

T1161



T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

MESANE DEĞİŞİCİ EPİTEL HÜCRELİ  
KARSİNOMLARINDA p53, EPİDERMAL GROWTH  
FAKTÖR RESEPTÖR (EGFR) VE c-erbB-2  
DEĞERLİLİKLERİNİN İMMUNHİSTOKİMYASAL  
YÖNTEMLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Uzmanlık Tezi

T1161 /1-1

Dr.Faruk GÜLEÇ

Tez Danışmanı : Prof.Dr.Gülten KARPUZOĞLU

*"Tezimden kaynakça gösterilerek yararlanılabilir"*

Antalya, 1997

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
Tıp Fakültesi  
Koruyucu Halk Sağlığı Anabilim Dalı

## İçindekiler

Sayfa No :

Giriş	1 - 3
Genel Bilgiler	4 - 25
Materyal ve Metod	26 - 28
Bulgular	29 - 48
Tartışma	49 - 59
Sonuçlar	60 - 61
Özet	62 - 63
Kaynaklar	64 - 78

## GİRİŞ

Mesane karsinomları tüm malign tümörlerin yaklaşık %2'sini oluşturur (40, 129, 137). Mesane karsinomlarının %95'i urothelium kaynaklı olup bunların da yaklaşık %90'ı değişici epitel hücreli karsinom tipindedir (124, 147, 40, 14, 129, 30, 123, 25).

Mesane değişici epitel hücreli karsinomu (DEHK) erkeklerde kadınlara oranla 3-4 misli daha fazla oranda görülmektedir (124, 147, 40, 29). Batı erkek popülasyonunda 5. en yaygın kanserdir ve yıllık insidansı 100.000 de 20 olup bu oran kadınlarda 100.000 de 5 civarındadır (129, 158, 139, 76). Olguların %80'inden fazlası 50 - 79 yaş arasındadır ve 7. dekatta bir pik yapmaktadır (40, 129, 30, 123). Bunun yanısıra genç erişkin ve çocuklarda da bildirilen vakalar vardır (163,60).

Mesane tümörleri özellikle petrokimya sanayinin bulunduğu endüstriyel bölgelerde sık olarak izlenmektedir. Bunun yanında sigara içen ve arilaminlere maruz kalan kişilerde insidansın arttığı bildirilmektedir. Diğer faktörler anilin boyaları, auroaminler, fenasetin ve siklofosfamiddir. Schistosoma Hematobium da mesanede değişici epitel hücreli ve yassı epitel hücreli karsinom gelişimi ile ilişkilidir. Yapılan çalışmalarda Human papilloma virüsün rolü ise hala tartışmalıdır (29, 124, 147, 40, 4).

Mesane DEHK'lar farklı klinik davranış gösteren yüzeysel ve invaziv olmak üzere iki farklı grupta değerlendirilirler (177, 162, 104, 137). Kas tabakasına invazyon göstermeyen yüzeysel tümörler olguların %50-80'ini oluştururlar ve genelde iyi bir prognoza sahiptirler. Yüzeysel tümörler genelde düşük grade de (GI ve GII) olmalarına karşın olguların %60-80'i sıklıkla rekürrens gösterir ve %10-15'inde progresyon izlenir (10, 14, 31, 85, 92, 100, 177, 48, 123). Kas tabakasına invaze tümörlerin çoğu ise yüksek grade'li (GIII) tümörlerdir ve kötü prognoza sahiptirler. İnvaziv tümürlü hastalar radikal cerrahi, radyoterapi ve kemoterapiye rağmen ölüm riski taşırlar (14, 100,104,139,177).

Mesane DEHK'larda özellikle yüzeysel tümörlerde izlenen yüksek rekürrens riski veya mevcut tümörün yüksek grade ve stage'e ilerlemesi, ayrıca %16-30 oranda tümörün birden çok odakta izlenmesi

hastalığın prognozunun belirlenmesinde önemli sorunlara neden olmaktadır (20,40).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda ileri teknikler kullanılarak mesane karsinomunda diğer tümörlerde olduğu gibi malignite gelişiminin birden çok kromozomal lezyonların birikimi ile ilişkili olduğu yolunda yeni sonuçlar elde edilmiştir. Bu değişikliklerin başında da çeşitli onkogenlerin aktivasyonu ve değişik tümör süpressör genlerin inaktivasyonu gelmektedir (105, 154, 158).

Mesane DEHK'larda tümör grade ve stage'i hala prognozun belirlenmesinde kullanılan en önemli parametrelerdir (10, 75, 86, 138). Son yapılan çalışmalar ışığında mesane DEHK'lu olgularda prognozun belirlenmesine yardımcı olabilecek yeni immunhistokimyasal yöntemler bulunmuştur. Bu yöntemler arasında en sık kullanılanları ise p53, Epidermal Growth Faktör Reseptör (EGFR) ve C-erbB-2'dir (154).

Tümör supressör bir gen olan p53 geni, 17 nolu kromozomun kısa kolunda lokalize olup 393 aminoasitli 53 kd ağırlığında bir nükleer fosfoproteini kodlar (85, 17, 166, 49, 117, 137). Bu maddenin hücre siklusunda rol aldığı veya hücre proliferasyonunda genler için inhibitör etki gösteren bir transkripsiyonel faktör olduğu düşünülmektedir (68, 100, 105, 61, 65, 112). Mutasyona uğramamış "wild tip" p53 proteinin normal hücrelerde hızlı döngü nedeniyle konsantrasyonu düşüktür ve yarı ömrü kısadır (5'-10'). Bu nedenle standart immunhistokimyasal yöntemlerle saptanamamaktadır (85, 17, 166, 137). Mutasyonlar, proteinin bazı viral antijen veya hücre ürünlerine bağlanması gibi nedenlerle p53'ün yarı ömrü artabilir, inhibitör rolü azalabilir ve karsinogeneze neden olabilir (162, 100, 160). Mutasyon geçirmiş veya bağlanmış p53 gen ürünlerinin yarı ömrü uzundur ve immunhistokimya ile kolaylıkla saptanabilir (85, 100, 105, 17, 138, 166, 19, 49, 38). Çoğu çalışmaya göre bir geç tümör oluşumu ile ilişkili olduğu ve yüksek grade'li, stage'li tümörlerle bağlantılı olduğu düşünülmektedir (11, 6, 54, 117). Mesane DEHK'larda %54 oranda, p53 nükleer overexpresyonu izlenmiş ve yüksek grade, ileri stage ve kas invazyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (85, 68, 100, 152, 44, 146, 49, 130, 175, 38, 169).

EGFR, moleküler ağırlığı 170.000 olan bir transmembran glikoproteindir (35, 60, 179, 71, 111, 82, 109, 7, 52, 36). EGFR her üç germ yaprağından köken alan hücrelerde bulunur ve ekspresyonu artmış hücre proliferasyonu ile ilişkilidir (84, 133, 52). Eksternal ligand bağlayıcı

bölge, intramembranöz kısa bir segment ve tirozin kinaz aktivitesi olan intrasitoplazmik bölge olmak üzere üç bölümden oluşur (111,127,143,7,52). İnvaziv ve non-invaziv mesane karsinomlarında yaklaşık %40 oranında EGFR'nin ekspresse olduğu, bu olgularda erken ve multipl rekürrens, tümör progresyonu, yüksek stage ve kötü prognozla korele olduğu gösterilmiştir (28,111,127,48,156,133).

C-erbB-2 geni 17. kromozomun uzun kolunda (q21) lokalize, EGFR'ye benzer bir dizilim gösteren bir membran glikoproteini kodlar (137,125,43,92,26,132,174,101,173). Spesifik ligandlara bağlanarak aktive olduğu düşünülmüş ancak varsayılan bu ligand henüz tam olarak açıklanamamıştır (27,174,132,95). Bazı insan tümörlerinde C-erbB-2 proteinin fazla üretildiği veya amplifiye edildiği görülmüştür (100,27,83,173,8). Mesane tümöründe de c-erbB-2'nin ekspresse olduğu gösterilmiş ve bazı yazarlar tümörün invazivliği ve metastaz potansiyelini saptamak için bir marker olabileceğini belirtmişlerdir (137,27,26,174,129,43,83).

Bu çalışmada mesane DEHK'lu olgularda p53, EGFR ve c-erbB-2 değişikliklerinin araştırılıp karşılaştırılması olarak değerlendirilmesiyle prognozun belirlenmesi, tümörün invazivliği ve metastaz potansiyelinin tahminiyle hastanın takip ve tedavisine katkı sağlanması amaçlanmaktadır.

## GENEL BİLGİLER

Mesane pelviste lokalize içi boş bir organdır. Santralde üretra ve her iki kenarda üreterlere bağlı olup, anatomik olarak trigon, lateral posterior ve anterior duvar ile kubbe olmak üzere farklı bölgeleri tanımlanmıştır (67).

Fetal gelişimin 4. ve 7. haftaları arasında ürorektal septum cloaka'yı anorektal kanal ve primitif ürogenital sinüse böler. Primitif ürogenital sinüsün üst ve en büyük parçasından mesane gelişir (67,126,77,14).

Mesane histolojik olarak 3 farklı tabakadan oluşur; Urothelium, lamina propria ve muskularis propria (detrüssör kas). Mesaneyi döşeyen özelleşmiş değişici epitele 1946 yılında Melicow tarafından "Urothelium" terimi verilmiştir (14). Urothelium özelleşmiş "umbrella" hücrelerin yer aldığı bir yüzeyel tabaka, 3 ile 5 sıralı ara hücreler ve bir uzun bazal tabakayı içine alan 3 ile 6 sıradan meydana gelir. Urothelium'un rölatif olarak normal kabul edilebilir olmasının en önemli bulgusu süperfisyel hücrelerin mevcudiyetidir. Mesanenin kollaps veya distansiyone olması durumlarında urothelium'un tabaka sayısı 3 ile 6 arasında değişmektedir. Lamina propria, kan ve lenfatik damarları içeren gevşek bir bağ dokusundan oluşur. Lamina proprianın derin bölümünü detrüssör kas sınırlar. Detrüssör kasa bazal laminadan yaklaşık 1/3 mesafe uzaklıkta düz kasların ince demetlerinden oluşan ve stage'in belirlenmesinde önem taşıyan muskuler mukoza yer alır (67,77,14).

### Mesane Tümörleri

Mesane tümörleri tüm malign tümörlerin yaklaşık %2'sini, üriner sistem malignitelerin ise kadınlarda %3'ünü, erkeklerde yaklaşık %7'sini oluşturmaktadır (129,40,74,137). Kanserden ölümlerin kadınlarda %1'inden erkeklerde %2'sinden sorumludur (129). Tümörlerin %95'i urothelium kaynaklı olup bunların da %90'ından fazlası değişici epitel hücreli karsinomdur. Daha az sıklıkla yassı epitel hücreli karsinom (%3-8) ve adenokarsinom ile nadir olarak sarkom, melanom, küçük

hücreli undifferansiye karsinom, koriokarsinom gibi çeşitli tümörler de görülmektedir (124,147,40,14,129,30,134,76,123,25). Mesanenin epitelyal tümörlerini Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre sınıflanması Tablo 1'de izlenmektedir (103).

A	Değişici epitel hücreli papillom
B	Değişici epitel hücreli papillom, inverted tip
C	Yassı epitel hücreli papillom
D	Değişici epitel hücreli karsinom
E	Değişici epitel hücreli karsinom varyantları
1	Yassı epitel metaplazili
2	Glandüler metaplazili
3	Yassı epitel ve glandüler metaplazili
F	Yassı epitel hücreli karsinom
G	Adenokarsinom
H	Undifferansiye karsinom

Tablo 1 : Mesane Epitelyal Tümörlerin Sınıflandırılması (WHO)

### Mesane Değişici Epitel Hücreli Karsinom

Mesane değişici epitel hücreli karsinom (DEHK) erkeklerde kadınlara oranla daha sık izlenmekte olup bu oran 3-4/1'dir (124,147,40,29). Farklı ülkelerde farklı insidanslarda görülmekle birlikte batı erkek popülasyonunda beyaz erkeklerde prostat, akciğer ve kolorektal karsinomları takiben 4. ve A.B.D.'de 5. en yaygın tümördür (76,129,146,158,139). Beyazlarda siyahlara göre rölatif olarak mesane karsinom riski daha yüksektir (40,124). A.B.D.'de yılda ortalama 50.000 yeni vaka tespit edildiği ve yılda ortalama 10.000 kişinin mesane karsinomundan öldüğü bildirilmektedir. Yıllık insidansı erkeklerde 20/100.000 olup bu oran kadınlarda 5/100.000'dir (147,40,129,30,163, 123,2,162,158,139,63,15).

Birçok solid tümörler gibi mesane kanserleri de yaşlı popülasyon hastalığıdır ve 7. de katta bir pik yapar (40,30,123). Mesane DEHK'lu olguların %80'i 50 - 79 yaş grubu arasında izlenir (129,29,40,30,123). Mesane DEHK'un 40 veya daha genç yaşlarda görülmesi yaygın değildir, nadiren de yaşamın ilk 2. de katında görülür ve bunların çoğu mezodermal orjinlidir (163,124,60). 1950'den bu yana çocuklarda

yaklaşık 100 vaka mesane orjinli DEHK rapor edilmiştir (60). Geniş serilerde tanımlanan genç yaş grubu mesane DEHK'ların karakteristik olarak düşük grade olma eğiliminde olduğu ve nadiren rekürrens gösterdiği izlenmiştir (124). Bununla birlikte bazı yayınlarda bu yaş grubunda tümör rekürrensi ve metastaz saptanan olgular da bildirilmiştir (124,60,163). 1969'da Javodpour ve Mostofi 10.000 hastayı kapsayan urothelial tümürlü hastalardaki çalışmalarında 20 veya daha genç yaşta 40 olgu saptamışlardır (60).

Son yapılan çalışmalarda ailesel veya genetik bir komponentin mesane karsinomu gelişmesinde rolü olduğu bildirilmiştir. Thelen ve Schaeuble 1957 yılında ilk kez DEHK'larda ailesel geçiş rapor ettiler (76). Kantor ve arkadaşları da 45 yaştan daha genç hastalarda yaptıkları çalışmalarında üriner sistem tümörlerinde ailesel bir hikaye buldular (73). Daha sonraları mesane karsinomunda bir ailesel komponente ait birçok çalışmalar yapılmış ancak henüz ailesel geçişin rolü tam olarak aydınlatılamamıştır (40, 76).

Mesane tümörü etiopatogenezinde genetik ve çevresel faktörlerin birlikte rol oynadığı ve çevresel faktörler arasında kimyasal maddelerin daha büyük önem taşıdığı düşünülmektedir (124,147). Mesane tümörleri özellikle petrokimya sanayinin bulunduğu endüstriyel bölgelerde sıktır. 1985'de Rehn boya endüstrisinde çalışanlarda mesane karsinom riskinin artmış olduğunu gösterdi (147,40). Özellikle benzidin ve naftilamin başta olmak üzere anilin boyaları, auraminler, fenasetin ve siklofosomid insan mesane karsinojenleri olarak tanımlanmış ve idrarda triptofan metabolitlerinin karsinojen boyaların endojen ürünleri olduğu kabul edilmiştir (124,147,29).

Sigara içimi ile mesane kanseri arasındaki ilişki tartışmalı olmakla birlikte mesane kanseri gelişimi ve sigara içimi süresi ve miktarı arasında tutarlı bir ilişki bulunmuş ve 16-22 yıl arasında latent periyod gözlenmiştir (4, 147, 40, 146, 29). Sigara içenlerde mesane değişici epitelde atipik nükleuslu hücrelerin sayısında ve epitel sıra sayısında artış izlenmektedir. Auerbach ve arkadaşları sigara alışkanlığı ve değişici epitelde görülen nükleer atipi arasında kesin bir korelasyon gösterdiler (4).

Schistosoma hematobium'un, DEHK ve yassı epitel hücreli karsinomla ilişkili bir patojen olduğu düşünülmektedir ve bu patojenin yoğun oranda bulunduğu yerlerde yüksek oranda mesane karsinomu



görüldüğü bildirilmiştir. Parazitin yumurtaları, mesane duvarında yerleşir ve kronik inflamatuvar cevap ve bunun sonucu epitelde yassı epitel hücre metaplazisi, displazi ve bazı olgularda da neoplazi gelişimine neden olur (29,124,147). Bunun yanında mukozanın uzun süreli lokal irritasyonu, divertikül, taşlar, ekstrofi gibi nedenlerde etiopatogeneizde düşünülen diğer faktörlerdir (124, 147). Human papilloma virüsün mesane karsinomu gelişimindeki rolü ise hala tartışmalıdır (124).

Mesane kanserinin moleküler biyolojik temeli tam olarak açıklanamamıştır. Ancak son yıllarda ileri teknikler kullanılarak yapılan çalışmalarda mesane karsinomunda diğer tümörlerde olduğu gibi malign lezyon gelişiminin birden çok kromozomal lezyonların birikimi ile ilişkili olduğu yolunda yeni sonuçlar elde edilmiştir (140,158,104,162,44,130, 157,27). Bu değişiklikler başlıca çeşitli onkogenlerin aktivasyonu ve değişik tümör süpressör genlerin inaktivasyonudur (154,158,105). Yapılan çalışmalar sonucunda kromozom 3, 4, 8, 9, 11, 13, 17, ve 18 gibi bazı spesifik kromozomlarda allel kaybı ortaya çıkarılmıştır (140,21,28,91,104,162). Moleküler genetik çalışmalarda kromozom 3p ve 17p'de delesyonlar ile tümör grade'inin korele olduğu ve tümör stage'i ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (40,162). Ayrıca 17p'de delesyonlar ile vasküler invazyonun ilişkili olduğu gösterilmiştir (40). Bunun yanında kromozom 9'da monozomi rapor edilmiş fakat grade ve stage ile korele olmadığı izlenmiştir (124). Kromozom 11p'de izlenen anormalliklerin ise invaziv tümörlerde yüzeysel olanlara göre daha sık olduğu ortaya çıkarılmıştır (162). DEHK mesanenin herhangi bir yerinden ortaya çıkabilir ise de olguların %60'ı yan duvarlar ve arka duvarda lokalizedir. Yapılan 100 vakalık bir seri çalışmada tümör lokalizasyonu %37 yan duvarlarda, %18 arka duvarda, %12 trigonda, %11 boyunda, %10 üreteral orifiste, %8 kubbede ve %4 ön duvarda lokalize olduğu izlenmiştir (124,67).

DEHK'lar makroskopik olarak ekzofitik, endofitik ya da her iki şekilde olabilmekle birlikte dört asıl büyüme paterni gösterir (149,29,77,103).

Papiller; mukozaya bir sap ile tutunmuş mesane lümeni içine büyüyen ekzofitik polipoid lezyonlardır.

Düz (flat) lezyonlar; papiller yapılar olmaksızın mukozanın plak benzeri kalınlaşması şeklinde izlenirler. Tümör in situ veya daha sıklıkla infiltratif görünümde olabilir.

İnfiltratif; tümör mesane duvarı içine doğru büyür.

Non-infiltratif; tümör yüzeyde sınırlıdır ve bazal membran tutulumu olmaksızın tümör hücrelerinin proliferasyonu ile mukoza kalınlaşmıştır.

Makroskopik olarak papiller tümörler grade'i ne olursa olsun sistoskopide genelde kırmızı renkte lümen içine uzanmış deniz yosununu andırır bir görünüme sahiptir. Bunun yanında papiller tümörler düz sapsız, nodüler ve ülser kitleler şeklinde de izlenebilirler (124,14,123,77).

Mesane DEHK'lar farklı klinik davranış gösteren "yüzeyel" ve "invaziv" olarak iki grupta değerlendirilirler (177,162,104,137). Yüzeyel DEHK'lar (Pis, Pa, P1) olguların %50-70'ini oluştururlar ve genelde düşük-grade (GI-GII) olup bu grup tümörler kas tabakasına invaze değildirler. Yüzeyel DEHK'lar genelde iyi bir prognoza sahip olmakla birlikte Transuretral rezeksiyonu (TUR) takiben ilk bir yıl içerisinde %60-80 gibi yüksek bir oranda rekürrens riski taşırlar ve %15-20'si yüksek grade ve ileri stage'e ilerleyerek invazyon ve metastaza neden olur (31,85,14,92, 151,104,100,144,171,123,10,31,145,53,158,177,139,48). Bu oran Pis'de %60, Pa'da %5-25 ve P1'de %13-75'dir (85). Ayrıca yüzeyel DEHK'ların bir diğer önemli özelliği teşhiste multifokal özellik taşımasıdır olguların %16-30'unda teşhiste tümör multipl olarak izlenmiştir (20,40,67,51). Bunun yanısıra %25 oranda tümöre komşu mesane mukozasında karsinoma in situ veya displazi gibi epitelde anormallikler izlenir (14,40,129,31,157).

İnvaziv DEHK'ların (P2-3-4) çoğu yüksek grade (GIII) tümörlerdir (177,104). Bu grup tümörlerin %80-91'i ise P2-P3a evrededir (67). Teşhiste kas tabakasına invazyon vardır ve invazyonun olmaması sık karşılaşılan bir durum değildir (162,75). İnvaze DEHK'ların %9-20'sinde de papiller DEHK hikayesi vardır (67). Bu grup tümörler genelde kötü bir prognoza sahiptirler ve hem radyoterapi, hem de radikal sistektomiden sonra ilk 2 yıl içerisinde %50 oranda uzak metastaz gelişme riski taşırlar (14,100,139,92).

Mesane DEHK'da bazı olgulara çeşitli histolojik varyantlar eşlik eder. Genelde intrasitoplazmik müsin vakuelleri taşıyan glandüler

metaplazi ile özellikle yüksek grade'li (GIII) tümörlerde yassı epitel hücre metaplazi odakları izlenir (178, 124, 77, 147). Ward DEHK'un %25-30'unda fokal musin üretimi göstermiştir (164). Ender olarak özellikle berrak hücreli tip DEHK'da musin içeren boşlukların genişlemesi sonucunda 1 mm veya daha büyük boyutta kistlerin izlendiği bir mikrokistik patern gözlenir (124,179,178). Ayrıca DEHK'da berrak hücreler baskın olabilir ve adenokarsinomu taklit edebilir. Bu özellikler yanında overin seröz papiller karsinomuna benzeyen bir mikropapiller patern tanımlanmıştır. Bazen DEHK'da stromada lenfositlerden oluşan yangısal infiltrasyon gözlenir ve nadiren lenfositik infiltrasyon epitelyal komponenti örtebilir ve bir malign lenfomayı taklit edebilir. Bunun yanında özellikle skuamöz differansiasyon gösteren tümörlerde yoğun eozinofillerden oluşan yangısal infiltrasyon izlenebilir. İnfiltrasyon ve nekroz ile bağlantılı olarak da Tamm-Horsfall protein birikimi görülebilir (124).

**Grade :** Mikroskopik olarak mesane DEHK'lar ilk olarak 1922 yılında Braders tarafından tümör hücrelerinin differansiasyon derecesi gözönüne alınarak Grade I, II, III, IV olarak dört grade üzerinden sınıflandırılmıştır (14,77,35). Braders'e göre;

Grade I : Tümörün 3/4'ü differansiye, 1/4'ü undifferansiye

Grade II : Differansiye ve undifferansiye komponentlerin oranı eşit

Grade III : Tümörün 3/4'ü undifferansiye, 1/4'ü differansiye

Grade IV : Tümör hücreleri differansiye olma eğiliminde değildirler.

Ash tarafından da önerilen bu sistem 1940'lı yıllarda geniş olarak kullanılmış ve 1960'lı yıllarda Mostofi ve arkadaşları tarafından modifiye edilmiştir. 1973 yılında ise Dünya Sağlık Örgütü tarafından (WHO) bugün yaygın olarak da kullanılan Grade I, II, II olarak üç grade üzerinde basit bir şekilde sınıflandırılmıştır (124,147,40,14,21, 35,134,113). WHO sınıflamasına göre;

Grade I : Malignite ile uyumlu hücresel anaplazinin en az derecesi

Grade II : Grade I ile III arası

Grade III : Hücresel anaplazinin en şiddetli derecesi

(Tablo 2 ve 3'de değişik Grade sınıflamaları karşılaştırmalı olarak izlenmektedir.)

Ash (1940)	Mostofi (1960)	Bergkvist ve ark. (1965)
DEHK, Grade I	Papillom	DEHK, Grade 0 DEHK, Grade I
DEHK, Grade II	DEHK, Grade I	DEHK, Grade II
DEHK, Grade III	DEHK, Grade II	DEHK, Grade III
DEHK, Grade IV	DEHK, Grade III	DEHK, Grade IV

Tablo 2.

Malmström ve ark. (1987)	WHO (1973)
Grade 0 (Papillom)	Papillom
DEHK, Grade I DEHK, Grade IIA	DEHK, Grade I
DEHK, Grade IIB	DEHK, Grade II
DEHK, Grade III	DEHK, Grade III

Tablo 3.

**Değişici epitel hücreli papillom;** Genellikle 30 ile 60 yaşlar arasında nadir olarak görülen bu benign lezyonlar mesane tümörlerinin %1'inden daha azını oluştururlar ve mesanenin herhangi bir yerinden ortaya çıkabilirler (147,67). Papillomlar ince fibrovasküler stromayı çeviren epitel tabaka sayısı en fazla 6 sıralı izlenen normal görünümde değişici epitel hücrelerinden oluşur (67,29,103). Genelde tek ve küçük lezyonlardır (0,5 ve 2 cm) (29,67). İnce yumuşak, dallara ayrılmış görünümde ve bir sap ile mukozaya yüzeysel olarak tutunmuş olarak izlenirler (67). Mitoz genellikle izlenmez ve olguların neredeyse tamamı diploid'dir (67,29,103). Rekürrens beklenen bir durum değildir ve konservatif olarak transuretral rezeksiyon ile tedavi edilirler. 10 yıllık yaşam süresi %95-98'dir (29,67).

Diffüz papillomatozis ise mesane mukozasının kadife gibi görüldüğü ve mukozanın tamamı yada büyük bölümünde papiller yapıların izlendiği mesane epitelyal tümörlerin özel bir grubudur (103).

DEH'li papillom, inverted tip: İlk defa 1927'de Paschkis tarafından mesanenin "adenoma benzer polibi" veya "adenomu" olarak tanımlanmıştır. Ancak 1963'te Potts ve Hirst bu urothelial tümörü "inverted papillom" olarak tanımlamışlardır (120,67). En sık 5 ve 6. dekatlarda izlenmekte olup E/K oranı 5:1 ile 9:1 arasında bildirilmiştir. Ender görülen bu lezyonun sıklığını Kunze yaptığı bir seri çalışmada %2.2 olarak bildirmiştir (78,80). Lezyonların %93'ü mesanede yerleşmekte ve mesanedeki lezyonlarda %81'i mesane boynu ve trigonda izlenmektedir (78). Çoğunlukla 1-3 cm boyutlarında ve sistoskopide geniş tabanlı, nadiren saplı ancak papiller olmayan polipoid tümörlerdir (80,29). Histolojik olarak farklı büyüme paternleri ve spesifik hücre differansiasyonlarına bakılarak inverted papillom trabeküler ve glandüler olmak üzere 2 temel yapıda izlenirler. Ancak her iki tipte de bütünlüğü bozulmamış epitel ile kaplı endofitik büyüme paterni ile karakteristik umbrella hücreleri mevcuttur, ancak epitelde displastik değişiklikler izlenmez. Lezyon lamina propria içine doğru yayılmış urothelial hücrelerin kord ve kolumnaların anastomozlaşmasıyla oluşmuştur (67). Genellikle benign olarak kabul edilmekle birlikte DEHK ile birlikte görüldüğü vakalar bildirilmiştir (80).

Yassı epitel hücreli papillom; ince bir fibrovasküler stromayı çevreleyen düzenli yassı epitel hücrelerden oluşan papiller bir tümördür (103).

**Karsinoma in situ:** DEHK'lu hastalarda istenmeyen olayların bir habercisi olarak ilk defa 1952'de Melicow tarafından invaziv tümöre komşu mukoza veya herhangi bir yerde düz (flat), yüksek grade, non-invaziv bir lezyon olarak tanımlamıştır (124,147,40,14,122,130,85). Soto ve arkadaşları daha sonra invaziv DEHK'lu olguların 2/3'undan daha fazlasında tümöre komşu alanda karsinoma in situ gösterdiler (124,14). Bunun yanında karsinoma in situ mesanede bir primer lezyon olarak bulunabilir (40,14,110). Nükleer genişleme, hiperkromazi, pleomorfizm ve polarite kaybı izlenen sitolojik anormalliklerdir. Nükleer kromatin kabalaşmış ve nükleolus belirgindir (14). Birçok çalışmalar göstermiştir ki karsinoma in situ biyolojik olarak agresif olup vakaların çoğu invaziv kansere ilerler (40,147,14,110). Melamed ve arkadaşları

izledikleri 25 karsinoma in situ'lu hastanın 9'unda (%36), 8-67 aylık bir dönemde invaziv karsinom geliştiğini rapor etmişlerdir (96). Karsinoma in situ aşağıdaki dört farklı durumun birinde olabilir; (40)

1. Yüzeyel veya invaziv tümöre komşu fokal lezyon olarak
2. Makroskopik tümörler ile bir arada bulunan bir diffüz urothelial lezyon olarak
3. Asemptomatik primer bir fokal lezyon olarak
4. Semptomatik urothelium'un diffüz veya multifokal lezyonları olarak, teşhiste makroskopik tümör ile ilişkili olmayarak.

Karsinoma in situ yaygın olarak papiller veya sapsız tümörlerin tabanını çevreleyen küçük bir odak şeklinde izlenir. İnsidansı yüzeyel tümörlere komşu alanlarda %26-40 olup bu oran yüksek grade'li (GIII) tümörlerde %90-100 gibi yüksek oranda izlenir. Yüzeyel DEHK'a komşu karsinoma in situ varlığı kas invazyonu olasılığı ile güçlü bir şekilde korele olduğu izlenmiştir (40,110).

Karsinoma in situ diffüz veya multifokal olabilir ve hastaların yaklaşık %20 gibi bir oranında bir veya her iki üretere, prostatik üretra veya prostatik duktusa yayılmış olarak izlenebilir (40).

**Papiller Karsinom (DEHK) Grade I:** Makroskopik olarak bu tümörler yumuşak, pembe renkte, sistoskopide pedinküller ile asılı olarak duran eğrelti otuna benzer ince papiller yapılar şeklindedir. Çoğunlukla pedinküllü oldukları gibi pedinkülsüz de olabilirler. Nekroz yok denecek kadar azdır. Mikroskopide papiller yapılar içeren epitel tabaka sayısı 7'den fazla olarak izlenen değişici epitel hücrelerden oluşur. Belirgin nükleer anormallikler izlenmez. Yüzeyel (umbrella) hücreler genellikle mevcuttur. İğsi hücreler veya yassı epitel hücre metaplazisi gözlenebilir (124,147,14,29,77).

**Papiller DEHK Grade II:** Makroskopik olarak pedinküllü veya pedinkülsüz olabilirler. Nekroz nadiren izlenir. Mikroskopide daha da artmış hücre tabaka sayısı yanında nükleer genişleme ve hiperkromazi ile sık olmamakla birlikte mitotik figürler izlenebilir. Ayrıca küçük hiperkromatik hücreler, kolumnar hücreler, rozet benzeri yapı oluşturan hücreler, berrak hücreli veya iğsi şekilli hücreler görülebilir (124,147,29,77).

**Papiller DEHK Grade III:** Bu grup tümörler genellikle sapsız, karnıbahar şeklinde bir görünüme sahiptirler. Nekroz ve ülserasyon sıktır. Mikroskopik olarak papiller yapılar mevcut olabilir ise de bunlar

düzensiz görünümündedir. Tümör hücreleri küçük gruplar halindedir ve mitotik figürler kolayca bulunur. Tümöre yakın mesane epitelinde çoğunlukla atipik hiperplazi ve non-papiller karsinoma in situ'yu içine alan anormallikler bulunur (124,147,14,77).

**Papiller DEHK Grade IV:** Makroskopik olarak bu grup tümörlerin çoğu sapsız karnıbahar benzeri görünümündedirler. Genellikle nekrotik ve ülseredirler. Mikroskopik olarak papiller alanlar çok azdır veya hiç yoktur. Sitolojik olarak hücrel atipik ve pleomorfizm o kadar belirgindir ki, değişici epitel hücrelerin natürü seçilemeyebilir. Mitotik figürler sık olarak izlenir ve çoğunluğu atipik özelliktedir. Grade IV tümörler genellikle yaygın olarak invazivdirler (124,147,14,29,77).

	Epitel hücre tabaka sayısı miktarı	Süperfişyel hücreler	Nükleer Anormallikler	
			Genişleme	Hiperkromazi
Papillom	≤ 7	Mevcut	Belirgin değil	Yok
Papiller karsinom Grade I	> 7	Genellikle mevcut	Hafif - orta	Bazı hücrelerde hafif
Papiller karsinom Grade II	> 7, genellikle belirgin	Değişken, genelde yok	Orta-belirgin	Hücrelerin %25-50'sinde hafif orta
Papiller karsinom Grade III	>7 genellikle belirgin	Yok	Belirgin	Hücrelerin %50'sinden fazlasında belirgin

Tablo 3: Mesane papiller tümörlerin grade şeması. (Armed Forces Institute of Pathology.)

**Non-papiller invaziv DEHK:** Bu grup tümörler mesanenin invaziv kanserlerinin heterojen bir grubunu oluşturur. Makroskopik olarak tümör genellikle iri hacimli ülser kitleler şeklinde olup mesane duvarında herhangi bir alanda lokalize olabilirler. Tümörde hemoraji ve nekroz izlenebilir. Mikroskopik olarak invaziv urothelial karsinomlar yüksek malign tümörlerdir. Genellikle değişik boyuttaki hücrelerin oluşturduğu kord ve adalardan oluşmuş Grade II-III tümörlerdir (14,77). İnvaziv mesane karsinomlarının çoğu okült karsinoma in situ ve mesane epiteli içinde gelişen displazi gibi lezyonlardan ortaya çıkarlar (30,77) Glandüler ve yassı epitel komponent sıklıkla vardır. Tümörün periferinde ve çoğunlukla mesanenin başka bir yerinde karsinoma in situ gibi epitelyal anormalliklerden biri bulunur (30). Ayrıca seyrek

olarak akciğerin küçük hücreli karsinomuna benzer yüksek malign özellik taşıyan küçük hücreli komponent izlenir (77).

**Stage:** İnvaziv DEHK'lu hastalarda en önemli prognostik faktör tümörün stage'idir. Jewett ve Strong 1946'da metastatik potansiyeli mesane duvarına tümörün peretrasyon derinliği ile ilk olarak ilişkilendirdiler ve bir prognostik faktör olarak daha sonra Marshall tarafından modifiye edilen bir stageleme şeması olarak sunmuşlardır (147,124,57,145). Bunun yanında daha sonra benzer bir sınıflama American Joint Committee on Cancer (AJCC) ve International Union Against Cancer (U.I.C.C) tarafından benimsenmiştir (147,40,77).

Jewett-Marshall (Stage)	İnvazyon Derinliği	AJCC (Stage)
O	Non-İnvaziv	Pa, Pis
A	Lamina propria	P1
B1	Yüzeysel, 1/2 muskuler mukoza	P2
B2	Derin, 1/2 muskuler mukoza	P3a
C	Perivezikal yağ dokusuna	P3b
D1	Prostat, vajina, uterus; pelvik ve/veya abdominal duvar	P4a P4b

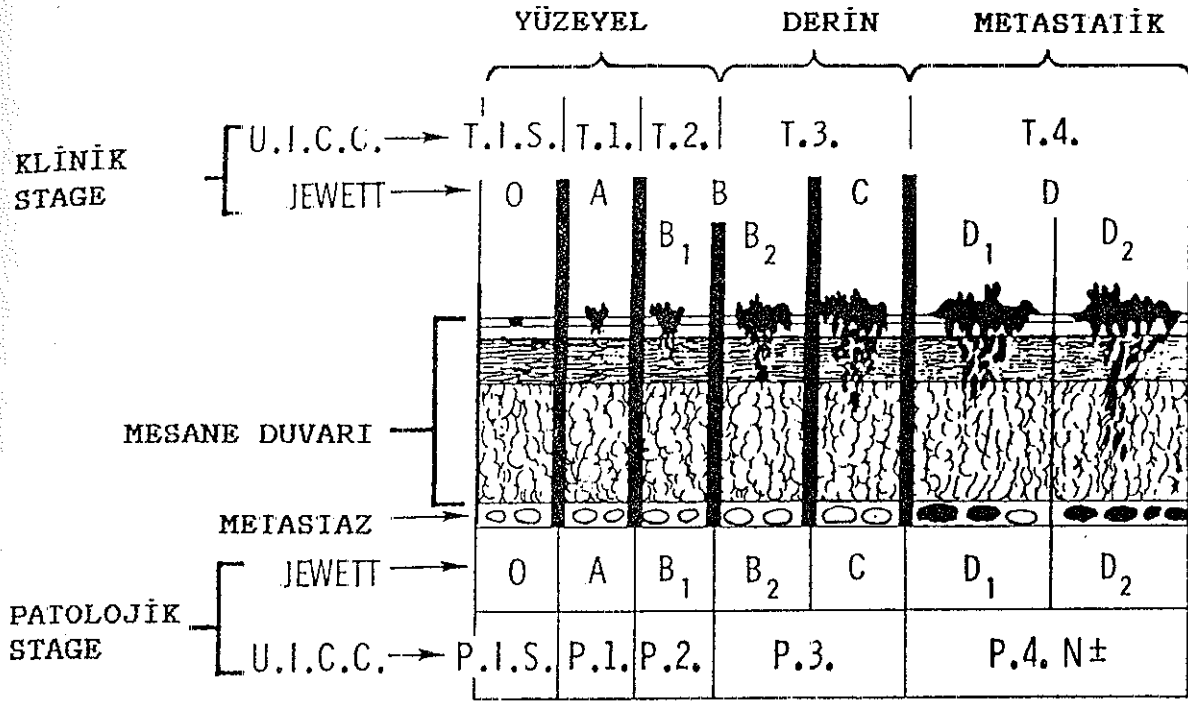
Tablo 4: Mesane karsinomların patolojik stage'lerinin Jewett-Marshall ve AJCC'ye göre karşılaştırmalı olarak sınıflandırılması.

Pa: Papiller in situ

Pis: Düz (flat) in situ.

Mesane DEHK'lu olgularda özellikle İnvaziv olanlarda en önemli prognostik faktör stage'dir (147,145,57,10). Tümörün İnvaziv olup olmaması veya İnvazyonun derinliği uygulanacak tedavi şeklini belirleyeceğinden biopsi örneğinde patoloğ tarafından İnvazyonun derinliği dikkatle tespit edilmeli ve mutlaka rapor edilmelidir (147,113).





Şekil 1: International Union Against Cancer (U.I.C.C) ve Jewett'e göre klinik ve patolojik stage.

İmmunhistokimyasal olarak DEHK'lar farklı keratin tipleri ekspresse ederler. Bu tümörlerde yaygın olarak ekspresse olan diğer markerlar CEA ve Catepsin B (özellikle yüksek grade lezyonlarda), CA19-9 ve leu-M1'dir. Çok pleomorfik olan bazı tümörlerde de HCG, HPL ve SP-1 için immünreaktivite izlenmiştir (124).

ABO kan grup antijenlerde delesyonlar DEHK'da yaygın izlenen bir bulgudur. Bununla bağlantılı olarak populasyonun %94'ünde bulunan Lewis gen ürünü Lewis a antijen tümör grade ve stage'i dikkate alınmadan DEHK'ların %85'inde ekspresedir (124,71,70). Kan grup antijenlerinin kaybı ile EGFR overexpresyonun ilişkili olduğu gözlenmiştir (124).

Bazal lamina komponenti laminin, DEHK'larda boyanması erken stromal invazyonun tespitinde yararlıdır. Tenaskin bir ekstrasellüler matriks proteindir ve yüksek grade, invaziv tümörlerde kuvvetle ekspresedir. AgNOR sayımı da genellikle DEHK'larda yükselmiştir. Ultrastrüktürel olarak yüksek grade DEHK'larda, özelleşmiş junctionlarda azalma ve tümör grade'i göz önüne alınmayarak scanning elektron mikroskopunda pleomorfik mikrovilli'ler gösterilmiştir (124).

## Onkogenler

**p53;** SV40 ile transforme edilmiş hücrelerde bulunmuş ve tanımlanmış, 1979'da keşfedilen 393 aminoasitli 53 kd ağırlığında bir nükleer fosfoproteindir (77,17,117,166,49,137) p53'ün mutasyona uğramamış "wild tip" formunun hücre siklusu regülasyonunda rol oynadığı veya hücre proliferasyonunda genler için inhibitör etki gösteren bir transkripsiyonel faktör olduğu düşünülmektedir (68,100,65,105,61). Normal p53 proteini hücreleri G1 safhasında durdurarak DNA replikasyonu öncesinde potansiyel mutajenik ve karsinojenik hasarın onarımını sağlamaktadır (40,162,85,44,98,138,130,175,38). Normal hücrelerdeki hızlı döngü ve wild tip p53 proteinin yarı ömrünün kısa olması (5-10 dk) nedeniyle konsantrasyonu düşüktür ve bundan dolayı da standart immunhistokimyasal yöntemlerle saptanamamaktadır (85,17,166,137). p53 geni 17'inci kromozomun kısa kolunda p13 bandı üzerinde bulunmaktadır (21,162,158,85,17,166,19,49). Bu bölge insan tümörlerinde allel delesyonlarının en sık görüldüğü bölgedir (131,160). Genin çok çeşitli bölgelerinde mutasyonlar görülmekle birlikte çoğunluğu 5 ve 8'inci ekzonlarda olmaktadır (160,158,39,49).

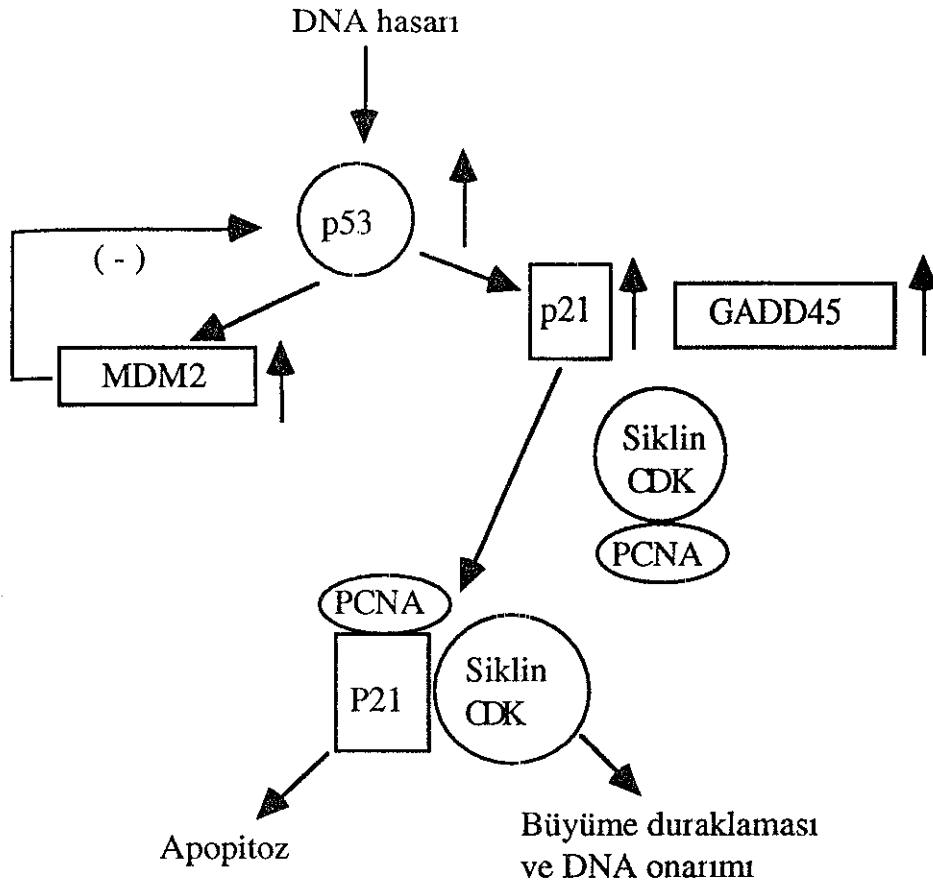
Mutasyonlar, proteinin bazı viral antijen veya hücre ürünlerine bağlanması gibi nedenlerle p53'ün yarı ömrü artabilir, inhibitör rolü azalabilir ve tümörogeneze neden olabilir (162,100,160). Mutant p53 gen ürünlerinin yarı ömrünün uzun olması ve nükleusta birikmesi nedeniyle immunhistokimya ile kolaylıkla saptanabilmektedir (85,100,105,17,138,166,19,49,38).

p53'ün tümör gelişimindeki moleküler temel tam olarak açıklanamamıştır (68,12). p53, SV40 ile transforme hücrelerde, transforme protein olan büyük T antijenine bağlanma özelliği gösterir. Bununla birlikte p53, Adenovirus E1B, Tip 16 ve 18 Papilloma virüs E6 proteinine de bağlanıyor (61,81,66,79,155,115,41,167). İlk yapılan çalışmalarda p53, plazmidleri aktive edilmiş ras ile birlikte kültürde erken evrede transformasyona neden olmuştur. Bu durum p53'ün onkojenik bir özelliğe sahip olduğunu göstermiştir (111,6,153,98,89). Diğer yapılan bazı çalışmalarda Friend virusu ile etkilenmiş sıçan eritrositlerinde her iki kromozomda da p53 gen mutasyonları gözlenmiştir. Bu da p53 geninin bir tümör supressör gen olduğunu

düşündürmüştür (39,159,115). Li-Fraumeni sendromu olan ender hastalarda kalıtsal p53 geni mutasyonları mevcuttur ve bu hastalarda farklı bölgelerde kanser ortaya çıkmaktadır (61,64,34,155).

Karsinogenez için başlıca risk faktörleri DNA hasarına yanıtı, kromozom stabilitesini ve normal hücrelerin proliferasyon kapasitesini kontrol eden genlerdeki bozukluklardır (18). p53 genin kodladığı nükleer protein DNA onarımı, hücre bölünmesi ve apoptoz ile hücre ölümü için önemli olan genlere bağlanır ve modülasyonunda rol oynar (4920,89,88). Hala çalışılmamış bazı mekanizmalar aracılığı ile hasarlı DNA, p53 nükleer proteinin yapımını uyarır, p53'e bağlı olarak p21 ve GADD45 (Growth arrest on DNA damage - DNA hasarına karşı oluşmuş büyüme durdurucu) sentezini başlatır. Bu iki protein daha sonra replikatif DNA sentezinde kofaktör olan PCNA (proliferating cell nükleer antigen) ile etkileşirler. p21 proteini hücreleri büyüme siklusuna sokan siklin-bağımlı kinaz enzimleri inhibe eder. p53 geni aktivasyonu DNA bütünlüğü tekrar sağlanana kadar hücre büyümesini durdurur ve DNA onarımını gerçekleştirir (44,146,175,38,37,18).

p53 geninin uyarılması "apoptoz" adı verilen morfolojik olarak belirli özellikleri gösteren programlı hücre ölümünü de tetikleyebilir (18) Aktive p53, p21 üzerinden hücre ölümünü engelliyen bc1-2'nin miktarını azaltıp, hücre ölümünü kolaylaştıran bax gen miktarını artırarak hücreyi ölüme götürebilir (49,58,34,87,144,102,5). p53 geninin reversibl büyüme durmasını mı, yoksa apoptozu mu yol açacağı hücrel aktivasyonun durumuna bağlıdır (Şekil 2). p53 gende mutasyon olunca ortaya çıkan mutant protein hedef DNA'ya bağlanamıyor ve DNA hasarı olduğunda hücre döngüsünün durması veya ölümü olamıyor (79,18).



Şekil 2: Büyüme duraklaması ve apoptozun p53 tarafından düzenlenmesi

p53 gende meydana gelen mutasyonlar çoğu insan tümörlerinde farklı oranlarda ekspresse olmaktadır (158,68,44,98,93). Kolon, meme, akciğer ve beyin tümörlerinde yüksek oranda bulunurken, endometrium, tiroid, karaciğer, özafagus, başboyun tümörleri ve sarkomlarda düşük oranda ekspresse olduğu gözlenmiştir (152,19,146). Mesane tümörlerinde ise yapılan çalışmalarda p53 proteini için immünreaktivite %54 oranda izlenmiş ve yüksek grade, ileri stage ve kas invazyonu ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (85,68,100,152,44,146,49, 130,175,38,169).

**Epidermal growth factor receptor (EGFR);** moleküler ağırlığı 170.000 olan bir transmembran glikoproteindir (35,60,69,179, 70,111,82,109,7,52). EGFR, reseptör tirozin kinaz tip I ailesinin bir

üyesidir ve EGF (Epidermal growth faktör) ve TGF $\alpha$  (Transforming Growth faktör  $\alpha$ ) sitokinler için bir reseptördür (109,50,111,156,84,127,107,133). Eksternal ligand bağlayıcı bölge, kısa hidropik intramembranöz segment ve tirozin kinaz aktivite içeren intrasitoplazmik bölge olmak üzere üç bölümden oluşur (111,127,143,7,52).

EGFR üç germ yaprağından köken alan hücrelerde bulunur ve ekspresyonu artmış hücre proliferasyonu ile ilişkilidir (84,52,133)

EGF veya TGF $\alpha$ 'nın aktive EGFR'ye bağlanması, proteinlere tirozin rezidüvlerin fosforilasyonuna neden olan kısa dönem sinyal ve bir uzun dönem etki ile reseptörün internalizasyonu ile sonuçlanır (52,82,7). EGFR geni avian eritroblastozis virus'ün v-erbB-1 onkogeninin insan homologudur ve v-erbB-1 onkogen ürünü EGFR'nin sitoplazmik bölümü ile %90 oranında benzerlik gösterir (107,108). Ancak viral v-erbB reseptörde, c-terminal internal bölgenin çoğu ile eksternal ligand bağlayıcı bölge yoktur ve bu parça asıl aktif olan bölümdür (111).

EGFR ekspresyonu insan neoplazmlarında farklılıklar gösterir. Artmış reseptör düzeyi, meme, akciğer, mesane kanseri, gliomlar ve kadın genital sistem tümörlerinde bulunmuştur (156,109,7,133,106,36). Meme kanserlerinde %35, baş-boyun yassı epitel hücreli karsinomlarında %50, Akciğer adenokarsinomlarında %56 ve akciğer yassı epitel hücreli karsinomlarında %84 oranında tespit edilebilmektedir (143,111). Glioblastom multiforme'de EGFR gen amplifikasyonu vakaların %40'ında görülür. Buna karşı EGFR overekspresyonu meme, akciğer, böbrek ve mesane kanserlerinde gen amplifikasyonu nadiren birlikte (111).

İnvaziv ve non-invaziv mesane kanserlerinde yapılan çalışmalarda vakaların yaklaşık %40'ında EGFR'nin ekspresyonu olduğu ve erken ile multipl rekürrens, tümör progresyonu, yüksek stage, grade ve kötü prognozla korele olduğu gösterilmiştir. Survival ve tümör rekürrensi için bir prognostik faktör olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (28,111,156,127,133,48).

**C-erbB-2; (neu,Her-2)** ilk kez in utero etilnitrozüreye maruz kalan ve nöroblastom gelişen ratlarda tespit edilmiştir (43,116,161,172). C-erbB-2, EGFR'de olduğu gibi sisteinden zengin bir ekstrasellüler kısım, membran boyunca uzanan hidrofobik segment ile tirozin kinaz aktivitesi gösteren intrasellüler bir bölgeden meydana gelen, 185 kd ağırlığında

bir transmembran glikoproteindir (100,174,135,101,95,176,165,136). 17. kromozomun uzun kolunda (q21) lokalize olup insan C-erbB-2 gen ürünü ile EGFR karşılaştırıldığında amino asit zincirinde yaklaşık %50 oranında bir benzerlik izlenir (100,84,27,92,43,97). Onkogenik neu gen hücresel neu genden tek bir baz değişikliği (Glutamik asit-valin) gösterdiği izlenmiştir (43).

Spesifik ligandlara bağlanarak aktive olan EGFR'ye benzer olarak C-erbB-2 gen ürünü hücrede transdüksiyon sinyaline sebep olması ve sitoplazmik tirozin kinaz aktivitenin stimülasyonuna yol açması nedeniyle C-erbB-2'nin de spesifik ligandlara bağlanarak aktive olduğunu ve bir "büyüme faktörü geni" olarak davranabileceğini düşündürür. Varsayılan bu ligand henüz tam olarak açıklanamamıştır ancak bu ligand için 30 kd ağırlığında bir glikoprotein tanımlanmıştır (27,174,132,95).

İmmünoelektron mikroskopik çalışmalarda C-erbB-2 gen ürününün immünreaktivitesi sadece hücre membranında değil aynı zamanda sitoplazmik vakuollerde de gösterilmiştir. Yapılan son çalışmalarda C-erbB-2'nin hücre membranına bağlı veya hem membrana bağlı hemde sitoplazmada yada sitoplazmada daha baskın lokalizasyonda olduğu rapor edilmiştir (26).

C-erbB-2 proto - onkogen ürünü urothelium, proksimal ve distal renal tübüller, gastrointestinal epitel ve fetüste bronkiolar epitelde yüksek oranda ekspresse edilmiştir (28, 92). C-erbB-2 onkogen meme, over, gastrointestinal sistem, akciğer ve tükürük bezlerinin adenokarsinomları, mesane DEHK ve renal hücreli karsinom gibi çeşitli insan epitelyal tümörlerinde overekspresse veya amplifiye edilmiştir (100,27,83,8,173). Slamon ve çalışma arkadaşları ilk olarak meme karsinomlarında lenf tutulumu olmayan hastalarda hastalığın rekürrens riski ve c-erbB-2 overekspresyonu arasında bir korelasyon rapor etmişlerdir (142).

Bu bulguların öne sürdüğü c-erbB-2 gen ürününün malign dönüşüm süresince bir potent onkofetal protein olarak etkileyebileceği ve tümörlerin biyofizik davranışlarını yansıtabileceğidir (132). C-erbB-2 ekspresyonu mesane DEHK'larda ise %2-65 oranda ekspresse edilmiş olup çalışmalar neticesinde tümör invazivliği ve metastatik potansiyelin tahmininde bir prognostik marker olabileceği konusunda sonuçlar elde edilmiştir (137,27,26,174,129,43,83).

**Semptom ve Bulgular:** Makroskopik ve mikroskopik hematuri, mesane kanserli hastaların en yaygın klinik bulgusudur. İrritatif semptomlu veya semptomsuz hematüri vakaların yaklaşık %75'inde görülür. Bunun yanında olguların yaklaşık %30'unda vezikal irritasyon yalnız başına semptom olabilir ve bu da sıklıkla karsinoma in situ'ya işaret eder. Tümör üreteral orifisler çevresinde lokalize olursa bir veya iki üreterin tam veya parsiyel tıkanmasıyla hidronefroz ve pyelonefrit meydana gelebilir. İlerlemiş mesane kanserli hastalarda genişlemiş tümör kitlesi nedeniyle veya sinire bası yapmasıyla pelvik ağrıya neden olabilir. Lokal yayılmış lezyonlarda ise rektal obstrüksiyon görülebilir. Bazen alt ekstremitelerde ödem, sekonder lenfatik veya venöz obstrüksiyon ilk bulgu olabilir. Dizüri daha sıklıkla yüksek grade tümörlerde gözlenir ve muhtemelen mesane duvarına invazyonun bir sonucudur (124,147,40,29,67).

Teşhiste standart metodlar sistoskopi ve biyopsidir. Flow sitometrilili veya sitometrisiz üriner sitoloji malign hücreleri tespitinde ve hastaların izlenmesinde yararlı olup rutinde kullanılmaktadır (21,40,1,9,86).

**Tedavi:** Küçük ve lokalize karsinoma in situ olgularda intravezikal kemoterapi geçici ve bazen tam remisyon sağlayabilir ise de bazı kaynaklarda bu lezyonların tedavisinin transuretral rezeksiyon olduğu bazı kaynaklarda ise total sistektominin tavsiye edilen tedavi biçimi olduğu belirtilmektedir (124,147).

Grade I-II kas invazyonu göstermeyen yüzeysel DEHK'larada başlangıçta TUR uygulanır. Ancak hastalığın yüksek rekürrens riski taşıması nedeniyle başlıca, tiyotepo, mitomisin-c ve doksorubisin olmak üzere çeşitli kemoterapotikler ve Bacillus Calmetto - Guerin (BCG) gibi immünmodülatörlerin konservatif cerrahi tedavi sonrası intrakaviter profilakside kullanılmalarına yol açmıştır. Bu tedavilerin yalnızca konservatif cerrahi ile tedavi edilen kontrol grubuna göre progresyon ve rekürrens oranını azalttığı, reoperasyon süresini uzattığı ve sistektomi gereksinimi azalttığı birçok çalışmada gösterilmiştir (59,42,90,124). Mesanenin kasa invaziv DEHK'larda ideal tedavi hala tartışmalı olup radikal sistektomi ve radyoterapi ya tek başına yada ikisinin kombinasyonu günümüzde standart yaklaşımı oluşturmaktadır (168,62,119).

DEHK'lu hastalarda 5 yıllık yaşam süreleri; Pa tümörlerde ve P<sub>1</sub> hastaların %75'inde %90 civarındadır. Solid ve invaziv tümörlerde ise bu oran %20-50 arasındadır (63). Stage P<sub>4</sub> ve bölgesel lenf nodu tutulumu olan hastalarda ise 5 yıllık yaşam süresi oldukça sınırlıdır (147). Yapılan çalışmalarda radyoterapiden sonra 5 yıllık yaşam oranları stage ile tamamen ilişkili olduğu rapor edilmiş olup stage P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>'de %31, stage P<sub>3</sub>'de %20 ve stage P<sub>3</sub>/P<sub>4</sub>'de %15 bulunmuştur (168). Uzak metastaz var ise 5 yıllık yaşam süresi %9'dur (141,63). Tablo 5'de (40) cerrahi tedaviden sonra stage'lere göre 5 yıllık yaşam oranları ve tablo 6'da (147) sistektomi sırasındaki stage'lerine göre 5 yıllık yaşam oranları verilmiştir.

Tedavi şekli	Pis, P <sub>1</sub> (%)	P 2 (%)	P 3 a (%)	P 3 b (%)
Transuretral rezeksiyon	47-81	57-59	14-23	2-7
Segmental rezeksiyon	43-100	43-80	43-80	0-38
Basit sistektomi	27-88	45-52	16-40	2-31
Radikal sistektomi	63-83	50-88	26-60	6-40

Tablo 5: Cerrahi tedavi sonrası stage'lere göre hastaların yaşam oranları

Stage	Smith ve ark. (%)	Pagana ve ark. (%)
Pis	71	70
P <sub>1</sub>	67	75
P <sub>2</sub>	60	63
P <sub>3</sub>	50	31
P <sub>4</sub>	16	21

Tablo 6: Sistektomi sırasındaki stage'e göre 5 yıllık yaşam oranları.

Mesane DEHK lokal olarak ureter, uretra, prostatik duktuslar ve seminal veziküllere yayılabilir. İnvaziv tümörlerin %25'inde pelvik lenf



nodu metastazı izlenir. Uzak metastazları ise en yaygın olarak akciğerler, karaciğer, kemik ve santral sinir sistemine olmaktadır (124 ).

**Prognoz:** mesane DEHK'larda prognozun belirlenmesinde tümörün stage'i ve grade'i en güvenilir parametrelerdir (75,86,10,138,134). Ayrıca tümörün büyüme paterni, lenfatik invazyon ve lenf nodu metastazı prognostik öneme sahip diğer parametrelerdir. Bunun yanında araştırmacılar konağın immünolojik durumunun prognostik öneme sahip olduğunu bildirmektedirler (86,21,149).

Papiller DEHK'da rekürrens veya progresyon için önemli prognostik faktörler tanımlanmıştır (151,67,94).

- Yüksek tümör grade'i
- Bazal membran bozulması
- Muskuler mukozaya veya daha aşağıya invazyon
- Detrüör kas tutulumu
- Damar invazyonu (kan veya lenfatik)
- Tentacular invazyon
- Karsinoma in situ birlikteliği
- Tümör boyutu ve multipl olması

Yüzeyel DEHK'lar (P1s, Pa, P1) genelde düşük grade (GI-GII) olup bu tümörler iyi bir prognoza sahiptirler, ancak olguların %50-80'i TUR'dan sonra ilk bir yıl içerisinde rekürrens gösterirler ve %10-15 oranda tümör progresyon göstererek invazyon ve metastaz gelişir (139,85,162, 33,100,31,92,151,53,128,171,170,158,177). Bu nedenle bu grup tümörler klinik takip ve dikkatli gözleme ihtiyaç duyarlar (158,139).

İnvaze DEHK'ların (P2, P3, P4) çoğu yüksek grade (GIII) tümörlerdir. Bu grup tümörlerin %80-91'i P2-p3a tümörlerdir ve teşhiste kas tabakasına invazyon vardır (67). İnvaze DEHK'lar kötü bir prognoza sahiptirler ve yaklaşık %50'sinde sonradan metastaz gelişir

(92,100,162,118). İnvaziv mesane kanserli hastalar için en önemli prognostik faktör sistektomide lenf nodu tutulumunun varlığıdır (141). İnvaziv DEHK'lu hastalar kemoterapi, radyoterapi ve radikal cerrahiye rağmen bu hastalıktan ölme riskindedirler (139,158,69,177,104,14,100).

Mesane DEHK'larda tümörün perivezikal yağ dokusuna yayılımı kötü prognozu göstermektedir. Lenf nodu tutulumu da kötü prognoz belirtisidir ve lenf nodu tutulumu gösteren hastalarda uzun süreli yaşam neredeyse sıfırdır (124,86,148).

Mesane DEHK'lu hastaların %80'i 50 -79 yaşlar arasındadır ve 40 yaş altında nadirdir (163,40,129,30,123). Yaşamın ilk iki dekatında ise az sayıda olgu bildirilmiştir ve bu yaş grubunda tümör iyi differansiye ve non-invaziv olma eğiliminde olup agresif vakalar bildirilmiş ise de iyi bir prognoz gözlenmiştir ( 163,60,124).

Mesane DEHK yüksek grade lezyonların mesane kubbesinde, düşük grade tümörleri ise üreteral orifisler ve yan duvarlara lokalize olma eğiliminde oldukları gözlenmiştir. Mesane boynunda lokalize tümörlerin daha kötü prognoza sahip oldukları izlenmiştir (124).

Tümörden bağımsız veya tümör kitlesinden uzakta mevcut mesane mukozasındaki displastik değişiklikler, karsinoma in situ bir yüksek rekürrens oranıyla ilişkilidir (124,14,56).

Mesane DEHK'lu olguların çoğu ekzofitik papiller paternde büyüyen yüzeyel tümörlerdir. Düz (flat) tümörler invazyon ve metastaz yapma eğiliminde agresif tümörlerdir. Her iki paterndeki tümörler invaziv olabilmekle birlikte günümüzde düz tümörlerin papiller paterne göre daha hızlı ve sık invaziv yaptığına inanılmaktadır. Birçok çalışmada tümör büyüme paterninin bir prognostik faktör olarak güçlü bir değer taşıdığı bildirilmiştir (147,30,21,149).

Mikroskopik olarak lenf veya kan damarlarında tesbit edilen tümör invazyonu artmış rekürrens oranıyla ilişkilidir ve tümörün derinliği ile vasküler invazyon sıklığı artmaktadır (145). Tümörde lenfosit infiltrasyon yoğunluğu Pa, P1 tümörlerde progresyon ve tümör grade'i ile koreledir, fakat istatistiksel analizlerde anlamlı bulunmamıştır (124,86). ABH kan grup antijenleri özellikle yüksek grade tümörlerde belirgin olarak azalmakta veya bulunmamaktadır. Bu delesyon invaziv özelliğin kazanılması, rekürrensin artışı ve agresif klinik gidiş ile korele görünmektedir (151,124,29,67).

DNA ploidy özellikle grade II mesane tümörlerinde bağımsız prognostik bir değer taşıdığı ispat edilmiştir. Histopatolojik grade ve klinik gidiş ile DNA ploidy arasında yüksek oranda korelasyon gösterilmiştir (86,91,168).

Tümör grade'i ile hücre proliferasyon markerları korele izlenirken bu korelasyon stage'de izlenmemektedir. Bazı serilerde yüksek mitoz sayısı veya yüksek S-faz fraksiyon varlığının prognozun bağımsız habercisi olabileceği gösterilmiştir. Benzer sonuçlar grade II tümörlerde immunhistokimyasal olarak Ki-67 pozitif hücrelerin saptanmasıyla da elde edilmiştir (124,151,134).

## MATERYAL VE METOD

### **Olgular;**

Bu çalışmada 01.01.1981 - 01.06.1997 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gelen tüm biopsiler taranarak 265 adet mesane değişici epitel hücreli karsinoma ait biopsi tespit edildi.

Formalinle fikse edilip, parafine gömülü olarak saklanan dokular arasından 20 Grade I, 20 Grade II ve 20 Grade III mesane değişici epitel hücreli karsinom tanısı almış 60 olguya ait materyaller seçilerek retrospektif olarak yeniden değerlendirildi.

### **Arşiv Kayıtları:**

Seçilen olguların arşiv kayıtlarından yaşları, cinsiyetleri, materyallerin alınma şekli (ameliyat-biyopsi), yılı, makroskopik özellikleri ve lokalizasyonları ile ilgili bilgiler elde edildi.

### **Histopatolojik Parametrelerin Elde Edilmesi:**

Çalışmaya alınan olgulara ait parafin bloklardan hazırlanan 4-5 µm kalınlığındaki kesitler Hematoksilen-Eosin (HE) boyama yöntemi ile boyandı ve hepsi yeniden incelenerek değerlendirildi. Tümörün büyüme paterni (yüzeyel-invaziv), grade'i (Dünya Sağlık Örgütü WHO)'ya göre Grade I-II-III olarak) ve stage'i (Jewett-Marshall ve AJCC'ye göre) yeniden değerlendirildi.

### **İmmunhistokimyasal Boyama Yöntemi:**

İmmunhistokimyasal olarak "Streptavidin-Biotin Kompleks" yöntemi ile p53 (No-7), EGFR (113), C-erbB-2 (CB-11) antikoları uygulandı (Tablo 7).

Chromalum-Jelatin Adhesive ile kaplanan lamlara alınan 4-5µm kalınlığındaki kesitler, 58°C'de etüvde yaklaşık 1.5 saat kurutulup, ksilolde 3 kere 5'er dakika bırakılarak deparafinize edildi. Daha sonra azalan derecelerde alkollerden geçirilip distile suya alınarak hidrate

edildi. Bundan sonra doku kesitlerine antijenlerin yeniden kazanılması amacıyla mikrodalga fırında ısıtma esasına dayanan "Antigen Retrieval" işlemi uygulandı. P53, EGFR ve C-erbB-2 için hazırlanan kesitler 0.01 molar ve pH 6 olarak hazırlanan sitrat (trisodyum sitrat) solüsyonu içinde mikrodalga fırında sıvı seviyesi lamaların üzerini kapatacak ve kesitler kurumayacak şekilde 90°C'de 10 dakika "antijen geri kazanım" işlemine tabi tutuldu.

Streptavidin-Biotin peroxidase yöntemi ile immunhistokimyasal boyama aşağıdaki gibi gerçekleştirildi.

1. Endojen peroksidaz enzim blokasyonu için %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solüsyonu ile kesitler 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra preparatlar tamponlanmış fosfat solüsyonunda yıkanarak 5 dakika bekletildi.
2. Primer antikor ile üzerleri kaplanan doku kesitleri 60 dakika inkübe edildi.
3. Primer antikor ile enzim taşıyan antikor arası bağlayıcı görev yapan Linking Reagent (Dako, Germany) ile doku kesitleri 20 dakika inkübe edildi.
4. Kesitler tamponlanmış fosfat solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
5. Labelling reagent (Dako, Germany); Streptavidin ile konjuge edilmiş "horseradish peroxidase" ile dokular 20 dakika inkübe edildi.
6. Kesitler tamponlanmış fosfat solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
7. Chromogenic substrate (DAB) (Pako, Germany) ile 10 dakika inkübe edildi.
8. Preparatlara HE (Dako, Germany) ile zıt boyama yapıldı ve kapatıldı.

Bütün inkübasyonlar oda sıcaklığında ve nemli ortamda uygulandı. Renklendirici olarak Diaminobenzidine (DAB) kullanıldı ve oluşan kahverengi renk reaksiyonu boyanma şiddetine göre değerlendirildi. p53 antikoruna ile yapılan immunhistokimyasal boyama çekirdek boyanması, EGFR ve c-erbB-2 için plazma membranı ve/veya sitoplazma boyanması pozitif olarak kabul edildi. Ayrıca her üç antikor için boyanan alan yüzdesi negatif (%0) 0, %10'dan daha az +, %10-50 arası ++ ve %50'den fazlası +++, boyama şiddetinde hafif; +, orta; ++ ve şiddetli; +++ olarak skorlandı.

Tablo 7: Kullanılan Monoklonal antikörlerin özellikleri

	Klon	Kaynak	Dilüsyon	Boyanma Paterni	Pozitif Kontrol
p53	DQ-7	DAKO (Mause)	1/50	Çekirdek	Kolon Adenokarsinom
EGFR	113	NOVO (Mause)	1/20	Hücre membranı ve/veya stoplazma	Kolon Adenokarsinom
C-erbB-2	CB-11	NOVO (Mouse)	1/40	Hücre membranı ve/veya stoplazma	Meme karsinomu

İstatistik; Elde edilen sonuçları değerlendirirken grup içi karşılaştırmalarda ve gruplar arası karşılaştırmalarda ki-kare testi ve korelasyon testleri (Spiramine) kullanıldı.

## BULGULAR

Bu çalışmadaki mesane DEHK'lu 60 hastanın demografik özellikleri, histopatolojik bulguları Grade I, II, III gruplarında p53, EGFR ve c-erbB-2 ile immunhistokimyasal boyanma sonuçları tablo 9, 10, 11' de görülmektedir.

### Cinsiyet ve Yaş:

Çalışmaya alınan 60 DEHK olgunun 11'i kadın; 49 tanesi de erkek hastaydı. Kadın/erkek oranı yaklaşık 1/4.4 olarak bulundu. Kadın hastalarda yaş aralığı 46-80 ve yaş ortalaması 62.8, erkek hastalarda ise yaş aralığı 26-87 olup yaş ortalaması 60.2 olarak saptandı. Tablo 8'de kadın ve erkek hastalara ait yaş dağılım tablosu izlenmektedir.

Erkek	En küçük yaş	26
	En büyük yaş	87
	Yaş ortalaması	60.2
	Hasta sayısı	49
Kadın	En küçük yaş	46
	En büyük yaş	80
	Yaş ortalaması	62.8
	Hasta sayısı	11

Tablo 8: Olguların cinsiyet ve yaş dağılımı.

No	Biyopsi No	Cins	Yaş	Alınma Şek.	Lokalizasyon	Büyüme Paterni	Tipi	Stage		İmmunohistokimya		
								Jewett	AJCC	P53	EGFR	C-erbB-2
1	1249-97	K	49	TUR	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	++
2	3840-96	K	64	TUR	Arka duvar	Papiller	yüzeyel	O	Pa	-	-	-
3	2502-95	E	53	TUR	Sol yan duvar	Düz(Flat)	Yüzeyel	A	P1	-	-	-
4	921-94	E	49	TUR	Sol Orifis çevresi	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	-
5	2418-93	E	53	TUR	Sağ yağ duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	-
6	1447-91	E	41	TUR	Arka duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	++	-
7	1036-90	E	45	TUR	Sağ orifis çevresi	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	++
8	1699-89	E	84	TUR	Sağ orifis çevresi	Papiller	İnvaziv	B1	P2	-	-	+++
9	2978-88	E	66	TUR	Collum	Papiller	İnvaziv	B2	P3a	-	-	-
10	1306-88	K	80	TUR	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	++	-	++
11	312-88	E	65	TUR	Sağ orifis çevresi	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	+++
12	2379-87	K	63	TUR	Arka duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	++
13	36-87	E	30	TUR	Sol orifis çevresi	Düz (flat)	Yüzeyel	A	P1	-	-	-
14	4473-86	E	26	TUR	Collum	Papiller	Yüzeyel	O	Pa	-	-	-
15	4297-86	E	64	TUR	Arka duvar	Papiller	Yüzeyel	O	Pa	-	-	+++
16	2888-86	E	55	TUR	Arka duvar	Papiller	Yüzeyel	O	Pa	-	-	-
17	1421-85	E	70	TUR	Sol yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	-
18	1263-85	E	76	TUR	Collum	Papiller	Yüzeyel	O	Pa	+++	+	++
19	2751-84	E	82	TUR	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	-
20	1595-83	E	67	TUR	Sol yan duvar	Papiller	Yüzeyel	O	Pa	-	-	+

Tablo 9: Grade I olguların demografik özellikleri, histokimyasal bulguları ve immunohistokimya boyanma sonuçları.



No	Biyopsi No	Cins	Yaş	Alınma Şek.	Lokalizasyon	Büyüme Paterni	Tipi	Stage		İmmünohistokimya		
								Jew.	AJCC	P53	EGFR	C-erbB-2
1	2183-97	E	65	TUR	Arka duvar	Papiller	İnvaziv	B1	P2	+	-	++
2	2009-97	K	55	TUR	Trigon	Papiller	Yüzeyel	A	P1	++	-	++
3	1742-97	E	64	TUR	Kubbe	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	-
4	13-97	K	69	IUR	Sol yan duvar	Papiller	İnvaziv	B1	P2	+++	+	+++
5	4187-96	K	52	TUR	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	++
6	3403-96	E	47	TUR	Orifis çevresi	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	++
7	794-96	E	63	TUR	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	-
8	5726-95	E	70	TUR	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	++	-
9	2589-95	E	85	IUR	Arka duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	++	++
10	6202-94	E	61	TUR	Trigon	Papiller	Yüzeyel	A	P1	+++	++	++
11	6135-94	E	57	IUR	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	-
12	5499-94	E	66	TUR	Sol yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	++	++	++
13	4655-94	K	65	TUR	Sol orifis çevresi	Papiller	Yüzeyel	A	P1	++	++	-
14	4558-93	E	68	KUR	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	++
15	3450-93	E	47	R.sistektomi	Trigon	Düz(flat)	İnvaziv	B1	P2	-	-	-
16	3246-93	E	38	IUR	Arka duvar	Papiller	İnvaziv	B1	P2	-	-	-
17	1819-93	K	55	IUR	Arka duvar	Papiller	İnvaziv	B1	P2	-	-	++
18	3583-92	E	35	IUR	Sol yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	+++	++	-
19	2230-92	E	63	IUR	Arka duvar	Papiller	İnvaziv	B1	P2	+	-	-
20	690-92	E	63	IUR	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	-

Tablo 10: Grade II olguların demografik özellikleri, histokimyasal bulguları ve immünohistokimya boyanma sonuçları.

No	Biyopsi No	Cins	Yaş	Alınma Şek.	Lokalizasyon	Büyüme Paterni	Tipi	Stage		İmmünohistokimya		
								Jew.	AJCC	P53	EGFR	C-erbB-2
1	1339-96	E	69	TUR	Sağ yan duvar	Düz	İnvaziv	C	P3b	+	+	++
2	4612-95	E	46	TUR	Arka duvar	Düz	İnvaziv	B2	P3a	+	-	-
3	2251-95	E	49	TUR	Sol orifis çevresi	Düz	İnvaziv	D1	P4 N (-)	+	+	-
4	101-95	K	68	TUR	Sağ yan duvar	Papiller	İnvaziv	B2	P3a	++	+	++
5	5120-94	E	57	R siste ktomi	Arka duvar	Düz	İnvaziv	C	P3b	-	-	-
6	2041-93	E	68	TUR	Trigon	Papiller	İnvaziv	B1	P2	+++	-	-
7	85-92	K	71	TUR	Sağ orifis çevresi	Düz	İnvaziv	B2	P3a	++	-	-
8	3075-91	E	45	TUR	Sol yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	++	-	+++
9	1680-90	E	43	TUR	Sol yan duvar	Düz	İnvaziv	D1	P4 N (-)	++	++	++
10	221-90	E	56	TUR	Arka duvar	Düz	İnvaziv	C	P3b	+	-	-
11	3195-89	E	68	TUR	Arka duvar	Düz	İnvaziv	B1	P2	++	-	-
12	746-89	E	72	TUR	Trigon	Papiller	İnvaziv	B1	P2	++	-	-
13	3179-88	E	74	TUR	Trigon	Papiller	İnvaziv	B1	P2	+	-	+
14	2707-88	E	60	TUR	Sol yan duvar	Papiller	İnvaziv	B1	P2	+	++	++
15	2661-87	E	87	TUR	Arka duvar	Düz	İnvaziv	B1	P2	+	-	+++
16	2324-87	E	63	TUR	Sağ yan duvar	Papiller	İnvaziv	B2	P3a	+++	+	++
17	967-86	E	77	TUR	Collum	Düz	İnvaziv	B2	P3a	++	+	-
18	811-85	E	75	TUR	Kubbe	Papiller	Yüzeyel	A	P1	++	++	+
19	2766-84	E	55	TUR	Sol yan duvar	Düz	İnvaziv	B1	P2	+	+	++
20	1251-83	E	74	TUR	Sol yan duvar	Düz	İnvaziv	D1	P4 N (+)	+++	+	++

Tablo 11: Grade III olguların demografik özellikleri, histokimyasal bulguları ve immünohistokimya boyanma sonuçları.

### Morfolojik Özellikleri:

Mesane DEHK olgularda materyallerin 58'i Transuretral rezeksiyon (Tur-M) ile 2'si radikal sistektomi ameliyat materyallerinden elde edildi. İncelenen 60 DEHK'lu olgunun 24 tanesi (%40) yan duvarlarda, 15 tanesi (%25) trigonda, 4 tanesi (%6,6) boyun bölgesinde ve 2 tanesi (%3,3) de kubbe'de lokalize idi (Tablo 12). Grade I tümörlerin 16 tanesi (%80) yüzeysel papiller tümör, 2 tanesi yüzeysel düz (flat) tümör (%10) ve 2 tanesi de invaziv papiller tümördü (%5) ve 5 tanesi (%25) invaziv düz paterndeydi. Grade III tümörlerin ise 2 tanesi (%10) yüzeysel papiller görünümde izlenirken 6 tanesi (%30) invaziv papiller ve 12 tanesi de (%60) invaziv düz tümörlerdi. Çalışmaya aldığımız 60 DEHK olgunun %56.6'sı yüzeysel (Pa, P1) %43.3'ü ise invaziv (P2, P3, P4) evrede saptandı (Tablo 13).

Lokalizasyon	Grade I	Grade II	Grade III	T	%
Yan duvarlar	7	9	8	24	40
Arka duvar	5	5	5	15	25
Trigon	-	3	3	6	10
Boyun	3	-	1	4	6.6
Ureteral orifisler	5	2	2	9	15
Kubbe	-	1	1	2	3.3
Ön duvar	-	-	-	0	0

Tablo 12: Mesane DEHK olguların lokalizasyon dağılım ve yüzdeleri.

Grade	Papiller	Düz (Flat)	İnvaziv Papiller	İnvaziv Düz	T
	T (%)	T (%)	T (%)	T (%)	
I	16 (80)	2 (10)	2 (10)	- -	20
II	14 (70)	- -	5 (25)	1 (5)	20
III	2 (10)	- -	6 (30)	12 (60)	20
Toplam	32	2	13	13	60

Tablo 13: DEHK olguların büyüme paternlerin grade'lere göre dağılımı.

Mesane DEHK'lu 60 olgunun 34 tanesi (%56.6) yüzeysel, 26 olgu (%43.3) invaziv olarak saptandı ( $p<0.05$ ) (Tablo 14). Olguların patolojik evreleri Jewett-Marshall'a göre; Grade I tümörlerin 6 tanesi evre 0, 12 tanesi evre A, 1 tanesi evre B1 ve 1 olgu evre B2, Grade II tümörlerin; 14 tanesi evre A, 6 tanesi ise evre B1, Grade III tümörlerin; 2 olgu evre A, 7 olgu evre B1, 5 olgu evre B2, 3 olgu evre C ve 3 olguda evre D1 olarak değerlendirildi (Tablo 15). AJCC sınıflama sistemine göre Grade I tümörler; 6 olgu Pa, 12 olgu P1, 1 olgu P2 ve 1 olgu P3, Grade II tümörler; 14 olgu P1 ve 6 olgu P2, Grade III tümörler; 2 olgu P1, 7 olgu P2, 8 olgu P3 ve 3 olgu da P4 olarak saptandı (Tablo 16). Grade III P4 olan 3 olgudan birinde çevre yumuşak dokuya, bir olguda üretraya ve bir olguda da çevre yumuşak dokuya yayılım ve lenf nodülüne metastaz izlendi. Bunun yanında Grade II tümörlü olguların birinde tümöre komşu alanda karsinoma in situ ile bir olguda yassı epitel hücre metaplazisi izlendi. Grade III tümör grubunda ise iki olguya skuamöz, differansiyasyon, iki olguya adenoid ve skuamöz differansiyasyon, bir olguya adenoid differansiyasyon ve bir olguya iğ şekilli hücre komponenti eşlik ediyordu. Ayrıca Grade III iki olguda damar ve perinöral invazyon varlığı saptandı. Çalışmamızda damar, perinöral ve lenf nodu metastazı olan olgu sayımızın sınırlı olması nedeniyle istatistiksel bir çalışma yapılamadı.

	Grade I	Grade II	Grade III	Toplam	%
Yüzeysel	18	14	2	34	56.6
İnvaziv	2	6	18	26	43.3

Tablo 14: Olguların tanı anında stage'lerin dağılımı ( $p<0.05$ )

Grade	O	A	B1	B2	C	D1
I	6	12	1	1	-	-
II	-	14	6	-	-	-
III	-	2	7	5	3	3

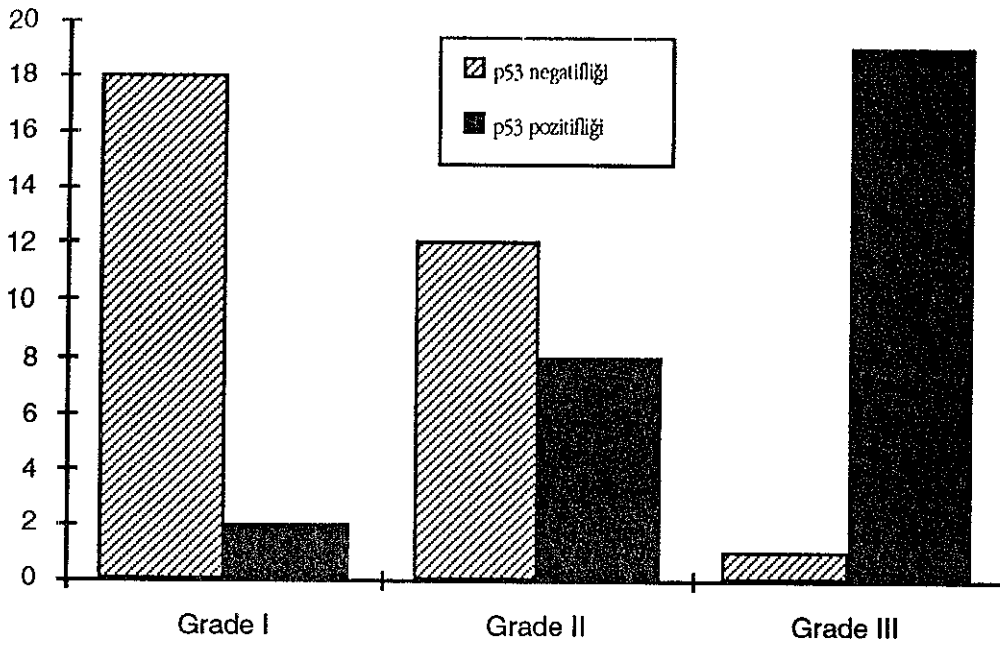
Tablo 15: Jewett-Marshall'a göre patolojik evrelerin grade'lere göre dağılımı

Grade	Pa		P1		P2		P3		P4	
	T	(%)	T	(%)	T	(%)	T	(%)	T	(%)
I	-	-	12	(60)	1	(5)	1	(5)	-	-
II	-	-	14	(70)	6	(30)	-	-	-	-
III	-	-	2	(10)	14	(23.3)	9	(15)	3	(5)

Tablo 16: AJCC'ye göre patolojik evrelerin grade'lere göre dağılımı.

### İmmunhistokimyasal Bulgular:

p53 immunhistokimyasal tekniğinde, fokal boyanma gösterenlerde dahil olmak üzere nükleer boyanma gösterenler pozitif olarak kabul edildi. 60 hastanın 29'unda %48.3 oranda p53 için pozitiflik saptandı. 20 grade I tümörlerin 2'sinde (%10), 20 grade II tümörlerin 8'inde (%40) ve grade III 20 olgunun 19'unda (%95) p53 pozitifliği izlendi (Tablo 17). Grade III tümörlerde grade I ve II tümörlere göre p53 pozitifliği yönünden anlamlı fark gözlemlendi ( $p < 0.001$ ) (Grafik 1), P2-3-4 grubunda (%73) Pa ve P1 grubuna (%29) göre de daha fazla oranda p53 pozitifliği saptandı ve bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.001$ ).



Grafik 1. DEHK olgularda grade'lere göre p53 boyanma dağılımı.

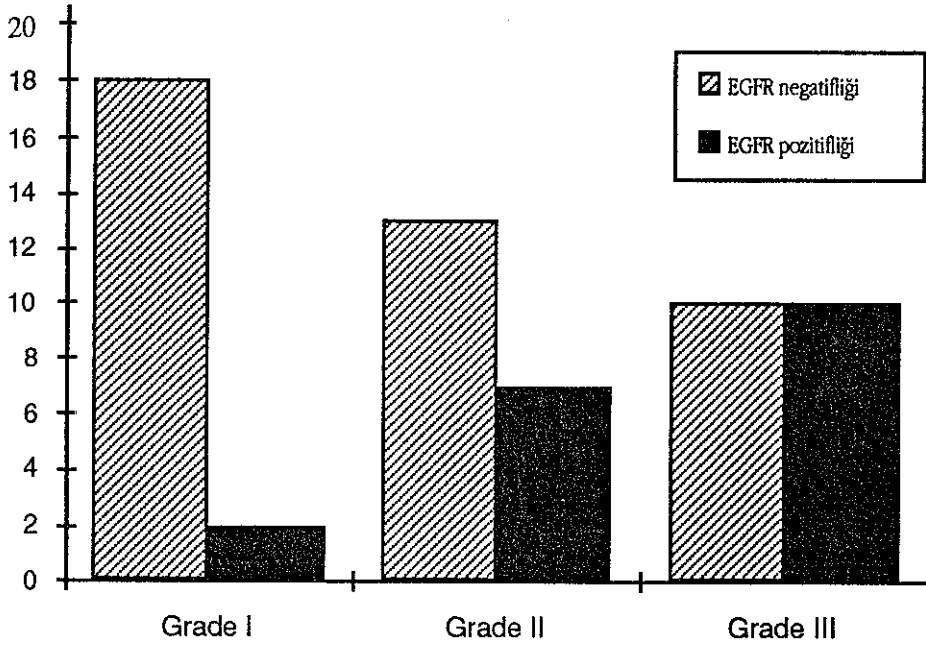
Grade	p53 imh.k boyaması			Toplam
	Pozitif	(%)	Negatif	
I	2	(10)	18	20
II	8	(40)	12	20
III	19	(95)	1	20
Toplam	29	(48.3)	31	60

Tablo 17: p53 immunhistokimyasal boyamanın grade'e göre pozitiflik, negatiflik ve pozitif yüzde oranları.

( $\chi^2= 29.76$ ,  $SD=2$ ,  $p<0.001$ )

EGFR immunhistokimyasal tekniğinde, fokal boyanma gösterenlerde dahil olmak üzere membran ve/veya sitoplazma boyanma gösterenler pozitif olarak kabul edildi. 60 hastanın 19'unda (%31.6) pozitiflik gözlemlendi. Grade I tümörlerin 2'sinde (%10), Grade II tümörlerin 7'sinde (%35) ve Grade III tümörlerin 10'unda (%50) pozitif boyanma saptandı (Tablo 18). Grade III tümörlerde Grade I ve Grade II tümörlere göre EGFR pozitifliği yönünden anlamlı fark gözlemlendi ( $p<0.05$ ) (Grafik 2). p2-3,4 grubunda (%38), pa ve p1 grubuna (%26) göre daha fazla

oranda EGFR pozitifliği saptandı ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ).



Grafik 2: DEHK olgularda grade'lere göre EGFR boyanma dağılımı

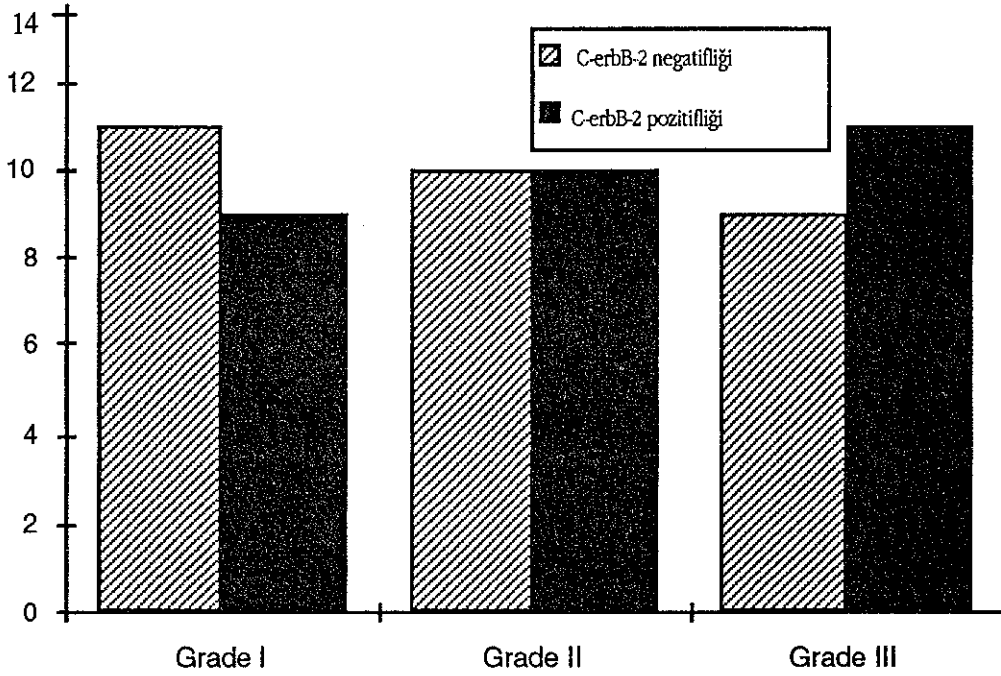
Grade	EGFR imh.k boyaması			Toplam
	Pozitif (p)	Negatif (n)	P(%)	
I	2	18	(10)	20
II	7	13	(35)	20
III	10	10	(50)	20
Toplam	19	41	(31.6)	60

Tablo 18: EGFR immunhistokimyasal boyanmanın grade'lere göre pozitiflik, negatiflik ve pozitiflik yüzdeleri.

( $\chi^2=7.548$ ,  $SD=2$ ,  $P<0.05$ )

C-erbB-2 immunhistokimyasal tekniğinde, fokal boyanma gösterenlerde dahil olmak üzere membran ve/veya stoplazma boyanma gösterenler pozitif olarak kabul edildi. 60 hastanın 30'unda (%50) pozitiflik izlendi. Grade I tümörlerin 9'unda (%45), Grade II tümörlerin 10'unda (%50) ve Grade III tümörlerin 11'inde (%55) C-erbB-2 ile pozitif

boyanma saptandı (Tablo 19). Grade III tümörlerde Grade I ve II tümörlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $P>0.05$ ), (Grafik 3). p2-3-4 grubunda, Pa ve P1 tümörlere göre C-erbB-2 pozitifliği yönünden istatistiksel olarak bir anlam saptanmadı ( $p>0.05$ ).



Grafik 3: DEHK olgularda gradelere göre C-erbB-2 dağılımı

Grade	C-erbB-2 imh-k dağılımı			Toplam
	Pozitif	(%)	Negatif	
I	9	(45)	11	20
II	10	(50)	10	20
III	11	(55)	9	20
Toplam	30	(50)	30	60

Tablo 19: C-erbB-2 immunhistokimyasal boyanmanın grade'lere göre pozitiflik, negatiflik ve pozitiflik yüzde değerleri.

( $x^2=94$ ,  $SD=2$ ,  $p>0.05$ )

p53, EGFR ve C-erbB-2<sup>+</sup> boyanması ile tümör papilleritesisi arasındaki ilişki; 60 DEHK'lu olgularımızın 45 tanesi papiller (invaziv, non-invaziv) ve 15 tanesi de düz (invaziv, non-invaziv) paterndeydi. p53; 45 papiller tümörün 18'inde (%40) ve 15 non-papiller tümörün 11'inde (%73), EGFR; 45 papiller tümörün 13'ünde (%28) ve 15 non-papiller tümörün 6'sında



(%40), C-erbB-2; 45 papiller tümörün 25'inde (%55) ve 15-non-papiller tümörün 5'inde (%33)'de fozitif boyanma saptandı (Tablo 20). Ancak yapılan istatistiksel çalışmada p53, EGFR ve C-erbB-2 boyanması ile tümör papilleritesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı (p53 için  $\chi^2=3.7$ ,  $p=0.052$ , EGFR için  $\chi^2=0.231$ ,  $p=0.43$  ve C-erbB-2 için  $\chi^2=1.4$ ,  $P=0.23$ ).

Tümör büyüme paterni	p53	(%)	EGFR	(%)	C-erbB-2	(%)
Papiller	18/45	(%40)	13/45	(%28)	25/45	(%55)
Non-Papiller	11/15	(%73)	6/15	(%40)	5/15	(%33)

Tablo 20: Tümör papilleritesine göre p53, EGFR ve C-erbB-2 boyanma oran ve yüzde değerleri.

p53, EGFR ve C-erbB-2 boyanması ile tümör stage'i arasındaki ilişki; çalışmaya aldığımız 60 DEHK'lu olgunun 34 tanesi yüzeysel (%56,6) ve 26 tanesi invaziv (%43,3) tümörlerdi. p53; 34 yüzeysel tümörün 10'unda (%29) ve 26 invaziv tümörün 19'unda (%73) pozitif boyandığı saptandı ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $\chi^2=9.56$  ve  $P=0.00019$ ). EGFR; 34 yüzeysel tümörün 9'unda (%26) ve 26 invaziv tümörün 10'unda (%38) pozitif boyandı ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $\chi^2=0.50$  ve  $P=0.478$ ). C-erbB-2; 36 yüzeysel tümörün 17'sinde (%50) ve 26 invaziv tümörün 13'ünde (%50) pozitif boyandı ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $\chi^2=0.068$ ,  $P=0.79$ ) (Tablo 21, 22).

	Pa (%)	P1 (%)	P2 (%)	P3(a-b) %	P4 (a-b) (%)
p53	2/6 (33)	8/28 (28)	9/14 (64)	7/9 (77)	3/3 (100)
EGFR	2/6 (33)	7/28 (25)	3/14 (21)	4/9 (44)	3/3 (100)
C-erbB-2	5/6 (83)	12/28 (42)	8/14 (57)	3/9 (33)	2/3 (66)

Tablo 21: p53, EGFR ve C-erbB-2'nin stage'e göre dağılım ve yüzde oranları (AJCC)

	Yüzeyel		İnvaziv	
	(Pa-P1)	(%)	(P2-3-4)	(%)
p53	10/34	(29)	19/26	(73)
EGFR	9/34	(26)	10/26	(38)
C-erbB-2	17/34	(50)	13/26	(50)

Tablo 22: p53, EGFR ve C-erbB-2'nin yüzeyel ve invaziv gruplara göre dağılım oran ve yüzdeleri.

Olguların yaş dağılımları ile p53, EGFR ve C-erbB-2 boyanma arasındaki ilişki; Çalışmaya aldığımız 60 DEHK'lu olgunun 14 tanesi (%23.3) 50 yaş altında ve 46 tanesi (%76.6) 50 yaş üzerindedir. p53 50 yaş altı olguların 5'inde (%35.7) pozitif boyanırken 50 yaş üzeri olguların 24 tanesinde (%52.1) pozitif boyanma izlendi. EGFR 50 yaş altı olguların 4'ünde (%28.8), 50 yaş üzeri olguların 15'inde (%32.6) pozitif boyanma gözlemlendi. C-erbB-2 50 yaş altı olguların 5'inde (%35.7) ve 50 yaş üzeri olguların 25'inde (%54.3) pozitif boyanma izlendi (Tablo 23). p53, EGFR ve C-erbB-2 ile hasta yaşı arasında istatistiksel olarak bir anlam bulunmadı ( $p>0.05$ ).

	50 yaş altı	(%)	50 yaş üstü	(%)
p53	5/14	(35.7)	24/46	(52.1)
EGFR	4/14	(28.6)	15/46	(32.0)
C-erbB-2	5/14	(35.7)	25/46	(54.0)

Tablo 23: Yaş dağılımı ile p53, EGFR ve C-erbB-2 boyanma dağılım ve yüzdeleri.

Çalışmaya aldığımız 60 olgunun 11 tanesi kadın hasta iken 49 tanesi erkek hasta olup K/E oranı yaklaşık 1/4.4 oranda izlendi. p53, EGFR ve C-erbB-2 boyanma oranları ile kadın erkek hasta grupları arasındaki ilişki araştırıldığında; p53 11 kadın hastanın 7'sinde (%63) ve 49 erkek hastanın 22'sinde (%44), EGFR; 11 kadın hastanın 3'ünde (%27)

ve 49 erkek hastanın 16'sında (%32), C-erbB-2; 11 kadın hastanın 8'inde (%72) ve 49 erkek hastanın 22'sinde (%44) pozitif boyanma izlendi (Tablo 24). p53, EGFR ve C-erbB-2 ile hasta cinsiyeti arasında istatistiksel olarak bir anlam bulunmadı ( $p>0.05$ ).

	Kadın	(%)	Erkek	(%)
p53	7/11	(63)	22/49	(44)
EGFR	3/11	(27)	16/49	(32)
C-erbB-2	8/11	(72)	22/49	(44)

Tablo 24: Kadın ve erkek gruplarında p53, EGFR ve C-erbB-2 boyanma dağılım ve yüzdeleri.

DEHK'lu olgularda yapılan immunhistokimyasal çalışmada p53, EGFR ve C-erbB-2 ile elde edilen pozitif boyanma şiddeti ile boyanan alan yüzdesi arasındaki ilişki; 60 DEHK'lu olgumuzda p53 ile 29 olguda çekirdekte, EGFR ile 19 olguda ve C-erbB-2 ile 30 olguda membran ve/veya sitoplazmada elde edilen pozitif immunhistokimyasal boyanma sonuçları şiddetine göre (+)pozitif= hafif, (++) pozitif=orta ve (+++) pozitif= şiddetli olarak, boyanan alan yüzdesine göre negatif=0, %10'un altında boyanma=1, %10-50 arası boyanma=2 ve %50'den fazla boyanma=3 olarak değerlendirilerek boyanma şiddeti ile boyanan alan ilişkilerine bakıldığında p53 için %96 oranında ( $p<0.001$ ), EGFR için %99 oranda ( $p<0.001$ ) ve C-erbB-2 için %99 oranda ( $p<0.001$ ) korelasyon bulundu.

p53	%10 ve altı	%10-50	%50 ve üstü	Toplam
Hafif	6	2	-	8
Orta	2	8	4	14
Şiddetli	-	2	5	7
Toplam	8	12	9	29

Tablo 25: p53 pozitif boyanan 29 olguda boyanma şiddeti ve yüzde alan oranları.

EGFR	%10 ve altı	%10-50	%50 ve üstü	Toplam
Hafif	6	3	-	9
Orta	-	9	1	10
Şiddetli	-	-	-	-
Toplam	6	12	1	19

Tablo 26: EGFR pozitif boyanan 19 olguda boyanma şiddeti ve yüzde alan oranları.

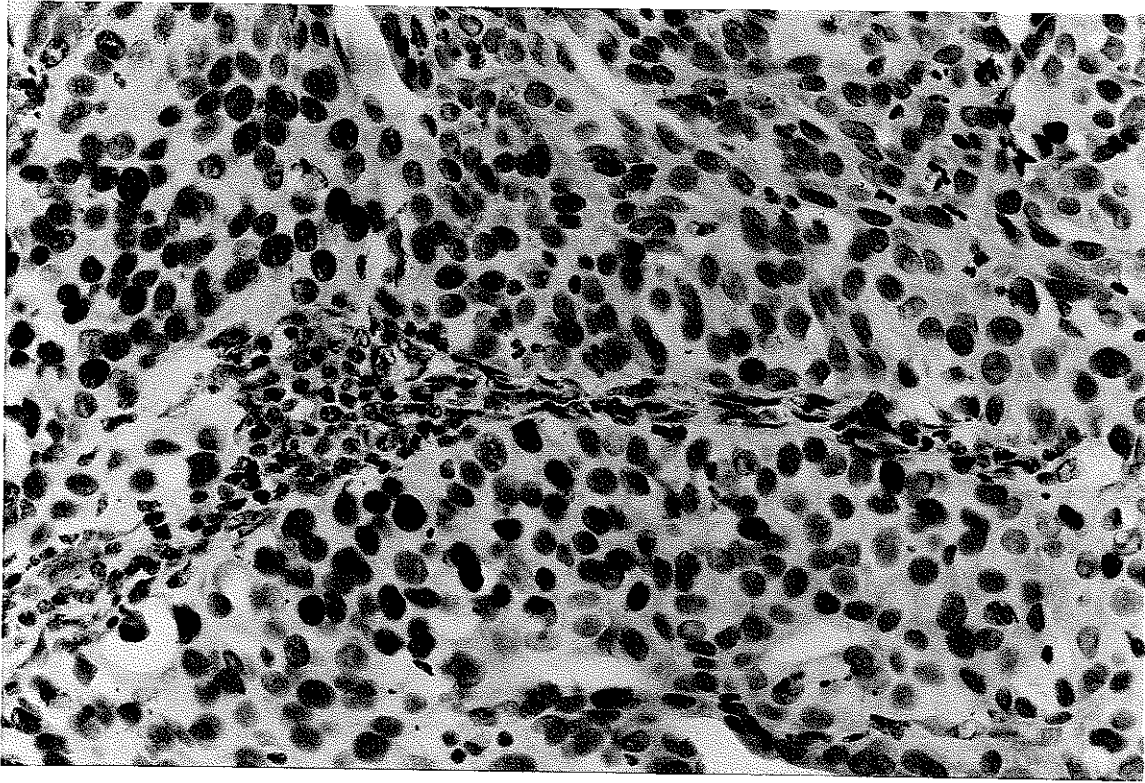
C-erbB-2	%10 ve altı	%10-50	%50 ve üstü	Toplam
Hafif	1	2	-	3
Orta	1	18	2	21
Şiddetli	-	1	5	6
Toplam	2	21	7	30

Tablo 27: C-erbB-2 pozitif boyanan 30 olguda boyanma şiddeti ve yüzde alan oranları.

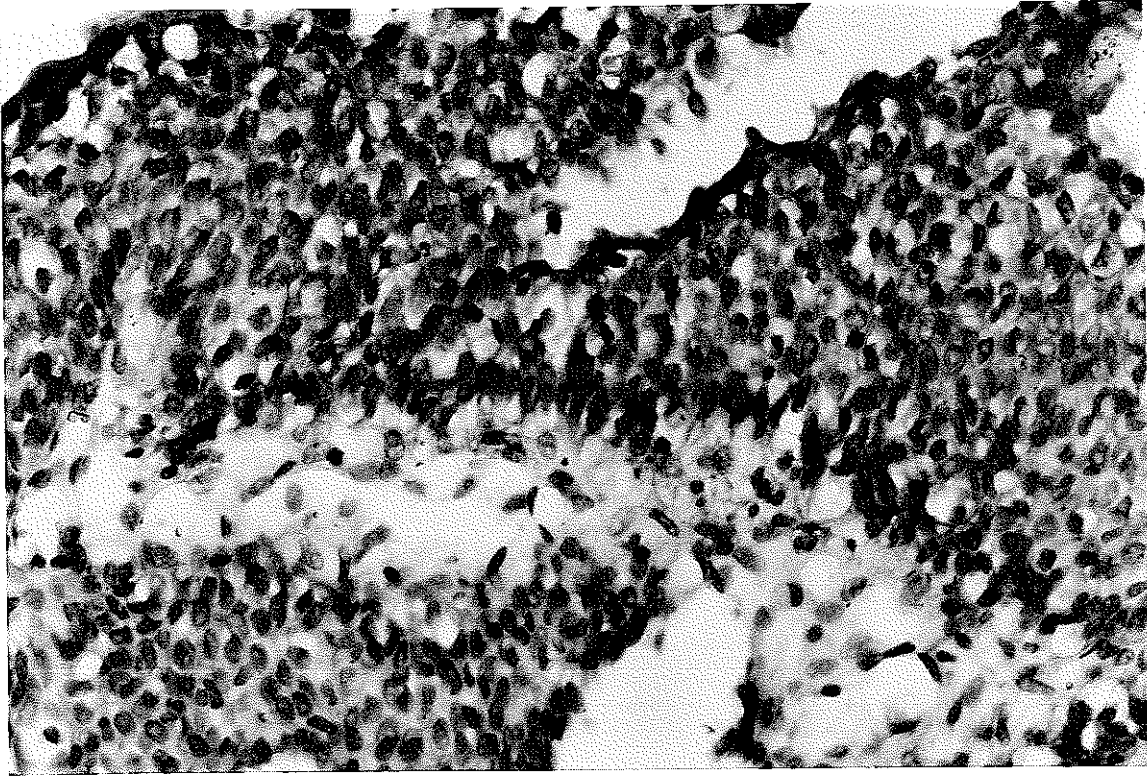
p53, EGFR ve C-erbB-2 immunhistokimyasal yöntemlerin birbirleriyle ilişkisi; p53 ile EGFR arasında  $r$  değeri 0.4985 ( $p < 0.001$ ) bulundu ve çalışmamızda her iki yöntemin birbiriyle korele olduğu saptandı. Bunun yanında p53 ile C-erbB-2 arasında  $r$  değeri 0.2068 ( $p > 0.05$ ) ve EGFR ile C-erbB-2 arasında  $r$  değeri 0.1679 ( $p > 0.05$ ) olup, p53 ile C-erbB-2 ve EGFR ile C-erbB-2 arasında bir korelasyon saptanmadı.



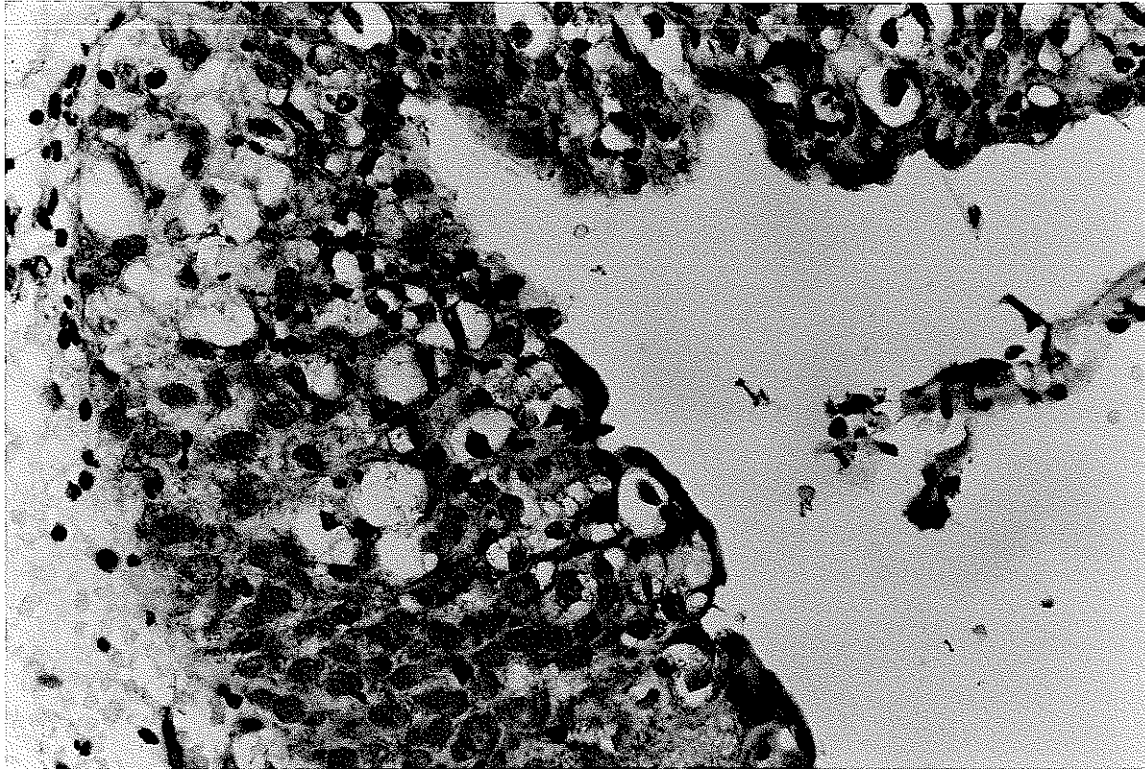
Resim 1: Mesane değişici epitel hücresi karsinom grade I'de histopatolojik görünüm. HEX5



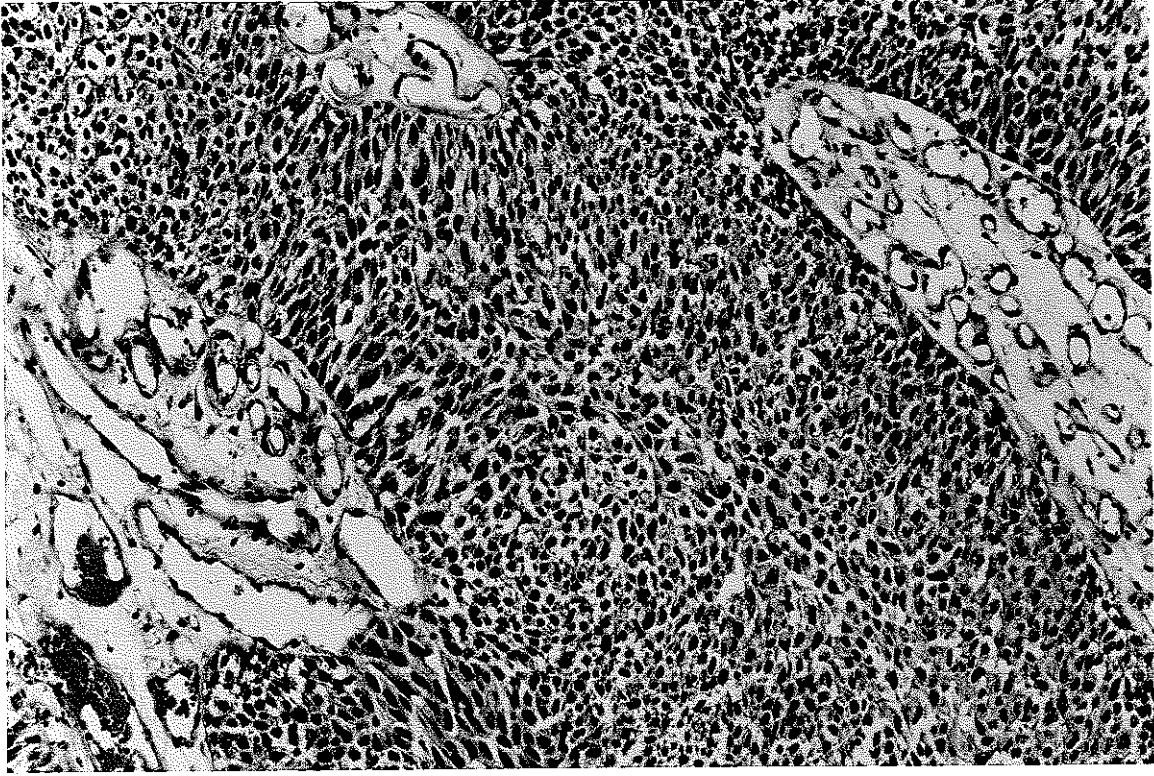
Resim 2: Mesane değişici epitel hücresi karsinom grade I'de hücre nükleuslarında pozitif p53 immünreaktivitesi. HEX40



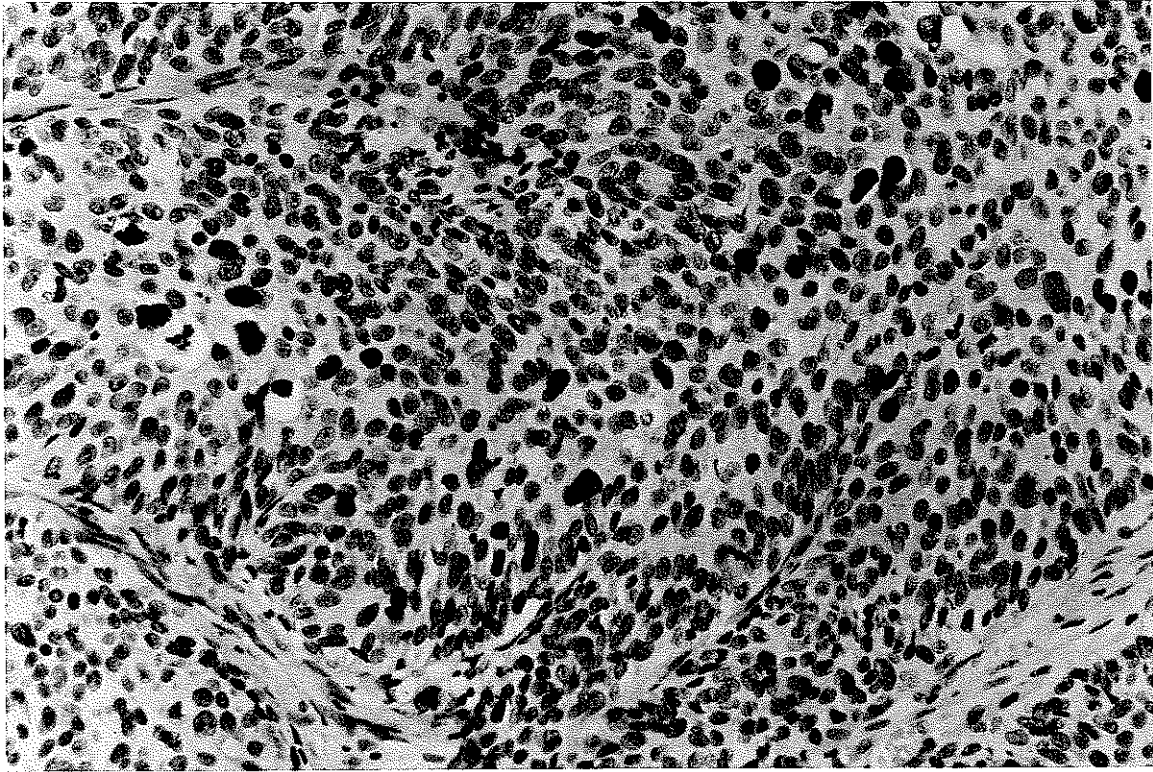
Resim 3: Mesane değişici epitel hücreli karsinom grade I'de hücre sitoplazma ve membranında pozitif EGFR immünreakivitesi HEX40



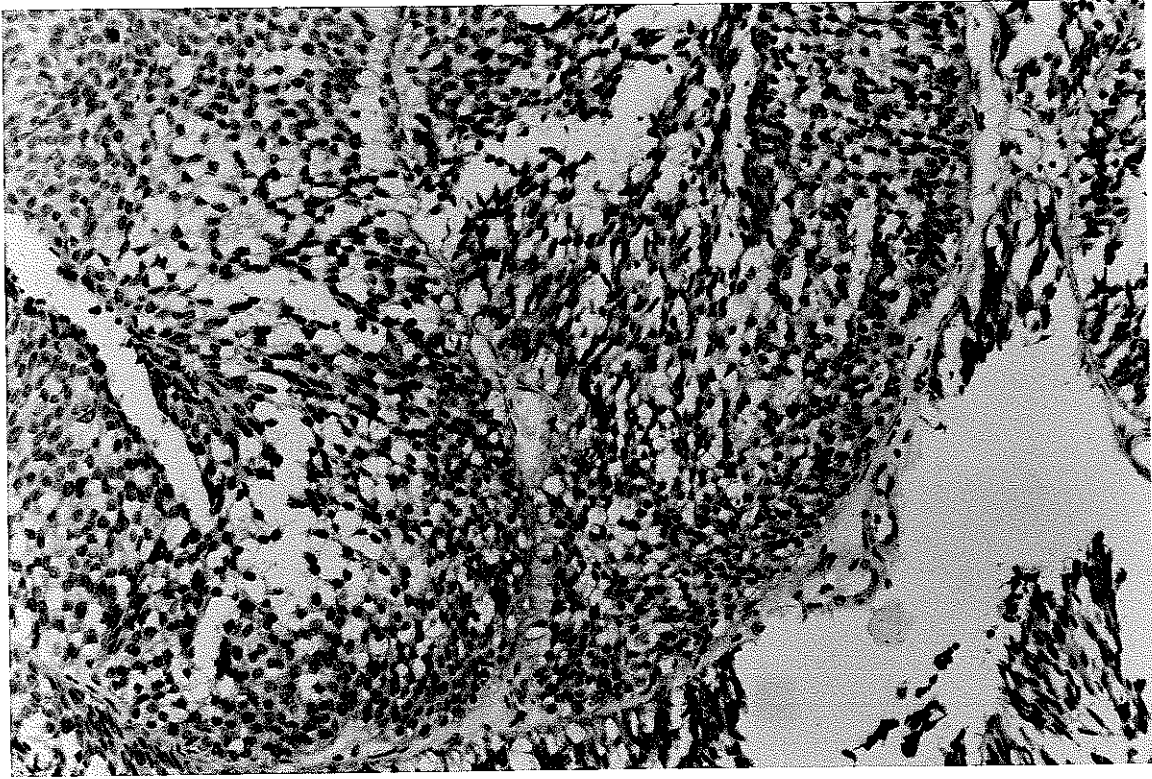
Resim 4: Mesane değişici epitel hücreli karsinom grade I'de hücre membranında belirgin, sitoplazma ve membranda pozitif C-erbB-2 immünreakivitesi HEX40



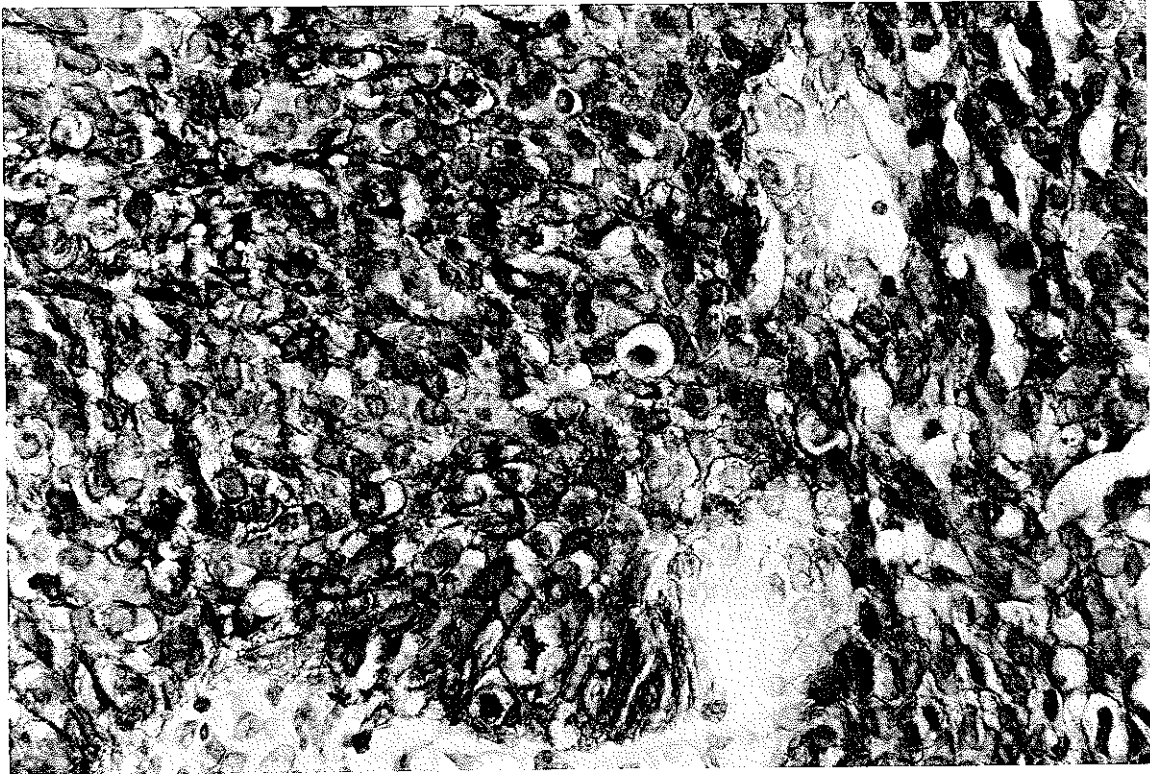
Resim 5: Mesane değişici epitel hücresel karsinom grade II'de histopatolojik görünüm. HEX20



Resim 6: Mesane değişici epitel hücresel karsinom grade II'de hücre nükleusunda pozitif p53 immünreaktivitesi HEX20

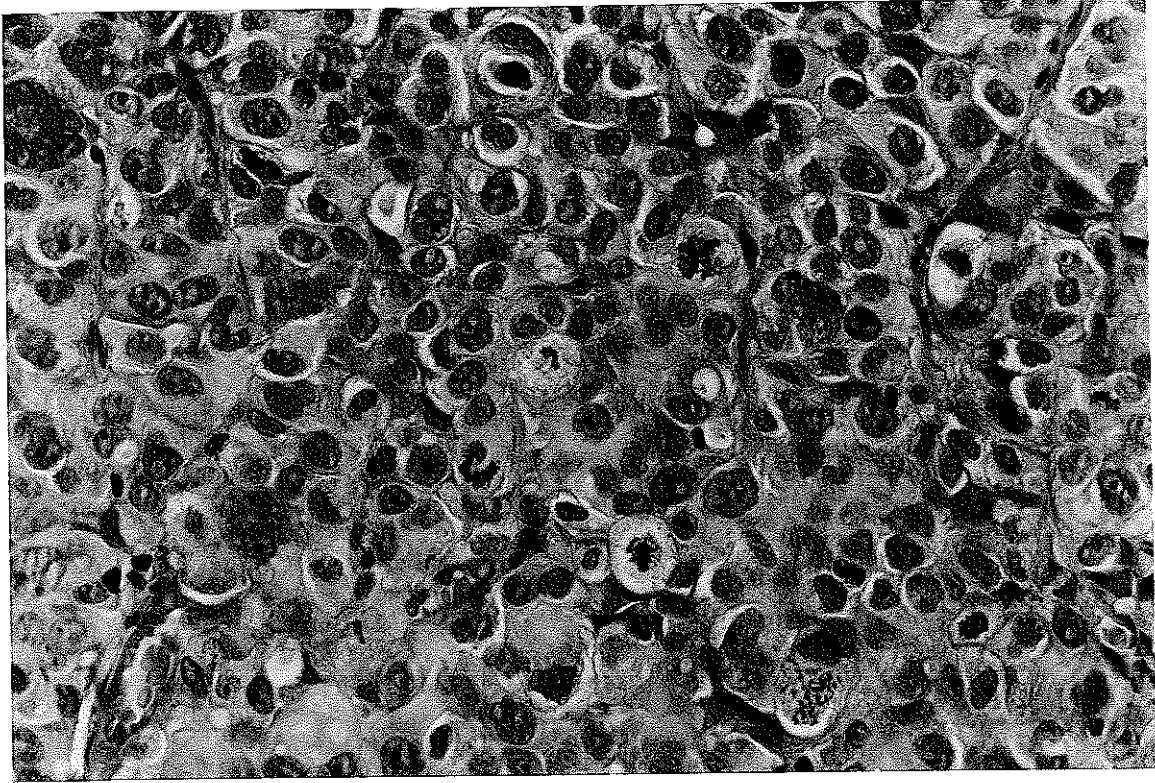


Resim 7: Mesane değişici epitel hücresel karsinom grade II'de hücre sitoplazma ve membranında pozitif EGFR immünreaktivitesi. HEX20

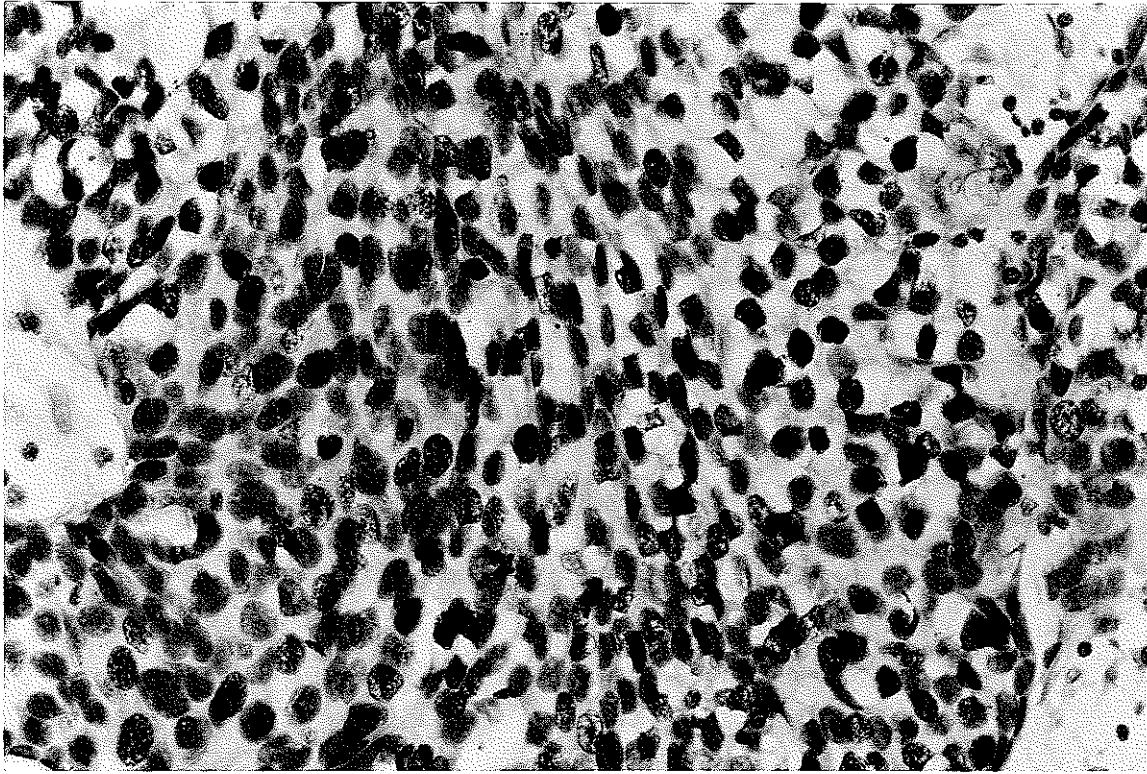


Resim 8: Mesane değişici epitel hücresel karsinom grade II'de hücre membranında belirgin, sitoplazma ve membranda pozitif C-erbB-2 immünreaktivitesi. HEX40

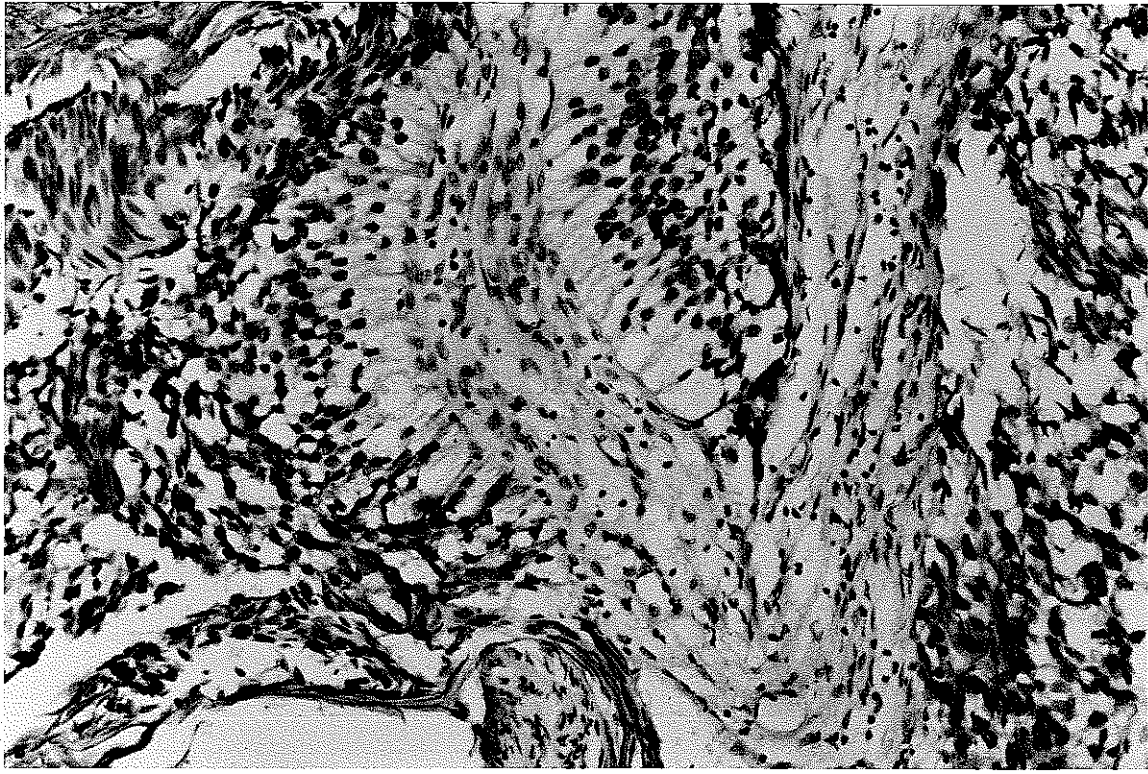




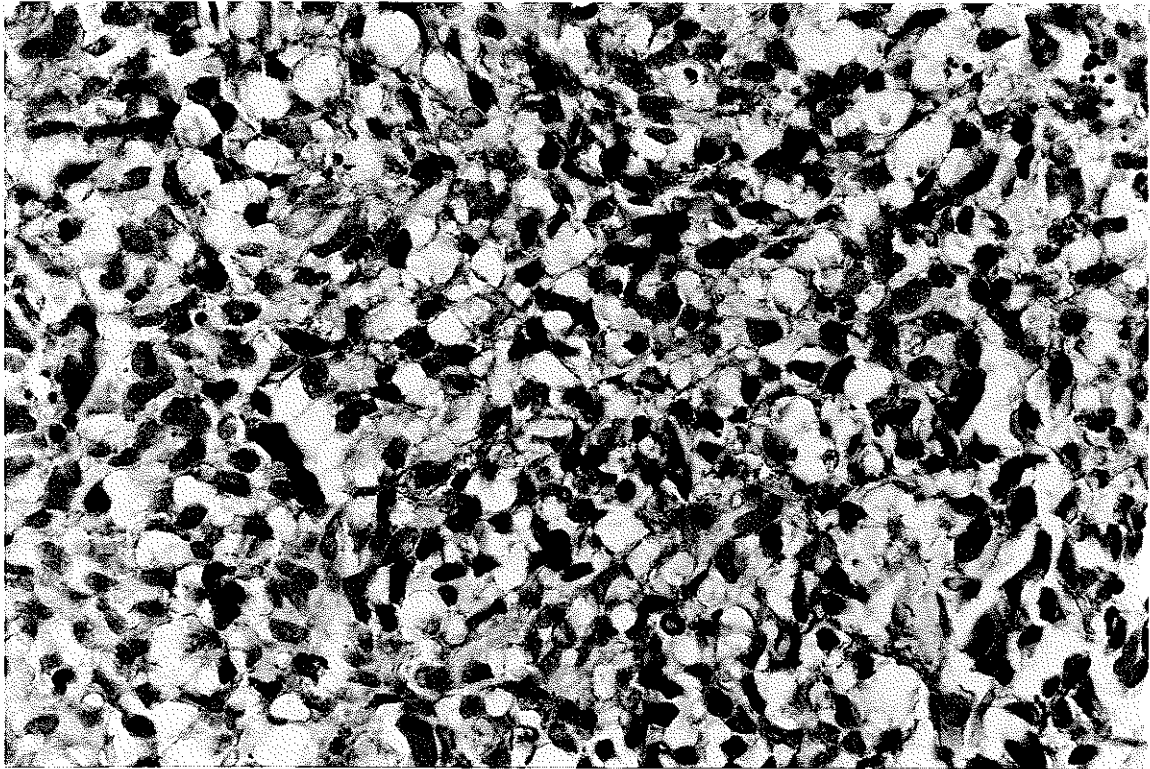
Resim 9: Mesane değişici epitel hücreli karsinom grade III'de histopatolojik görünüm. HEX40



Resim 10: Mesane değişici epitel hücreli karsinom grade III'de hücre nükleuslarında pozitif p53 immünreaktivitesi. HEX40



Resim 11: Mesane değişici epitel hücreli karsinom grade III'de hücre membran ve sitoplazmasında pozitif EGFR immünreaktivitesi. HEX20



Resim 12: Mesane değişici epitel hücreli karsinom grade III'de hücre membranlarında pozitif C-erbB-2 immünreaktivitesi. HEX40

## TARTIŞMA

Mesane DEHK'lar tüm malign tümörlerin yaklaşık %2'sini oluşturur ve %80'i 50-79 yaşlar arasında görülür (129,40,137,74). Yedinci dekatta bir pik yapan mesane DEHK'lar 40 yaş altında görülmesi yaygın değildir ve yaşamın ilk iki dekatında nadiren izlenirler (163,60,40,30,123,129). Çalışmaya aldığımız 60 mesane DEHK'lu olgunun yaş ortalaması literatür ile uyumlu olarak 60.7 (yaş aralığı 26-87) bulunmuştur. Olgularımızın %76.6'sı 50 yaş üzerinde izlenirken %6.6'sı (4 olgu) 40 yaşın altındaydı ve yaşamın ilk iki dekatında mesane DEHK'lu olgumuz yoktu. Mesane DEHK'larda kadın/erkek oranı 1/3-4 olarak izlenmektedir (124,147,40,29). Bizim çalışmamızda ise kadın/erkek oranı literatür ile yakın değerde 1/4.4 olarak saptandı.

Mesane DEHK'lar mesanenin herhangi bir yerinden çıkabilirler ise de yapılan çalışmalarda tümörün %60 oranda yan duvarlar ile arka duvarda yerleştiği bildirilmiştir (124, 67). Çalışmamızda olguların %65'i (yan duvarlar %40, arka duvar %25) mesane yan duvarları ile arka duvar yerleşimliydi ve literatür bilgileri ile uyumluydu. Mesane DEHK'lar klinik olarak farklı davranış gösteren yüzeysel ve invaziv olmak üzere iki grupta değerlendirilirler (177,137,162,104). Olguların %50-80'i ilk teşhiste yüzeysel düşük grade (GI,GII) tümörlerdir (100,177,123, 10,14,85,31,92). Bizim çalışmamızda olguların %56.6'sı yüzeysel, %43.3'ü invaziv özellikteydi ve literatür ile uyumlu bulundu. Mesane DEHK'lu hastalarda prognozun belirlenmesinde en önemli parametreler teşhisteki tümörün stage'i ve grade'idir (75,86,10,138). Çalışmaya aldığımız G1 tümörlerin %90'ı yüzeysel (6'sı Pa, 12'si P1), %10'u invaziv (1'i P2, 1'i P3) tümörlerdi. GII tümörlerin %70'i yüzeysel (14 P1), %30'u invaziv (6 P2) özellikteydi. GIII tümörlerin ise %10'u yüzeysel (2 P1), %90'ı invaziv (7 P2, 8 P3 ve 3 P4) tümör olup grade yükseldikçe stage'inde arttığını ve bu korelasyonun istatistiksel olarak anlamlı olduğunu saptadık ( $p<0.05$ ). Hastanın prognozunun belirlenmesinde diğer bir parametre tümör papilleritesidir (84,149,30,21,147). Çalışmaya aldığımız tümörlerin %75'ini papiller paternde izlerken %25'i düz (flat)

paterndeydi ve yüzeysel düşük grade (GI-GII) tümörlerin invaziv yüksek grade (GIII) tümörlere oranla daha fazla papiller paterne sahip olduğunu gözledik.

Yüzeysel mesane DEHK'lar genelde iyi bir prognoza sahip olmakla birlikte olguların %60-80'inde yapılan TUR tedavisinden sonra ilk yıl içerisinde nüks etmekte ve %15-20 olguda tümör grade ve stage'inde ilerleme gözlenmektedir (162,177,85,31,92,151,123,10). Yalnız TUR ile tedavi edilen Pa tümörlerin %5-25'i, P1 tümörlerin %13-75'i ve Pis tümörlerin de yaklaşık %60'ında tümörün ilerlediği izlenmiştir (85). Çalışmamızda sadece bir hastaya ait ilk teşhisteki ve nüks tümör yer almaktaydı. Hastanın ilk tümörü GI, stage Pa iken ilk yıl içinde TUR'dan sonra gelişen nüks tümöründe grade'in II'ye stage'in de P1'e ilerlediğini saptadık.

Mesane kanserinin moleküler biyolojik temeli tam olarak açıklanamamıştır. Ancak son yıllarda ileri tekniklerin kullanılmasıyla mesane karsinomunda diğer tümörlerde olduğu gibi malign lezyon gelişiminin birden çok kromozomal lezyonların birikimi ile ilişkili olduğunu gösteren sonuçlar elde edilmiştir (140,158,162,104,44,130,157,27). Bu değişiklikler başlıca çeşitli onkogenlerin aktivasyonu ve değişik tümör supressör genlerin inaktivasyonudur (158,154,105,32).

p53 geni, insanlarda görülen kanserlerde en fazla değişikliğe uğradığı gösterilmiş gendir (130,54,175). Mutant p53 geni ile ilgili çalışmalardan elde edilen ilk veriler p53 geni mutasyonlarının karsinogeneizde geç bir olay olduğu ve kanser progresyonunda önemli bir rolü olabileceğini düşündürmektedir (11,6,54,117). Tümör progresyonu boyunca p53 tümör supressör genin iki allel'inden biri sıklıkla kaybolmakta ve büyüme kontrolünde bir azalmayla sonuçlanmaktadır (162,17,166). p53 geni, 17'inci kromozomun kısa kolu üzerinde p13 bandı üzerinde bulunmaktadır (21,162,158,85,17,166,19). Bu bölge insan tümörlerinde allel delesyonlarının en sık görüldüğü bölgedir (131,133,55). Nokta mutasyonlar en sık gözlenen mutasyonlar olmakla birlikte allel kaybı, yeniden düzenlemeler ve delesyonlar da görülebilir (160). Genin çok çeşitli bölgelerinde mutasyonlar görülmekle birlikte çoğunluğu 5 ve 8'inci ekzonlarda olmaktadır (160,49,158,39,55). Tek allelinde mutasyon olan p53 geni taşıyan hücrelerde mutant p53'ün yarı ömrü uzayıp oligomerize olmakta ve normal tip p53 proteini ve fonksiyonlarını inaktive edebilmektedir (130).

p53'ün mutasyona uğramamış yada "wild tip" formu, hücre bölünmesinde negatif regülatör rolü olan bir tümör supressör gen olarak kabul edilmekte ve hücreleri G1 safhasında durdurarak DNA replikasyonu öncesinde potansiyel mutojenik ve karsinojenik hasarın onarımını sağlamaktadır (155, 79, 162). Normal p53'ün yarı ömrünün kısa olması (6'-20') nedeniyle standart immunhistokimyasal yöntemlerle saptanamamaktadır (85,105,17,166,38,137,24). Bunun yanında mutant p53'ün yarı ömrünün uzun olması (6 saat) ve nükleusta birikmesi nedeniyle standart immunhistokimya ile ölçülebilmesini sağlamaktadır (162, 68, 105, 93, 138, 166, 19, 49, 38). Monoklonal antikolarla saptanan mutant p53 proteini DNA seviyesindeki spesifik mutasyonlarla korelasyon göstermektedir (160). Son zamanlarda meme, kolon, akciğer, beyin, prostat ve mesane gibi birçok kanserde p53 mutasyonları bildirilmiş ve p53 genindeki değişikliklerin kanser gelişiminde önemli rolü olduğu belirtilmiştir (98,105). Ancak p53 mutasyonlarını saptamakta kullanılan mevcut laboratuvar yöntemlerin standardize edilememesi ve klinikopatolojik çalışmalardaki eksiklik ve yetersizlikler bu konuda kesin bir yargıya varılmasını güçleştirmektedir (6).

p53 mutasyonlarını saptamak için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR= Polimerase Chain Reaction), SSPA (Single Standart Conformational Assay) ve immunhistokimyasal boyama bilinen başlıca yöntemlerdir (124,39). İmmunhistokimyasal yöntemde sonuçlar boyanan hücre yüzdelere göre değerlendirilmektedir ve henüz pozitif kabul edilecek yüzde veya sınır hakkında görüş birliği yoktur. Bazı yapılan çalışmalarda kuvvetli veya zayıf boyanma gibi nitel tanımlar yapılırken, diğerlerinde yüzde olarak sınır değerler konarak nicel sonuçlar verilmiştir (131,75,35,21). Bizim çalışmamızda kolayca yapılabildiği, çok az sayıda tümör materyali üzerinde çalışılabildiği ve daha pratik olduğu için monoklonal antikolar kullanılarak yapılan immunhistokimyasal boyama yöntemi seçilmiştir.

p53 proteini üzerinde yapılan çalışmalarda çeşitli tekniklere uygun antikolar geliştirilmiştir. İmmunhistokimyasal ve biyokimyasal yöntemlerde kullanılan PAb 240 ve PAb 1801 antikoları, epitoplara tanır ve kısmen mutant p53 tarafından ekspresse edilir. Buna benzer şekilde, yalnız "wild-tip" p53'ü tanıyan antikolar da tanımlanmıştır (115). Bizim çalışmamızda kullanılan DQ-7 monoklonal antikoru asıl ve

mutant tip p53'ün aminoterminalindeki bir epitopu tanımaktadır (150). Wright ve arkadaşlarının 1991 yılında PAb240 ve PAb1801 monoklonal antikorlar ile yaptıkları mesane DEHK'lardaki immunhistokimyasal çalışmalarında her iki antikor arasında iyi bir uyum elde etmişlerdir (173). Evrig ve arkadaşları da 1993 yılında mesane DEHK'larda BP53-12 ve PAb1801 monoklonal antikorlar kullanarak yaptıkları immunhistokimyasal çalışmaların da her iki antikor arasında iyi bir uyum gözlemişlerdir (39).

İmmunhistokimyasal metodlar kullanılarak mesane DEHK'larda p53 ekspresyonu yönünde pekçok çalışmalar yapılmış ve bazı araştırmacılar rekürrens, tümör invazivliği ve hasta prognozunun belirlenmesinde bu yöntemin klinik kullanıma girebileceğini belirtmişlerdir (68,105,93,137). Yapılan çalışmalarda %20-60 arasında değişen oranlarda mesane DEHK'larda p53 overekspresyonu bildirilmiş ve çoğu çalışmalarda tümör progresyonu ve p53 ekspresyonu arasında anlamlı bir korelasyon gösterilmiştir (68,73). Le Ding-Wei ve arkadaşlarının 1993 yılında 67 mesane DEHK'lu olguda yaptıkları çalışmalarında %51 oranında p53 ekspresyonu ile kötü differansiye ve invaziv tümörlerde daha fazla oranda p53 pozitifliği saptamışlar, tümör rekürrensi ile ilişkili olduğunu gözlemişlerdir (166). Moch ve arkadaşları 179 mesane DEHK'lu olguda tümör stage ve grade'i ile p53 ekspresyonu arasında kuvvetli bir korelasyon izlemişler ve p53 ekspresyonu ile mesane kanserinde erken invazyonun ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir (101). Sgambato ve arkadaşları 1994 yılında 54 mesane DEHK'lu olguda yaptıkları çalışmalarında p53 ekspresyonu ile tümör grade'i ve stage'i arasında anlamlı bir korelasyon bulmuşlar, lenfatik ve venöz invazyon ile ilişkili olduğu, tümör agresifliği ile bağlantılı olduğu sonucuna varmışlardır (137). Wright ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarında 82 mesane DEHK'lu olguda %54 oranında p53 ekspresyonu izlemişler ve tümör stage ile grade'i arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlardır (173). Esrig ve arkadaşlarının 1994 yılında 243 radikal sistektomi ile tedavi edilen mesane DEHK'lu olgularda yaptıkları p53 immunhistokimyasal çalışmalarında 101 olguda p53 pozitifliği saptamışlar ve azalmış yaşam süresi ve artmış rekürrens riski arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlardır (38). Soini ve arkadaşları 42 mesane DEHK'lu olguda yaptıkları çalışmalarında %50 oranında p53 pozitifliği saptamışlar, GII-III tümörlerde GI tümörlere göre, stage PT2-PT4 tümörlerde stage PT1

tümörlere oranla anlamlı olarak daha fazla oranda p53 pozitifliği saptamışlar (68). Nakopoulou ve arkadaşları 45 yüzeysel, 42 invaziv mesane DEHK'lu olgularda yaptıkları çalışmalarında %48.3 oranda p53 ekspresyonu izlemişler ve yüksek grade invaziv tümörlerde düşük grade tümörlere göre daha fazla oranda p53 pozitifliği bulmuşlar (105). Lipponen ve arkadaşları ise 1993 yılında poliklonal antikör kullanarak yaptıkları immunhistokimyasal çalışmalarında düşük insidansta invaziv mesane DEHK'larda %34 oranda p53 pozitifliği saptamışlardır (152, 62).

Monoklonal DQ-7 antikoru kullanarak yaptığımız immunhistokimyasal çalışmamızda 60 mesane DEHK'lu olgumuzun %48.3'ünde literatür ile uyumlu olarak pozitif nükleer p53 ekspresyonu saptadık. Çalışmamızda p53 ekspresyonu ile tümör histolojik grade'i arasında literatür ile uyumlu olarak istatistiksel olarak anlamlı bulduğumuz ( $p < 0.05$ ) bir korelasyon saptadık ve GIII tümörlerimizde GI-II tümörlere oranla daha yüksek oranda p53 pozitifliği izledik. Bunun yanında p53 ekspresyonu ile tümör stage'i arasında anlamlı bir korelasyon saptadık ( $p < 0.05$ ). Yüzeysel tümörlerin %29'unda, invaziv tümörlerin ise %73'ünde p53 pozitifliği gözledik. Çalışmamızda p53 ekspresyonu ile tümör stage'i arasında bulduğumuz anlamlı ilişki Lipponen ve arkadaşlarının buldukları sonuç dışında literatür ile uyumluydu. Lipponen ve arkadaşları çalışmalarını %20'nin üzerindeki p53 pozitifliğini pozitif değer olarak ve poliklonal antikör kullanarak yapmışlardır. Sgambato ve arkadaşlarının 1994 yılında yaptıkları çalışmalarında p53 ekspresyonu ile tümör papilleritesi arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ancak anlamlı bir ilişki bulamamışlar (137). Biz de çalışmamızda p53 ekspresyonu ile tümör papilleritesi arasında anlamlı bir ilişki bulamadık ( $p < 0.052$ ), ancak ki kare değerinin 0.05'e yakın olması dikkati çekmektedir. Ayrıca çalışmamızda p53 ekspresyonu ile yaş ve cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki saptayamadık. Çalışmaya aldığımız GIII iki olgumuzda damar invazyonu ile sadece bir olgumuzda lenf nodu tutulumu vardı ve bu olgularda p53 pozitifliği izledik. Ancak damar invazyonlu ve lenf nodu tutulumu olan olgu sayımızın sınırlı olması nedeniyle istatistiksel bir çalışma yapamadık. Yaptığımız çalışmamızda p53 ile EGFR ekspresyonu arasında bir korelasyon izlerken ( $p < 0.001$ ) p53 ile C-erbB-2 arasında korelasyon gözleyemedik ( $p > 0.05$ ).

Kanser progresyonu invazyon, metastaz ve kanser hücre proliferasyon oranı olup değişik genetik ve epigenetik faktörler

tarafından etkilenmektedir. Genetik faktörler üzerine yapılan son kapsamlı çalışmalarda tümör süpressör genlerin kaybı, onkogenlerin overexpresyonu veya her ikisinin etkili olduğu izlenmiştir. Ayrıca mesane DEHK'larda yapılan çalışmalarda tümör hücreleri ile komşu veya tümör stroması arasındaki etkileşmenin invaziv hastalığa ilerlemede önemli bir belirleyici olabileceği sonucuna varılmıştır (23,121). Kanser hücresinin büyümesi ve metastaz potansiyeli, genetik olarak polipeptid growth stimulatörleri ve ekstrasellüler matriks (ESM) ürününü içine alan etkileşmeler vasıtasıyla arttırılabilir veya inhibe edilebilir (47,121,22). Mezankimal ve epitelyal hücreler arasındaki hücresel etkileşmelerde ESM ve growth faktörler aracıdır ve tümör büyümesi ile metastaz patogeneğinde uyarıcı olarak önemli bir rol oynarlar (46). EGF ve TGF $\alpha$  reseptörü olan EGFR normal urothelium'un bazal tabakasını da içine alan birçok hücre tiplerinde tesbit edilmiştir (114, 7). EGFR mesane DEHK'larda immunohistokimyasal yöntemlerle ekspresse edilmiştir (99,106,178,149). Tümörde EGFR'in konsantrasyonu tümörün artmış invazivliği ve azalmış differansiasyonu ile arttığı ve metastatik lezyonlardaki hücrelerde EGFR ekspresyon oranının yüksek olduğu bulunmuştur (106,107). Smith ve arkadaşlarının 1989 yılında yaptıkları bir çalışmada EGFR'nin invaziv tümörlerde yüzeysel tümörlere oranla daha fazla oranda pozitif olduğu ve reseptör içeriğinin daha yüksek olduğunu saptamışlardır (143). Hücrelerdeki EGFR miktarında meydana gelen anormal bir artış EGF'e cevabın artmasına ve büyümenin stimülasyonuna neden olmaktadır (7). Gasparini ve arkadaşlarının 1992 yılında (45) ve Souter ve arkadaşlarının 1993 yılında (133) yaptıkları çalışmalarında EGFR pozitif olan tümörlerin genellikle hızlı proliferere olduğunu immunohistokimyasal analizle tespit etmişlerdir.

EGF proto-onkogen 7p13 kromozomda lokalizedir ve transforming growth faktör  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ) ve epidermal growth faktör (EGF) sitokinler için EGFR proteini kodlar (35, 60, 69, 86, 111, 84). EGFR, reseptör tirozin kinaz tip I ailesinin bir üyesi moleküler ağırlığı 170.000 olan bir transmembran glikoproteindir (111, 133, 109, 82, 156, 7; 52). EGFR reseptör EGF ve TGF- $\alpha$  için bir reseptör olup EGF ve TGF- $\alpha$  'nın aktive EGFR'ye bağlanması ile proteinlerin tirozin rezidüvlerinin fosforilasyonuna neden olan kısa dönem sinyal ve bir uzun etki ile reseptörün internalizasyonu ile sonuçlanır (109, 52, 7,107, 82, 156, 127). EGFR üç germ yaprağından köken alan hücrelerde bulunur ve



ekspresyonu artmış hücre proliferasyonu ile ilişkilidir (84, 52, 133). EGFR'nin ekspresyonu insan neoplazmlarında farklılıklar gösterir. Artmış reseptör düzeyi meme, akciğer, mesane ve kadın genital sistem tümörleri ve gliomlarda bulunmuştur (156, 109, 50, 52, 106, 7, 133). İnvaziv ve non-invaziv mesane kanserlerinde yapılan çalışmalarda vakaların yaklaşık %40'ında EGFR'nin ekspresse olduğu, erken ile multiple rekürrens, tümör progresyonu, yüksek stage ve grade ile kötü prognozla korele olduğu gösterilmiştir. Survival ve tümör rekürrensi için bir prognostik faktör olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (28, 133, 48, 111, 156, 127). Berger ve arkadaşlarının 1987 yılında 31 primer mesane DEHK'lu olguda monoklonal EGFR1 antikor kullanarak yaptıkları immunhistokimyasal çalışmalarında kötü differansiasyon ve invaziv stage ile EGFR arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlardır (7). Neal ve arkadaşlarının 1990 yılında 101 mesane DEHK'lu olguda yaptıkları çalışmalarında %48 oranda kuvvetli EGFR pozitifliği saptamışlar ve ileri stage ile ilişkili olduğunu gözlemişler, ayrıca mesane kanserinden ölümün EGFR pozitifliği ve ileri stage ile birbirinden bağımsız olarak ilişkili olduğunu izlemişlerdir (107). 1992 yılında Nugryen ve arkadaşlarının 85 mesane tümürlü olguda yaptıkları çalışmalarında %61 oranında EGFR pozitifliği saptamışlar ve EGFR pozitifliği ile ileri tümör stage'i arasında anlamlı bir korelasyon izlerken histolojik grade ile zayıf bir korelasyon bulmuşlardır (111). Lipponen ve Eskelinen ise ortalama 11.3 yıl izledikleri 234 mesane DEHK'lu olguda yaptıkları çalışmalarında olguların %35'inde EGFR overekspresyonu izlerken olguların %31'inde aynı nükleer lokalizasyonda EGFR pozitifliği bulmuşlardır. Lipponen ve Eskelinen çalışmalarında EGFR overekspresyonun invaziv büyüme, yüksek grade, non-papiller tip, DNA aneuploidy ve kanser hücrelerin hızlı proliferasyon oranı ile ilişkili olduğunu saptamışlardır (84). Souter ve arkadaşlarının da 1994 yılında 93 taze 74 formalinle fikse mesane DEHK'lu olguda immunhistokimyasal ve FISH (Fluorescence in situ hybridization) yöntemi uygulayarak yaptıkları çalışmalarında invaziv tümörlerde (pT2-3-4) %71 oranında EGFR pozitifliği saptamışlar ve bulguları neticesinde EGFR ekspresyonun mesane tümörlerinde hızlı tümör proliferasyonun önemli bir sebebi olabileceğini öne sürmüşlerdir (133).

Yapılan çalışmalarda tümörlerde EGFR varlığının saptanmasında çeşitli metodlar kullanılmıştır. Frozen veya parafin blok kesitlere

monoklonal yada poliklonal antikörlerin kullanıldığı çeşitli immunhistokimyasal yöntemler yanında radyoaktif I ile işaretli EGF'nin bağlanmasıyla (ligand bağlama) mesane tümör membranlarında EGFR ölçülmüş ve invaziv tümörlerde yüzeysel tümörlere oranla daha fazla EGFR içerdiği gözlenmiştir (143, 108). Bunun yanında Neal ve arkadaşlarının 1989 yılında mesane DEHK'lu 101 hastada immunhistokimyasal ve ligand bağlama yöntemleri uygulayarak yaptıkları çalışmalarında EGFR'nin tespitinde her iki metodun birbiriyle korele olduğunu gözlemişlerdir (108).

Biz çalışmamızda 60 mesane DEHK'lu olgunun parafin blok kesitlerine immunhistokimyasal olarak monoklonal EGFR 113 antikör uyguladık ve literatürle uyumlu olarak %31.6 oranında pozitiflik saptadık. EGFR pozitifliği yüksek grade ile ilişkiliydi ve bu ilişki istatistiksel olarak da anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). Bunun yanında EGFR pozitifliği ile stage arasında zayıf bir ilişki bulduk. Yüzeysel tümörlerde %26 oranında pozitiflik izlerken invaziv tümörlerde %38 oranında pozitif boyanma saptadık fakat sonuçlarımız istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0.05$ ). Ancak çalışmaya aldığımız grade III tümörlü olgularımızda EGFR pozitif saptadığımız 10 vakanın 9'u (%90) invaziv (P2-4) stage'de tümörlerdi. Bunun yanında farklı antikör kullanmamız ve vaka sayımızın az olması nedeniyle, EGFR ile stage arasında zayıf bir ilişki bulmamıza neden olduğunu düşündük. Çalışmamızda EGFR pozitifliği ile yaş ve cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki bulamadık ( $p > 0.05$ ). Lipponen ve Eskelinen'in 1994 yılında yaptıkları çalışmalarında mesane tümörlerinde EGFR ile C-erbB-2 ve p53 ekspresyonun ilişkisini araştırmışlar, EGFR ile p53 arasında anlamlı bir ilişki izlemişler fakat EGFR ile C-erbB-2 arasında anlamlı bir ilişki gözleyememişler(84). Biz de çalışmamızda EGFR ile p53 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bulduğumuz bir korelasyon izlerken EGFR ile C-erbB-2 arasında anlamlı bir ilişki saptayamadık. Yine Lipponen ve Eskelinen yaptıkları 234 vakalık çalışmalarında EGFR pozitifliğini papiller olmayan tümörlerde papiller tümörlere oranla daha fazla bulmuşlardır. Biz de çalışmamızda papiller tümörlerde %28 oranda EGFR pozitifliği izlerken papiller olmayan tümörlerde %40 oranda EGFR pozitifliği saptadık, ancak bulduğumuz bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0.05$ ).

Protoonkogenler, proteinin aşırı üretimi veya normal hücresel proteinde meydana gelen değişiklikler nedeniyle karsinogeneze yol

açabilirler. Bununla birlikte C-myc ve ras gibi bazı onkogenler de mutasyonlar sonucu aktive olabilmektedir (13). Normal genin overexpresyonu insan tümörlerinde izlenen en yaygın durumdur ve overexpresyon DNA, RNA veya protein düzeyinde olabilmektedir (83). Russel ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarında ürolojik malignitelerde onkogenlerin bir kısmında değişiklikler rapor etmişlerdir (125).

C-erbB-2, ( neu, Her-2) 17. kromozomun uzun kolunda (q21) lokalize 185 kd ağırlığında tirozin kinaz aktivitesine sahip transmembran glikoproteindir (16, 137, 72, 173, 101). C-erbB-2 gen ürünü EGFR ile parsiyel homolog olup, onkogenik neu gen hücresel neugenden tek bir baz değişikliği (Glutamik asit-valin) gösterdiği izlenmiştir (137,3,101,174,92,43). Spesifik ligandlara bağlanarak aktive olan EGFR'ye benzer olarak C-erbB-2 gen ürününün de tirozin kinaz aktivitenin stimülasyonuna yol açması nedeniyle C-erbB-2'nin de spesifik ligandlara bağlanarak aktive olduğu ve bir "büyüme faktörü geni" olarak davranabileceğini düşündürmüştür. Ancak varsayılan bu ligand henüz tam olarak açıklanamamıştır (27, 174, 132, 92). C-erbB-2 onkogen meme, over, gastrointestinal sistem, akciğer ve tükrük bezleri karsinomları, mesane DEHK ve renal hücreli karsinom gibi çeşitli insan epitelyal tümörlerinde overexpresse veya amplifiye edilmiştir (100, 27, 83, 8, 136, 137). Elde edilen bulgulara göre C-erbB-2 gen ürününün malign dönüşüm süresince bir potent onkofetal protein olarak etkiyebileceği ve tümörlerin biyolojik davranışlarını yansıtabileceği düşünülmüştür (8).

C-erbB-2 overexpresyonu ve/veya amplifikasyonu insan kanserlerinin bir kısmında gösterilmiş, meme karsinomunda kısa yaşam süresi ve erken relaps ile ilişkili olduğu saptanmıştır (174, 16, 27, 72). Mesane DEHK'larda C-erbB-2 %2-67 oranda ekspresse edilmiş ve yapılan çalışmalarda tümör invazivliği ve metastatik potansiyelin tahmininde bir prognostik marker olabileceği ileri sürülmüştür (137, 27, 26,174,83).

İmmunhistokimyasal çalışmalarda C-erbB-2 gen ürününün normal urothelium'da matür yüzeyel hücrelerin luminal membranında sınırlı olduğu, mesane tümörlerinde ise hem sitoplazmik, hem de membran reaktivitesine sahip olduğu izlenmiştir (27, 132, 26). Mesane DEHK'larda prognozun belirlenmesine yönelik yapılan immunhistokimyasal çalışmalarda C-erbB-2 onkoprotein ekspresyonuna ait farklı sonuçlar elde edilmiştir. Farklı sonuçlar elde edilmesinin farklı antikorlar

kullanılmasına ve herhangi pozitiflik veya membran pozitifliği gibi farklı pozitif değerlerinin kullanılmasına bağlı olduğu düşünülmüştür (101). Asomato ve arkadaşlarının 1990 yılında 22 mesane DEHK'lu olgulardaki çalışmalarında %32 oranında C-erbB-2 pozitifliği saptamışlar, histolojik grade ile korelasyon bulmuşlar, ancak EGFR ile korele olmadığını izlemişlerdir (3). Coombs ve arkadaşlarının 1991 yılında 82 mesane DEHK'lu olgunun 12'sinde C-erbB-2 overekspresyonu saptamışlar, rekürrens gelişimi ile anlamlı bir ilişki bulmuşlar ve yardımcı bir marker olabileceği sonucuna varmışlardır (27). 1991 yılında Moriyama ve arkadaşları 54 vakalık mesane tümürlü olguda %31 oranda C-erbB-2 ekspresyonu izlemişler, yüksek grade, yüksek stage ve lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu EGFR ile korele olmadığını bulmuşlar ve invazivlik, metastaz ve malign potansiyelin belirlenmesinde bir tümör marker'ı olabileceğini ileri sürmüşlerdir (92). Moch ve arkadaşları da mesane kanserinde erken invazyon ve metastaz ile p53 ve C-erbB-2 protein overekspresyonu 179 olguda araştırmışlar, erken invazyon ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (101). Wright ve arkadaşlarının 1991 yılında 82 mesane DEHK'lu olguda yaptıkları çalışmalarında %15 oranında c-erbB-2 pozitifliği bulmuşlar ve histolojik grade ile korele olmadığı, stage ile zayıf ilişkili olduğunu gözlemişlerdir (173). Lipponen ve arkadaşları 91 mesane DEHK'lu olguda yaptıkları çalışmalarında %4 oranında C-erbB-2 ekspresyonu izlemişler ve grade ile korele olduğunu ancak stage ve tümör papillaritesi arasında anlamlı bir ilişki olmadığını saptamışlardır (83). 1993 yılında Berner ve arkadaşları ise 104 mesane DEHK'lu olguda %15 oranında C-erbB-2 pozitifliği izlemişler, grade ve stage ile anlamlı bir korelasyon bulamamışlardır (8). Ayrıca 1994 yılında Sgambato ve arkadaşları %48 oranda (137), 1996 yılında Mellen ve arkadaşları %21 oranda (97) mesane DEHK'larda C-erbB-2 ekspresyonu saptamışlar ve mesane DEHK'larda prognozun belirlenmesinde C-erbB-2 ekspresyonun sınırlı bir değer taşıdığı sonucuna varmışlardır.

Biz yaptığımız çalışmamızda hem membran, hem de stoplazma pozitifliğini pozitif değer olarak aldık ve CB-11 monoklonal C-erbB-2 antikorunu kullandık. Çalışmaya aldığımız 60 mesane DEHK'lu olguda literatür ile uyumlu olarak %50 oranda C-erbB-2 ekspresyonu saptadık. Çalışmamızda C-erbB-2 pozitifliği ile histolojik grade ve tümör stage'i arasında anlamlı bir ilişki bulamadık ( $p>0.05$ ) ve sonuçlarımız yapılan

çoğu çalışma ile uyumluydu. Bunun yanında C-erbB-2 pozitifliği ile tümör papilleritesi, yaş ve cinsiyetler arasında anlamlı bir ilişki saptamadık ( $p>0.05$ ). p53 ile EGFR ekspresyonun çalışmamızda korele olduğunu izlerken C-erbB-2 ekspresyonun ne p53 ile, ne de EGFR ekspresyonu ile korele olmadığını gözledik.

## SONUÇLAR

Çalışmamızda 20 grade I, 20 grade II, 20 grade III toplam 60 mesane DEHK'lu (Değişici Epitel Hücreli Karsinom) olgu ele alınarak klinik bilgi, makroskopik ve mikroskopik bulgular ile p53, EGFR ve C-erbB-2 immünreaktivitesi yönünden değerlendirildi. Bu değerlendirme ile aşağıdaki sonuçlar elde edildi:

1. Mesane DEHK'lu olgularımızın %76,6'sı 50 yaş üzerinde %23,3'ü 50 yaş altında izlendi.
2. Çalışmamızda mesane DEHK'larda K/E oranı literatür ile de uyumlu olarak 1/4.4 bulundu ve erkeklerde daha fazla oranda izlendiği saptandı.
3. Gönderilen mesane dokuların 58 tanesini TUR, 2 tanesini sistektomi materyali oluşturmaktaydı.
4. Çalışmaya aldığımız DEHK'lu olguların %65'inin mesane yan duvarlar ile arka duvarda lokalize olduğu gözlemlendi.
5. Mesane DEHK'ların çalışmamızda tanı anında %56,6'sının yüzeysel low-grade (GI-GII) tümörler oldukları ve yüksek grade (GIII) tümörlerin %90 oranında kasa invaze ileri stage'e sahip tümörler oldukları tesbit edildi.
6. Çalışmamızda grade I tümörlerin %80'i, grade II tümörlerin %70'ini papiller paternde izlerken grade III tümörlerin %10'u papiller paternde izlendi ve tümör papilleritesinin grade arttıkça belirgin olarak azaldığı izlendi.
7. İmmunhistokimyasal çalışmamızda p53, EGFR ve C-erbB-2 için boyanma şiddeti ile boyanan alan yüzdesi arasında herbirinde güçlü bir korelasyon olduğu ve bu tür çalışmalarda her iki yöntemin de sonuçları değerlendirmek için kullanılabileceği sonucuna varıldı (p53 için  $p < 0.001$ , EGFR için  $p < 0.001$  ve C-erbB-2 için  $p < 0.001$ ).
8. p53 immünreaktivitesi, mesane DEHK'larda yüksek grade'li (GIII) tümörlerde düşük grade'li (GI-GII) tümörlere oranla ve invaziv tümörlerde (P2-P3-P4) yüzeysel tümörlere (pa, p1) göre daha yüksek oranda pozitiflik gösterdiği saptandı. Mesane DEHK'larda

p53 pozitifliğinin yüksek histolojik grade ve ileri stage ile ilişkili olduğu bulunmuş ve hasta prognozunun belirlenmesinde p53 ekspresyonunun klinik kullanıma girebileceği görüşü desteklenmiştir.

9. EGFR immünreaktivitesi, yüksek grade'li (GIII) mesane DEHK'larda düşük grade'li (GI-GII) tümörlere göre daha yüksek oranda pozitiflik gösterdiği ve yüksek grade ile EGFR pozitifliğinin ilişkili olduğu tesbit edildi. Bunun yanında EGFR pozitifliği ile stage arasında bir ilişki saptayamadık. Ancak çalışmaya aldığımız grade III tümörlerimizin çoğunluğunu kasa invaze ileri stage tümörler oluşturmaktaydı. Çalışmamızda EGFR ekspresyonunun mesane DEHK'larda kötü prognozla ilişkili olduğu ve hastanın survival'inin belirlenmesinde kullanılabileceği görüşünü destekler bulgu elde edilmiştir.
10. C-erbB-2 immünreaktivitesi, mesane DEHK'lu olgularımızda C-erbB-2 pozitifliği ile tümör histolojik grade ve stage arasında bir ilişki bulunamadı ve hasta prognozunun değerlendirilmesinde C-erbB-2'nin sınırlı bir değere sahip olduğu sonucuna varıldı.
11. Mesane EDHK'lu olgularımızda p53 ile EGFR pozitifliğinin uyumlu olduğu izlenirken p53 ile C-erbB-2 arasında ve EGFR ile C-erbB-2 arasında bir uyumluluk izlenmedi (p53 ve EGFR için  $r=0.4985$ , p53 ve C-erbB-2 için  $r=0.2068$ , EGFR ve C-erbB-2 için  $r=0.1679$ ).
12. Hasta yaşı ve cinsiyeti ile p53, EGFR ve C-erbB-2 arasında herhangi bir ilişki bulunamadı. Ayrıca tümör papillaritesi ile p53, EGFR ve C-erbB-2 arasında bir ilişki saptanmadı, ancak tümör papillaritesi ile p53 pozitifliği arasındaki ilişkinin araştırılmasında elde edilen "p" değerinin 0.05'e yakın olması dikkatimizi çekti ( $P=0.052$ ).
13. Prognozun belirlenmesinde rolü olduğu bilinen diğer parametreler olan damar invazyonu, perinöral invazyon ve lenf nodu metastazlı olgu sayımızın az olması nedeniyle bu parametreler ile p53, EGFR ve C-erbB-2 arasında istatistiksel bir çalışma yapılamadı. Mesane DEHK'lu olgularda p53, EGFR ve C-erbB-2 ekspresyonunun tespiti ile hasta prognozunun belirlenmesinde uzun süreli takibi olan hastalardan oluşan daha geniş serilerde yapılacak çalışmalara gerek olduğu sonucuna varıldı.

## ÖZET

Bu çalışmada mesane DEHK'larda p53, EGFR ve C-erbB-2 immünreaktiviteleri ile hastanın prognozunun belirlenmesinde rolü olduğu bilinen parametreler olan tümör histolojik grade, stage, hasta yaşı, cinsiyeti, tümör büyüme paterni, damar invazyonu, perinöral invazyon ve lenf nodu metastazı ile ilişkilerinin çok yönlü değerlendirilmesi ve prognozun belirlenmesi tümörün invazivliği ve metastaz potansiyelin tahminiyle hastanın takip ve tedavisine katkı sağlanması amaçlanmıştır.

01.1.1981 ile 01.06.1997 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gönderilen 265 mesane DEHK'undan seçilen 20 grade I, 20 grade II ve 20 grade III olan toplam 60 mesane DEHK olgusu çalışmada kullanıldı. Olguların gönderme formlarındaki klinik bulguları, makroskopik ve mikroskopik görünümleri literatür bilgileri ışığında yeniden değerlendirildi. Mesane DEHK'lu olgular Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflamasına göre yeniden grade'lendi. Olgular Jewett-Marshall ve AJCC (American Joint Committee on Cancer) sistemlerine göre yeniden evrelendirildi. İmmunhistokimyasal olarak p53, EGFR ve C-erbB-2 immünreaktiviteleri değerlendirildi. p53 protein nükleus, EGFR membran ve/veya stoplazma ve C-erbB-2 membran, stoplazma veya her ikisindeki kahverengi boyanma pozitif olarak kabul edildi.

p53 proteini ile %48.3, EGFR ile %31.6 ve C-erbB-2 ile %50 oranda mesane DEHK'lu olgularımızda pozitiflik saptandı.

Mesane DEHK'larda p53 ekspresyonun yüksek grade ve ileri stage ile ilişkili olduğu ve hasta prognozunun belirlenmesinde klinik kullanıma girebileceği görüşü desteklenmiştir. EGFR ekspresyonu ile mesane DEHK'larda tümör histolojik grade'in ilişkili olduğu bulunmuş, kötü prognozla ilişkili olduğu ve hastanın survival'inin belirlenmesinde kullanılabileceği görüşünü destekler bulgu elde edilmiştir. Mesane



DEHK'lu olgularımızda tümör histolojik grade ve stage ile C-erbB-2 ekspresyonu arasında bir ilişki bulamadık ve hasta prognozunun belirlenmesinde sınırlı bir değer taşıdığı sonucuna vardık. p53, EGFR ve C-erbB-2 ile hasta yaşı, cinsiyeti ve tümör papilleritesi arasında bir ilişki bulamadık ancak p53 ile tümör papilleritesi arasındaki ilişkide "p" değerinin 0.05'e yakın olması dikkati çekmiştir (p=0.052). Prognozun belirlenmesinde rolü olduğu bilinen damar invazyonu, perinöral invazyon ve lenf nodu metastazlı olgu sayımızın az olması nedeniyle istatistiksel bir çalışma yapılamadı. p53, EGFR ve C-erbB-2 ekspresyonun tespiti ile mesane DEHK'lu hastalarda prognozun belirlenmesinde uzun süreli takibi olan hastalardan oluşan daha geniş serilerde yapılacak çalışmalara gerek olduğu sonucuna varıldı.

## KAYNAKLAR

1. Aamodt RL, Caon JS, Deitch A: Flow cytometric evaluation of bladder cancer: recommendations of the NCI flow cytometry network for bladder cancer. *World J Urol*, 10:63-67;1992.
2. Amling CL, Thrasher JB, Frazier HA: Radical cystectomy for stages TA, TIS and T1 transitional cell carcinoma of the bladder. *Journal of Urology*, 151:31-36;1994.
3. Asamoto M, Hazegawa R, Masuko T: Immunohistochemical analysis of C-erbB-2 oncogene product and epidermal growth factor receptor expression in human urinary bladder carcinomas. *Acta Pathol Jpn*, 40(5):322-326;1990.
4. Averbach O, Garfikel L: Histologic changes in the urinary bladder in relation to cigarette smoking and use of artificial sweeteners. *Cancer*, 64:983-987;1989.
5. Barbaraschi M, Calfo D, Veromese S: Bcl-2 and p53 expression in node-negative breast carcinoma: A study with long - term follow-up. *Hum Pathol*, 27:1149-1155;1996.
6. Batsakis JG, El-Noggar AK: p53 fifteen years after discovery. *Anat Pathol*, 2:71-73;1995.
7. Berger MS, Greenfield C, Gullick WJ : Evaluation of epidermal growth factor receptors in bladder tumors. *Br J Cancer*, 56:533-537;1987.
8. Berner A, Jacobsen AB, Fossa SD: Expression of C-erbB-2 protein neuron-specific enolase and DNA flow cytometry in locally advanced transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Histopathology*, 22:327-333;1993.
9. Billerey C, Long B, Bittard H: Flow cytometry versus urinary cytology in the diagnosis and follow-up of bladder tumors: Critical review of a 5-year experience. *World J Urol*, 11:156-160;1993.
10. Blomfous LEM, Vos W, Schipper NW: The prognostic significance of selective nuclear morphometry in urinary bladder carcinoma. *Hum Pathol*, 21:409-413;1990.

11. Bookstein R, Allred DC: Recessive oncogenes. *Cancer*, 71:1179; 1993.
12. Bressac B, Kew M, Wands J: Selective G to T mutations of p53 gene in hepatocellular carcinoma from Southern Africa. *Nature*, 350:429-430;1991.
13. Brodeur GM, Seeger RC, Sather H: Clinical implications of oncogene activation in human neuroblastomas. *Cancer*, 58:541-545;1986.
14. Brodsky GL: Pathology of bladder carcinoma. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, Vol:6, Num:1:59-80;1992.
15. Brooks JD, Bova GS, Marshall FF: Tumor suppressor gene allelic loss in human renal cancers. *Journal of Urology*, 150:1278-1283;1993.
16. Brunt EM, Suranson PE: Immunoreactivity for C-erbB-2 oncoprotein in benign and malignant diseases of the liver. *Am J Clin Pathol*, 97(Suppl 1):53-61;1992.
17. Cardo CC, Dalbagni G, Saez GT: p53 mutations in human bladder cancer: Genotypic versus phenotypic patterns. *Int J Cancer*, 56:347-353;1994.
18. Carson DA, Lois A: Cancer progression and p53. *Lancet*, 8981:1009-1011;1995.
19. Cerutti P, Hussain P, Pourzand C: Mutagenesis of the H-ras protooncogene and the p53 tumor suppressor gene. *Cancer Res*, 54:1934-1938;1994.
20. Chern HD, Becich MJ, Persad RA: Clonal analysis of human recurrent superficial bladder cancer by immunohistochemistry of p53 and retinoblastoma proteins. *Journal of Urology*, 156:1846-1849;1996.
21. Chopin DK, Popou Z, Revery V: Prognostic factors in superficial bladder cancer. *World J Urol*, 11:148-152;1993.
22. Chung LW, Wei L, Gleave ME: Human prostate cancer model: role of growth factor and extracellular matrix. *Cell Biochem*, (Supp 1) 16:99-105;1992.
23. Chung LWK, Gleave ME, Hsieh JT, Heng SJ: Reciprocal mesenchymal-epithelial interaction affecting prostate cancer growth and hormonal responsiveness. *Cancer Surv*, 11:91-1210, 1991.

24. Cogle PT, Fraire AE, Greenberg SD: Potantiel utility of p53 immunopositivity in differentiation of adenocarcinomas from reactive epithelial atypias of the lung. *Hum Pathol*, 27:1198-1203;1996.
25. Cohen MB, Woldman FM, Carroll PR: Comparison of five histopathologic methods to assess cellular proliferation in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Hum Pathol*, 24:772-778;1993.
26. Coombs LM, Oliver S, Sweenay E: Immunocytochemical localization of C-erbB-2 protein in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Journal of Pathology*, 169:35-42;1993.
27. Coombs LM, Pigott DA, Sweeney E: Amplification and overexpression of C-erbB-2 in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Br J Cancer*, 63(4):601-608;1991.
28. Cooper MJ, Fischer M, Komitowski D: Developmentally imprinted genes as markers for bladders tumor progression. *Journal of Urology*, 155:2120-2127;1996.
29. Cotran RS, Kuman V, Robbins SL: Robbins pathologic basis of disease, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1994:991-1002.
30. Czerniak B, Cohen GL, Etkind P: Concurrent mutations of codhing and regulatory sequences of the H-ras gene in urinary bladder carcinomas. *Human Pathol*, 23:1199-1204;1992.
31. D'hallemin MA, Baert L: Initial evaluation of the bladder tumor antigen test in superficial bladder cancer. *Journal of Urology*, 155:475-476;1996.
32. Dalbagni G, Presti J, Reuter V: Genetic alterations in bladder cancer. *Lancet*, 342:469-471;1993.
33. Dalesio O, Schulman CC, Sylvester R: Prognostic factors in superficial bladder tumors. A study of the european organization for reseacrh on treatment of cancer: Genitourinary tract cancer cooperative group. *Journal of Urology*, 129:730-733;1983.
34. Dameron KM, Volpert OV, Tainsky MA: Control of angiogenesis in fibroblast by p53 regulation of thrombospondin-1. *Science*, 265:1582-1584;1994.
35. Doms ECM, Anderson WAD, Alans CL: Analysis of the performance of Pathologists in the grading of bladder tumors. *Human Pathology*, 14:140-143;1983.

36. Donato NJ, Gallick GE, Steck PA: Tumor necrosis factor modulates epidermal growth factor receptor phosphorylation and kinase activity in human tumor cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 264(34):20474-20481;1989.
37. Esposito V, Baldi A, Luca AD: Prognostic value of p53 in non-small cell lung cancer: Relationship with proliferating cell nuclear antigen and cigarette smoking. *Hum Pathol*, 28:233-237;1997.
38. Esrig D, Elmazian D, Groshen S: Accumulation of nuclear p53 and tumor progression in bladder cancer. *N Engl J Med*, 331:1259-1264;1994.
39. Esrig D, Spruck CH, Nichols PW: p53 nuclear protein accumulation correlates with mutations in the p53 gene, tumor grade and stage in bladder cancer. *American Journal of Pathology*, 143:1389-1396;1993.
40. Fair WR, Fuks ZY, Scher HI: Cancer of the bladder in: *Cancer principles and practice of oncology*. Third edition, J.B.Lippincott Company Philadelphia, 1993; 1052-1061.
41. Farmer G, Bargonetti J, Zhu H: Wild-type p53 activates transcription in vitro. *Nature*, 358:83-86;1992.
42. Fitzpatrick JM, West AB, Jutler MR: Superficial bladder tumors (stage pTa, Grades I and II): The importance of recurrence pattern following initial resection. *Journal of Urology*, 135:920-922;1986.
43. Gardiner KA, Samaratunga MLTH, Walsh MD: An immunohistological demonstration of C-erbB-2 oncoprotein expression in primary urothelial bladder cancer. *Urol Res*, 20:117-120;1992.
44. Gardiner RA, Allen WV, Rahman S: Immunohistological expression of p53 in primary pT1 transitional cell bladder cancer in relation to tumor progression. *British Journal of Urology*, 73:526-532;1994.
45. Gasparini G, Bevilacqua P, Pozza F, Meli S : Value of epidermal growth factor receptor status compared with growth fraction and other factors for prognosis in early breast cancer. *Br J Cancer*, 66:970-976;1992.

46. Gleave ME, Hsieh JT, Eschenbach AC and Chung LWK: Prostate and bone fibroblasts induce human prostate cancer growth in vivo: implications for bidirectional tumor-stromal cell interaction in prostate carcinoma growth and metastasis. *Journal Urology*, 147:1151-1159;1992.
47. Gleave ME, Hsieh JT, Gao C : Acceleration of human prostate cancer growth in vivo by factors produced by prostate and bone fibroblasts. *Cancer Res*, 51:3753-3761;1991.
48. Gleave ME, Hsieh JT, Wu HC : Epidermal growth factor receptor - mediated autocrine and paracrine stimulation of human transitional cell carcinoma. *Cancer Research*, 53:5300-5307;1993.
49. Glick SH, Howell LP, White RWD: Relationship of p53 and bcl-2 to prognosis in muscle - invasive transitional cell carcinoma of the bladder. *Journal of Urology*, 155:1754-1757;1996.
50. Gulhck W, Hughes CM, Mellon K : Immunohistochemical detection of the epidermal growth factor receptor in paraffin - embedded human tissues. *Journal of Pathology*, 164:285-289;1991.
51. Habuchi T, Takahashi R, Yamodo H : Metachronous multifocal development of urothelial cancers by intraluminal seeding. *Lancet*, 342:1087-1088;1993.
52. Hader M, Machado DS, Pfleger KH : Epidermal growth factor receptor expression, proliferation, and colony stimulating activity production in the urinary bladder carcinoma cell line 5637. *J Cancer Res Clin Oncol*, 113:579-585;1987.
53. Hargreave TB, Wood RE: The effect of intravesical thiotepa on tumour recurrence after endoscopic treatment of newly diagnosed superficial bladder cancer. A further report with long-term follow up of a Medical Research Council randomized trial. *British Journal of Urology*, 73:632-638;1994.
54. Harris AL : Mutant p53. The commonest genetic abnormality in human cancer? *Journal of Pathol*, 162:5-6;1990.
55. Heidenberg HB, Bover JJ, Mcleod DG: The role of the p53 tumor suppressor gene in prostate cancer: A possible biomarker? *Urology*, 48(6):971-979;1996.

56. Heney NM, Ahmed S, Flanagan M: Superficial bladder cancer: Progression and recurrence. *Journal of Urology*, 130:1083-1086;1983.
57. Heney NM, Proppe K, Prout GR: Invasive bladder cancer: Tumor configuration, lymphatic invasion and survival. *Journal of Urology*, 130:895-897;1983.
58. Hermeking H, Eick D: Mediation of c-myc-Induced apoptosis by p53. *Science*, 265:2091-2093;1994.
59. Herr HW, Leudone UP, Whitmore WF: An over view of intravesical therapy for superficial bladder tumors. *J Urol*, 138:1363;1987.
60. Hoenig DM, McRae S, Chen SC: Transitional cell carcinoma of the bladder in the pediatric patient. *Journal of Urology*, Vol:156:203-205;1996.
61. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B: p53 mutations in human cancers. *Articles*, 49-53;1991.
62. Holmang S, Berghede G: Early complications and survival following short-term palliative radiotherapy in invasive bladder carcinoma. *Journal of Urology*, 155:100-102;1996.
63. Hruban RH, Riet PVD, Erozan YS: Brief report: molecular biology and the early detection of carcinoma of the bladder-the case of Hubert H. Humphrey. *The New England Journal of Medicine*, 330:1276-1278;1994.
64. Hsu IC, Metcalf RA, Sun T: Mutational hotspot in the p53 gene in human hepatocellular carcinomas. *Nature*, 350:427-428;1991.
65. Ick K, Schultz M, Stout P: Significance of p53 overexpression in urinary bladder transitional cell carcinoma in situ before and after bacillus calmette-guerin treatment. *Urology*, 49:541-547;1997.
66. Iggo R, Gatter K, Bartek J: Increased expression of mutant forms of p53 oncogene in primary lung cancer. *Lancet*, 335:675-679;1990.
67. Johanson JL, Cohen SM : Lower urinary tract in: *Anderson's Pathology*. Tenth edition, Mosby Year Book, Inc St.Louis; 2143-2166;1996.

68. Joini Y, Hujanen TT, Kamel D: p53 immunohistochemistry in transitional cell carcinoma and dysplasia of the urinary bladder correlates with disease progression. *Br J Cancer*, 68:1029-1035;1993.
69. Jordan AM, Weingarten J, Murphy WM: Transitional cell neoplasms of the Urinary bladder. *Cancer*, 60:2766-2774; 1987.
70. Juhl BR, Hartzen SH, Hainav B: Lewis a antigen in transitional cell tumors of the urinary bladder. *Cancer*, 58:222-228;1986.
71. Juhl BR, Hartzen SH, Hainov B: A, B, H antigen expression in transitional cell carcinomas of the urinary bladder. *Cancer*, 57:1768-1775;1986.
72. Kamel D, Joini Y, Nuarva K : p53 and C-erbB-2 expression in schistosomal urinary bladder carcinomas and schistosomal cystitis with premalignant lesions. *Virchows Archiv*, 424:349-355;1994.
73. Kantor AF, Hartge P, Hoover RV, Fraumeni JF: Familial and environmental interactions in bladder cancer risk. *Int J Cancer*, 35:703;1985.
74. Keeley FX, Jibbo M, McCue PA: Use of p53 in the diagnosis of upper-tract transitional cell carcinoma. *Urology*, 49:181-186;1997.
75. Kern WH: The grade and pathologic stage of bladder cancer. *Cancer*, 53:1185-1189;1984.
76. Kiemeny LA, Schoenberg M: Familial transitional cell carcinoma. *Journal of Urology*, 156:867-872;1996.
77. Koss LG: Tumors of the urinary bladder. *Armed Forces Insitute of Pathology*, Washington. Second Series, Fascicle, 11;1975.
78. Kunze E, Schaver A, Schmitt M : Histology and histogenesis of two different types of inverted papillomas. *Cancer*, 51:348;1983.
79. Lane DP: p53 guardion of the genome. *Nature*, 358:15-16;1992.
80. Lazarevic B, Garret R : Inverted papilloma and papillary transitional cell carcinoma of urinary bladder. *Cancer*, 42:1904;1978.
81. Levine AJ, Momand J, Finlay CA: The p53 tumor supressor gene. *Nature*, 351:453-456;1991.
82. Libermann TA, Razon N, Bartal AD : Expression of epidermal growth factor receptors in human brain tumors. *Cancer Research*, 44:753-760;1984.



83. Lipponen P, Eskelinen M, Syrjanen S : Use of immunohistochemically demonstrated C-erbB-2 oncoprotein expression as a prognostic factor in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Eur Urol*, 20:238-242;1991.
84. Lipponen P, Eskelinen M: Expression of epidermal growth factor receptor in bladder cancer as related to established prognostic factors, oncoprotein (C-erbB-2, p53) expression and long-term prognosis. *Br J Cancer*, 69:1120-1125;1994.
85. Locombe L, Dalbagni G, Zhang ZF: Overexpression of p53 protein in a high risk population of patients with superficial bladder cancer before and after bacillus Calmette-guerin therapy: Correlation to clinical outcome. *J Clin Oncol*, 14:2646-2652;1996.
86. Lopez-Beltran A, Croghan GA, Croghan I: Prognostic factors in bladder cancer. *Am J Clin Pathol*, 102:109-114;1994.
87. Lowe JW, Bodis S, McClatchey A: p53 status and efficacy of cancer therapy in vivo. *Science*, 266:807-810;1994.
88. Lowe JW, Ruley HE, Jacks T: p53-dependent apoptosis modulates the cytotoxicity of anticancer agents. *Cell*, 74:957-967;1993.
89. Lowe JW, Schmitt EM, Smith SW: p53 is required for radiation induced apoptosis in mouse thymocytes. *Nature*, 362:847-849;1993.
90. Lundbeck F, Magensen P, Jeppesen N: Intravesical therapy of noninvasive bladder tumors (stage Ta) with doxorubicin and urokinase. *Journal of Urology*, 130:1087-1089;1983.
91. Malkowicz SB: Editorial: Superficial bladder cancer-incremental insight. *Journal of Urology*, 155:488-489;1996.
92. Mariyoma M, Akiyama T, Yamamoto T : Expression of C-erbB-2 gene product in urinary bladder cancer. *Journal of Urology*, 145:423-427;1991.
93. Matsuyama H, Pan Y, Mandy EA: p53 deletion as a genetic marker in urothelial tumor by fluorescence in situ hybridization. *Cancer Res*, 54:6057-6060;1994.
94. Mayak MJ Editorial: Bladder carcinoma - The good, the bad and the ugly. *Journal of Urology*, 155:103-104;1996.
95. McCann A, Dervan PA, Johnston PA : C-erbB-2 oncoprotein expression in primary human tumors. *Cancer*, 65:88-92;1990.

96. Melamed MR, Voutsas NG, Grabstald H : Natural history of clinical behavior of in situ carcinoma of the human primary bladder. *Cancer*, 17:1533-1545;1974.
97. Mellon JK, Lunec J, Wright C : C-erbB-2 in bladder cancer:molecular biology, correlation with epidermal growth factor receptor and prognostic value. *Journal of Urology*, 155:321-326;1996.
98. Mellon K, Willanson S, Vickers J: Abnormalities in p53 and DNA content in transitional cell carcinoma of the bladder. *British Journal of Urology*, 73:522-525;1994.
99. Messing EM, Hanson P, Ulrich P : Epidermal growth-factor-interactions with normal and malignant urothelium : in vivo and in situ studies. *Journal of Urology*, 138:1329-1335;1987.
100. Moch H, Sauter G, Mihatsch B: p53 but not erbB-2 expression is associated with rapid tumor proliferation in urinary bladder cancer. *Hum Pathol*, 25(12):1346-1351;1994.
101. Moch H, Sauter G, Moore D : p53 and C-erbB-2 protein overexpression are associated with early invasion and metastasis in bladder cancer. *Virchows Archiv A Pathol Anat*, 423:329-334;1993.
102. Moskaluk CA, Heitmiller R, Zahurak M: p53 and p21 gene products in Barrett Esophagus and adenocarcinoma of the esophagus and esophagogastric junction. *Hum Pathol*, 27:1211-1220;1996.
103. Mostofi FK, Sobin LH, Torloni H: Histological typing of urinary bladder tumours. International classification of tumours. 10, Geneva, 1973, World Health Organization.
104. Myomato H, Shuin T, Ikeda I: Loss of heterozygosity at the p53, RB, DCC and APC tumor suppressor gene loci in human bladder cancer. *Journal of Urology*, 155:1444-1447;1996.
105. Nakopoulov L, Constantinides C, Papandropoulos J: Evaluation of expression of p53 tumor suppressor protein in superficial and invasive transitional cell bladder cancer: Comparison with DNA ploidy. *Urology*, 46:334-340;1995.
106. Neal DE, Marsh C, Bennett MK : Epidermal growth factor receptors in human bladder cancer comparison of invasive and superficial tumors. *Lancet*, 1:366-368;1985.

107. Neal DE, Sharples L, Smith K : The epidermal growth factor receptor and the prognosis of bladder cancer. *Cancer*, 65(7):1619-25;1990.
108. Neal DE, Smith K, Fennelly JA : Epidermal growth factor receptor in human bladder cancer: A comparison of immunohistochemistry and ligand binding. *Journal of Urology*, 141:517-521;1989.
109. Neal DE, Mellon K : Epidermal growth factor receptor and bladder cancer: A review. *Urol Int*, 48:365-371;1992.
110. Norming U, Tribukait B, Gustafson H: Deoxyribonucleic acid profile and tumor progression in primary carcinoma in situ of the bladder: A study of 63 patients with grade III lesions. *Journal of Urology*, 147:11-15;1992.
111. Nyugen PL, Suranson PE, Jaszcz W : Expression of epidermal growth factor receptor in invasive transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Am J Clin Pathol*, 101(2):166-176;1994.
112. Oliner JD, Kinzler KW, Meltzer PS: Amplification of a gene encoding a p53 associated protein in human sarcomas. *Nature*, 358:80-83;1992.
113. Ooms ECM, Kurver PHJ, Veldhuizen RW: Morphometric grading of bladder tumors in comparison with histologic grading by pathologist. *Hum Pathol*, 14:144-150;1983.
114. Osborne CK, Hamilton B, Titus G, Livingstone RS: Epidermal growth factor stimulation of human breast cancer cell in culture. *Cancer Res*, 40:2361-2366;1980.
115. Özbek U, Şengün Z, Kurul S: Malign melanomda serum p53 onkoprotein düzeyleri. *Türk Plast Cer Derg*, Cilt 2, Sayı 3:173-175;1994.
116. Padly LC, Shih C, Cowing D: Identification of a phosphoprotein specially induced by the transforming DNA of rat neuroblastomas. *Cell*, 28:865-871;1982.
117. Park WS, Lee HK, Lee JY: p53 mutations in solar keratosis. *Hum Pathol*, 27:1180-1184;1996.
118. Pollack A, Zagors GK, Cole CJ: The relationship of local control to distant metastasis in muscle invasive bladder cancer. *Journal of Urology*, 154:2059-2064;1995.
119. Pollack A, Zagors GK, Dinney CP: Preoperative radiotherapy for muscle-invasive bladder carcinoma. *Cancer*, 74:2819-2827;1994.

120. Potts IF, Hirst E: Inverted papilloma of the bladder. *J Urol*, 90:175;1963.
121. Pritchett TR, Wang JK, Jones PA : Mesenchymal-epithelial interactions between normal and transformed human bladder cancer cells. *Cancer Res*, 49:2750-2754;1989.
122. Prout GR, Griffi PP, Daly JJ: Carcinoma in situ of the urinary bladder with and without associated vesical neoplasms. *Cancer*, 52:524-532;1983.
123. Roghavan D, Shipley WU, Garnick MB: Biology and management of bladder cancer. *The New England Journal of Medicine*, 322:1129-1138;1990.
124. Rosai J: Ackerman's surgical pathology. Eighth edition. Mosby-Year Book Inc St.Louis, 1996. Chap.17.
125. Russell PJ, Brown JL, Grimmand SM and Roghavan D: review molecular biology of urological tumors. *Br J Urol*, 65:121;1990.
126. Sadler TW: Urogenital system in: Langman's medical embryology. Seventh edition. A Waverly Company, Philadelphia, 15:271-175;1996.
127. Sainburry JR, Farndon JR, Needham GK : Epidermal growth factor receptor status as predictor of early recurrence of and death from breast cancer. *Lancet*, 20:1398-1402;1987.
128. Sanchez MC, Morell L, Gil M: Morphometric and immunohistochemical characterization of bladder carcinoma in situ and its preneoplastic lesions. *Eur Urol*, 21 (suppl 1): 5-9;1992.
129. Sandberg AA, Serger CS: Review of chromosome studies in urological tumors. II. Cytogenetics and molecular genetics of bladder cancer. *The Journal of Urology*, 151:545-550;1994.
130. Sarkis AJ, Dalbagni G, Corden-Cardo C : Association of p53 nuclear over-expression and tumor progression in carcinoma in situ of the bladder. *Journal Urology*, 152:388-392;1994.
131. Sarkis AS, Dalbagni G, Corden-Cardo C : Nuclear over-expression of p53 protein in transitional cell bladder carcinoma: A marker for disease progression. *JNCI*, 85:53;1993.
132. Sato K, Mariyoma M, Mori S : An immunohistologic evaluation of C-erbB-2 gene product in patients with urinary bladder carcinoma. *Cancer*, 70(10):2493-2498;1992.

133. Sauter G, Haley J, Chew K : Epidermal growth-factor-receptor expression is associated with rapid tumor proliferation in bladder cancer. *Int J Cancer*, 57:508-514;1994.
134. Schapers RFM, Pauwels RPE, Wijnen JTM: A simplified grading method of transitional cell carcinoma of the urinary bladder: reproducibility, clinical significance and comparison with other prognostic parameters. *British Journal of Urology*, 73:625-631;1994.
135. Schechter AL, Stern BF, Vaidyanathan L : The neu oncogene an erbB related gene encoding a 185.000 m tumour antigen. *Nature*, 312:513-516;1984.
136. Schimmelpenning H, Eriksson ET, Pallis L : Immunohistochemical C-erbB-2 protooncogen expression and nuclear DNA content in human mammary carcinoma in situ. *Am J Clin Pathol*, 97(Suppl 1): 48-52;1992.
137. Sgambato A, Flamini G, Astone A: Clinical predictive value of p53 and C-erbB-2 overexpression in 54 patients with transitional cell carcinoma (TCC) of the urinary bladder. *J Exp Clin Cancer Res*, 13-4:323-330;1994.
138. Shiina H, Igawa M, Nagami H: Immunohistochemical analysis of proliferating cell nuclear antigen, p53 protein and nm23 protein, and nuclear DNA content in transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer*, 78:1762-1774;1996.
139. Sidransky D, Erschenbach AV, Tsai YC: Identification of p53 gene mutations in bladder cancer and urine samples. *Science*, 252:706-708;1991.
140. Sidransky D, Frost P, Eschenbach AV: Clonal origin of bladder cancer. *The New England Journal of Medicine*, 326, No:11:737-740;1992.
141. Skinner DG, Daniels JR, Russell CA: The role of adjuvant chemotherapy following cystectomy for invasive bladder cancer: A prospective comparative trial. *Journal of Urology*, 145:4598-467;1991.
142. Slamon DJ, Grodolphin W, Jones LA: Studies of HER-2/neu protooncogene in human breast and ovarian cancer. *Science*, 244:707-612;1989.

143. Smith K, Fennelhy JA, Neal DE : Characterization and quantitation of the epidermal growth factor receptor in invasive and superficial bladder tumors. *Cancer Research*, 49:5810-5815;1989.
144. Soini Y, Paakko PX : Extent of apoptosis in relation to p53 and bcl-2 expression in germ cell tumors. *Hum Pathol*, 27:1221-1226;1996.
145. Soto EA, Fridell GH, Tiltman AJ: Bladder cancer as seen in giant histologic sections. *Cancer*, 39:447-455;1977.
146. Spruck CH, Rideout UM, Olumi AF: Distinct pattern of p53 mutations in bladder cancer. Relationship to tobacco usage. *Cancer Res*, 53:1162-1166;1993.
147. Stenberg SS: Diagnostic surgical pathology, New York. Second edition. Vol.2, Chap:43, 1778-1800; 1994.
148. Stockle M, Meyenburg W, Wellek S: Advanced bladder cancer (stages PT3b, PT4a, PN1 and PN2): Improved survival after radical cystectomy and 3 adjuvant cycles of chemotherapy. Results of a controlled prospective study. *Journal of Urology*, 148:302-307;1992.
149. Sugino T, Gerham H, Yoshida K: Progressive Loss of CD44 gene expression in invasive bladder cancer. *American Journal of Pathology*, 149:No.3:873-882;1996.
150. Terada T, Shimizu K, Izumi R : Methods in pathology p53 expression in formalin-fixed, paraffin-embedded archival specimens of intrahepatic colangiocarcinoma:retrieval of p53 antigenicity by microwave over heating of tissue sections. *Mod Pathol*, 7:249-252;1994.
151. Tetu B, Fradet Y, Allard P: Prevalance and clinical significance of Her-2/neu, p53 and Rb expression in primary superficial bladder cancer. *Journal of Urology*, 155:1784-1788;1996.
152. Thomas DJ, Robinson MC, Charlton R: p53 expression, ploidy and progression in pT1 transitional cell carcinoma of the bladder. *Br Journal of Urology*, 73:533-537;1993.
153. Thomson SJ, Mellon K, Charlton RG : p53 and ki-67 immunoreactivity in human prostate cancer and benign hyperplasia. *Br J Urol*, 69:609;1992.

154. Tiriakons DG, Mellon K, Anderson JJ: C-jun oncogene expression in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *British Journal of Urology*, 74:757-761;1994.
155. Toguchida J, Yamaguchi T, Dayton SH: Prevalance and spectrum of germalue mutations of the p53 gene among patients with sarcoma. *New Engl J Med*, 326:1301-1308;1992.
156. Toi M, Nakamura T, Mukaida H : Relationship between epidermal frowth factor receptor status and various prognostic factors in human breast cancer. *Cancer*, 65:1980-1984;1990.
157. Uchida T, Wada C, Shitara T: In frequent involvement of p53 mutations and loss of heterozygoty of 17p in the tumor genesis of renal cell carcinom. *Journal of Urology*, 150:1298-1301;1993.
158. Uchida T, Woda C, Ishido H: p53 mutations and prognosis in bladder tumors. *Journal of Urology*, 153:1097-1104;1995.
159. Vahakangas KH, Jamett JM, Metcolf RA: Mutations of p53 and ras genes in radon-associated lung cancer from uranium miners. *Lancet*, 339:576-580;1992.
160. Van Veldhuizen PJ, Sadasivan R, Garcia F : Mutant p53 expression in prostate carcinoma. *Prostate*, 22:23;1993.
161. Venter DJ, Kumar S, Tuzi NL : Overexpression of the C-erbB-2 oncoprotein in human breast carcinomas: immunohistological assessment correlates with gene amplification. *Lancet*, 11, 69-71;1987.
162. Vet JAM, Bringuier PP, Poddighe PJ: p53 mutations have no additional prognostic value over stage in bladder cancer. *Br J Cancer*, 70:496-500;1994.
163. Wan J, Grossman B: Bladder carcinoma in patients age 40 years or younger. *Cancer*, 64:178-181;1989.
164. Ward AM: Glandular metaplasia and mucin production in transitional cell carcinomas of bladder. *J Clin Pathol*, 24:481;1971.
165. Ware JL, Maygarden SJ, Koontz WW : Immunohistochemical detection of C-erbB-2 protein in human benign and neoplastic prostate. *Hum Pathol*, 22:254-258;1991.
166. Wei YD, Fu ZJ, Xi-YS: Expression of p53 product in chinese human bladder carcinoma. *Urol Res*, 21:223-226;1993.

167. Werthman PE, Drazan KE, Rosenthal JT: Adenoviral - p53 gene transfer to orthotopic and peritoneal murine bladder cancer. *Journal of Urology*, 155:753-756;1996.
168. Wijkstrom H, Tribukait J: Deoxyribonucleic acid flow cytometry in predicting response to radical radiotherapy of bladder cancer. *Journal of Urology*, 144:646-650;1990.
169. Wilham W, Vincet W, Tsakoyannis D: p53 and bladder cancer. *The New England Journal of Medicine*, 332:957-958;1995.
170. Witjes JA, Umbas R, Debruyne FMJ: Expression of markers for transitional cell carcinoma in normal bladder mucosa of patients with bladder cancer. *Journal of Urology*, 154:2185-2189;1995.
171. Witzer JA, Kiemeny LA, Verbeek AL: Random bladder biopsies and the risk of recurrent superficial bladder cancer: a protective study in 1026 patients. *World J Urol*, 10:231-234;1992.
172. Wood DP, Wartinger DD, Reuter V : DNA, RNA and immunohistochemical characterization of the Her2/neu oncogene in transitional cell carcinoma of the bladder. *Journal of Urology*, 146:1398-1401;1991.
173. Wright C, Mellon K, Johnston P : Expression of mutant p53, C-erbB-2 and the epidermal growth factor receptor in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Br J Cancer*, 63:967-970;1991.
174. Wright C, Mellon K, Neal DE : Expression of C-erbB-2 protein product in bladder cancer. *Br J Cancer*, 62:764-765;1990.
175. Wu CS, Pollack A, Czerniak B: Prognostic value of p53 in muscle invasive bladder cancer treated with preoperative radiotherapy. *Urology*, 47:305-310;1996.
176. Yonemura Y, Ninomiya I, Ohoyama S : Expression of C-erbB-2 oncoprotein in gastric carcinoma. *Cancer*, 67:2914-2918;1991.
177. Yoshimura I, Kudah J, Saito S: p53 gene mutation in recurrent superficial bladder cancer. *Journal of Urology*, 153:1711-1715;1995.
178. Young RH, Eble JN: Unusual forms of carcinoma of the urinary bladder. *Hum Pathol*, 22:948-965;1991.
179. Young RH, Sukerberg LR: Microcystic transitional cell carcinomas of the urinary bladder. *Am J Clin Pathol*, 96:635-639;1991.