

T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

138335

MESANENİN TRANSİZYONEL HÜCRELİ  
KARSİNOMLARINDA  
Ki-67, p53, Bcl-2, Bax EKSPRESYONU İLE HİSTOLOJİK  
GRADE, PATOLOJİK EVRE VE  
PROGNOZ ARASINDAKİ İLİŞKİ


UZMANLIK TEZİ


DR. NİLAY ŞEN


DENİZLİ - 2003


İş bu çalışma, Jürimiz tarafından PATOLOJİ ANABİLİM DALI'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. S. Ender DÜZCAN 

Üye : Doç. Dr. Neşe ÇALLI DEMİRKAN 

Üye : Doç. Dr. Aydın İŞİSAĞ 

Üye : Doç. Dr. Zafer AYBEK 

Üye : Doç. Dr. Ergün ERDEM 

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

21.11/2003

DEKAN

  
Prof. Dr. Hüseyin BAĞCI  
Dekan

## TEŞEKKÜR

Tezim süresince bana yardım eden başta danışmanım Prof. Dr. S. Ender DÜZCAN olmak üzere Anabilim Dalımızın diğer öğretim üyeleri, asistan arkadaşlarım, laboratuvar teknikerleri ve her zaman yanımda olan aileme teşekkür ederim.



# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
<b>GİRİŞ</b>	1
<b>GENEL BİLGİLER</b>	3
<b>ETİYOLOJİ VE PATOGENEZ</b>	6
<b>KLİNİK BULGULAR</b>	10
<b>MAKROSKOPİK BULGULAR</b>	10
<b>MİROSKOPİK BULGULAR</b>	10
<b>TANI</b>	14
<b>EVRELEME</b>	14
<b>GRADE'LEME</b>	16
<b>PROGNOSTİK BELİRLEYİCİLER</b>	17
<b>TEDAVİ VE PROGNOZ</b>	28
<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b>	29
<b>BULGULAR</b>	33
<b>TARTIŞMA</b>	51
<b>SONUÇLAR</b>	63
<b>ÖZET</b>	67
<b>YABANCI DİL ÖZETİ</b>	68
<b>KAYNAKLAR</b>	69

## TABLULAR DİZİNİ

### Sayfa No

<b>Tablo –I:</b> Çalışmaya alınan olguların klinik ve morfolojik özellikleri	34
<b>Tablo –II:</b> Olguların <i>grade</i> ve evrelere göre histopatolojik dağılımı	35
<b>Tablo –III:</b> <i>Grade</i> 'lere göre olguların Ki-67 pozitif hücre oranlarının dağılımı	35
<b>Tablo –IV:</b> <i>Grade</i> 'lere göre olguların p53 pozitif hücre oranlarının dağılımı	38
<b>Tablo –V:</b> Tümör büyüklüğüne göre olguların p53 pozitif hücre oranlarının dağılımı	41
<b>Tablo –VI:</b> p53 pozitifliğine göre olguların rekürrens oranları (%)	41
<b>Tablo –VII:</b> <i>Grade</i> 'lere göre olguların bcl-2 pozitif hücre oranlarının dağılımı	42
<b>Tablo –VIII:</b> Olguların (n=108) histopatolojik <i>grade</i> , evre ve immünohistokimyasal bulguları arasındaki ilişki	45
<b>Tablo –IX:</b> <i>Grade</i> 'lere göre Ki-67, p53, bcl-2, bax pozitifliğinin ortalama ( $\pm$ SS) değerleri (%)	47
<b>Tablo –X:</b> <i>Grade</i> 'lere göre olguların bax pozitif hücre oranlarının dağılımı	47
<b>Tablo –XI:</b> Yüzeysel ve invaziv THK'larda Ki-67, p53, bcl-2, bax pozitifliğinin ortalama ( $\pm$ SS) değerleri (%)	47
<b>Tablo –XII:</b> Olgulara ait parametrelerin korelasyon katsayıları	50

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil –1: <i>Grade1</i> THK’da nükleer Ki-67 boyanması (x40)	36
Şekil –2: <i>Grade2</i> THK’da nükleer Ki-67 boyanması (x40)	36
Şekil –3: <i>Grade3</i> THK’da nükleer Ki-67 boyanması (x40)	36
Şekil –4: <i>Grade1</i> THK’da nükleer p53 boyanması (x40)	39
Şekil –5: <i>Grade2</i> THK’da nükleer p53 boyanması (x40)	39
Şekil –6: <i>Grade3</i> THK’da nükleer p53 boyanması (x40)	39
Şekil –7: <i>Grade1</i> THK’da membranöz bcl-2 boyanması (x80)	43
Şekil –8: <i>Grade2</i> THK’da membranöz bcl-2 boyanması (x80)	43
Şekil –9: <i>Grade3</i> THK’da membranöz bcl-2 boyanması (x40)	43
Şekil –10: <i>Grade1</i> THK’da sitoplazmik ve membranöz bax boyanması (x40)	46
Şekil –11: <i>Grade2</i> THK’da sitoplazmik ve membranöz bax boyanması (x40)	46
Şekil –12: <i>Grade3</i> THK’da sitoplazmik ve membranöz bax boyanması (x40)	46
Şekil –13: Olguların grade’lere göre Ki-67, p53, bcl-2, bax pozitifliğinin ortalama değerleri	49
Şekil –14: Olguların evrelere göre Ki-67, p53, bcl-2, bax pozitifliğinin ortalama değerleri	49

## GİRİŞ

Mesanede ortaya çıkan malign tümörlerin %98'i epitel kökenlidir ve bunların %90'ını transizyonel hücreli karsinomlar oluşturur. İnsidansı 6-7inci dekatta belirgin artış gösterir ve erkeklerde kadınlardan 3-4 kat fazla gözlenir. İlk tanı sırasında transizyonel hücreli karsinomların %75'i yüzeysel (Ta ve T1), %20'si invaziv ve %5'i metastatiktir (1,2). Yüzeysel mesane tümörlü hastaların %50-70'inde tanı sonrası ilk 1-2 yıl içinde rekürrens gelişir. Bunların %10-25'ini ilk tanıdan daha yüksek histolojik *grade* ve patolojik evrede olgular oluşturur. Bazı olgular ise metastatik tümörler şeklinde karşımıza gelir (2).

Yüzeysel mesane tümörlerinde klinik gidişi belirlemede en önemli faktör invazyon derinliğidir. Patolojik evre, histolojik *grade*, tümör boyutu, multifokalite, yaş, cinsiyet gibi diğer histopatolojik ve klinik parametreler çoğu mesane tümörünün rekürrens ve progresyonunu tahmin etmek için sınırlı değere sahiptir (1-3). Bu nedenle tümör rekürrensi, progresyonu ve metastaz gelişiminin erken ve doğru olarak tahmini ile tedaviye vereceği yanıtın öngörülebilmesi için çeşitli belirleyiciler araç olarak kullanılabilir (3). Bu amaçla mesane tümörleri üzerinde en çok çalışılan belirleyiciler Ki-67, p53, bcl-2, bax'tır (1-17). Ayrıca AgNOR, PCNA, p16, p27, pRb, MDM2, p21, Bak, PS2 protein, c-erbB-2, E-kaderin, epidermal büyüme faktör reseptörü, nükleer morfolometri, DNA topoizomeraz I, nm23, DNA akım sitometri çalışılan diğer belirleyicilerdir (2,6,9,14,18-34).

Ki-67 ile yapılan çalışmalara bakıldığında evreT1a ile karşılaştırıldığında T1b mesane tümörlerinde proliferatif aktivitenin arttığı bulunmuştur (9). Ki-67 indeksi tedaviden sonraki 1 yıl içinde rekürrens gelişme riski ve tümör agresivitesi yönünden bilgi verebilmektedir (7,11,12). Ki-67 indeksinin özellikle yüzeysel ve düşük *grade*'li mesane tümörlerinde rekürrens riskinin belirlenmesinde bağımsız prediktif faktör olarak kullanılabileceği vurgulanmaktadır (13). Mesane transizyonel hücreli karsinomlarında mutant p53 ekspresyonu üzerine yapılan çalışmalarda tümör *grade*'i ve p53 immünreaktivitesi arasında korelasyon bulunmuştur (3). Fakat hasta yaşam süresi, rekürrens oranı, tümör progresyonu ve adjuvan kemoterapiye yanıt yönünden p53 immünreaktivitesinin anlamı üzerine veriler tartışmalıdır (3,4). Mesane

tümörlerinde artmış bcl-2 ekspresyonu erken rekürrens ve tümörden bağımsız kısa yaşam süresiyle ilişkili bulunmuştur (3,4,15). Başka bir çalışmada artmış bcl-2 ekspresyonunun yüksek *grade* ve evre ile korele olduğu gösterilmiştir (5). Bax ekspresyonundaki artış, mesane tümörlü hastalarda daha iyi klinik gidişle korele bulunmuştur (15).

Bu çalışmada amacımız, mesane transizyonel hücreli karsinomlarında histopatolojik ve klinik verilerle (patolojik evre, histolojik *grade*, multifokalite, tümör boyutu) proliferasyon belirleyicisi (Ki-67) ve apoptosisle ilgili belirleyiciler (p53, bcl-2, bax) arasındaki ilişkileri değerlendirmek, bunun yanısıra mesane tümörlerinin progresyon ve rekürrens riskini tahmin etmede bize faydalı olabilecek prediktif faktörleri tespit etmektir.



## GENEL BİLGİLER

Üriner sistem kanserlerinin büyük kısmı mesaneden gelişir (35,36). Erkeklerde prostat, akciğer ve kolorektal kanserlerden sonra dördüncü en yaygın kanserdir. Kadınlarda görülen kanserler arasında sıklık bakımından 8inci sıradadır (35-37). Çocuklar da dahil olmak üzere her yaşta görülebilir. Ancak, sıklıkla orta yaşlı ve yaşlılarda rastlanır (35,36). Tanı sırasında yaş ortalaması 65'tir (38). İnsidansı yaşla birlikte artış göstermektedir (35). Erkeklerde kansere bağlı ölüm nedenleri arasında 5inci sıklıktadır (35,36). Yaşlılarda mesane kanserinden ölüm oranı daha yüksektir (35).

Erişkinde boş mesane, pelvis minörün antero-inferior bölümünde yer alan, dört yüzlü ters çevrilmiş piramid şeklinde, vezikal fasiya tarafından sarılmış bir organdır. Mesane boynu kadında pubovezikal ligament, erkekte puboprostatik ligament tarafından sıkıca sarılmaktadır. Mesanenin diğer bölümleri pelvisin fibroadipö dokusu içinde kısmen serbest olarak uzanır. Üst kısmında yer alan süperior yüzey, pelvik parietal periton tarafından sarılmaktadır. Mesane tabanı olarak da bilinen posterior yüzey posterior ve inferior yönde uzanır. Kadınlarda uterin serviks ve vajinanın proksimal kısmı, erkeklerde vezikülo seminalisler ve vasa deferensiya tarafından rektumdan ayrılır. Trigon, mesanenin tabanında lokalize kompleks anatomik yapıdır ve mesane boynunun posterioruna doğru uzanır. Üreterler mesaneye trigonun proksimal ve lateral kısmından oblik olarak girerler. Mesanenin iki inferolateral yüzeyi lateral, inferior ve anterior yönlerde uzanır ve levator ani kasının fasiyası ile bağlantılıdır. Apeks olarak bilinen mesanenin en üst noktası, süperior yüzün ve iki inferolateral yüzün birleşim noktasında yer alır (1,39).

Mesanenin epiteli allantois ile devamlılık gösteren ürogenital sinusun kranial bölümünden endodermal olarak gelişir. Lamina propria, muskularis propria ve adventisya, komşu splanik mezenkimden gelişir (39).

Mesane duvarında en iç tabakayı "ürotelyum" olarak isimlendirilen epiteliyal yüzey oluşturur. İçten dışa doğru gidildiğinde Lamina propria, muskularis propria ve adventisya tabakaları yer alır. Mesanenin üst yüzeyi parietal periton ile devamlılık

gösterir ve bu nedenle serozaya sahiptir. Bu tabakalar ürotelyal karsinomlara sahip hastaların evrelemesi, tedavi seçimi ve sağkalım süresinin tahmini için hem patolojik hem de klinik olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle mikroskopik olarak doğru şekilde ayırt edilmesi önemlidir (39).

Malign mesane tümörlerinin yaklaşık %90'ı transizyonel hücreli karsinom (THK)'dur. Geri kalan %10'unu mesanede görülen diğer kanser tipleri oluşturur (1). Mesane kanserleri aşağıdaki gibi üç grupta toplanabilir (35,39):

1. Ürotelyal Karsinomalar:

- Karsinoma in situ
- Transizyonel hücreli karsinom
- Skuamoz hücreli karsinom
- Adenokarsinoma

2. Nonürotelyal Tümörler

- Küçük hücreli karsinoma
- Karsinosarkoma
- Metastatik karsinoma

3. Nonepitelyal Tümörler:

- Nörofibroma
- Feokromasitoma
- Primer lenfoma
- Plazmasitoma, granüler hücreli myeloblastoma
- Malign melanoma
- Koryokarsinoma ve yolk sac tümör
- Sarkoma
- Angiosarkoma
- Leiomyosarkoma
- Rabdomyosarkoma
- Diğer sarkomalar

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün sınıflamasına göre mesane tümörlerinin histolojik sınıflaması aşağıdaki gibidir (38):

I. Epiteyal Tümörler

- a. Transizyonel hücreli papilloma
- b. Transizyonel hücreli papilloma, inverted tip
- c. Skuamoz hücreli papilloma
- d. Transizyonel hücreli karsinoma
- e. Transizyonel hücreli karsinoma varyantları
  - i. Skuamoz metaplazili
  - ii. Glandüler metaplazili
  - iii. Skuamoz ve glandüler metaplazili
- f. Skuamoz hücreli karsinom
- g. Adenokarsinoma
- h. Undiferansiye karsinoma

II. Nonepiteyal Tümörler

- a. Benign
- b. Malign
  - i. Rabdomyosarkoma
  - ii. Diğerleri

III. Mikst Tümörler

- a. Feokromasitoma
- b. Lenfoma
- c. Karsinosarkoma
- d. Malign melanoma
- e. Diğerleri

IV. Metastatik Tümörler ve Sekonder Yayılımlar

V. Sınıflandırılmayan Tümörler

VI. Epiteyal Anormallikler

- a. Papiller(polipoid) sistitis
- b. von Brunn's nestleri
- c. Sistitis sistika
- d. Glandüler metaplazi
- e. Nefrojenik adenoma
- f. Skuamoz metaplazi

## VII. Tümör Benzeri Lezyonlar

- a. Folliküler sistitis
- b. Malakoplaki
- c. Amiloidozis
- d. Fibröz(fibroepitelyal) polip
- e. Endometriozis
- f. Hamartoma
- g. Kistler

## ETİYOLOJİ VE PATOGENEZ

Mesane karsinomunun gelişimi ve progresyonunda yer alan etiyolojik faktörler olarak kimyasal ajanlara mesleki maruziyet, sigara, kahve, ağır kesici ya da yapay tatlandırıcılar, bakteriyel, viral ve parazitik enfeksiyonlar, mesane taşı, genotoksik kemoterapotik ajanlar rapor edilmiştir (35,36). Ayrıca bazı mesane karsinomlarına karsinojenlerin sebep olduğunu öne süren veriler mevcuttur (36). Bu karsinojenlerin doğrudan doğruya hücre DNA'sına zarar vererek ya da genetik instabiliteye yol açarak etki gösterdikleri düşünülmektedir. Karsinogeneziste yer alan iki temel mekanizma, hücre proliferasyonunu stimüle eden protoonkogenlerin aktivasyonu ve proliferasyonun kontrolsüz bir şekilde ilerlemesine izin veren tümör süpresör genlerin inaktivasyonudur (23).

Protoonkogenler başlıca nokta mutasyonu ile aktive olmaktadır. Ancak, amplifikasyon ve translokasyon tipinde bozukluklar da yaygındır (12). Mesane karsinomu ile ilişkili onkogenlerden birisi ras gen ailesi içinde yer alan p21 ras onkogenidir. Bazı çalışmalarda p21 ras onkogeni yüksek histolojik *grade* ile korele bulunmuştur (36,35). Mesane karsinomu ile ilişkili olduğu düşünülen diğer onkogenler arasında c-myc ve c-jun yer almaktadır (35,36).

Tümör süpresör genler aktive olduğunda meydana gelen olay, fonksiyonun kaybıyla karakterizedir (12). Tümör süpressör genler yaygın olarak nokta mutasyonu, yeniden düzenlenme ya da delesyonla inaktive olmaktadır (40). Bu genlerin inaktivasyonu, genetik olarak değişen klonların kontrolsüz proliferasyonu sonucunda düzensiz büyümeye ya da programlı hücre ölümünün DNA hasarlı hücreler için yetersiz kalmasına neden olur (35). Mesane karsinomlarıyla yakından ilişkili üç

tümör süpresör gen loküsü vardır. Bunlar, kromozom 17p üzerindeki p53 geni, kromozom 13q üzerindeki retinoblastoma (Rb) geni ve kromozom 9p üzerinde 9p21 bölgesinde p15 ve p16 proteinlerinin oturduğu genlerdir (35). Kromozom 9'un bir kısmının ya da tümünün kaybı en yaygın genetik bulgudur ve THK'ların %55'inde görüldüğü rapor edilmektedir (23).

Kromozom 17p13.1 üzerinde haritalanan p53 geni, hücre siklusunun G1-S geçişini kontrol eden, 53 kDa ağırlığında nükleer fosfoproteini kodlayan tümör süpresör gendir (41). Normal hücrelerde p53 aktivitesi, DNA hasarını içeren çeşitli selüler streslere yanıt vermek üzere artarak hücreyi, siklusu durması, hücre diferansiyasyonu ya da apoptozis gibi olaylara yönlendirir (12). Bu aktivite, normal hücrelerin korunmasını ve anlamlı genomik değişiklik taşıyan hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlayarak mutant hücrenin aşırı büyümesini ve kanser oluşmasını bir miktar azaltır (12,16). p53 proteininin hücre siklusunu durdurma yeteneği çok sayıda genin, özellikle WAF1/CIP1 (*wild type p53-activated fragment-1/cyclin-dependent kinases interacting protein 1*) geninin aktivasyonu ile ilişkilidir. Bu gen, G1-S geçişinde hücre siklusu boyunca progresyonu engelleyen siklin bağımlı kinazların güçlü inhibitörü, 21 kDa ağırlığındaki p21 proteinini kodlar. Ayrıca p21 proteini PCNA (*proliferating cell nuclear antibody*)'yi inaktive ederek S fazında DNA replikasyonunu bloke eder (12). p53'ün inaktivasyonu nokta mutasyon, genin delesyonu ya da diğer proteinlerle onun ürününün kompleks oluşturmasıyla görülebilir (16). p53 gen mutasyonları insan karsinomlarında DNA denetiminin ve tamirinin inhibisyonuna yol açan en yaygın genetik değişikliklerdir ve bunun sonucunda diğer gen mutasyonları ve kromozomal yeniden düzenlenmelerin riski artmaktadır. Bu nedenle p53 gen mutasyonları karsinogenezis ve tümör progresyonu ile ilişkilidir (23). Mutasyonlar sıklıkla wild tip p53 proteini ile karşılaştırıldığında uzamış yarılanma ömrüne sahip, wild tip ve mutant formları arasında kompleks oluşmasına yol açan, disfonksiyonel protein üretimiyle sonuçlanmaktadır. Anormal protein hücre nükleusunda birikir ve immünohistokimyasal olarak tespit edilebilir. İmmünohistokimyasal olarak p53 proteininin tespiti ve moleküler sekans analizinin kombinasyonu p53 protein birikiminin mutant p53 geninin miktarı ile korele olduğunu göstermektedir. Artmış tümör büyüme fraksiyonu ile birleşen rekürrens ve progresyonun yüksek oranları artmış p53 ekspresyonu gösteren tümörler için rapor edilmektedir (3,41). p53 tümör süpresör genindeki genetik değişiklikler mesane

karsinomunda sık rastlanan bir olay olarak rapor edilmektedir ve p53 proteininin artmış ekspresyonu agresif klinik gidişle yaygın olarak ilişkilidir (14).

Genetik delesyon ya da mutasyon nedeniyle Rb proteininin inaktivasyonu hücrelerin G1-S kontrol noktasını çok daha kolaylıkla geçmesine izin verir. Böylece hücre proliferasyonunu stimüle eder (35,36). p15 ve p16 proteinleri, siklin bağımlı kinaz inhibitörü olarak fonksiyon görür ve Rb proteinin fosforilasyonunu inhibe eder. p15, p16 ve Rb proteinini kodlayan genlerde mutasyon ya da delesyon varlığı, proliferasyonun inhibe edilememesi ve belki de malign transformasyon gelişmesi ile sonuçlanacaktır (36).

Karsinogenezisteki bir diğer mekanizma büyüme faktörleri ya da onların reseptörlerini kodlayan genlerin amplifikasyonu ya da aşırı ekspresyonudur. Mesane karsinoma hücrelerinde epidermal büyüme faktörü (EBF) reseptörünün anormal ekspresyonunun görüldüğü ve artmış ekspresyonun çok daha agresif davranışla ilişkili olduğu gösterilmiştir (35). Fonksiyonel olarak büyüme faktörü reseptörünü kodlayan ve anatomik olarak EBF ile ilişkili olan c-erbB-2 onkogenindeki değişiklikler mesane karsinomunu içeren çeşitli malignitelerle ilişkilidir (36).

Kimyasallara mesleki maruziyet sonucunda mesane karsinomu oluşma riski, maruziyetin süresine ve yoğunluğuna bağlıdır (38). Tipik olarak uzun latent periyoda sahiptirler ve ABD’de mesane karsinomu vakalarının %20’sinden sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (35). Bu konuda en sık sorumlu kimyasal karsinojenler benzidin (4,4-diaminofenol) ve 2- naftilamin (aromatik aminler)’dir (38). Diğerleri 4-aminobifenil, 4-nitrobifenil, 2-amino-1-naftol, yanıcı gazlar, kömür kurumu, klorlanmış alifatik hidrokarbonlar, akrolein gibi belirli aldehidlerdir. Artmış mesane karsinomu riskine sahip meslek grupları oto tamircileri, boya sanayi işçileri, kamyon sürücüleri, matbaa işçileri, deri işçileri, metal işçileri, kuru temizleyiciler, diş teknisyenleri, berber ve güzellik uzmanları, tekstil sanayi çalışanları ve doktorlardır (35,36).

Mesane karsinomlarının %33’ünün sigara içmekle ilişkili olduğu tahmin edilmektedir. Sigara içenlerde risk, içmeyenlere göre 2-4 kat daha fazladır. Bu risk,

içilen miktar, içme süresi ve inhalasyon süresi ile korele şekilde artar. Nitrosamin ve 2-naftilamin, sigara dumanında varlığı bilinen karsinojenlerdir (38).

Kahve ve çay içmek ile mesane karsinomu arasındaki ilişki, bu ajanların yaygın kullanımı, onlarla birlikte yapay tatlandırıcıların kullanılması ve sigara öyküsünün bulunması nedeniyle güçleşmektedir. Sigara içimi kontrol edildiğinde artmış risk bulunamamıştır (35,36).

Anilin boyalarıyla benzer yapıya sahip fenasetinin büyük miktarlarda kullanımı (10 yıllık peryotta 5-15 kg), renal pelvis ve mesane THK'sı için artmış riskle ilişkili bulunmuştur. Latent peryod 25 yıl gibi uzun bir süredir. Diğer analjeziklerin kullanımıyla açık bir korelasyon gösterilememiştir (35).

Yapay tatlandırıcı kullanımıyla ilgili güncel görüş, mesane karsinomu için risk oluşturmadıkları ya da bu riskin düşük olduğu yönündedir (38).

Çok farklı sebeplerden oluşan sistitisin neden olduğu mesane karsinomu, ciddi ve uzun süreli enfeksiyonlarla ilişkilidir. Buna bağlı gelişen karsinomların büyük kısmını skuamoz hücreli karsinom oluşturmaktadır (35).

Uterin serviks karsinomu nedeniyle pelvik radyoterapi ile tedavi edilen kadınlarda mesanede THK gelişme riski 2-4 kat artmaktadır. Bu tümörler karakteristik olarak yüksek *grade*'li ve lokal invazivdirler (35,38).

Siklofosfamid ile tedavi edilen hastalarda THK gelişmesi için kümülatif risk 12 yılda %10,7; latent peryod 65-141 ay olarak rapor edilmiştir. Mesane karsinomu gelişiminde siklofosfamidin üriner metaboliti akrolein birikiminin etkili olduğuna inanılmaktadır (38). Bu tümörlerin çoğu tanı sırasında kas invazivdir (35).

Mesane karsinomu gelişimi ile kalıtım arasında güçlü bir ilişki bulunamamıştır (38).

## KLİNİK BULGULAR

Mesane karsinomunun en yaygın semptomu hastaların %85-90'ında görülen ağrısız hematüridir. Hematüri sıklıkla intermitanttır. İrritatif semptomlar sık idrar yapma ve disüridir. Daha az rastlanan semptomlar flank ağrı, alt ekstremitte ödemi, pelvik kitle şeklindedir (35,38).

## MAKROSKOPİK BULGULAR

THK'ların yaklaşık %70'i papiller, %10'u nodüler, %20'si de mikst yapıya sahiptir (36). Makroskopik olarak papiller tümörler ekzofitik, tek ya da multiple ve parmak benzeri ya da hemen hemen solid görünümünde büyük kompleks lezyonlar olarak görülmektedir. Yaklaşık 2/3'si tanı sırasında tektir. Klinik olarak tümör sayısı önemlidir. Multiple tümörlü hastalar daha yüksek rekürrens ve progresyon oranına sahiptir (38). Tümörler en sık mesane tabanında, lateral ve posterior duvarda lokalizedir, kubbede daha az rastlanır (35,38).

Nonpapiller üroteliyal karsinomalar polipoid, sesil, ülser ve infiltratif büyüme paterni gösterirler. Polipoid patern, üroteliyal karsinomunun sarkomatoid varyantının karakteristik özelliğidir (38).

## MİKROSKOPİK BULGULAR

THK, mesane tümörlerinin %90'dan fazlasını oluşturur. Bu tümörler mukozanın papiller katlantılar oluşurmasıyla birlikte artmış sayıda hücre tabakası, hücre polarite kaybı, bazalden süperfisiyel tabakalara kadar matürasyonun kaybı, dev hücreler, nükleer kalabalıklaşma, artmış nükleus/sitoplazma oranı, belirgin nükleol, kümelenen kromatin ve artmış sayıda mitozaya sahip olmasıyla normal ürotelyumdan ayırt edilmektedir. Bunlar arasında en anlamlı kriter belirgin nükleol, kromatinin kümelenmesi, artmış hücre tabakası ve hücre polarite kaybıdır (36).

THK'ların mikroskopik olarak tanınabilen ve ayırıcı tanı açısından önemli birkaç varyantı bulunmaktadır (38). Bunlar:

- Skuamoz ya da glandüler diferansiyasyonlu üroteliyal karsinoma,
- Nest oluşturan varyant,
- İverted büyüme paterni,



- Mikrokistik patern,
- Dev hücreli varyant,
- Lenfoepitelyoma benzeri varyant,
- Lenfoma benzeri varyant,
- Sarkomatoid üroteliyal karsinoma(karsinosarkoma).

Papiller üroteliyal karsinoma, ince fibrovasküler kor içeren papillalara sahip ekzofitik tümördür. Yüksek *grade*'li tümörlerdeki kadar sık ve çok sayıda olmasa da skuamoz, müsinöz ve onkositik hücreler içerebilir. Bazen papiller tümörler, mikropapiller görünüme yol açan küçük ve kısa papillalar içerir. Papiller üroteliyal karsinomanın ayırıcı tanısı papilla ya da papiller yapılar oluşturan tüm antiteleri içerir. Bunlar; kontrakte durumdaki normal mesane katlantıları, papiller sistitis, polipoid sistitis ve nefrojenik adenomadır (38).

İnvaziv nonpapiller üroteliyal karsinomanın histolojisi hayli çeşitlidir ve birçok varyantı tanımlanmıştır. Tipik noninvaziv üroteliyal karsinomaların büyük çoğunluğu yüksek *grade*'dir. Bunlar, yoğun amfofilik sitoplazmalı ve büyük hiperkromatik nukleuslu hücrelerin koheziv yuvalanmalarından ya da adalarından oluşur. İnvaziv tümörlerin küçük bir kısmı papiller yapısını korur. İnvaze karsinom hücreleri sıklıkla küçük kümeler ya da tek hücreler şeklinde görülür. Nükleus tipik olarak pleomorfiktir ve sıklıkla düzensiz sınırlara sahiptir. Nükleol sayısı ve görünümü hayli değişkendir. Bazı hücreler tek ya da multipl küçük nükleol içerirken, diğerleri büyük eozinofilik nükleole sahiptir. Pleomorfizmin daha belirgin olduğu odaklar bizar ve multinükleer tümör hücrelerinden oluşan solid alanlar şeklindedir. Mitotik figürler atipik şekildedir ve yaygındır. İnvaziv yuvalar genellikle dezmozoplastik stromal reaksiyona sebep olur. Formalinde fikse, parafine gömülü dokulardaki yarıklanmalar, sıklıkla vasküler invazyonu taklit eden, karsinom hücre yuvalarını çevreler şekilde görülür. Vasküler invazyon tanısından kaçınmak için bu özelliğin farkında olmak önemlidir (38).

Üroteliyal tümörler çeşitli diferansiyasyonlar için büyük kapasiteye sahiptirler. Yüksek *grade* üroteliyal karsinomlar sıklıkla skuamoz, glandüler ya da küçük hücre diferansiyasyonu gösterir (38).

Skuamoz diferansiyasyon, interselüler köprülerin ya da keratinizasyonun varlığıyla tanımlanır ve üroteliyal karsinomların %20'sinde görülür. Skuamoz hücreli karsinom tanısı, üroteliyal karsinoma in situyu da içeren üroteliyal komponentin herhangi birisiyle ilişkili olmayan pür lezyonlar için kullanılmalıdır. Herhangi bir üroteliyal eleman tespit edilebilen tümörler skuamoz diferansiyasyonlu üroteliyal karsinoma olarak sınıflandırılır. Skuamoz diferansiyasyonun klinik anlamı belirsizdir. Bununla birlikte radikal sistektomiye giden hastalarda kötü prognostik özelliğidir (38).

Glandüler diferansiyasyon, skuamoz diferansiyasyondan daha az yaygındır. Glandüler diferansiyasyon tümör içinde gerçek glandüler alanların varlığı olarak tanımlanır. Müsin içeren hücreler yüksek *grade* üroteliyal karsinomlarda yaygındır. Üroteliyal karsinomda glandüler diferansiyasyonun ve müsin pozitifliğinin klinik önemi belirsizdir (38).

Nest oluşturan varyant; L. propriayı infiltre eden, von Brunn's nestlerini hatırlatan, benign görünümlü üroteliyal hücrelerin küçük yuvalanmalarından oluşan büyüme paterni sergileyen invaziv üroteliyal karsinomdur. Bazı yuvalar küçük tübüler lümenlere sahiptir. Bu lezyonun malign olarak tanımlanmasındaki yararlı özellik, lezyonun derin bölümlerinde selüler anaplazinin daha belirgin olma eğilimi, infiltratif karakteri ve kas invazyonunun varlığıdır. Üroteliyal karsinomun nest oluşturan varyantının ayırıcı tanısı, von Brunn's nestleri, sistitis sistika ve sistitis glandularis, inverted papilloma, nefrojenik adenoma ve paraganglionik doku ve paragangliomayı içerir (38).

Mikrokistik patern; mikrokistik ve makrokistik değişiklikler ya da tübüler diferansiyasyon alanları içeren yüksek *grade* üroteliyal karsinomdur. Kistler ve tübüller boş olabilir ya da nekrotik debri veya müsin içerebilir. Tanısı sistitis sistika, sistitis glandularis, nefrojenik adenom ve mesane adenokarsinomu ile karışabilir (38).

Inverted büyüme paterni; yapısal olarak inverted papillomu taklit eden, ancak yüksek *grade* sitolojik anormalliklere sahip üroteliyal karsinomdur. Çoğu olguda

üstteki yüzey epiteli de benzer anormalliklere sahiptir. Ekzofitik papillalar ya da invaziv komponent inverted element ile ilişkilidir (38).

Dev hücreli varyant; malign epiteliyal dev hücreler içeren üroteliyal karsinomdur. Dev hücreler sitokeratin ile pozitif boyanır. Bu tümör çok kötü prognoza sahiptir. Üroteliyal karsinomda bulunan dev hücreler insan koryonik gonadotropin üretimiyle ilişkilidir ve sinsityotrofoblastik diferansiyasyonun kanıtıdır (38).

Lenfoepitelyoma benzeri komponent; histolojik olarak nazofarinksin lenfoepitelyomasını hatırlatan üroteliyal karsinomdur. Bu olgular, erkeklerde kadınlardan daha yaygındır. Tümör genellikle mesane tavanı, posterior duvar ve trigonda, sesil büyüme paternli lezyon şeklindedir. Pür ya da mikst tip üroteliyal karsinom ile birlikte lenfosit, plazma hücreleri, histiyositler, nadiren nötrofil ve eozinofillerden oluşan belirgin lenfoid stromadan oluşur. Ayırıcı tanı, kötü diferansiye üroteliyal karsinom, skuamoz hücreli karsinom ve lenfomayı içerir (38).

Lenfoma benzeri varyant; malign lenfomayı taklit eden üroteliyal karsinomdur. Ayırıcı tanıda plazmasitozis, lenfoma ve multipl myeloma yer alır. Epiteliyal komponentin tespit edilmesi tanıyı doğrular. Fakat, immünohistokimya histolojik izlenimi doğrulamak için gerekli olabilir (38).

Sarkomatoid üroteliyal karsinom (karsinosarkoma); hem malign epiteliyal hem de malign spindl hücre komponenti içeren mesane karsinomudur. Kadınlardan çok erkekleri etkiler ve sıklıkla yaşlılarda görülme eğilimindedir. Histolojik olarak, karsinom ve malign spindl hücrelerin karışımını içerir. Epiteliyal komponent üroteliyal ve skuamozdur, daha sonra adenokarsinom ve küçük hücreli karsinomdur. Olguların çoğunda spindl hücre komponenti, diferansiyasyonun spesifik paterni olmaksızın düzensiz fasiküller oluşturan pleomorfik hücrelerden oluşur. Ayırıcı tanıda psödosarkomatöz stromalı üroteliyal karsinom, osseöz metaplazi, metaplastik kemik, dev hücreli sistitisin dev hücreleri ve sarkom yer alır (38).

## TANI

Sistoskopi ve ürener sitoloji mesane tümörlerinin tanı ve takibi için günümüzde altın standart olarak kabul edilmektedir (37). İyi diferansiye THK'lar çok daha koheziv olduğu için idrara dökülmeyebilirler. Bu nedenle karsinoma in situ ve invaziv karsinomu içeren yüksek *grade* THK'larda ürener sitolojinin sensitivitesi ve spesifitesi oldukça yüksektir. Mesane boşaltma sıvılarından ziyade mesane yıkama sıvılarından elde edilen spesmenlerde çok daha fazla üroteliyal hücre bulunduğu için, mesane karsinomunun tanısında mesane yıkama sıvıları çok daha faydalıdır. Ürener sitolojinin en büyük yararı hasta takibi ve tedaviye yanıtın gözlemlenmesindedir. Keza ürener sitoloji yüksek riskli hastaların taranmasında değerli tanısal araçtır. Sistoskopi mesane tümöründen şüphelenilen hastalarda primer tanı aracıdır. Mesane mukozasının direkt gözlemlenmesine, şüpheli lezyonlardan biyopsi alınmasına ve normal mukozadan random biyopsiler alınmasına olanak verir (35,38).

Sistogramlar ve ürografiler mesane tümörü nedeniyle değerlendirilen hastalarda üst ürener sistemin incelenmesinde gereklidir (38).

## EVRELEME

Mesane karsinomunun klinik ve patolojik evrelemesi hastalara uygulanacak tedavinin seçiminde önemlidir. Mesane kanseri klinik olarak yüzeysel ve invaziv kanser olarak bölünmektedir. Yüzeysel kanserler mesanenin muskularis propria'sını invaze etmeyen tümörleri (evre Ta, TIS ve T1) içerirken, invaziv kanserler muskularis propria ve ötesine invaze tümörleri içermektedir (evre T2, T3, T4). Bu nedenle patolojik evrelemede en önemli aşama, muskularis propria'nın invaze olup olmadığını tespit etmektir (38).

Günümüzde Jewett-Strong sisteminin modifikasyonu *Marshall ve American Joint Commission for Cancer Union International Contre le Cancer (AJCC-UICC)* sınıflamaları klinik kullanımdaki iki ana sistemdir. Her iki evreleme sistemi mesane duvarı içine invazyon derinliği, bölgesel ve uzak metastaz paternini temel almaktadır (38).

AJCC-UICC sistemine göre mesane tümörlerinin evreleme sistemi (TNM sınıflaması) aşağıdaki şekildedir (42):

**Primer tümör (T)**

Tx: Primer tümör değerlendirilemiyor.

T0: Primer tümörün kanıtı yok.

Ta: Non-invaziv papiller karsinom.

Tis: Karsinoma in situ: "flat tumor".

T1: Tümör subepitelyal konnektif dokuya (L.propria'ya) invaze.

T2: Tümör yüzeysel kas tabakasına invaze (iç 1/2)

T3:

T3a: Tümör derin kas tabakasına invaze (dış 1/2)

T3b: Tümör perivezikal yağ tabakasına invaze.

T4: Tümör prostat, uterus, vagina, pelvik duvar ya da abdominal duvara invaze.

T4a: Tümör prostat, uterus, vaginaya invaze.

T4b: Tümör pelvik duvar ya da abdomene invaze.

**Lenf nodu (N)**

NX: Bölgesel lenf nodu değerlendirilemiyor.

N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok.

N1: En büyük çapı 2 cm ya da daha küçük olan bir adet metastatik lenf nodu.

N2: Çapı 2 cm'den büyük, fakat 5 cm'den küçük bir adet metastatik lenf nodu ya da hiçbirisinin çapı 5 cm'den büyük olmayan multiple lenf nodu metastazı.

N3: En büyük çapı 5 cm'den büyük lenf nodu metastazı.

**Uzak metastaz (M)**

MX: Uzak metastaz varlığı değerlendirilemiyor.

M0: Uzak metastaz yok.

M1: Uzak metastaz mevcut.

Biyopsi materyalinin patolojik evrelemesine ek olarak klinik evrelemede yararlanılan diğer yöntemler bilgisayarlı tomografi, magnetik rezonans görüntüleme, ultrasonografi, akciğer grafisi, kemik tarama testleridir (36).

## GRADE'LEME

Üroteliyal karsinomun ilk *grade*'leme şeması 1922'de Mayo Klinik'te, Broders tarafından önerildi ve diferansiye tümör hücrelerinin yüzdesinin hesaplanmasını temel almaktaydı. O zamandan beri çok sayıda *grade*'leme sistemi üroteliyal karsinomlar için önerildi. En yaygın olarak kullanılan *grade*'leme sistemi DSÖ tarafından 1973'te yayınlanan *grade*'leme sistemidir (38). Burada yapısal ve sitolojik anormalliklerin derecesi temel alınmaktadır. Ayrıca WHO/ISUP 1998 ve WHO1999 sınıflamaları da kullanılmaktadır. Ancak diğerleriyle karşılaştırıldığında WHO 1973, klinik olarak doğrulanabilen, yaygın şekilde kullanılan, zaman içinde test edilen ve tutarlılığı yüksek *grade*'leme sistemidir (43).

1973'te yayınlanan Dünya Sağlık Örgütü'nün sınıflaması (WHO 1973) aşağıdaki gibidir (43):

Üroteliyal papilloma; mitotik figürler olmaksızın sitolojik ve yapısal olarak normal ürotelyumla döşeli, ince fibrovasküler korlu, küçük, genellikle soliter, papiller lezyon olarak tanımlandı.

Papiller üroteliyal karsinomların *grade*'lenmesinde kesitlerde görülen en kötü *grade* temel alınmaktadır.

*Grade* 1 ya da G1 karsinoma: Minimal - hafif nükleer irileşme, normal ya da hafif bozulmuş yapı ve mitoz içermeyen ya da nadir mitotik figür gösteren, 7 hücre tabakasından daha fazla hücre içeren kalınlaşmış ürotelyumdan oluşur.

*Grade* 2 ya da G2 karsinoma: Belirgin nükleer pleomorfizm, kaba kümelenen kromatin ve normal yapısının bir miktar bozulmasını gösterir.

*Grade* 3 ya da G3 karsinoma: Karsinoma in situ'nunkine benzer son derece belirgin nükleer anormallikler gösterir. Hücre sayısında artış, nükleer kalabalıklaşma, polaritenin bozulması, bazalden yüzeysel mukozaya kadar diferansiyasyonun yokluğu, hücrelerin boyutunda düzensizlik, nükleer biçim ve kromatin paterninde farklılık, artmış mitotik figürler ve nadiren tümör dev hücrelerinin varlığı olarak tanımlanan hücresel anaplazi *grade* 3 karsinomanın karakteristiğidir.

Mesanenin üroteliyal karsinomlarının WHO/ISUP 1998 sınıflaması, patolog, ürolog, onkolog tarafından efektif olarak kullanılabilen mesane neoplazisi için evrensel kabul edilebilir sınıflama sistemi yaratmak için 1998'de geliştirildi. Bu sistem, hem neoplastik hem de reaktif flat ve papiller lezyonları içeren tanısal antitelerden oluşmaktadır. Bu antitelerin her biri için histolojik kriter açık şekilde tanımlanmıştır (44).

WHO/ISUP 1998 Sınıflaması aşağıdaki gibidir (44):

- Normal
  - Normal
- Hiperplazi
  - Flat hiperplazi
  - Papiller hiperplazi
- Atipili flat lezyonlar
  - Reaktif (inflamatuvar) atipi
  - Önemi bilinmeyen atipi
  - Displazi (düşük- grade intraüroteliyal neoplazi)
  - Karsinoma in situ (yüksek - grade intraüroteliyal neoplazi)
- Papiller neoplazmlar
  - Papilloma
  - İnverted papilloma
  - Düşük malign potansiyelli papiller neoplazm
  - Düşük grade papiller karsinoma
  - Yüksek grade papiller karsinoma
- İnvaziv neoplazmlar
  - Lamina propria invazyonu
  - Muskularis propria (detrusor kası) invazyonu

#### PROGNOSTİK BELİRLEYİCİLER

Mesane karsinomasının doğal seyri önceden tahmin edilememekle birlikte çoğu üroteliyal karsinomalar benign gidişlidir (7,24). Ancak papiller yüzeyel THK'ların yarısından çoğunda başlangıçtaki endoskopik rezeksiyonu takiben 2 yıl

içinde rekürrens gelişir ve 5 yıl sonra kas invaziv tümör gelişiminin kümülatif riski %7'dir (7,14,24).

Yüzeysel THK'lu hastalarda tümör rekürrensi ve progresyonu için klinik olarak en yararlı parametreler histolojik *grade*, tümörün invazyon derinliği (patolojik evre), lenfatik invazyon, tümör boyutu, komşu ya da uzak ürotelyumda üroteliyal displazi ya da karsinoma in situ varlığı, tümör yapısının papiller ya da solid olması, multifokalite ve tümör rekürrens öyküsünün sıklığıdır. Bunlar arasında en önemlisi histolojik *grade*, patolojik evre ve karsinoma in situ varlığıdır (35). Bununla birlikte konvansiyonel histopatoloji yüzeysel THK'larda tümör rekürrens ya da progresyonunu doğru olarak öngöremeyebilir (2). Tümör progresyonu ve rekürrensi yönünden riskli hastaları tespit etmek için ek belirleyicilerin bulunması gereklidir. Klinik seyri daha iyi tahmin edebilmeye yardımcı olabilen, tümörlerin biyolojik potansiyelini karakterize etmeye yönelik moleküler fenotipleme çalışmaları yapılmaktadır. Farklı çalışmalar hücre siklus regülasyonundaki değişikliğin mesane karsinomunun biyolojik davranışını belirlemede anahtar olay olduğunu belirtmektedir (14).

Prolifere hücrelerin büyüme oranı, birçok malignensinin önemli prognostik faktördür ve tümör biyolojik potansiyelini tanımlamaya yardımcıdır. Hücre proliferasyonunu ölçmek için kullanılan belirleyiciler mitotik sayı, gümüş ile boyanan nükleoler yerleşimli bölgeler (AgNOR), Ki-67 ve PCNA'dır. Selüler proliferasyonun iki en önemli ümit verici belirleyicisi Ki-67 ve PCNA'dır. Bu antijenlerin artmış düzeyleri tümör hücrelerinde proliferatif aktivitenin hızlandığını gösterir. Dolayısıyla tümörün biyolojik olarak agresif davranma potansiyelini gösteren progresyon ve metastaz riski ile doğru orantılı bir artış gösterirler (45). Ki-67, proliferere hücre havuzunun tamamının ölçülmesine izin veren, G0 fazı dışında G1, S, G2 ve M fazlarında tüm hücrelerde eksprese edilen, DNA replikaz kompleksinin nükleer protein oluşturan bölümünü tanıyan mürin monoklonal antikordur (13,12). Ki-67 antijeni proliferere hücrelerin nükleusunda bulunur, fakat istirahatteki hücrelerin nükleusunda bulunmaz (3). Ki-67 tarafından tanınan antijenin ekspresyonu hücre siklusu ile sıkı şekilde ilişkilidir. Molekül G1 fazının ortasında eksprese olmaya başlar, S ve G2 fazı boyunca düzeyinde artış olur, M fazında pik yapar. M fazının sonunda çok hızlı katabolize olur. DNA tamir sürecinde Ki-67'nin



eksprese olmadığı görülmüştür (32). Rutin olarak fikse edilen, parafine gömülü dokulardan hazırlanan kesitler üzerinde Ki-67 antijenini tanıyan MIB-1 monoklonal antikoru ile yapılan immünohistokimyasal boyama, temelinde Ki-67'ye eşdeğerdir (18).

Bcl-2, apoptozisi farklı şekillerde düzenleyen bcl-2 homolog ailesinin üyesidir. Bu multigen ailede bazı üyeler (bcl-, bcl-XL, bag-1) hücre ölümünü bloke ederken, diğerleri (bax, bad, bcl-XS) apoptozisi stimüle eder (4). Bcl-2 onkoproteini başlangıç olarak t(14:18) (q32, q21) kırılma noktasında, insan folliküler lenfomasının sitogenetik belirleyicisi olarak keşfedildi. Hücre proliferasyonunu etkilemeksizin birkaç stimulus ile apoptozis oluşmasını bloke edebilen proteini kodlar. Bcl-2 protein başlıca mitokondriyal membranda ve daha az yoğunlukta endoplazmik retikulum ve nükleer membranda lokalizedir (46). Bcl-2'nin apoptotik hücre ölümüne yol açan yolda apoptozisin inhibe edilmesi olayını düzenleyerek hücre ömrünü arttırdığı, bu nedenle hücrelerin apoptozisten kaçmasına izin verdiği görülür (17). Bu gen, hücre ömrünün uzamasını engelleyen büyüme faktörü azalması, radyasyon, glikokortikoidler ve multiple kemoterapotik ajanları içeren çeşitli apoptotik stimulusların neden olduğu apoptozise karşı koruyucudur. Bcl-2 proteinin apoptoziste yer alan distal basamağı kontrol ettiği düşünülmektedir. Aynı zamanda anti-apoptotik etkilerinden dolayı bcl-2 proteininin önemli multidrug rezistans molekülü olduğu düşünülmektedir (4). Wild tip p53, belirli durumlarda apoptozisi stimüle eder ve bcl-2 geninin negatif düzenleyicisi olarak etki eder (46). Wild tip p53'ün bcl-2'nin fonksiyonunu baskılayarak hücre ölümünü stimüle ettiği düşünülmekle beraber mutant p53, bcl-2'nin yerine geçerek wild tip p53'e zıt etki ve fonksiyona sahip olabilir. Bu nedenle hücre ömrünü uzatır. Hem p53, hem de bcl-2 hücre siklusu üzerine etkiye sahiptir (47). Bcl-2'nin lenfoid ve epitelyal dokuların normal fonksiyonunun gelişimi ve korunmasında önemli olduğu gösterilmiştir. Ancak, malign dokularda bcl-2'nin anlamı tartışmalıdır (5).

Bcl-2 gen ailesinin üyesi olan bax, insan kromozomu 19'un q13.3-q13.4 bölgesinde lokalizedir. 21 kDa ağırlığındaki bax, bcl-2 ile homolog yapıya sahiptir ve bcl-2'nin baskın negatif düzenleyicisidir. Her iki proteinin her biri diğeriyle homo- ya da heterodimer formundadır. Bcl-2'nin fazla olması apoptozisten korunurken, bax'ın fazla olması hücre ölümünü stimüle eder. Normal dokularda bax'ın

ekspresyonu bcl-2'ninkinden çok daha yaygındır. Bax ekspresyonu lenfoid ve çeşitli epitelyal dokularda tespit edilmektedir (5).

T138, yüzeyel tümörlerin %15'inde, invaziv tümörlerin %60'ında eksprese edilen hücre yüzey antijenini oluşturan glikoproteindir. Yapılan birkaç çalışmada T138 pozitif yüzeyel mesane tümörlü hastaların %80'inde hastalık progresyonu geliştiği gösterilmiştir. Yüksek T138 ekspresyonu gösteren invaziv kanserler, metastaz gelişimiyle ilişkili bulunmuştur (3,35).

Onkogenler; nokta ya da insersiyonel/delesyonel mutasyonlar, translokasyonlar ve alellerin kaybı gibi çeşitli genetik hasarlar tarafından değiştirilebilen normal hücresel genlerdir. Bu genetik değişiklik sonucunda, normal gen ürününün aşırı üretimi ya da fonksiyonu değişen protein üretimiyle sonuçlanan malign fenotip ortaya çıkar (48). c-H-ras, c-myc, ve HER2/neu'yu içeren onkogenlerin insan mesane karsinomunda önemli olduğuna inanılır (48). Bununla birlikte ras, erbB-2 ve EBF/EBF reseptörü mesane kanserinde en önemli onkogenlerdir (3).

c-H-ras: Yapılan çalışmalarda H-ras genindeki mutasyonların mesane karsinomlarının gelişimi ve progresyonunda yer aldığı öne sürülmüştür. ras onkogeninin 12 ve 61 kodonlarında yer alan değişikliklerin mesane karsinomlarının %20'sinde bulunduğu belirtilmiştir. c-H-ras onkogeninin yüzeyel mesane karsinomunda potansiyel prognostik rolü öne sürülmekle birlikte, daha sonraki çalışmalarda desteklenmemiştir (48).

c-myc: Mesane karsinomunda c-myc geninin prognostik anlamı tartışmalıdır. Mesane karsinomlarında c-myc ürününün aşırı eksprese edildiği saptanmış ve bu ekspresyon tümör *grade*'i ile korele bulunmuştur. Ancak başka bir çalışmada bunun prognostik anlamı olmadığı gösterilmiştir (3).

HER2/neu; EBF reseptörüne benzer, tirozin kinaz aktivitesine ve hücrel büyüme stimüle etme yeteneğine sahip transmembran glikoproteinini kodlayan onkogendir. Birkaç çalışmada HER2/neu ekspresyonu ve ileri evre tümörler, tümör progresyonu, metastatik hastalığın artmış insidansı ve azalmış sağkalım arasındaki

ilişki not edilmektedir. Fakat, diğer raporlar, HER2/neu değerlendirmesinin THK için evre ve *grade* gibi geleneksel histopatolojik belirteçler üzerine ek prognostik bilgi sağlamadığını göstermektedir (48).

c-erbB-2; iki bağımsız çalışmada c-erbB-2 ürününün artmış ekspresyonunun tümör *grade*'i, kanser spesifik sağkalım ve metastatik hastalık insidansı ile korele olduğu gösterildi. Bir başka çalışmada mesane kanseri için c-erbB-2'nin tespitinin tümör evresi ve *grade* üzerine ek prognostik bilgi sağlamadığı bulundu (3).

MDM-2 geninin amplifikasyonu mesane karsinomunda nadiren görülmektedir. Sistektomiyle tedavi edilen mesane karsinomlu hastalarda MDM-2 ekspresyonunun prognostik önemi tespit edilemedi. Fakat MDM-2 ve p53'ün eş zamanlı değerlendirilmesi, multivaryant analizde hastalık progresyonu ve sağkalımının bağımsız faktörü olarak bulundu (3).

pS2 geni tarafından kodlanan pS2 protein, ilk olarak insan meme karsinomu hücre dizisinde bulunan, 84 aminoasitten oluşan, sisteinden zengin proteindir. pS2 protein ekspresyonunun onkogen aktivasyonu ya da hücre proliferasyonunun önemli regülatörü EBF reseptörünün fonksiyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. pS2 tümör spesifik değildir, ancak malign tümörlerin büyümesinde önemli rol oynayabilir. Bir çalışmada pS2 ekspresyonu mesanenin yüzeysel THK'larının düşük proliferatif potansiyeli ile ilişkiliyken, tümör rekürrens oranı ve diğer standart prognostik faktörlerle ilişkili bulunmamıştır. Başka çalışmalarda ise pS2 ekspresyonunun gastrik ve mesane tümörlerinde kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (2).

Kromozom 3 ve 8'in kısa kolundaki delesyonlar, yüksek *grade* ve kas invaziv THK'larda bulunmaktadır. Birkaç çalışmada kas invaziv mesane karsinomlarının %50'sinden fazlasında 8p delesyonlarının görüldüğü, yüzeysel karsinomlarda bu delesyonların görülmediği not edilmektedir (48).

Kromozom 9 delesyonları, mesane karsinomlarıyla ilişkili en yaygın kromozomal anormalliktir. Diğer not edilen kromozomal delesyonlar kromozom 13 (Rb geni) ve kromozom 17'de (p53 geni) tespit edilmiştir (48).

Üç farklı protein p15, p14, p16'yı kodlayan kromozom 9 delesyonlarının çoğunluğu 9p21 loküsünde yer alır. Bu proteinlerin her biri negatif hücre siklus düzenleyicileri olarak etki eder. Bu yüzden, potansiyel tümör supresör genler olduğu düşünülmektedir. Bu proteinler malign potansiyelin olası belirteçleri olarak araştırma altındadır (48).

Kromozom 13; Rb geninin kanser progresyonunda önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Rb gen mutasyonları, mesane tümörlerinin %25-30'unda bulunur (48).

Kromozom 17; çalışmalardan birinde, yüksek *grade* THK'larda kromozom 17p'de heterozigozitenin kaybı, yüksek sıklıkta not edilmiştir (48).

Tümör proliferasyonu, normal hücre siklus progresyonu ve kontrolünün dengesizliğine bağlıdır. Hücre siklus ile ilişkili protein kompleksleri, normal selüler proliferasyonu düzenleyen siklin ve siklin bağımlı kinazlardan oluşmaktadır (90). Hücre siklus regülasyonunda yer alan, temel ve en iyi çalışılan genler, tümör supresör genler olan Rb, p53 ve p21'dir (3).

Rb geni, identifiye edilen ilk tümör supresör gendir. Rb değişiklikleri en sık kas invaziv ve yüksek *grade* tümörlerde gösterilmiştir. Rb, p53 ya da her ikisinin anormal ekspresyonuna sahip hastalarda, tümör progresyonunda belirgin artış bulunmuştur (3).

Siklin bağımlı kinaz inhibitörleri, siklin bağımlı kinazların Rb protein gibi kritik substratları fosforillemesini engeller, böylece hücre proliferasyonuna yol açan olaylar zincirini bloke eder. Siklin bağımlı kinaz inhibitörleri arasında yer alan p21 ve daha az yaygın olarak p27, mesane karsinomunun prognostik belirteçi olarak incelenmektedir. p21 pozitifliğinin, progressif hastalık riskini tahmin etmek için varolan prognostik faktörlerle karşılaştırıldığında ek prognostik bilgi sağlamadığı bulunmakla beraber, başka bir çalışmada p53+/p21- tümörlerin p53+/p21+ fenotiple karşılaştırıldığında, kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (3,49).

Yüksek p27 düzeyleri düşük *grade*, yüzeysel, papiller ve yavaş büyüyen proliferen tümörlerle anlamlı şekilde korele bulunmuştur. Azalan p27 ekspresyonun kötü prognozla ve relaps sonrası sağkalım ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (3).

PCNA'nın DNA polimeraz –  $\delta$  için ko-faktör olarak etki eden DNA replikasyon mekanizmalarının bir komponenti olduğu düşünülmektedir. Mesane karsinomlu hastalar için PCNA pozitifliği ile tümör *grade*'i ve evresi arasında güçlü korelasyon bulunduğu, rekürrens ve sonrasında kas invaziv hastalık gelişimi ile korele olduğu gösterilmiştir (3).

Nükleoler yerleşimli bölgeler (NORs), elektron mikroskop analizinde fibriler merkezler olarak görülen intranükleer yapılardır. Bu yapılar parafine gömülü histolojik kesitlerin gümüşle boyanması sonucunda interfaz nükleusta görülebilir (AgNORs). Bu olay nükleus içindeki proliferasyon aktivitesiyle ilişkili görülmektedir (19,50). Yapılan çalışmalarda mesane karsinomlarının histolojik *grade*'i ve evresiyle AgNOR değerleri iyi korelasyon göstermiştir (19,20,50). Başka bir çalışmada yapılan sağkalım analizinde, MİB-1 negatif hücrelerdeki NOR sayısı, invaziv mesane karsinomlu hastalar için güçlü prognostik belirteç olarak bulunmuştur (51).

Anjiogenezis, tümör büyümesi ve metastazı için öncelikli olarak gereklidir ve fibroblast büyüme faktörü (FBF), EBF, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEBF), anjiogenin ya da interlökin-8 (IL-8) gibi stimülatörler, trombospondin-1, anjiostatin, endostatin, interferonlar ya da IL-1 ve IL-12 gibi inhibitörler tarafından düzenlenir. Damar yoğunluğu gibi anjiogenezis düzenleyici moleküller, mesane karsinomunda prognostik belirteç olarak fonksiyon görür (3).

İmmatür ya da yeni vasküler endotelyal hücreleri tanıyan faktör VIII ya da CD34'e karşı yönelmiş antikorları kullanarak anjiogenezisin ölçülmesinin tümör agresifliği ile korele olduğu öne sürülmektedir (49). Bazı çalışmalarda mikrodamar yoğunluğunun hesaplanması, tümör progresyonu ve azalmış sağkalım ile ilişkili bulunmuştur (3,49).

Anjiogenik stimülatör olarak; *basic* FBF kontrol grubuyla karşılaştırıldığında mesane kanserli hastaların idrarında yüksek düzeylerde bulunmuştur. Başka bir çalışmada idrar *basic* FBF düzeyleri kas invaziv mesane kanserli hastalarda patolojik evre ile korele bulunmuştur (48).

VEBF, mesane kanserli hastaların idrarında kontrollerden daha yüksek konsantrasyonlarda bulunmuştur. Ayrıca, VEBF düzeylerinin Ta ve T1 tümöre sahip hastalarda tümör rekürrensi ile korele olduğu gösterilmiştir (48).

Anjiogenik inhibitörler olarak trombospondin-1, insan mesane karsinomunda incelenen anjiogenezisin tek inhibitörüdür (3,49). İnvaziv mesane kanserli hastalarda düşük trombospondin-1 ekspresyonunun yüksek rekürrens oranı ve kısalmış sağkalım ile ilişkili olduğu demostre edilmiştir. Ek olarak, trombospondin-1 ekspresyonunun hastalığın rekürrens ve hasta sağkalımının bağımsız belirteci olduğu gösterilmiştir (48).

Hücre adezyon molekülleri grubunda kaderinler, integrinler, selektinler, desmozomlar ve hemidesmozomlar gibi immünglobulin benzeri hücre adezyon molekülleri yer almaktadır. Hücre adezyon molekülleri, genitouriner sistem tümörlerini içeren çok çeşitli insan malignansilerinde invazyon ve metastazla ilişkili bulunmuştur (3).

Kaderinler; interselüler bağlantıların kurulması ve korunması için önemli transmembran glikoproteinleri ailesidir. Kaderin genleri, tümör süpresör genler olarak fonksiyon görür. E - kaderin aracılı adezyon kaybı, birçok karsinomda progresyonun önemli bir basamağıdır. Bazı çalışmalarda immünohistokimyasal olarak tespit edilen azalmış E - kaderin ekspresyonu, mesane karsinomlu hastalarda yüksek tümör *grade*'i, evresi, artmış kas invazyonu ve uzak metastaz ile korele bulunmuştur. Fakat bazı çalışmalar E -kaderin ekspresyonunun *grade* ve evre üzerine bağımsız prognostik değere sahip olmadığını göstermiştir (3).

İntegrinler; laminin, kollagen, fibronektin gibi ekstraselüler matriks proteinleri için transmembran heterodimerik reseptörler ailesidir. Sınırlı miktardaki veri, zayıf  $\alpha6\beta4$  integrin immünboyanması gösteren tümöre sahip bireylerin,

ekspresyon göstermeyen ya da kuvvetli ekspresyon gösteren hastalardan istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha iyi sağkalıma sahip olduğunu göstermiştir. Bu çalışmalar, integrin anormalliklerinin hücrelerin birbirine tutunmasını bozarak agresif ve invaziv tümör fenotipinin gelişimine katkıda bulunduğunu ortaya koymaktadır (3).

Ürotelyum ve komşu endotelial yapılarda kesikli boyanan lamininin, invazyon ve metastaz kapasiteli tümörleri tanımlayabildiğini öne süren çalışmalar mevcuttur (35).

Çözünbilir fibronektin, anti-tümör aktivite kazanması için mesane duvarına yapışması gereken BCG'nin yapışmasını inhibe edebilir. Bu nedenle fibronektin düzeylerinin BCG tedavisine yanıtı değerlendirmede kullanılabilirliği öne sürülmektedir (35).

Metastaz, tümörün uzak bölgelerin stromasına invaze olma ve ilerleyebilme yeteneğine bağlıdır. Ekstraselüler matriks, endotelial tutunma ve sonrasında kapiller oluşum için yapı iskeleti sağlar (48).

Laminin-P1; lamininin proteolitik fragmanı, major bazal membran proteindir. Bazal membranın yıkılması, serum laminin-P1 düzeyinin artışıyla sonuçlanabilmektedir. THK'lu 38 hastada yapılan bir çalışmada, radyoimmünoassay ile ölçülerek saptanan serum laminin-P1 düzeylerinin tümör boyutu ve sayısı ile korele olduğu, ancak *grade* ile korele olmadığı bulunmuştur (3).

Ürokinaz tip plasminojen aktivatör (u-PA); ekstraselüler matriksi parçalayan ve diğer proteazları aktive eden plasmininin aktivatörüdür. 52 mesane karsinomlu hastada u-PA ekspresyonu incelenmiş ve multivaryant analizde yükselmiş u-PA miktarının patolojik evre, *grade*, multifokalite ve tümör boyutu ile karşılaştırıldığında, invazyon ve metastaz için önemli risk faktörü olduğu gösterilmiştir (3).

Matriks metalloproteinazlar (MMPs); ekstraselüler matriks ya da bazal membranı parçalayan enzimlerin ailesidir. Hücrelerin göçünü ve invazyonunu

stimüle eden, tümör büyüme ve metastazında önemli role sahip enzimlerdir. Mesane kanserli 60 hastada MMP-1, MMP-2 ve MMP-3 immünboyanma indeksleri incelenmiş ve sadece MMP-9 ekspresyonu oranlarının tümör *grade*'i ve evresiyle arttığı bulunmuştur. Başka bir çalışmada mesane tümör hücrelerinin çoğunun MMP-2 ve MMP-9 için pozitif olduğu, ekspresyonun prognozla korele olmadığı gösterilmiştir (3).

EBF reseptörleri normal olarak ürotelyumun bazal membranı boyunca dağılmaktadır, fakat THK'larda tüm tabakalarda dağılmaktadır. 41 mesane tümörlü hastanın değerlendirilmesinde EBF reseptörü ekspresyonunun tümör *grade*'i, evresi ve ploidiyle sıkı korelasyon gösterdiği bulunmuştur. Fakat, daha yeni çalışmalarda EBF reseptörünün tümör progresyonuyla prognostik ilişkisi gösterilememiştir (3).

Peptid büyüme faktörleri anjiogenezis, hücre proliferasyonu ve diferansiyasyonunda yer almaktadır (3).

Transforme edici büyüme faktörü –  $\beta$  (TGF- $\beta$ ); osteoblast ve fibroblast gibi hücrelerin proliferasyonunu stimüle ederken, epitelyal ve endotelial proliferasyonu inhibe eder. Bir çalışmada TGF- $\beta$ 'nin immünohistokimyasal boyanmasının tümör *grade*'i ile korele olmadığı, başka bir çalışmada tümör spesmeninden ekstrakte edilen TGF- $\beta$  düzeylerinin düşük *grade* ve evre mesane karsinomlu hastalarda en yüksek olduğu bulunmuştur (3).

VEGF; tümör angiogenezisine aracılık eden başlıca stimülatördür. İki farklı çalışmada VEGF'ünün mesane karsinomlu hastaların idrarında yüksek olduğu ve tümör rekürrens oranları ve tümör *grade*'i ile korele olduğu gösterilmiştir. Ancak, mesane tümörlü hastaların VEGF ekspresyonu ve sağkalım arasında korelasyon rapor edilmemiştir. VEGF'ünün prognostik önemini değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (3,49).

Fas/fas ligand kompleks; bcl-2 ailesi dışında bir diğer apoptozis düzenleyici sistemdir. Fas ve fas ligand'ı transmembran proteinlerdir ve sırasıyla TNF reseptör ya da TNF ailesinin üyeleridir. Sitotoksik T lenfositlerin ve doğal öldürücü hücrelerin aktivasyonu, hücre yüzeyi üzerindeki Fas ligand'ının aktivasyonu ile



sonuçlanır. Fas ligand'ı tarafından Fas'ın bağlanması, Fas eksprese eden hücrelerde apoptozise sebep olur. 173 mesane THK'lu hastada çözünebilir Fas düzeylerinin değerlendirilmesi sonucunda, sağkalımın yüksek serum çözünebilir Fas düzeyli hastalarda anlamlı şekilde yüksek olduğu gösterilmiştir (3).

CD44, immün fonksiyon, hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimlerinde yer alan transmembran glikoproteinidir. Yapılan bir çalışmada, CD44 varyantı CD44v6 ekspresyonunun, artmış tümör evresi ile azaldığı, yüzeyel tümörlerde bağımsız prognostik belirteç olduğu gösterilmiştir (3). Güncel veriler, CD44 düzeyinin üroteliyal kanserde prognostik önemi olduğunu vurgulamaktadır (48).

Normal ve patolojik durumlarda çeşitli prostaglandinleri katalize eden siklooksijenaz (COX), araşidonik asitten prostaglandin H-2 üretir. COX'un iki formundan birisi olan COX-2, çeşitli stimuluslar tarafından uyarılır ve inflamasyon, tümör oluşumu ve immün denetimde rol oynar. Radikal sistektomiyle tedavi edilen kas invaziv mesane kanserli hastalarda COX-2 immünreaktivitesinin derecesi ve boyanma yoğunluğu patolojik tümör *grade*'i, evresi ve sağkalım ile korele bulmuştur. Ancak, tümör tarafından eksprese edilen yüksek COX-2 düzeylerinin bu hasta popülasyonu tarafından sıklıkla alınan anti-inflamatuvar ilaçlara yanıt olarak oluşması da olasıdır (49).

DNA topoizomeraz-I, antikanser ilaçların *camptothecin* grubunun tek moleküler hedefi olarak kuvvetle düşünülmektedir. Bu enzim, transkripsiyonda önemli rol oynamaktadır. Çünkü aktif mRNA sentezine uğrayan genom alanında lokalizedir. Yapılan bir çalışmada topo-I yüksekliğinin, yüksek *grade* tümörlerde çok daha yaygın olduğu bulunmuştur (30).

Ortalama nükleer alan (MNA), ortalama nükleer çevre (MNP), ortalama nükleer minör çap (MNMnD), ortalama nükleer major çap (MNMjD) gibi çeşitli nükleer parametreler ölçülerek yapılan morfometrik ölçümlerle değerlendirme çalışmaları mesane tümörlerinde de uygulanmıştır (24,26-28,52-54). Bazı çalışmalarda morfometrik ölçümlerin rekürrens ve progresyon gelişme riskine sahip hastaları belirlemede değerli belirteç olabileceği gösterilmişken birkaç çalışmada da anlamlı sonuçlar elde edilememiştir (11,24,26,28,52-55).

Akım sitometri, parafine gömülü dokularda hücrel DNA içeriğini analiz eden bir yöntemdir. Mesane karsinomlarında yapılan bazı çalışmalarda anöploid ile histolojik *grade* ve invaziv potansiyel arasında anlamlı ilişki gösterilmiştir (33,52). Ayrıca diploid tümörlere göre anöploid mesane karsinomları daha yüksek Ki-67 pozitifliği göstermektedir (7). Başka bir çalışmada ise mesane karsinomlarında DNA ploidisinin prognostik anlamı gösterilememiştir (33).

#### TEDAVİ VE PROGNOZ

Evre TIS (ürotelial karsinoma insitu) olguları sıklıkla diğer tip mesane tümörleriyle ilişkilidir. Tedavileri karsinomun yaygınlığına bağlıdır. Transüretral rezeksiyon (TUR) lokalize vakalarda yeterli olabilir ancak, adjuvant intravezikal tedavi genellikle gereklidir. Karsinoma in situ'lu hastaların sıkı takip edilmesi gereklidir. Yaygın karsinoma in situ'lu hastalarda 5 yılda invaziv tümöre ilerleme riski %80'dir (38).

Evre Ta veT1 yüzeysel tümörlerde genellikle uygulanan tedavi TUR ve görülebilen tümörün yakılmasıdır. Rekürrens ve progresyon için yüksek riskli hastalara intravezikal kemoterapi, intravezikal immünoterapi, fotoradyasyon, laser ve vitamin terapilerini içeren çeşitli adjuvan tedaviler uygulanmaktadır. Yüzeysel mesane karsinomları (Ta veT1) THK'ların %60-80'ini oluşturur ve iyi prognoza sahiptirler. Fakat bunların %50-70'inde 1-2 yıl içinde rekürrens gelişir ve %10-25'i daha yüksek *grade*, kas invaze ya da metastatik hastalığa ilerler (26,45). Yüzeysel THK'larda 5 yıllık surviv oranı %60'tır (26).

İnvaziv (T2,T3,T4) mesane karsinomları için standart tedavi total sistektomi ya da sistoprostatektomidir (38). Yeni tanı almış mesane karsinomlu hastaların yaklaşık %25'i kas invaziv hastalığa sahiptir ve bunların büyük çoğunluğunu yüksek histolojik *grade*'li tümörler oluşturmaktadır (36). Kas invaziv THK'lu hastaların yaklaşık yarısında metastatik hastalık gelişmektedir (3). Metastatik mesane karsinomlu hastaların hemen hemen tümü 2 yıl içinde ölmektedir (36).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda Nisan 1996-Haziran 2003 tarihleri arasında histopatolojik olarak incelenerek "mesane transizyonel hücreli karsinom" tanısı almış 97 hastaya ait 118 olgu çalışmaya alındı. Olgulara ait %10 formaldehit solüsyonu ile tespit edilmiş, parafin bloklara gömülü dokulardan hazırlanmış ve Hematoksilen - Eozin ile boyanmış arşiv preparatları yeniden değerlendirilmek üzere çıkartıldı. İmmünohistokimyasal değerlendirme için yeterince doku içermeyen 7 hastaya ait 11 olgu çalışma dışı bırakıldı ve çalışmaya 90 hastaya ait 108 olgu dahil edildi.

Olguların yaşları, cinsiyetleri, tümör sayısı, tümör çapı, biyopsi şekli, takip aralıkları, rekürrens ve/veya progresyon durumları hastalara ait patoloji raporları, sistoskopi raporları ve hasta dosyalarından temin edildi.

Tüm olgulara ait Hematoksilen - Eozin boyalı kesitler yeniden Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre *grade*'lendi (43) ve TNM sınıflamasına (36) göre evrelendirildi. *Grade* 'lemede ürotelyal papilloma ve papiller karsinomun 3 *grade*'ini içeren, 1973'te yayınlanan Dünya Sağlık Örgütü'nün sınıflaması (WHO 1973) temel alındı (43). Bu sınıflamada:

Ürotelyal papilloma, mitotik figürler olmaksızın sitolojik ve yapısal olarak normal ürotelyumla döşeli, ince fibrovasküler korlu, küçük, genellikle soliter, papiller lezyon olarak tanımlandı.

Papiller ürotelyal karsinomların *grade*'lenmesinde kesitlerde görülen en kötü *grade* temel alınmaktadır.

*Grade* 1 ya da G1 karsinoma: Minimal- hafif nükleer irileşme, normal ya da hafif bozulmuş yapı ve mitoz içermeyen ya da nadir mitotik figür gösteren, 7 hücre tabakasından daha fazla hücre içeren kalınlaşmış ürotelyumdan oluşur.

*Grade 2* ya da *G2* karsinoma: Belirgin nükleer pleomorfizm, kaba kümelenen kromatin ve normal yapının bir miktar bozulmasını gösterir.

*Grade 3* ya da *G3* karsinoma: Karsinoma in situ'nunkine benzer son derece belirgin nükleer anormallikler gösterir. Hücre sayısında artış, nükleer kalabalıklaşma, polaritenin bozulması, bazalden yüzeysel mukozaya kadar diferansiyasyonun yokluğu, hücrelerin boyutunda düzensizlik, nükleer biçim ve kromatin paterninde farklılık, artmış mitotik figürler ve nadiren tümör dev hücrelerinin varlığı olarak tanımlanan hücresel anaplazi *grade 3* karsinomanın karakteristiğidir.

Evrelemede mesane kanserleri için uygulanan TNM sınıflaması temel alındı (42). Buna göre:

Tx: Primer tümör değerlendirilemiyor.

T0: Primer tümörün kanıtı yok.

Ta: Non-invaziv papiller karsinom.

Tis: Karsinoma in situ: "flat tumor".

T1: Tümör subepitelyal konnektif dokuya (L.propria'ya) invaze.

T2: Tümör yüzeysel kas tabakasına invaze (iç 1/2)

T3:

T3a: Tümör derin kas tabakasına invaze (dış 1/2)

T3b: Tümör perivezikal yağ tabakasına invaze.

T4: Tümör prostat, uterus, vagina, pelvik duvar ya da abdominal duvara invaze.

T4a: Tümör prostat, uterus, vaginaya invaze.

T4b: Tümör pelvik duvar ya da abdomene invaze.

Ayrıca mikroskopik olarak tümörler yapısal özelliklerine göre papiller ya da solid olup olmamalarına göre de değerlendirilip not edildi.

Tüm olgulardan tümör dokusunu en iyi yansıtan birer örnek belirlenerek seçilen parafin bloklardan poli - L - lizin kaplı lamlara immünohistokimyasal boyama yapmak üzere 4-5 mikron kalınlığında yeni kesitler alındı.

Poli - L - lizinli lamlara alınan doku örnekleri deparafinize olmaları için 65 °C'de, bir gece ettüvde bekletildi. Daha sonra 3 kez 30 dakika ksilolde bekletildi.

Ksilolden çıkarıldıktan sonra havada kurutuldu. Sırasıyla 2 dakika absölü alkolde, 2 dakika %95'lik alkolde, 2 dakika %80'lik alkolde ve 3 kez 2'şer dakika %70'lik alkolde tutularak rehidratasyon yapıldı. Bütün kesitler alkolden çıkarılarak distile suda yıkandı. Daha sonra %3'lük hidrojen peroksit solüsyonunda 5 dakika tutuldu. Fosfatlı tampon solüsyonunda (FTS) 10 dakika yıkandı. Kesitler *antigen retrieval* için ph=7.3, 10 mM sitrat tampon solüsyonu içinde mikrodalga fırında (700 Watt) Ki-67 ve bcl-2 boyanacak kesitler için 10'ar dakika 3 kez; p53 ve bax boyanacak kesitler için 10'ar dakika 6 kez tutuldu. Mikrodalgadan çıkan kesitler FTS solüsyonunda 10 dakika yıkandı. Bu aşamadan sonra Ki-67 ve p53 *manuel* yöntemle, bcl-2 ve bax otomatik yöntemle (VENTANA, Nexes IHC) boyandı. FTS'de yıkandıktan sonra *manuel* yöntemle boyama için kesitlere 1/100 oranında *antibody diluent* solüsyon (VENTANA) ile dilüe edilen konsantre DO-7 mouse monoklonal antibody p53 Ab-5 (NEOMARKER) ve MB67 mouse monoklonal antibody Ki-67 Ab-2 (NEOMARKER) uygulandı ve kesitler primer antikorla Ki-67 için 30 dakika, p53 için 60 dakika inkübe edildi. Bu süre sonunda kesitler yeniden FTS ile 10 dakika yıkandı. Takiben sekonder antikor (DAKO, Streptavidin- HRP) damlatılarak 20 dakika inkübe edildi. Kesitler tekrar FTS ile 10 dakika yıkandıktan sonra *universal kit* (DAKO Biotinylated Link Antimouse and anti Rabbit Ig) damlatılarak 20 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda yeniden FTS ile 10 dakika yıkandı. 1 tablet DAB (DAKO, DAB Chromogen) 10 cc FTS'de çözdürülerek elde edilen solüsyondan her 1 cc için %1'lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> damlatılarak karıştırılıp hazırlanan kromojen damlatılarak 15 dakika beklenildi. Daha sonra distile su ile yıkanan kesitler zemin boyaması için asitsiz Harris's Hematoksilen'de 30 saniye tutuldu. Çeşme suyunda yıkandı ve sırasıyla %95'lik alkolde 5 dakika, %80'lik alkolde 5 dakika tutuldu. Havada kurutulduktan sonra ksilolde 30 dakika tutulan kesitler entellan ile kapatıldı. Otomatik boyama yapılan kesitlere primer antikor aşamasında bcl-2 için 1/100 oranında dilue edilen konsantre 100/D5 mouse monoklonal antibody bcl-2alpha Ab-1 (NEOMARKER) ve bax için 1/25 oranında dilue edilen konsantre 2D2 mouse monoklonal antibody Bax (Apoptosis Marker ) Ab-1 (NEOMARKER) uygulandı ve primer antikorla kesitler 30 dakika inkübe edildi. Boyama işlemi tamamlandıktan sonra kesitler önce deterjanlı suda, sonra distile suda yıkandı. Kesitler zemin boyaması için asitsiz Harris's Hematoksilen'de 30 saniye tutulup çeşme suyunda yıkandı. Daha sonra *manuel* yöntemle immünohistokimyasal boyama işleminde yapılan işlemler uygulanıp kesitler entellan ile kapatıldı.

Ki-67 için tonsil, p53 için grade3 transizyonel hücreli karsinom, bcl-2 için folliküler lenfoma ve bax için *Hodgkin* lenfoma kesitleri pozitif kontrol olarak eş zamanlı boyandı. Negatif kontroller primer antikor inkübasyonu ihmal edilerek boyandı.

Ki-67, p53, bcl-2 ve bax antikorları için immünohistokimyasal boyama değerlendirilirken her olguda her bir antikor için kesitin tamamı mikroskopun (NİKON Eclipse E200) x10'lük büyütmesinde taranarak pozitif boyanmanın en yoğun ve kesitin en ince olduğu tümör alanları seçildi. Ki-67 ve p53 için nükleer boyanma, bcl-2 ve bax için hücre membranı ve sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edildi. Mikroskopun x40'lük büyütmesinde her olguda her bir antikor için pozitif boyanmanın izlendiği, seçilen alanlarda sayılan 1000 tümör hücresinde pozitif boyanan hücrelerin oranı hesaplandı ve % değerlerine göre 4 gruba ayrıldı: 0: Boyanma yok, 1: %0-20, 2: %21-50, 3: %50 ve üzeri.

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi *SPSS 10.0 istatistiksel package*'de (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) *One Way ANOVA*, *Ki-kare* ve *Spearman's rank* korelasyon testleri kullanılarak yapıldı.

## BULGULAR

Bu çalışmada 97 hastaya ait 118 olgunun arşiv preparatları yeniden incelenerek immünohistokimyasal değerlendirme için yeterli doku içermeyen 7 hastaya ait 11 olgu çalışma dışı bırakıldı ve çalışmaya 90 hastaya ait 108 olgu ile devam edildi. Çalışmada yer alan 18 hastanın daha sonraki takip süresinde 2inci bir mesane transizyonel hücreli karsinom tanısı almış biyopsi materyali mevcuttu.

Yaşları 40-89 arasında değişen olguların (ortalama±SS: 65,16±11,24) 99'u erkek, 9'u kadındı (erkek/kadın: 11/1). Sistoskopi raporlarından 91 olgunun tümör sayısına ait, 55 olgunun tümör çapına ait bilgiye ulaşıldı. Yine sistoskopi raporlarından edinilen bilgilere göre 45 olgu soliter, 46 olgu multifokal tümöre sahipti. Tümör çapı 31 olguda 3 cm'den küçük, 24 olguda 3 cm ve üzerinde idi. Olguların 97 tanesine TUR, 7 tanesine radikal sistoprostatektomi, 4 tanesine endoskopik biyopsi uygulandığı tespit edildi. Dosya bilgilerine ulaşılabilen 58 olguda takip aralığı 1-56 ay arasında değişiyordu (ortalama±SS: 13,75±12,55 ay).

Rekürrens, başlangıç tedavisini takiben gelişen yeni tümörlerin ilk tümör ile aynı *grade* ve evrede olmasıdır. Progresyon ise başlangıç tedavisini takiben gelişen yeni tümörlerin daha yüksek *grade* ve evrede olmasıdır (38). Çalışmamızda yer alan olguların 10'unda tümör rekürrensi, 10'unda da tümör progresyonu olduğu tespit edildi.

Olguların tümü DSÖ'ne göre yeniden değerlendirildiğinde 30'unun *grade*1, 35'inin *grade*2, 43'ünün *grade*3 olduğu saptandı. TNM sınıflamasına göre yeniden patolojik evreleme yapıldığında 34'ü Ta, 35'i T1, 22'si T2, 5'i T3a, 5'i T3b, biri T4a olarak değerlendirildi (Tablo – I). L. propria ve muskuler tabaka izlenemediği için 6 olguda tümör evrelemesi yapılamadı. Bu olguların biri *grade*1, 5'i *grade*3 idi. *Grade*1 olguların 22'si Ta, 7'si T1; *grade*2 olguların 12'si Ta, 16'sı T1, 6'sı T2, biri T3a; *grade*3 olguların 12'si T1, 16'sı T2, 4'ü T3a, 5'i T3b, biri T4a idi (Tablo - II). Olguları yüzeysel ve invaziv THK olarak gruplandırdığımızda; 69 olgu (%64) yüzeysel THK, 33 olgu (%31) invaziv THK idi. *Grade*1 olguların 29'u (%96,67), *grade*2 olguların 28'i (%80), *grade*3 olguların 12'si (%27,90) yüzeysel THK; *grade*2

olguların 7'si (%20), *grade3* olguların 26'sı (%60,46) invaziv THK idi. *Grade1* olgular arasında invaziv THK yoktu. Bu verilere göre bir değerlendirme yapıldığında, histolojik *grade*'i yüksek tümörlerin sıklıkla ileri evre olgular şeklinde karşımıza çıktığı gözlemlendi. *Grade1* tümörlerin tümünün non-invaziv evrede olması dikkat çekici bir bulguydu. Yapılan istatistiksel değerlendirmede evre grupları ile *grade*'ler arasında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı farklılık mevcuttu ( $p=0.000$ ). Evre grupları ile *grade*'ler arasında pozitif yönde, güçlü, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı ( $r=0.606$ ,  $p=0.000$ ).

**Tablo – I: Çalışmaya alınan olguların klinik ve morfolojik özellikleri**

<b>Hasta özellikleri</b>		
Hasta sayısı		90
Olgu sayısı		108
Yaş ortalaması ( $\pm$ SS)		65,16 $\pm$ 11,24 (40-89)
Cinsiyet		
	Erkek	99
	Kadın	9
<b>Tümör özellikleri</b>		
Tümör sayısı*		
	Multifokal	46
	Soliter	45
Tümör çapı		
	3 cm>	31
	3 cm $\leq$	24
Biyopsi şekli		
	TUR	97
	Radikal	7
	Endoskopik	4
Takip aralığı ( $\pm$ SS)**		13,75 $\pm$ 12,55 ay (1-56 ay)
Rekürrens		10
Progresyon		10
<i>Grade</i>		
	1	30
	2	35
	3	43
Tümör evresi***		
	Ta	34
	T1	35
	T2	22
	T3a	5
	T3b	5
	T4a	1
	T4b	0
Tümör yapısı		
	Papiller	64
	Solid	44

\* 17 olgunun tümör sayısı bilinmiyor.

\*\* 50 olguda takip aralığı bilinmiyor

\*\*\* 6 olgunun tümör evresi değerlendirilemedi.



**Tablo – II: Olguların grade ve evrelere göre histopatolojik dağılımı**

Grade	Patolojik Evre							Değerlendirilemeyen	Toplam
	Ta	T1	T2	T3a	T3b	T4a	T4b		
1	22	7	0	0	0	0	0	1	30
2	12	16	6	1	0	0	0	0	35
3	0	12	16	4	5	1	0	5	43
Toplam	34	35	22	5	5	1	0	6	108

Olgulara ait Hematoksilen – Eozin boyalı kesitlerin mikroskopik incelemesinde tüm kesitlerde hakim olan yapısal özellik gözönüne alındığında 64 olgu papiller, 44 olgu solid yapıdaydı.

Grade'lere göre Ki-67 ile olguların boyanma durumları incelendiğinde grade1 olguların 19'unda (%63,33), grade2 olguların 27'sinde (%77,14), grade3 olguların 32'sinde (%74,42) pozitif boyanma izlendi. Olgulardaki Ki-67 pozitif hücrelerin oranı % olarak hesaplandıktan sonra grade'lere göre ortalama değerleri ( $\pm$ SD) elde edildi. Buna göre grade1 olgularda  $3,05 \pm 5,63$ ; grade2 olgularda  $8,58 \pm 11,69$ ; grade3 olgularda  $15,76 \pm 17,69$  oranında Ki-67 pozitifliği saptandı (Şekil 1-3). Grade'ler arasındaki ilişki istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı farklılık bulundu ( $p= 0.000$ ) ve ileri analiz ile bu farklılığı yaratan gruplar araştırıldığında, grade1 ve grade3 olgular arasında Ki-67 pozitifliği yönünden ileri derecede anlamlı farklılık olduğu ortaya kondu. Buna göre iyi differansiye (grade1) THK'lerde düşük oranda Ki-67 pozitifliği saptanırken bu oran az differansiye (grade3) tümörlerde belirgin şekilde yüksek bulundu. Ki-67 pozitif hücre oranları gruplandırılarak yapılan semikantitatif değerlendirme sonuçları da bu ilişkiyi destekler nitelikteydi. Her üç grade grubundaki olguların Ki-67 pozitif hücre oranlarına göre dağılımları Tablo - III'te görülmektedir. Bu dağılıma göre yapılan istatistiksel analizde grade'ler ile Ki-67 pozitif gruplar arasında pozitif yönde, zayıf derecede, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcuttu ( $r= 0.230$ ,  $p= 0.017$ ).

**Tablo – III: Grade'lere göre olguların Ki-67 pozitif hücre oranlarının dağılımı**

Grade	Ki-67 pozitifliği				Toplam
	Negatif	%0-20	%21-50	%51-100	
1	11	18	1	0	30
2	8	22	5	0	35
3	11	18	13	1	43
Toplam	30	58	19	1	108

**Şekil –1:** *Grade1* THK’da nükleer Ki-67 boyanması (x40)



**Şekil –2:** *Grade2* THK’da nükleer Ki-67 boyanması (x40)

**Şekil –3:** *Grade3* THK’da nükleer Ki-67 boyanması (x40)

Patolojik evre ile olguların Ki-67 pozitif hücre oranları arasındaki ilişki incelendiğinde, evre ilerledikçe Ki-67 pozitifliğinde de artış olduğu saptandı. Yüzeyel ve invaziv tümör gruplarının ortalama değerleri hesaplandığında yüzeyel THK olgularında  $0,81 \pm 0,60$ ; invaziv THK olgularında  $1,15 \pm 0,83$  oranında Ki-67 pozitifliği tespit edildi. Semikantitatif değerlendirmede ise yüzeyel THK'lu olguların 20'sinde boyanma saptanmazken, 42 tanesinde %0-20 oranında, 7 tanesinde %21-50 oranında Ki-67 pozitifliği gözlemlendi. Buna karşın invaziv THK'lu olguların 8'inde boyanma görülmezken, 13 tanesinde %0-20 oranında, 11 tanesinde %21-50 oranında, 1'inde %51-100 oranında Ki-67 pozitifliği saptandı. Yapılan analizlerde patolojik evre grupları ile Ki-67 pozitif gruplar arasında pozitif yönde, zayıf derecede, istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ( $r= 0.208$ ,  $p= 0.036$ ).

Tümör sayısı ve büyüklüğü (çapı) ile Ki-67 pozitif hücre oranları arasındaki ilişki incelendiğinde, anlamlı bir ilişki bulunmadığı dikkati çekti.

Soliter tümör kitlelerine sahip olguların 16'sında boyanma gözlenmezken, 22 olguda %0-20, 6 olguda %21-50 ve 1 olguda da %51-100 oranında Ki-67 pozitif hücre saptandı. Multifokal tümör kitlesine sahip olguların dağılımları incelendiğinde, 11 olguda boyanma gözlenmezken, 25 olguda %0-20, 10 olguda da %21-50 oranında Ki-67 pozitifliği tespit edildi.

Tümör çapı 3 cm'den küçük olguların 5 tanesinde Ki-67 negatif reaksiyon izlenirken, 20 olguda %0-20, 5 olguda %21-50, 1 olguda da %51-100 oranında Ki-67 pozitifliği tespit edildi. Çapı 3 cm'den büyük tümörlerde ise, 6 olgu Ki-67 negatif iken, 11 olguda %0-20, 7 olguda ise %21-50 oranında Ki-67 pozitifliği saptandı.

Rekürrens durumuna göre Ki-67 pozitifliği incelendiğinde Ki-67 ile boyanma göstermeyen 13 olgunun 3'ünde, %0-20 oranında pozitif boyanan 31 olgunun 6'sında, %21-50 oranında pozitif boyanan 6 olgunun birinde rekürrens geliştiği saptandı. Rekürrens varlığı açısından Ki-67 pozitif gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ( $p= 0.939$ ). Rekürrens durumuna göre Ki-67 pozitifliği anlamlı değişiklik göstermemektedir.

Progresyon durumuna göre Ki-67 pozitifliği incelendiğinde Ki-67 ile boyanma göstermeyen 13 olgunun 2'sinde, %0-20 oranında pozitif boyanan 31 olgunun 4'ünde, %21-50 oranında pozitif boyanan 6 olgunun 4'ünde progresyon geliştiği saptandı. Progresyon varlığı açısından Ki-67 pozitif gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttu ( $p= 0.009$ ). Progresyon gösteren THK'larda Ki-67 pozitifliği anlamlı şekilde yükseklik göstermektedir.

*Grade*'lere göre p53 pozitif olguların boyanma durumları incelendiğinde, *grade1* olguların 23'ünde (%76,67), *grade2* olguların 29'unda (%82,86), *grade3* olguların 36'sında (%83,72) pozitif boyanma izlendi. Olgulardaki p53 pozitif hücrelerin oranı % olarak hesaplandıktan sonra *grade*'lere göre ortalama değerleri ( $\pm$ SD) elde edildi. Buna göre *grade1* olgularda %15,88 $\pm$ 19,77; *grade2* olgularda %20,59 $\pm$ 19,85; *grade3* olgularda %38,37 $\pm$ 29,88 oranında p53 pozitifliği saptandı (Şekil 4–6). *Grade*'ler arasındaki ilişki istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı farklılık bulundu ( $p= 0.000$ ) ve ileri analiz ile bu farklılığı yaratan gruplar araştırıldığında *grade1* ile *grade3* ve *grade2* ile *grade3* arasında p53 pozitifliği yönünden anlamlı farklılık olduğu ortaya kondu. Buna göre, az diferansiye (*grade3*) THK'lardaki p53 pozitifliği, iyi diferansiye (*grade1*) ve orta derecede diferansiye (*grade2*) tümörlerden belirgin şekilde yükseklik göstermekteydi. p53 pozitif hücre oranları gruplandırılarak yapılan semikantitatif değerlendirme sonuçları da bu ilişkiyi destekler nitelikteydi. Her üç *grade* grubundaki olguların p53 pozitif hücre oranlarına göre dağılımları Tablo - IV'te görülmektedir. Bu dağılıma göre yapılan istatistiksel analizde, *grade*'ler ile p53 pozitif gruplar arasında pozitif yönde, orta derecede, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcuttu ( $r= 0.291$ ,  $p= 0.002$ ).

**Tablo – IV: *Grade*'lere göre olguların p53 pozitif hücre oranlarının dağılımı**

<i>Grade</i>	Negatif	p53 pozitifliği			Toplam
		%0-20	%21-50	%51-100	
1	7	14	6	3	30
2	6	15	11	3	35
3	7	8	12	16	43
Toplam	20	37	29	22	108

**Şekil –4:** *Grade1* THK’da nükleer p53 boyanması (x40)



**Şekil –5:** *Grade2* THK’da nükleer p53 boyanması (x40)

**Şekil –6:** *Grade3* THK’da nükleer p53 boyanması (x40)

Patolojik evre ile olguların p53 pozitif hücre oranları arasındaki ilişki incelendiğinde, evre ilerledikçe p53 pozitifliğinde de hafif artış olduğu saptandı. Yüzeyel ve invaziv tümör gruplarının ortalama değerleri hesaplandığında yüzeyel THK olgularında  $1,36 \pm 0,97$ ; invaziv THK olgularında  $1,70 \pm 1,02$  oranında p53 pozitifliği tespit edildi. Semikantitatif değerlendirmede ise yüzeyel THK'lu olguların 13'ünde boyanma saptanmazken, 29 tanesinde %0-20 oranında, 16 tanesinde %21-50 oranında, 11'inde %51-100 oranında p53 pozitifliği gözlemlendi. Buna karşın, invaziv THK'lu olguların 5'inde boyanma gözlenmezken, 8 tanesinde %0-20 oranında, 12'sinde %21-50 oranında, 8'inde de %51-100 oranında p53 pozitifliği saptandı. Yapılan analizlerde patolojik evre grupları ile p53 pozitif gruplar arasında pozitif yönde, zayıf derecede bir ilişki mevcuttu, ancak bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $r= 0.165$ ,  $p= 0.098$ ).

Olguların Ki-67 ve p53 ile boyanma durumları karşılaştırıldığında, Ki-67 pozitif gruplar ile p53 pozitif gruplar arasında pozitif yönde, zayıf derecede, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcuttu ( $r= 0.213$ ,  $p= 0.027$ ). Buna göre THK'larda Ki-67 pozitifliği arttıkça p53 pozitifliği de artış göstermektedir.

Tümör sayısı ile olguların p53 pozitif hücre oranları arasındaki ilişki incelendiğinde, anlamlı bir ilişki bulunmadığı dikkati çekti. Soliter tümör kitlelerine sahip olguların 11'inde boyanma gözlenmezken, 10 olguda %0-20, 13 olguda %21-50, 11 olguda da %51-100 oranında p53 pozitif hücre saptandı. Multifokal tümör kitlesine sahip olguların dağılımları incelendiğinde, 8 olguda boyanma gözlenmezken, 18 olguda %0-20, 12 olguda %21-50, 8 olguda da %51-100 oranında p53 pozitifliği tespit edildi.

Tümör büyüklüğüne göre p53 ile olguların boyanma durumları incelendiğinde, çapı 3 cm'den küçük olguların 22'sinde ( $70,97$ ), çapı 3 cm ve üzeri tümöre sahip olan olguların 21'inde ( $87,5$ ) pozitif boyanma izlendi. Semikantitatif değerlendirmede tümör çapı 3 cm'den küçük olguların 9'unda p53 negatif reaksiyon izlenirken, 3 olguda %0-20 oranında, 14 olguda %21-50 oranında, 5 olguda da %51-100 oranında p53 pozitifliği tespit edildi. Çapı 3 cm ve üzeri tümörlerde ise 3 olgu p53 negatif iken, 9 olguda %0-20 oranında, 5 olguda %21-50 oranında, 7 olguda da %51-100 oranında p53 pozitifliği saptandı (Tablo - V). Bu dağılıma göre yapılan

istatistiksel analizde 3 cm ve üzerinde tümör çapına sahip olgularda p53 pozitifliği, 3 cm'den küçük çapa sahip olguların değerinden daha yüksekti (p= 0.011).

**Tablo – V: Tümör büyüklüğüne göre olguların p53 pozitif hücre oranlarının dağılımı**

Tümör çapı	p53 pozitifliği				Toplam
	Negatif	%0-20	%21-50	%51-100	
3 cm>	9	3	14	5	31
3 cm≤	3	9	5	7	24
Toplam	12	12	19	12	55

Rekürrens durumuna göre p53 pozitifliği incelendiğinde p53 ile negatif boyanan 7 olgunun birinde (%14,29), %0-20 oranında pozitif boyanan 19 olgunun 4'ünde (%21,05), %21-50 oranında pozitif boyanan 17 olgunun 5'inde (%29,41) rekürrens geliştiği saptandı (Tablo – IV). Buna göre yüksek p53 pozitifliği gösteren olgularda daha yüksek oranda rekürrens geliştiği görüldü. Ancak rekürrens varlığı açısından p53 pozitif gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p= 0.584).

**Tablo – VI: p53 pozitifliğine göre olguların rekürrens oranları (%)**

p53 pozitifliği	Rekürrens Var	Rekürrens Yok
Negatif	14,29	85,71
%0-20 pozitif	21,05	78,95
%21-50 pozitif	29,41	70,59
%51-100 pozitif	-	-

Progresyon durumuna göre p53 pozitifliği incelendiğinde p53 ile %0-20 oranında pozitif boyanan 19 olgunun 6'sında, %21-50 oranında pozitif boyanan 17 olgunun 3'ünde, %51-100 oranında pozitif boyanan 7 olgunun birinde progresyon geliştiği saptandı. Progresyon varlığı açısından p53 pozitif gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p= 0.217). Progresyon durumuna göre p53 pozitifliği anlamlı değişiklik göstermemektedir.

*Grade*'lere göre bcl-2 ile olguların boyanma durumları incelendiğinde, *grade1* olguların 4'ünde (%13,33), *grade2* olguların 6'sında (%17,14) pozitif boyanma izlendi. *Grade3* olguların tamamı (n= 43) bcl-2 ile negatif reaksiyon gösterdi. Olgulardaki bcl-2 pozitif hücrelerin oranı % olarak hesaplandıktan sonra *grade*'lere göre ortalama değerleri (±SD) elde edildi. Buna göre *grade1* olgularda

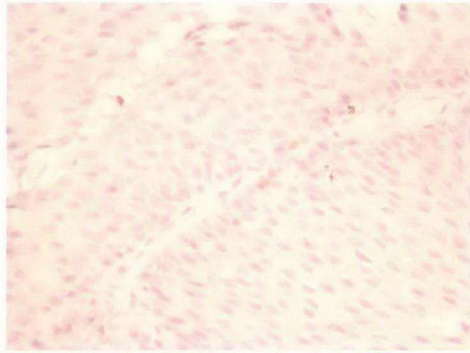
%0,004±0,11; *grade2* olgularda %0,151±0,47; *grade3* olgularda %0 oranında bcl-2 pozitifliği saptandı (Şekil 7-9). *Grade*'ler arasındaki ilişki istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı farklılık bulundu ( $p= 0.048$ ) ve ileri analiz ile bu farklılığı yaratan gruplar araştırıldığında, *grade2* ve *grade3* olgular arasında bcl-2 pozitifliği yönünden anlamlı farklılık bulunduğu ortaya kondu. Buna göre orta derecede diferansiye (*grade2*) THK'larda yüksek oranda bcl-2 pozitifliği saptanırken, bu oran az diferansiye (*grade3*) tümörlerde belirgin şekilde düşük bulundu. Bcl-2 pozitif hücre oranları gruplandırılarak yapılan semikantitatif değerlendirme sonuçları da bu ilişkiyi destekler nitelikteydi. Her üç *grade* grubundaki olguların bcl-2 pozitif hücre oranlarına göre dağılımları Tablo - VII'da görülmektedir. Bu dağılıma göre yapılan istatistiksel analizde *grade*'ler ile bcl-2 pozitif gruplar arasında negatif yönde, zayıf derecede, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcuttu ( $r= -0.213$ ,  $p= 0.027$ ).

**Tablo – VII: *Grade*'lere göre olguların bcl-2 pozitif hücre oranlarının dağılımı**

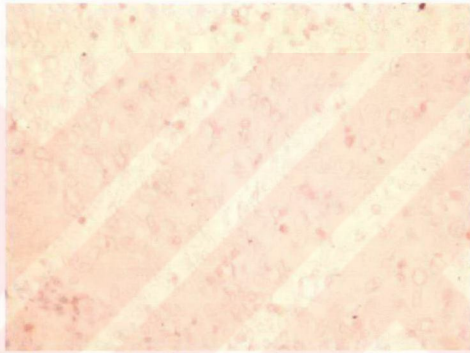
<i>Grade</i>	Negatif	Bcl-2 pozitifliği			Toplam
		%0-20	%21-50	%51-100	
1	26	4	0	0	30
2	29	6	0	0	35
3	43	0	0	0	43
Toplam	98	10	0	0	108

Patolojik evre ile olguların bcl-2 pozitif hücre oranları arasındaki ilişki incelendiğinde, evre ilerledikçe bcl-2 pozitifliğinde azalma olduğu saptandı. Yüzeysel ve invaziv tümör gruplarının ortalama değerleri hesaplandığında, yüzeysel THK olgularında %0,14±0,35; invaziv THK olgularında %0 oranında bcl-2 pozitifliği tespit edildi. Semikantitatif değerlendirmede ise, yüzeysel THK'lu olguların 59'unda boyanma saptanmazken, 10 tanesinde %0-20 oranında bcl-2 pozitifliği gözlemlendi. Buna karşın invaziv THK olgularında (n=33) bcl-2 ile boyanma saptanmadı. Yapılan analizlerde, patolojik evre grupları ile bcl-2 pozitif gruplar arasında negatif yönde, zayıf derecede, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcuttu ( $r= -0.228$ ,  $p= 0.021$ ).

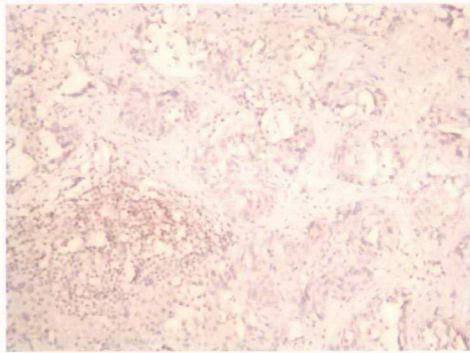




**Şekil -7:** *Grade1* THK'da membranöz bcl-2 boyanması (x80)



**Şekil -8:** *Grade2* THK'da membranöz bcl-2 boyanması (x80)



**Şekil -9:** *Grade3* THK'da membranöz bcl-2 boyanması (x40)

Olguların Ki-67 ve bcl-2 ile boyanma durumları karşılaştırıldığında, Ki-67 pozitif gruplar ile bcl-2 pozitif gruplar arasında pozitif yönde, zayıf derecede bir ilişki mevcuttu, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $r= 0.044$ ,  $p= 0.650$ ). Ki-67 pozitifliği arttıkça, bcl-2 pozitifliğinde de artış olmaktadır. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Olguların p53 ve bcl-2 ile boyanma durumları karşılaştırıldığında p53 pozitif gruplar ile bcl-2 pozitif gruplar arasında negatif yönde, zayıf derecede bir ilişki mevcuttu, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $r= -0.098$ ,  $p= 0.313$ ). p53 pozitifliği arttıkça, bcl-2 pozitifliğinde azalma olmaktadır. Ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Tümör sayısı ve büyüklüğü (çapı) ile bcl-2 pozitif hücre oranları arasında ilişki incelendiğinde, anlamlı bir ilişki bulunmadığı dikkati çekti.

Soliter tümör kitlelerine sahip olguların 42'sinde boyanma gözlenmezken, 3 olguda %0-20 oranında bcl-2 pozitif hücre saptandı. Multifokal tümör kitlesine sahip olguların dağılımları incelendiğinde, 41 olguda boyanma gözlenmezken, 5 olguda %0-20 oranında bcl-2 pozitifliği tespit edildi.

Tümör çapı 3 cm'den küçük olguların 28'inde bcl-2 negatif reaksiyon izlenirken, 3 olguda %0-20 oranında bcl-2 pozitifliği tespit edildi. Çapı 3 cm ve üzeri tümörlerde ise 22 olgu bcl-2 negatifken, 2 olguda %0-20 oranında bcl-2 pozitifliği saptandı.

Rekürrens durumuna göre bcl-2 pozitifliği incelendiğinde bcl-2 ile boyanma göstermeyen 45 olgunun 9'unda, %0-20 arasında pozitif boyanan 5 olgunun 1'inde rekürrens geliştiği saptandı. Rekürrens varlığı açısından bcl-2 pozitif gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ( $p= 1.000$ ). Rekürrens durumuna göre bcl-2 pozitifliği anlamlı değişiklik göstermemektedir.

Progresyon durumuna göre bcl-2 pozitifliği incelendiğinde bcl-2 ile boyanma göstermeyen 45 olgunun 10'unda progresyon geliştiği saptandı. Bcl-2 ile %0-20 arasında pozitif boyanan 5 olgunun hiçbirisinde progresyon saptanmadı. Progresyon varlığı açısından bcl-2 pozitif gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık

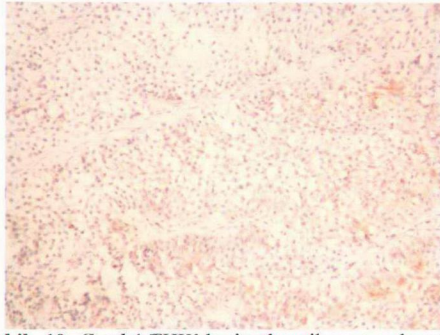
yoktu ( $p= 0.239$ ). Progresyon durumuna göre bcl-2 pozitifliği anlamlı değişiklik göstermemektedir.

*Grade*'lere göre bax ile olguların boyanma durumları incelendiğinde, bax ile *grade1* olguların 26'sında (%86,67), *grade2* olguların 30'unda (%85,71), *grade3* olguların 40'ında (%93,02) pozitif boyanma izlendi (Tablo - VIII). Olgulardaki bax pozitif hücrelerin oranı % olarak haesplandıktan sonra *grade*'lere göre ortalama değerleri ( $\pm$ SS) elde edildi. Buna göre, *grade1* olgularda %30,83 $\pm$ 30,26; *grade2* olgularda %28,32 $\pm$ 22,81; *grade3* olgularda %22,99 $\pm$ 23,47 oranında bax pozitifliği saptandı (Tablo - IX) (Şekil 10-12). *Grade*'ler arasındaki ilişki istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p= 0.398$ ). Buna göre, THK'larda tümörün diferansiyasyon derecesine bağlı olarak bax pozitifliği anlamlı değişiklik göstermemektedir. Bax pozitif hücre oranları gruplandırılarak yapılan semikantitatif değerlendirme sonuçları da bu ilişkiyi destekler nitelikteydi. Her üç *grade* grubundaki olguların bax pozitif hücre oranlarına göre dağılımı Tablo - X'da görülmektedir. Bu dağılıma göre yapılan istatistiksel analizde *grade*'ler ile bax pozitif hücre grupları arasında negatif yönde, zayıf derecede bir ilişki mevcuttu, ancak bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $r= -0.051$ ,  $p= 0.602$ ).

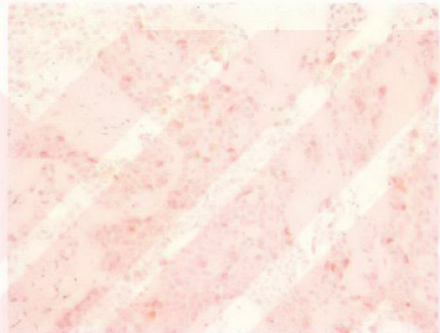
**Tablo – VIII:** Olguların (n= 108) histopatolojik *grade*, evre ve immünohistokimyasal bulguları arasındaki ilişki

	Ki-67		p53		Bcl-2		Bax	
	+	-	+	-	+	-	+	-
<b>Histolojik Grade</b>								
Grade1	19	11	22	8	4	26	26	4
Grade2	27	8	29	6	6	29	30	5
Grade3	33	10	36	7	0	43	40	3
<b>Patolojik Evre</b>								
<b>Yüzeyel THK*</b>								
Ta	24	10	26	8	6	28	29	5
T1	26	9	29	6	4	31	31	4
Toplam	50	19	55	14	10	59	60	9
<b>İnvaziv THK</b>								
T2	17	5	17	5	0	22	19	3
T3a	3	2	5	0	0	5	5	0
T3b	4	1	5	0	0	5	5	0
T4a	1	0	1	0	0	1	1	0
T4b	0	0	0	0	0	0	0	0
Toplam	25	8	28	5	0	33	30	3
<b>Değerlendirilmeyen</b>	4	2	4	2	0	6	6	0

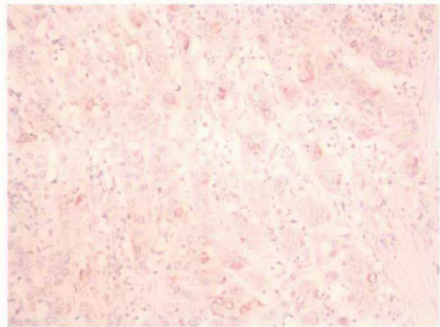
\*THK; Transizyonel Hücreli Karsinom



**Şekil –10:** *Grade1* THK'da sitoplazmik ve membranöz bax boyanması (x40)



**Şekil –11:** *Grade2* THK'da sitoplazmik ve membranöz bax boyanması (x40)



**Şekil –12:** *Grade3* THK'da sitoplazmik ve membranöz bax boyanması (x40)

**Tablo – IX:** *Grade*'lere göre Ki-67, p53, bcl-2, bax pozitifliğinin ortalama ( $\pm$ SS) değerleri (%)

<i>Grade</i>	Ki-67	p53	Bcl-2	Bax
1	3,05 $\pm$ 5.63	15,88 $\pm$ 19,77	0,004 $\pm$ 0,11	30,83 $\pm$ 30,26
2	8,58 $\pm$ 11.69	20,59 $\pm$ 19,85	0,151 $\pm$ 0,47	28,32 $\pm$ 22,81
3	15,76 $\pm$ 17,69	38,37 $\pm$ 29,88	0	22,99 $\pm$ 23,47

**Tablo – X:** *Grade*'lere göre olguların bax pozitif hücre oranlarının dağılımı

<i>Grade</i>	Bax pozitifliği				Toplam
	Negatif	%0-20	%21-50	%51-100	
1	4	11	7	8	30
2	5	9	16	5	35
3	3	21	12	7	43
Toplam	12	41	35	20	108

Patolojik evre ile olguların bax pozitif hücre oranları arasındaki ilişki incelendiğinde, evre ilerledikçe bax pozitifliğinde hafif azalma olduğu saptandı. Yüzeysel ve invaziv tümör gruplarının ortalama değerleri hesaplandığında, yüzeysel THK olgularında %1,61 $\pm$ 0,97; invaziv THK olgularında %1,52 $\pm$ 0,83 oranında bax pozitifliği tespit edildi (Tablo - XI). Semikantitatif değerlendirmede ise yüzeysel THK'lu olguların 9'unda boyanma saptanmazken, 24 tanesinde %0-20 oranında, 21 tanesinde %21-50 oranında, 15 tanesinde %51-100 oranında bax pozitifliği gözlemlendi. Buna karşın invaziv THK'lu olguların 3'ünde boyanma görülmezken, 14 tanesinde %0-20 oranında, 12 tanesinde %21-50 oranında, 4 tanesinde %51-100 oranında bax pozitifliği saptandı. Yapılan analizlerde patolojik evre grupları ile bax pozitif gruplar arasında negatif yönde, zayıf derecede bir ilişki mevcuttu, ancak bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $r = -0.047$ ,  $p = 0.638$ ).

**Tablo – XI:** Yüzeysel ve invaziv THK'larda Ki-67, p53, bcl-2, bax pozitifliğinin ortalama ( $\pm$ SS) değerleri (%)

Evre	Ki-67	p53	Bcl-2	Bax
Yüzeysel THK (n=69)	0,81 $\pm$ 0,60	1,36 $\pm$ 0,97	0,14 $\pm$ 0,35	1,61 $\pm$ 0,97
İnvaziv THK (n=33)	1,15 $\pm$ 0,83	1,70 $\pm$ 1,02	0	1,52 $\pm$ 0,83

Olguların Ki-67 ve bax ile boyanma durumları karşılaştırıldığında, Ki-67 pozitif gruplar ile bax pozitif gruplar arasında pozitif yönde, zayıf derecede bir ilişki mevcuttu, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $r = 0.137$ ,  $p = 0.156$ ). Ki-67

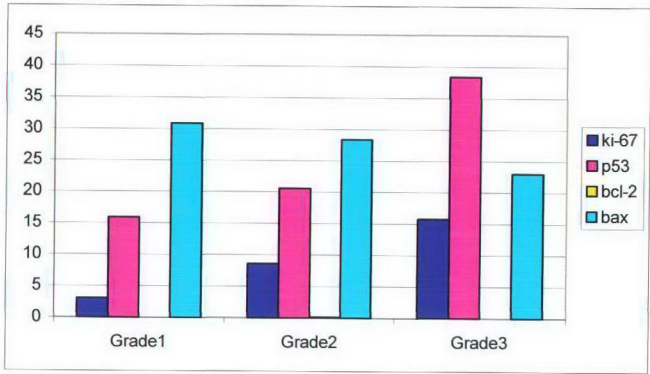
pozitifliği arttıkça, bax pozitifliğinde de artış olmaktadır. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Aynı şekilde p53 pozitif gruplar ile bax pozitif gruplar arasında pozitif yönde, zayıf derecede bir ilişki mevcuttu, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $r= 0.064$ ,  $p= 0.509$ ) (Tablo - XII). p53 pozitifliği arttıkça, bax pozitifliğinde de artış olmaktadır. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Olguların bcl-2 ve bax ile boyanma durumları karşılaştırıldığında, bcl-2 pozitif gruplar ile bax pozitif gruplar arasında negatif yönde, zayıf derecede bir ilişki mevcuttu, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $r= -0.083$ ,  $p= 0.393$ ). bcl-2 pozitifliği arttıkça, bax pozitifliğinde azalma olmaktadır. Ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi (şekil 13-14).

Tümör sayısı ve büyüklüğü (çapı) ile bax pozitif hücre oranları arasındaki ilişki incelendiğinde, anlamlı bir ilişki bulunmadığı dikkati çekti.

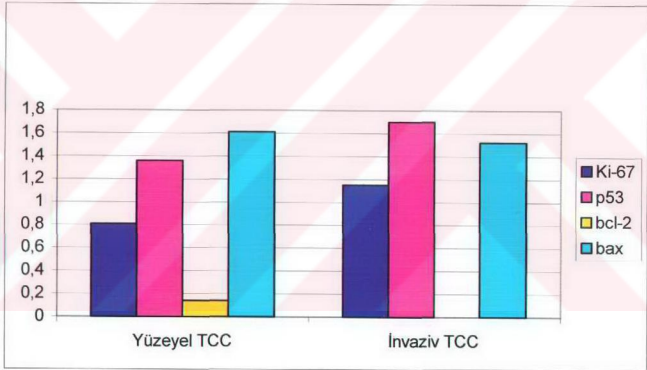
Soliter tümör kitlelerine sahip olguların 7'sinde boyanma gözlenmezken, 19 olguda %0-20, 14 olguda %21-50, 5 olguda da %51-100 oranında bax pozitif hücre saptandı. Multifokal tümör kitlesine sahip olguların dağılımlı incelendiğinde, 1 olguda boyanma gözlenmezken, 17 olguda %0-20, 17 olguda %21-50, 11 olguda da %51-100 oranında bax pozitifliği tespit edildi.

Tümör çapı 3 cm'den küçük olguların 3 tanesinde bax negatif reaksiyon izlenirken, 11 olguda %0-20, 9 olguda %21-50, 8 olguda da %51-100 oranında bax pozitifliği tespit edildi. Çapı 3 cm ve üzeri olgularda ise 3 olgu bax negatif iken, 12 olguda %0-20, 9 olguda %21-50, 2 olguda da %51-100 oranında bax pozitifliği saptandı.

Rekürrens durumuna göre bax pozitifliği incelendiğinde bax ile negatif boyanan 5 olgunun birinde, %0-20 oranında pozitif boyanan 16 olgunun 3'ünde, %21-50 oranında pozitif boyanan 19 olgunun 4'ünde, %51-100 oranında pozitif boyanan 10 olgunun 2'sinde rekürrens geliştiği saptandı. Rekürrens varlığı açısından bax pozitif gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ( $p= 0.894$ ). Rekürrens durumuna göre bax pozitifliği anlamlı değişiklik göstermemektedir



**Şekil - 13:** Olguların *grade*'lere göre Ki-67, p53, bcl-2 ve bax pozitifliğinin ortalama değerleri (%).



**Şekil - 14:** Olguların evrelere göre Ki-67, p53, bcl-2, bax pozitifliğinin ortalama değerleri (%).

Progresyon durumuna göre bax pozitifliği incelendiğinde bax ile %0-20 oranında pozitif boyanan 16 olgunun 3'ünde, %21-50 oranında pozitif boyanan 19 olgunun 4'ünde, %51-100 oranında pozitif boyanan 10 olgunun 3'ünde progresyon geliştiği saptandı. Progresyon varlığı açısından bax pozitif gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ( $p = 0.365$ ). Progresyon durumuna göre bax pozitifliği anlamlı değişiklik göstermemektedir.

Tablo – XII: Olgulara ait parametrelerin korelasyon katsayıları

		Grade	Evre	Ki-67	p53	Bcl-2	Bax
<b>Grade</b>	Korelasyon katsayısı						
	p						
	n						
<b>Evre</b>	Korelasyon katsayısı	,606					
	p	,000					
	n	102					
<b>Ki-67</b>	Korelasyon katsayısı	,230	,208				
	p	,017	,036				
	n	108	102				
<b>p53</b>	Korelasyon katsayısı	,291	,165	,213			
	p	,002	,098	,027			
	n	108	102	108			
<b>Bcl-2</b>	Korelasyon katsayısı	-,213	-,228	,044	-,098		
	p	,027	,021	,650	,313		
	n	108	102	108	108		
<b>Bax</b>	Korelasyon katsayısı	-,051	-,047	,137	,064	-,083	
	p	,602	,638	,156	,509	,393	
	n	108	102	108	108	108	



## TARTIŞMA

Mesane de ortaya çıkan malign tümörlerin %98'i epitel kökenlidir ve bunların %90'ını THK'lar oluşturur (1,2). Mesanenin transizyonel hücreli karsinomu prostat kanserinden sonra, üriner sistemdeki ikinci en yaygın kanserdir (56). Çocuklar da dahil olmak üzere her yaşta görülebilir. Ancak, sıklıkla orta ve ileri yaştaki bireylerin hastalığıdır (35,36). İnsidansı yaşla birlikte artış gösterir. Tanı sırasında yaş ortalaması 65'tir. Erkekler arasında kadınlardan daha sık görülür (35).

THK'lar genel olarak yüzeysel ve invaziv THK'lar şeklinde iki gruba ayrılır. Çünkü, iki formun seyri ve tedavileri farklıdır. Yüzeysel THK'lar endoskopik tedaviyi takiben oldukça iyi prognoza sahiptir. Oysa invaziv THK'lar radikal sistektomi, KT ve RT'yi içeren multipl tedaviye rağmen kötü prognoza sahiptir (57).

İlk tanı sırasında THK'ların %80'i mukoza (Ta) ya da L. propriaya sınırlı (T1) yüzeysel papiller tümör şeklindedir (14). Yüzeysel THK'lu hastaların %50-70'inde, tanı sonrası ilk 1-2 yıl içinde rekürrens gelişir ve %10-25'i daha yüksek *grade*, kas invazyonu ya da metastatik hastalığa ilerler (2,26,45). Yüzeysel THK'larda 5 yıllık sağ kalım oranı yaklaşık %60'tır (26).

İlk tanı sırasında invaziv THK'lu hastaların büyük kısmı yüksek histolojik *grade*'li tümöre sahiptir (36). Kas invaziv THK'lar oldukça maligndir ve tamamıyla farklı davranış sergilerler (14). Bunların yaklaşık yarısında metastatik hastalık gelişmektedir (3). Metastaz gelişen THK'lu hastaların hemen tümü 2 yıl içinde kaybedilir (36).

Yüzeysel THK'lu hastalarda tümör rekürrensi ve progresyonunu öngörebilmek için klinik olarak yararlı parametreler histolojik *grade*, tümör invazyonunun derinliği (patolojik evre), lenfatik invazyon, tümör boyutu, komşu ya da uzak ürotelyumda üroteliyal displazi ya da karsinoma *in situ*'nun varlığı, tümör yapısının papiller ya da solid olması, multifokalite ve tümör rekürrens öyküsünün sıklığıdır (35). Ancak bu geleneksel prognostik belirleyiciler mesane tümörünün biyolojik davranışını kesin olarak tahmin etmek için yeterli değildir (13). Çünkü, THK'da tümör hücreleri büyük

bir heterojenite ve proliferatif kapasiteye sahip olduklarından dolayı, biyolojik davranışları büyük ölçüde değişkendir (18,32). Buna bağlı olarak aynı patolojik evre ya da *grade*'deki olgular farklı klinik seyir gösterebilir (13). Bütün bunların sonucunda THK'ların biyolojik davranışını daha doğru bir şekilde ön görebilecek çok daha güvenilir belirteçlere ihtiyaç vardır.

Günümüzde TUR sonrası THK'lu hastalarda tümörün biyolojik davranışını, tedavi protokollerini belirlemede kullanılabilecek histopatolojik parametreler arasında en anlamlı belirleyiciler, patolojik evre ve histolojik *grade*'dir (2,13, 26,45).

Bozlu ve ark'larının mesanenin THK'unda proliferatif belirleyicilerin prognostik değerini incelemek üzere yaptıkları 77 THK'u içeren çalışmada, yüzeysel THK'ların çoğunluğu (%88,37) *grade*1 ve *grade*2 tümör iken, invaziv THK'ların çoğunluğu (%52,94) *grade*3 ve *grade*4 tümördü ve *grade* ile evre arasında anlamlı korelasyon saptandı (18). Sartos ve arkadaşlarının 56 yüzeysel, düşük *grade* THK olgusunda hücre siklusu düzenleyici proteinler ve bu proteinlerin prognostik değeri üzerine yaptıkları çalışmada mukozaya sınırlı (Ta), tümörlerin %85,7'si *grade*1 iken, muskularis mukozayı invaze eden (T1b) tümörlerin tamamı *grade*2 bulundu. Aynı araştırmacılar tümör evresi ve *grade* arasında anlamlı bir ilişki tespit ettiler, ancak patolojik evre ve histolojik *grade* ile 5 yıllık rekürrens bağımsız yaşam arasında herhangi bir ilişki bulamadılar (23). Alaso ve ark'ları 210 mesane THK'lu olguda sağkalım, rekürrens, progresyon, ve metastaz gelişimi üzerine yaptıkları multivaryant analizde, patolojik evrenin çalışmada yer alan hastalar arasında rekürrens ve progresyonun bağımsız değişkeni olduğunu buldular. Ancak, histolojik *grade*'in, bağımsız prognostik değişken olduğu gösterilemedi (8). Sağol ve ark'larının 80 yüzeysel mesane tümörlü hastada yaptıkları çalışmada tümör evresi ile *grade* anlamlı korelasyon gösterdi (2). Çalışmamızda yer alan olguların *grade* ve evrelere göre dağılımları değerlendirildiğinde, histolojik *grade*'i yüksek olguların büyük çoğunluğunun ileri evre olgular şeklinde ve iyi diferansiye (*grade*1) olguların tümünün yüzeysel THK şeklinde karşımıza çıktığı tespit edildi.

Tümörlerin proliferatif potansiyeli, birçok tümör tipinde kötü prognoza ilişkili biyolojik özelliklerden birisidir (7). Ki-67, proliferatif hücre havuzunun tamamının ölçülmesine izin veren, G0 fazı dışında hücre siklusunun diğer fazlarında

eksprese edilen, DNA replikaz kompleksinin nükleer protein oluşturan bölümünü tanıyan murin monoklonal antikordur (12,13). Ki-67 monoklonal antikoru çeşitli tümörlerin proliferatif aktivitesini ve malign potansiyelini ölçmek için faydalı bir belirteç olduğu bildirilmiştir (32). Ki-67'nin artmış ekspresyonu, tümör hücrelerinde proliferatif aktivitenin yüksek olduğunu gösterir (58).

Mesane THK'ları ile yapılan çalışmalarının çoğunda, Ki-67 pozitifliği histolojik *grade* ile anlamlı şekilde korele bulunmuştur (13,18,26,46,58-60). Buna karşın birkaç çalışmada ise, Ki-67 pozitifliği ile *grade* arasında anlamlı ilişki saptanamadı (9,61). Bu çalışmalardan birisinde anlamlı ilişki saptanamaması, hastaların %81 gibi büyük çoğunluğunun proflaktik intravezikal *bacillus Calmette – Guerin* tedavisi almaları nedeniyle tümör *grade*'inin yorumlanmasındaki güçlüklerle bağlandı (61). Çalışmamızda yer alan olgularda histolojik *grade* artışıyla korele şekilde Ki-67 pozitifliğinde de artış olduğu gösterildi.

Pfister ve ark'ları 381 mesane yüzeysel THK olgusunda proliferatif indeksin prognostik değerini belirlemeye yönelik yaptıkları çalışmada *grade*1 olguların %55,9'unda; *grade* 2-3 olguların %76,9'unda Ki-67 pozitifliği saptadılar (7). Sağol ve ark'larının çalışmasında *grade*1 olgularda Ki-67 pozitif hücrelerin oranı %3,72±3,87; *grade*3 olgularda %16,85±20,21 olarak bulundu ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı (2). Çalışmamızda da az diferansiye *grade*3 olguların (%15,76±17,69), iyi diferansiye *grade*1 olgulardan (%3,05±5,63) belirgin şekilde yüksek Ki-67 pozitifliği gösterdiği ortaya kondu. Tümörün diferansiyasyonu azaldıkça, hücre siklusu düzenlenmesindeki bozukluğa bağlı olarak proliferasyon kontrolsüz olduğundan, Ki-67 monoklonal antikoru ile ölçülen proliferasyon indeksi az diferansiye (*grade*3) THK'larda, iyi diferansiye (*grade*1) THK'lardan daha yüksek beklenir.

Mesane THK'larında yapılan birçok çalışmada tümörün patolojik evresiyle Ki-67 pozitifliği arasında anlamlı ilişki saptandı (7,18,32,58,59,61,62). Özellikle yüzeysel ve invaziv THK'lar şeklinde gruplandırdığımızda, bu ilişki daha dikkat çekiciydi. Korkolopoulou ve ark'ları ile Krouse ve ark'larının çalışmalarında, yüzeysel mesane tümörlerinin invaziv mesane tümörlerinden daha düşük Ki-67 pozitifliği gösterdiği ve histolojik *grade* ile Ki-67 pozitifliği arasında

anamlı bir korelasyonun olduğu gösterildi. Bu bulguların sonucunda Krause ve ark.'ları, Ki-67 monoklonal antikorunun mesane kanserinde proliferatif aktiviteyi belirlemek için iyi bir belirteç olacağını öne sürdüler (32,62). Çalışmamızda da Ki-67 pozitifliği yüzeysel THK'larda düşük iken, invaziv THK'larda daha yüksek saptandı. Olguların patolojik evreleri ile Ki-67 pozitifliği arasında zayıf bir korelasyon tespit edildi. *Grade* ile evre arasında ve *grade* ile Ki-67 pozitifliği arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon saptadığımız için, Ki-67 pozitifliği ile evre arasında da aynı şekilde korelasyon saptamamız beklenen bir bulguydu.

Pfister ve ark.'ları yaptıkları çalışmada Ki-67 pozitifliğini tümör çapı 3 cm ve üzeri olgularda %66,7; çapı 3 cm'den küçük olgularda %72,7 olarak buldular. Bu oran soliter olgularda %71,7; multifokal olgularda %69,1 bulundu. Ancak, hem tümör büyüklüğü hem de tümör sayısı açısından bu oranlar arasında anlamlı bir farklılık yoktu (7). Asakura ve ark.'larının 104 yüzeysel THK olgusunda yaptıkları çalışmada ise, tümör çapı 1 cm ve üzeri olgular ile tümör çapı 1 cm'den küçük olgular arasında Ki-67 pozitifliğinin anlamlı farklılık göstermediği saptandı. Aynı çalışmada tümör sayısı 2 ve altında olan olguların, tümör sayısı 3 ve üzeri olgulardan anlamlı şekilde düşük Ki-67 pozitifliği gösterdiği tespit edildi (60). Çalışmamızda tümör sayısı ve tümör büyüklüğüne göre Ki-67 pozitifliğinde anlamlı farklılık saptanmadı.

Mesanenin THK'larında rekürrens olasılığını tahmin etmeye yönelik çalışmaların birçoğunda yüksek oranda Ki-67 pozitifliği gösteren olgularda düşük Ki-67 pozitifliği gösteren olgulara göre rekürrens riskinin arttığı, daha erken ve fazla sayıda rekürrens geliştiği gösterilmiştir (2,7,8,13,14,23,58,60,61,63). Özer ve ark.'larının 71 yüzeysel THK'lu olguda nükleer morfometrinin prognostik anlamı üzerine yaptıkları çalışmada ise Ki-67 boyanma %'sinin rekürrensle ilişkisi bulunamamıştır (26). Pfister ve ark.'larının çalışmasında da Ki-67 ile ölçülen proliferatif indeksin rekürrensin hafif artışıyla ilişkili olduğu, ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu (14). Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ise, olguların rekürrens durumuna göre Ki-67 pozitifliğinin anlamlı değişiklik göstermediğini ortaya koydu.

Mesaneinin THK'larında progresyon durumu ve Ki-67 pozitifliği arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaların çoğunda, yüksek Ki-67 pozitifliği gösteren olgularda progresyon oranının anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır (23,58,60,61). Ancak, bazı çalışmalarda da Ki-67 pozitifliği ile progresyon arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı (7,26). Çalışmamızda yüksek Ki-67 pozitifliği gösteren olgularda progresyon oranı anlamlı şekilde yüksek bulundu. Ki-67 pozitifliği tümörün proliferatif aktivitesini yansıttığı için bu bulgu, yüksek Ki-67 pozitifliği gösteren tümörlerde daha hızlı büyüme ve bunun sonucunda progresyon geliştiği görüşünü destekler.

p53 geni, kromozom 17p13.1 üzerinde haritalanan, G1-S geçişini kontrol ederek hücre sikusu üzerine transkripsiyonel regülasyonu gösteren, 53 kDa ağırlığında nükleer fosfoproteini kodlayan tümör süpresör genidir (41). Tümör süpresör gen olarak p53, hücre siklusunun düzenlenmesinde önemli role sahiptir. DNA hasarı görüldüğünde, p53 protein düzeyi artarak hücre siklusunun durmasına neden olur. Bu olay DNA taminine izin verir ve hücreye başka mutasyonların katılma olasılığını azaltır (21,45). DNA hasarı çok daha ciddiye, hasarlı hücrenin apoptotik hücre ölümüne gitmesine neden olur (30). p53 genindeki mutasyonlar, wild tip proteinle karşılaştırıldığında, uzamış yarı ömre sahip, disfonksiyonel protein üretimiyle sonuçlanır. Bu anormal protein, hücre nükleusunda birikir ve immünohistokimyasal olarak tespit edilir (45). İmmünohistokimyasal olarak p53 proteininin tespiti ve moleküler sekans analizinin kombinasyonu, p53 protein birikiminin mutant p53 geninin miktarı ile korele olduğunu göstermektedir (3). Wild tip p53 ekspresyonunun kaybı, anormal hücre siklusu regülasyonu ile sonuçlanır ve sonuçta DNA hasarı olan hücrelerde proliferasyon devam eder (11).

THK olgularında yapılan çalışmaların bir kısmında p53 pozitifliği tümör *grade*'inin artışıyla birlikte anlamlı yükselme göstermektedir (11,46,57,58,62,64-66). Korkolopoulou ve ark.'larına göre, p53 pozitifliği ile yüksek *grade* arasındaki ilişki tartışılmaz olmakla beraber, bloklanmış dokunun uzun süre beklemesine bağlı olarak retrospektif çalışmalarda p53 ekspresyonu azalabilir (65). Nitekim bazı çalışmalarda p53 pozitifliği ve *grade* arasında anlamlı bir ilişki gösterilememiştir. Bu durumun, boyama yöntemindeki farklılıklar nedeniyle ya da patoloğun yorumlama eğilimine bağlı olabileceği belirtilmiştir (4,13,23). Çalışmamızda iyi diferansiye tümörlerden

(*grade1*) az diferansiye tümörlere (*grade3*) doğru gidildikçe p53 pozitifliğinde anlamlı artış saptandı. Bu bulgu, tümörün biyolojik agresifliğinin ve proliferasyon eğiliminin belirteci olarak mutant p53'ün biyolojik rolünü destekler nitelikteydi.

Kong ve arkadaşlarının 89 mesane THK olgusunda bcl-2 ve p53 ekspresyonunu inceledikleri çalışmada düşük *grade*'li tümörlerde p53 pozitifliği %29, yüksek *grade*'li tümörlerde %73 olarak bulundu ve bu fark oldukça anlamlı idi (57). Çalışmamızda *grade1* ve *grade3* olgular yanısıra *grade2* ve *grade3* olgular arasında da p53 pozitifliği açısından anlamlı farklılık saptandı. Buna göre, THK'larda diferansiyasyonun derecesi azaldıkça, p53 genindeki mutasyonların görülme oranı belirgin artış göstermektedir. p53 mutasyonunun görülme sıklığı arttıkça DNA hasarlı hücrelerin apoptozise gitme oranı azalmakta, ayrıca bu hücreler başka mutasyonların gelişmesine uygun yapı kazanmaktadır. Bunların sonucunda p53 mutasyonu ve dolayısıyla immünohistokimyasal olarak tespit edilen p53 pozitifliğinin az diferansiye tümörlerde daha yüksek olması beklenir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular da bu ilişkiyi destekler niteliktedir. Bununla birlikte bazal hücreli karsinom ve mide adenokarsinomları gibi bazı malign tümörlerde de tersine bir ilişki gözlenebilmektedir (67-69). Bu durum, tümörün gelişiminde p53 gen mutasyonlarının mutlak rol oynamadıkları, bunun dışında başka genetik değişikliklerin de belirleyici olabileceğini düşündürmektedir.

Kong ve arkadaşlarının 89 mesane THK olgusunda bcl-2 ve p53 ekspresyonunu inceledikleri çalışmada, yüzeysel THK olgularında p53 pozitifliği %41, invaziv THK olgularında %67 olarak bulundu ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi (57). Yine aynı şekilde mesanenin THK olgularında p53 pozitifliği ve patolojik evre arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaların bir kısmında patolojik evre ile p53 pozitifliği arasında anlamlı bir ilişkinin varlığı bulundu (11,16,17,31,46,58,59,62,64,70). İleri evrelerde p53 ekspresyonunun görülmesi, mesane kanser progresyonunda p53 mutasyonlarının önemli rol oynadığı hipotezini desteklemektedir (65). Oysa diğer bazı çalışmalarda patolojik evre ve p53 pozitifliği arasında bir korelasyonun varlığı gösterilemedi (4,13,23). Çalışmamızda da p53 pozitifliği invaziv THK olgularında (%1,70±1,02), yüzeysel THK olgularından (%1,36±0,97) daha yüksek tespit edildi. Ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Araştırmalar arasındaki çelişkili bulguların teknik olarak boyama

yöntemindeki farklılıklardan veya p53 pozitifliğinin değerlendirilmesinde kullanılan yöntem farklılıklarından kaynaklanabileceğini düşünüyoruz.

Wild tip p53, hücre siklusunun negatif yöndeki kontrolünde yer aldığı için, p53 genindeki mutasyonların tümör proliferasyonunun artışına yol açması olasıdır (11). Buna göre, immünohistokimyasal olarak yüksek p53 pozitifliği gösteren tümörlerin yüksek proliferasyon indeksine sahip olması beklenir. Bu görüşü destekler nitelikte, mesanenin THK olguları üzerinde yapılan bazı çalışmalarda p53 ve Ki-67 pozitifliği arasında anlamlı korelasyonun olduğu ortaya kondu (6,7, 11,62,66). Aynı şekilde çalışmamızda elde edilen bulgular da, p53 pozitifliğindeki artışa Ki-67 pozitifliğindeki artışın da eşlik ettiğini gösterdi.

Genero ve ark.'ları 214 THK olgusunda tümör rekürrensünün belirteçlerini araştırmak üzere yaptıkları çalışmada olguları tümör büyüklüğüne göre 3 gruba ayırarak (çapı 1 cm, 2 cm ve 3cm üzeri), tümör sayısını da tek ya da multifokal olup olmamasına göre 2 gruba ayırarak değerlendirdiler. Tümör büyüklüğü ve p53 pozitifliği arasında anlamlı ilişki saptanırken, tümör sayısı ile p53 pozitifliği arasında herhangi bir ilişki bulunamadı (11). Çalışmamızda da benzer bulgular elde edilmiş olup, çapı 3 cm ve üzeri olan tümörler, çapı 3 cm'den küçük olan tümörlerden belirgin şekilde yüksek p53 pozitifliği gösterirken, tümör sayısına göre p53 pozitifliğinde anlamlı değişiklik saptanmadı.

THK olgularında p53 pozitifliğinin rekürrens üzerine etkisini araştıran bazı çalışmalarda p53 pozitifliğinin rekürrens varlığı ile korele olduğu gösterildi (58,24,4). Oysa diğer çalışmalarda p53 pozitifliği ile rekürrens durumu arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı (16,23,41,59). Bu çalışmalar içinde Santos ve ark.'larının yaptığı çalışma sadece düşük grade ve yüzeysel mesane THK'ların içeriyordu ve bu grup için p53 ekspresyonu güvenilir prognostik belirteç olarak bulunmadı (23). Çalışmamızda yer alan olguların incelenmesi sonucunda p53 pozitifliği yüksek olgularda daha yüksek oranda rekürrens geliştiği gözlemlendi. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo – VI).

Mesanenin THK'larında progresyon varlığı ve p53 pozitifliği arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaların bir kısmında p53 pozitifliği ile progresyon varlığı

arasında anlamlı ilişki saptandı (16,31,41,58). Bu bulgu, p53 pozitifliğinin yüzeyel mesane tümörlerinde hastalık progresyonunun bağımsız prognostik belirteci olduğu görüşünü desteklemektedir (3,58). Ancak diğer çalışmalarda p53 pozitifliği ile progresyon arasında anlamlı bir ilişki kurulamadı (23,59). Çalışmamızda yer alan olguların progresyon durumlarına göre p53 pozitifliğinde anlamlı değişiklik bulunmadı. Bu durum çeşitli hasta popülasyonlarında genetik nedenlerden dolayı p53 mutasyonundaki insidansın farklılığı yanı sıra, kullanılan araştırma yöntemlerinin çeşitliliği ve sonuçların yorumlanmasındaki farklılıklara bağlanabilir (59).

Programlı hücre ölümü, genotoksik strese hücresel yanıtta önemli role sahiptir. Bu nedenle tümör hücrelerinin apoptotik yanıtının kaybı, malign progresyonda ve kanser relapsında yer alan mekanizmalardan birisidir. Bcl-2 ve bax, apoptotik yolda yer alan iki önemli gen dir (70). Bcl-2 gen ürünü protein, programlı hücre ölümünü inhibe eden, böylece bu onkoproteini eksprese eden hücrelerde hücre proliferasyonu üzerine etki etmeden hücre ömrünü uzatan, iç mitokondriyal membranda yer alan bir proteindir (71,72).

THK'larda bcl-2 ekspresyonunu araştıran çalışmaların çoğunda bcl-2 pozitifliği ile *grade* arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı (4,13,15,46,65). Birkaç çalışmada bcl-2 pozitifliği ve *grade* arasında korelasyonun varlığı gösterildi (57,66). Shiina ve ark.'larının mesanenin 77 THK olgusunda bcl-2 ekspresyonunu inceledikleri çalışmada, bcl-2 pozitifliği düşük *grade*'li olgularda yüksek *grade*'li olgulardan daha yüksek bulundu ve bcl-2 pozitifliği ile *grade* arasında ters korelasyonun varlığı gösterildi. Araştırmacılar bu bulgularla, bcl-2 pozitifliğinin daha az agresif THK fenotipiyle ilişkili olduğunu öne sürdüler (71). Çalışmamızda *grade*1 ve *grade*2 olgularda düşük de olsa bcl-2 pozitifliği saptanırken *grade*3 olguların hiçbirisinde pozitif boyanma görülmedi ve bcl-2 pozitifliği ile *grade* arasında ters yönde bir korelasyon saptandı.

Bcl-2 apoptozisi inhibe ederek hücre ömrünü uzatır ve hücre proliferasyonunu stimüle ederek etki eden onkoproteinlerin sebep olduğu büyümeden daha yavaş hızda neoplastik büyümeye yol açar. Bu nedenle bcl-2 ekspresyonunun hastalığın daha az agresif formlarında artması beklenmektedir(46). Bcl-2 pozitifliği ve evre arasındaki ilişki incelendiğinde, yapılan çalışmaların çoğunda bcl-2



pozitifliği ile evre arasında anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı görüldü (4,13,59,65,71). Birkaç çalışmada ise, bcl-2 pozitifliği ve evre arasında anlamlı korelasyon saptandı (15,57,66). Nakolopoulou ve ark.'larının mesanenin 106 THK olgusunda bcl-2, p53 ve Ki-67 ekspresyonunun klinikopatolojik parametrelerle korelasyonunu incelediği çalışmada, bcl-2 ekspresyonunun artan tümör evresine paralel olarak anlamlı şekilde azaldığı gösterildi (46). Çalışmamızda, yüzeysel THK olgularında düşük oranda da olsa bcl-2 pozitifliği saptanırken, invaziv THK olgularının hiçbirisinde bcl-2 pozitifliği görülmedi ve evre ile bcl-2 pozitifliği arasında ters yönde bir korelasyon saptandı. Bu bulgular *grade* ve bcl-2 pozitifliği ilişkisinde olduğu gibi THK olgularında bcl-2 pozitifliğinin daha az agresif fenotiple ilişkili olduğunu göstermektedir.

Bcl-2'nin, hücre proliferasyon oranı yükselmediğinde bile, hücre ömrünü uzatarak büyüme avantajı sağladığı ve bu şekilde neoplastik transformasyona yol açtığı bilinmektedir. Ayrıca, bcl-2 ve p53 proteinleri hücre siklusunun düzenleyicileri olarak fonksiyon görmektedir. Bu proteinlerin ekspresyonu, Ki-67 antikorunu kullanarak ölçülen büyüme fraksiyonu ile orantılıdır (46). Liukkonen ve ark.'larının çalışmasında, bcl-2 pozitif tümörlerin daha yüksek Ki-67 pozitifliği gösterdiği saptandı (66). Çalışmamızda da bcl-2 pozitif tümörler artmış Ki-67 pozitifliği göstermesine rağmen, bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Normalde wild tip p53, G1'de hücre siklusunun durmasını ve hücrelerin apoptozise gitmesini stimüle eder. Bcl-2 ise, p53'ün stimüle ettiği apoptozisten hücreyi korur. Wild tip p53'ün sebep olduğu apoptozisin bir bölümü, onun bcl-2 ekspresyonu ve fonksiyonu üzerine baskılayıcı etkisinden dolayı görülür (16). Tek başına incelendiğinde bcl-2, apoptozisin anlamlı düzenleyicisi değildir. p53'ün varlığında incelendiğinde, bcl-2'nin kaybı apoptotik oranı artırır. Bu, bcl-2'nin antiapoptotik rolünün p53'ün apoptozis üzerine olan etkisini maskeleyişini dolayı olarak gösterir (65). Bcl-2 ve p53 arasındaki ters ilişki, mutant p53 proteininin epitelial hücrelerde bcl-2 ekspresyonu üzerine süpresif etkiye sahip olduğunu destekler (57). Shiina ve ark.'larının çalışmasında bcl-2 pozitifliği ve p53 pozitifliği arasındaki ters ilişkinin anlamlı olduğu gösterildi (71). Wu ve ark.'larının çalışmasında da bcl-2 ekspresyonu ile p53 pozitifliği arasında ters yönde bir ilişki saptandı, ancak bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi (13). Liukkonen ve

ark.'ları ile Kong ve ark.'larının çalışmalarında bcl-2 pozitifliği ile p53 pozitifliği arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyonun varlığı bulundu (57,66). Ye ve ark.'larının 43 mesane THK olgusunda yaptıkları çalışmada ise bcl-2 ekspresyonu ve p53 pozitifliği arasında herhangi bir ilişki bulunamadı (4). Bu farklı sonuçlar, p53 geninin mesane tümörlerinde bcl-2 ekspresyonu üzerinde belirgin bir düzenleyici etki göstermediğini düşündürmektedir. Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı bulunmama ile birlikte, *grade2* tümörlerde *grade1* tümörlere oranla p53 pozitifliği artarken, bcl-2 pozitifliğinin azaldığı gözlemlendi. Bu ilişki, bcl-2'nin p53'ün apoptozis üzerine olan etkisini maskeleyerek antiapoptotik fonksiyon gördüğü ve mutant p53 artışının bcl-2'nin ekspresyonunu baskıladığı görüşünü desteklemektedir (57,65). Ancak, *grade3* olgularımızda bcl-2 ekspresyonunun saptanmaması, bu görüşün geçerliliğini de azaltmaktadır. Buna ek olarak, bcl-2 ekspresyonu saptanan olguların oranının ve ortalama değerlerinin çok düşük olması nedeniyle bu proteinin THK gelişimindeki rolünün sınırlı olduğunu düşünüyoruz. Bu nedenle p53, bax, Ki-67 yanısıra histolojik *grade* ve patolojik evre ile bcl-2 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmaması da bu görüşümüzü destekler niteliktedir.

Bcl-2 ekspresyonu ile rekürrens arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda bcl-2 pozitifliği ile rekürrens varlığı arasında anlamlı bir ilişki gösterilememiştir (5,13,16,21,59). Çalışmamızda da rekürrens durumuna göre bcl-2 pozitifliğinde anlamlı değişiklik saptanmadı.

Bcl-2 ekspresyonu ile progresyon arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda da bcl-2 pozitifliği ve progresyon varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı (16,21,71). Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre de progresyon varlığı, bcl-2 pozitifliğine göre anlamlı farklılık göstermemektedir.

Bcl-2 gen ailesinin bir üyesi olan bax, bcl-2 ile dimerize, 21 kDa ağırlığında bir proteindir ve apoptozisi stimüle eder (6). Bax ekspresyonunun incelendiği mesane THK olgularını içeren çalışmaların çoğunda bax pozitifliği ve *grade* arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı (4,5,65). Ong ve ark.'larının 83 THK olgusunda prognostik faktörleri araştırdıkları çalışmada ise, bax pozitifliğindeki artış, *grade*'in artışı ile korele bulundu. Apoptozis, p53, p21, bcl-2, bax'ı içeren birçok faktör tarafından düzenlenmektedir. DNA hasarı tamir edilemediğinde, apoptozisi stimüle eden bax

geninin ekspresyonu artarak programlı hücre ölümü aktive edilir. Bu şekilde az diferansiye tümörlerde, bax pozitifliğinin artışı beklenebilir (15). Çalışmamızda olguların *grade*'i arttıkça bax pozitifliği azalma gösterdi. Ancak, bu ters ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi.

THK olgularında bax ekspresyonu ve evre arasındaki ilişkiyi araştıran çoğu çalışmada bax pozitifliği ve evre arasında korelasyon saptanmadı (4,5,15,65). Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda yüzeysel THK'lar, invaziv THK'lardan hafif yüksek bax pozitifliği gösterdi. Ancak bu ters ilişki de istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Wolf ve ark.'larının 30 pTIG3 THK'lu olguda yaptıkları çalışmada Ki-67 ve bax pozitifliği arasında ters yönde bir ilişki olduğu saptandı. Bu, bax'ın apoptotik hücre ölümünü stimüle etmesini, Ki-67'nin ise proliferasyon hücreleri gösterdiğini yansıtabilir (6). Çalışmamızda, Ki-67 pozitifliği arttıkça bax pozitifliği de artma gösterdi. Ancak, bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

p53 tarafından aktive edilen bax geni, programlı hücre ölümünü hızlandırarak DNA hasarlı hücreleri ortadan kaldırıyor gözükmektedir (73). Ye ve ark.'larının mesane THK'larında bcl-2/bax ekspresyonu ve p53 durumunu değerlendirdikleri çalışmada bax ekspresyonu ve p53 pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki kurulamadı (4). Çalışmamızda, bax pozitifliği arttıkça, p53 pozitifliğinde de artış olduğu bulundu. Ancak bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Bax, bcl-2'nin dominant negatif düzenleyicisidir (5). Ayrıca bax ekspresyonu bcl-2 tarafından azaltılabilir (25). Bcl-2'nin fazla olması hücreleri apoptozisten korurken, bax'ın fazla olması programlı hücre ölümünü stimüle eder (5). Ong ve ark.'larının çalışmasında, mesane THK olgularında bax pozitifliği artışının, bcl-2 pozitifliğindeki artışla belirgin korelasyon gösterdiği bulundu (15). Çalışmamızda ise, bax ve bcl-2 arasındaki ters ilişkiyi destekler tarzda bcl-2 pozitifliği arttıkça, bax pozitifliği azalma gösterdi. Ancak bu ilişki anlamlı bulunmadı. Bunun nedeni büyük olasılıkla çalışmamızda yer alan olgular arasında bcl-2 pozitifliğinin az sayıda olguda, oldukça düşük değerlerde pozitif bulunmasıdır.

Ye ve ark.'larının mesanenin THK'larında bcl-2/bax ekspresyonu ve p53 gen durumunu inceledikleri çalışmada bax pozitifliği ile rekürrens varlığı arasında bir ilişki bulunamadı (4). Çalışmamızda ne rekürrens ne de progresyon durumuna göre bax pozitifliğinde anlamlı farklılık tespit edilmedi.

Sonuç olarak, mesanenin THK'larında proliferasyon belirleyicisi Ki-67 pozitifliğinin tümörün histolojik *grade*'i ve patolojik evresiyle korele artış gösterdiğini, apoptozis belirleyicilerinden de p53'ün histolojik *grade* ile korele artış gösterdiğini bulduk. Ayrıca Ki-67 pozitifliği ve p53 pozitifliği arasında da pozitif yönde bir korelasyon saptadık. Mesanenin THK olgularında patolojik evre ve histolojik *grade* ile Ki-67 ve p53'ün birlikte değerlendirilmesi sonucunda, tümörün biyolojik davranışı konusunda daha doğru bilgi edinilebileceği sonucuna vardık. Apoptozisin diğer iki belirteci bcl-2 pozitifliği ve bax pozitifliği ile ilgili bulgularımız, bu ikisinin mesane tümörlerinde prognostik belirteç olarak kullanıldığında anlamlı bir bilgi vermeyeceğini gösterdi.

## SONUÇLAR

Bu çalışmada, mesanede THK tanısı almış 90 hastaya ait 108 olgu, histopatolojik ve klinik verilerle (patolojik evre, histolojik *grade*, multifokalite, tümör boyutu, yaş, cinsiyet) proliferasyon belirleyicisi (Ki-67) ve apoptotizle ilgili belirleyiciler (p53, bcl-2, bax) arasındaki ilişkileri değerlendirilerek, mesane tümörlerinin progresyonu, rekürrensi ve tümörden bağımsız yaşam süresini tahmin etmede bize faydalı olabilecek prediktif faktörler incelendi ve aşağıdaki sonuçlar elde edildi:

1. Çalışmada yer alan olgular DSÖ'ne göre yeniden değerlendirildiğinde, olguların 30'u *grade*1, 35'i *grade*2, 43 tanesi de *grade*3 idi.

2. TNM sınıflamasına göre yeniden yapılan patolojik evrelemede, 34 olgu Ta, 35 olgu T1, 22 olgu T2, 5 olgu T3a, 1 olgu T3b ve 1 olgu da T4 olarak değerlendirildi.

3. Yüzeysel ve invaziv THK olarak olguları iki gruba ayırdığımızda, 69 olgu (%64) yüzeysel THK, 33 olgu (%31) invaziv THK idi. *Grade*1 olguların 29'u (96,67), *grade*2 olguların 28'i (%80), *grade*3 olguların da 12'si (%27,90) yüzeysel THK; *grade*2 olguların 7'si (%20) ve *grade*3 olguların 26'sı (%60,46) invaziv THK idi. Bu verilere göre bir değerlendirme yapıldığında, histolojik *grade*'i yüksek tümörlerin sıklıkla ileri evre olgular şeklinde karşımıza çıktığı gözlemlendi. *Grade*1 olguların tümünün non-invaziv evrede olması dikkat çekici bir bulguydu.

4. Çalışmadaki THK olgularında tümörün histolojik *grade*'i yükseldikçe, patolojik evresi de ilerlemekteydi ve bu korelasyon anlamlı idi ( $r=0,606$ ;  $p=0,000$ ).

5. Ki-67 ile yapılan immünohistokimyasal inceleme sonucunda, *grade*1 olgularda  $3,05\pm5,63$ ; *grade*2 olgularda  $8,58\pm11,69$ ; *grade*3 olgularda  $15,76\pm17,69$  oranında Ki-67 pozitifliği saptandı. *Grade*'ler arasında Ki-67 pozitifliği bakımından anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,000$ ). İleri analiz yapılarak bu

farklılığı yaratan gruplar araştırıldığında, *grade1* ve *grade3* olgular arasında Ki-67 pozitifliği bakımından ileri derecede anlamlı farklılık olduğu ortaya kondu.

6. İyi diferansiye (*grade1*) olgularda Ki-67 pozitifliği düşük iken, diferansiyasyon azaldıkça bu değer artmakta ve az diferansiye (*grade3*) olgularda Ki-67 pozitifliği daha yüksek değerlerde tespit edilmekte idi. Histolojik *grade* artışı ile birlikte Ki-67 pozitifliğinin de artışı anlamlı bulundu ( $r= 0,230$ ;  $p= 0,017$ ). Yüzeysel THK'larda Ki-67 pozitif hücrelerin oranı  $\%0,81\pm0,60$ ; invaziv THK'larda  $\%1,15\pm0,83$  olarak bulundu. Patolojik evresi ileri olgular anlamlı şekilde yüksek Ki-67 pozitifliği gösterdi ( $r= 0,208$ ;  $p= 0,036$ ).

7. Tümör sayısı, tümör büyüklüğü, rekürrens ve progresyon durumuna göre Ki-67 pozitifliğinde anlamlı farklılık bulunmadı ( $p>0,05$ ).

8. p53 ile yapılan immünohistokimyasal inceleme sonucunda, *grade1* olgularda  $\%15,88\pm19,77$ ; *grade2* olgularda  $\%20,59\pm19,85$ ; *grade3* olgularda  $\%39,37\pm29,88$  oranında p53 pozitifliği saptandı. *Grade*'ler arasında p53 pozitifliği açısından anlamlı farklılık bulundu ( $p= 0,000$ ). İleri analiz yapılarak bu farklılığı yaratan grup araştırıldığında, *grade1* ile *grade3* ve *grade2* ile *grade3* olgular arasında p53 pozitifliği bakımından ileri derecede anlamlı farklılık olduğu ortaya kondu.

9. Tümörün diferansiyasyonu azaldıkça, p53 pozitifliği anlamlı artış göstermekte idi ( $r= 0,291$ ;  $p= 0,002$ ). Az diferansiye tümörlerde apoptozisi inhibe eden ve hücre siklusu üzerinde düzenleyici fonksiyonu olan p53 geninde mutasyon oranının iyi diferansiye tümörlerden daha yüksek olduğu sonucuna varıldı.

10. Yüzeysel THK'larda p53 pozitif hücrelerin oranı  $\%1,36\pm0,97$ ; invaziv THK'larda  $\%1,70\pm1,02$  olarak bulundu. İleri evre olgularda p53 pozitifliği hafif artış gösterse de patolojik evre ve p53 pozitifliği arasında anlamlı ilişki bulunamadı ( $r= 0,165$ ;  $p= 0,098$ ).

11. Olguların Ki-67 ve p53 ile boyanma durumları karşılaştırıldığında, Ki-67 pozitifliği arttıkça, p53 pozitifliğinin de anlamlı şekilde artış gösterdiği bulundu ( $r= 0,213$ ;  $p= 0,026$ ). Ki-67 ve p53'ün korele artışı, proliferasyon oranı yüksek THK

olgularında aynı zamanda apoptozisin ve hücre siklusu üzerindeki kontrol mekanizmalarının azaldığını düşündü.

12. Tümör çapı 3 cm ve üzeri olgular, çapı 3 cm'den küçük olanlardan daha yüksek p53 pozitifliği gösterdi ve bu fark anlamlı bulundu ( $p=0,011$ ).

13. Tümör sayısı, rekürrens ve progresyon durumuna göre p53 pozitifliğinde anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ).

14. Bcl-2 ile yapılan immünohistokimyasal inceleme sonucunda, *grade1* olgularda  $\%0,004\pm0,11$ ; *grade2* olgularda  $\%0,151\pm0,47$  oranında bcl-2 pozitifliği saptandı. *Grade3* olguların hiçbirisi bcl-2 ile pozitif boyanma göstermedi. *Grade*'ler arasında bcl-2 pozitifliği açısından anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,048$ ). İleri analiz yapılarak bu farklılığı yaratan grup araştırıldığında, *grade2* ve *grade3* olgular arasında bcl-2 pozitifliği bakımından anlamlı farklılık olduğu ortaya kondu.

15. THK olgularında diferansiyasyonun derecesi azalıp tümörün *grade*'i arttığında, bcl-2 pozitifliğinin anlamlı azalma gösterdiği saptandı ( $r=-0,213$ ;  $p=0,027$ ). Bcl-2 pozitifliğinin *grade1* ve *grade3* olgularda oldukça düşük pozitif değerleri ve *grade3* olgularda bcl-2 pozitifliğinin görülmemesi, bcl-2'nin mesanede THK gelişiminde belirgin bir role sahip olmadığı düşüncesini ortaya koydu.

16. Bcl-2 pozitifliği ile Ki-67 ve p53 pozitifliği korele edildiğinde, bcl-2 pozitifliğinin her ikisiyle de anlamlı korelasyon göstermediği saptandı (sırasıyla  $r=0,044$ ,  $p=0,650$ ;  $r=-0,098$ ,  $p=0,313$ ).

17. Tümör sayısı, tümör büyüklüğü, rekürrens ve progresyon durumuna göre bcl-2 pozitifliğinde anlamlı farklılık bulunmadı ( $p>0,05$ ).

18. Bax ile yapılan immünohistokimyasal inceleme sonucunda, *grade1* olgularda  $\%30,83\pm30,26$ ; *grade2* olgularda  $\%28,32\pm22,81$ ; *grade3* olgularda  $\%22,99\pm23,47$  oranında bax pozitifliği saptandı. *Grade*'ler arasında bax pozitifliği açısından anlamlı farklılık bulunmadı ( $p=0,398$ ).

19. İyî diferansiye (*grade*1) olgulardan kötü diferansiye (*grade*3) olgulara doğru gidildikçe bax pozitifliğinde azalma görüldü. Ancak anlamlı ilişki bulunmadı ( $r = -0,051$ ;  $p = 0,602$ ).

20. Yüzeysel THK'larda bax pozitif hücrelerin oranı,  $1,61 \pm 0,97$ , invaziv THK'larda  $1,52 \pm 0,83$  olarak bulundu. İleri evre olgularda bax pozitifliğinde görülen azalma anlamlı bulunmadı ( $r = -0,047$ ;  $p = 0,638$ ).

21. Bax pozitifliği ile Ki-67, p53 ve bcl-2 pozitifliği korele edildiğinde, bax pozitifliğinin hiçbirisi ile anlamlı korelasyon göstermediği saptandı (sırasıyla,  $r = 0,137$ ,  $p = 0,156$ ,  $r = 0,064$ ,  $p = 0,509$ ;  $r = -0,083$ ,  $p = 0,393$ ).

22. Tümör sayısı , tümör büyüklüğü, rekürrens ve progresyon durumlarına göre bax pozitifliği incelendiğinde, anlamlı farklılık bulunmadı ( $p > 0,05$ ). Bax pozitifliğinin ne histopatolojik parametrelerle, ne de proliferasyon belirleyicisi (Ki-67) ve apoptozis ile ilgili belirleyiciler (p53, bcl-2, bax) ile olguların hiçbirisinde anlamlı bir ilişki göstermemesi, bax'ın mesanenin THK'sının biyolojik davranışı konusunda bilgi vermeyebileceği düşüncesini ortaya çıkardı.

23. Mesanenin THK olgularında histopatolojik parametrelerden patolojik evre ve histolojik *grade*, proliferasyon belirleyicisi Ki-67 ve apoptozis ile ilgili belirleyici p53 ile birlikte kombine edilerek değerlendirildiğinde, tümörün biyolojik davranışı konusunda daha doğru bilgi edinilebileceği sonucuna vardık.



## ÖZET

Mesane de ortaya çıkan malign tümörlerin %98'i epitel kökenlidir ve bunların %90'ını transizyonel hücreli karsinom oluşturur. İlk tanı sırasında transizyonel hücreli karsinomların %75'i yüzeysel (Ta, T1), %20'si invaziv ve %5'i metastatiktir. Yüzeysel mesane tümörlü hastaların %50-70'inde tanı sonrası ilk 1-2 yıl içinde rekürrens gelişir ve bunların %10-25'inde progresyon görülür. Bu çalışma, mesane transizyonel hücreli karsinomlarında histopatolojik ve klinik verilerle (patolojik evre, histolojik *grade*, multifokalite, tümör boyutu) proliferasyon belirleyicisi (Ki-67) ve apoptozisle ilgili belirleyiciler (p53, bcl-2, bax) arasındaki ilişkileri değerlendirmek, bunun yanısıra mesane tümörlerinin progresyon, rekürrens riskini tahmin etmede bize faydalı olabilecek prediktif faktörleri tespit etmek amacıyla planlandı.

Histopatolojik olarak değerlendirilerek mesane de transizyonel hücreli karsinom tanısı almış 90 hastaya ait 108 olgu çalışmaya alındı. Olgulara ait histopatolojik ve klinik veriler hastalara ait patoloji raporu, sistoskopi raporu ve hasta dosyalarından elde edildi. Tüm olgular yeniden Dünya Sağlık Örgütü'ne göre *grade*'lendi ve TNM'ye göre evrelendirildi. Ki-67, p53 bcl-2 ve bax için immünohistokimyasal boyama yöntemi her olguya ait kesitlere uygulandı. Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 10.00 istatistiksel *package*'de yapıldı. Olguların *grade* ve evreleri arasında oldukça anlamlı korelasyon bulundu. Olguların Ki-67 ve p53 ile pozitif boyanma oranlarının *grade* ile anlamlı ilişki gösterdiği saptandı. Ayrıca, Ki-67 ve p53 pozitiflikleri de birbirleriyle anlamlı ilişki gösterdi. Olguların evresi ile Ki-67 pozitifliği anlamlı ilişki gösterirken, p53 pozitifliği ile ilişki bulunamadı. Bcl-2 pozitifliği hem *grade* hem de evre ile anlamlı ters ilişki gösterdi. Bax pozitifliği ile parametrelerin hiçbirisi arasında anlamlı ilişki bulunmadı.

Çalışmamızda mesanenin transizyonel hücreli karsinomlarında patolojik evre ve histolojik *grade* ile Ki-67 ve p53 ekspresyonunun kombine edilerek değerlendirilmesinin tümörün biyolojik davranışı konusunda daha doğru bilgi verebileceği sonucuna vardık.

## SUMMARY

### THE RELATIONSHIP BETWEEN Ki-67, p53, Bcl-2, Bax EXPRESSION WITH HISTOLOGIC GRADE, PATHOLOGIC STAGE AND PROGNOSIS IN BLADDER TRANSITIONAL CELL CARCINOMAS

Approximately 98% of malignant tumors arising in the urinary bladder are of epithelial origin, and of these 90% are transitional cell carcinoma. At the time of initial diagnosis, 75% of transitional cell carcinomas are superficial (Ta, T1), 20% are invasive and 5% are metastatic. After diagnosis 50-70% of patients with superficial urinary bladder tumors develop recurrences within first 1-2 years and of these 10-25% are progressive. This study was planned to evaluate the relation between histopathological and clinical characteristics (pathologic stage, histologic grade, multifocality, tumor size) with proliferation marker (Ki-67) and apoptosis markers (p53, bcl-2, bax) and thus we aimed to determine the useful predictive factors in progression and recurrence of bladder tumors.

In this study, we evaluated 108 cases obtained from 90 patients of transitional cell carcinomas of urinary bladder that had been previously diagnosed histopathologically. Histopathological and clinical characteristics of cases were obtained from pathology records, cystoscopy records and patient's files. All cases were reevaluated and graded according to WHO and staged according to TNM. Immunohistochemical staining method for Ki-67, p53, bcl-2 and bax was applied to sections concerning to each cases. There was a significant correlation between grade and stage of cases. The ratio of the cells positively stained with Ki-67 and p53 determined a significant relationship with grade. In addition, there was a significant relationship between Ki-67 positivity and stage of cases. Bcl-2 positivity showed a significant inverse correlation with both grade and stage. There was no relation between bax positivity and any parameters.

In our study, we concluded that the evaluation of Ki-67 and p53 expression combined with histological grade and stage may give us satisfactory information about the biological behaviour of transitional cell carcinomas of urinary bladder.

## KAYNAKLAR

1. Reuter VE, Melamed MR. The urothelial tract: Renal pelvis, ureter, urinary bladder and urethra In. Sternberg SS. Diagnostic Surgical Pathology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 1999: 1853-1878.
2. Sağol Ö, Yörükoğlu K, Tuna B, Özer E, Sis B, Güray M, Mungan U, Kırkali Z. Expression of PS2 protein and its relation with the Ki-67 proliferative indices and tumor recurrence in superficial bladder carcinomas. *Eur Urol* 2001; 40: 163-168.
3. Kausch I, Böhle A. Molecular aspects of bladder cancer III. Prognostic markers of bladder cancer. *Eur Urol* 2002; 41: 15-29.
4. Ye D, Li H, Qian S, Sun Y, Zheng J, Ma Y. bcl-2/bax expression and p53 gene status in human bladder cancer: Relationship to early recurrence with intravesical chemotherapy after resection. *J Urol* 1998; 160: 2025-2029.
5. Bilim VN, Tomita Y, Kawasaki T, Takeda M., Takahashi K. Variable bcl-2 phenotype in benign and malignant lesions of urothelium. *Cancer Lett* 1998; 128: 87-92.
6. Wolf HK, Stöber C, Hohenfeliner R, Leissner J. Prognostic value of p53, p21/WAF1, bcl-2, bax, bak and Ki-67 immunoreactivity in pT1 G3 urothelial bladder carcinomas. *Tumor Biol* 2001; 22: 328-336.
7. Pfister C, Lacombe L, Vezina MC, Moore L, Larue H, Tetu B, Meyer F, Fradet Y. Prognostic value of the proliferative index determined by Ki-67 immunostaining in superficial bladder tumors. *Human Pathol* 1999; 30(11): 1350-1355.

8. Alonso AR, Fernandez SP, Carrero JG, March JLN. Multivariate analysis of survival, recurrence, progression and development of metastasis in T1 and T2a transitional cell bladder carcinoma. *Cancer* 2002; 94(6): 1677-1684.
9. Stavropoulos NE, Ioachim E, Charchanti A, Michael MC, Kitsiou E, Mihailidis I, Hastazeris K, Agnantis N. Tumors markers in stage P1 bladder cancer. *Anticancer Res* 2001; 21:1 495-1498.
10. Cina SJ, Weiss KJL, Lecksell K, Epstein JI. Correlation of Ki-67 and p53 with the new World Health Organization / International Society of urological pathology classification system for urethelial neoplasia. *Arch Pathol Lab Med.* 2001; 125: 646-651.
11. Gontero P, Casetta G, Zitella A, Ballario R, Pacchioni D, Magnani C, Muir GH, Tizzani A. Evaluation of p53 protein overexpression, Ki-67 proliferative activity and mitotic index as markers of tumour recurrence in superficial transitional cell carcinoma of the bladder. *Eur Urol* 2000; 38: 287-296.
12. Zlotta AR, Schulman CC. Biological markers in superficial bladder tumors and their prognostic significance. *Urol Clin North Am* 2000; 27(1): 179-189.
13. Wu TT, Chen JH., Lee YH, Huang JK. The role of bcl-2, p53 and Ki-67 index in predicting tumor recurrence for low grade superficial transitional cell bladder carcinoma. *J Urol* 2000; 163: 758-760.
14. Pfister C, Moore L, Allard P, Larue H, Lacombe L, Tetu B, Meyer F, Fradet Y. Predictive value of cell cycle markers p53, MDM2, p21 and Ki-67 in superficial bladder tumor recurrence. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 4079-4084.
15. Ong F, Moonen LMF, Gallee MPW, Bosch CT, Zerp SF, Hart AAM, Bartelink H, Verheij M. Prognostic factors in transitional cell cancer of the bladder: an emerging role for bcl-2 and p53. *Radiother Oncol* 2001; 61: 169-175.

16. Asci R, Yıldız L, Sarıkaya S, Buyukalpelli R, Yılmaz AF, Kandemir B. p53 and bcl-2 overexpression as associated risk factors in patients 40 years old or less with transitional cell carcinomas of the bladder. *Urol Int.* 2001; 67: 34-40.
17. Kirsh EJ, Baunoch DA, Stadler WM. Expression of bcl-2 and bcl-X in bladder cancer. *J Urol* 1998; 159: 1348-1353.
18. Bozlu M, Orhan D, Baltacı S, Yaman Ö, Elhan AH, Tulunay Ö, Müftüoğlu YZ. The prognostic value of proliferating cell nucleolar organizer region in transitional cell carcinoma of the bladder. *Int Urol Nephrol* 2002; 33: 59-66.
19. Tomobe M, Shimazui T, Uchida K, Hinotsu S, Akaza H. Argyrophilic nucleolar organizer region in proliferating cell has a predictive value for local recurrence in superficial bladder tumor. *J Urol* 1999; 162: 63-68.
20. Rüschoff J, Zimmermann R, Ulshöfer B, Thomas C. Silver-stained nucleolar organizer proteins in urothelial bladder lesions. *Path Res Pract.* 1992; 188: 593-598.
21. Plastiras D, Moutzouris G, Barbatis C, Presvelos V, Petrakos M, Theodorou C. Can p53 nuclear over-expression, bcl-2 accumulation and PCNA status be of prognostic significance in high-risk superficial and invasive bladder tumours? *Eur J Surg Oncol* 1999; 25: 61-65.
22. Vorreuther R, Hake R, Borchmann P, Lukowsky S, Thiele J, Engelmann U. Expression of immunohistochemical markers (PCNA, Ki-67, 486p and p53) on paraffin sections and their relation to the recurrence rate of superficial bladder tumors. *Urol Int* 1997; 59: 88-94.
23. Santos LL, Amaro T, Pereira SA, Lameiras CR, Lopes P, Bento MJ, Oliveira J, Criado B, Lopes CS. Expression of cell-cycle regulatory proteins and their prognostic value in superficial low-grade urothelial cell carcinoma of the bladder. *Eur J Surg Oncol* 2002; 29: 74-80.

24. Pich A, Chiusa L, Formiconi A, Galliano D, Bortolin P, Comino A, Navone R. Proliferative activity is the most significant predictor of recurrence in noninvasive papillary urothelial neoplasms of low malignant potential and grade I papillary carcinomas of the bladder. *Cancer* 2002; 95(4): 784-790.

25. Haitel A, Posch B, el-Baz M, Mokhtar AA, Susani M, Ghoneim MA, Marberger M. Bilharzial related, organ confined, muscle invasive bladder cancer: Prognostic value of apoptosis markers, proliferation markers, p53, E-cadherin, epidermal growth factor receptor and c-erbB-2. *J Urol*. 2001; 165: 1481-1487.

26. Özer E, Yörükoğlu K, Mungan MU, Özkal S, Demirel D, Sağol Ö, Kırkali Z. Prognostic significance of nuclear morphometry in superficial bladder cancer. *Anal Quant Cytol Histol*. 2001; 23(4): 251-256.

27. Borland RN, Partin AW, Epstein JI, Brendler CB. The use of nuclear morphometry in predicting recurrence of transitional cell carcinoma. *J Urol* 1993; 149: 272-275.

28. Lipponen P, Eskelinen M. Nuclear morphometry in grading transitional cell bladder cancer compared with subjective histological grading. *Anticancer Res* 1990; 10: 1725-1730.

29. Blomjous CEM, Vos W, Schipper NW, Uyterlinde AM; Baak JPA, de Voogt HJ, Meijer JLM. The prognostic significance of selective nuclear morphometry in urinary bladder carcinoma. *Hum Pathol* 1990; 21(4): 409-413.

30. Monnin KA, Bronstein IB, Gaffney DK, Holden JA. Elevations of DNA topoisomerase I in transitional cell carcinoma of the urinary bladder: Correlation with DNA topoisomerase II-alpha and p53 expression. *Hum Pathol* 1999; 30(4): 384-391.

31. Shiina H, Igawa M, Nagami H, Yagi H, Urakami S, Yoneda T, Shirakawa H, Ishibe T, Kawanishi M. Immunohistochemical analysis of proliferating cell

nuclear antigen, p53 protein and nm23 protein and nuclear DNA content in transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer* 1996; 78(8): 1762-1774.

32. Krause FS, Feil G, Bichler KH. Immunohistochemical examinations (Ki-67, p53, nm23) and DNA cytophotometry in bladder cancer. *Anticancer Res* 2000; 20: 5023-5028.

33. Lipponen PK, Collan Y, Eskelinen MJ, Pesonen E, Sotara M, Nordling S. Comparison of morphometry and DNA flow Cytometry with standard prognostic factors in bladder cancer. *Br J Urol* 1990; 65: 589-597.

34. Pich A, Chiusa L, Comino A, Navone R. Cell proliferation indices, morphometry and DNA flow cytometry provide objective criteria for distinguishing low and high grade bladder carcinomas. *Virchows Arch* 1994; 424: 143-148.

35. Messing EM, Catalona W. Urothelial tumors of the urinary tract In: Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ. *Campbell's Urology*. Philadelphia: WB Saunders, 1998: 2327-2383.

36. Urinary bladder In: Petersen RO. *Urologic Pathology*. Philadelphia: JB Lippincott Company, 1992: 260-367.

37. Kausch I, Böhle A. Bladder cancer: II. molecular aspects and diagnosis. *Eur Urol* 2001; 39: 498-506.

38. Grignon D. Neoplasms of the urinary bladder In: Bostwick DG, Eble JN. *Urologic Surgical Pathology*. Missouri: Mosby Year Book, 1997: 221-253.

39. Reuter VE. Urinary bladder, ureter and renal pelvis In: Sternberg SS. *Histology for Pathology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1997: 835-847.

40. Sidransky D, Messing E. Molecular genetics and biochemical mechanisms in bladder cancer. *Urol Clin North Am* 1992; 19(4): 629-639.

41. Çalışkan M, Türkeri LN, Mansuroğlu B, Toktaş G, Aksoy B, Ünlüer E, Akdaş A. Nuclear accumulation of mutant p53 protein: a possible predictor of failure of intravesical therapy in bladder cancer. *Br J Urol* 1997; 79: 373-377.

42. Staging of cancer In. Rosai J. *Ackerman's Surgical Pathology*. St. Louis, Missouri: Mosby – Year Book, Inc, 1996: 2607-2608.

43. Montironi R, Beltran AL, Mazzucchelli R, Bostwick DG. Classification and grading of the non-invasive urothelial neoplasms: Recent advances and controversies. *J Clin Pathol* 2003; 56: 91-95.

44. Epstein JI, Amin MB, Reuter VR, Mostofi FK, Bladder Consensus Conference Committee. The World Health Organization/International Society of Urological Pathology Consensus Classification of urothelial (transitional cell) neoplasms of the urinary bladder. *Am J Surg Pathol* 1998; 22(12): 1435-1448.

45. Stein JP, Grossfeld GD, Ginsberg DA, Esrig D, Freeman JA, Figueroa AJ, Skinner DG, Cote RJ Prognostic markers in bladder cancer: a contemporary review of the literature. *J Urol* 1998; 160: 645-659.

46. Nakopoulou L, Vourlakou C, Zervas A, Tzonou A, Gakiopoulou H, Dimopoulos MA. The prevalence of bcl-2, p53 and Ki-67 immunoreactivity in transitional cell bladder carcinomas and their clinicopathologic correlates. *Hum Pathol* 1998; 29(2): 146-154.

47. Chetty R, Dada MA, Gatter KC. Bcl-2: Longevity personified! *Adv Anat Pathol*. 1997; 4(2): 134-138.

48. Quek ML, Quinn DI, Daneshmand S, Stein JP. Molecular prognostication in bladder cancer - a current perspective. *Eur J Cancer* 2003; 39(11): 1501-1510.

49. Tiguert R, Lessard A, So A, Fradet Y. Prognostic markers in muscle invasive bladder cancer. *World J Urol* 2002; 20: 190-195.



50. Skopelitou A, Korkolopoulou P, Papanicolaou A, Christodoulou P, Tsagli ET, Pavlakis K. Comparative assessment of proliferating cell nuclear antigen immunostaining and of nucleolar organizer region staining in transitional cell carcinomas of the urinary bladder. *Eur Urol* 1992; 22: 235-240.

51. Tomobe M, Shimazui T, Uchida K, Akaza H. AgNOR count in resting cells (resting NOR) is a new prognostic marker in invasive bladder tumor. *Anal Cell Pathol* 2001; 22(4): 193-199.

52. Lipponen PK, Eskelinen MJ, Sotarauta M. Prediction of T1-2 G1-II transitional cell bladder cancer; evaluation by histoquantitative methods. *Scand J Urol Nephrol* 1991; 25: 129-134.

53. Langkilde NC, Wolf H, Clausen H, Kjeldsen T, Qrntoft TF. Nuclear volume and expression of T-antigen, sialosyl-Tn-antigen and Tn- antigen in carcinoma of the human bladder. *Cancer* 1992; 69(1): 219-227.

54. Lipponen PK, Collan Y, Eskelinen MJ, Pesonen E, Sotarauta M. Morphometry in human transitional cell bladder cancer. *Eur Urol* 1990; 17: 155-160.

55. Lipponen PK. The prognostic value of basement membrane morphology, tumour histology and morphometry in superficial bladder cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 1993; 119: 295-300.

56. Smith ND, Rubenstein JN, Eggener SE, Kozlowski JM. The p53 tumor suppressor gene and nuclear protein: basic science review and relevance in the management of bladder cancer. *J Urol* 2003; 169: 1219-1228.

57. Kong G, Shin KY, Oh YH, Lee JJ, Park HY, Woo YN, Lee JD. Bcl-2 and p53 expressions in invasive bladder cancers. *Acta Oncol* 1998; 37: 715-720.

58. Camur NK, Kilicaslan I, Gulluoğlu MG, Esen T, Uysal V. Impact of p53 and Ki-67 in predicting recurrence and progression of superficial (pTa and pT1) urothelial cell carcinomas of urinary bladder. *Pathol Int.* 2002; 52: 463-469.

59. Stavropoulos NE, Filiadis I, Ioachim E, Hastazeris K, Tsimaris I, Kalogeris D, Stefanaki S, Agnantis NJ. Prognostic significance of p53, bcl-2 and Ki-67 in high risk superficial bladder cancer. *Anticancer Res.* 2002; 22: 3759-3764.

60. Asakura T, Takano Y, Iki M, Suwa Y, Noguchi S, Kubota Y, Masuda M. Prognostic value of Ki-67 for recurrence and progression of superficial bladder cancer. *J Urol* 1997; 158: 385-388.

61. Blanchet P, Droupy S, Eschwege P, Viellefond A, Paradis V, Pichon MF, Jardin A, Benoit G. Prospective evaluation of Ki-67 labeling in predicting the recurrence and progression of superficial bladder transitional cell carcinoma. *Eur Urol* 2001; 40: 169-175.

62. Korkolopoulou P, Christodoulou P, Kaprolas P, Exarchakos M, Bisbiroula A, Hadjiyannakis M, Georgountzos C, Tsagli ET. The role of p53, MDM2 and c-erb B-2 oncoproteins, epidermal growth factor receptor and proliferation markers in the prognosis of urinary bladder cancer. *Pathol Res Pract* 1997; 193: 767-775.

63. Yan Y, Andriole GL, Humphrey PA, Kibel AS. Patterns of multiple recurrences of superficial (Ta/T1) transitional cell carcinoma of bladder and effects of clinicopathologic and biochemical factors. *Cancer* 2002; 15: 1239-1246.

64. Rödel C, Grabenbauer GG, Rödel F, Birkenhake S, Kühn R, Martus P, Zörcher T, Fursich D, Papadopoulos T, Dunst J, Schrott KM, Sauer R. Apoptosis, p53, bcl-2 and Ki-67 in invasive bladder carcinoma: Possible predictors for response to radiochemotherapy and successful bladder preservation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000; 46(5): 1213-1221.

65. Korkolopoulou P, Lazaris AC, Konstantinidou AE, Kavantzias N, Patsouris E, Christodoulou P, Tsagli ET, Davaris P. Differential expression of bcl-2 family proteins in bladder carcinomas relationship with apoptotic rate and survival. *Eur Urol* 2002; 41: 274-283.

66. Liukkonen TJO, Lipponen PK, Helle M, Jauhiainen KE, Finnbladder III Group. Immunoreactivity of bcl-2, p53 and EGFr is associated with tumour stage, grade and cell proliferation in superficial bladder cancer. *Urol Res* 1997; 25: 1-8.

67. Bolshakov S, Walker CM, Strom SS, Selvan MS, Clayman GL, El-Naggar A, Lippman SM, Kripke ML, Ananthaswamy HN. p53 mutations in human aggressive and nonaggressive basal and squamous cell carcinomas. *Clin Cancer Res*. 2003; 9(1): 228-234.

68. Berloco P, Russo F, Cariola F, Gentile M, Giorgio P, Caruso ML, Valentini AM, Di Matteo G, Di Leo A. Low presence of p53 abnormalities in H. Pylori - infected gastric mucosa and in gastric adenocarcinoma. *J Gastroenterol*. 2003; 38(1): 28-36.

69. Byun DS, Chae KS, Ryu BK, Lee MG, Chi SG. Expression and mutation analyses of p53 R2, a newly identified p53 target for DNA repair in human gastric carcinoma. *Int J Cancer* 2002; 98(5): 718-723.

70. Leonardo C, Mattace RD, Albino GA, Pozza M, Gallucci M. The role of bcl-2 and bax genes for urinary bladder cancer relapse. *Eur Urol Suppl* 2 2003; 1: 45.

71. Shiina H, Igawa M, Urakami S, Honda S, Shirakawa H, Ishibe T. Immunohistochemical analysis of bcl-2 expression in transitional cell carcinoma of the bladder. *J Clin Pathol* 1996; 49: 395-399.

72. Lu QL, Abel P, Foster CS, Lalani EN. Bcl-2: Role in epithelial differentiation and oncogenesis. *Hum Pathol* 1996; 27(2): 102-110.

73. Pfister C, Flaman JM, Dunet F, Grise P, Frebourg T. p53 mutations in bladder tumors inactive the transactivation of the p21 and bax genes and have a predictive value for the clinical outcome after bacillus calmette-guerin therapy. *J Urol* 1999; 162: 69-73.

