

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**MESANENİN ÜROTELYAL TÜMÖRLERİNDE
HÜCRE SIKLUS PROTEİNLERİ VE
APOPTOZİSİN
PROGNOZLA İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. EMEL ÜNAL

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Nil ÇULHACI

AYDIN-2007

GİRİŞ

Mesane kanseri tüm dünyada en sık gözlenen kanserler içinde 7. sırada olup her yıl yaklaşık 336000 yeni olgu tanı almaktadır (1, 2). Toplumların yaşam süresinin uzaması ile birlikte mesane kanseri insidansında artış gözlenmekte ve bu da önemli bir toplum sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Gelişmiş ülkelerde mesane kanserlerinin % 90'ını ürotelyal (transizyonel hücreli) karsinom oluşturmaktadır (3).

Günümüzde mesane kanserinin prognozunu değerlendirmede tümörün derecesi, evresi, lenfatik ve vasküler yayılımı önemli bilgiler sağlamaktadır (4). Fakat bunların hepsi tümörün yinelenmesini, ilerlemesini, metastaz gelişimini veya uygulanan tedaviye tümörün yanıtını değerlendirmede sınırlı düzeyde bilgi vermektedir (5). Moleküler biyoloji ve genetik bilimindeki gelişmeler ile birlikte yeni yapılan çalışmalarda mesane tümörlerinin prognoz ve klinik seyrini değerlendirmede daha objektif veriler sağlayabileceği düşünülen, hücre siklusu ve apoptozis mekanizmaları ilişkili faktörler, tümör süpresör genler, onkogenler, anjiyogenez ilişkili faktörler, ekstrasellüler matriks adezyon molekülleri gibi yeni belirleyiciler üzerinde çalışılmaktadır (5, 6).

Yapılan bu çalışmada, mesanenin ürotelyal karsinomlarında hücre siklus proteinleri ve apoptozisin, evre ve derece gibi konvansiyonel prognostik parametrelerle ilişkisi karşılaştırılarak prognozu değerlendirmede ek bilgiler sağlayabileceğini göstermek amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

MESANENİN EMBRİYOLOJİSİ VE ANATOMİSİ

Gestasyonun ilk 12 haftasında üç aşamada mesane oluşur. İlk olarak mezonefrik duktusun kaudal kısmının dilatasyonu ve gestasyonun 4. haftasında ürogenital sinüsle birleşmesiyle mesane trigonunun oluşmasına yardım etmesidir. Mezonefrik duktus başta trigonun mukozasının oluşmasına katkıda bulunur, sonradan ürogenital sinüsün endodermal epiteli ile değişir. Mezonefrik duktusun yavaş yavaş içe çekilmesi mesane içinde trigon alanında üreterlerin açıklığının meydana gelmesini sağlar. İkinci olay ürorektal septumla kloakanın bölünmesinden sonra ürogenital sinüsün çevresindeki mezenkimden mesanenin çatı ve posterior duvarının oluşmasıdır. Üçüncü olarak abdominal duvarın infraumblikal parçasının kapanmasıyla anterior duvar meydana gelir. Ürogenital sistemin allantois ve urakus ile embriyolojik devamlılığına rağmen bu yapılardan hiçbiri mesane biçimlenimi içinde yer almaz. Embriyolojik gelişme boyunca allantois tamamen körelir ve kalın, epitelle döşeli urakus oluşur. Urakus mesanenin apeksine umblikustan uzanır ve doğumdan hemen önce ya da sonra gerileyerek fibröz kord halinde kalır. Mesane epiteli endodermal olarak ürogenital sinüsün kranial kısmından oluşur. Lamina propria, muskularis propria ve adventisya komşu splenik mezankimden gelişir (7, 8, 9).

Erişkinlerde boş mesane, pelvis minörün anterioinferior kısmındadır. Dolu mesane abdomene çıkar ve umblikus düzeyine ulaşabilir. Çocuklarda mesane boşken abdomende lokalizedir ve 6 yaşından sonra pelvis major içine girmeye başlar. Ancak puberteye kadar tamamı pelvis minörde bulunmaz.

Mesane, pelvisin fibröz-yağ dokusu içinde rölatif serbest olarak bulunur. Mesane boynu alanı kadınlarda pubovezikal ligamentle, erkeklerde puboprostatik ligamentle sıkıca korunur. İdrarla dolması gibi durumlarda genişlemesine izin vermek için mesanenin göreceli serbestliği vardır.

Mesane dört kenarlı piramid şeklindedir ve vezikal fasya ile kuşatılır. Süperior yüzey yukarıya bakar ve pelvik paryetal peritonla çevrilidir. Posterior yüzeyi mesanenin bazali olarak bilinir. Posterior yüzey rektumdan kadınlarda vaginanın proksimal kısmı ve uterin serviks ile, erkeklerde vaz deferensin ampullası ve seminal vezikül ile ayrılır. Mesanenin iki inferolateral yüzü lateral, inferior, anteriora bakar ve levator ani kasının fasyasıyla temas

halindedir. Mesanenin en anterosüperior noktası apeks olarak bilinir ve iki anterolateral yüzey ile süperior yüzeyin temas noktasında yerleşmiştir. Trigon, mesanenin bazalinde kompleks anatomik yapıdır ve mesane boynunun posterioruna yayılır. Üreterler trigona oblik olarak girerler. Bu bölgede mukoza altındaki kas, detrusor kası ve intramural üreterin longitudinal düz kas tabakasının kombinasyonudur. İntramural üreter bir fibromuskuler kılıf (Waldeyer Kılıfı) ile çevrili olup bu kılıf üreteral kas ile birleşir. Bu fibromuskuler doku trigonal bölgede yoğunlaşır ve destrusor kasla karışır. Böylece intramural üreteri mesaneye sabitler. Mesanenin en distal kısmı mesane boynu olarak adlandırılır ve üretraya açılır. Erkeklerde mesane boynu prostat bezi ile birleşir ve bu bölgede birkaç prostatik duktus bulunabilir. Mesane boynu trigonal kaslar (iç longitudinal üreter kası ve Waldeyer Kılıfı), detrusör kası ve üretra kasları ile oluşur. İç sfinkter bu bölgede lokalizedir ve destrusor kasının orta sfinkter bölümüne katılır. Mesane yatağı (mesane boynunun oturduğu bölge) arkasını erkeklerde rektum, kadınlarda vajina oluşturur. Ön ve lateral bölümleri ise internal obturator, levator ani kası ve pubik kemikler oluşturur.

Mesanenin ana arteriyel kan akımı, arteria iliaca internanın dalı olan inferior vezikal arterden gelir. Ayrıca umbilikal arter dalları, süperior vezikal arter, obturator ve inferior gluteal arterlerden de kanlanır. Kadınlarda ayrıca vajinal ve uterus arterlerinden de kanlanır. Mesanenin venleri internal iliak vene drene olur ve vezikal venöz pleksusu oluşturur. Erkeklerde bu pleksus mesane bazali, prostat, vezikula seminalis boyunca ilerler ve prostatik venöz pleksus ile birleşir. Kadınlarda ise mesane boynunu ve üretrayı kaplayarak vajinal pleksus ile birleşir. Lenfatik drenaj eksternal ve internal lenf nodları ile olur. Mesane boynunun lenfatik drenajı sakral veya common iliak nodları aracılığı ile de olabilir. Mesaneye hem sempatik hem de parasempatik lifler gelir ve bunlar vezikal sinir ağını oluştururlar. Sempatik sinirler T11-L2 kökenlidir, miksiyonda rolleri yoktur. Diğer taraftan parasempatik sinirler S2-4'den köken alır, pelvik sinir ve inferior hipogastrik ağ vasıtasıyla mesaneye ulaşır. Bu sinirler miksiyon için önemlidir. Mesane ayrıca pelvik ve hipogastrik sinirler boyunca uzanan sensoriyel sinirleri içerir (4, 7, 8, 9).

MESANENİN HİSTOLOJİSİ

Mesane, epitel, lamina propria, muskularis propria ve adventisya tabakalarından oluşmaktadır. Süperior yüzü pariyetal peritonla temasta olup serozası vardır.

Mesaneyi döşeyen epitele "transizyonel epitel" denir. Bunun nedeni nonkeratinize skuamöz epitel ve psödostratifiye epitel arasında bir görünümü olmasıdır. Mesanenin mukozal döşeyicisi anlamında "ürotelyum" da denilebilir. Epitelin kalınlığı mesanenin distansiyon derecesine göre değişir. En az 3 tabakadan oluşur ve kasılmış mesanede 6-7 hücreye kadar çıkabilir. Üç hücre katı ayırt edilir: üriner yüzeyle temasta olan yüzeyel hücreler, bazal membrana oturan bazal hücreler ve bunların arasında yer alan intermediyer hücreler. Yüzeyel hücreler büyük, eliptik, şemsiyeye benzer hücrelerdir. Binükle ve bol eozinofilik sitoplazmalı olabilirler. Genişlemiş kesede yassılaşırlar ve zor seçilebilirler. Bu hücrelerin bulunması ürotelyumun normal olduğunu gösterir. Ancak karsinom varlığında da gözlenebilirler. İntermediyer hücreler kasılmış mesanede beş kattan fazla olabilir. Uzun eksenleri bazal membrana diktir. Nükleusları ovaldır, ince kromatinleri vardır. Nükleoller yoktur ya da küçüktür, sitoplazmaları boldur. Genişlemiş kesede bu tabaka belirsizdir ya da bir-iki hücre kalınlığındadır. Bazal tabaka küboidal hücrelerden oluşur ve sadece kasılmış mesanede belirgindir. Bütün normal ürotelyal hücreler glikojen içerirler ama sadece yüzeyel hücreler az miktarda müsin içerir.

Lamina propria mukozal bazal membran ve muskularis propria arasında yer alır. Zengin vasküler ağ, lenfatik kanallar, sinir sonlanmaları ve az sayıda elastik fibril içeren dens konnektif dokudan oluşur. Lamina proprianın derin kısmında bağ doku gevşek olup kese kasıldığında kalın mukozal katlantıların oluşmasına izin verir. Lamina proprianın kalınlığı mesane trigon ve boyun kısmında daha incedir. Lamina propria orta kısmında arter ve ven bulunur. Lamina propriadaki belli belirsiz düz kaslar bu damarlarla sıklıkla ilişkide bulunurlar. Bu kas demetleri muskularis propria ile bağlantılı değildir ve devamı olmayan izole kas demetleri ince bir kas tabakası oluştururlar. Bazen de lamina propriadaki bu kas lifleri devamlı bir kas tabakası oluşturur ve bu gerçek bir muskularis mukozayı meydana getirir. Tümör evrelemesini ve tedaviyi etkileyeceği için biyopsi materyallerinde muskularis mukoza muskularis propriadan ayrılmalıdır. Mesane duvarında lamina proprianın derin kısmında matür adipoz doku adası bulunabilir.

Muskularis propria 3 düz kas tabakasından oluşur: İç ve dış longitudinal tabaka ve santral sirküler tabaka. Gerçekte bu 3 tabaka sadece mesane boynunda ayırt edilebilir. Diğer bölgelerde longitudinal ve sirküler tabakalar karışmış olup oryantasyonları belirgin değildir. Kontrakte kesede kas lifleri, damarları ve lenfatik sinirleri içeren yoğun bağ dokuyla ayrılırlar. Nadiren nöral ya da vasküler yapılarla ilişkili paragangliya kümeleri görülebilir.

Muskularis proprianın kalınlığı kişiden kişiye, yaşa, mesanenin distansiyon derecesine bağlı olarak değişir. Ortalama kalınlığı boşken 2,76 mm, dolu iken 1,55 mm'dir. Evreleme için muskularis propria yüzeysel ve derin olmak üzere iki kısma ayrılır. Bu ayrım için anatomik sınır yoktur ve kas tabakasının ölçülmesiyle yapılabilir (4, 7, 8).

MESANE TÜMÖRLERİNİN EPİDEMİYOLOJİSİ

Mesane kanseri tüm dünyada kanserler içinde 7. sırada olup, her yıl yaklaşık 336000 yeni olgu tanı almaktadır. Mesane karsinomu insidansının her yıl artmakta olduğu bilinmektedir (1, 2). Batı ülkelerinde ise en sık gözlenen 4. kanser olup, sıklık açısından prostat, akciğer ve kolon kanserini takip etmektedir (10). Ayrıca mesane kanseri en sık gözlenen 2. genitoüriner tümör olup özellikle 80 yaş üstü erkeklerde kansere bağlı ölüm nedenleri içinde 4. sırada yer almaktadır (5). Genellikle tanı 65 ile 70 yaşları arasında konulmaktadır ve erkeklerde kadınlara oranla 3-4 kat daha sık gözlenmektedir (10). Nadiren çocuk ve gençlerde de oluşabilmektedir. Erkeklerde daha sık gözlenmekle birlikte kadınlarda evreye göre saptanan sürvi daha kısadır (11).

Toplumların yaşam süresinin uzaması ile birlikte mesane kanseri insidansında artış gözlenmekte ve önemli bir toplum sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Gelişmiş ülkelerde mesane kanserlerinin % 90'ını ürotelyal (transizyonel hücreli) karsinom oluşturmaktadır (3). Mesane kanserinin diğer tipleri olan skuamöz hücreli karsinom ve adenokarsinom ise sırasıyla % 1,1-2,8 ve % 1,5 -1,9 oranında gözlenmektedir (1).

MESANENİN ÜROTELYAL (TRANSİZYONEL HÜCRELİ) KARSİNOMU

RİSK FAKTÖRLERİ

Mesane kanseri gelişiminde birçok risk faktörü sorumlu tutulmakta olup bu faktörler içerisinde özellikle sigara ve aromatik aminler önemli yer tutmaktadır (4).

Sigara kullanımı:

Akciğer kanseri ile sigara içiciliği arasındaki kadar kuvvetli ilişkiler saptanamasa da sigara kullanımı mesane kanseri gelişimine neden olan en önemli risk faktörü olarak bilinmektedir. Sigara içiciliği mesane kanseri gelişim riskini 2-4 kat arttırmaktadır ve tüm mesane kanserlerinin % 30-50'si sigara kullanımına bağlı gelişmektedir. Risk özellikle yoğun ve uzun süreli sigara kullanımı ve derin inhalasyonla artmaktadır. Sigara kullanımı en önemli

risk faktörü olmakla birlikte bazı toplumlarda yüksek oranda sigara içiciliğine rağmen mesane kanseri nadir olarak gözlenmektedir (örnek olarak Hawaii ve Yeni Zelanda yerlileri). Bu da sigara ilişkili karsinojenlerin metabolizmasında farklılıklar olabileceğini düşündürmektedir (10).

Kimyasal ajanlar:

İkinci en önemli risk faktörüdür. Mesane kanseri endüstriyel alanlarda özellikle petrokimya ile ilişkili bölgelerde daha sıktır. Arylamine, anilin boyaları (özellikle benzidin ve beta naftilamin) ve auramin maruziyeti ile mesane kanseri gelişim riski artmaktadır. Mesane kanserli olguların yaklaşık % 25'inde mesleki olarak karsinojenler ile temas sorumlu tutulmaktadır (1, 4, 10).

Tıbbi ilaçlar:

Özellikle lenfoproliferatif ve myeloproliferatif hastalıkların tedavisinde kullanılan alkilleyici bir ajan olan siklofosfamid doz ilişkili olarak mesane kanseri gelişimini arttırmaktadır. Siklofosfamid kullanımına bağlı gelişen mesane tümörleri tanı aldıklarında sıklıkla kas infiltrasyonu yapmaktadır ve sürvi kısadır. Siklofosfamid'in direkt karsinojenik etkisiyle mi, yoksa immünoşüpresif etkisi ile mi malignite gelişimine neden olduğu tam olarak bilinmemektedir (1, 4, 10).

Kronik üriner enfeksiyon:

Kronik üriner enfeksiyonların özellikle invaziv skuamöz hücreli karsinom ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu tür enfeksiyonlara medulla spinalis travmasına bağlı olarak belirgin şikayeti olmadan kronik sistit geçiren hastalarda sık rastlanmaktadır. Schistosoma haematobium enfeksiyonlarının da mesanenin ürotelyal ve skuamöz hücreli karsinomlarıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (1, 10).

Radyoterapi:

Prostat karsinomu nedeniyle radyoterapi alan erkek hastalarda ve over karsinomu nedeniyle radyoterapi alan kadın hastalarda mesane karsinomu gelişme riski hafifçe artmaktadır (1, 10).

Yapay tatlandırıcılar:

İnsanlarda yapay tatlandırıcıların kullanımı ile mesane kanseri gelişimi arasında bir ilişki saptanamamış olmakla birlikte, yapılan hayvan çalışmalarında sakkarin ve siklamat gibi tatlandırıcıların kullanımı ile kanser gelişimi arasında güçlü bir ilişki olduğu gösterilmiştir (10).

Diğer risk faktörleri:

Saç boyalarının, aşırı kafein tüketiminin ve genetik faktörlerin de mesane karsinomu gelişiminde sorumlu oldukları düşünülmektedir (10, 1).

KLİNİK BULGULAR

En sık gözlenen klinik bulgu mikroskopik ya da makroskopik hematüridir. Hastaların yaklaşık olarak % 85'i ağrısız makroskopik hematüri ile hastaneye başvurmaktadır. Hematüriyi idrar yolları infeksiyonu ile ilişkili semptomlar izlemektedir. Yüksek dereceli tümörlerde dizüri siktür (1).

Mesanenin herhangi bir yerinden gelişebilmekle birlikte sıklık sırasına göre % 37 lateral duvar, % 18 posterior duvar, % 12 trigon, % 11 boyun, % 10 üreter orifisi, % 8 süperior duvar, % 4 anterior duvar yerleşimlidir (4). Sıklıkla çok odaklıdır. Üreter orifisinde lokalize olduğunda bir ya da iki üreterin parsiyel veya total tıkanmasıyla hidronefroz ve pyelonefrite neden olabilmektedir (1).

MAKROSKOBİK BULGULAR

İnfiltratif karsinomlar makroskopik olarak papiller, polipoid, solid, nodüler, ülseratif ve transmural gelişim gösterebilmektedirler. Tek ya da multifokal olabilirler. Çevre mukoza normal veya eritematöz görünümde olabilmektedir (1).

HİSTOPATOLOJİ

Orta veya belirgin yoğun amfofilik sitoplazmalı, büyük hiperkromatik nükleuslu hücrelerin oluşturduğu infiltratif koheziv adalardan oluşmaktadır. Nükleus genellikle pleomorfik, açılanmalar gösteren irregüler kontürlere sahiptir. Nükleoller oldukça değişken görünüm ve sayıda olup, bazı hücreler tek veya çok sayıda küçük nükleol içerirken, diğerleri büyük ve eozinofilik nükleol içermektedirler. Mitotik figürler yaygındır. Mültinükleer tümör hücreleri içeren alanlar ve anormal mitozlar bulunabilmektedir. İnvaziv yuvalar genelde desmoplastik stromal reaksiyon ile malign iğsi komponent izlenimi oluşturmaktadır. Birçok olguda stromada değişik sayıda plazma hücresiyle birlikte genellikle hafif veya orta şiddetli ancak bazen şiddetli ve yaygın lenfositik infiltrasyon bulunmaktadır. Nötrofil veya eozinofiller nadiren baskındır. Karsinom hücrelerinin çevresinde retraksiyon artefaktları sıklıkla bulunmakta ve vasküler invazyonla karışabilmektedir (1, 4).

ÜROTELYAL TÜMÖRLERİN SINIFLAMASI

Günümüzde en sık kullanılan,WHO sınıflaması Tablo 1’de verilmiştir (1).

Tablo 1: Ürotelyal Tümörlerin WHO-2004 Sınıflaması

A-İnfiltratif Ürotelyal Karsinom

- 1-Skuamöz differansiyasyonlu
- 2-Glandüler differansiyasyonlu
- 3-Trofoblastik differansiyasyonlu
- 4-Nested
- 5-Mikrokistik
- 6-Mikropapiller
- 7-Lenfoepitelyoma benzeri
- 8-Lenfoma benzeri
- 9-Plazmasitoid
- 10-Sarkomatoid
- 10-Dev hücreli
- 11-İndiferansiye

B-Noninvaziv Ürotelyal Neoplaziler

- 1-Ürotelyal karsinoma in situ
- 2-Noninvaziv papiller ürotelyal karsinom, yüksek dereceli
- 3-Noninvaziv papiller ürotelyal karsinom, düşük dereceli
- 4-Düşük malign potansiyelli noninvaziv papiller ürotelyal neoplazi
- 5-Ürotelyal papillom
- 6-İnverted ürotelyal papillom

İNİLTRATİF ÜROTELYAL KARSİNOMUN HİSTOLOJİK VARYANLARI

Skumöz Diferansiyasyonlu İnfiltratif Ürotelyal Karsinom

Mesane tümörlerinde % 21 oranında görülmektedir. Skumöz diferansiyasyonu intersellüler köprüler veya keratinizasyon belirlemektedir. Skumöz komponent oldukça değişken yoğunlukta olup bazı olgularda ürotelyal komponent sadece in situ karsinom şeklindedir. Skumöz hücreli karsinom sadece, karsinoma in situyu da içeren hiçbir ürotelyal komponenti olmayan olgular için verilmelidir. Prognozu ve kemoterapiye yanıtı genellikle kötüdür (1, 12, 13).

Glandüler Diferansiyasyonlu İnfiltratif Ürotelyal Karsinom

Glandüler diferansiyasyon skumöz diferansiyasyondan daha az izlenir. Mesane ürotelyal karsinomlarının yaklaşık % 6'sında bulunmaktadır. Glandüler diferansiyasyon gerçek glandüler boşlukların varlığı ile tanımlanmaktadır. Tübüler veya enterik glandlar müsin sekresyonu ile birlikte dirler. Taşlı yüzük hücreleri ile birlikte mukus içinde yüzen hücre ile karakterize kolloid ve müsinöz paternler olabilmektedir. Tipik ürotelyal karsinomlarda % 14-63 oranında sitoplazmik müsin içeren hücreler bulunur. Bunlar glandüler diferansiyasyonu göstermemektedir. Glandüler diferansiyasyonun prognostik önemi bilinmemektedir (1, 12).

Nested Varyant

Yüzeyel ve derin kısımlarda farklı patern gösteren bir tümör grubudur. Yüzeyel biyopsilerde ve transüretal rezeksiyon materyallerinde uniform yapıda tümör hücrelerinin oluşturduğu, arada tübül yapıları içerebilen yuvalanmalar izlenebilmektedir. Hücre yuvaları arada az miktarda stroma bırakarak, birbirlerine yakın yerleşim göstermektedirler. Bazı hücrelerde pleomorfizm ve nükleol belirginliği izlenebilmektedir. Lezyona eşlik eden papiller bir tümör veya karsinoma in situ alanların bulunması nadirdir. Tümörün derin kısımlarına gelindiğinde belirgin sitolojik atipinin eşlik ettiği infiltratif patern gözlenmektedir. Kas invazyonu gelişimi siktir ve klinik olarak agresiv seyreden tümörlerdir (1, 12, 13).

Mikrokistik Varyant

1-2 mm çapında, yuvarlak-oval şekilde, nekrotik materyal ya da soluk pembe sekresyonla dolu kistlerden oluşmaktadır. Kistlerin döşeyici epiteli yoktur ya da düzleşmiş üroepitelyal hücreler ile döşelidir. Mikrokistik varyantın prognostik önemi yoktur (1, 12, 13).

Mikropapiller Varyant

Ürotelyal karsinomların % 0,6-1'ini oluşturan bu varyant erkeklerde 5 kat fazla görülmektedir. Tanı sırasında % 95'inde kas invazyonu saptanmaktadır. Olguların % 50'sinden fazlasında karsinoma in situ alanları bulunmaktadır. Tümörün yüzeysel ve invaziv alanları farklı yapısal özellikler göstermektedir. Yüzeysel kısımlarda fibrovasküler bir sap içermeyen filiform uzantılar şeklinde mikropapiller patern izlenirken, invaziv ve metastatik odaklarda küçük hücre yuvalanmaları dikkati çekmektedir. İnvaziv ve metastatik odaklardaki tümör hücrelerinin vasküler invazyonu andıran laküner boşluklar içinde gözlenmesi invaziv mikropapiller karsinomun son derece karakteristik bir bulgusudur. Tümör hücrelerini çevreleyen bu boşluklar endotel benzeri yassılaştırmış içi hücrelerle döşeli olabilir. Bu tümörler yüksek dereceli ve ileri evre tümörler olup sıklıkla vasküler invazyon göstermektedirler (1, 12, 13).

Lenfoepitelyoma Benzeri Karsinom

Bazı araştırmacılar tarafından "indiferansiye karsinom" adı altında tanımlanmaktadır ve mesane kanserinin agresiv bir varyantı şeklinde kabul edilmektedir. Epstein-Barr virus (EBV) ile ilişkisi gösterilememiştir. İmmunfenotipik bulgular ürotelyumdan köken aldıkları görüşünü desteklemektedir. Büyük çoğunluğunda tanı konduğunda kas invazyonu mevcuttur. İnvaziv özelliklerine karşın metastaz riski düşüktür. Histopatolojik olarak iri, veziküler nükleuslu, belirgin nükleollü tümör hücrelerinin oluşturduğu hücre kordonları ve sinsisyal yapılardan meydana gelmektedir. Çok sayıda mitoz izlenebilir. Tanı için koşul olan bulgu yaygın lenfositik infiltrasyondur. Lenfositler yanı sıra plazma hücreleri ve eozinofillere de rastlanabilmektedir. Klasik ürotelyal karsinoma eşlik eden fokal lenfoepitelyoma benzeri karsinomlarda prognozu ürotelyal karsinomun derecesi ve evresi belirler. Multiajan kemoterapiye ileri derecede duyarlı tümörlerdir (1, 12).

Lenfoma Benzeri ve Plazmasitoid Varyant

Ürotelyal karsinomunun lenfoma benzeri ve plazmositoid varyantında malign hücreler lenfoma veya plazmasitomun malign hücrelerini andırırlar. Bu varyantın hücresel özellikleri gevşek veya miksoid stromada tek malign hücrelerin varlığı ile karakterizedir. Tümör hücreleri berrak veya eozinofilik sitoplazmalı olup büyük ekzantrik hiperkromatik nükleuslu ve küçük nükleolusludur. Hemen hemen tüm olgularda yüksek dereceli ürotelyal karsinom tanımlanmaktadır (1, 12, 13).

Sarkomatoid Varyant (heterolog elemanlarla birlikte veya değil)

Ürotelyal karsinoma sarkomatoid varyantı histolojik veya immunhistokimyasal olarak epitelyal ve mezenkimal diferansiyasyon gösteren tüm bifazik tümörler için kullanılmalıdır (heterolog elemanların varlığı veya yokluğu belirtilerek). Daha önceki karsinomlara uygulanan radyoterapi ve siklofosamid tedavisi sonrası yaygın olarak gözlenmektedir. Makroskobik olarak sarkom benzeri infiltratif görünüm karakteristiktir. Mikroskobik olarak sarkomatoid karsinoma değişik derecelerde ürotelyal, glandüler ve küçük hücreli karsinom komponentleri eşlik etmektedir. Küçük bir alt grupta belirgin miksoid stroma bulunur. Mezenkimal komponent sıklıkla indifferansiye işsi hücreli neoplazmdir. En yaygın heterolog komponent osteosarkom olup kondrosarkom, rabdomyosarkom, leiomyosarkom, liposarkom, anjiosarkom da gözlenebilmektedir (1, 12).

Osteoklast Türü Dev Hücreler İçeren Ürotelyal Karsinom

Seyrek olarak yüksek dereceli ürotelyal karsinomlar stromal orijinli osteoklast türü dev hücreler içerebilir. Bu elementler belirgin olduğunda “osteoklast türü dev hücreli karsinom” olarak tanımlanmaktadır (1, 12, 13).

Trofoblastik Diferansiyasyon Gösteren Ürotelyal Karsinomlar

Yüksek dereceli ürotelyal karsinomlar sıklıkla beta-Human Chorionic Gonadotropin (b-HCG) ve diğer plasental glikoproteinleri üretebilirler. Bu hormon sekretuar granüllerde depolanmadığı için doku lokalizasyonu oldukça seyrek (1, 12).

İndifferansiye Karsinom

Bu kategoriye diğer grupların içine girmeyen tümörler alınmaktadır ve oldukça nadir gözlenmektedir (1).

ÜROTELYAL KARSİNOMDA DERECELENDİRME

Mesane ürotelyal lezyonları için birçok sınıflama yapılmıştır. 1920’de Broders, 1940’da Ash, 1960’da Mostofi, 1966’de Bergkvist, 1973’de WHO, 1986’de Malmstrom tarafından sınıflamalar yapılmıştır (14). Bunlardan en çok kullanılanı WHO 1973 sistemidir. 1998’de World Health Organization and The International Society of Urological Pathology (WHO/ISUP) sınıflaması adı altında yeni bir sınıflama önerilmiştir, 2003’de de revize edilmiştir (15,16). WHO 1973 ve WHO/ISUP sınıflaması karşılaştırıldığında, tekrarlanabilirlik ve gözlemciler arasındaki uyum açısından her iki derecelendirmede benzer sonuçlar elde edilmiştir (17). WHO 1973 sınıflaması yaygın ve uzun süreli kullanılmasına karşılık

morfolojik tanımlamalarda sınırlı kalmıştır (18). WHO/ISUP 1998 sınıflamasında ise ürotelyal tümörlerin derecelendirilmesindeki morfolojik kriterler ayrıntısıyla tanımlanmıştır (15).

Günümüzde yaygın olarak WHO/ISUP 1998 sınıflaması kullanılmaktadır. WHO/ISUP 1998 sınıflaması Tablo 2’de verilmektedir (15).

Ürotelyal tümörlerde nükleer anaplazi ve yapısal bozukluklara bakarak derecelendirme yapılmaktadır. İnvaziv tümörlerin düşük ve yüksek dereceli tip olarak derecelendirilebileceği WHO-ISUP tarafından belirtilmektedir (15). Ürotelyal karsinom derecelendirilmesinin prognostik önemi vardır (18). Ancak gözlemciler arası farklılıklar olabileceği için prognozu belirlemede onkogen ekspresyonu gibi birçok bağımsız parametre ile karşılaştırma yapılmalıdır.

Tablo 2: WHO/ISUP’un önerdiği ürotelyal lezyonların sınıflaması

1-Normal
2-Hiperplazi -Flat hiperplazi -Papiller hiperplazi
3-Atipili flat lezyonlar -Reaktif atipi -Önemi bilinmeyen atipi -Displazi -Karsinoma in situ
4-Papiller neoplazi -Papillom -Düşük malign potansiyelli papiller ürotelyal neoplazi (PUNLMP) -Papiller karsinom, düşük dereceli -Papiller karsinom, yüksek dereceli

Flat Ürotelyal Hiperplazi: Sitolojik atipi olmaksızın mukozanın belirgin olarak kalınlaşmasıdır. Bu lezyon düşük dereceli papiller ürotelyal neoplazilere komşu olabilir. Flat hiperplazinin premalign potansiyeli olduğunu gösteren veri bulunmamaktadır (1, 15, 16, 18).

Papiller Ürotelyal Hiperplazi: Lezyon asemptomatik olup genellikle rutin takip sistoskopilerinde saptanır. Değişen kalınlıklarda ve hafif bir ondulasyon gösteren ürotelyum ile karakterizedir. Lezyonun tabanında sıklıkla bir ya da birkaç adet dilate kapiller damar bulunur. Ürotelyal neoplazilerin tersine bu lezyonların belirgin bir fibrovasküler çatısı yoktur. Papiller ürotelyal hiperplazi ile papiller ürotelyal neoplaziler arasındaki ilişki tartışmalıdır. Papiller ürotelyal hiperplazinin önceden ya da eşlik eden papiller ürotelyal neoplazi öyküsü ile olan birlikteliği nedeniyle, papiller ürotelyal hiperplazi ile papiller ürotelyal neoplazi arasında ilişki olduğu düşünülmektedir (1, 15, 16, 18).

Reaktif Atipi: Reaktif atipide, nükleuslar uniform olarak büyümüş veziküle görünümde olup santral yerleşimli nükleol içerirler. Mitoz artmış olabilir, ancak bazalde ve orta düzeylerde bulunur. Atipik mitoz görülmez. Yapısal olarak polarite korunmuştur. İntraürotelyal akut veya kronik inflamasyon sıklıkla saptanır. Klinik olarak genelde taş, kateterizasyon ya da tedavi öyküsü vardır (1, 15, 16, 18).

Önemi Bilinmeyen Atipi: Neoplastik-reaktif atipi ayrımı yapılamayan bazı vakalar bulunmaktadır. İnflamasyona sekonder görülen değişikliklere göre daha belirgin pleomorfizm ve hiperkromazi izlenir. Ancak displazi için yeterli bulgular gözlenmez (1,15).

Displazi: Neoplastik olduğu düşünülen sitolojik ve yapısal anormalliği olan lezyonlar olarak tanımlanır. Ancak karsinoma in situ için yeterli kriterleri içermez. İnflamasyon olmadan ya da inflamasyon miktarı ile oransız olarak ürotelyumda görülen, belirgin ancak şiddetli olmayan nükleer anormalliklerdir. Displazide mukozanın kalınlığı genellikle normaldir. Polarite kaybı, nükleer atipi, sitoplazmik eozinofili artışı, nükleer membran düzensizliği, nükleomegali, kromatin dağılımında düzensizlik bulunur. Nükleol genellikle belirgin değildir, mitoz değişken olup genellikle üst kısımlarda görülmez. Lamina propriada inflamasyon görülebilir. Tanımlama kriterlerinin yeterli olmaması nedeniyle displazinin doğası tam olarak anlaşılammıştır. Bununla birlikte displazinin invaziv karsinom prekürsörü olabileceğini gösteren bulgular vardır. Displastik lezyonlar tipik olarak ürotelyal neoplazili hastalarda sık görülür (1, 15, 16, 18).

Karsinoma İn Situ: Ürotelyumda karsinomun sitolojik özelliklerinden ayırt edilemeyen flat non-invaziv neoplastik değişikliklere verilen isimdir. Lezyon epitel kalınlığının tamamını ya

da bir kısmın tutan, büyük, düzensiz, hiperkromatik nükleuslu hücrelerin bulunmasıyla karakterizedir. Karsinoma in situ'nun morfolojik tanısı şiddetli sitolojik atipinin (nükleer anaplazi) bulunmasını gerektirir. Hücrelerde belirgin disorganizasyon ve buna eşlik eden polarite ve kohezyon kaybının bulunması karakteristiktir. Tümör hücreleri pleomorfik, büyük ve bol eozinofilik sitoplazmalıdır. Kaba ve granüler bir kromatin yapısına sahiptirler. Nükleol belirgin, büyük ve genelde birden fazladır. Mitozlar atipik olup genellikle ürotelyumun üst tabakalarında görülür (1, 15, 16 18).

Papillom: WHO/ISUP sınıflamasına göre papillomlar normal ürotelyal epitelle döşeli papiller oluşumlardır. Genellikle küçük çaplı, tek lezyonlar şeklinde karşımıza çıkmaktadırlar. Papillomların çoğu ekzofitik gelişim gösteren, fibrovasküler bir sap etrafında minimal dallanmalar yapabilen basit papiller çatıya sahip oluşumlardır. Yüzeysel hücrelerde nükleer irileşme, geniş eozinofilik sitoplazma, sitoplazmik vakuolizasyon ve dejeneratif nükleer atipi şeklinde farklı görünümeler ortaya çıkabilmektedir. Yüzeysel hücrelerde görülebilen bu tür değişiklikler dışında ürotelyal hücrelerde atipi ve mitoz görülmemektedir (1, 15, 16, 18).

Düşük Malign Potansiyelli Papiller Ürotelyal Neoplazi (PUNLMP): Sitolojik düzeyde malignite bulguları göstermemekle birlikte ürotelyumda belirgin kalınlaşma ile karakterli lezyonlardır. Ürotelyumdaki kalınlaşmaya eşlik eden yapısal bir bozukluk görülmemektedir. Normal ürotelyum ile karşılaştırıldığında sadece nükleuslarda hafif bir irileşme ve sayıca artış gözlenmektedir. Mitoz son derece nadirdir ve sadece bazal tabakada sınırlıdır (1, 15, 16, 18).

Düşük Dereceli Ürotelyal Karsinom: Hafif yapısal ve sitolojik farklılaşmalar göstermektedirler. Gözlenen sitolojik atipi bulguları polaritede düzensizlik, nükleer boyut ve şekil farklılaşmaları, kromatin dağılımında düzensizlik şeklinde izlenmektedir. Bununla birlikte tanımlanan bu atipik değişiklikler minimal düzeydedir. Mitoz nadir olarak gözlenmektedir. Mitotik hücreler ürotelyumun herhangi bir seviyesinde görülebileceği gibi sıklıkla alt yarıda lokalizedirler (1, 15, 16, 18).

Yüksek Dereceli Ürotelyal Karsinom: Belirgin yapısal ve sitolojik anormalliklerle karakterli tümörlerdir. Hücresel pleomorfizm orta derecede veya çok şiddetli olabilmektedir. Kromatin kabalaşması ve nükleol belirginliği bulunmaktadır. Tipik ve atipik mitozlar ürotelyumun her seviyesinde sıklıkla izlenebilmektedir (1, 15, 16, 18).

ÜROTELYAL KARSİNOMUN EVRELEMESİ (TNM 2004)

Mesane ürotelyal karsinomlarının evrelendirilmesinde TNM evrelemesi kullanılmaktadır. TNM evrelemesi Tablo 3'de verilmektedir (19).

Tablo 3: Ürotelyal Karsinomun Evrelemesi (TNM 2004)

<p><u>T-Primer tümör</u></p> <p>TX: Primer tümör değerlendirilemedi</p> <p>T0: Primer tümör bulgusu yok</p> <p>Ta Noninvaziv papiller karsinom</p> <p>Tis: Karsinoma in situ:”flat tümör”</p> <p>T1: Subepitelyal bağ dokuda tümör var</p> <p>T2: Kas invazyonu var</p> <p>T2a:Yüzeysel kas invazyonu (iç yarı)</p> <p>T2b: Derin kas invazyonu (dış yarı)</p> <p>T3: Perivezikal yağ doku invazyonu var</p> <p>T3a: Mikroskopik</p> <p>T3b: Makroskopik</p> <p>T4: Prostat, uterus, vajina, pelvik duvar, abdominal duvar yapılarından herhangi birine invazyon</p> <p>T4a: Prostat, uterus ya da vajina invazyonu</p> <p>T4b: Pelvik duvar ya da abdominal duvar invazyonu</p>
<p><u>N-Bölgesel lenf nodları</u></p> <p>Nx: Bölgesel lenf nodu değerlendirilemedi</p> <p>N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok</p> <p>N1: 2 cm ya da daha küçük tek lenf nodu metastazı var</p> <p>N2: 2-5 cm arası boyutlarda tek lenf nodu ya da 5 cm’den küçük multipl metastaz var</p> <p>N3: Boyutu 5 cm’den büyük lenf nodu metastazları var</p>
<p><u>M-Uzak metastaz</u></p> <p>Mx: Uzak metastaz değerlendirilemedi</p> <p>M0: Uzak metastaz yok</p> <p>M1: Uzak metastaz var.</p>

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

LOKAL YAYILIM VE METASTAZ

Ana tümör kitlesinden uzak alanlardaki tümör erken invaziv karsinom, karsinoma in situ, atipik proliferasyonla ilişkilidir. Moleküler çalışmalarda çoğu multifokal ürotelyal tümörün tek progenitör hücreden türediği gösterilmiştir. Bazı durumlarda bu atipik proliferasyonlar mesaneden üretere ya da renal pelvise yayılabilmektedir. Mesane karsinomu mesane boynu içine, üretraya, prostatik duktusa, seminal veziküle ve daha az sıklıkta üretere uzanır. İnvaziv tümörlerin % 25'inde pelvik zincirde lenf nodu metastazı bulunmaktadır.

Uzak metastaz en sık akciğer, karaciğer, kemik ve santral sinir sistemine olmaktadır (4).

PROGNOSTİK FAKTÖRLER

1-Evre: Mesane kanserinde en önemli prognostik faktördür. Sadece lamina propria invazyonu olan tümörlerde 5 yıllık sağkalım oranı % 75'ten fazla iken, muskularis propria invazyonunda % 40'a, perivezikal yağ doku invazyonunda % 20'ye düşmektedir (10). Ancak pT1 tümörlü hastaların prognozu çok değişken olmaktadır. Bu nedenle pT1 tümörler için alt evrelendirme çalışmaları sürdürülmektedir. İnvazyonun muskularis mukoza üstüne veya altına olması ya da invazyon derinliğinin mikrometrik olarak ölçülmesiyle yapılan alt evrelendirmenin prognostik açıdan yararlı olabileceği yönünde bilgiler bulunmaktadır (20,21). Ancak olguların % 55'inde muskularis mukoza bulunmamaktadır. Mikrometrik ölçüm ise sadece vertikal kesitlerde yapıldığı zaman doğru sonuçlar vermektedir. Bu nedenlerle bu alt evreleme henüz yeni sınıflamalarda yerini almamıştır. WHO/ISUP da alt evrelemeyi önermemektedir (15).

Doğru evreleme hastaların tedavisi açısından da çok önemlidir. Muskularis propriaya invaziv olmayan tümörlerde başlangıç tedavisi transüretal rezeksiyon iken, derecesine bakmaksızın kas invazyonu gösteren tümörlerde en iyi tedavi radikal sistektomidir (10).

2-Derece: Derece evreyle ilişkilidir. Sadece lamina propria invazyonu gösteren tümörler (pT1) yüksek veya düşük dereceli özellikler taşıırken, kas veya daha derine invazyon gösteren tümörler yüksek derecelidir (4). Ancak derece verilen evreden bağımsız bir prognostik göstergedir. Düşük malign potansiyelli papiller ürotelyal neoplazide nüks % 33 oranında gözlenir ve progresyon gözlenmez. Düşük dereceli ürotelyal karsinomlarda nüks % 64 oranında, progresyon ise % 10,5 oranında izlenir. Yüksek dereceli ürotelyal karsinomlarda nüks olguların % 56,4'ünde izlenir ve progresyon riski % 27'dir (10).

3-Yaş: Yaşamın ilk 2 dekatında oluşan az sayıda tümör genelde iyi differansiye ve noninvazivdir (4).

4-Lokalizasyon: Mesane boynundaki tümörler daha kötü prognozludur. Mesane süperior yüzey yerleşimli tümörler yüksek dereceli, ureter orifisi ve lateral duvar yerleşimli tümörler düşük dereceli olma eğilimindedirler (4).

5-Kalan Mesane Mukozasındaki Anormallikler: Esas tümör kitlesinden ayrı displastik değişiklikler, karsinoma in situ veya küçük bağımsız tümörün bulunması yüksek rekürrens oranıyla ilişkilidir (1,4).

6-Vasküler İnvazyon: Artmış rekürrens oranıyla ilişkilidir (1,4).

7-Tümör Kenarı Tipi Ve İnflamatuvar Cevap: Lenfositlerin eşlik ettiği ve itici kenarlı tümörler daha iyi prognozludur (1,4).

8-Tümör Boyutu: Tümör boyutu 3 cm'den büyük olan tümörlerde rekürrens ve progresyon riski daha fazladır (1). Evre 2 tümörler için tümör boyutu metastaz riskinin ve hastalıksız sağ kalımın değerlendirilmesi için en iyi göstergedir (4).

9-Mikrodamar Yoğunluğu: Bağımsız prognostik gösterge olduğu idda edilir ama halen tartışmalıdır (4).

10-Kan Grup Antijenlerinin Durumu: Lewis antijenleri normalde ürotelyal mukozada bulunur ve eksprese edilir, ama tümörlerde azalır ya da kaybolur. Bu azalma immunhistokimyasal olarak değerlendirilebilir. Agresiv gidişle ilişkilidir ve rekürrensin artmasıyla koreledir (4).

11-DNA Ploidi: Bu parametre flow sitometri ya da sitotekniklerle tespit edilir. DNA ploidi ile tümör derecesi ve klinik gidiş arası yüksek korelasyon vardır (4).

12-Hücre Proliferasyonu: Hücre proliferasyon belirleyicileri derece ile koreledir ama evreyle korele değildir. Yüksek mitoz sayısı ya da yüksek S fraksiyonunun bağımsız prognoz göstergesi olduğu gösterilmiştir (4).

13-Kromozomal Aberasyonlar: Karyotipik aberasyonların değişik tipleri progresyon riskinin artmasıyla koreledir (4).

Bu faktörler günümüzde mesane kanserinin prognozunu değerlendirmede önemli bilgiler sağlamaktadır. Fakat yeni yapılan çalışmalarda mesane tümörlerinin prognoz ve klinik seyrini değerlendirmede daha objektif veriler sağlayabileceği düşünülen, hücre siklus ve apoptozis mekanizmaları ilişkili faktörler, tümör süpresör genler, onkogenler, anjiyogenez ilişkili faktörler, ekstrasellüler matriks adezyon molekülleri gibi yeni belirleyiciler üzerinde çalışmalar sürdürülmektedir (5, 6).

Yeni bulunan bir prognostik belirleyicinin rutin kullanıma girebilmesi için standart klinik ve patolojik parametrelerin ötesinde yeni bilgiler sağlaması gereklidir.

NORMAL HÜCRE SIKLUSU

Hücre siklusu G1 (presentez), S (DNA sentezi), G2 (premitotik) ve M (mitotik) evrelerinden oluşur. İstirahat halindeki hücreler G0 fazında kabul edilmekte olup, replikasyon için G1 fazı ve takip eden fazlara geçmeleri gerekmektedir. Hücre siklusu değerlendirildiğinde G1'den S'e geçişin hücre siklusunda en önemli kontrol noktası olduğu kabul edilir (22).

Hücrenin siklus süresince fazdan faza ilerleyişi; siklinler, siklin bağımlı kinazlar (CDK) ve bunların inhibitörleri tarafından kontrol edilmektedir (22, 23, 24). Hücre siklusunu kontrol eden çok sayıda pozitif ve negatif düzenleyiciler vardır, siklinler de bu siklusun pozitif regülatörleri içinde yer almaktadır (22, 25). Siklinler katalitik alt üniteleri olan siklin bağımlı kinaz ile birlikte hücre siklusunda önemli rol oynarlar (22, 23). Siklin-CDK kompleksinin aktivitesini ise negatif regülatör olan CDK inhibitörleri düzenlemektedir. CDK'lar hücre siklusu süresince sürekli olarak inaktif formda sentezlenmekte olup, siklin adı verilen proteinlere bağlandıktan sonra fosforalize olarak aktif formlara dönüşmektedirler. Siklinler CDK'lardan farklı olarak, hücre siklusunun belirli fazlarında sentezlenmekte olup CDK'ları aktive etmektedirler, bu nedenle de düzeyleri hızla artış ve düşüş göstermektedir. Bugüne kadar 15 tane siklin protein tanımlanmıştır. Bu proteinlerden hücre siklusunda sırasıyla sentez edildiği düşünülen siklin D, E, A ve B önemlidir ve bu siklinler bir veya daha fazla sayıda CDK'a bağlanarak onları aktive etmektedirler (22).

Siklin D ve Siklin E

Siklinlerden ilk sentez edilen siklin D olup, G1 fazının ortalarında görülmeye başlanır ve S fazında ortadan kaybolur. Siklin D'nin de D1, D2 ve D3 olmak üzere 3 formu vardır. Fakat genel olarak hepsi birden Siklin D olarak kabul edilirler. G1 fazında Siklin D CDK4 ile birleşerek kompleks oluşturmakta ve bu komplekste retinoblastom proteinini (pRb) aktive hale getirmektedir. Retinoblastom proteininin aktivasyonu hücre siklusunu için bir açma-kapama düğmesi fonksiyonu görmektedir. Retinoblastom proteini aktive olduktan sonra hücre replikasyonunu arttırıcı etki yapmaktadır. SiklinD/CDK kompleksi retinoblastomun fosforilasyonunu gerçekleştirerek DNA sentezi için tetik olan faktörlerin serbestleşmesini sağlamaktadır (22, 23).

Siklin grubunun bir başka üyesi olan siklin E ise G1 fazının sonlarında sentezlenmeye başlayıp, S fazının sonunda kaybolmaktadır (22). Siklin E, CDK2 ile birleşerek yine retinoblastom proteinini fosforilleyerek aktive hale getirmektedir. Hücre siklusunun S fazını geçerek DNA replikasyonunun başlamasına kadar geçen sürecinde siklin E-CDK2 kompleksinin oluşumu büyük rol oynamaktadır (22, 26).

G1-S geçişinde siklin D1 ve siklin E'nin sınırlı rolleri olmakla birlikte bu işlem için sadece siklin E esansiyel olarak gösterilmiştir (27). Ayrıca hücre siklus progresyonunda siklin D1'nin rolü retinoblastom proteinine bağımlı iken siklin E retinoblastom proteini hücrelerde negatif fonksiyon yapabilir (28).

Hücre siklusunda diğ er bir önemli nokta ise G2/M fazları arası geçiştir. Bu geçişte siklin A ile CDK2 arasındaki kompleks önemli rol oynamaktadır. Siklin B-CDK1 kompleksi ise nükleer zarfın yırtılmasını ve mitozun başlamasını tetikler. Mitoz fazından çıkış için siklin B-CDK1 kompleksinin inaktive olması gerekmektedir (22). Bölünmesini tamamlayan hücre ya istirahat fazına geçmekte ya da G1 fazına girerek yeniden replike olmaya başlamaktadır (22, 23).

İn vitro siklin D1 ve siklin E' nin overekspresyonları G1-S geçişini hızlandırır, bu da kısalmış G1 fazı ile sonuçlanır. Bazı kanserlerde görülebilen değışmiş posttranskripsiyonel regülasyon ya da gen amplifikasyonu sonucunda siklin D1 ve siklin E overekspresyonu bulunabilmektedir (29). Bu da değışik karsinomlarda genellikle kötü prognoz ve yüksek dereceyle koreledir (30, 31). Mesanenin ürotelyal karsinomlarında siklin D1 ve siklin E overekspresyonları düşük tümör derece ve evresi ile ilişkili görünmektedir (32, 27).

Hücre Siklus İnhibitörleri

Siklin-CDK kompleksinin aktivitesi CDK inhibitörlerince kontrol edilmektedir. Temel olarak 2 tane CDK inhibitör ailesi vardır; INK4/ARF ve Cip/Kip aileleri. Bu inhibitörler hücre siklusunun negatif regülatörü olup tümör supressör faktörleri olarak fonksiyon görmektedirler. INK4/ARF ailesinin üyeleri p16, p15, p18, p19'dur. Bunlar siklin D'nin CDK4 ve CDK6'ya bağlanmasını inhibe ederler. Cip/Kip ailesinin 3 üyesi bulunmakta olup bunlar p21, p27 ve p57'dir. Bu moleküller siklin E/CDK2, siklin A/CDK2 ve diğ er siklin/CDK komplekslerine bağlanarak onları inaktive etmektedirler (24).

p21 :

p21 normal hücrelerde hücre siklusu regülasyonunda önemli role sahiptir. Birçok Siklin/CDK kompleksini inhibe edebilir ve hücre siklusunun blokajına neden olur. p21, G1 arrestinde önemli bir rolü olan siklin bağımlı kinaz inhibitörüdür. DNA hasarına yanıt olarak p53, p21 ekspresyonunu indükler ve p21 de siklin/CDK kompleksini inhibe eder. Siklin/CDK kompleksinin inhibisyonu sonucunda retinoblastom fosforilasyonu korunur (22,33). Böylelikle p21 hücre siklusunun negatif regülatörü olarak görev yapar (34). DNA hasarına yanıt olarak gelişen p21'in transkripsiyonel aktivasyonu, çok sayıdaki tümörde mutasyona uğradığı saptanmış olan p53 tarafından yapılmaktadır (35). Fakat bazı çalışmalarda hücre siklusu sırasında p53'den bağımsız olarak sitokinlerle (özellikle transforming growth faktör

beta-TGF beta) ve hücre adezyon olaylarına bağlı olarak da p21 düzeylerinin indüklendiği gösterilmiştir (36).

p27:

Hücre siklusunda önemli bir rol oynamakta olup özellikle siklusun G1 fazı ile S fazının bağlantısında önemli yeri olan siklin E-CDK2 kompleksini inhibe etmektedir (29). p27 düzeyinin overekspresyonu hücre siklusunun G1 fazında durmasına neden olmaktadır. İstirahat halindeki hücrelerde yüksek konsantrasyonlarda bulunan p27 düzeyleri, proliferatif stimulus sonrası hızla düşüş göstermektedir (22). Hücre siklusunun negatif bir regülatörü olması nedeniyle p27'nin tümör süpressör özelliği olduğu düşünülmektedir (28). p27 ekspresyonu birçok hücre tipinde TGF-beta ile regüle edilmektedir (37).

Hücre siklusunda önemli olan ve etkilerini başlıca siklin D1 ve siklin E aktivitesini inhibe ederek gösteren p21 ve p27'nin düşük ekspresyonları farklı kanserlerde kötü prognozla ve kısa dönemde rekürrens ile ilişkilidir (38-43).

APOPTOZİS

Doku yaşamının, hücre sel çoğalma ve apoptozis gibi hücre sel mekanizmalar arasındaki sıkı dengeyle devam ettiği bilinmektedir. Apoptozis hem fizyolojik hem de patolojik olarak istenmeyen, hasar görmüş ya da potansiyel olarak tümöral hücrelerin uzaklaştırılmasında başvurulan bir hücre intihar mekanizmasıdır (22). Malign tümörlerde apoptozis mekanizmasının inhibisyonu ya da hasarı tümörün progresyonunu veya metastaz yapmasını hızlandırabilir. Hücrede apoptozisi uyaran çok sayıda fizyolojik ve patolojik uyarının ulaştığı ortak nokta, hücre içinde proteolitik olaylar zincirini başlatmaları ve bunun sonucunda da hücrede birçok esansiyel makromolekülün parçalanmasıyla apoptozis için karakteristik biyokimyasal ve ultrastrüktürel fenotipin ortaya çıkmasıdır. Apoptozis kaspaz enzimlerinin aktive olduğu başlama fazı ve enzimlerin hücre ölümüne neden olduğu ölüm fazı olmak üzere iki bölümde meydana gelmektedir. Apoptozisin başlangıcı ekstrensek (reseptörlerle indüklenen) yol ve intrinsek (mitokondrial) yol olmak üzere iki farklı yolla başlar ve bir noktada birleşir. Bu yollar değişik basamaklarda bağlantılıdır. Apoptozis mekanizmasının gerçekleşmesinde kaspaz olarak bilinen sistein proteazlar rol almaktadır. Protein yıkımını sağlayan proteolitik olaylar zinciri sistein proteazların harekete geçmesiyle başlatılır (22). Ekstrensek yolda Fas (CD95) gibi tümör nekroz reseptör ailesinin, Fas ligand gibi ligandların yüzeyine bağlanmasıyla olaylar zinciri başlar ve sonuçta sırasıyla kaspaz 8, kaspaz 7 ve

kaspaz 3'ün aktivasyonu sonucunda hücre ölümü meydana gelir. İntrensek yol ise ölüm reseptörlerinin rolü olmaksızın mitokondrial permeabilite ve sitoplazma içine proapoptotik moleküllerin salımı sonucu gerçekleşmektedir. Çevresel uyarılara yanıt olarak mitokondriada sitokrom c serbestleşir. Bu aşamada bcl-2 ailesinin birçok üyesi ve bax destekleyici olarak rol almaktadırlar. Sitokrom c apoptotik proteaz aktivasyon faktörü 1 (APAF-1) ve kaspaz 9'u içeren apoptozom formasyonunu tetikler. Kaspaz 9 da kaspaz 7 ile kaspaz 3'ü aktive eder ve hücre ölümü gerçekleşir (22, 44). Kaspaz; 3 Poly ADP-ribose polymerase (PARP) 'ı böler ve DNA fragmentasyonu yapan endonükleazları aktive eder (44). Böylelikle birçok değişik stimulusun yol açtığı terminal proteolitik olaylar hücrede nükleer kondansasyon ve DNA fragmentasyonu ile karakterize apoptotik fenotipi ortaya çıkarır (22).

Survivin

Hücrelerde apoptotik moleküllerin bulunduğu durumlarda aynı zamanda apoptozis inhibitörü genlerin de bulunması apoptozis olayını denge halinde tutmaktadır. Apoptozis inhibitörleri ailesi ilk olarak 1993'te baculovirüs genomunda tanımlanmıştır. 8 üyesi arasında sadece far, sürvivin, melanoma inhibitor of apoptosis protein (ML-IAP) / livin normal dokularla karşılaştırıldığında kanser hücrelerinde farklı eksprese edilmektedirler. Survivin yeni tanımlanmış bir apoptotik protein inhibitörüdür (45). Survivin hücre siklusunun G2-M fazında eksprese edilir (46). Apoptozisin hem intrensek hem ekstrensek yolunun inhibisyonuna neden olmaktadır. Fas (CD95) ve bax'ı içeren farklı apoptotik uyarılar yoluyla etki sağlamaktadır (47). Apoptotik enzimler olan kaspaz 3 ve kaspaz 7 aktivitesini direkt olarak inhibe ettiği düşünülmektedir (48). Antiapoptotik etkisinin yanı sıra hücre siklusunun mitoz fazında da önemli rol oynamaktadır. Hücre siklusu sırasında survivin'in inaktivasyonu spontan hücre ölümüne veya mitozda aşırı bir artışa neden olmaktadır (49).

Bugüne dek survivin-2b, survivin-Ex3 ve survivin-3b olmak üzere 3 farklı survivin alt tipi tanımlanmıştır. Bunlardan survivin-Ex3'ün güçlü anti-apoptotik etkisi olduğu, survivin-2b'nin ise etkisinin çok daha zayıf olduğu saptanmıştır (50). Survivin'in diğer apoptozis inhibitörlerinden ayrılan yönü embriyonal-fetal gelişim boyunca eksprese edilip komplet down regülasyona uğraması ve timus hariç normal erişkin dokusunda bulunmamasıdır. Çok sayıda normal erişkin hücresinde yapılan çalışmalarda anti-apoptotik protein olan survivin saptanamamıştır (45). Hemen hemen tüm kanser türlerinde survivin gen ekspresyonunun artmakta olduğu izlenmiştir. Yapılan çalışmalarda özellikle karaciğer, özofagus, kolorektal kanserler, medülloblastom, larenks skuamöz hücreli karsinom, mesane ürotelyal karsinom ve

nöroblastom olgularında survivin düzeyleri ile kötü prognoz arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (46, 51-58).

MESANE ÜROTELYAL KARSİNOMUNUN TEDAVİSİ

Mesane ürotelyal karsinomun tedavisi hastanın yaşı, yayım, evre, derece, beraberinde displazi ve karsinoma in situunun varlığına bağlı olarak değişmektedir.

Düşük dereceli, kasa invaziv olmayan tümörlerde başlangıç tedavisi transüretral rezeksiyondur. Bazen özellikle multipl ve birden fazla tekrarlayan tümörlerde buna intravezikal kemoterapi veya radyoterapi eklenmektedir. Yüksek dereceli ve derecesine bakmaksızın kasa invaziv tümörler konservatif tedaviye dirençlidir ve en iyi tedavi radikal sistektomidir. Buna preoperatif kemoterapi veya radyoterapi eklenebilmektedir. Bazı merkezlerde sadece radyoterapi verilmektedir. Radyasyon tümörün yüzeysel papiller komponentini oblitere etme eğiliminde olup invaziv komponente etkisi daha az olmaktadır. Erkeklerde radikal sistektomi mesane, prostat, seminal veziküller ve komşu perivezikal dokuyu, kadınlarda ise mesane, uterus, adneksler, anterior vajina ve üretrayı içermektedir. Bazı merkezlerde pelvik lenf nodu diseksiyonu tedaviye eklenmektedir. Radikal sistektomide operatif mortalite düşük olup uzun dönemde nadiren pyelonefrit gelişebilmektedir. Kalan mesanede rekürrens oranının yüksek olması nedeniyle segmental sistektomi önerilmemektedir.

Günümüzde yaygın kullanılan Calmette-Guerin Bacillus (BCG) tümör rekürrensini belirgin olarak azaltmaktadır. Bu tedavi sonucunda yüzeysel mukozal erozyon, submukozal granülomatöz inflamasyon ve reaktif epitelyal atipi oluşmaktadır (4, 10).

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada 1998-2005 yılları arasında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda mesane ürotelyal karsinom tanısı alan 80 hastanın transüretal rezeksiyon materyallerine ait parafin bloklar çalışmaya alındı. Olguların transüretal rezeksiyon materyallerinin hemotoksilen-eozin (HE) boyalı preparatları arşivden çıkarılarak tekrar incelendi. Tüm olguların yaşı, WHO-ISUP 1998 sınıflamasına göre derecesi, 2004 TNM evrelemesi ve klinik gidişi değerlendirildi.

Her olgu için patolojik tanıyı en iyi gösteren doku örneği seçildi. Seçilen doku örneğine ait bloklar Leica RM 2255 mikrotomda 4 µm kalınlığında kesilerek HE ile boyandı. HE boyalı preparatlar Olympus BX50 mikroskopunda değerlendirildi.

İmmunhistokimyasal boyama için parafin bloklardan hazırlanan kesitler poly-L-lysin (MicroSlides Snowcoat X-tra, Surgipath, Richmond, IL, USA) kaplı lamlara alındı. Alınan kesitler deparafinizasyon ve rehidratasyon işlemi sonrası endojen peroksidaz aktivitesinin bloke edilmesi için % 3'lük H₂O₂'de 15 dakika bekletildi. Antikorların nonspesifik bağlanmasının önlemek için protein blokajı uygulandı. Ardından primer antikorlar olan;

Siklin D1: NovoCastra, Newcastle, United Kingdom, kod no:RTU-CYCLIN D1-GH

Siklin E: NovoCastra, Newcastle, United Kingdom, kod no:NCL-CYCLIN E, 1/40 dilüsyonda

P21/WAF: BioGenex, CA, USA, kod no: AM434-5M

P27/Kip1: BioGenex, CA, USA, kod no: AM396-5M

Survivin: Santra Cruz, California, USA, kod no: SC-17779, 1/50 dilüsyonda

ile 1 saat inkübe edildi. Primer antikora bağlanan sekonder antikor ile 15 dakika ve streptavidin-biotin-peroksidaz enzim kompleksi ile 15 dakika inkubasyon işlemleri gerçekleştirildi. Her bir aşamanın bitiminde kesitler phosphate buffer solution (PBS) ile yıkandı. Renklendirici olarak 3,3'-diaminobenzidine (DAB) ile inkübe edilen kesitlere hemotoksilen ile zemin boyaması yapılarak lamelle kapatıldı.

İmmunhistokimyasal boyamada siklin D1 için tonsil dokusu, siklin E için plasenta dokusu, p21 için malign melanom tümörlü doku, p27 için meme dokusu, survivin için memenin invaziv duktal karsinom tümörlü doku kontrol olarak kullanıldı.

İMMUNHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME:

HE boyalı ve immunhistokimyasal boyama uygulanan örneklerin hepsi ışık mikroskobu (Olympus BX50) ile incelendi. Siklin D1, siklin E, p21 ve p27 için nükleer boyanma gösteren hücreler değerlendirildi. Değerlendirmede en az 1000 hücre sayıldı ve pozitif boyanan hücrelerin yüzdesi alındı.

Siklin D1 ve siklin E için % 5'in, p21 ve p27 için % 10'un üzerindeki değerler pozitif kabul edilerek boyanma sonuçları "pozitif" ve "negatif" olarak değerlendirildi (59, 60, 55, 61).

Survivin için ise sitoplazmik boyanma değerlendirildi. En az 1000 hücre sayıldı ve pozitif boyanan hücrelerin yüzdesi ve boyanma yoğunluğu değerlendirildi. % 10'dan az boyanmalar boyanma yok, % 10'a kadar olan boyanmalar 1+, % 10-30 arasındaki boyanmalar 2+, % 30-70 arasındaki boyanmalar 3+, % 70'in üzerindeki boyanmalar 4+ kabul edildi. Boyanma yoğunluklarına göre ise hafif boyananlara 1, orta derecede boyananlara 2, güçlü boyananlara 3 puan verildi. Boyanma yüzdelere verilen puanlar ile boyanma yoğunluklarına verilen puanlar toplanarak elde edilen değerlere göre gruplara ayrıldı. Toplam puanlara göre 1-3 negatif, 4-5 pozitif boyanma, 6-7 kuvvetli pozitif boyanma olarak kabul edildi (62).

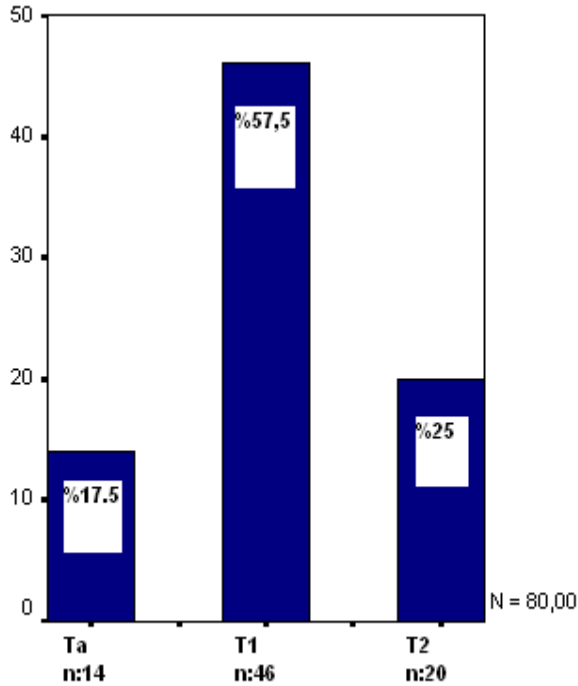
İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME:

Tüm olgularda yaş, cinsiyet, evre, derece, uygulanan siklin D1, siklin E, p21, p27, survivin immunhistokimyasal boyalarının boyanma yüzdeleri ve klinik gidişleri Pearson korelasyon analizi, Fisher χ^2 testi, Kruskal-Wallis varyans analizi, Mann-Whitney U testleri kullanılarak aralarındaki farklılıklar araştırıldı. Yapılan analizde p 0.05'e eşit ve altındaki değerler anlamlı olarak kabul edildi. Araştırmanın verileri SPSS 11,0 Windows paket programı kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

Toplam 80 olgu çalışmaya alındı. Olguların 8'i kadın, 72'si erkekti. Olguların yaşları 41-88 arasında olup ortalama yaş 65,8 idi. Ta evresindeki olguların yaşları 54-86 arasında olup ortalama 68,9, T1 evresindeki olguların yaşları 50-86 arasında olup ortalama 66,4, T2 evresindeki olguların yaşları 41-88 arasında olup ortalama 62,4'dü. DMPÜN'li olguların yaşları 58-86 arasında olup ortalama 69,3, düşük dereceli ürotelyal karsinomlu olguların yaşları 41-88 arasında olup ortalama 65,2, yüksek dereceli ürotelyal karsinomlu olguların yaşları 41-86 arasında olup ortalama 65 idi. Yaş ile evre ve derece değişimi arasında anlamlı korelasyon bulunmadı ($p>0,05$).

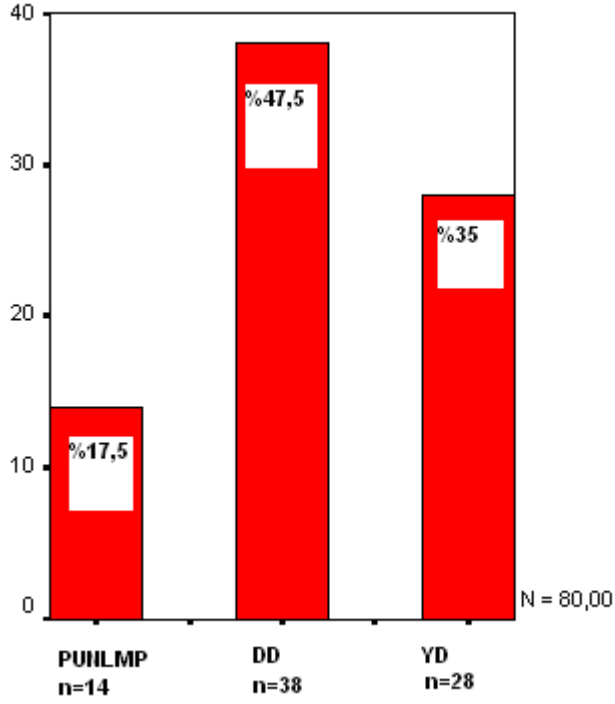
2004 TNM evrelemesine göre olguların 14 tanesi Ta (% 17,5), 46 tanesi T1 (% 57,5), 20 tanesi T2 (% 25,5) evresindeydi (Grafik 1).



Grafik 1 :Lezyonların evrelere göre dağılımı

WHO-ISUP 1998 sınıflamasına göre olguların 14 tanesi düşük malign potansiyelli papiller ürotelyal neoplazi (PUNLMP) (% 17,5), 38 tanesi düşük dereceli ürotelyal karsinom (% 47,5), 28 tanesi yüksek dereceli ürotelyal karsinom (% 35) idi (Grafik 2).

Tümör derecesi ile evre arasında pozitif korelasyon izlendi ($p=0,001$).



Grafik 2: Lezyonların derecelere göre dağılımı

Olguların evre ve derecelere göre dağılımı Tablo 4’de verilmektedir.

Tablo 4: Olguların dağılımı

	Olgu Sayısı (%)
DERECE	
PUNLMP	14 (% 17,5)
Düşük Dereceli Ürotelyal Karsinom(DD)	38 (% 47,5)
Yüksek Dereceli Ürotelyal Karsinom(YD)	28 (% 35)
EVRE	
Ta	14 (% 17,5)
T1	46 (% 57,5)
T2	20 (% 25,5)

Siklin D1: Tüm evrelerde ortalama boyanma yüzdesi % 8,2 bulundu (Resim 1). Ta evresinde 14 olgunun 11'inde (% 78,6), T1 evresinde 46 olgunun 14'ünde (% 30,4), T2 evresinde 20 olgunun 2'sinde (% 10) pozitif boyanma izlendi. Evre ilerledikçe pozitif boyanma yüzdesinin anlamlı şekilde azaldığı saptandı ($p = 0,01$). Boyanma en yüksek Ta evresinde, en düşük T2 evresinde idi. Evrelere göre boyanma yüzdeleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde; Ta evresinde ortalama % 10,3, T1 evresinde ortalama % 8,1, T2 evresinde ortalama % 6,7 boyanma izlendi (Tablo 5).

Tablo 5: Evrelere göre siklin D1 boyanması

	Pozitif boyanan olgu sayısı (%)	Ortalama boyanma yüzdesi
Ta(n=14)	11(% 78,6)	% 10,3
T1(n=46)	14(% 30,4)	% 8,1
T2(n=20)	2(% 10)	% 6,7
Ta-T1 $p=0,02$		
T1-T2 $p=0,03$		
Ta-T2 $p=0,006$		

Derecelere göre boyanma yüzdeleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde PUNLMP'li 14 olgunun 8'inde (% 57,1), düşük dereceli ürotelyal karsinomlu 38 olgunun 12'sinde (% 31,6) ve yüksek dereceli ürotelyal karsinomlu 28 olgunun 7'sinde (% 25) pozitif boyanma izlendi. PUNLMP 'de ortalama % 9,3, düşük dereceli ürotelyal karsinomlarda ortalama % 7,8, yüksek dereceli ürotelyal karsinomlarda ortalama % 8,1 boyanma gözlemlendi. Tümörün derecesi arttıkça siklin D1 boyanmasının azaldığı, ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0,05$).

p21: Tüm evrelerde ortalama boyanma yüzdesi % 14,3 bulundu (Resim 2). Ta evresinde 14 olgunun 2'sinde (% 14,3), T1 evresinde 46 olgunun 29'unda (% 63), T2 evresinde 20 olgunun 4'ünde (% 20) pozitif boyanma izlendi.

Boyanma en yüksek T1 evresinde iken, en düşük T2 evresinde saptandı. Evrelere göre boyanma yüzdeleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde Ta evresinde ortalama % 11,9, T1 evresinde ortalama % 18,9, T2 evresinde ortalama % 8,1 boyanma izlendi. Ta ile T1 arasında ($p>0,05$) anlamlı bir fark gözlenmezken, T1 ile T2 arasında ($p= 0,01$) p21 boyanma düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı bulundu.

Derecelere göre boyanma yüzdeleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde PUNLMP'lerde ortalama % 13,8, düşük dereceli ürotelyal karsinomlarda ortalama % 15,6, yüksek dereceli ürotelyal karsinomlarda ortalama % 12,7 olarak izlendi. PUNLMP'li 14 olgunun 4'ünde (% 28,6), düşük dereceli ürotelyal karsinomda 38 olgunun 17'sinde (% 44,7), yüksek dereceli ürotelyal karsinomda 28 olgunun 14'ünde (% 50) pozitif boyanma izlendi. Derece ile p21 boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Siklin E: Tüm evrelerde ortalama boyanma yüzdesi % 13,5 olarak bulundu (Resim 3). Boyanma en yüksek T2 evresinde iken, en düşük Ta evresinde saptandı. Evrelere göre boyanma yüzdeleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde Ta evresinde ortalama % 2,7, T1 evresinde ortalama % 8,8, T2 evresinde ortalama % 18,1 boyanma izlendi. Evre ile boyanma yüzdesi arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($p>0,05$).

Derecelere göre boyanma yüzdeleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde PUNLMP'de ortalama % 2,5, düşük dereceli ürotelyal karsinomlarda ortalama % 6,8, yüksek dereceli ürotelyal karsinomlarda ortalama % 18,3 olarak izlendi. Derece ile siklin E boyanma arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($p>0,05$).

p27: Tüm evrelerde ortalama boyanma yüzdesi % 5,1 bulundu (Resim 4). Evre Ta'da 14 olgunun 3'ünde (% 21,4), evre T1'de 46 olgunun 13'ünde (% 28,3), evre T2'de 20 olgunun 4'ünde (% 20) pozitif boyanma izlendi. Evrelere göre boyanma yüzdeleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde Ta evresinde ortalama % 0,9, T1 evresinde ortalama % 5,1, T2 evresinde ortalama % 8,1 boyanma izlendi. Evre ile p27 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

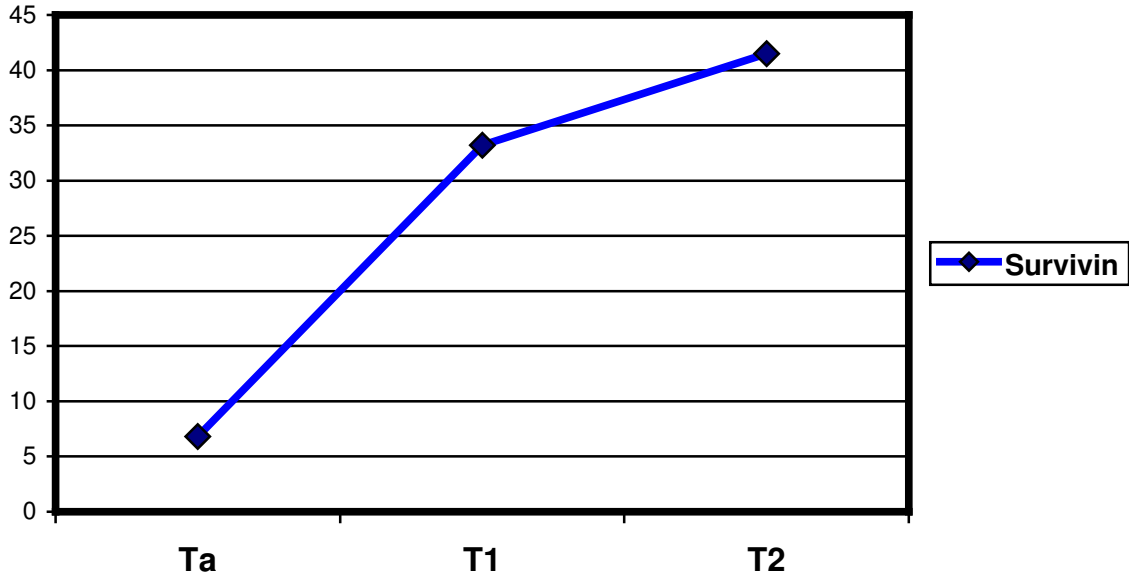
Derecelere göre boyanma yüzdeleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde PUNLMP'lerde ortalama % 1, düşük dereceli ürotelyal karsinomlarda ortalama % 5,3, yüksek dereceli ürotelyal karsinomlarda ortalama % 6,9 olarak izlendi. PUNLMP'li 14 olgunun 4'ünde (% 28,6), düşük dereceli ürotelyal karsinomlu 38 olgunun 9'unda (% 23,7), yüksek dereceli ürotelyal karsinomlu 28 olgunun 7'sinde (% 25) pozitif boyanma izlendi. Derece ile p27 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

Survivin: Tüm evrelerde ortalama boyanma yüzdesi % 30,6 bulundu (Resim 5). Boyanma en düşük Ta evresinde iken, en yüksek T2 evresinde saptandı. Evrelere göre boyanma yüzdeleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde Ta evresinde ortalama % 6,4, T1 evresinde ortalama % 33,2, T2 evresinde ortalama % 41,5 boyanma izlendi (Tablo 6). Evre ilerledikçe survivin boyanma yüzdelerinin anlamlı olarak arttığı bulundu (Grafik 3).

Tablo 6: Evrelere göre survivin boyanma yüzdesi

	Ortalama boyanma yüzdesi
Ta	% 6,42
T1	% 33,2
T2	% 41,5

Ta-T1 p=0,0001
T1-T2 p=0,35



Grafik 3: İmmunhistokimyasal survivin belirleyicisinin evrelere göre değişimi

Survivin değerlendirildiğinde ise; Ta evresinde 14 olgunun 12 tanesinde (% 85,7) negatif boyanma, 2 tanesinde (% 14,3) pozitif boyanma izlendi. Hiçbir olguda güçlü pozitif boyanma saptanmadı. T1 evresinde 46 olgunun 16 tanesinde (% 34,7) negatif boyanma, 22 tanesinde (% 47,8) pozitif boyanma, 8 tanesinde (% 17,4) güçlü pozitif boyanma izlendi. T2 evresinde 20 olgunun 7 tanesinde (% 35) negatif boyanma, 4 tanesinde (% 20) pozitif boyanma, 9 tanesinde (% 45) güçlü pozitif boyanma gözlemlendi. Derecelere göre boyanma yüzdeleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde PUNLMP'lerde ortalama % 15,3, düşük dereceli ürotelyal karsinomlarda ortalama % 27,2, yüksek dereceli ürotelyal karsinomlarda ortalama % 42,8 olarak izlendi (Tablo 7). Tümör derecesinde artışın survivin boyanma yüzdelerinde artış ile pozitif korele olduğu saptandı (p=0,002).

Tablo 7: Derecelere göre survivin boyanma yüzdesi

	Ortalama boyanma yüzdesi
PUNLMP	% 15,3
DD	% 27,2
YD	% 42,8
PUNLMP-DD	p=0,03
DD-YD	p=0,04
PUNLMP-YD	p=0,002

Survivin'in negatif veya pozitif boyanmasının, tümör derecesi ile ilişkisine bakıldığında ise; PUNLMP'li 14 olgunun 11 tanesinde (% 78,6) negatif boyanma, 2 tanesinde (% 14,3) pozitif boyanma, 1 tanesinde (% 7,1) güçlü pozitif boyanma izlendi.

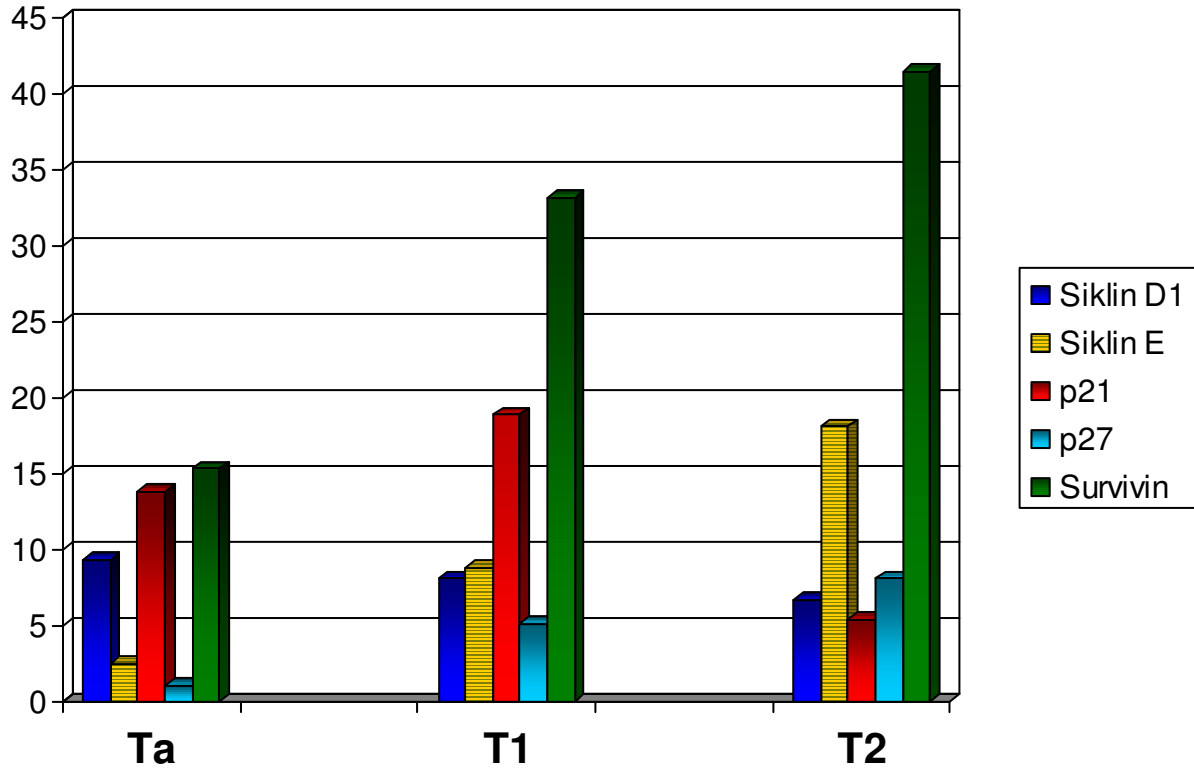
Düşük dereceli ürotelyal karsinomlu 38 olgunun 16 tanesinde (% 42,1) negatif boyanma, 17 tanesinde (% 44,7) pozitif boyanma, 5 tanesinde (% 13,2) güçlü pozitif boyanma izlendi. Yüksek dereceli ürotelyal karsinomlu 28 olgunun 8 tanesinde (% 28,6) negatif boyanma, 9 tanesinde (% 32,1) pozitif boyanma, 11 tanesinde (% 39,3) güçlü pozitif boyanma izlendi. Derece ilerledikçe pozitif boyanmanın anlamlı olarak (p= 0,01) arttığı izlendi.

Evre ve dereceye göre survivin'in negatif, pozitif ve güçlü boyanma oranları Tablo 8'de verilmektedir.

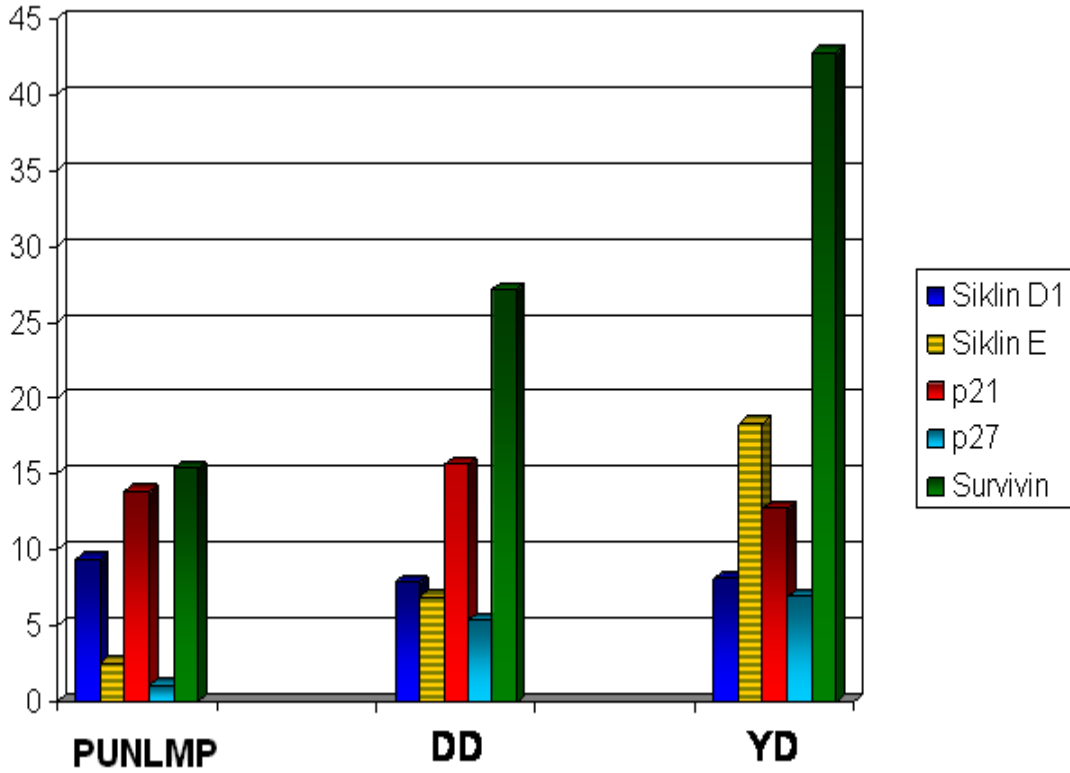
Tablo 8: Evre ve derecelere göre survivin boyanması

	Negatif	Pozitif	Güçlü pozitif
Ta (n=14)	12 (% 85,7)	2 (% 14,3)	-
T1 (n=46)	16 (% 34,7)	22 (% 47,8)	8 (% 17,4)
T2 (n=20)	7 (% 35)	4 (% 20)	9 (% 45)
PUNLMP (n=14)	12 (% 78,6)	2 (% 14,3)	1 (% 7,1)
DD (n=38)	16 (% 42,1)	17 (% 44,7)	5 (% 13,2)
YD (n=28)	8 (% 28,6)	9 (% 32,1)	11 (% 39,3)

Tüm lezyonlarda immunhistokimyasal belirleyicilerin evrelere göre boyanma yüzdeleri Grafik 4'de ve derecelere göre boyanma yüzdeleri Grafik 5'de verilmektedir.



Grafik 4: İmmunhistokimyasal belirleyicilerin evrelere göre boyanma yüzdeleri



Grafik 5: İmmunohistokimyasal belirleyicilerin derecelere göre boyanma yüzdeleri

Klinik: 80 olgunun 61 tanesinin 1-4 yıllık klinik takibi elde edilebildi. Bu 61 olgunun 18'i (% 22,5) hiç nüks yapmazken, 9'unun (% 11,3) 1 kere, 34'ünün (% 42,5) birden fazla nüks yaptığı dikkat çekti. Olgulardan 4 tanesi (% 5) ex oldu. Ex olan hastalardan ikisinin mesane kanseri dışında nedenlerle öldüğü saptandı. Ancak diğer iki ex olan olgunun ölüm nedeni öğrenilemedi.

Nüks etmeyen 18 olgu ile 1 ya da daha fazla nüks eden 43 olguyu karşılaştırdığımızda ; Ta evresindeki olguların 3'ü (% 21,4), T1 evresindeki olguların 15'i (% 32,6) nüks yapmazken T2 evresinde nüks yapmayan olgu yoktu. Ta evresindeki olguların 4'ünün (% 28,6), T1 evresindeki olguların 21'inin (% 45,7), T2 evresindeki olguların 18'inin (% 90) nüks yaptığı saptandı. T1 evresinde Ta evresine göre nüksün daha fazla olduğu dikkat çekti ama istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p= 0,08). T2 evresinde ise nüks oranının anlamlı olarak (p= 0,003) arttığı gözlemlendi.

PUNLMP'li olguların 3'ünün (% 21,4), düşük dereceli ürotelyal karsinomlu olguların 10'unun (% 26,3), yüksek dereceli ürotelyal karsinomlu olguların 5'inin (% 17,9) nüks yapmadığı izlendi.

PUNLMP'li olguların 3'ünün (% 21,4), düşük dereceli ürotelyal karsinomlu olguların 21'inin (% 55,3), yüksek dereceli ürotelyal karsinomlu olguların 19'unun (% 67,9) nüks yaptığı izlendi. Tümörün derecesi arttıkça nüks etme oranının arttığı dikkat çekti. Düşük dereceli karsinomların PUNLMP'lilere göre (p= 0,008) anlamlı şekilde daha fazla nüks ettiği gözlemlendi. Yüksek dereceli karsinomlarda düşük dereceli karsinomlara oranla daha fazla nüks gözlemlendi ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (P= 0,33).

Evre ve derecelere göre olguların nüks oranları Tablo 9'da verilmektedir.

Tablo 9: Evre ve derecelere göre nüks oranı

	NÜKS EDEN	NÜKS ETMEYEN
Ta	3 (% 21,4)	4 (% 28,6)
T1	15 (% 32,6)	21 (% 45,7)
T2	0	18 (% 90)
PUNLMP	3 (% 21,4)	3 (% 21,4)
DD	10 (% 26,3)	21 (% 55,3)
YD	5 (% 17,9)	19 (% 67,9)
Ta-T1 p=0,08		
T1-T2 p=0,003		
Ta-T2 p=0,001		
PUNLMP-DD p=0,008		
DD-YD p=0,33		
PUNLMP-YD p=0,002		

Nüks ile immunhistokimyasal boyanma arasındaki ilişkiye baktığımızda;

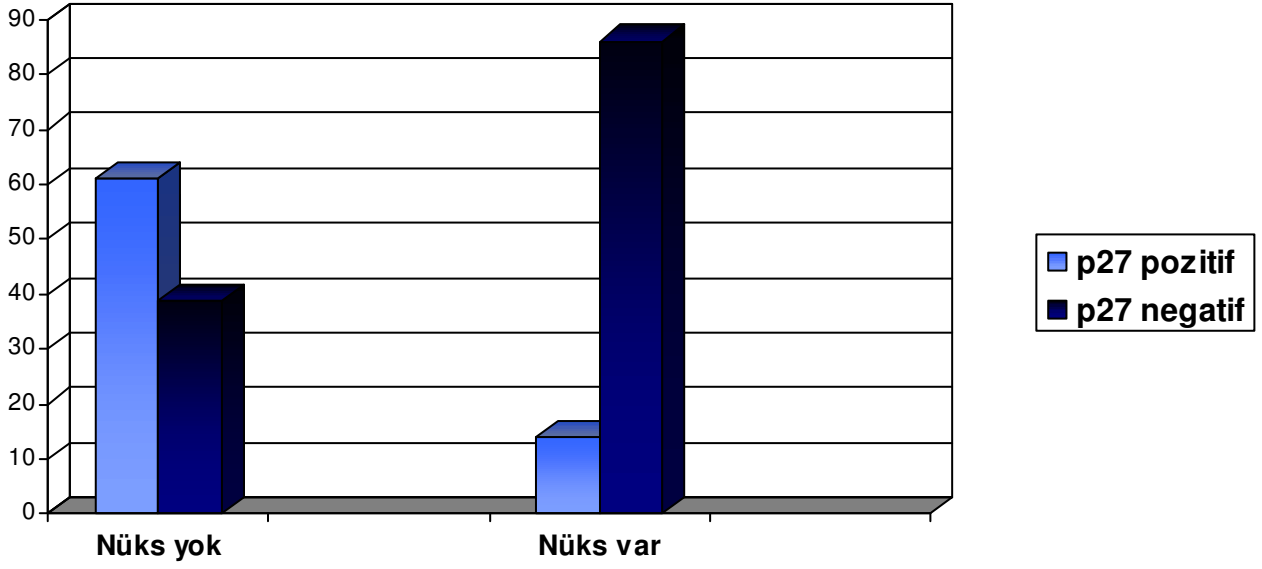
p27 nüks olmayanların 7'sinde (% 38,9) negatif, 11'inde (% 61,1) pozitifken nüks olanların 37'sinde (% 86) negatif, 6'sında (% 14) pozitif (Tablo 10, Grafik 6). Nüks olanlarla olmayanlar arasında p27 boyanma farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p= 0,001).

Nüks ile siklin D1, siklin E, p21 ve survivin arasındaki farklar anlamlı bulunmadı.

Tablo 10: Nüks-p27 ilişkisi

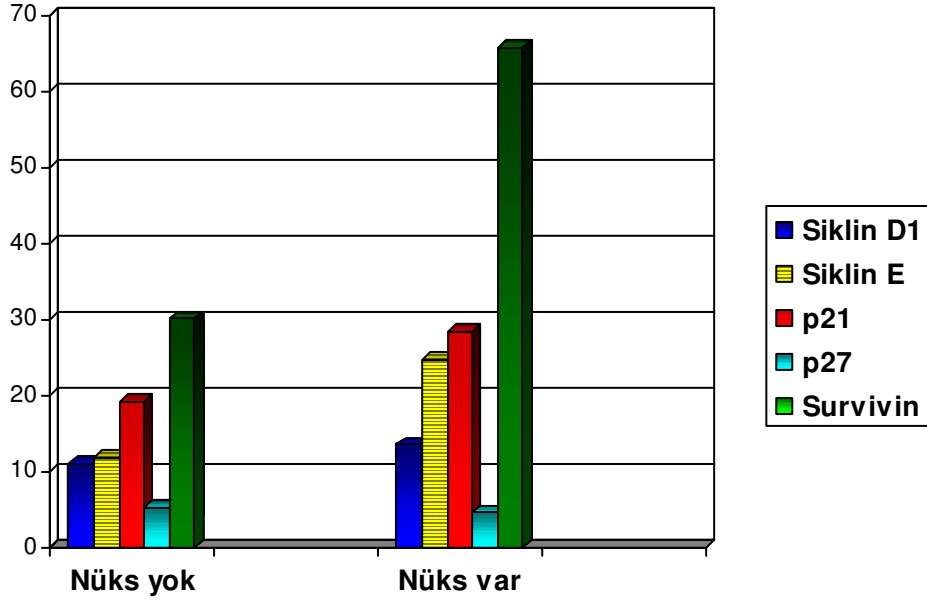
	p27 negatif (%)	p27 pozitif (%)
Nüks yapmayanlar (n=18)	7 (% 38,9)	11 (% 61,1)
Nüks yapanlar (n=43)	37 (% 86)	6 (% 14)

p= 0,001



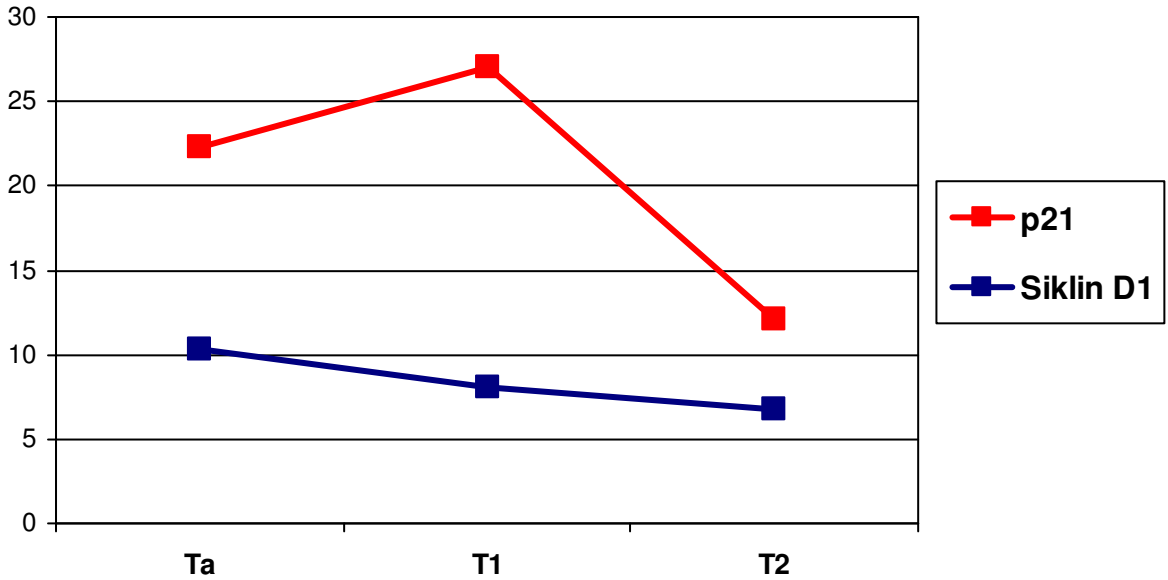
Grafik 6: p27 belirleyicisinin nüks olan ve olmayanlardaki değişimi

Tüm immunhistokimyasal belirleyicilerin nüks durumuna göre değişimi de Grafik 7'de verilmektedir.



Grafik 7: İmmunhistokimyasal belirleyicilerin nüks durumuna göre değişimi

İmmunhistokimyasal belirleyiciler arasındaki ilişki: Tüm belirleyiciler arasındaki ilişkiye bakıldığında evre arttıkça siklin D1 ile p21'in birbiriyle korele olarak azaldığı saptandı (Grafik 8) ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p= 0,004$). Diğer belirleyiciler arasında anlamlı ilişki saptanmadı.



Grafik 8: İmmunhistokimyasal siklin D1 ve p21 belirleyicilerinin evrelere göre değişimi

Tablo 11: Evre-Derece ve Nüks durumuna göre immunhistokimyasal belirleyicilerin ortalama boyanma yüzdeleri

	SİKLİN D1	SİKLİN E	p21	p27	SURVİVİN
EVRE					
Ta (n=14)	% 10,3	% 2,7	% 11,9	% 0,9	% 6,4
T1 (n=46)	% 8,1	% 8,8	% 18,9	% 5,1	% 33,2
T2 (n=20)	% 6,7	% 18,1	% 5,4	% 8,1	% 41,5
DERECE					
PUNLMP (n=14)	% 9,3	% 2,5	% 13,8	% 1	% 15,3
DD (n=38)	% 7,8	% 6,8	% 15,6	% 5,3	% 27,2
YD(n=28)	% 8,1	% 18,3	% 12,7	% 6,9	% 42,8
NÜKS					
Yok	% 11	% 11,8	% 19,2	% 5,2	% 30,2
1 NÜKS	% 5,4	% 13,7	% 14	% 1,8	% 31,6
1>NÜKS	% 8,2	% 11	% 14,4	% 2,8	% 34,2

TARTIŞMA

Mesane kanserinin prognozunu değerlendirmede bilinen konvansiyonel prognostik faktörler önemli bilgiler sağlamaktadır. Fakat son yıllarda mesane tümörlerinin prognoz ve klinik seyri değerlendirilmede daha objektif veriler sağlayabileceği düşünülen, hücre siklusu ve apoptozis mekanizmaları ile ilişkili yeni belirleyiciler üzerinde çalışılmaktadır (5).

Konvansiyonel prognostik faktörlerden evre mesane kanserinde en önemli prognostik faktördür. Sadece lamina propria invazyonu olan tümörlerde 5 yıllık yaşam % 75'ten fazla iken, muskularis propria invazyonunda % 40'a, perivezikal yağ doku invazyonunda % 20'ye düşmektedir (10). Derece de genellikle evreyle ilişkilidir. Ancak derece, verilen evreden bağımsız bir prognostik göstergedir (4). Düşük dereceli ürotelyal karsinomlarda nüks % 64 oranında, progresyon % 10,5 iken yüksek dereceli ürotelyal karsinomlarda nüks olguların % 56,4'ünde izlenir ve progresyon riski % 27'dir (10).

Çalışmamızda T1 evresinde Ta evresine göre nüksün daha fazla olduğu izlenmiş ama istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Genel bilgilerle uyumlu olarak T2 evresinde ise nüks oranının anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir. Düşük dereceli karsinomların PUNLMP'lilere göre anlamlı şekilde daha fazla nüks yaptığı saptanmıştır. Yüksek dereceli karsinomların da düşük dereceli karsinoma göre daha fazla nüks yaptığı gözlenmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Hücre siklusu G1 (presentetik), S (DNA sentezi), G2 (premitotik) ve M (mitotik) evrelerden oluşur. G1'den S'e geçişin hücre siklusunda en önemli kontrol noktası olduğuna inanılır (22). Hücrenin siklus süresince fazdan faza ilerleyişi siklinler, siklin bağımlı kinazlar (CDK) ve bunların inhibitörleri tarafından kontrol edilmektedir (22, 23, 24). Siklinler bu siklusun pozitif regülatörleri içinde yer almaktadır (22, 25). Siklinler katalitik alt üniteleri olan siklin bağımlı kinaz (CDK) ile birlikte hücre siklusunda önemli rol oynarlar (22,24). Siklin-CDK kompleksinin aktivitesini ise negatif regülatör olan CDK inhibitörleri düzenlemektedir (22). Hücre siklus regülasyonunun bozulması, malign tümörlerin gelişiminde ve progresyonunda anahtar rol oynamaktadır (29). Normal dokularda siklinler hücre siklusunun pozitif regülatörüdür ve hücre proliferasyonu ile ilişkilidir (25). Ancak tümörlerde ekspresyonları tümörün proliferasyon durumuna bağlı olarak deregüleyiciye uğrar (23, 30). Siklin D1 overekspresyonu karaciğer, meme, akciğer, baş-boyun tümörlerini içeren birçok tümörde izlenmektedir (63-67). Son çalışmalarda

mesane ürotelyal karsinomlarında da siklin D1 overekspresyonunun bulunduğu ve birçok çalışmada bunun düşük derece ve düşük evre ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (28, 32, 59, 68, 69, 70).

Bizim çalışmamızda da siklin D1'in düşük evrelerde daha yüksek oranda eksprese edildiği ve evre artıkça ekspresyonunun anlamlı şekilde azaldığı izlenmiştir. Ancak siklin D1'in derece ve nüks ile bir ilişkisi gözlenmemiştir. Diğer siklus proteinleriyle ilişkisi değerlendirildiğinde ise evre artıkça siklin D1'in p21 ile korele olarak azaldığı saptanırken, diğer siklus proteinleri olan siklin E ve p27 ile ilişkili olmadığı izlenmiştir. Ayrıca siklin D1'in survivin ile de ilişkili olmadığı saptanmıştır. Evre ilerledikçe siklin D1 ekspresyonunun azalması, siklin D1'in mesane kanseri progresyonunda etkili bir protein olduğunu ve invazivlik düzeyi için bir göstere olabileceğini düşündürmüştür. Tümördeki düşük siklin D1 ekspresyonu, tümörün ileri evre tümörler gibi kötü gidişli olabileceğinin göstergesi olabilir.

Yapılan bazı çalışmalarda ise siklin D1 ile evre ve derece arasında herhangi bir ilişki gösterilememiş, ancak yüksek siklin D1 ekspresyonuna sahip hastaların uzun hastalıklı sürviye sahip oldukları ve düşük siklin D1 ekspresyonuna sahip olanlarda rekürrens daha fazla olduğu bildirilmiştir (69). Ayrıca siklin D1 immunoreaktivitesinin hiçbir patolojik karakteristik ve klinik parametre ile ilişkili olmadığını belirten çalışmalar da bulunmaktadır. Bunlardan birinde düşük siklin D1 ekspresyonunun değişmiş siklin E, retinoblastom proteini, p21 ekspresyonları ile anlamlı şekilde ilişkili olduğu saptanmış ve siklin D1'in mesane kanseri gelişiminde multipl değişimlerde önemli olabileceği ama prognostik öneminin net olmadığı belirtilmiştir (27).

Hücre siklusu ilişkili genler değişikliğe uğradığında neoplastik transformasyona neden olabilmektedirler. Bunlardan biri olan siklin D1, neoplazmların çoğu için onkogen gibi rol oynamaktadır (23). Bunun genellikle mRNA'nın artmış ekspresyonu ve amplifikasyon ile olduğu söylenmektedir (71). Ama amplifikasyon olmadığı tümörlerde de siklin D1 overekspresyonunun bulunması başka yollarla da etkili olabileceğini düşündürmektedir (72). Kemirgen fibroblastlarında siklin D1 overekspresyonunun hücre siklusunu kısalttığı gösterilmiştir (73). Son çalışmalarda da meme kanseri hücrelerinde ekzojen siklin D1'in yüksek ekspresyonunun meme kanser hücrelerinin büyümesini arttırmaktan ziyade inhibe ettiği saptanmıştır. Bunlar da hücre siklusunda siklin D1'in çift etkili rolünün olduğunu desteklemektedir (74).

Bu çalışmada da olduğu gibi düşük evrelerde ileri evrelere göre daha yüksek ekspresyonun olması, siklin D1 ekspresyonunun artmasının hücre büyümesinden ziyade hücre büyümesinin inhibisyonuna neden olduğunu düşündürmektedir. Siklin D1 ekspresyonunda orta derecede artma hücre büyümesine, yüksek derecede artma ise inhibitör etkiye sahip olabilmektedir (69).

Diğer önemli bir siklus proteini ise siklin E'dir. Hücre siklusunda G1-S geçişi kısıtlama noktası denilen geriye dönüşümsüz noktalarla regüle edilir ve bu kısıtlama noktasında baskın regülatör proteini olan Siklin E'nin değişmesi de karsinogenezisi önemli şekilde etkilemektedir. Siklin E regüle eden sinyal iletim yolunun bozulması, proteolizisin kesilmesi gibi birçok mekanizma siklin E'nin deregülasyonuna neden olabilir (27).

Mikroarray doku yöntemini kullanarak yapılan bir çalışmada mesane kanserini de içeren 128 farklı tümör tipinde siklin E ekspresyonu saptanmıştır (75). Yine mikroarray doku yöntemini de kullanarak 226 mesane kanserli hastanın sistektomi materyali ile yapılan bir çalışmada ise siklin E'nin azalmış ekspresyonun ileri evre, lenfovasküler invazyon, bölgesel lenf nodu metastazı, mesane kanserine bağlı mortalite ile ilişkili bulunmuştur (29). Kas dokusuna invaziv olmayan mesane kanserlerinden kasa invaziv olanlara geçişte (76), yine benzer şekilde evre arttıkça siklin E ekspresyonunu azaldığını ve kötü sürvi ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (26).

Bizim çalışmamızda siklin E ile tümör evresi ve derecesi arasında ilişki izlenmemiştir. Nüks olan ve olmayanlar arasında da siklin E ile anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bu da bize siklin E'nin mesane kanseri progresyonunda ve prognozunu belirlemede tek başına yeterli bir belirleyici olmadığını düşündürmüştür.

Hücre siklusunun diğer regülatörleri hücre siklusu inhibitörleridir. CDK inhibitörleri, siklin-CDK kompleksinin aktivitesini baskılamaktadırlar. Bu inhibitörler hücre siklusunun negatif regülatörleri olup, tümör supressör faktörleri olarak fonksiyon görmektedirler. Bunlardan p21 birçok Siklin/CDK kompleksini inhibe edebilir ve hücre siklusunun blokajına neden olur (22). p21 de siklin D/CDK kompleksini inhibe etmekte ve retinoblastom proteininin fosforilasyonu korunmaktadır (77). Böylelikle p21 hücre siklusunun negatif regülatörü olarak görev yapmaktadır (34). DNA hasarına yanıt olarak gelişen p21'in transkripsiyonel aktivasyonu, çok sayıdaki tümörde mutasyona uğradığı saptanmış olan p53 tarafından yapılmaktadır (35). Fakat bazı çalışmalarda hücre siklusu

sırasında p53'den bağımsız olarak sitokinlerle (özellikle TGF-beta) ve hücre adezyon olaylarına bağlı olarak da p21 düzeylerinin indüklendiği gösterilmiştir (36).

p21'in düşük ekspresyonları farklı kanserlerde kötü prognozla ve kısa dönemde rekürrens yapmayla ilişkilidir. p21'in azalmış ekspresyonları serviks, küçük hücreli dışı akciğer karsinomları, özofagus, mide, meme tümörlerinde gösterilmiş ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (38, 39, 78, 79).

Bizim çalışmamızda T2 evresinde T1 evresine göre p21 ekspresyonunun anlamlı olarak azaldığı izlenmiş, derece ve nüks ile p21 arasında ilişki saptanmamıştır. Ayrıca siklin D1 ile p21'in evre ilerledikçe korele bir şekilde azaldığı saptanmıştır. Bu da bize p21'in mesane kanserinde özellikle kas invaziv evreye geçişte p21 kaybının etkili olduğunu ve bu etkisini daha çok siklin D1'i etkileyerek yaptığını düşündürmüştür. Ayrıca tümördeki düşük siklin D1 ve p21 ekspresyonunun beraberliği, tümörün kas invaziv tümörler gibi kötü gidiş göstergesi olabilir.

İki ayrı çalışmada bizim sonuçlarımıza benzer şekilde p21 ekspresyonun ileri evrelerde azaldığı ama derece ile bir ilişkisinin olmadığı saptanmıştır (35, 80). Ayrıca her iki çalışmada p21 pozitif tümörlerde p21 negatif tümörlere göre rekürrensin anlamlı olarak azaldığı, sürvinin daha iyi olduğu ve p21'in prognostik bir belirteç olabileceği gösterilmiştir. Bir başka çalışmada yine benzer şekilde noninvaziv tümörlerle invaziv tümörler karşılaştırıldıklarında, invaziv tümörlerde p21, p27 ve p16'nın ekspresyonlarının azaldıkları izlenmiştir (81). 96 hastanın alındığı bir başka çalışmada da p21 ve p53 ekspresyonları incelenmiş ve p21 düzeylerinin sürvi ile korele olduğu ve yararlı bir prognostik belirleyici olduğu saptanmıştır (77).

Diğer hücre siklus inhibitörü olan p27 ise G1 fazı ile S fazının bağlantısında önemli yeri olan siklin E-CDK2 kompleksini inhibe eden CDK inhibitörüdür. p27 düzeyinin overekspresyonu hücre siklusunun G1 fazının durmasına neden olmaktadır (22). p21'e benzer şekilde p27'nin düşük ekspresyonları farklı kanserlerde kötü prognozla ve kısa dönemde rekürrens yapmayla ilişkilidir. p27'nin düşük ekspresyonu da birçok kanser tipinde görülür. Bu ilk olarak meme, kolon karsinomları için, son yıllarda ise prostat, pankreas, serviks, larenks karsinomlarında da gösterilmiştir (40, 42, 43, 82-85). İnsanlarda p27'nin tümör spesifik mutasyonu bulunamamıştır. p27 düzeylerinin kanserlerde düşük olmasının nedeni olarak posttranslasyonel olarak ubiquitin ilişkili proteoliz ile yıkılması

düşünülmektedir, çünkü kanser hücrelerinde p27 mutasyonuna nadir olarak rastlanmaktadır (29).

Bizim çalışmamızda p27 ekspresyonu ile tümör evre ve derecesi arasında ilişki gözlenmemiştir. p27 ile siklin D1, siklin E, p21 ve survivin arasında da bir ilişki saptanmamıştır. p21 ve p27 ekspresyonları arasında bir korelasyon bulunmaması, hücre siklusunun G1 fazındaki inhibitör etkileri birbirine benzer şekilde gözükse de ekspresyonlarının farklı mekanizmalarla regüle edildiğini ve de etkilerini farklı aşamalarda gösterdiklerini düşündürmektedir. Ancak p27 pozitif tümöre sahip olanların p27 negatif olanlara göre daha az oranda nüks yaptığı dikkat çekmiştir.

p27 ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda düşük p27 ekspresyonunun ürotelyal karsinomlarda kısa sürvi ile belirgin şekilde ilişkili olduğu izlenmiştir (26, 86, 87). Bir başka çalışmada ise kas invaziv tümörlerde p27 ekspresyonunun azaldığı, p21 ve p27 pozitif tümörlerin daha az rekürrens gösterdiği saptanmıştır (37). Ancak bunlara karşın birçok çalışmada p27'nin prognostik önemi hakkında yararlı bilgiler edinilememiştir (88, 89). p27'nin bizim çalışmamızda da olduğu gibi birçok çalışmada tümörün evre ve derecesinden bağımsız olarak nüks ya da sürviyle ilişkisinin olması prognostik bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir. Bu da özellikle düşük p27 oranları saptanan olgularda daha yakın takibi gerektirmektedir.

Hücre siklusunun negatif regülatörleri olmaları nedeniyle p21 ve p27'nin tümör süpresör özelliği olduğu düşünülmektedir (22). p21 ve p27'nin ekspresyonları aynı tümörde uyum içinde olmayabilir. Bu p21 ve p27'nin farklı sinyallerle regülasyonu mümkün olabilmektedir. p27 birçok hücre tipinde TGF-beta ile indüklenmektedir. p21 ekspresyonu ise p53 ve büyüme faktörleri ile regüle edilmektedir (37, 90).

Prognosa p21 ve p27'nin etkisinin kesin mekanizmasını açıklamak zordur. Bu proteinler hücre siklusunu regüle ederler. Tümörün agregasyonu hücre siklus proteinlerinin anormal ekspresyonu ile ilişkilidir. p27 ve p21 proteinlerinin siklin D1'e benzer şekilde çift fonksiyona sahip oldukları düşünülmektedir. p27'nin CDK2/siklin E, p21'in CDK/siklin D1 kompleksine bağlanması normalde bu protein kinazların aktivitesini inhibe eder. Ancak düşük ekspresyonları inhibisyon yapmayıp, siklinlerin aktivitesini kolaylaştırmaktadır. Sonuç olarak p27 ve p21'in düşük ve orta düzeyleri hücre siklusunu koordine ederken, yüksek düzeyleri ise bloke etmektedir (37,91).

Hücre siklus proteinleri genellikle birbiriyle ilişkili olarak eksprese edilmektedirler. Bizim çalışmamızda evre ilerledikçe siklin D1 ekspresyonları p21 ekspresyonu ile korele olarak azalmakta olup buna benzer sonuçları olan başka çalışmalar da bulunmaktadır (27, 68, 90, 92). Ürotelyal karsinomlarda siklin D1'in hem p21 hem de p27 ile pozitif korele olduğunu saptayan çalışmalar da vardır (93). Ama p27'nin siklin E'nin major negatif regülatörü olduğu bilinmektedir ve mesane kanserinde siklin E ve p27'nin korele şekilde eksprese edildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (26, 27, 28).

Kötü prognostik gösterge olduğu birçok çalışma ile ortaya konan survivin etkisini apoptozisi inhibe ederek ve hücre siklusunun mitoz fazını etkileyerek göstermektedir (94). Survivin overekspresyonu sonucu apoptozisin inhibisyonuyla tümör daha agresiv davranış göstermektedir (95). Survivin ekspresyonu farklı çalışmalarda karaciğer, medülloblastom, nöroblastom, larenks ve kolorektal karsinomlarda kötü prognozla ve kısalmış rekürrens zamanı ile korele bulunmuştur (52-54, 96, 97). Az sayıdaki hastayla yapılan birkaç çalışmada, mesane ürotelyal karsinomlu hastalarda survivin düzeyleri incelenmiş ve birbirinden zıt sonuçlar elde edilmiştir (98, 99).

Yapılan çalışmalarda mesane ürotelyal karsinomlu hastalarda yüksek oranda survivin ekspresyonu saptanmıştır. Yüksek derecelerde düşük derecelere göre daha yüksek ekspresyon olduğu izlenmiştir (100, 101, 102). Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uyumludur. Bazı çalışmalarda ise derece ile survivin ekspresyonları arasında korelasyon bulunamamış ama bağımsız bir prognostik gösterge olduğu saptanmıştır (103, 104).

Bizim çalışmamızda düşük evre ve derecelerde daha az survivin eksprese edildiği, evre ve derece arttıkça survivin ekspresyonunun arttığı izlenmiştir. Ancak nüks olan ve olmayan gruplar arasında anlamlı bir ekspresyon farkı saptanmamıştır. Evre ve derece ilerledikçe survivin ekspresyonunun artması bize survivinin mesane kanserinin progresyonunda etkili olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca tümörde saptanan yüksek survivin ekspresyonu, tümörün ileri evre ve dereceli tümörler gibi kötü prognoza sahip olabileceğini gösterebilir. Survivin artmış ekspresyonu sonucu apoptozisin inhibisyonuyla tümör daha agresiv davranış göstermektedir. Hücre siklusunun bozulması yanısıra apoptozisin inhibisyonu da mesane kanserinin progresyonunda etkili gözükmektedir.

Survivin ekspresyonundan tam açıklanamamış olmakla birlikte, değişik mekanizmalar sorumlu tutulmaktadır. Örneğin nöroblastomda survivin geninin lokalize olduğu 17q25 kromozomunun amplifikasyonu gösterilmiştir (105). Diğer bir mekanizma

olarak da, p53'ün kaybının survivin overekspresyonuna neden olduğu düşünülmektedir. Çünkü survivin, p53 ile transkripsiyonel baskı altına alınmaktadır (106). Survivin ekspresyonunun diğer biyolojik faktörlerle ilişkisi açık değildir. Bazı çalışmalarda proliferatif aktiviteyle korelasyonu gösterilmiştir (101). Bu çalışmada ise siklus proteinleri ile survivin arasında bir ilişki saptanmamıştır.

Bazı çalışmalarda survivinin nükleer, bazılarında ise sitoplazmik boyanmasının anlamlı olduğu kabul edilmektedir. Diğer organların kanserlerinde survivin lokalizasyon çalışmaları olmakla beraber mesane kanseriyle ilgili sınırlı çalışma bulunmaktadır (47). Literatürde immunhistokimyasal olarak survivinin sitoplazmik ekspresyonu laringeal skuamöz hücreli karsinom, kolorektal ve ürotelyal karsinomlarda kötü prognostik faktör olarak bulunmuştur (47, 52, 54). Pankreatik ve gastrik karsinomlarda ise sitoplazmik boyanma ile sürvi arası ilişki saptanmamıştır (107, 108). Bizim survivin ekspresyonu gösteren vakalarımızın hepsinde survivinin sitoplazmik boyanması izlenmiştir. Survivin farklı sitoplazmik ve nükleer lokalizasyonunun karboksi terminal aminoasit zincirindeki farklılığa bağlı olduğu düşünülmektedir (46).

Ayrıca survivin normal mesanede ekprese edilmeyip sadece neoplastik epitelde ekprese edilmektedir (55). Çalışmamızda bütün materyallerin transüretal rezeksiyon materyallerinden oluşması ve yaygın koter artefaktı bulunması nedeniyle normal mesane mukozası çok az sayıda materyalde gözlenmiştir. Az sayıda izlenen normal, neoplastik olmayan mesane mukozasında survivin ekspresyonu saptanmamıştır. Survivin normal hücrelerde bulunmayıp sadece kanser hücrelerinde gözlenmesi herhangi bir cutoff düzeyi belirlenmesi gerekmeden diagnostik belirteç olarak kullanılabilme özelliğini ön plana çıkarmaktadır.

Survivin vücut sıvılarında da saptanabilmektedir. Survivin vücut sıvılarında saptanması tümör tanısında bir başka yönden de kullanılabilineceğini düşündürmektedir (47). Bunu destekler şekilde bir çalışmada, hastaların idrar sedimentlerinde survivin mRNA ekspresyonu incelenmiş ve mesane kanseri olan hastaların hepsinde survivin mRNA pozitif; olmayanların hepsinde ise negatif olarak saptanmıştır (109). İdrarda survivinin mRNA ekspresyonuyla ilgili buna benzer başka çalışmalar da bulunmakta olup hepsi de survivin mRNA'sının mesane kanserinin erken tanısında idrar sitolojisine önemli tanısal katkısı olabileceğini desteklemektedir (110, 111, 112).

Eğer survivinin mesane kanserinin malign potansiyelini gösterici etkisi kanıtlanırsa, hastalara uygulanacak tedavilerin seçiminde survivin düzeylerinin incelenmesi yol gösterici olabilir. Survivinin azaltılmış mRNA'sına karşı geliştirilmiş kimyasal inhibitörler ya da oligodeoksinükleoitleri apoptozis yapabilir ve böylelikle tümör büyümesini azaltabilirler. Ayrıca tümör hücrelerini kemoterapiye ve radyasyona duyarlı hale getirebilirler (113, 114).

Mesanein ürotelyal karsinomunda histolojik olarak saptanan tümör derecesi ve evresi halen tedavi stratejilerini belirlemede primer prognostik değişkenlerdir. Bu parametreler tümörün biyolojik potansiyeli hakkında değerli bilgiler verseler de tümörlerin heterojenik yapısı nedeniyle halen tümör karakterizasyonunu değerlendirmede zorluklar bulunmaktadır. Tümör agresivliğini değerlendirmek oldukça zor bir durum oluşturduğu için de çok sayıda potansiyel mesane ürotelyal karsinomu için prognostik belirleyiciler araştırılmaktadır. Ayrıca sık nükslerle giden bir tümör olan ürotelyal karsinomlarda yakın takibi gerektirecek olası nükslerin erken dönemlerde saptanmasında da bu belirleyicilerin rolü önem kazanmaktadır.

Özet olarak bu çalışmada mesane kanserinin klinik seyrini saptamada ve hastaların rekürrens ya da progresyonunu belirlemede önemli bilgiler sağlayacak olan yeni potansiyel prognostik belirleyiciler tanımlanmaktadır. Hücre regülasyonundaki bozukluklarda bazı moleküllerin çok önemli roller üstlendiğini ve bu moleküllerin değişmiş ekspresyonlarının tümör progresyonunda etkili olabileceğini bilmekteyiz.

Bizim bulgularımız mesane kanserinin biyolojik potansiyelini belirlemede siklin D1, p21 ve survivinin güçlü belirleyiciler olduğunu ve bu belirleyicilerin ileri evre hastalığı ve agresiv gidiş gösterebilecek tümörleri saptayabileceğini, p27'nin ise tümör rekürrensini değerlendirmede yararlı bir prognostik belirleyici olabileceğini göstermiştir.

SONUÇLAR

2001-2005 yılları arasında ürotelyal karsinom tanısı verilen 164 transüretal rezeksiyon materyalinden 80 tanesi çalışmaya alındı. Çalışmanın sonucunda:

- ❖ 80 olgunun 72'si erkek, 8'i kadındı.
- ❖ Ortalama yaş 65,8 (41-88) olarak bulundu.
- ❖ Olguların % 17,5'i (n=14) Ta, % 57,5'i (n=46) T1, % 25'i (n=20) T2 evresindeydi.
- ❖ Olguların % 17,5'i (n=14) PUNLMP, % 47,5'i (n=38) düşük dereceli ürotelyal karsinom, % 35'i (n=28) yüksek dereceli ürotelyal karsinomdu.
- ❖ Çalışmaya alınan 80 olgunun 61 tanesinin 1-4 yıllık klinik takibi elde edilebildi. Bu 61 olgunun 18'i (%22,5) hiç nüks yapmazken, 9'unun (% 11,3) 1 kere, 34'ünün (% 42,5) birden fazla nüks yaptığı dikkat çekti. Olgulardan 4 tanesinin ex (% 5) olduğu saptandı.
- ❖ T2 evresinde T1 evresine göre nüks oranının anlamlı olarak arttığı gözlemlendi (p=0,003). Düşük dereceli karsinomların PUNLMP'lilere göre anlamlı şekilde daha fazla nüks yaptığı gözlemlendi (p=0,008).
- ❖ Siklin D1 ile Ta evresinde 14 olgunun 11'inde (% 78,6), T1 evresinde 46 olgunun 14'ünde (% 30,4), T2 evresinde 20 olgunun 2'sinde (% 10) pozitif boyanma izlendi. Evre ilerledikçe siklin D1 ile pozitif boyanmanın azaldığı saptandı (p= 0,01).
- ❖ p21 ile Ta evresinde 14 olgunun 2'sinde (% 14,3), T1 evresinde 46 olgunun 29'unda (% 63), T2 evresinde 20 olgunun 4'ünde (% 20) pozitif boyanma izlendi. p21'in ekspresyonunun T1'den kasa invaziv T2 evresine geçişte anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi (p=0,01).

- ❖ Siklin D1 ve p21'in evre ilerledikçe birbiriyle korele şekilde ekspresyonlarının azaldığı saptandı (p=0,004).
- ❖ Siklin E'nin patolojik ve klinik parametrelerle herhangi bir ilişkisi saptanmadı.
- ❖ p27 ekspresyonu evre ve derece ile ilişkili bulunmadı. p27 nüks olmayan 18 olgunun 7'sinde (% 38,9) negatif, 11'inde (% 61,1) pozitifken nüks olan 43 olgunun 37'sinde (% 86) negatif, 6'sında (% 14) pozitif. Nüks olanlarla olmayanlar arasında p27 boyanma farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p= 0,001).
- ❖ p27'nin diğer siklus proteinleri ile ilişkisi izlenmedi.
- ❖ Survivin ile Ta evresinde ortalama % 6,4, T1 evresinde ortalama % 33,2, T2 evresinde ortalama % 41,5 boyanma izlendi. Evre ilerledikçe survivin boyanma yüzdelerinin anlamlı olarak arttığı bulundu (p=0,01). PUNLMP'lerde ortalama % 15,3, düşük dereceli ürotelyal karsinomlularda ortalama % 27,2, yüksek dereceli ürotelyal karsinomlularda ortalama % 42,8 olarak izlendi. Tümör derecesinde artışın survivin boyanma yüzdelerinde artış ile korele olduğu saptandı (p=0,01).
- ❖ Siklin D1, siklin E, p21 ve survivin ekspresyonlarının nüks yapan ve yapmayanlar arasında farklı olmadığı gözlemlendi.

ÖZET

Bu çalışmada mesanenin ürotelyal tümörlerinde hücre siklus proteinleri ve apoptozisin evre, derece gibi konvansiyonel prognostik parametrelerle ilişkisine bakılarak prognozu değerlendirmede ek bilgiler sağlayabileceğini göstermek amaçlanmıştır.

Çalışmaya mesane ürotelial karsinomu olan 80 hasta alınmıştır. WHO-ISUP 1998 sınıflamasına göre derece ve 2004 TNM sınıflamasına göre evre verilmiştir. Ondört (% 17,5) olgu Ta, 46 (% 57,5) olgu T1, 20 (% 25) olgu T2 evresindedir. Ondört (% 17,5) olgu PUNLMP, 38 (% 47,5) olgu düşük dereceli ürotelyal karsinom, 28 (% 35) olgu yüksek dereceli ürotelyal karsinom olarak sınıflanmıştır.

Mesanenin ürotelyal neoplazili 80 olgunun transüretal rezeksiyon materyallerinde siklin D1, siklin E, p21, p27 ve survivinin immunhistokimyasal ekspresyonları incelenmiştir. Belirleyicilerin ekspresyonlarının tümör evre, derece ve klinik gidişle ilişkisine bakılmıştır

Düşük siklin D1 ekspresyonu ileri tümör evresiyle anlamlı ilişkili bulunmuştur ($p=0,01$). p21 ekspresyonunun T2 evresinde, T1 tümörlerle karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir ($p=0,01$). Siklin D1 ve p21'in evre ilerledikçe korele şekilde ekspresyonlarının azaldığı ($p=0,004$) izlenmiştir. Ama siklin D1 ve p21'in diğer parametrelerle arasında korelasyon saptanmamıştır. Bulgularımız bize p21'in siklin D1 ile beraber kaybının daha çok tümör progresyonunda etkili olduğunu ve tümördeki düşük siklin D1 ve p21 ekspresyonunun yüksek riskli ürotelyal karsinomlu hastaları saptamada yararlı olabileceğini düşündürmüştür. p27 ekspresyonu yüksek olan hastalarda nüksün daha az olduğu izlenmiştir ($p=0,001$). Ama p27 ekspresyonu ile tümör evre ve derecesi arasında korelasyon saptanmamıştır. Bu bulgular p27'nin ürotelyal karsinomda bağımsız prognostik bir belirteç olabileceğini düşündürmüştür. Siklin E'nin hiçbir patolojik ve klinik parametreyle herhangi bir ilişkisi saptanmamıştır. Survivinin ileri evre ($p=0,01$) ve yüksek dereceli ($p=0,01$) tümörlerde daha fazla oranda eksprese edildiği gözlenmiştir. Bu da survivin ekspresyonunun ürotelyal karsinomun progresyonunuda rolü olduğunu düşündürmüştür.

Sonuç olarak; bulgularımız mesane kanserinin biyolojik potansiyelini belirlemede siklin D1, p21 ve survivinin güçlü belirleyiciler olduğunu ve bu belirleyicilerin erken dönemde ileri evre hastalığı saptayabileceğini düşündürmektedir. p27 nin ise tümör rekürrensini değerlendirmede yararlı bir prognostik belirleyici olabileceğini göstermiştir.

SUMMARY

In the present study, the expression patterns of cell cycle regulation proteins and apoptosis related proteins were investigated in urothelial carcinoma and the prognostic value of these markers for tumor progression was evaluated.

Eighty patients with urothelial neoplasm of the urinary bladder were included in the study. Histologic grading and staging were assessed according to 1998 WHO-ISUP and 2004 TNM classification. Fourteen (% 17,5) cases were classified as Ta, 46 (%57,5) as T1 and 20 (%25) as T2. Tumors were classified as papillary neoplasm of low malignant potential (PUNLMP) in 14 (%17,5), low-grade papillary carcinoma in 38 (% 47,5) and high-grade papillary carcinoma in 28 (%35).

We examined cyclin D1, cyclin E, p21, p27 and survivin expressions immunohistochemically in transurethral resection of 80 cases with urothelial neoplasms. The expressions of the markers were correlated with tumor stage, grade and clinical outcome.

Low cyclin D1 expression was significantly associated with advanced pathological stage ($p=0,01$). p21 expression was significantly lower in T2 tumors compared with T1 tumors ($p=0,01$). Low cyclin D1 expression was significantly associated with low expression p21 in T2 tumors ($p=0,004$). However no significant correlation was found between cyclin D1, p21 and other parameters. Our findings suggest that in urothelial carcinoma, loss of both cyclin D1 and p21 expressions are related to tumor progression and furthermore evaluation of cyclin D1 and p21 may help to identify high-risk patients with urothelial carcinoma. Patients with tumors displaying high p27 expression had fewer recurrence ($p=0,001$). There was no significant correlation between p27 and tumor grade, stage. These findings support that p27 may represent an independent prognostic factor in urothelial carcinoma. Cyclin E immunoreactivity was not associated with any pathologic characteristics and clinical outcomes. Advancing tumor grade ($p=0,01$) and stage ($p=0,01$) were accompanied by an increase in survivin expression. These findings support a role of survivin in urothelial carcinoma progression.

In conclusion, our findings support a role for cyclin D1, p21 and survivin as strong markers for predicting the biological potential of bladder tumors and identifying those tumors most likely to progress to muscle invasive disease. Furthermore, the expression of p27 protein may be a useful prognostic marker to evaluate the recurrences of urothelial carcinoma.

KAYNAKLAR

- 1- Eble JN, Sauter G, Sesterhenn IA. Tumours of the Urinary System. In: Kleihues P, Sobin LH. World Health Organization Classification of Tumours Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. France: Lyon, IARC press, 2004: 89-158.
- 2- Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 2000. *Cancer J Clin* 2000; 50:7-33.
- 3- Eble JN, Young RH. Carcinoma of the urinary bladder: a review of its diverse morphology. *Semin Diagn Pathol* 1997;14:98–108.
- 4- Ordanez NG, Rosai J. Urinary tract. In: Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. Ninth ed. Toronto: Mosby, Vol I, 2004;1317-1359.
- 5- Habuchi T, Marberger M, Droller MJ, Hemstreet GP, Grossman HB, Schalken JA, Schmitz-Drager BJ, Murphy WM, Bono AV, Goebell P, Getzenberg RH, Hautmann SH, Messing E, Fradet Y, Lokeshwar VB. Prognostic markers for bladder cancer: international consensus panel on bladder tumor markers. *Urology* 2005;66:64–74.
- 6- Tiguert R, Lessard A, So A, Fradet Y. Prognostic markers in muscle invasive bladder cancer. *World J Urol* 2002;20:190–195.
- 7- Reuter VE. Urinary Bladder, Ureter, and Renal Pelvis. In: Sternberg SS. *Histology for Pathologists*. Second Ed. New York: Lippincott-Ravon, 1997;835-845.
- 8- Kissane JM. Development and Structure of Urogenital System. In: Murphy Wm. *Urological Pathology*. Philadelphia: Saunders Company, 1989;1-33.
- 9- Murphy WM, Beckwith JB, Farrow GM. Tumours of the kidney, bladder, and related urinary structures. In: Rosai J. *Atlas of Tumour Pathology*. Third Series, Fascicle 11, Washington, 1994;192-288.
- 10- Kirkali Z, Chan T, Manoharan M, Algaba F, Busch C, Cheng L, Kiemeny L, Kriegmair M, Montironi R, Murphy WM, Sesterhenn IA, Tachibana M, Weider J. Bladder cancer: epidemiology, staging and grading, and diagnosis. *Urology* 2005;66:4–34.
- 11- Mungan NA, Aben KK, Schoenberg MP, Visser O, Coebergh JW, Witjies JA. Gender differences in stage-adjusted bladder cancer survival. *Urology* 2000;55:876–880.
- 12- Lopez-Beltran A, Cheng L. Histologic variants of urothelial carcinoma: differential diagnosis and clinical implications. *Hum Path* 2006;37:1371–1388.

- 13-** Humphrey PA. Urinary bladder pathology 2004: an update. *Ann Diagn Pathol* 2004;8: 380-389.
- 14-** Busch C, Algaba F. The WHO/ISUP 1998 and WHO 1999 systems for malignancy grading of bladder cancer. Scientific foundation and translation to one another and previous systems. *Virchows Arch* 2002; 441:105–108.
- 15-** Epstein JI, Amin MD, Reuter VR, Mostofi FK. 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;22:1435-1438.
- 16-** Ulbright TM. The Urothelial Tract: Renal Pelvis, Ureter, Urinary Bladder, and Urethra. Mills SE. In: Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology. Fourth Ed. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins, Vol II, 2004;2035-2081.
- 17-** Yorukoglu K, Tuna B, Dikicioglu E, Duzcan E, Isisag A, Sen S, Mungan U, Kirkali Z. Interreproducibility and intrareproducibility of WHO/ISUP 1998 classification of papillary urothelial neoplasms of the urinary bladder. *Virchows Arch* 2003;443:734–740.
- 18-** Epstein JI. The new world health organization/international society of urological pathology (WHO/ISUP) classification for Ta, T1 bladder tumors: is it an improvement? *Crit Rev Oncol Hematol* 2003;47:83-89.
- 19-** Wittekind C, Greene FL, Hutter RVP, Klimpfinger M, Sobin LH. TNM Atlas. Fifth Ed. New York:Springer, 2004;321-326.
- 20-** Younes M, Susman J, True LD. The usefulness of the level of the muscularis mucosae in the staging of invasive transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Cancer* 1990;66:543-548.
- 21-** Madelan NM, Geert JLH, Ewout W, Bas W, Adriaan C, Ellen C, Theodorus H. A new system for substaging pT1 papillary bladder cancer a prognostic evaluation. *Hum Pathol* 2005;36:981-986.
- 22-** Kumar V, Abbas KA, Fausto N. Pathologic Basis of Disease, Seventh Ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2004;26-32,289-306.
- 23-** Coqueret O. Linking cyclins to transcriptional control. *Gene* 2002;299:35–55.
- 24-** Sherr CJ, Roberts JM. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev* 1999;13:1501-1512.
- 25-** Resnitzky D, Reed SI. Different roles for cyclins D1 and E in regulation of the G1-To-S transition. *Mol Cell Biol* 1995;15:3463–3469.

- 26-** Del Pizzo JJ, Borkowski A, Jacobs SC, Kyprianou N. Loss of cell cycle regulators p27kip1 and cyclin E in transitional cell carcinoma of the bladder correlates with tumor grade and patient survival. *Am J Pathol* 1999;155:1129–1136.
- 27-** Shariat SF, Ashfaq R, Sagalowsky AI, Lotan Y. Correlation of cyclin D1 and E1 expression with bladder cancer presence, invasion, progression, and metastasis. *Hum Pathol* 2006;37:1568-1576.
- 28-** Khan AA, Abel PD, Chaudhary KS, Gulzar Z, Stamp GWH, Lalani EN. Inverse correlation between high level expression of cyclin E and proliferation index in transitional cell carcinoma of the bladder. *Mol Pathol* 2003;56:353-361.
- 29-** Cordon-Cardo C. Mutations of cell cycle regulators. Biological and clinical implications for human neoplasia. *Am J Pathol* 1995;147:545–60.
- 30-** Donnellan R, Chetty R. Cyclin D1 and human neoplasia. *Mol Pathol* 1998;51:1–7.
- 31-** Donnellan R, Chetty R. Cyclin E in human cancers. *FASEB J.* 1999;13:773–780.
- 32-** Wagner U, Su K, Luginbu T, Schmid U, Ackermann D, Zellweger T, Maurer R, Alund G, Nage H, Rist M, Jordan P, Moch H, Mihatsch MJ, Gasser TC, Sauter G. Cyclin D1 overexpression lacks prognostic significance in superficial urinary bladder cancer. *J Pathol* 1999;188:44–50.
- 33-** Migaldi M, Sgambato A, Garagnani L, Ardito R, Ferrari P, Gaetani C, Cittadini A, Trentini GP. Loss of p21waf1 expression is a strong predictor of reduced survival in primary superficial bladder cancers. *Clin Cancer Res* 2000;6:3131-3138.
- 34-** Shariat SH, Kim J, Raptidis G, Ayala GE, Lerner SP. Association of p53 and p21 expression with clinical outcome in patients with carcinoma in situ of the urinary bladder. *Urology* 2003;61:1140–1145.
- 35-** Sunanda J, Chatterjee, Ram Datar, David Youssefzadeh. Combined effects of p53, p21, and pRb expression in the progression of bladder transitional cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2004;22:1007-1013.
- 36-** Datto MB, Li Y, Panus JF, Howe DJ, Xiong Y, Wang XF. Transforming growth factor beta induces the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 through a p53-independent mechanism. *Proc Natl Acad Sci* 1995;92:5545-5549.
- 37-** Franke KH, Miklosi M, Goebell P, Clasen S, Steinhoff C, Anastasiadis AG, Gerharz CD, Schulz WA. Cyclin-dependent kinase inhibitor p27kip1 is expressed preferentially in early stages of urothelial carcinoma. *Urology* 2000;56:689–695.

- 38-** Lu X, Toki T, Konishi I, Nikaido T, Fujii S. Expression of p21waf1/cip1 in adenocarcinoma of the uterine cervix possible immunohistochemical marker of a favorable prognosis. *Cancer* 1998;82:2409–17.
- 39-** Kwon MS, Lee YI, Lee KY. P21 as a prognostic factor in non-small cell lung carcinomas. *Pathol Res Pract* 2006;2002:849-856.
- 40-** Culhaci N, Sagol O, Karademir S, Astarcioglu H, Astarcioglu I, Soy Turk M, Oztop I, Obuz F. Expression of transforming growth factor-beta-1 and p27kip1 in pancreatic adenocarcinomas: relation with cell-cycle-associated proteins and clinicopathologic characteristics. *BMC Cancer* 2005;5:98-105.
- 41-** Kamai T, Takagi K, Asami H, Ito Y, Arai K, Yoshida K. Prognostic significance of p27kip1 and Ki-67 expression in carcinoma of the renal pelvis and ureter. *BJU International* 2000;86:14-19.
- 42-** Gregg Van De Putte, Holm R, Lie K, Trope CG, Gunnar B. Kristensen. Expression of p27, p21, and p16 protein in early squamous cervical cancer and its relation to prognosis. *Gynecologic Oncology* 2003;89:140–147.
- 43-** Alfsen GC, Reed W, Sandstad B, Kristensen GB, Abeler VM. The prognostic impact of cyclin dependent kinase inhibitors p21waf1, p27kip1, and p16ink4/mts1 in adenocarcinomas of the uterine cervix. *Cancer* 2003;98:1880-1889.
- 44-** Corbiere C, Liagre B, Terro F, Beneytout JL. Induction of antiproliferative effect by diosgenin through activation of p53, release of apoptosis-inducing factor (AIF) and modulation of caspase-3 activity in different human cancer cells. *Cell Res* 2004;14: 188-196.
- 45-** Scimmer A. Inhibitor of apoptosis proteins: translating basic knowledge into clinical practice. *Cancer Res* 2004;64:7183-7190.
- 46-** Fields AC, Cotsonis G, Sexton D, Santoianni R, Cohen C. Survivin expression in hepatocellular carcinoma: correlation with proliferation, prognostic parameters, and outcome. *Mod Pathol* 2004;17:1378–1385.
- 47-** Akhtar M, Gallagher L, Rohan S. Survivin: role in diagnosis, prognosis, and treatment of bladder cancer. *Adv Anat Pathol* 2006;13:122–126.
- 48-** Shin S, Sung BJ, Cho YS, Kim HJ, Ha NC, Hwang JI. An anti-apoptotic protein human survivin is a direct inhibitor of caspase-3 and -7. *Biochemistry* 2001;40:1117-1123.
- 49-** Colnaghi R, Connell CM, Barrett RMA, Wheatley SP. Separating the anti-apoptotic and mitotic roles of survivin. *J Biol Chem* 2006;281:33450-33456.

- 50-** Mahotka C, Wenzel M, Springer E, Gabbert HE, Gerharz CD. Survivin-deltaex3 and survivin-2b: two novel splice variants of the apoptosis inhibitor survivin with different antiapoptotic properties. *Cancer Res* 1999;59:6097– 6102.
- 51-** Grabowski P, Kuhnel T, Muhr-Wilkenshoff F, Heine B, Stein H, Höpfner M, Germer CT, Scherübl H. Prognostic value of nuclear survivin expression in oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2003;88:115–119.
- 52-** Sarela AI, Scott N, Ramsdale J, Markham AF, Guillou PJ. Immunohistochemical detection of the anti-apoptosis protein, survivin, predicts survival after curative resection of stage II colorectal carcinomas. *Ann Surg Oncol* 2001;8:305–310.
- 53-** Pizem J, Cor A, Zadavec-Zaletel L, Popovic M. Survivin is a negative prognostic marker in medulloblastoma. *Neuropath Appl Neurobiol* 2005;31:422-428.
- 54-** Dong Y, Sui L, Watanabe Y, Sugimoto K, Tokuda M. Survivin expression in laryngeal squamous cell carcinomas and its prognostic implications. *Anticancer Res* 2002;22:2377-2383.
- 55-** Schultz IJ, Witjes JA, Swinkels DW, Kok JB. Bladder cancer diagnosis and recurrence prognosis: comparison of markers with emphasis on survivin. *Clin Chim Acta* 2006;368:20-32.
- 56-** Hou J, He J, Wang X, Wen D, Chen Z. Effect of small interfering RNA targeting survivin gene on biological behaviour of bladder cancer. *Chin Med J* 2006;119:1734-1739.
- 57-** Karam JA, Lotan Y, Karakiewicz P, Ashfaq R, Sagalowsky AI, Roehrborn CG, Shariat SF. Use of combined apoptosis biomarkers for prediction of bladder cancer recurrence and mortality after radical cystectomy. *Lancet Oncol* 2007;8:128-136.
- 58-** Islam A, Kageyama H, Hashizume K, Kaneko Y, Nakagawara A. Role of survivin, whose gene is mapped to 17q25, in human neuroblastoma and identification of a novel dominant-negative isoform, survivin-b/2B. *Med Pediatr Oncol* 2000;35:550–553.
- 59-** Lee CR, Yamamoto S, Morimura K, Wanibuchi H, Nishisaka N, Ikemoto S, Nakatani T, Wada S, Kishimoto T, Fukushima S. Significance of cyclin D1 overexpression in transitional cell carcinomas of the urinary bladder and its correlation with histopathologic features. *Cancer* 1997;79:780-789.
- 60-** Bali A, O'Brien PM, Edwards LS, Sutherland RL, Hacker NF, Henshall SM. Cyclin D1, p53, p21 expression is predictive of poor clinical outcome in serous ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2005;10:5168-5177.

- 61-** Mhaweche P, Greloz V, Oppikofer C, Szalay-Quinodoz I, Herrmann F. Expression of cell cycle proteins in T1a and T1b urothelial bladder carcinoma and their value in predicting tumor progression. *Cancer* 2004;100:2367-2375.
- 62-** Wang J, Zheng S. Caspase-3 and survivin expression in pediatric neuroblastoma and their roles in apoptosis. *Chin Med J* 2004;117:1821-1824.
- 63-** Ito Y, Matsuura N, Sakon M, Miyoshi E, Noda K, Takeda T, Umeshita K, Naganon H, Nakamori S, Dono K, Tsujimoto M, Nakahara M, Nakao K, Taniguchi N, Monden M. Expression and prognostic roles of the G1-S modulators in hepatocellular carcinoma: p27 independently predicts the recurrence. *Hepatology* 1999;30:90-99.
- 64-** Oyama T, Kashiwabara K, Yoshimoto K, Arnold A, Koerner F. Frequent overexpression of the cyclin D1 oncogene in invasive lobular carcinoma of the breast. *Cancer Res* 1998;58:2876-2880.
- 65-** Kamalati T, Davies D, Titley J, Crompton MR. Functional consequence of cyclin D1 overexpression in human mammary luminal epithelial cells. *Clin Exp Metastasis* 1998;16:415-426.
- 66-** Yang WI, Chung KY, Shin DH, Kim YB. Cyclin D1 protein expression in lung cancer. *Yonsei Med J* 1996;37:142-150.
- 67-** Akervall JA, Michalides R, Mineta H, Balm A, Dictor MR, Jin Y, Loftus B, Mertens B, Wennerberg JP. Amplification of cyclin D1 in squamous cell carcinoma of the head and neck and the prognostic value of chromosomal abnormalities and cyclin D1 overexpression. *Cancer* 1997;79:380-389.
- 68-** Tut VM, Braithwaite KL, Angus B, Neal DE, Lunec J, Mellon JK. Cyclin D1 expression in transitional cell carcinoma of the bladder: correlation with p53, waf1, pRb and Ki-67. *Br J Cancer* 2001;84:270-275.
- 69-** Sgambato A, Migaldi M, Faraglia B, Aloysio G, Ferrari P, Ardito R, Gaetani C, Capelli G, Cittadini A, Trentini GP. Cyclin D1 expression in papillary superficial bladder cancer: its association with other cell cycle-associated proteins, cell proliferation and clinical outcome. *Int J Cancer* 2002;97:671-678.
- 70-** Takagi Y, Takashi M, Koshikawa T, Sakata T, Ohshima S. Immunohistochemical demonstration of cyclin D1 in bladder cancers as an inverse indicator of invasiveness but not an independent prognostic factor. *Int J Urol* 2000;7:366-372.

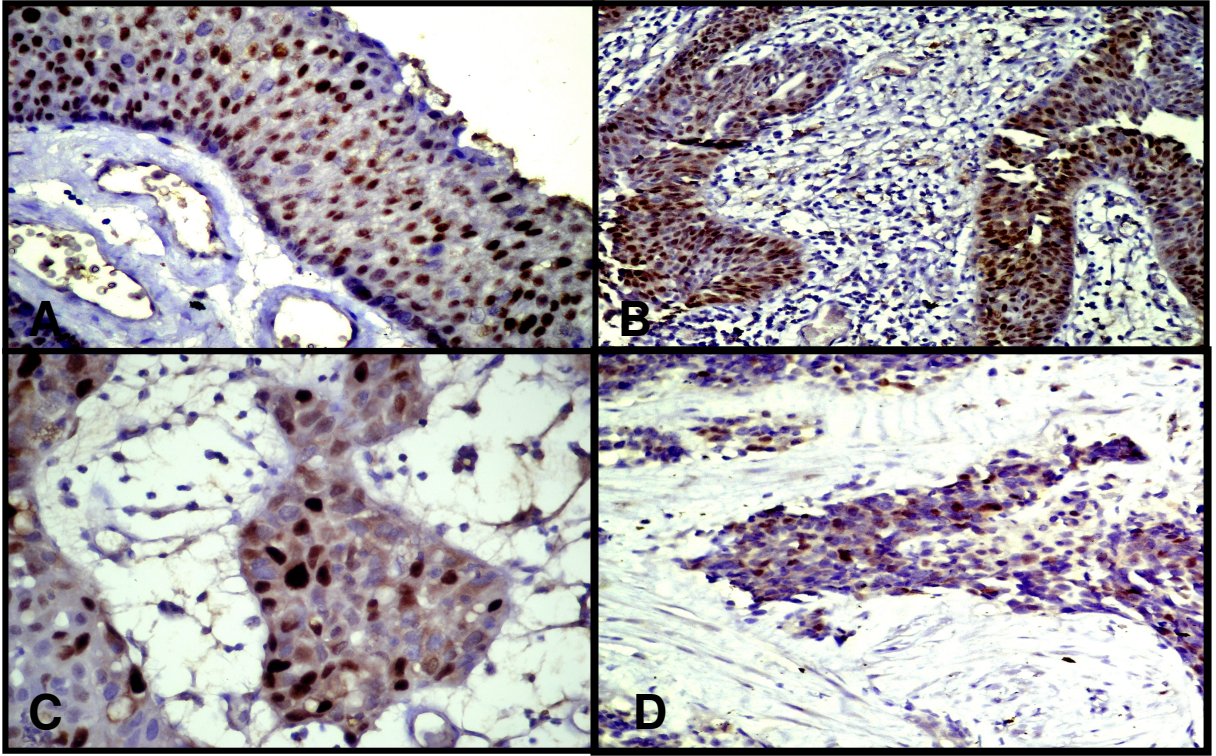
- 71-** Schuurin E, Verhoeven E, Mooi WJ, Michalides RJ . Identification and cloning of two overexpressed genes, U21B31/PRAD1 and EMS1, within the amplified chromosome 11q13 region in human carcinomas. *Oncogene* 1992;7:355–361.
- 72-** Bringuier PP, Tamimi Y, Schuurin E, Schalken J. Expression of cyclin D1 and EMS1 in bladder tumours; relationship with chromosome 11q13 amplification. *Oncogene* 1996;18:1747-1753.
- 73-** Sofer-Levi Y, Resnitzky D, Williams ME. Apoptosis induced by ectopic expression of cyclin D1 but not cyclin E. *Oncogene* 1996;5:2431-2437.
- 74-** Han EK, Ng S, Arber N, Begemann M, Weinstein IB. Roles of cyclin D1 and related genes in growth inhibition, senescence and apoptosis. *Apoptosis* 1999;4:213-219.
- 75-** Schraml P, Bucher C, Bissig H, Nocito A, Haas P, Wilber K, Seelig S, Kononen J, Mihatsch MJ, Dirnhofer S, Sauter G. Cyclin E overexpression and amplification in human tumours. *J Pathol* 2003;200:375–382.
- 76-** Richter J, Wagner U, Kononen J, Fijan A, Bruderer J, Schmid U, Ackermann D, Maurer R, Alund G, Knonagel H, Rist H, Wilber K, Anabitar M, Hering F, Hardmeier T, Schonenberger A, Flury R, Jager P, Fehr JL, Schraml P, Moch H, Mihatsch MJ, Gasser T, Kallioniemi OP, Sauter G. High-throughput tissue microarray analysis of cyclin E gene amplification and overexpression in urinary bladder cancer. *Am J Pathol* 2000;157:787–794.
- 77-** Migaldi M, Sgambato A, Garagnani N, Ardito R, Ferrari P, Gaetani CD, Cittadini A, Trentini GP. Loss of p21 expression is a strong predictor of reduced survival in primary superficial bladder cancers. *Clin Cancer Res* 2000;6:3131-3138.
- 78-** Natsugoe S, Nakashima S, Matsumoto M, Xiangming C, Okumura H, Kijima F, Ishigami S, Takebayashi Y, Baba M, Takao S, Aikou T. Expression of p21waf1/cip1 in the p53-dependent pathway is related to prognosis in patients with advanced esophageal carcinoma. *Clin Cancer Res* 1999;5:2445–2449.
- 79-** Liu XP, Kawauchi S, Oga A, Suehiro Y, Tsushimi K, Tsushimi M, Sasaki K. Combined examination of p27kip1, p21waf1/cip1 and p53 expression allows precise estimation of prognosis in patients with gastric carcinoma. *Histopathology* 2001;39: 603-610.
- 80-** Stein JP, Ginsberg DA, Grossfeld GD, Chatterjee SJ, Esrig D, Dickinson MG, Groshen S, Taylor CR, Jones PA, Skinner DG, Cote RJ. Effect of p21waf1/cip1 expression on tumor progression in bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1072–1079.

- 81-** Primdahl H, Maase H, Sorensen FB, Wolf H, Qrntoft TF. Immunohistochemical study of the expression of cell cycle regulating proteins at different stages of bladder cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002;128:295–301.
- 82-** Oyama T, Kashiwabara K, Yoshimoto K, Arnold A, Koerner F. Frequent overexpression of the cyclin D1 oncogene in invasive lobular carcinoma of the breast. *Can Res* 1998;58:2876-2880.
- 83-** Ciaparrone M, Yamamoto H, Yao Y, Sgambato A, Cattoretti G, Tomita N, Monden T, Rotterdam H, Weinstein IB. Localization and expression of p27kip1 in multistage colorectal carcinogenesis. *Cancer Res* 1998;58,114-122.
- 84-** Vis AN, Noordjiz MA, Fitoz K, Wildhagen MF, Schröder FH. Prognostic value of cell cycle proteins p27 and MIB-1, and the cell adhesion protein CD44s in surgically treated patients with prostate. *J Urol* 2000;164:2156-2161.
- 85-** Pruneri G, Pignataro L, Carboni N, Bufa R, Finizio D, Cesana BM, Neri A. Clinical relevance of expression of the cip/kip cell-cycle inhibitors p21 and p27 in laryngeal cancer. *J Clin Oncol* 1999;17:3150-3159.
- 86-** Lopez-Beltran A, Luque RJ, Alvarez-Kindelan J, Quintero A, Merlo F, Carrasco JC, Requena MJ, Montironi R. Prognostic factors in stage T1 grade 3 bladder cancer survival: the role of G1-S modulators (p53, p21waf1, p27kip1, cyclin D1, and cyclin D3 and proliferation Index (Ki-67-M IB 1) *Eur Urol* 2004;45:606–612 .
- 87-** Doganay L, Altaner S, Bilgi S, Kaya E, Ekuklu G, Kutlu K. Expression of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27 in transitional cell bladder cancers: is it a good predictor for tumor behavior? *Int Urol Nephrol* 2003;35:181-188.
- 88-** 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. *EJSO* 2003; 29: 74-80.
- 89-** Yurakh AO, Ramos D, Calabuig-Farinas S, Lopez Gerrero JA, Rubio J, Solsona E, Rommanenko AM, Voziarov AF, Pelin A, Bosch AL. Molecular and immunohistochemical analysis of the prognostic value of cell-cycle regulators in urothelial neoplasm of the bladder. *Eur Urol* 2006;50:506-115.
- 90-** Liu Y, Martindale JL, Gorospe M, Holbrook NJ. Regulation of p21waf1/cip1 expression through mitogen-activated protein kinase signaling pathway. *Cancer Res* 1996;56:31-35.

- 91-** Lipponen P, Aaltomaa S, Eskelinen M, Ala-Opas M, Kosma VM. Expression of p21(waf1/cip1) protein in transitional cell bladder tumours and its prognostic value. *Eur Urol* 1998;34:237-43.
- 92-** Liukkonen T, Lipponen P, Raitanen M, Kaasinen E, Ala-Opas M, Rajala P, Kosma VM. Evaluation of p21waf1/cip1 and cyclin D1 expression in the progression of superficial bladder cancer. *Urol Res* 2000;28:285-292.
- 93-** Ioachim E, Michael M, Stavropoulos NE, Kitsiou E, Hastazeris K, Salmas M, Stefanaki S, Agnantis NJ. Expression patterns of cyclins D1, E and cyclin-dependent kinase inhibitors p21(waf1/cip1) and p27(kip1) in urothelial carcinoma: correlation with other cell-cycle-related proteins (Rb, p53, Ki-67 and PCNA) and clinicopathological features. *Urol Int* 2004;73:65-73.
- 94-** Colnaghi R, Connell CM, Barrett R, Wheatley SP. Separating the anti-apoptotic and mitotic roles of survivin. *J Biol Chem* 2006;281:33450-33456.
- 95-** Salz W, Eisenberg D, Plescia J, Garlick DS, Weiss RM, Wu XR, Sun TT, Altieri DC. Survivin gene signature predicts aggressive tumor behavior. *Cancer Res* 2005;65:3531-3534.
- 96-** Li YH, Wang C, Meng K, Chen LB, Zhou XJ. Influence of survivin and caspase-3 on cell apoptosis and prognosis in gastric carcinoma. *Chin Med J* 2004;117:1821-1824.
- 97-** Pizem J, Cor A, Gale N. Survivin expression is a negative prognostic marker in laryngeal squamous cell carcinoma and is associated with p53 accumulation. *Histopathology* 2004;45:180–186.
- 98-** Gazzaniga P, Gradilone L, Giuliani O, Gandini O, Silvestri I, Nofroni I, Saccani G, Frati L, Agliano AM. Expression and prognostic significance of livin, survivin and other apoptosis-related genes in the progression of superficial bladder cancer. *Ann Oncol* 2003;14:85-90.
- 99-** Shariat SF, Ashfaq R, Karakiewicz PI, Saeedi O, Sagalowsky AI, Lotan Y. Survivin expression is associated with bladder cancer presence, stage, progression, and mortality. *Cancer* 2007;109:1106-1113.
- 100-** Schultz IJ, Kiemeny LA, Witjes JA, Schalken JA, Willems JL, Swinkels DW. Survivin mRNA expression is elevated in malignant urothelial cell carcinomas and predicts time to recurrence. *Anticancer Res* 2003;23:3327-3331.
- 101-** Wu Yudong, Wang G, Wei J, Wen X. Survivin protein expression positively correlated proliferative activity of cancer cells in bladder cancer. *Indian J Med Sci* 2005;59:235-242.

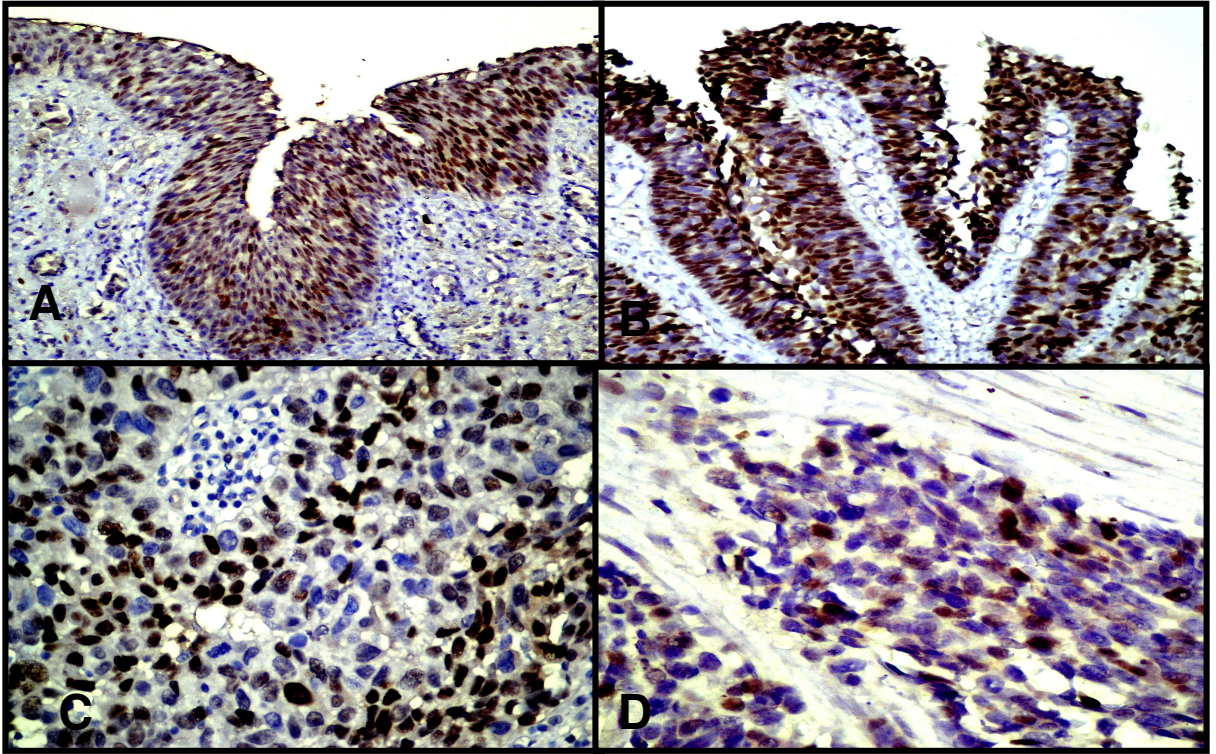
- 102-** Weikert S, Christoph F, Schrader M, Krause H, Miller K, Müller M. Quantitative analysis of survivin mRNA expression in urine and tumor tissue of bladder cancer patients and its potential relevance for disease detection and prognosis. *Int J Cancer* 2005;116:100-104.
- 103-** Ku JH, Kwak C, Lee HS, Park HK, Lee E, Lee SE. Expression of survivin, a novel inhibitor of apoptosis, in superficial transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol* 2004;171:631-635.
- 104-** Karam JA, Lotan Y, Karakiewicz PI, Ashfaq R, Sagalowsky AI, Roehrborn CG, Shariat SF. Use of combined apoptosis biomarkers for prediction of bladder cancer recurrence and mortality after radical cystectomy. *Lancet Oncol* 2007;8:128-136.
- 105-** Islam A, Kageyama H, Hashizume K, Kaneko Y, Nakagawara A. Role of survivin, whose gene is mapped to 17q25, in human neuroblastoma and identification of a novel dominant-negative isoform, survivin- β /2B. *Med Pediatr Oncol* 2000;35:550-553.
- 106-** Mirza A, McGuirk M, Hockenberry TN, Wu Q, Ashar H, Black S, Wen SF, Wang L, Kirschmeier P, Bishop WR, Nielsen LL, Pickett CB, Liu S. Human survivin is negatively regulated by wild-type p53 and participates in p53-dependent apoptotic pathway. *Oncogene* 2002;21:2613-2622.
- 107-** Sarela AI, Verbeke CS, Ramsdale J, Davies CL, Markham AF, Guillou PJ. Expression of survivin, a novel inhibitor of apoptosis and cell cycle regulatory protein, in pancreatic adenocarcinoma. *Br J Cancer* 2002;86:886-892.
- 108-** Okada E, Murai Y, Matsui K, Isizawaa S, Chenga C, Masudab M, Takanoa Y. Survivin expression in tumor cell nuclei is predictive of a favorable prognosis in gastric cancer patients. *Cancer Lett* 2001;163:109-116.
- 109-** Ohsawa I, Nishimura T, Kondo Y, Kimura G, Satoh M, Matsuzawa I, Hamasaki T, Ohta S. Detection of urine survivin in 40 patients with bladder carcinoma. *J Nippon Med Sch* 2004;71:379-383.
- 110-** Schultz IJ, Kiemeny AL, Karthaus H, Witijes JA, Willems JL, Swinkels DW, Gunnewiek J. Survivin mRNA copy number in bladder washings predicts tumor recurrence in patients with superficial urothelial cell carcinomas. *Clin Chem* 2004;8:1425-1427.
- 111-** Hou J, He J, Wen D, Chen Z, Zeng J. Survivin mRNA expression in urine as a biomarker for patients with transitional cell carcinoma of bladder. *Chin Med* 2006;119:1118-1120.

- 112-** Ziaee SA, Maula SJ, Moghaddam SY, Eskander-Shiri D. Diagnosis of bladder cancer by urine survivin, an inhibitor of apoptosis. *Urol J* 2006;3:150-153.
- 113-** Fuessel S, Herrmann J, Ning S, Kotsch M, Kraemer K, Schmidt U, Hakenberg OW, Wirth MP, Meye A. Chemosensitization of bladder cancer cells by survivin-directed antisense oligodeoxynucleotides and siRNA. *Cancer Lett* 2006;232:243–254.
- 114-** Altieri DC. The molecular basis and potential role of survivin in cancer diagnosis and therapy. *Trends Mol Med* 2001;7:542-547.



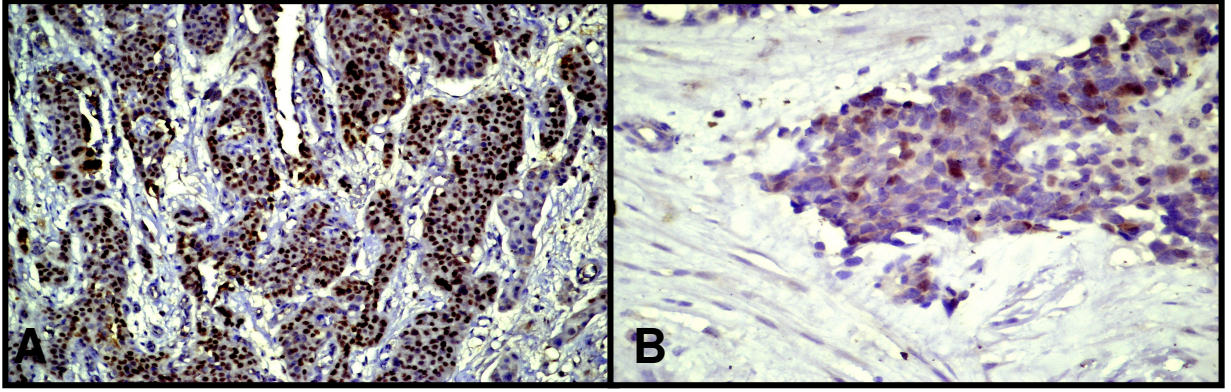
Resim 1: Siklin D1 pozitifliği (Anti Cyclin D1)

A) Ta X400 B-C) T1 X200-X400 D) T2 X200

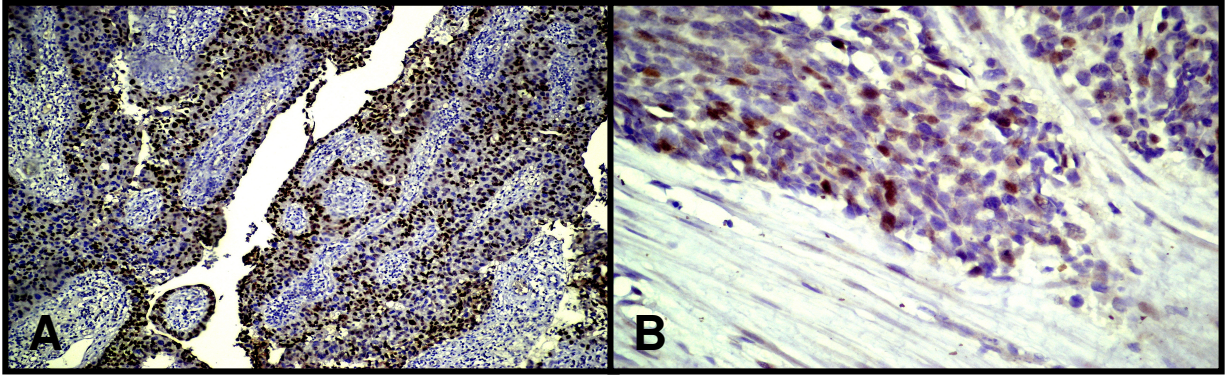


Resim 2: p21 pozitifliği (Anti p21/WAF 1)

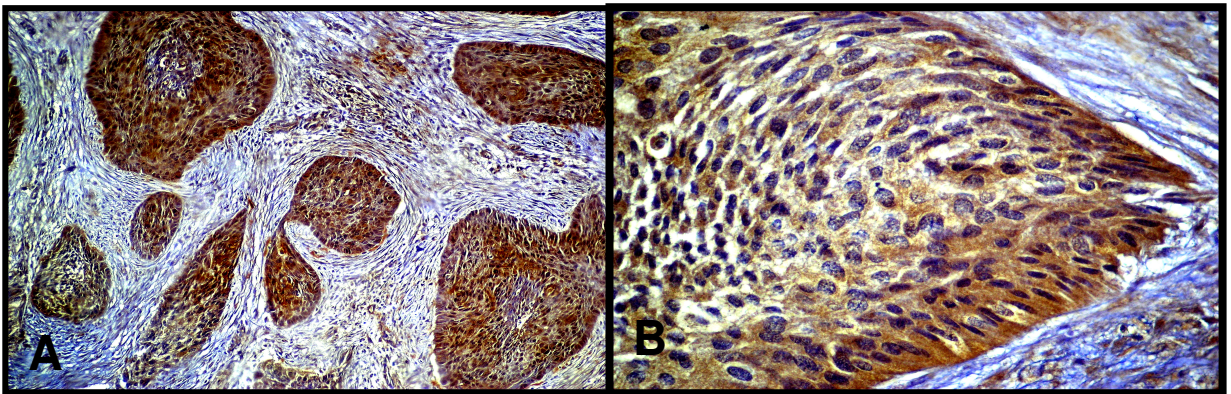
A) Ta X200 B-C) T1 X200-X200 D) T2 X400



Resim 3: p27 pozitifliği (Anti p27/Kip 1) A) T1 X 200 B) T2 X 400



Resim 4: Siklin E pozitifliği (Anti Cyclin E) A) T1 X200 B) T2 X400



Resim 5: Survivin pozitifliği (Anti Survivin) A) T1 X200 B) T2 X400