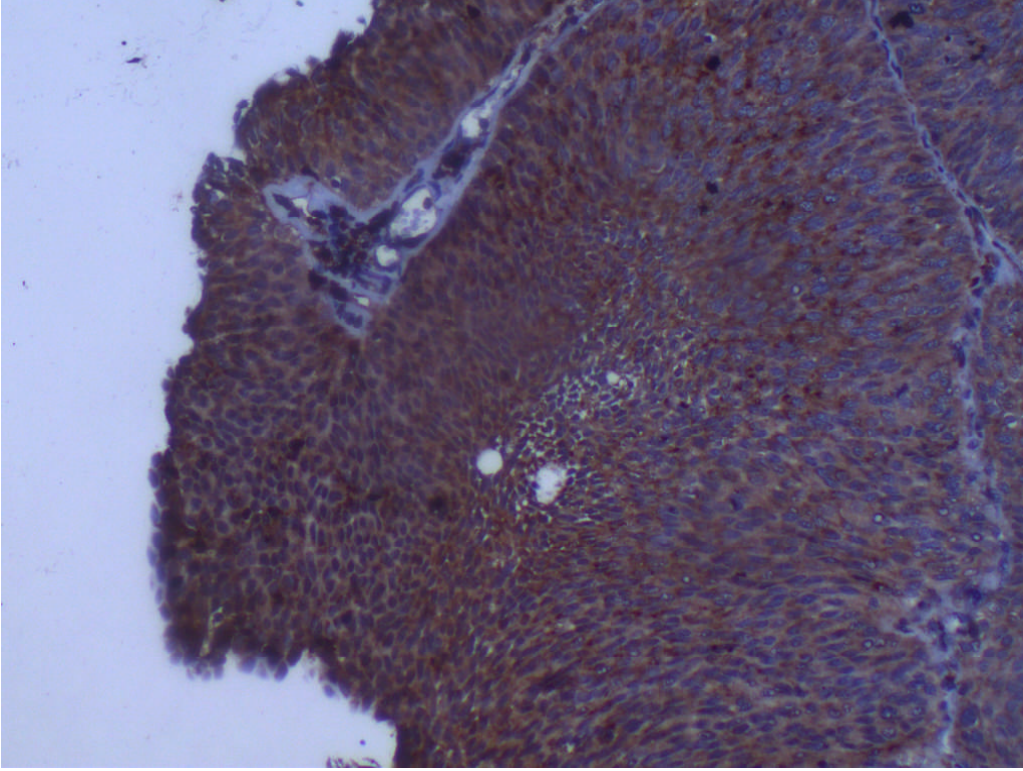
Resim 3.2. MMP-2 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde zayıf sitoplazmik boyanma
(x200)



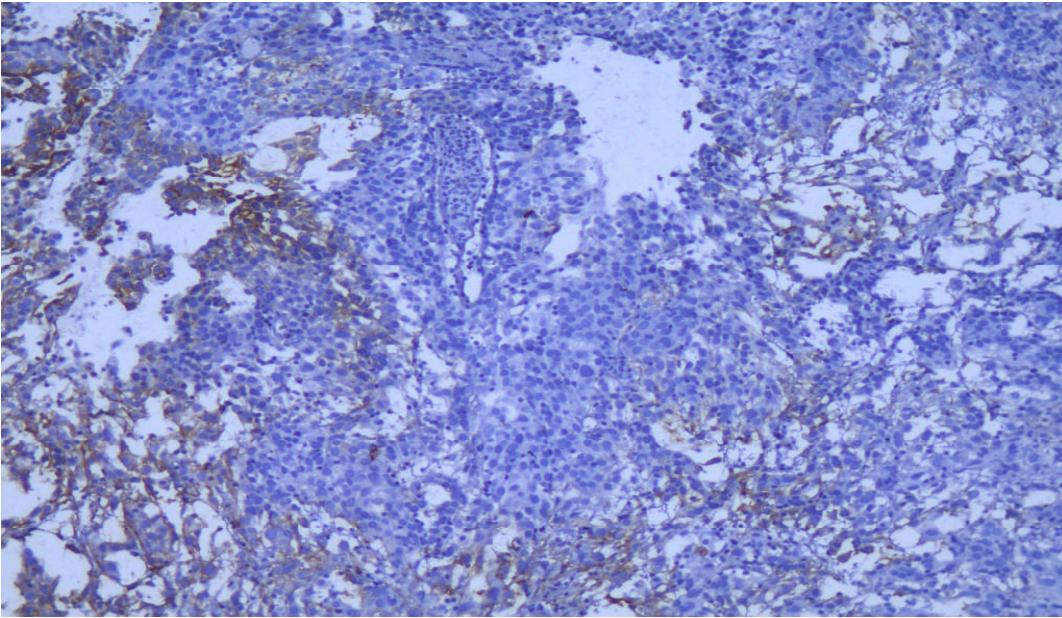
Resim 3.3. MMP-9 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde orta şiddette sitoplazmik boyanma (x100)



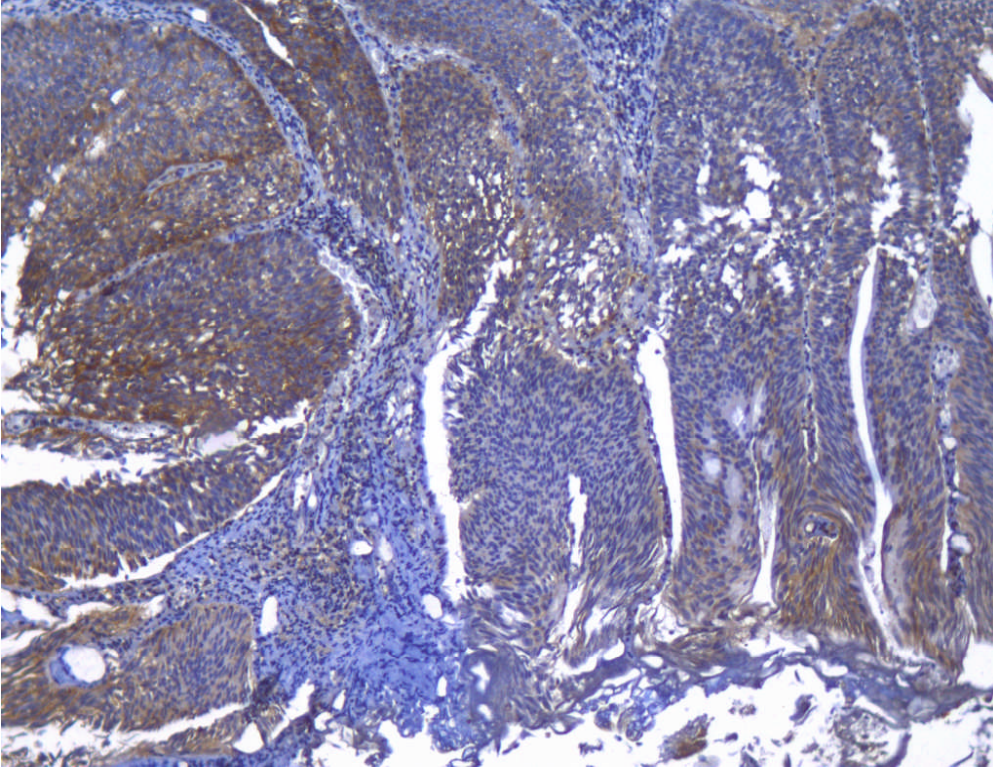
Resim 3.4. MMP-9 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde güçlü sitoplazmik boyanma (x200)



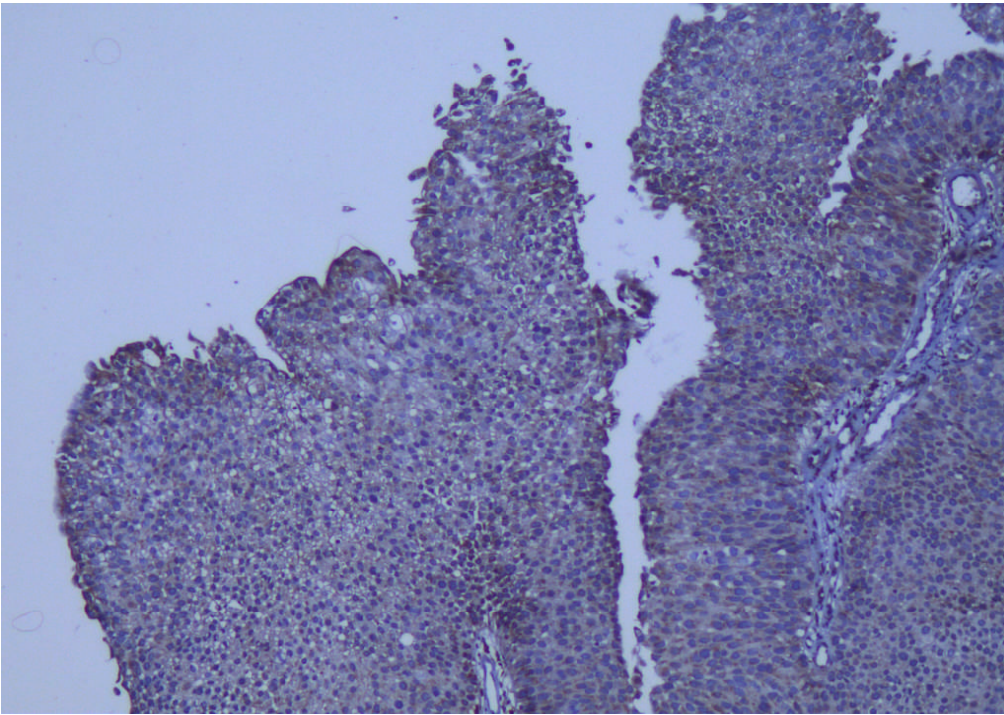
Resim 3.5. TIMP-1 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde güçlü sitoplazmik boyanma (x200)



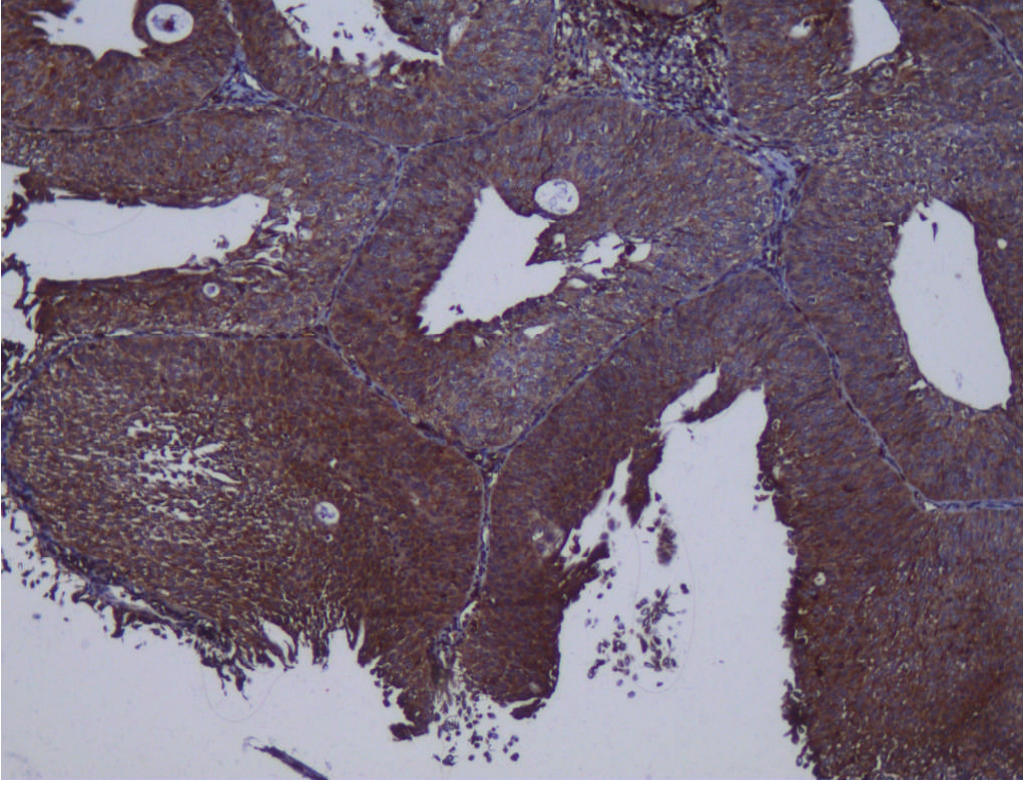
Resim 3.6. TIMP-1 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde zayıf sitoplazmik boyanma (x100)



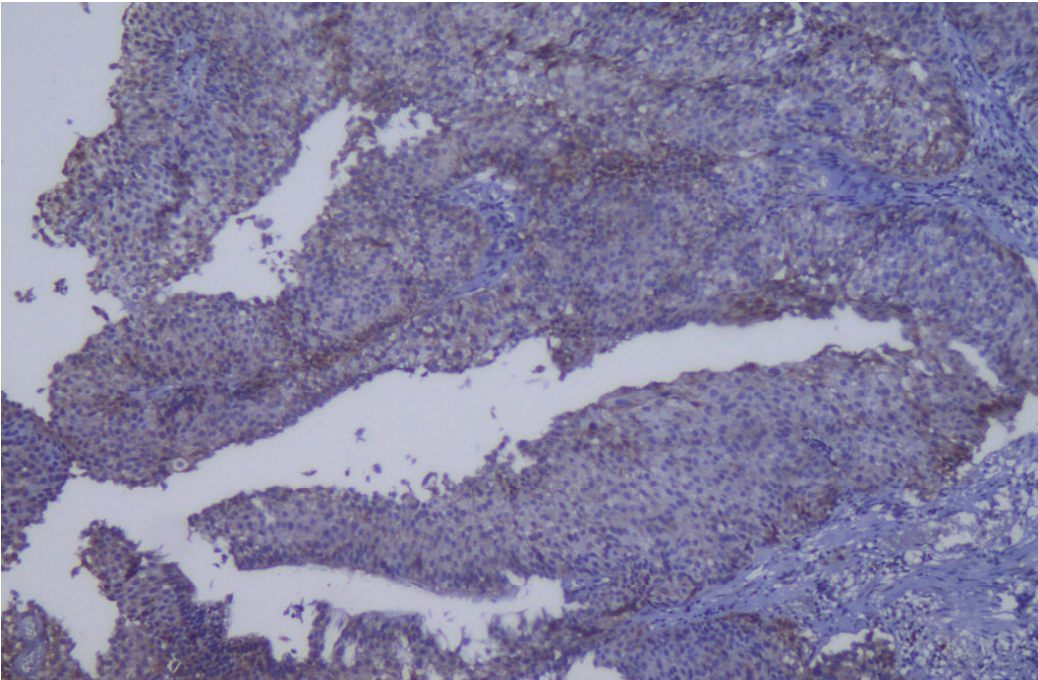
Resim 3.7. TIMP-2 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde orta şiddette sitoplazmik boyanma (x200)



Resim 3.8. TIMP-2 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde zayıf sitoplazmik boyanma (x100)



Resim 3.9.CD147 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde güçlü sitoplazmik boyanma (x100)



Resim 3.10. CD147 ile mesane ürotelyal karsinoma epitel hücrelerinde zayıf sitoplazmik boyanma (x100)

3.3.İstatiksel İnceleme

Histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak elde edilen veriler, SPS 17.0 Windows yazılımı (Chicago IL, USA) istatistik programı kullanılarak yapıldı. Olgu sayısı ve dağılım özellikleri nedeniyle non-parametrik testler kullanıldı. Gruplar arasındaki farklılığı test etmek için Mann-Whitney U testi ve Kruskal-Wallis testi uygulandı. Değişkenler arasındaki ilişki (korelasyon), Spearman'ın korelasyon testi ile araştırıldı. Tüm testlerde $p<0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

3.4.Etik Kurul Kararı:

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurul başkanlığının 08.03.2011 tarihli 2011/38 numaralı kararıyla etik kurul kararı alındı.

BULGULAR:

Mikroskopik sınıflandırma iki patolog (Dr Sami Turan ve Dr Pınar Atasoy) tarafından yapıldı. Sınıflandırmada Dünya Sağlık Örgütü'nün alt tiplendirmesi kullanıldı (29).18 olgu non-invaziv düşük grade'li,8 olgu invaziv düşük grade'li,6 olgu non-invaziv yüksek grade'li ve 18 olgu invaziv yüksek grade'li idi.

Vakaların 45'ini erkek (%90), 5'ini kadın (% 10) hastalar oluşturmaktaydı. Yaş aralığı 26 ile 87 arasında değişmekteydi. Ortalama yaş 66.36 olarak saptandı.

Çalışmamızdaki veriler invaziv(n=26)-noninvaziv(n=24),yüksek grade(n=24)-düşük grade(26) olarak iki gruba ayrılarak MMP2, MMP9, TIMP1, TIMP2 ve CD147 ekspresyonları açısından istatistiksel olarak değerlendirildi.

Patoloji spesmenlerindeki MMP2, MMP9, TIMP1, TIMP2 ve CD147 boyanma patternleri H-skor (0-300) kullanılarak semi-kantitatif olarak skorlandı. Gruplardaki verilerin dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi ve normal dağılım göstermemeleri nedeniyle gruplar arasındaki farka nonparametrik Mann-Whitney U Testi ile bakıldı. İstatistiksel incelemede SPSS 17.0 Windows yazılımı (Chicago IL,USA)programı kullanıldı ve $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

İnvaziv-noninvaziv gruplar arasındaki MMP-2 ekspresyonları açısından fark invaziv yönünde istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($U=159,z=2,981,p=0.003$).

Yüksek-düşük gradeli gruplar arasında MMP-2 ekspresyonları açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($U=221.5,z=1.762,p=0.078$).

Gerek invaziv ve noninvaziv gruplar arasında ($U=234.5,z=1.516,p=0.130$) gerekse yüksek ve düşük grade'li gruplar arasında ($U=310.5,z=0.029,p=0.977$) MMP-9 ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

TIMP-1 ekspresyonları non-invaziv tümörlerde invaziv olanlara göre anlamlı düzeyde

fazlaydı ($U=166, z=2.857, p=0.004$).

Yüksek-düşük gradeli gruplar arasında TIMP-1 ekspresyonları açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($U=221, z=1.779, p=0.075$).

TIMP-2 ekspresyonları ne invaziv ve noninvaziv gruplar arasında ($U=221.5, z=1.768, p=0.077$) ne de yüksek ve düşük grade'li tümörler arasında ($U=307.5, z=0.088, p=0.930$) anlamlı farklılık göstermekteydi.

İnvaziv ve yüksek grade'li tümörlerde CD147 ekspresyonları noninvaziv ($U=134.5, z=3.455, p=0.001$) ve düşük grade'li ($U=194, z=2.296, p=0.022$) tümörlere göre anlamlı düzeyde fazla saptandı.

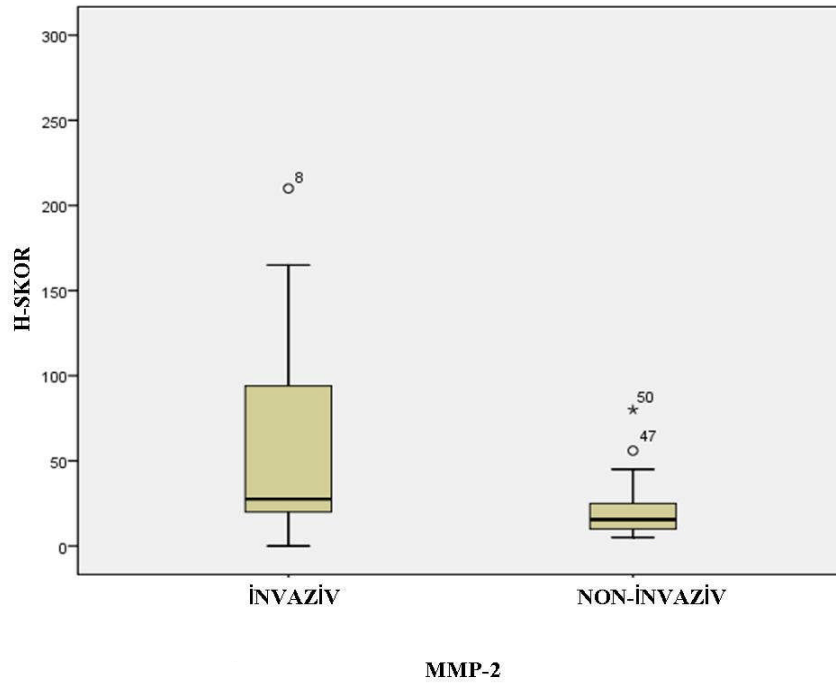
Spearman korelasyon testine göre invaziv-noninvaziv gruplar arasında MMP-2 ile MMP-9 arasında pozitif ilişki ($r=0.486, p=0.012$) saptandı.

MMP-2 ile hem TIMP-2 ($r=0.410, p=0.038$) ve hem de CD147 ($r=0.658, p=0.000$) arasında pozitif yönde ilişki saptanırken TIMP-1 ile arasında negatif ($r=-0.680, p=0.00$) ilişki saptandı.

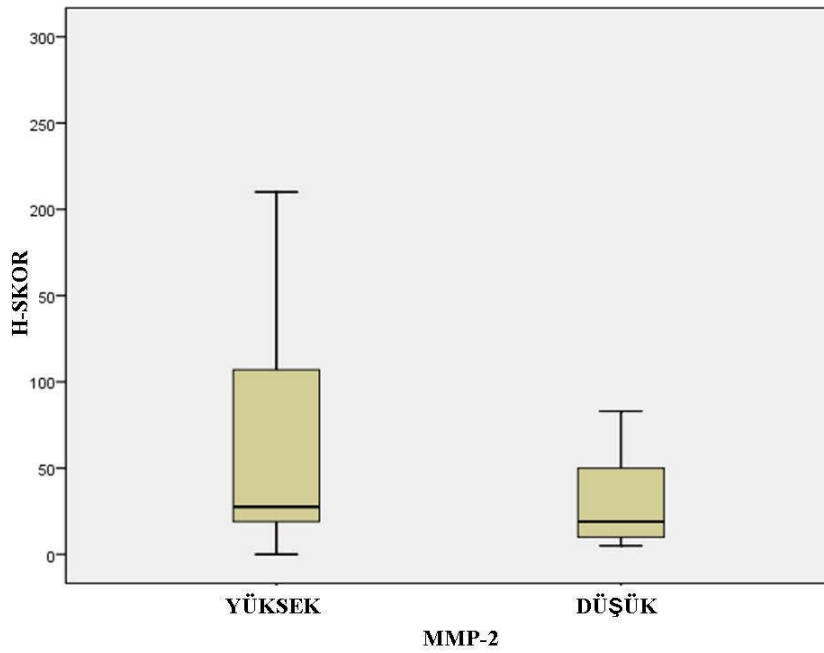
Benzer şekilde MMP-9 ile gerek TIMP-2 ($r=0.821, p=0.00$) gerekse CD147 ($r=0.531, p=0.005$) arasında pozitif yönde bir ilişki gösterildi. TIMP-1 ile ise negatif ilişki ($r=-0.430, p=0.028$) saptandı.

TIMP-1 ile TIMP-2 ($r=-0.368, p=0.064$) ve CD 147 ($r=-0.520, p=0.006$) arasında negatif, TIMP-2 ile CD147 arasında ise pozitif yönde bir ilişki ($r=0.376, p=0.058$) saptandı.

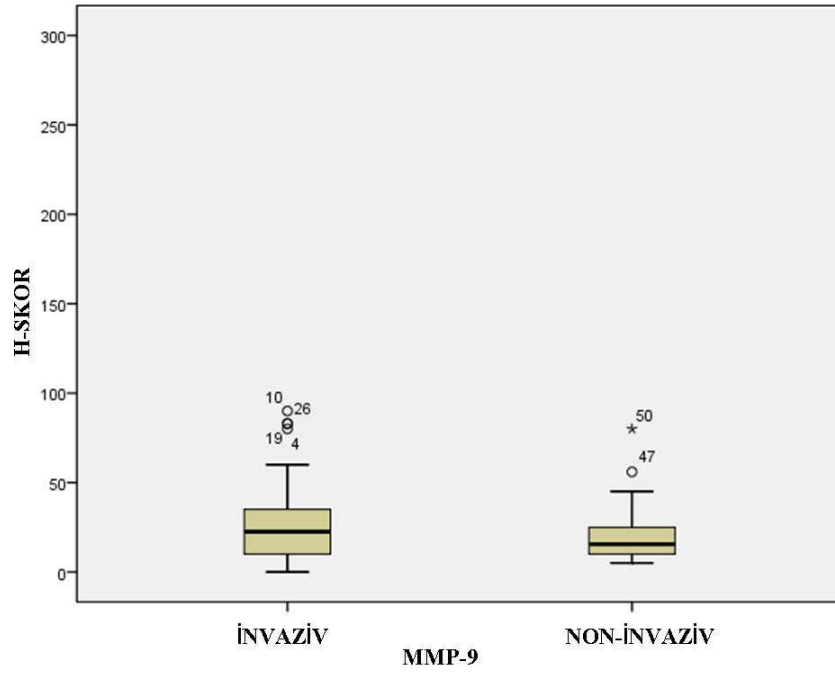
BOXPLOT GRAFİKLER



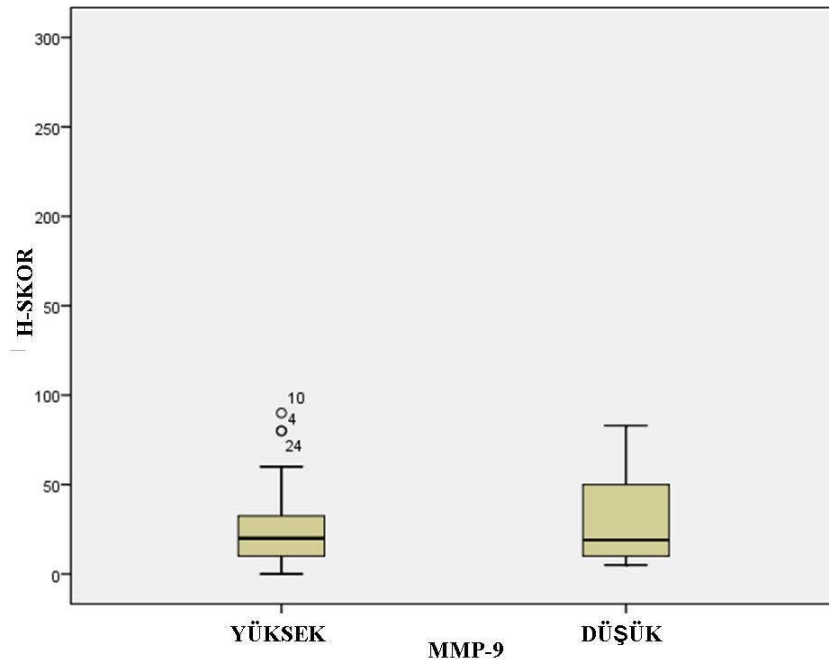
Şekil 4.1: İnvaziv/non invaziv ürotelyal karsinoma olgularında MMP-2 ekspresyonunun boxplot grafiği



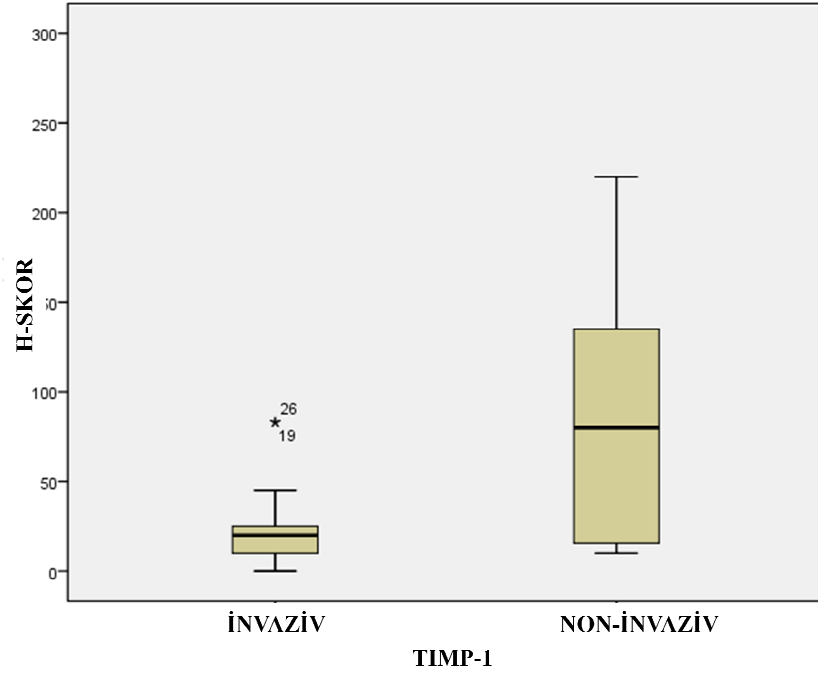
Şekil 4.2: Yüksek/düşük grade'li ürotelyal karsinoma olgularında MMP-2 ekspresyonunun boxplot grafiği



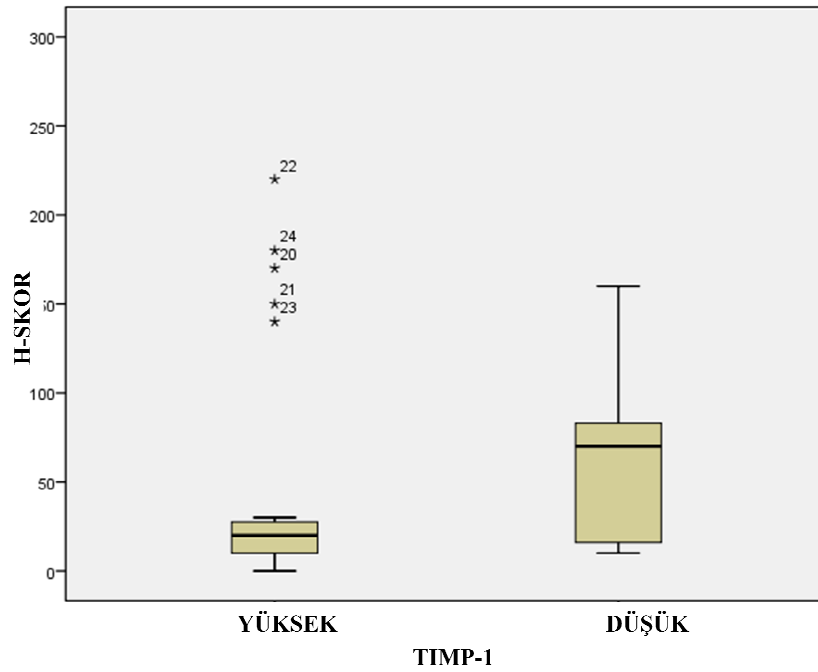
Şekil 4.3: İnvaziv/non invaziv ürotelyal karsinoma olgularında MMP-9 ekspresyonun boxplot grafiği



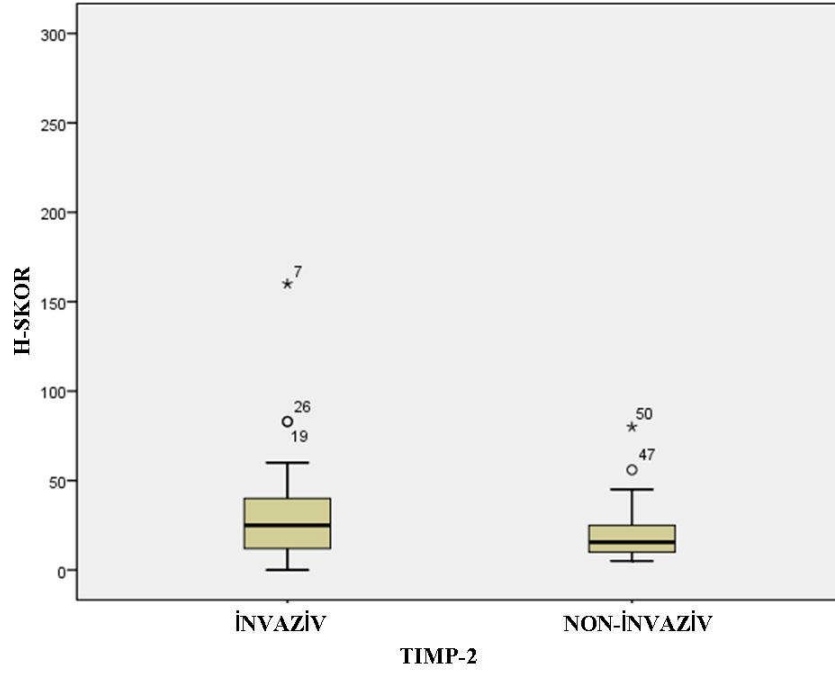
Şekil 4.4: Yüksek/düşük grade'li ürotelyal karsinoma olgularında MMP-9 ekspresyonun boxplot grafiği



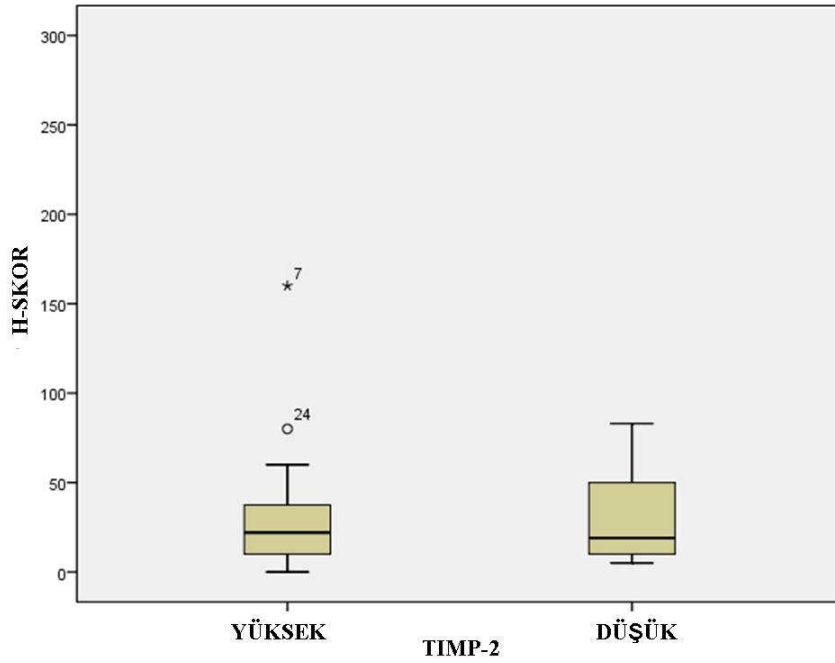
Şekil 4.5: İnvaziv/non invaziv ürotelyal karsinoma olgularında TIMP-1 ekspresyonunun boxplot grafiği



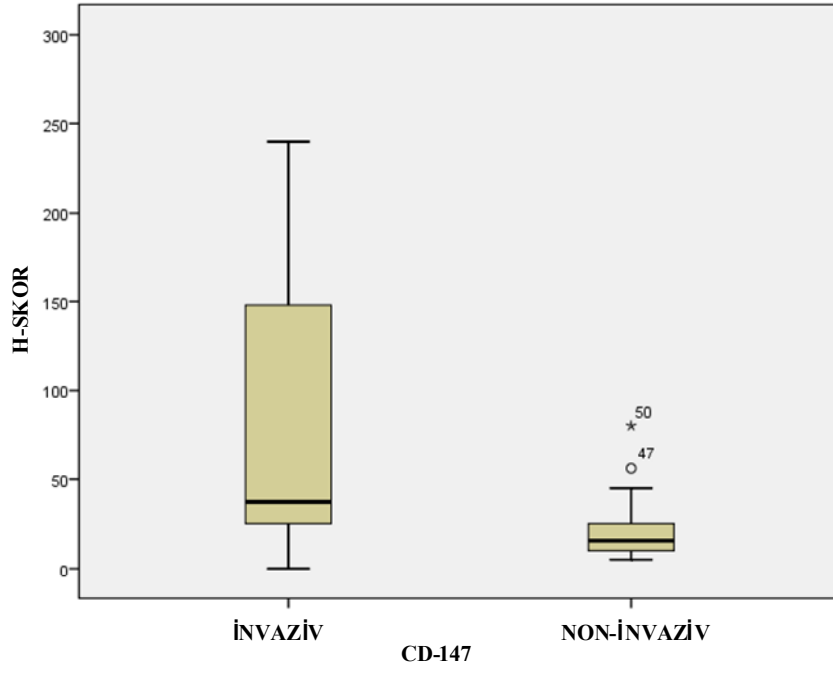
Şekil 4.6: Yüksek/düşük grade'li ürotelyal karsinoma olgularında TIMP-1 ekspresyonunun boxplot grafiği



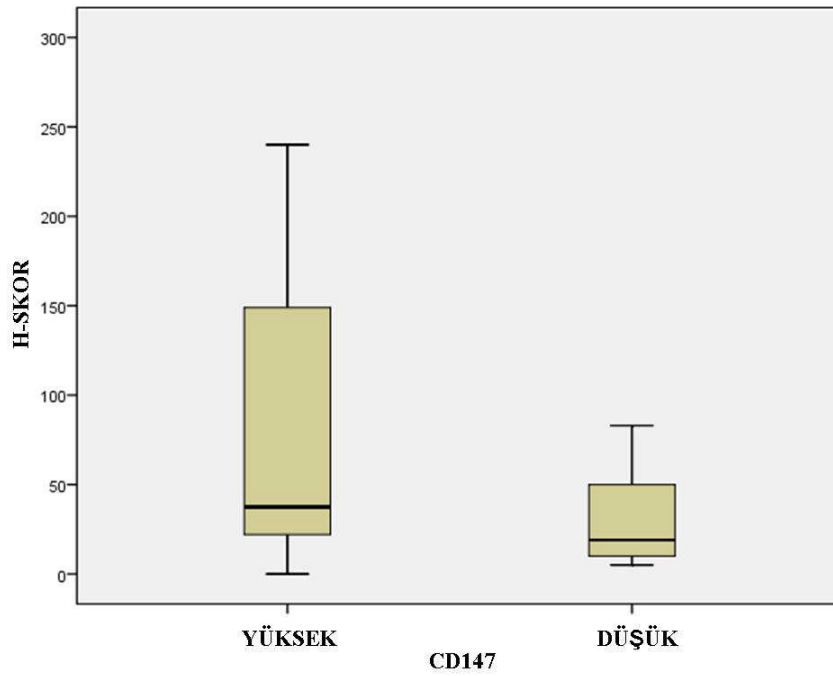
Şekil 4.7: İnvaziv/non invaziv ürotelyal karsinoma olgularında TIMP-2 ekspresyonunun boxplot grafiği



Şekil 4.8: Yüksek/düşük grade'li ürotelyal karsinoma olgularında TIMP-2 ekspresyonunun boxplot grafiği



Şekil 4.9: İnvaziv/non invaziv ürotelyal karsinoma olgularında CD147 ekspresyonunun boxplot grafiği



Şekil 4.10: Yüksek/düşük grade'li ürotelyal karsinoma olgularında CD147 ekspresyonunun boxplot grafiği

TARTIŞMA:

Mesane tümörlerinin sıklığı endüstrileşmiş ülkelerde çevresel faktörlere bağlı olarak giderek artış göstermektedir. Dünyada sık görülen tümörler arasında yedinci sırada olan mesane kanseri, ülkemizde üriner sistem tümörleri arasında ilk sırada yer almaktadır. Mesane tümörleri nin% 98'ini karsinomalar oluşturur ve bunların büyük bir kısmı değişici epitelden köken alır (31).

Ekstraselüler matriks proteinlerinin tümör hücreleri tarafından proteolitik parçalanması kanser invazyonunda kritik bir basamaktır (102). Dolayısıyla, Matriks Metallo Proteinazlar (MMP) tümör çevresi dokunun ekstraselüler matriksinin parçalanmasında kilit rol oynarlar (83).

MMP'ler kollajen ve elastin gibi ekstraselüler matriks komponentlerinin yanı sıra jelatin ve bazal membranı parçalama yeteneği olan, sayıları řu anda 20 olup giderek artan proteaz ailesi üyeleridir. Farklı substratlarına bağlı olarak MMP'ler, jelatinazlar (MMP-2, MMP-9), kollajenazlar (MMP-1, MMP-8, MMP-13), stromelysinler (MMP-3, MMP-10, MMP-11, MMP-7) ve matrisinler (MMP-7,MMP-26) olarak alt gruplara ayrılabilirler. Bütün MMP'ler inaktif prekürsörler olarak sekrete edilirler ve aktif formlara dönüşürler (95).

Tümör hücrelerinin oluşturduğu eksrasellüler matriks metalloproteinaz indükleyicisi olan CD147 gibi faktörler peritümöral fibroblastlardan MMP üretimini uyarırlar(120). Bunların aktiviteleri kendilerinin spesifik inhibitörleri olan doku inhibitör metalloproteinazları (TIMP) aracılığıyla düzenlenir. řu an tanımlanmış 4 farklı TIMP (TIMP-1, 2, 3,4) bulunmaktadır (95,140,141).

Matriks metalloproteinazlar arasında yapılan çalışmalarda en çok MMP-2' nin kötü prognoz göstergesi olduğu görülmüştür.MMP-2'nin tip IV kollajen ve laminin gibi bazal membran proteinlerini yıkma özelliğinin olması nedeni ile tümör hücrelerinden MMP-2 ekspresyonu tümörün invaziv özelliğini artırmaktadır (57) .

MMP-2 ve MMP-9 çok sayıda malignenside (meme, kolon, akciğer vs) değişen oranlarda

eksprese edilmektedir(149). Bu proteinazların artmış ekspresyonlarının pek çok karsinomda,kötü prognoz ve tümör invazyonu ile belirgin olarak korele oldukları saptanmıştır (172).

Literatürde MMP-2 ekspresyonu ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur. Yasuyoshi Miyata ve ark. 91 olguluk ürotelyal karsinoma serilerinde artmış MMP-2 ekspresyonlarının ürotelyal karsinomada grade ve kötü prognoz ile belirgin olarak korele olduğunu saptamışlardır (58).

Grignon ve ark. MMP-2 ekspresyonu ile invazyon ve grade arasında bir ilişki saptamazken (60) Kanayama ve ark sadece grade ile ilişki saptamışlardır.Gerhards ve ark. MMP-2'ye ek olarak MMP-9'un da grade ile korelasyon gösterdiğini saptamışlardır (62).

Vasala ve ark.'nın 54 olguluk serilerinde MMP-2 pozitivitesi ile grade arasında korelasyon olmadığı ($p=0.983$), fakat MMP-2 pozitivitesi ile invazyon arasında korelasyon olduğunu ($p=0.04$) saptamışlardır. MMP ekspresyonunun invaziv tümörlerin % 80'inde pozitifken non-invaziv tümörlerde bu oranın % 53 olduğunu belirtmişlerdir (63).

Vasala ve ark.'a benzer şekilde çalışmamızda MMP-2 ekspresyonu ile invazyon arasında pozitif korelasyon ($p=0.003$) gözlerken grade ile MMP-2 ekspresyonu arasında anlamlı bir korelasyon ($p=0.078$) saptamadık

TIMP-2, MMP-2'nin doku inhibitörüdür.Spesifik olarak MMP-2'yi inhibe eder ve fibroblast gibi bazı hücrelerde pro-MMP-2 ile birlikte sekrete edilir (138).TIMP-2 ekspresyonun grade ve invazyon ilikisi ile ilgili literatürlerde farklı sonuçlar elde edilen çalışmalar mevcuttur.

Moser ve ark. çalışmalarında, MMP-2 ve TIMP-2 ekspresyonları arasında negatif korelasyon bulunduğunu, ancak bu ekspresyon paterninin klinik ya da histolojik prognostik parametrelerle ilişkili olmadığını belirtmiştir(77).

Graesslin ve ark. ise çalışmalarında, artan histolojik grade ile MMP-2 ekspresyonunda

artma, TIMP-2 ekspresyonunda ise azalma olduğunu belirtmişlerdir(146).

Kanayama ve ark.'ın çalışmasında TIMP-2 ekspresyonun kötü prognoz göstergesi olduğu(147), Monier ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada grade ve invazyonla ters korelasyon gösterdiği görülmüştür(148).

Vasala ve ark.'nın çalışmasında grade ve invazyon ile istatistiksel korelasyon göstermediği fakat sağ kalım oranı ile TIMP-2 ekspresyonun güçlü korelasyon gösterdiği saptanmıştır (149).

Yine aynı şekilde Miyata ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TIMP-2 ekspresyonun ne grade, ne de invazyon ile istatistiksel korelasyon göstermediği görülmüştür(150).

Bizim çalışmamızda da literatürdeki gibi TIMP-2 ekspresyonun hem invazyon ile ($p=0.077$), hem de grade ile ($p=0.930$) istatistiksel olarak anlamlı korelasyonu görülmedi.

TIMP-2, MMP-2'nin doku inhibitörü olmakla birlikte MMP-2'nin aktivasyonunda da rol oynamaktadır. MT1-MMP/TIMP-2 kompleksi hücre yüzeyinde MMP-2'nin latent formu olan proMMP-2 üzerinden aktivasyon yapar. Diğer yandan TIMP-2, MMP-2'nin aktif bölgesine bağlanarak onu inhibe eder(65).MMP-2 ve TIMP-2 arasında moleküler düzeyde saptanan bu ilişkiye paralel olarak immünohistokimyasal ekspresyonlarının negatif korelasyon göstermesi beklenirken çalışmamızda ($r=0.410, p=0.038$) bu yönde anlamlı bir sonuç saptanamamıştır. Bu duruma TIMP-2'nin diğer MMPlardan bağımsız etkilerinin- tümör anjiogenezisini inhibe etmek gibi- sebep olduğunu düşünmekteyiz.

Ayrıca, stresle aktive olan mitojen-aktif protein (MAP) kinase, integrin gibi birçok sitokin ve kemokinin MMP-2 aktivasyonunu azaltarak hücre invazyonunda MMP-2 üzerinden etkili olacağını bildirmiştir (68).

Dolayısıyla MMP-2 aktivasyonu birden fazla mekanizma ile gerçekleşmekte

olup, MT1-MMP-TIMP-2 kompleksi, MMP-2 aktivasyonunu etkileyen birçok mekanizmadan sadece biri olarak gözükmektedir.

Çeşitli MMP ve TIMPlerin rölatif konsantrasyonları ve ekstraselüler ortam gibi faktörler, tümör hücrelerinin TIMP ekspresyon değişikliklerine yanıtını etkiliyor olabilir.

Matriks metalloproteinazlar ve onların doku inhibitörlerinin, proteolitik aktivite değişimine neden olan etkileri, bu proteinlerin lokal mikroçevredeki dengelerine bağlıdır(74).

MMP ve TIMP'lerin kompleks etkileşimleriyle rol aldığı, malign hastalığın lokal ve uzak yayılımının anlaşılması için literatürde ortaya farklı sonuçlar immunhistokimyasal boyama prosedurlerinin standart olmamasına bağlanabilir.

Literatürde MMP-9'un ürotelyal karsinoma vakalarında ekspresyonu ile ilgili farklı sonuçları olan çalışmalar mevcuttur. Himelstein ve arkadaşlarının MMP-9 ile ilgili yaptığı çalışmada MMP- 9 ekspresyonunun, hem kanser hücrelerinde hem de çevre konak dokuda arttığını göstermiştir (151). Yine pek çok farklı çalışmada MMP-9 ekspresyonun hem grade, hem de invazyon derinliği ile istatistiksel olarak korelasyon gösterdiği saptanmıştır (152,153,154,155,156).

Yasumitu ve ark. MMP-9'un MMP-2'e göre ekstrasellüler matriks yıkımında 25 kattan daha fazla etkin olduğunu ve metastatik potansiyelinin de aynı şekilde daha fazla olduğunu vurgulamıştır (157) .

Vasala ve ark. ise MMP-9 ekspresyonunun ürotelyal karsinomda düşük (%42'sinde pozitif) ve yüksek grade'li (%33'ünde pozitif) tümörler arasında anlamlı farklılık göstermediğini saptayarak diğer çalışmaların aksine artmış MMP-9 ekspresyonlarının ürotelyal karsinomada grade ve kötü prognoz ile korele olmadıklarını belirtmişlerdir (149).

Benzer şekilde Durkan ve ark. da MMP-9 ekspresyonu ile grade ve invazyon arasında istatistiksel korelasyon saptamamışlardır (158).

Biz de Vasala ve Durkan'ın sonuçlarına paralel olarak MMP-9 ekspresyonu ile invazyon ve (p=0.130) ve grade (p=0.977) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptamadık.

Literatürlerde yapılan çalışmalarda genellikle TIMP-1 ile grade ve metastatik potansiyel arasında ters ilişki saptanmıştır. Örneğin Grignon ve ark. TIMP-1'in ilerlemiş ve anaplastik karsinomlarda azaldığını, normal dokuda ve iyi differansiye karsinomlarda yüksek olduğunu saptamışlardır (162).

Yüksek TIMP-1 ve TIMP-2 seviyelerinin bazı meme neoplazilerinde artmış tümör agresifliği ile korele bulunması, TIMP-1 ve TIMP-2 aktivitesinin metastaz ve invazyonu sınırlamada yeterli olmadığını düşündürmektedir (162).

Literatürdeki bu farklı sonuçlar TIMP'ların multifonksiyonel özelliklerine bağlanmakta ve sonuçta tümör progresyonunda paradoksik etki göstermelerine sebep olmaktadır (163).

Bu sebeple de TIMP ekspresyonlarının araştırıldığı çeşitli malignitelerde farklı sonuçlar alınmıştır. Ylisirniö ve ark. akciğer tümörlerinde TIMP-1'in kötü prognoz göstergesi olduğunu belirtmişlerdir (164).

Genellikle iyi prognostik bir parametre olarak bildirilen TIMP-2'nin bazı çalışmalarda tam tersi bir etkiye sahip olduğu belirtilmektedir (165).

Hatta Rauvala ve ark. over kanserlerinde TIMP-1 ekspresyonunun tümör agresivitesiyle korelasyon gösterdiğini, buna karşın TIMP-2'nin iyi prognoz göstergesi olduğunu bildirmişlerdir (166).

Çalışmamızın sonuçları TIMP-1'in literatürde belirtilen anti-invaziv etkisini destekler nitelikteydi. Non-invaziv ürotelyal karsinomların TIMP-1 değerleri invaziv olanlardan anlamlı düzeyde fazlaydı (p=0.004).

Ayrıca her ikisi de doku inhibitörü olan TIMP-1 ve TIMP-2 arasında saptadığımız negatif korelasyonun da bu belirleyicilerin multifonksiyonel aktivitelerine bağlı olabileceğini düşündük (r=-0.368,p=0.064).

Çoğu çalışmada MMP-2 ekspresyonunun tümör agresifliği ile korele bulunması bunların spesifik inhibitörü olan TIMP'ların tedavide kullanılabilirliği fikrini doğurmuştur.

Yapılan bazı çalışmalarda gerçekten de TIMP kullanımının invazyon ve metastazı azalttığı ortaya konmuştur (167,168).

Ancak Kruger ve ark. hayvanlarda TIMP (batimastat) kullanımını sonrası karaciğer metastazı geliştiğini bildirmesi üzerine ilacın klinik kullanımı konusunda ek çalışmalara ihtiyaç duyulduğu anlaşılmıştır (169).

Prognozu yalnızca MMP-2 veya MMP-9 ekspresyonuna bakarak değerlendirmektense MMP-2-/TIMP-2 ya da MMP-9/TIMP-1 fenotipinin daha yararlı olabileceği belirtilmektedir (165). Fizyolojik şartlarda MMP/TIMP dengesi sıkı denetim altındadır. MMP9/TIMP-1 ve MMP-2/TIMP-2 oranları direkt proteolitik aktiviteyi yansıttığı ve bu oranın metastazdan sorumlu olduğu bildirilmiştir (169). Bu yüzden de MMP-2/TIMP-2 ve MMP9/TIMP-1 oranları malign tümör dokularında benign'lere oranla yüksek bulunmuştur.

K.Gohji ve ark. 97 ürotelyal karsinomu ELİZA yöntemi ile inceledikleri çalışmalarında invaziv ve yüksek grade'li olgularda MMP-2/TIMP-2 oranının 11 ve üstünde olduğunu, noninvaziv ve düşük grade'li olgularda ise 11'in altında olduğunu saptamışlardır (170).

Sanaa Eissa ve ark. ise yüksek grade'li tümörlerde MMP-2/TIMP-2 ve MMP-9/TIMP-2 oranının düşük grade'li olanlara göre sırasıyla 41.33 ve 9.96 kat arttığını tespit etmişlerdir (149).

Çalışmamızda saptadığımız ilginç bir bulgu aslen MMP-9'un doku inhibitörü olan TIMP-1 ile MMP-2 arasındaki negatif korelasyondur ($r=-0.680, p=0.00$). TIMP-1 ve MMP-9 arasında saptadığımız anlamlı negatif korelasyon ters yönde etkidikleri düşünürse beklediğimiz bir bulgudur. Ancak benzer bir negatif korelasyon MMP-2 ve onun doku inhibitörü olan TIMP-2 arasında görülmemiştir ($r=0.410, p=0.038$).

MMP-2 ile TIMP-1 korelasyonunu destekleyen bir başka bulgumuz da invaziv tümörlerde non-invaziv tümörlere kıyasla MMP-2 ekspresyonlarının anlamlı düzeyde yüksek , TIMP-1 ekspresyonlarının ise anlamlı düzeyde düşük olmasıdır. Literatürde TIMP-1'in daha çok MMP-9 ile ilişkili olduğu bildirilmesine rağmen çalışmamızın sonuçları TIMP'ların MMP-2'nin yanı sıra MMP-9 da dahil olmak üzere birden fazla faktörden etkilenebileceğini düşündürmüştür.

CD147 gibi tümör hücreleri tarafından oluşturulan ve ekstrasellüler matriks metalloproteinaz indükleyicisi olan bazı faktörler peritümöral fibroblastlardan MMP üretimini uyarırlar (132).

CD147 ekspresyonunun serviks kanseri (173) ,hepatosellüler kanser (174), meme (113) ve prostat kanseri (141) gibi pek çok malignitede prognoz ile korele olduğu saptanmıştır.

Ürotelyal karsinomalar ile Wei-De Zhong ve ark.'nın da belirttiği gibi literatürde fazla çalışma bulunmamaktadır. Bu araştırmacılar 101 ürotelyal karsinoma olgusunda CD147 ekspresyonu ile prognoz ilişkisini incelemişlerdir. CD147 overekspresyonunun düşük malignite potansiyelli tümörlerde %28.6 iken, düşük grade'li tümörlerde %35'e yükseldiğini, yüksek grade'li tümörlerde ise %95 seviyesine ulaştığını tespit etmişlerdir (171).

Ayrıca 2002 ile 2005 yılları arasında tanı konmuş 21 düşük malignite potansiyelli ürotelyal karsinoma, 40 düşük grade'li ürotelyal karsinoma ve 40 yüksek grade'li ürotelyal karsinoma olgusunu inceleyerek bunlardan yüksek grade'li olguların (%95), düşük grade'li(%47) ve düşük malignite potansiyelli (%29) olgulara göre daha fazla CD147 ekspresyonu gösterdiğini saptamışlardır (171).

Grade ile CD 147 ilişkisini inceleyen bir diğer çalışmada düşük grade'li tümörlerin % 32'sinde güçlü, % 27'sinde ise zayıf pozitiflik gözlenirken yüksek grade'li tümörlerin

%63'ünde güçlü, %23'ünde ise zayıf pozitiflik bildirilmektedir (160). Ayrıca CD147 ekspresyonunun tümör grade'i ($p = 0.002$), tümör rekürrensi ($p = 0.009$), tümör progresyonu ($p = 0.009$) ve hasta ölümü ($p = 0.01$) ile anlamlı ilişkisi olduğu görülmüştür (171).

CD147 ekspresyonunun invazyonla ilişkisini inceleyen Sabine Reithdorf ve ark.'ı da noninvaziv ürotelyal karsinomların %26'sında pozitiflik saptarken bu oranın invaziv tümörlerde %46'ya yükseldiğini gözlemişlerdir (163).

Çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak invaziv tümörlerde CD147 ekspresyonları non-invaziv gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış bulundu. Benzer şekilde yüksek grade'li tümörlerde de bu farkın anlamlı düzeyde düşük grade'li tümörlerden daha fazla olduğu tespit edildi.

Beklediğimiz üzere MMP-2 ve MMP-9'un doku indükleyicisi olan CD147 ile hem MMP-2 ($r=0.658, p=0.00$), hem de MMP-9 ($r=0.531, p=0.005$) ekspresyonları arasında da anlamlı pozitif korelasyon elde ettik.

CD147 ekspresyonu ile ürotelyal karsinoma progresyonu arasında hem literatürde hem de çalışmamızda saptanan bu anlamlı korelasyon CD147'nin invaziv tümörleri erken dönemde tespit etmemizde yararı olacağını düşündürmüştür. Ayrıca tedavide planlanmasında etkin rol oynayacak iyi bir immün belirleyici aday gibi görülmektedir.

Matriks metalloproteinaz inhibitörleri ise antimetastatik ve antianjiogenik özellikleri barındıran yeni bir gruptur. Bunlar ekstrasellüler matriks degradasyonu yaparlar, anjiogenez ve metastazda kilit role sahiptirler (161). Ancak uzun süren tedavide muskuloskeletal yan etkileri oluşması nedeniyle tedavide rutin kullanımları bugün halen tartışmalıdır (161).

SONUÇ

Bu çalışmada mesane ürotel karsinoma tanısı almış 50 adet olgu incelendi. Bunlardan 18 tanesi invaziv yüksek grade'li, 8 tanesi invaziv düşük grade'li, 6 tanesi non-invaziv yüksek grade'li ve 18 tanesi noninvaziv düşük grade'li tanılı olgulardan oluşmaktadır.

Olgulara ait parafin bloklardan hazırlanan kesitlere, MMP-2, MMP-9, CD147, TIMP-1 ve TIMP-2 immün belirleyicileri uygulandı. Bu immün belirleyicilerin ekspresyonu ile grade ve invazyon ilişkisi incelendi.

MMP-2, MMP-9, CD147, TIMP-1 ve TIMP-2 tümörlü dokularda değişen yaygınlık ve şiddette boyandı.

MMP-2 ekspresyonu ile invazyon açısından anlamlı ve doğru orantılı bir ilişki saptandı. Fakat grade ile anlamlı korelasyon görülmedi.

Metalloproteinaz inhibitörlerinden MMP-9 inhibitörü TIMP-1 ekspresyonu ile invazyon arasında anlamlı ters orantılı bir ilişki saptandı.

MMP-9 ekspresyonu ile histolojik grade ve invazyon açısından anlamlı ilişki görülmedi.

Metalloproteinaz inhibitörlerinden MMP-2 inhibitörü TIMP-2 ekspresyonu ile histolojik grade ve invazyon açısından anlamlı ilişki görülmedi.

Bu ters korelasyon değerlendirildiğinde TIMP'ların bir çok faktörlerden etkilenebileceği ve aynı biyolojik ortamda birbiri içine geçmiş inhibisyon-aktivasyon basamaklarının kesin sınırlarla birbirinden ayrılmasının da beklenilmemesi gerektiği bu gibi sonuçların değerlendirilmesinde akılda tutulmalıdır.

Ekstrasellüler matriks indükleyicisi CD147(EMMPRIN) ekspresyonu ile hem invazyon hem de grade açısından anlamlı ve doğru orantılı bir ilişki saptandı.

MMP-2 ve CD147'nin olumsuz prognostik faktör ve erken invaziv dönemde önemli olduğu ortaya çıkmaktadır. Bununla birlikte MMP'ların ve CD147 mesane ürotelyal karsinoma hastalarındaki prognostik önemi daha fazla sayıda hasta içeren çalışmalar ile desteklenmesi gerekir.

KAYNAKLAR

- 1- Reuter VE. Urinary Bladder, ureter and renal pelvis. In Mills SE(ed.): Histology for pathologists ,ed. 3. Philadelphia, 2007, Lippincott Williams and Wilkins, pp.909-942.
- 2- Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology, 5th Edition Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins 2010; 1830-1865.
- 3- Rosai J. Urinary Tract. In Ackermann's Surgical Pathology, 10th ed. Mosby 2011: 1247–1271.
- 4- International Agency for Research on Cancer (IARC), Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs , World Health Organization Classification of Tumours, Edited by John N. Eble, Guido Sauter, Jonathan I. Epstein, Isabell A. Sesterhenn 2004, chapter: 2, 89-120.
- 5- Kılıç B., Hamzaoğlu O. Türkiye Sağlık istatistikleri 1997.1. baskı Ankara Türk Tabipleri Birliği Yayınları, 1997; 82-96.
- 6- 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.
- 7- Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2007. CA Cancer J Clin 2007; 57(1): 43-66.
- 8- Sengupta N. Cancers of the bladder perspectives in public health, September 2004; 124 (5): 228-29.
- 9- Murta-Nascimento C, Schmitz-Drager BJ, Zeegers MP, et al. Epidemiology of urinary bladder cancer: from tumor development to patient's death. World J Urol 2007; 25: 285-95.
- 10- Samanic C, Kogevinas M, Dosemeci M et al. Smoking and bladder cancer in Spain: Effects of tobacco type, timing, environmental tobacco smoke and gender. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2006; 15: 1348-54.
- 11- Olfert SM, Felknor SA, Delclos GL. An updated review of the literature: risk factors for

- bladder cancer with focus on occupational exposures. *South Med J* 2006;99: 1256-63.
- 12- Cassidy A, Wang W, Wu X, Lin J. Risk of urinary bladder cancer: a case-control analysis of industry and occupation, *BMC Cancer* 2009;9: 443.
- 13- Scelo G, Brennan P. The epidemiology of bladder and kidney cancer *Nature Clinical Practice urology*, April 2007; 4 (4): 205-17.
- 14- Pelucchi C, Galeone C, Tramacere I, et al. Alcohol drinking and bladder cancer risk: a meta-analysis, *Ann Oncol*, First published online: October 29 2011.
- 15- Zhou J, Smith S, Giovannucci E, Michaud DS. Reexamination of total fluid intake and bladder cancer in the Health Professionals Follow-Up Study Cohort *Am. J. Epidemiol.* (2012) First published online: February 21, 2012.
- 16- Cantor KP, Lynch CF, Hildesheim ME, et al. Drinking water source and chlorination byproducts. I. Risk of bladder cancer. *Epidemiology* 1998; 9: 218)(Villanueva CM, Cantor KP, Grimalt JO, et al. Bladder Cancer and Exposure to Water Disinfection By-Products through Ingestion, Bathing, Showering, and Swimming in Pools.
- 17- Derby LE, Jick H Acetaminophen and renal and bladder cancer. *Epidemiology* 7:358-62.)(Rosenberg L, Rao RS, Palmer JR et al (1998) Transitional cell cancer of the urinary tract and renal cell cancer in relation to acetaminophen use (United States). *Cancer Causes Control* 1996; 9:83–88.
- 18- Villares da Costa LA, Wroclawski ML, Machado MT, et al. Non-occupational risk factors for bladder cancer *einstein*. 2008;6(4):507-10.
- 19- Dietrich K, Demidenko E, Schned A, et al. Parity, early menopause and the incidence of bladder cancer in women: A case-control study and meta-analysis, *European Journal of Cancer* 2001; 47: 592-99.
- 20- Negri E, La Vecchia C. Epidemiology and prevention of bladder cancer, *European Journal of Cancer Prevention* 2001; 10: 7-14.
- 21- Kaldor JM, Day NE, Kittelmann B, et al: Bladder tumours following chemotherapy and radiotherapy for ovarian cancer: a casecontrol study. *Int J Cancer* 1995; 63:1-6.

- 22- Toruner GA, Akyerli C, Ucar A, et al. Polymorphisms of glutathione S-transferase genes (GSTM1, GSTP1 and GSTT1) and bladder cancer susceptibility in the Turkish population. *Arch Toxicol*. 2001 Oct;75(8): 459-64.
- 23- International Agency for Research on Cancer (IARC), Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs , World Health Organization Classification of Tumours, Edited by John N. Eble, Guido Sauter, Jonathan I. Epstein, Isabella A. Sesterhenn 2004, chapter: 2, 89-120.
- 24- Campbell Üroloji 8. Baskı Patrick C. Walsh , Alan . Retik, E. Darracott Vaughan, Alan J. Wein 2005 Saunders Company Cilt 4.
- 25- Winay Kumar, Abul K. Abbas, Nelson Fausto, Temel Patoloji , Neoplazi 7. th ed. Aydın Sav, Şükrü Oğuz Özdamar 2009, 269-339.
- 26- Hanahan D, Weinberg RA: The hallmarks of cancer, *Cell* 100;57, 2000.
- 27- Baffa R, Letko J, McClung C, LeNoir J, Vecchine , Gomella G , Molecular genetics of bladder cancer: targets for diagnosis and therapy. *J Exp Clin Cancer Res* 2006 Jun;25(2):145-60
- 28- Cordon-Cardo C , Molecular alterations associated with bladder cancer initiation and progression. 1: *Scand J Urol Nephrol Suppl*. 2008 Sep;(218):154-65.
- 29- Ramy F. Youssef , Anirban P. Mitra . Molecular targets and targeted therapies in bladder cancer management *World Journal of Urology* (2009) 27:9-20.
- 30- Modified from: Eble J, Sauter G, Epstein J, et al. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. Lyon, France: IARC Press, 2004.
- 31- Maurizio Buscarini, Marcus L. Quek, Parksh Gill, Gangbin Xia, David Gunn And John P. Stein, Molecular prognostic factors in bladder cancer. *BJU*. 95, 739-742.
- 32- Sounni NE, Noel A. Membrane type-matrix metalloproteinases and tumor progression. *Biochimie* 2005; 87(3-4):329-42.
- 33- Taylor DC, Bhagavan BS, Larsen MP, et al. Papillary urothelial hyperplasia. A precursor

to papillary neoplasms. *Am J Surg Pathol* 1996;20(12):1481-1488.

34- Chow NH, Cairns P, Eisenberger CF, Schoenberg MP, Taylor DC, Epstein JI, Sidransky D. Papillary urothelial hyperplasia is a clonal precursor to papillary transitional cell bladder cancer. *Int J Cancer*. 2000;Nov 20;89(6):514-8.

35- John N. Eble, Guido Sauter, Jonathan I. Epstein & Isabell A. Sesterhenn. *Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs* IARC Press. Lyon, 2004. 89-157.

36- Cheng L, Darson M, Cheville JC, Neumann RM, Zincke H, Nehra A, Bostwick DG. Urothelial papilloma of the bladder. Clinical and biologic implication; Indian University, 1999. 89-157.

37- *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*. Inverted urothelial papilloma: report of 151 cases. 2005 Jan 15;43(2):105-7.

38- Hellsap B. New WHO classification of urothelial carcinoma of the urinary bladder. *Verh Dtsch Ges Pathol*. 2002;86:57-66.

39- Bates AW, Baithun SI. The significance of secondary neoplasms of the urinary and male genital tract. *Virchows Arch* 2002;40:640-647.

40- Lagwinski N, Thomas A, Stephenson AJ, Cambell S, Hoschar AP, El-Gabry E, Dreicer R, Hansel DE. Squamous cell carcinoma of the bladder: a clinicopathologic analysis of 45 cases. *Am J Surg Pathol* 2007;31:1777-1787.

41- Guo CC, Gomez E, Tamboli P, Bondaruk JE, Kamat A, Basset R, Dinney CP, Czerniak BA. Squamous cell carcinoma of the urinary bladder: clinicopathologic and immunohistochemical study of 16 cases. *Hum Pathol* 2009;40:1448-1452.

42- Shokeir AA. Squamous cell carcinoma of the bladder: pathology, diagnosis and treatment. *BJU Int*. 2004;Jan;93(2):216-20.

43- Mahran MR, el-Baz M. Verrucous carcinoma of the bilharzial bladder. Impact of invasiveness on survival. *Scand J Urol Nephrol* 1993;27:189-192.

44- Suh N, Yang XJ, Tretiakova MS, Humphrey PA, Wang HL. Value of CDX2, villin, and alpha-

- methylacyl coenzyme A racemase immunostains in the distinction between primary adenokarsinoma of the bladder and secondary colorectal adenocarcinoma. *Mod Pathol* 2005,18:1217-1222.
- 45- Neuroendocrine Tumor of the Bladder Shailen S. Sehgal, MD, Alan J. Wein, MD, PhD (Hon), Zhanyong Bing, MD, PhD, S. Bruce Malkowicz, MD, Thomas J. Guzzo, MD, MPH Department of Surgery, Division Urology, and Department of Pathology, University of Pennsylvania Health 2010.
- 46- Leuschner I, Harms D, Mattke A, Koscielniak E, Treuner J. Rhabdomyosarcoma of the urinary bladder and vagina: clinicopathologic study with emphasis on recurrent disease: a report from the Kiel Pediatric Tumor Registry and the German CWS study. *Am J Surg Pathol* 2001,25:856-864.
- 47- Van Rijn BWG, Van der Kwast TH, Vis AN. FGFR3 and p53 characterize alternative genetic pathways in the pathogenesis of urothelial cell carcinoma. *Cancer Res* 2004 ; 64 (6) : 1911 –14
- 48- Bischoff CJ, Clark PE. Bladder cancer *Curr Opin Oncol* 2009,21:272-277.
- 49- Fukui I, Yokokawa M, Sekine H, Yamada T, Hosoda K, Ishiwata D, Oka K, Sarada T, Tohma T, Yamada T, Oshima H. Carcinoma in situ of the urinary bladder. Effect of associated neoplastic lesions on clinical course and treatment. *Cancer* 1987-59:164-173.
- 50- Soloway MS, The management of superficial bladder cancer. *Cancer* 1980,45:1856-1865.
- 51- Klein EA, Rogatko A, Herr HW. Management of local bacillus Calmette-Guerin failures in superficial bladder cancer. *J Urol* 1992,147:601-605.
- 52- Kaufman DS, Shipley WU, Griffin PP, Heney NM, Althausen AF, Efid JT. Selective bladder preservation by combination treatment of invasive bladder cancer. *N Engl J Med* 1993,329:1377-1382.
- 53- Amyling CL, Thrasher JB, Fraizer HA, Dodge RK, Robertson JE, Paulson DF. Radical cystectomy for stage Ta, Tis and T1 transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol*

1994,151:31-36.

54- Fossa SD, Waehre H, Aass N, Jacobsen AB, Olsen DR, Ous S. Bladder cancer definitive radiation therapy of muscle-invasive bladder cancer. A retrospective analysis of 317 patients. *Cancer* 1993,72:3036-3043.

55- Vieweg J, Whitmore WF Jr, Herr HW, Sogani PC, Russo P, Sheinfeld J, Fair WR. The role of pelvic lymphadenectomy and radical cystectomy for lymph node-positive bladder cancer. The Memorial Sloan, Kettering Cancer Center experience. *Cancer* 1994,73:3020,3028.

56- Grossman HB, Natale RB, Tangen CM, Speights VO, Vogelzang NJ, Trump DL, DeVere White RW, Sarosdy MF, Wood DP, Raghaven D, Crawford ED. Neoadjuvant chemotherapy plus cystectomy compared with cystectomy alone for locally advanced bladder cancer. *N Engl J Med* 2003,349:859-866.

57- Vaisanen A, Kallioinen M, Taskinen PJ, Turpeenniemi-Hujanen T: MMP-2 (72Kd type IV collagenase) expression occurs in the early stage of human melanocytic tumour progression and may have prognostic value. *J Pathol* 180:283-289, 1996.

58- Yasuyoshi Miyata, Shigeru Knada, Koichironomata, Yasushi Hayashida, and Hiroshi Kane take expression of metalloproteinase-2 metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase -1 in transitional cell carcinoma of upper urinary tract correlation with tumor stage and survival. *urology* 63: 602–608, 2004.

59- Lee TK, Miyamoto H, Miller JS, Fajardo DA, Netto GJ. Papillary urothelial neoplasm of low malignant potential (PUNLMP): outcome analysis. *Lab Invest* 2009.

60- Grignon DJ, Sakr W, Toth M, et al: High levels of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) expression are associated with poor outcome in invasive bladder cancer. *Cancer Res* 56: 1654–1659, 1996.

61- Afonso J, Santos LL, Amaro T, Lobo F, Longatto-Filho A. The aggressiveness of urothelial carcinoma depends to a large extent on lymphovascular invasion—the prognostic contribution of related molecular markers. *Histopathology* 2009,55:514-524.

- 62- Kanayama H, Yokota K, Kurokawa Y, et al: Prognostic values of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 expression in bladder cancer. *Cancer* 82:1359–1366, 1998.
- 63- Kaija Vasala, Paavo , And Taina Turpeeniemi-Hujanen matrixmetalloproteinase-2 immunoreactive protein as aprognostic marker in bladder urology 62:952-957,2003.
- 64- Lipponen PK,Eskelinen MJ,Jauhiainen K,Harju E,Terho R,Haapasalo H.Graading of superficial bladder cancer by quantitative mitotic frequency analysis.*J Urol* 1993,149:36-41.
- 65- Hofmann UB,Westphal JR,Zendman AJW Becker JC,Ruiter DJ,Muijen GNP:Expression and activation of matrix metalloproteinase -2(MMP-2) and its colocalization with membrane-type 1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP) correlate with melanoma progression.*J Pathol* 191:245-256,2000
- 66- Sheinfeld J, Reuter VE, Melamed MR, Fair WR, Morse M, Sogani PC, Herr HW,Whitmore WF, Cordon-Cardo C.Enhanced bladder cancer detection with the Lewis X antigen as a marker of neoplastic transformation.*J Urol.* 1990 Feb;143(2):285-8.
- 67- Mora LB, Nicosia SV, Pow-Sang JM, Ku NK, Diaz JI, Lockhart J, Einstein A.Ancillary techniques in the followup of transitional cell carcinoma: a comparison of cytology, histology and deoxyribonucleic acid image analysis cytometry in 91 patients. *J Urol* 1996;156:49-54.
- 68- Denkert C,Siegert A,Leclere A,Turzynski A,Hauptmann S:An inhibitor of stres-activated MAP-kianases reduces inasion and MMP-2 expression on malignant melanoma cells.*Cin Exp Metastasis* 19:79-85,2002.
- 69- Pich A,Chiusa L,Formiconi A,Galliano D,Bortolin P,Comino A,Navone R.Proliferative activity is the most significant predictor of recurrence in non-invasive papillary urothelial neoplasms of low malignant potential and grade 1 papillary carcinomas of the bladder.*Cancer* 2002,95:784-790.
- 70- Mulder AH, Van Hoogtem JC,Slyvester R,ten Kate FJ,Kurth KH,Ooms EC, Van der

Kwast TH. Prognostic factors in bladder carcinoma. Histologic parameters and expression of a cell cycle-related nuclear antigen (Ki-67). *J Pathol* 1992,166:37-43.

71- Kanekura T, Chen X, Kanzaki T: Basigin (CD147) is expressed on melanoma cells and induces tumor cell invasion by stimulating production of matrix metalloproteinases by fibroblasts. *Int J Cancer* 99:520-528, 2002.

72- Sun J, Hemler ME: Regulation of MMP-1 and MMP-2 production through CD 147/extracellular matrix metalloproteinase inducer interactions. *Cancer Res* 61:2276-2281, 2001.

73- Soini Y, Turpeenniemi-Hujanen T, Kamel D, Autio-Harmanen H, Risteli J, Risteli L, Nuorva K, Paakko P, Vahakangas K. P53 immunohistochemistry in transitional cell carcinoma and dysplasia of the urinary bladder correlates with disease progression. *Br J Cancer* 1993,68:1029-1035.

74- Chambers AF, Matrisian LM. Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis. *J Natl Cancer Inst* 1997: 1260–1270.

75- Pan CC, Chang YH, Chen KK, Yu HJ, Sun CH, Ho DM. Prognostic significance of the 2004 WHO/ISUP classification for prediction of recurrence, progression, and cancer-specific mortality of non-muscle-invasive urothelial tumors of the urinary bladder: a clinicopathologic study of 1,515 cases. *Am J Clin Pathol* 2010,133:788-795.

76- Bergers G, Brekken R, McMahon G, et al: Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. *Nat Cell Biol* 2: 737–744, 2000.

77- Moser PL, Kieback DG, Hefler L, Tempfer C, Neunteufel W, Gitsch G. Immunohistochemical detection of matrix metalloproteinases (MMP) 1 and 2, and tissue inhibitor of metalloproteinase 2 (TIMP 2) in stage IB cervical cancer. *Anticancer Res*. 1999:4391-4393.

78- (Korkolopoulou P, Konstantinidou A-E, Thomas-Tsagli E, Christadoulou P, Kapralos

P,Davaris P,WAF1/p21 protein expression is an independent prognostic indicator in superficial and invasive bladder cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2000,8:285-292.

79- Alsheikh A,Mohamadali Z,Jones E,Masterson J,Gilks CB.Comprasion of the WHO/ISUP classification and cytokeratin 20 expression in predicting the behavior of low-grade urothelial tumors. *Mod Pathol* 2001,14:267-272.

80- Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res* 2002; 90(3):251-62.

81- (Libby P, Lee RT. Matrix matters. *Circulation* 2000; 102(16):1874-6.)

82- Thorgeirsson UP, Lindsay CK, Cottam DW, Gomez DE. Tumor invasion, proteolysis, and angiogenesis. *J Neurooncol* 1994; 18(2):89-103.

83- Massova I, Kotra LP, Fridman R, Mobashery S. Matrix metalloproteinases: structures, evolution, and diversification. *FASEB J* 1998; 12(12):1075-95.

84- Garcia-Touchard A, Henry TD, Sangiorgi G, Spagnoli LG, Mauriello A, Conover C, et al. Extracellular proteases in atherosclerosis and restenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25(6):1119-27.

85- Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(3):161-74.

86- Nagase H, Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999;274(31):21491-4.

87- Lambert E, Dasse E, Haye B, Petitfrere E. TIMPs as multifacial proteins. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004; 49(3):187-98.

88- Visse R. and Nagase H.:Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases structure, function, and biochemistry. *Circ. Res.:* 92:827-839; 2003.

89-Vihinen P, Kahari VM. Matrix metalloproteinases in cancer: prognostic markers and

therapeutic targets. *Int J Cancer* 2002; 99(2):157-66.

90- Kuzuya M, Iguchi A. Role of matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *J Atheroscler Thromb* 2003;10:275-82.

91- Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001;17:463-516.

92- Murphy G, Willenbrock F, Crabbe T, et al. Regulation of matrix metalloproteinase activity. *Ann NY Acad Sci* 1994;732:31-41.

93- Kuzuya M, Iguchi A. Role of matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *J Atheroscler Thromb* 2003;10:275-82.

94- De Souza A.P. and Line S.R.P.: The biology of matrix metalloproteinases. *Rev. FOB*: 10:1.6; 2002.

95- Murphy G, Nagase H. Progress in matrix metalloproteinase research. *Mol Aspects Med* 2008; 29(5):290-308.

96- Murphy G, Willenbrock F, Crabbe T, O'Shea M, Ward R, Atkinson S, et al. Regulation of matrix metalloproteinase activity. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 732:31-41.

97- Opdenakker G, Van den Steen PE, Dubois B, Nelissen I, Van Coillie E, Masure S, et al. Gelatinase B functions as regulator and effector in leukocyte biology. *J Leukoc Biol* 2001; 69(6):851-9.

98- Chakrabarti S, Patel KD. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9 in pulmonary pathology. *Exp Lung Res* 2005; 31(6):599-621.

99- Mohan MJ, Seaton T, Mitchell J, Howe A, Blackburn K, Burkhart W, et al. The tumor necrosis factor-alpha converting enzyme (TACE): a unique metalloproteinase with highly defined substrate selectivity. *Biochemistry* 2002; 41(30):9462-9.

100- Chakrabarti S, Patel KD. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9 in pulmonary pathology. *Exp Lung Res* 2005; 31(6):599-621.

- 101- Sethi CS, Bailey TA, Luthert PJ, Chong NH. Matrix metalloproteinase biology applied to vitreoretinal disorders. *Br J Ophthalmol* 2000; 84(6):654-66.
- 102- Nagase H, Fields GB. Human matrix metalloproteinase specificity studies using collagen sequence-based synthetic peptides. *Biopolymers* 1996; 40(4):399-416.
- 103- Opdenakker G, Van den Steen PE, Dubois B, Nelissen I, Van Coillie E, Masure S, et al. Gelatinase B functions as regulator and effector in leukocyte biology. *J Leukoc Biol* 2001; 69(6):851-9.
- 104- Murphy G, McAlpine CG, Poll CT, Reynolds JJ. Purification and characterization of a bone metalloproteinase that degrades gelatin and types IV and V collagen. *Biochim Biophys Acta* 1985; 831.
- 105- Curran S, Murray GI. Matrix metalloproteinases in tumour invasion and metastasis. *J Pathol* 1999; 189(3):300-8.
- 106- Sundov Z, Tomic S, Vilovic K, Kunac N, Kalebic M, Bezic J. Immunohistochemically detected high expression of matrix metalloproteinase-2 as predictor of poor prognosis in Duke's B colon cancer. *Croat Med J* 2008; 49(5):636-42.
- 107- Evans JD, Ghaneh P, Kawesha A, Neoptolemos JP. Role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in pancreatic cancer. *Digestion* 1997; 58(6):520-8.
- 108- Talvensaaari-Mattila A, Paakko P, Hoyhtya M, Blanco-Sequeiros G, Turpeenniemi-Hujanen T. Matrix metalloproteinase-2 immunoreactive protein: a marker of aggressiveness in breast carcinoma. *Cancer* 1998; 83(6):1153-62).
- 109-Perigny M, Bairati I, Harvey I, Beauchemin M, Harel F, Plante M, et al. Role of immunohistochemical overexpression of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-11 in the prognosis of death by ovarian cancer. *Am J Clin Pathol* 2008; 129(2):226-31.
- 110- Trudel D, Fradet Y, Meyer F, Harel F, Tetu B. Membrane-type-1 matrix metalloproteinase, matrix metalloproteinase 2, and tissue inhibitor of matrix proteinase 2 in

prostate cancer:identification of patients with poor prognosis by immunohistochemistry. *Hum Pathol* 2008; 39(5):731-9.

111- Leinonen T, Pirinen R, Bohm J, Johansson R, Kosma VM. Increased expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) predicts tumour recurrence and unfavourable outcome in non-small cell lung cancer. *Histol Histopathol* 2008; 23(6):693-700.

112- Evans JD, Ghaneh P, Kawesha A, Neoptolemos JP. Role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in pancreatic cancer. *Digestion* 1997; 58(6):520-8.

113- Zhou S, Liu C, Wu SM, Wu RL. Expressions of CD147 and matrix metalloproteinase-2 in breast cancer and their correlations to prognosis. *Ai Zheng* 2005;24:874-9

114- Sethi CS, Bailey TA, Luthert PJ, Chong NH. Matrix metalloproteinase biology applied to vitreoretinal disorders. *Br J Ophthalmol* 2000; 84(6):654-66.

115- Hewitt R, Dano K. Stromal cell expression of components of matrix-degrading protease systems in human cancer. *Enzyme Protein* 1996; 49(1-3):163-73.

116- Johansson N., Ahonen M. and Kähäri V.M.: Matrix metalloproteinases in tumor invasion. *Cell Mol. Life Sci.*: 20;57(1):5-15; 2000.

117- Mancini A, DiBattista JA: Transcriptional regulation of matrix metalloproteinases gene expression in health and disease : *Front Biosci* 11:423-446, 2006.

118- Malesud CJ: Matrix metalloproteinases (MMPs) in health and disease: an overview *Front Biosci* 11:1696-1701, 2006.

119- Jones CB, Sane DC, Herrington DM. Matrix metalloproteinases: A review of their structure and role in acute coronary syndrome. *Cardiovasc Res* 2003;59:812-23.

120- Sun J, Hemler ME: Regulation of MMP-1 AND MMP-2 production through CD147/extracellular matrix metalloproteinase inducer interaction. *Cancer Res* 61:2276-281, 2001.

121- Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. Matrix metalloproteinases and cardiovascular

disease. *Circ Res* 1995;77:863-8.

122- Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circ Res* 1995; 77(5):863-8.

123-Biswas C, Zhang Y, DeCastro R et al. The human tumor cell derived collagenase stimulatory factor (renamed EMMPRIN) is a member of the immunoglobulin superfamily. *Cancer Res* 1995;55:434-439.

124- 11. Yan L, Zucker S, Toole BP. Roles of the multifunctional glycoprotein, emmprin (basigin; CD147), in tumor progression. *Thromb Haemost*. 2005;93:199–204.

125-2. Yan L, Zucker S, Toole BP. Roles of the multifunctional glycoprotein, emmprin (basigin; CD147), in tumor progression. *Thromb Haemost* 2005;93:199–204.

126- Yang JM, Xu Z, Wu H, et al. Overexpression of extracellular matrix metalloproteinase inducer in multidrug resistant cancer cells. *Mol Cancer Res* 2003;1:420–427.

127- Woessner J.F. Jr.: Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB J.*: 5(8):2145-54; 1991.

128- Nagase H, Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999;274(31):21491-4.

129- Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res* 2002; 90(3):251-62.

130- Lambert E, Dasse E, Haye B, Petitfrere E. TIMPs as multifacial proteins. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004; 49(3):187-98.

131- Murphy G. The regulation of connective tissue metalloproteinases by natural inhibitors. *Agents Actions Suppl* 1991; 35:69-76.

132- Jacob MP, Badier-Commander C, Fontaine V, Benazzoug Y, Feldman L, Michel JB. Extracellular matrix remodeling in the vascular wall. *Pathol Biol (Paris)* 2001;49(4):326-32.

133- Peterson JT. Matrix metalloproteinase inhibitor development and the remodeling of drug

discovery. *Heart Fail Rev* 2004; 9(1):63-79.

134- Curran S. and Murray GI.: Matrix metalloproteinases in tumour invasion and metastasis. *J.Pathol.*: 189(3):300-8; 1999.

135- Nelson AR, Fingleton B, Rothenberg ML, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications. *J Clin Oncol* 2000; 18(5):1135-49.

136- Suemitsu R, Yoshino I, Tomiyasu M, Fukuyama S, Okamoto T, Maehara Y. Serum tissue inhibitors of metalloproteinase-1 and -2 in patients with non-small cell lung cancer. *Surg Today* 2004; 34(11):896-901.

137- Visse R, Nagase H: Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function and biochemistry. *Circ Res.* 92:827-839, 2003.

138- Xu J, Benyon RC, Leir SH, Zhang S, Holgate ST, Lackie PM. Matrix metalloproteinase-2 from bronchial epithelial cells induces the proliferation of subepithelial fibroblasts. *Clin Exp Allergy* 2002; 32(6):881-8.

139- Wang M, Liu YE, Greene J, Sheng S, Fuchs A, Rosen EM, et al. Inhibition of tumor growth and metastasis of human breast cancer cells transfected with tissue inhibitor of metalloproteinase 4. *Oncogene* 1997; 14(23):2767-74.

140- Hewitt R, Dano K. Stromal cell expression of components of matrix-degrading protease systems in human cancer. *Enzyme Protein* 1996; 49(1-3):163-73.

141- Han ZD, Bi XC, Qin WJ, He HC, Dai QS, Zou J, et al. CD147 expression indicates unfavourable prognosis in prostate cancer. *Pathol Oncol Res*; September 2009, 369-374.

142- Gueders MM, Foidart JM, Noel A, Cataldo DD. Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs in the respiratory tract: potential implications in asthma and other lung diseases. *Eur J Pharmacol* 2006; 533(1-3):133-44.

143- Handsley MM, Edwards DR. Metalloproteinases and their inhibitors in tumor angiogenesis. *Int J Cancer* 2005; 115(6):849-60.

- 144- Atasoy P, Yılmaz E, Bozdoğan O, Ayva S, Batislam E. Expression profile and prognostic importance in prostate lesions of the reverse transcriptase component of human telomerase (hTERT) and of cyclin-dependent kinase inhibitor p57(p57kip2a). *Int Urol Nephrol* 2009;41(1):55-60.
- 145- McCarty KS, Szabo E, Flowers JL, et al. Use of a monoclonal anti-estrogen receptor antibody in the immunohistochemical evaluation of human tumors. *Cancer Res* 1986(Suppl);46:4244-4248.
- 146- Graesslin O, Cortez A, Uzan C, Birembaut P, Quereux C, Daraï E. Endometrial tumor invasiveness is related to metalloproteinase 2 and tissue inhibitor of metalloproteinase 2 expressions. *Int J Gynecol Cancer*. 2006:1911-1917.
- 147- Kanayama H, Yokota K, Kurokawa Y, Murakami Y, Nishitani M & Kagawa S (1998) Prognostic values of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 expression in bladder cancer. *Cancer* 82: 1359–1366.
- 148- Monier F, Mollier S, Guillot M, Rambeaud JJ, Morel F & Zaoui P (2002) Urinary release of 72 and 92kDa gelatinases, TIMPs, N-Gal and conventional prognostic factors in urothelial carcinomas. *Eur Urol* 42: 356–363.
- 149- Sanaa Eissa, Randa Ali-Labib, Menha Swellam, Manal Bassiony, Fathy Tash, Tarek Mostafa El-Zayat c Noninvasive Diagnosis of Bladder Cancer by Detection of Matrix Metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) and Their Inhibitor (TIMP-2) in Urine *European urology* 52 (2 0 0 7) 1388–1397.
- 150- Miyata Y, Kanda S, Nomata K, Hayashida Y & Kanetake H (2004) Expression of metalloproteinase-2, metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in transitional cell carcinoma of upper tract: correlation with tumor stage and survival. *Urology* 63: 602–608.
- 151- Himmelstein, B. P., Canete-Soler, R., Bernhard, E. J., Dilks, D. W., and Muschel, R. J. Metalloproteinases in tumor progression: the contribution of MMP-9. *Invasion Metastasis*, 14: 246 –258, 1994.

- 152- Bianco FJ Jr, Gervasi DC, Tiguert R et al. Matrix metalloproteinase-9 expression in bladder washes from bladder cancer patients predicts pathological stage and grade. *Clin.Cancer Res.* 1998; 4: 3011–16.
- 153- Gerhards S, Jung K, Koenig F, Daniltchenko D, Hauptman S, Schnorr D & Loening SA (2001) Excretion of matrix metalloproteinase 2 and 9 in urine is associated with a high stage and grade of bladder carcinoma. *Urology* 57: 675–679.
- 154- Monier F, Mollier S, Guillot M, Rambeaud JJ, Morel F & Zaoui P (2002) Urinary release of 72 and 92kDa gelatinases, TIMPs, N-Gal and conventional prognostic factors in urothelial carcinomas. *Eur Urol* 42: 356–363.
- 155- Eissa S, Ali-Labib R, Swellam M, Bassiony M, Tash F & El-Zayat TM (2007) Noninvasive diagnosis of bladder cancer by detection of matrix metalloproteinase (MMP-2 and MMP-9) and their inhibitor (TIMP-2) in urine. *Eur Urol* 52: 1388–1396.
- 156- Guan KP, Ye HY, Yan Z, Wang Y & Hou SK (2003) Serum levels of endostatin and matrix metalloproteinase-9 associated with high stage and grade primary transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology* 61: 719–723
- 157- Yasumitu H, Miyazaki K, Umenishi F et al. Comparison of extracellular matrix-degrading activities between 64-kDa and 90-kDa gelatinases purified in inhibitor-free forms from human schwannoma cells. *J. Biochem.* 1992; 111: 74–80.
- 158- Durkan GC, Nutt JE, Marsh C, Rajjayabun PH, Robinson MC, Neal DE, Lunec J & Mellon K (2003) Alteration in urinary matrix metalloproteinase-9 to tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio predicts recurrence in nonmuscle-invasive bladder cancer. *Clin Cancer Res* 9: 2576–2582.
- 159- Scorilas A, Karamelis A, Arnogiannaki N, Ardavanis A, Bassilopoulos P, Trangas T and Talieri M: Overexpression of matrix-metalloproteinase-9 in human breast cancer: a potential favorable indicator in node negative patients. *Br J Cancer* 84:1488-1496, 2001.

160- Yi-Jun Xue • Qiang Lu • Zhi-Xi Sun CD147 overexpression is a prognostic factor and a potential therapeutic target in bladder cancer *Med Oncol* (2011) 28:1363–1372.

161- Chambers Af, Matrisian Lm. Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:1260-70.

162- Grignon DJ, Sakr W, Toth M, *et al*: High levels of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) expression are associated with poor outcome in invasive bladder cancer. *Cancer Res* 56:1654 –1659, 1996.

163- Sabine Riethdorf, Natalie Reimers, Volker Assmann, Jan-Wilhelm Kornfeld, Luigi Terracciano, Guido Sauter and Klaus Pantel High incidence of EMMPRIN expression in human tumors 119, 1800–1810 (2006).

164- Ylisirniö S, Höyhty M & Turpeenniemi-Hujanen T (2000) Serum matrix metalloproteinase-2, -9 and tissue inhibitors of metalloproteinases -1, -2 in lung cancer – TIMP-1 as a prognostic marker. *Anticancer Res* 20: 1311–1316.

165- 12. Nakopoulou L, Giannopoulou I, Stefanaki K, Panayotopoulou E, Tsirmpa I, Alexandrou P, Mavrommatis J, Katsarou S & Davaris P (2002) Enhanced mRNA expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in breast carcinomas is correlated with adverse prognosis. *J Pathol* 197: 307–313.

166- Rauvala M, Puistola U & Turpeenniemi-Hujanen T (2005) Gelatinase and their tissue inhibitors in ovarian tumors: TIMP-1 is a predictive as well as a prognostic factor. *Gynecol Oncol* 99: 656–663.

167- Slaton JW, Inoue K, Perrotte P, El-Naggar AK, Swanson DA, Fidler IJ & Dinney CP (2001) Expression levels of genes that regulate metastasis and angiogenesis correlate with advanced pathological stage of renal carcinoma. *Am J Pathol* 158: 735–743.

168- Pepper MS (2001) Role of the matrix metalloproteinase and plasminogen activator-plasmin systems in angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21: 1104–1117.

169- Giannelli G, Erriquez R, Fransvea E, Daniele A, Trerotoli P, Schittulli

F,GranoM,QuarantaM,Antonaci S. Proteolytic imbalance is reversed after therapeutic surgery in breast cancer patients. *Int J Cancer* 2004;109: 782–5.

170- K Gohjil, N Fujimoto, J Ohkawa, A Fujii and M Nakajima Imbalance between serum matrix metalloproteinase-2 and its inhibitor as a predictor of recurrence of urothelial cancer *British Journal of Cancer* (1998) 77(4), 650-655.

171- Wei-De Zhong a,1, Qing-Biao Chen a,1, Yong-Kang Ye a,1, Zhao-Dong Han a, Xue-Cheng Bi a, Qi-Shan Dai a, Yu-xiang Liang a, Guo-Hua Zeng b, Yue-Sheng Wang a, Gang Zhu d, Zhi-Nan Chen c, Hui-Chan He Extracellular matrix metalloproteinase inducer expression has an impact on survival in human bladder cancer *Cancer Epidemiology* 34 (2010) 478–482.

172- Herbst RS, Yano S, Kuniyasu H, et al: Differential expression of E-cadherin and type IV collagenase genes predicts outcome in patients with stage I non-small cell lung carcinoma. *Clin Cancer Res* 6: 790 –797, 2000.

173-Sun J, Hemle ME. Regulation of MMP-1 and MMP-2 production through CD147/extracellular matrix metalloproteinase inducer interactions. *Cancer Res* 2001;61:2276–81.

174- Li Y, Shang P, Qian A. Inhibitory effects of antisense RNA of HAb18G/CD147 on invasion of hepatocellular carcinoma cells in vitro. *World J Gastroenterol* 2003;9:2174–7