

T.C
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

MESANENİN PRİMER T1 DEĞİŞİCİ EPİTEL HÜCRELİ
KARSİNOMLARINDA MASPİN VE KI-67
EKSPRESYONUNUN VE PROGNOSTİK ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Demet TURAN AÇIKALIN

Patoloji Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR

2009

T.C
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

MESANENİN PRİMER T1 DEĞİŞİCİ EPİTEL HÜCRELİ
KARSİNOMLARINDA MASPİN VE Kİ-67
EKSPRESYONUNUN VE PROGNOTİK ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Demet TURAN AÇIKALIN

Patoloji Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
Prof. Dr. Ülkü ÖNER

ESKİŞEHİR

2009

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Demet TURAN AÇIKALIN'a ait "Mesanenin primer T1 değişici epitel hücreli karsinomlarında maspin ve Ki-67 ekspresyonunun ve prognostik etkisinin değerlendirilmesi" adlı çalışma jürimiz tarafından Patoloji Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı	Prof. Dr. Ülkü Öner Patoloji Anabilim Dalı	İmza
Üye	Prof. Dr. Özgül Paşaoğlu Patoloji Anabilim Dalı	İmza
Üye	Prof. Dr. Emine Dündar Patoloji Anabilim Dalı	İmza

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yönetim Kurulu'nun
...../...../.....Tarih ve/.....Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zübeyir KILIÇ

Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren sayın hocalarım Prof. Dr. Ülkü ÖNER'e, Prof. Dr. Özgül PAŞAOĞLU'na, Prof. Dr. Sare KABUKÇUOĞLU'na, Prof. Dr. Serap IŞIKSOY'a, Prof. Dr. Emine DÜNDAR'a, Doç. Dr. Mustafa AÇIKALIN'a, Öğr. Gör. Dr. Evrim ÇİFTÇİ'ye, Öğr. Gör. Dr. Funda CANAZ'a, birlikte çalıştığım araştırma görevlisi arkadaşlarım Dr. Metehan GENÇOĞLU'na, Dr. Nurcan ULUSKAN ÜNVER'e, Dr. Ülkü TOPALOĞLU'na, Dr. Buket ALTUNKARA'ya, Dr. Pınar İMRE'ye, Dr. Emine Ülkü Yılmaz'a, Dr. Serdar Tokmak'a, Dr. Melis SİREL'e ve Anabilim Dalımızın tüm çalışanlarına, ayrıca tezimin istatistiklerinin hazırlanmasında bana yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul Çolak'a yardım ve destekleri için teşekkür ederim.

ÖZET

Açıklan T, D. Mesanenin primer T1 değişici epitel hücreli karsinomlarında maspin ve Ki-67 ekspresyonunun ve prognostik etkisinin değerlendirilmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2009. Mesanenin evre T1 değişici epitel hücreli karsinomu olan hastalar yüksek rekürrens, progresyon ve kanser ilişkili ölüm riskine sahiptir. T1 evresinde olan tümörlerin prognozlarını değerlendirmek ve tedavi stratejileri geliştirebilmek üzere çeşitli klinik ve patolojik parametreler ortaya konmuştur. Son yıllarda tümörlerin moleküler biyolojik karakteristikleri ile ilişkili prognostik faktörlerin ortaya konulabilmesine çalışılmaktadır. Maspin, tümör süpresör özelliklere sahip, noninhibitör bir serpin (serin proteaz inhibitör) dir. Literatürde mesane tümörlerinde maspin ekspresyonunun incelendiği az sayıda çalışma mevcuttur. Ki-67 hücre siklusunun, G₀ fazı hariç, tüm fazlarında eksprese olan bir nükleer proteindir. Çok sayıdaki çalışma Ki-67'nin mesane kanser rekürrensi ve progresyonu için bağımsız prognostik belirleyici olduğunu göstermektedir. Evre T1 mesane tümörü olan 66 hastayı içeren çalışmamızda maspin ekspresyonunun rekürrens riski açısından bağımsız bir öneme sahip olduğu saptandı ($p<0.05$). Maspin ekspresyonunun negatif olduğu hastalarda maspin pozitif olanlara göre 2.046 kat daha fazla rekürrens riski bulunduğu gözlemlendi. Ayrıca maspin negatif grubun daha kısa rekürrenssiz ve progresyonsuz sağkalım süresine sahip olduğu belirlendi ($p<0.05$). Ki-67 ile tümör rekürrensi, progresyonu ve tümör nedeni ölüm arasında anlamlı bir korelasyona rastlanmadı ($p>0.05$). Bulgularımız evre T1 mesane tümörlerinde maspin ekspresyonunun değerlendirilmesinin tümörün davranışının tahmininde yararlı bir prognostik belirleyici olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Mesane, değişici epitel hücreli karsinom, maspin, Ki-67, prognoz

ABSTRACT

Acıkalın T, D. Evaluation of the expression of maspin and Ki-67 and its prognostic effect in primary T1 transitional cell carcinoma of the bladder. Eskisehir Osmangazi University, Faculty of Medicine, Department of Pathology, Medical Speciality Thesis in Medicine, Eskisehir, 2009. Patients with stage T1 bladder transitional cell carcinoma have a high risk of recurrence, progression and cancer-related death. A number of clinical and pathological parameters are used in evaluating prognosis and in creating therapeutic strategies for T1 tumors. Special attention has been paid in recent years to identifying prognostic factors related to the molecular biological characteristics of the tumor. Maspin is a non-inhibitory serpin (serine protease inhibitor) with tumor-suppressive properties. Only a few reports are present in the literature on maspin expression in bladder tumors. Ki-67 is a nuclear protein that is expressed in all stages of the cell cycle except in G₀ phase. A large number of studies define Ki-67 as an independent prognostic marker of bladder cancer progression and recurrence. In our study consisting of 66 patients with stage T1 bladder tumor, maspin expression was identified as an independent predictor of recurrence ($p < 0.05$). Patients with negative maspin expression were 2.046 times more likely to relapse than patients with positive maspin expression. Furthermore, maspin negative group was found to have a shorter recurrence and progression-free survival ($p < 0.05$). There was no correlation between the Ki-67 expression and tumor recurrence, progression and tumor-related death ($p > 0.05$). Our findings suggested that the evaluation of maspin expression in stage T1 bladder tumors is useful prognostic marker for predicting the tumor behavior.

Key words: bladder, transitional cell carcinoma, maspin, Ki-67, prognosis

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLOLAR DİZİNİ	x
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. DEĞİŞİCİ EPİTEL HÜCRELİ (ÜROTELYAL) KARSİNOM	3
2.2. ÜROTELYAL KARSİNOMA İN SİTU	26
2.3. MASPİN	28
2.4. Kİ-67	33
3.GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1. OLGU SEÇİMİ	34
3.2. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA YÖNTEMİ	34
3.3. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL ANALİZ	35
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	35
4.BULGULAR	36
4.1. KLİNİK VE HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	36
4.2. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR	38
4.3. MASPİN VE Kİ-67 EKSPRESYONUNUN KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ	47
4.4. MASPİN VE Kİ-67 EKSPRESYONU İLE PROGNOZ ARASINDAKİ İLİŞKİ	48
5.TARTIŞMA	54
6.SONUÇLAR	62
KAYNAKLAR	65

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CK	Sitokeratin
DEHK	Değişici Epitel Hücreli Karsinom
DMPPÜN	Düşük Malign Potansiyelli Papiller Ürotelyal Neoplazm
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EBFR	Epidermal büyüme faktör reseptörü
hCG	İnsan Koryonik Gonadotropin
H&E	Hematoksilen&Eozin
ISUP	Uluslararası Ürolojik Patoloji Cemiyeti
Maspın	Meme serin proteaz inhibitör
RB1	Retinoblastom1
rMaspın	Rekombinant maspın
RSL	Reaktif site loop
Serpın	Serin proteaz inhibitör
TUR	Transüretal Rezeksiyon
uPA/uPAR	Ürokinaz plazminojen aktivatör / Ürokinaz plazminojen aktivatör reseptör kompleksi

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
4.1. Rekürrensiz sağkalım süresinin maspin ekspresyonu ile ilişkisi ($p=0.030$, log-rank test).	52
4.2. Progresyonsuz sağkalım süresinin maspin ekspresyonu ile ilişkisi ($p=0.048$, log-rank test).	53

RESİMLER DİZİNİ

4.1. Maspin ile normal ürotelyal epitelde bazal ve intermedier hücrelerde orta-kuvvetli derecede boyanma (Biyopsino: 7452/99) (x200).	41
4.2. Maspin ile normal bazal ve intermedier hücrelerde orta-kuvvetli derecede boyanma görülürken, şemsiye hücrelerinde boyanma izlenmedi (Biyopsi no: 7452/99) (x400).	41
4.3. Maspin ile nükleer boyanma (Biyopsi no: 9055/04) (x400).	42
4.4. Grade 1 tümörde sitoplazmik maspin pozitifliği (%42 boyanma) (Biyopsi no: 4179/06) (x200).	42
4.5. Grade 2 tümörde sitoplazmik maspin pozitifliği (%44 boyanma) (Biyopsi no: 4087/07) (x100).	43
4.6. Grade 2 tümörde sitoplazmik maspin pozitifliği (%15 boyanma) (Biyopsi no: 5976/99) (x200)	43
4.7. Grade 2 tümörde sitoplazmik maspin pozitifliği (%12 boyanma) (Biyopsi no: 7147/99) (x400)	44
4.8. Grade 3 tümörde maspin ile seyrek sitoplazmik boyanma (%1 boyanma) (Biyopsi no: 9245/02) (x200).	44
4.9. Grade 3 tümörde maspin ile sitoplazmik + nükleer boyanma (%22 boyanma) (Biyopsi no: 10431/04) (x400)	45
4.10. Grade 1 tümörde Ki-67 pozitifliği (<%10) (Biyopsi no: 3811/99) (x400)	45
4.11. Grade 2 tümörde Ki-67 pozitifliği (>%10) (Biyopsi no: 6711/99) (x400)	46
4.12. Grade 3 tümörde Ki-67 pozitifliği (>%10) (Biyopsi no: 5845/98)(x200)	46

TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa
2.1. Mesane tümörlerinin histolojik sınıflaması (Dünya Sağlık Örgütü, 2004)	4
2.2. Stromal invazyon tanısında yararlı histolojik özellikler	9
2.3. Papillom ile grade 1 ürotelyal karsinomun ayırt edici özellikleri	13
2.4. Ürotelyal papiller tümörlerin histolojik özellikleri (DSÖ/ISUP)	15
2.5. DSÖ 1973 ve 2004 sistemlerinin karşılaştırması	17
2.6. Mesane kanserlerinin TNM evrelemesi (2002 revizyonu)	21
2.7. Maspin ekspresyonu gösteren çeşitli dokular	29
2.8. Maspin-bağlayıcı partnerler ve fonksiyonları	29
2.9. Maspinin anti-metastatik etkileri	30
4.1. Olgulara ait klinikopatolojik özellikler	37
4.2. Olgulara ait immünohistokimyasal boyama sonuçları	39
4.3. Maspin ekspresyonunun klinikopatolojik parametreler ve Ki-67 ekspresyonu ile ilişkisi	47
4.4. Ki-67 ekspresyonunun klinikopatolojik parametreler ve maspin ekspresyonu ile ilişkisi	48
4.5. Tek değişkenli <i>Cox proportional hazard regression</i> analizinde klinikopatolojik parametreler, maspin ve Ki-67 ekspresyonunun rekürrens ile ilişkisi	49
4.6. Tek değişkenli <i>Cox proportional hazard regression</i> analizinde klinikopatolojik parametreler, maspin ve Ki-67 ekspresyonlarının progresyon ile ilişkisi	50
4.7. Tek değişkenli <i>Cox proportional hazard regression</i> analizinde klinikopatolojik parametreler, maspin ve Ki-67 ekspresyonlarının tümör nedenli ölüm ile ilişkisi	51

1.GİRİŞ

Mesane kanserleri ürogenital kanserler arasında en fatal seyreden tümörlerden biridir. Mesane kanserlerinin yaklaşık %90'ını değişici epitel hücreli karsinomlar (DEHK) oluşturmaktadır (1). Hastaların %75'i ilk başvuru anında yüzeysel, %20'si invaziv, %5'i metastatik hastalığa sahiptir. Yüzeysel kanserler (evre Ta ve T1) transüretral rezeksiyon (TUR) veya intravezikal kemoterapi ve immünoterapi kombinasyonu ile başarılı bir şekilde tedavi edilmektedir. Yüzeysel kanserlerin %70'inden fazlası ilk TUR işleminden sonra rekürrens ve bunların da yaklaşık %10'u ise kas invaziv kansere progresyon göstermektedir (2). Progresyon hızı; invazyon düzeyi, tümör mültifokalitesi ve tümör boyutu gibi çeşitli risk faktörlerine bağlı olarak, düşük risk grubunda %7.1'den yüksek risk grubunda %40'a kadar değişebilmektedir (3).

Mesane evre T1 DEHK'ları yüksek rekürrens, progresyon ve kanser ilişkili ölüm riskine sahip tümörlerdir. T1 evresindeki papiller mesane kanserlerinin, olguların yaklaşık %70'inde rekürrens gösterdikleri saptanmıştır (4). Evre T1 tümörlerin %25'inin 2 yıl içinde kas invaziv tümöre progrese oldukları bildirilmektedir (5). T1 evresinde olan tümörlerin prognozlarını değerlendirmek ve tedavi stratejileri geliştirebilmek üzere çeşitli klinik ve patolojik parametreler ortaya konmuştur. Tümör mültifokalitesi, tümör boyutu, intravezikal tedaviye yanıt, erken rekürrensin varlığı ve histolojik grade gibi parametrelerin evre T1 tümörlerde prognostik öneme sahip olabileceği düşünülmektedir. Ancak benzer klinikopatolojik özelliklere sahip tümörlerin klinik davranışları belirgin farklılıklar gösterebilmektedir. Bu nedenle, bu tümörlerin davranışlarının önceden tahminine ve dolayısıyla olguların daha iyi tedavi edilebilmesine katkıda bulunabilecek moleküler belirleyicilere ihtiyaç duyulmaktadır.

Maspin, serin proteaz inhibitör ailesinin tümör süpresör aktiviteye sahip bir üyesidir (6). İn vitro çalışmalar ve hayvan deneylerinde maspinin tümör hücre motilitesi ve invazyonunu azalttığı gösterilmiştir. Çalışmalar maspinin pro-apoptotik, anti-anjiogenik ve anti-metastatik fonksiyonlara sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Meme ve prostat kanser hücrelerinde maspinin hücre invazyonunu ve metastazı inhibe ettiği gösterilmiştir (7,8). Ayrıca maspinin in vivo olarak neovaskülarizasyonu etkili bir şekilde durdurduğu ve tümör ilişkili mikrodamar yoğunluğunu azalttığı

saptanmıştır (9). Maspin ekspresyonunda *downregülasyonun* progresyon ve metastaz ile korelasyonu meme, prostat, kolon ve oral kanserler gibi çeşitli kanser tiplerinde gösterilmiştir (10-12). Tersine, küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sitoplazmik maspin *overekspresyonunun* tümör progresyonu ve kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (13). Benzer paradoksikal maspin ekspresyonu meme, pankreatik, gastrik ve overyan kanser gibi çeşitli kanserlerde de ortaya konmuştur (14-17). Bu bulgu, maspinin invaziv aktivite, motilite, tümör büyümesi ve metastazı inhibe eden tümör süpresör gen özelliğine ters görünmektedir. Literatürde mesane tümörlerinde maspin ekspresyonunun incelendiği az sayıda çalışma bulunmakta olup, bu çalışmalarda maspinin prognostik rolü konusunda farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Ki-67 hücre siklusunun, G₀ fazı hariç, tüm fazlarında eksprese olan bir nükleer proteindir. İmmünohistokimyasal olarak belirlenen Ki-67 antijen ekspresyonunun çeşitli tiplerdeki karsinomlarda tümör büyümesi ile korelasyon gösterdiği bilinmektedir. Çok sayıda çalışma Ki-67'nin çok değişkenli analizde mesane kanser rekürrensi ve progresyonu için bağımsız prognostik belirleyici olduğunu göstermektedir (18-22). Ancak sadece evre T1 mesane tümörlerinin dahil edildiği çalışmaların çoğunda Ki-67'nin tümör rekürrensi, progresyonu ve genel sağkalım açısından bağımsız prognostik belirleyici olmadığı bildirilmiştir (5,23,24).

Biz bu çalışmada mesanenin primer evre T1 DEHK'lerinde maspin ve Ki-67 ekspresyonlarının rekürrens, progresyon ve tümör nedenli ölüm ile ilişkisini ortaya koymayı amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

Mesane kanseri dünya genelinde en sık görülen yedinci kanser olup her yıl yaklaşık 336000 yeni olgu bildirilmektedir (25). Birleşik Devletler’de her yıl 51000’den fazla yeni olgu bildirilmekte ve 10500’den fazla kişi bu hastalıktan kaybedilmektedir (1). Mesane kanserleri dünyada görülen tüm kanserlerin yaklaşık %3,2’sini oluşturmaktadır (26). Mesanenin değişici epitel hücreli karsinomu (DEHK) genitoüriner sistem malignensileri arasında ikinci sırada yer almaktadır (27). Hastaların %75’i ilk başvuru anında yüzeysel, %20’si invaziv, %5’i metastatik hastalığa sahiptir (1). Mesane kanserleri morfolojik olarak heterojendir: malign tümörlerin %98’i epitelial kökenlidir ve bunların da %90’ı DEHK’lardır (1). DEHK aynı zamanda ürotelyal karsinom olarak da bilinmekte olup, bu terim günümüzde tercih edilen bir sinonimdir (28). Mesane tümörleri arasında skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom, küçük hücreli karsinom ve diğerlerinin görülme sıklığı düşüktür. Mesane tümörlerinin histolojik tipleri Tablo 2.1’de gösterilmiştir (26). Burada sadece çalışmanın konusunu oluşturan DEHK hakkında ayrıntılı bilgiye yer verilecektir.

2.1. Değişici Epitel Hücreli (Ürotelyal) Karsinom:

2.1.1. Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri

Farklı ülkeler ve etnik gruplarda insidans, morbidite ve mortalite oranları açısından belirgin farklılıklar mevcuttur. Afrika ve Amerikalı erkeklerde mesane kanser insidansı düşüktür (25). Batı Avrupa, Kuzey Amerika ve Avustralya en yüksek insidans hızına sahiptir (26). Beyazlar siyahlardan daha fazla etkilenir. Erkeklerde kadınlardan 2-5 kat daha sıktır (25). Bunun erkek ve kadınlar arasında sigara içimi ve mesleki maruziyet farklılığına bağlı olduğu düşünülmektedir. Olguların çoğu 50 yaşın üzerindedir. Ancak mesane kanserleri genç erişkinler ve çocuklarda da görülebilmektedir (28). Gençlerde görülenler düşük dereceli ve asemptomatik neoplazmlar olmaya eğilimlidir. Fakat bazen bu yaş grubunda da oldukça agresif olgular bildirilmiştir (28).

Tablo 2.1. Mesane tümörlerinin histolojik sınıflaması (Dünya Sağlık Örgütü, 2004)

Ürotelyal tümörler	Nöroendokrin tümörler
İnfiltratif ürotelyal karsinom	Küçük hücreli karsinom
Skvamöz diferansiyasyonlu	Karsinoid
Glandüler diferansiyasyonlu	Paragangliom
Trofoblastik diferansiyasyonlu	Melanositik tümörler
Nested	Malign melanom
Mikrokistik	Nevüs
Mikropapiller	Mezenkimal tümörler
Lenfoepitelyoma-benzeri	Rabdomyosarkom
Lenfoma-benzeri	Leiomyosarkom
Plazmasitoid	Anjiyosarkom
Sarkomatoid	Osteosarkom
Dev hücreli	Malign fibröz histiositom
Andiferansiye	Leiomyom
Non-invaziv ürotelyal neoplaziler	Hemanjiom
Ürotelyal karsinoma in situ	Diğerleri
Non-invaziv papiller ürotelyal karsinom	Hematopoetik ve lenfoid tümörler
Yüksek grade'li	Lenfoma
Düşük grade'li	Plazmasitoma
DMPPÜN*	Çeşitli tümörler
Ürotelyal papillom	Metastatik tümörler
İnverted ürotelyal papillom	Diğer organlardan uzanım gösteren tümörler
Skvamöz neoplaziler	
Skvamöz hücreli karsinom	
Verrüköz karsinom	
Skvamöz hücreli papillom	
Glandüler neoplaziler	
Adenokarsinom	
Enterik	
Müsinöz	
Taşlı yüzük hücreli	
Berrak hücreli	
Villöz adenom	

*DMPPÜN: Düşük malign potansiyelli papiller ürotelyal neoplazm

Mesane kanserleri için çeşitli risk faktörleri öne sürülmektedir. Sigara içimi ve mesleki risk gibi ekzojen faktörler önemli rol oynamaktadır. Sigara içenler genel popülasyona göre 2-4 kat daha fazla DEHK riski taşımaktadırlar (29). Birleşik Devletler’de sigaranın tüm mesane kanserlerinin %50-60’ından sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (30). Mesane kanser gelişimi için en az 20 yıl sigara içilmesi gerektiği varsayılmaktadır. Bu durum muhtemelen yaşam boyu içilen sigara sayısı ile doğrudan koreledir. Aktif sigara içenlerde mesane kanser gelişimi için rölatif risk sigara içmeyenlerle karşılaştırıldığında 3:1 ve önceden sigara içenlerle karşılaştırıldığında 1.9:1’dir (25). Tütünün mesane kanserine yol açmasının kesin mekanizması bilinmemekle birlikte, akrolein, 4-amino-bifenil, arilamin ve oksijen serbest radikalleri gibi karsinojenler suçlanmaktadır (25,30). Sigara içimi sadece mesane kanserlerinin gelişiminde değil, aynı zamanda tümör grade’inin artmasında ve kötü prognozda da etkilidir (31). Sigara içmeye devam edenler, tanı konulduktan sonra sigarayı bırakanlara göre daha erken rekürrens göstermektedir (32).

Mesleki maruziyet mesane kanserlerinin %20-30’undan sorumludur. Mesane kanserlerindeki artmış risk boya endüstrisi, kimyasal endüstri, tekstil, kağıt endüstrisi gibi mesleki maruziyet ile ilişkilidir (30). Benzidin ve 2-naftilamin gibi aromatik aminler ile anilin boyalarına mesleki maruziyet mesane kanserleri için 2. en sık risk faktörüdür (25). Maruziyet ile tümör gelişimi arasındaki latent dönem genellikle uzundur (32).

Beslenme de mesane kanser gelişiminde rol oynamaktadır. Vitamin A desteği mesane kanser riskini azaltırken, yağda pişirilmiş yiyecekler ve yüksek yağ alımı riski artırır (25). Yüksek oranda arsenik içeren su kullanan toplumların da artmış mesane kanser riskine sahip oldukları gösterilmiştir (25,30).

Mesane kanserinin gelişimi ve ilerlemesinde rol oynadığı düşünülen diğer faktörler analjezik kullanımı, idrar yolu enfeksiyonları, idrar yolu taşları, pelvik radyasyon ve siklofosamid gibi kemoterapötik ajanlardır (25). Uzun süreli fenasetin içeren analjezik kullanımı ardından mesane kanseri gelişen olgular bildirilmiştir (33). Nörojenik mesane, taş veya divertikül gibi nedenlere bağlı kronik mesane inflamasyonları mesane kanser gelişimi ile zayıf bir ilişki göstermektedir (30). Schistosoma haematobium mesanenin değişici epitel hücreli ve skuamöz hücreli karsinomları ile ilişkilidir. Buna karşın insan papilloma virusunun rolü tartışmalıdır.

Araştırmaların çoğu bu tümörün gelişiminde insan papilloma virusunun önemli bir rol oynamadığını desteklemektedir. Prostat kansinomlarında radyasyon ile tedavi edilen hastalarda mesane kansinomlarının gelişimi için artmış risk olduğuna inanılmaktadır (28).

Kahve kullanımının da mesane kanseri riskini artırdığı bildirilmiş olmakla birlikte bu ilişki tartışmalıdır. Kahve tüketimi ile mesane kanseri arasında doğrudan veya nedensel bir ilişki ortaya konamamıştır (1).

2.1.2. Belirti ve Semptomlar

Klinik belirti ve semptomların şiddeti ve tipi tümörün lokalizasyonuna ve yaygınlığına bağlıdır (26). Hastaların yaklaşık %75'i ağrısız, aralıklı hematüri nedeni ile başvurur (27). Makroskobik hematüri nedeni ile başvuran kişilerin yaklaşık %20'si, mikroskopik hematüri ile başvuranların ise yaklaşık %10'u mesane kanseri tanısı alır. Hastaların önemli bir kısmında (özellikle mesane boynuna lokalize tümörlerde) irritatif mesane semptomları vardır. Benzer semptomlar yaygın karsinoma in situ olan olgularda da görülebilir (26). Bu semptomlar yanlışlıkla idrar yolları enfeksiyonlarına bağlanabilir (25). Yüksek grade'li tümörlerde muhtemelen mesane duvarının tutulumu nedeniyle dizüri daha sık görülür (28). Üreteral orifisleri infiltre eden tümörler hidronefroza neden olabilir. Nadiren, yaygın tümörü olan olgularda ele gelen pelvik kitle ve alt ekstremitte ödemi görülür. Kilo kaybı, karın ve kemik ağrısı metastaza bağlı olarak ortaya çıkabilir (26).

2.1.3. Biopsi Alımı ve Değerlendirilmesi

Mesane kanserinden şüphe edilen hastalarda ilk değerlendirme mesanenin sistoskopik incelenmesi, görülebilen tümörün transüretral rezeksiyonu ve tümör dışı mesane ile prostatik üretranın incelenmesini içerir (27).

Karsinoma in situ açısından korkutucu olan küçük ve düz (*flat*) lezyonlar biyopsi forcepsi ile örneklenebilir. Büyük şüpheli lezyonlarda transüretral rezeksiyon yapılır. Transüretral rezeksiyon ve biyopsiler muskularis propriayı da içermelidir (25). Tümör olgularında ana tümöre ek olarak normal komşu mukoza ve üç farklı alandan (üreteral orifislerin lateral kısmı ve üst arka duvar) biyopsi alınması önerilmektedir (34). Biyopsi spesmenlerini değerlendirirken patoloğun mesane duvar komponentlerinin durumunu belirtmesi gerekmektedir (mukoza, lamina

propria, kas tabakası). Epitelyal yüzeyin ülsere ya da erozyone olup olmadığı, tümör varlığı, histolojik tipi, büyüme paterni (papiller, nodüler), tümör grade'i, invazyon derinliği değerlendirilir. Küçük damar tutulumu olup olmadığına dikkat edilmelidir. Komşu mukozanın durumu özellikle karsinoma in situ açısından değerlendirilmelidir. Sistektomi spesmenlerinde lezyonun boyutu ve lokalizasyonu, mukozal ve yumuşak doku sınırları, komşu organların durumu (üretra, ureterler, prostat), bölgesel lenf nodlarının durumu, sayısı ve yerleşimi belirtilmelidir (1).

2.1.4. Morfolojik Özellikler

Tümörlerin Yerleşim Yerleri ve Mültisentrisite

DEHK'lar mesanenin herhangi bir yerinde ortaya çıkabilir. Yaklaşık 1000 olguluk bir seride tümörün olguların %37'sinde yan duvarlar, %18'inde arka duvar, %12'sinde trigon, %11'inde boyun, %10'unda ureterik orifisler, %8'inde tavan, %4'ünde ise ön duvar yerleşimli olduğu bildirilmiştir (35). Üreteral orifisler çevresinde lokalize olduğunda ureterlerin biri ya da ikisinin parsiyel ya da komplet blokajı nedeniyle hidronefroz ve piyonefroz gelişebilir.

Senkron ya da metakron mültisentrisite sıktır. Mültipl tümörler aynı histolojide olabilir ya da olmayabilirler. Ürotelyal tümörlerin mültifokalite sıklığını açıklamak üzere 2 teori önerilmektedir. 1-Monoklonal teori, mültipl tümörlerin proliferen olan ve ürotelyum boyunca yayılan tek transforme hücreden köken aldığını varsaymaktadır. 2-Saha etkisi (*field-effect*) teorisi ise tümör mültifokalitesini saha kanserizasyon (*field cancerization*) etkisi ile açıklamaktadır (25). Mültifokal ürotelyal karsinom gelişiminde hangi teorinin daha önemli olduğu konusunda henüz bir uzlaşma bulunmamaktadır. Çoğu klinik ve moleküler genetik kanıt olguların büyük çoğunluğunda tümörlerin ortak klondan köken aldığını, dolayısıyla gerçek mültisentrik neoplaziler olmaktan çok, tek tümörün intramukozal yayılımı sonucunda ortaya çıktıklarını düşündürmektedir (36,37).

Makroskopik Bulgular

İnfiltratif karsinomlar papiller, polipoid, nodüler, solid, ülseratif veya transmural diffüz büyüme gösterebilirler (26). Tümör dışı mukoza normal veya eritematöz olabilir. Eritematöz alanlar bazen karsinoma in situ'yu temsil edebilirler.

Mikroskopik Bulgular

Tümörlerin büyüme paterni ekzofitik, endofitik ya da her ikisinin kombinasyonu şeklinde olabilir. Ekzofitik olduğunda santral fibrovasküler korlara sahip papiller yapılardan oluşabilir ya da solid (nodüler) görünümde olabilir. Çoğu T1 kanser papiller konfigürasyondadır ve düşük veya yüksek grade'li olabilir. T2-T4 karsinomların çoğu ise non-papiller ve yüksek grade'lidir (26). Solid büyüme paterninde fibrovasküler kor oluşumu olmaksızın tümör hücreleri diffüz olarak şitler halinde büyür. Solid tümörler hemen daima invazivdir. Tümör endofitik olarak büyüdüğünde, tümör hücreleri mesane duvarında yuvalanmalar, kordlar, trabekülalar, küçük kümeler veya tek hücreler şeklinde yer alırlar. Tümör bazen diffüz, şit benzeri patern gösterebilir, ancak bu olgularda bile fokal yuvalanmalar ve kümeler genellikle mevcuttur. Tümör hücreleri geniş, amfofilik veya eozinofilik sitoplazmaya ve büyük hiperkromatik nükleusa sahiptir. Nükleuslar pleomorfik ve düzensiz konturludur. Bazı hücrelerde nükleer yarıklanmalar görülebilir. Bazı hücreler tek veya multipl küçük nükleolusa sahipken, diğerlerinde büyük eozinofilik nükleolus mevcuttur. Mitoz siktir ve bir kısmı atipik özelliktedir. İnvaziv tümörler sıklıkla yüksek grade'lidir, genellikle belirgin anaplazi ve fokal dev hücre oluşumu gösterebilirler (25). Stroma sıklıkla desmoplastik özelliktedir. Desmoplastik stromal yanıt bazen çok belirgin olabilir ve malign iğsi hücre komponentini taklit edebilir.

DEHK'ların lamina propriaya invazyonunun saptanması oldukça zordur. Bu zorluk tanjansiyel kesitler, termal ve mekanik hasarlar, neoplastik hücreleri maskeleyen yoğun inflamatuvar infiltrat ve *inverted* büyüme paterninden kaynaklanabilmektedir (26). Patologların lamina propria invazyonunu değerlendirirken bir takım kriterlere dikkat etmeleri gerekmektedir (Tablo 2.2) (25). Kas invazyonunun saptanması tedavi ve prognozu etkilediği için daha önemlidir. Bazen belirgin olabilen muskularis mukoza fasiküllerini muskularis propriadan ayırt etmek doğru evreleme açısından hayati öneme sahiptir. Bu tümörlerde görülebilen lenfovasküler invazyon retraksiyon artefaktı ile karıştırılabileceğinden endotelyal belirleyiciler ile desteklenmelidir. Ayrıca matür yağ dokusu lamina propria ve muskularis propriada sık olarak bulunduğu için, yağ dokusu içerisinde tümör görüldüğünde bunun perivezikal yağ dokusuna invazyon şeklinde yanlış yorumlanmaması önemlidir.

Tablo 2.2. Stromal invazyon tanısında yararlı histolojik özellikler

<p>Histolojik grade:</p> <p>İnvaziv hücrelerin nükleer grade'i genellikle daha yüksek</p>
<p>İnvaze olan epitel</p> <p>Düzensiz şekilli yuvalanmalar</p> <p>Tek hücre infiltrasyonları</p> <p>Bazal membran düzensizliği veya yokluğu</p> <p>Parmaksı uzanımlar</p> <p>Paradoks diferansiyasyon</p>
<p>Anjiyolenfatik invazyon</p>
<p>Stromal cevap</p> <p>Desmoplazi veya fibrotik stroma</p> <p>Retraksiyon artefaktı</p> <p>İnflamasyon</p> <p>Miksoid stroma</p> <p>Psödosarkomatöz stroma</p>

2.1.5. DEHK'ların Histolojik Varyantları

DEHK'ların bazı varyantlarının klinik gidişi tipik olgulardan farklıdır. Bu nedenle bu varyantların tanınması önemlidir.

Mikst Diferansiyasyon Gösteren DEHK

DEHK'ların yaklaşık %20'si skuamöz veya glandüler diferansiyasyon alanları içerir. Skuamöz diferansiyasyon görülme sıklığı grade ve evre ile artış gösterir (25). Skuamöz hücreli karsinom tanısı ürotelyal karsinoma in situ da dahil herhangi bir ürotelyal komponent içermeyen pür lezyonlarda kullanılmaktadır (26).

Glandüler diferansiyasyon tümör içerisinde gerçek glandüler boşlukların

varlığı olarak tanımlanır. Glandüler diferansiyasyon önemli bir bulgudur ve genellikle daha agresif bir tedaviyi gerektirir (25).

Nested Varyant

Tüm invaziv mesane tümörlerinin % 0.3'ünden azını oluşturur (38). Ürotelyal karsinomun nested varyantı agresif bir neoplazm olmakla birlikte düşük grade'li nükleer özelliklere sahip ürotelyal hücrelerin oluşturduğu küçük yuvalanmalar ve tubuller ile karakterizedir. Tümör hücreleri lamina propria ve muskularis propriaya infiltrasyon gösterir.

Mikropapiller Varyant

Mikropapiller karsinom overin papiller seröz karsinomuna benzeyen bir DEHK varyantıdır (26). Kötü prognoza sahiptir. Mikropapiller varyant infiltratif ince filiform uzantılar veya lakünalar içinde bulunan küçük papiller tümör hücre kümelerinden oluşur.

Mikrokistik Varyant

DEHK'un mikrokistik varyantı mikroskopik boyuttan 2 cm'ye kadar değişen çaplarda mikrokistler, makrokistler ve tubuler yapılarla karakterizedir (26).

Lenfoepitelyoma-Benzeri Karsinom

Bugüne dek yaklaşık 40 olgu bildirilmiştir. Lenfositler, plazma hücreleri ve histiyositlerden oluşan bir zeminde iri, pleomorfik nükleus ve belirgin nükleolusa sahip andiferansiye epitelyal hücre yuvalanmaları ve kordonlarından oluşan bir DEHK varyantıdır (25).

Lenfoma-Benzeri/Plazmasitoma-Benzeri DEHK

Zuckerberg ve ark. (39) 2 olgu tanımlamışlardır. Tümör hücreleri orta boyutlu olup, eozinofilik sitoplazma ve ekzantrik nükleusa (plazmasitoid görünümde) sahiptir.

Sinsityotrofoblastik Dev Hücreler İçeren DEHK

DEHK olgularından bir kısmında β -hCG immünreaktivitesi gösteren sinsityotrofoblastik dev hücreler bulunur. Wurzel ve ark. (40) hCG pozitifliğinin agresif davranış ile ilişkili olabileceğini vurgulamışlardır.

Sarkomatoid DEHK

Malign ürotelyal epitelyal komponente sarkom-benzeri alanların eşlik ettiği yüksek grade'li bir tümördür. Sarkom benzeri alanların epitelyal natürde oldukları immünohistokimyasal olarak keratin pozitifliğinin gösterilmesi ile ortaya konmuştur (41).

Berrak Hücreli Varyant

Glikojenden zengin sitoplazmaya sahip hücrelerden oluşur (26). Bu patern kötü diferansiye DEHK'larda nispeten daha siktir.

Lipid Hücreli Varyant

DEHK'larda lipidle yüklü hücreler taşlı yüzük hücreli adenokarsinomu taklit edebilirler.

Dev Hücreli Ürotelyal Karsinom:

Yüksek grade'li DEHK'lar epitelyal tümör dev hücreleri içerebilirler veya tümör akciğerin dev hücreli karsinomuna benzer şekilde andiferansiye görünümde olabilir (26).

Andiferansiye Karsinom:

Bu kategori herhangi bir şekilde sınıflandırılmayan tümörleri içerir.

2.1.6. Histolojik Grade'leme

Histolojik grade'leme mesane kanserlerinde en önemli prognostik faktörlerden biridir. Yıllar içerisinde mesanenin DEHK'ları ile ilgili çeşitli grade'leme sistemleri ortaya konmuştur. Bu sistemlerden başlıcaları 1940 yılında Ash (42), 1960 yılında Mostofi (43), 1965 yılında Bergkvist ve ark. (44), 1973 yılında DSÖ (45), 1987 yılında Malmstrom ve ark (46), 1998 ve 2004 yıllarında DSÖ/ISUP (26,47) tarafından önerilmiştir. Papiller ürotelyal neoplazmlar için ilk yaygın olarak kabul edilen grade'leme sistemi 1973 DSÖ klasifikasyon sistemidir.

1973 Dünya Sağlık Örgütü Klasifikasyonu

Mesane kanserlerinin 1973 DSÖ grade'lemesi bütün organlar arasında en başarılı grade'leme sistemlerinden biridir ve 3 dekad önce kullanılmaya başlanmış, halen geçerli bir sistemdir. Sadeliği ve güçlü prediktif değere sahip olması nedeniyle

ürologlar tarafından geniş kabul görmüş ve hastaların takip ve tedavisi için klinik kararların oluşturulmasında yaygın olarak kullanılmıştır. Bu sistemde ürotelyal tümörler papillom, grade 1, grade 2 ve grade 3 karsinom olmak üzere 4 kategoriye ayrılır ve grade'leme sellüler anaplazi derecesi temel alınarak yapılır. Grade 1 tümörler en az, grade 3 tümörler en şiddetli anaplaziye sahiptir. Anaplazi 1973 DSÖ klasifikasyon otörleri tarafından sellülaritede artış, nükleer kalabalıklaşma, polaritede bozulma, bazalden yüzeye doğru diferansiyasyonun azalması, nükleer pleomorfizm, irregüler hücre boyutu, nükleer şekil ve kromatin paterninde değişiklikler, anormal mitozlar ve dev hücreler olarak tanımlanmıştır (45). Bu sisteme göre grade'lerin histolojik özellikleri ve klinik gidiş şöyledir:

Grade 1: Minimal arşitektürel anomali ve minimal nükleer atipi gösteren ürotelyal hücreler ile örtülü papiller yapılar mevcuttur. Papillalarda bir miktar kompleksite ve füzyon olabilir, fakat bu genellikle belirgin değildir. Ürotelyum sıklıkla 7 hücre sırasından daha kalındır. Ürotelyum normal maturasyon ve kohezivlik gösterir. Şemsiye hücre tabakası korunmuştur. Nükleuslarda bir miktar elongasyon ve irileşme olabilmesine karşın, şekil ve dağılımları uniform olmaya eğilimlidir. Kromatin ince granülerdir. Belirgin nükleolar büyüme görülmez. Mitotik figürler yoktur ya da nadirdir, olduğunda bazalde lokalizedir. Grade 1 tümörler benign bir lezyon olan ürotelyal papillomdan ayırt edilmelidir (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. Papillom ile grade 1 ürotelyal karsinomun ayırt edici özellikleri

	Papillom	Grade 1 tümör
Yaş	Daha genç (genellikle <50yaş)	Daha yaşlı (genellikle >50 yaş)
Cinsiyet (erkek:kadın)	2:1	3:1
Boyut	Küçük, genellikle <2cm	Daha büyük
Mikroskopik bulgular		
İyi forme papillalar	Var	Var
Ürotelyum kalınlığı	≤7 sıra	Genellikle >7 sıra
Şemsiye hücreleri	Var	Genellikle var
Sitolojik atipi	Minimal ya da yok	Hafif
Nükleer büyüme	Nadir ya da yok	Hafif-orta derecede
Nükleer hiperkromazi	Nadir ya da yok	Hafif
Kromatin	İnce granüler	Hafif kaba ya da granüler
Nükleolus	Yok	Olabilir
Mitotik figür	Yok	Nadir, bazalde lokalize
Stromal invazyon	Yok	Seyrek

Grade 1 karsinomu olan hastalar lokal rekürrens, progresyon ve tümör-ilişkili ölüm açısından artmış riske sahiptirler. Holmang ve ark. (48) non-invaziv, grade 1 ürotelyal karsinomu olan hastalardan %14'ünün 20 yıllık izlem süresi sonunda mesane kanserinden öldüğünü saptamışlardır. Leblanc ve ark. (49) evre Ta, grade 1 ürotelyal karsinomu olan hastaları içeren 152 olguluk serilerinde hastaların %55'inin rekürrens, %37'sinin progresyon gösterdiğini saptamışlardır. Jordan ve ark. (50) grade 1 papiller ürotelyal tümörü olan 91 hastalık serilerinde hastaların %40'ında rekürrens geliştiğini, rekürrens gelişen hastaların %20'sinin yüksek grade'li (grade 3) tümöre progrese olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu seride hastaların 4'ünün mesane kanseri nedeniyle öldüğü vurgulanmıştır.

Grade 1 papiller ürotelyal karsinomu olan hastaların uzun dönem takibi önerilmektedir.

Grade 2: Grade 1 karsinomlardaki düzenli arşitektürel patern ve maturasyon büyük oranda mevcut olmakla birlikte, bu düzenlilik en azından fokal olarak orta derecede bozulmuştur. Orta derecede nükleer kalabalıklaşma, polaritede orta derecede bozulma, orta derecede nükleer hiperkromazi, orta derecede anizonükleozis

ve hafif nükleoler büyüme gibi sitolojik anomaliler mutlaka vardır. Mitotik figürler genellikle ürotelyumun alt yarısına sınırlıdır. Şemsiye hücreleri genellikle vardır. Ürotelyal hücreler çoğunlukla kohezivdir.

Grade 2 tümörlerin prognozu daha düşük grade'li tümörlere nazaran anlamlı derecede kötüdür (1). Non-invaziv, grade 2 tümörlerde rekürrens riski %45-67'dir (51-53). Hastaların %20'sinde invazyon, %13-20'sinde kanser spesifik ölüm gelişir. Grade 2 kanseri ve lamina propria invazyonu olan hastalardan %67-80'inde rekürrens, %21-49'unda kas-invaziv kanser gelişimi, %17-51'inde kanser spesifik ölüm görülmektedir (51-53).

Grade 3: Küçük büyümede aşık ürotelyal düzensizlik ve polarite kaybı vardır. Şemsiye hücreleri kısmen ya da tamamen yoktur. Belirgin hücrel diskohezyon eşlik eder. Sıklıkla atipik mitotik figürler vardır. Hücrel anaplazi (sellülarite artışı, nükleer kalabalıklaşma, normal mukozal diferansiyasyon kaybı, nükleer pleomorfizm, hücre boyutunda irregülarite, nükleer şekilde değişiklikler, mitoz sıklığında artma ve bazen neoplastik dev hücreler) grade 3 karsinomların karakteristiğidir.

Non-invaziv, grade 3 kanseri olanlarda rekürrens riski %65-85, invazyon gelişim riski %20-52, kanser spesifik ölüm %35 oranında saptanmıştır (51). Cerrahi olarak tedavi edilen, grade 3 kanseri ve lamina propria invazyonu olan hastalardan %46-71'inde rekürrens, %24-48'inde kas-invaziv kanser, %25-71'inde kanser spesifik ölüm gelişmiştir (52-54).

1998 DSÖ-ISUP/2004 DSÖ Klasifikasyonu

DSÖ ve ISUP üyeleri 1998 yılında mesanenin değişici epitel hücreli neoplazmaları için DSÖ/ISUP uzlaşi klasifikasyonunu yayınlamışlardır (47). Bu klasifikasyonda kategoriler daha iyi tanımlanacak şekilde bir miktar değişiklik yapılarak DSÖ 2004 klasifikasyonu ortaya konmuştur (26). Bu klasifikasyon sistemi noninvaziv papiller ürotelyal neoplazmaları 4 kategoriye ayırmaktadır: papillom, düşük malign potansiyelli papiller ürotelyal neoplazm, düşük grade'li karsinom, yüksek grade'li karsinom (Tablo 2.4).

Tablo 2.4. Ürotelyal papiller tümörlerin histolojik özellikleri (DSÖ/ISUP)

	Papillom	Düşük malign potansiyelli papiller neoplazm	Düşük grade'li papiller karsinom	Yüksek grade'li papiller karsinom
Arşitektür				
Papilla	İnce	İnce, bazen birleşen	Birleşen, dallanan, ince	Birleşen, dallanan, ince
Hücre organizasyonu	Normal ile aynı	Polarite normal ile aynı, herhangi bir kalınlık, koheziv	Büyük oranda düzenli, hafif kalabalıklaşma, polaritenin minimal kaybı, herhangi bir kalınlık, koheziv	Büyük oranda düzensiz, polaritenin sık olarak kaybı, herhangi bir kalınlık, diskoheziv
Sitoloji				
Nükleer boyut	Normal ile aynı	Üniform büyüme olabilir	Büyük ve farklı boyut	Büyük ve farklı boyut
Nükleer şekil	Normal ile aynı	Elonge, yuvarlak-oval	Hafif şekil farklılığı	Orta-şiddetli pleomorfizm
Nükleer kromatin	İnce	İnce	Hafif farklılıklar	Orta-şiddetli farklılıklar
Nükleolus	Yok	Yok veya belirsiz	Genellikle belirsiz	Müльтиpl, belirgin olabilir
Mitoz	Yok	Nadir, bazal	Seyrek, herhangi bir seviyede	Genellikle sık, herhangi bir seviyede
Şemsiye hücreleri	Var	Var	Genellikle var	Olmayabilir

Düşük Malign Potansiyelli Papiller Ürotelyal Neoplazm

Düşük malign potansiyelli papiller ürotelyal neoplazm papiller arşitektür yanısıra düşük rekürrens ve progresyon insidensine sahip düşük grade'li ürotelyal tümördür. Bu lezyon histolojik olarak ekzofitik ürotelyal papilloma benzeyen, ancak normal ürotelyum kalınlığını aşan, artmış hücresel proliferasyon içeren papiller ürotelyal tümör olarak tanımlanmıştır. Bu tümörlerin tamamı DSÖ 1973 grade'leme sisteminde grade 1 ürotelyal karsinom olarak kabul edilmektedir.

Bu tümörlerde sitolojik atipi minimaldir ya da yoktur. Arşitektürel anormallikler minimaldir, polarite korunmuştur. Mitoz seyrek ve genellikle bazal tabakaya sınırlıdır.

Klinik olarak, bu tümörler erkeklerde daha sık (E/K:3/1) görülmektedir. Sistoskopik olarak lezyonların en büyük çapı 1-2 cm olup, mesane yan duvarlarında veya üreteral orifislerin yakınında yerleşim gösterirler (25).

Rekürrens ve progresyon oranları hakkında tartışmalı sonuçlar mevcuttur. Düşük malign potansiyelli papiller ürotelyal neoplazm tanısı olan 112 hastayı içeren bir seride (ortalama takip süresi 12.8 yıl) olguların 30'unda rekürrens, 4'ünde invaziv kanser gelişimi bildirilmiştir (55). Bu çalışmada hastaların 3'ü mesane kanserinden kaybedilmiştir. Samaratunga ve ark. (56) DSÖ 1973 sistemine göre grade 1 olan

tümörlerde progresyon oranını %11 olarak saptarken, DSÖ 2004 sistemine göre düşük malign potansiyelli papiller ürotelyal neoplazm tanısı alan hastalarda bu oranı %8 olarak bulmuşlardır. Holmang ve ark. (57) düşük malign potansiyelli papiller ürotelyal neoplazm olgularında rekürrens oranını %35 olarak bildirmişlerdir. Bu olgularda evre progresyonu görülmemiştir. Yapılan çalışmalar düşük malign potansiyelli papiller ürotelyal neoplazmların benign tümörler olmadığını, rekürrens açısından önemli bir risk taşıdıklarını göstermektedir. Bu hastalarda uzun süreli takip önerilmektedir.

Düşük Grade'li Ürotelyal Karsinom

Sıklıkla dallanmalar ve nükleer polarite değişiklikleri içeren ince uzun papiller yapılardan oluşan tümörlerdir. Nükleer büyüme ve düzensizlik mevcuttur. Kromatin veziküler olup, nükleoluslar sıklıkla bulunur. Mitoz epitelin herhangi bir seviyesinde görülebilir. Bu olguların çoğu DSÖ 1973 grade'leme sisteminde grade 2 ürotelyal karsinom olarak kabul edilmektedir.

Düşük grade'li ürotelyal karsinomlar erkeklerde kadınlara göre daha sık (E/K: 2.9/1) görülmektedir. Tümörlerin çoğu mesanenin arka ve yan duvarlarında yerleşim gösterir (25). Tümör rekürrensi, evre progresyonu ve tümör nedenli ölüm oranları sırasıyla %50, %10 ve %5 olarak bildirilmektedir (1). Holmang ve ark. (57) bu tümörlerde rekürrens oranını %71, hastalık progresyon oranını %4 olarak saptamışlardır.

Yüksek Grade'li Ürotelyal Karsinom

Bu tümörlerde papiller yapıları örten hücreler sitolojik atipi ile birlikte belirgin derecede düzensiz sıralanma gösterirler. Papiller yapılar sıklıkla birleşme eğilimindedir. Arşitektürel ve sitolojik anormallikler küçük büyütmelerde bile fark edilebilecek düzeydedir. Nükleuslar pleomorfik, nükleoluslar belirgindir. Mitoz siktir. Ürotelyumun kalınlığı farklılıklar gösterir. Komşu mukozada karsinoma in situ sıklıkla mevcuttur. DSÖ 1973 grade'leme sisteminde grade 3 olarak klasifiye edilen tümörler ile birlikte bazı grade 2 olgular 2004 DSÖ klasifikasyonunda yüksek grade'li karsinomlar olarak kategorize edilmektedirler.

Endoskopik olarak bu tümörler papiller, nodüler veya solid olabilirler. Tek veya multipl tümörlerdir. Holmang ve ark. (57) bu tümörlerde rekürrens ve hastalık progresyon oranını sırasıyla %73 ve %23 olarak bildirmişlerdir.

DSÖ 1973 ve 2004 Yılı Klasifikasyon Sistemlerinin Karşılaştırması

Bu konudaki en önemli yanlışlık DSÖ 2004 ve DSÖ 1973 klasifikasyon sistemleri arasında birebir eşleştirme yapmaktan kaynaklanmaktadır (27). Oysa ki bu iki klasifikasyon sisteminin kategorileri arasında farklılıklar mevcuttur (Tablo 2.5). DSÖ 1973 klasifikasyonunda papillom olarak adlandırılan lezyonlar DSÖ 2004 yılı klasifikasyon sisteminde de aynı adı almaktadır. Diğer uçta DSÖ 1973 klasifikasyonunda grade 3 olan lezyonların tamamı da DSÖ 2004 yılı klasifikasyon sisteminde yüksek grade'li karsinom olarak kategorize edilmektedir. DSÖ 1973 klasifikasyonunda grade 1 olarak klasifiye edilen lezyonlardan bazıları sitolojik atipiden yoksun olup, bir miktar nükleer büyüme ve ürotelyumda kalınlaşma ile karakterizedir ve bu lezyonlar DSÖ 2004 yılı klasifikasyon sisteminde düşük malign potansiyelli papiller ürotelyal neoplazm olarak adlandırılmaktadır. Buna karşılık diğer grade 1 (DSÖ 1973) lezyonlar hafif sitolojik atipi ve mitoz içerdiklerinden DSÖ 2004 yılı klasifikasyon sisteminde düşük grade'li ürotelyal karsinom olarak klasifiye edilmektedirler. DSÖ 1973 klasifikasyon sisteminde grade 2 olarak kategorize edilen lezyonlardan bir kısmı DSÖ 2004 yılı klasifikasyonunda düşük grade'li, diğerleri ise yüksek grade'li ürotelyal karsinomlar olarak adlandırılmaktadırlar.

Tablo 2.5. DSÖ 1973 ve 2004 sistemlerinin karşılaştırması

DSÖ, 1973	DSÖ, 2004
Papillom	Papillom
Grade 1	DMPPÜN*
Grade 2	Düşük grade'li
Grade 3	Yüksek grade'li

*: Düşük malign potansiyelli papiller ürotelyal neoplazm

2.1.7. Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Özellikler

İmmünohistokimyasal olarak, DEHK'lar değişik keratin tiplerini ekspres ederler. CK20 ekspresyonu sabit bir özellik olup, morfolojik olarak benzeyen, ancak CK20 negatif olan overin değişici epitel hücreli karsinomundan ayırıcıdır. CK20 pozitifliği özellikle yüksek grade'li tümörlerde sık ve güçlüdür. CK18 ekspresyonu yüksek grade'li ve yüksek evreli tümörlerde azalır. Trombomodulin DEHK'larda çok sensitif olmakla birlikte çok spesifik değildir (aynı zamanda skuamöz hücreli karsinom ve mezotelyomaların çoğunda boyanma gösterir). Üroplakin III yüksek derecede spesifik, ancak sadece orta derecede sensitiftir. Bu tümörler tarafından sıklıkla eksprese edilen diğer belirleyiciler CEA, katepsin B (özellikle yüksek grade'li lezyonlarda), CA19-9, CD15 (Leu-M1), survivin ve androjen reseptörüdür.

Bazı tümörlerde, özellikle çok pleomorfik alanlarda hCG, human plasental laktojen ve SP-1 immünoreaktiftir. Bu durum, tümörlerde trofoblastik diferansiyasyonun morfolojik kanıtı olmadan meydana gelebilir.

Özellikle yüksek grade özelliklerine sahip DEHK'da ABO kan grup antijenlerinin delesyonu sık bir bulgudur. Ürotelyum normalde bu belirleyicileri eksprese eder. Bununla ilişkili anormallik, grade ve evresine bakılmaksızın DEHK'ların %85'inden fazlasında Lewis X antijeninin neoekspresyonudur (58).

Bazal lamina komponenti laminin ile boyama erken stromal invazyonun saptanması için kullanılmaktadır. Bir ekstrasellüler matris proteini olan tenascin bol stromaya sahip invaziv, yüksek grade'li karsinomlarda güçlü olarak eksprese edilir.

AgNOR sayımı DEHK'da genellikle yüksektir. Ancak inflamatuvar, displastik ve neoplastik epitel arasında boyanma derecesinde örtüşmelerin varlığı nedeniyle tanısal yararlılığı sınırlıdır (59).

2.1.8. DEHK'larda Moleküler Genetik Özellikler

DEHK'larda çeşitli tiplerde kromozomal değişiklikler tanımlanmaktadır. Kromozom 9'un heterozigozitesinin kaybı hem yüzeysel hem de invaziv tümörlerde meydana gelmektedir. Buna karşın 3p, 5q ve 17p'nin heterozigozite kaybı sadece invaziv tümörlerde gelişmektedir (60,61). Mesane DEHK'larında heterozigozite kaybı gösterilen diğer belirleyiciler kromozom 4, 8, 11'de lokalizedir.

p53 overekspresyonu DEHK'ların büyük bir kısmında meydana gelir ve prognoz ile koreledir (62).

Retinoblastom-1 (RB1) gen ürünü insan kanserlerinde ilk olarak saptanmış olan bir tümör süpresör gendir. RB1'in inaktivasyonu kas invaziv mesane kanserlerinin %30-80'inde bildirilmektedir (26).

c-erbB-2 ürünlerinin artmış ekspresyonu immünohistokimyasal olarak grade 2 tümörlerin %10'unda, grade 3 tümörlerin %60'ında saptanmıştır (63).

H-ras, ras gen ailesi içinde mesane kanserlerinde önemi bilinen tek üyedir. H-ras mutasyonları mesane kanserlerinde %45'e dek varan oranlarda bildirilmiştir. Bu mutasyonların tümör evresi ve grade'i ile aşikar bir ilişkisi saptanmamıştır (26).

Epidermal büyüme faktör reseptörünün (EBFR) invaziv mesane kanserlerinin %30-50'sinde overeksprese olduğu bildirilmiştir (26).

Bcl-2 overekspresyonu DEHK'ların yaklaşık yarısında görülür ve tümör evresi ile ters korelasyon gösterir (64).

Siklin D1 overekspresyonu tümör grade ve evresi ile korele olup, grade 1 tümörlerin yaklaşık yarısında mevcutken, grade 3 tümörlerde pratik olarak hiçbir zaman görülmez (65).

DEHK'larda delesyonu sıklıkla saptanan başka bir gen INK4A'dır. Bu gen kromozom 9p21'de lokalizedir, pRb ve p53 yolaklarını düzenleyen p16 ve p19 proteinlerini kodlar (66).

2.1.9. Lokal Yayılım ve Metastaz

İnvaziv mesane karsinomları (özellikle yüksek grade'li tümörler) ana tümör kitlesinden uzak bir alanda atipik proliferasyon, karsinoma in situ ve erken invaziv karsinom zonları ile sıklıkla birlikte dir. Bazen bu atipik proliferasyon mesaneden üreterlere ya da renal pelvise yayılır. Sharma ve ark. (67) mesane karsinomu nedeniyle sistektomi uygulanmış 205 hastanın 17'sinde (%8.5) karsinoma in situ olarak yorumladıkları üreteral lezyonlar bildirmişlerdir. Bu insidans mültifokal tümörler ile yüksek evre ve yüksek grade'li tümörlerde daha fazladır. Mesane karsinomu aynı zamanda mesane boynu, üretra, prostatik duktuslar ve vezikula seminalislere de yayılabilir.

Pelvik zincirdeki lenf nodu metastazı invaziv tümörlerin %25'inde bulunur. En sık uzak metastaz yerleri akciğerler, karaciğer, kemik ve santral sinir sistemidir.

2.1.10. Mesane Kanserlerinin Evrelemesi

Patolojik evre hastanın prognozunu değerlendirmede en kritik özelliktir. Mesane kanserlerinin TNM evrelemesi Tablo 2.6'da gösterilmiştir. Birçok araştırmacı non-invaziv tümör, lamina propriaya sınırlı tümör ve kas infiltrasyonu gösteren tümöre sahip hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı sağkalım farklılıkları ortaya koymuşlardır. Non-invaziv tümörler transüretral rezeksiyon ve bazen intravezikal kemoterapi ile tedavi edilirken, kas infiltrasyonu gösteren tümörler radikal sistektomiye gereksinim göstermektedir. Bu nedenle patologlar biyopsi materyallerinde invazyon derinliğini değerlendirirken dikkatli olmalıdır.

Tablo 2.6. Mesane kanserlerinin TNM evrelemesi (2002 revizyonu)**Primer tümör (T)**

TX	Primer tümör değerlendirilemedi
T0	Primer tümör kanıtı yok
Ta	Non-invaziv papiller karsinom
Tis	Karsinoma in situ
T1	Tümör subepitelyal konnektif dokuya invaze
T2	Tümör muskularis propriaya invaze
	T2a Tümör yüzeysel kasa (iç ½) invaze
	T2b Tümör derin kasa (dış ½) invaze
T3	Tümör perivezikal dokuya invaze
	T3a Mikroskopik olarak
	T3b Makroskopik olarak (ekstravezikal kitle)
T4	Tümör şu yapılardan herhangi birine invaze: prostat, uterus, vajen, pelvik duvar, karın duvarı
	T4a Tümör prostat veya uterus veya vajene invaze
	T4b Tümör pelvik duvara veya karın duvarına invaze

Müktipl tümörleri göstermek için “m” soneki uygun T kategorisine eklenmelidir. Eşlik eden karsinoma in situ varlığını göstermek üzere “is” son eki T kategorisine ilave edilmelidir.

Bölgesel lenf nodları (N)

NX	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemedi
N0	Bölgesel lenf nod metastazı yok
N1	Tek lenf noduna metastaz, en büyük çapı 2 cm veya daha az
N2	Tek lenf noduna metastaz, en büyük çapı 2 cm’den fazla, 5 cm’den az veya müktipl lenf nodları, hiçbirinin en büyük çapı 5 cm’den fazla değil
N3	En büyük çapı 5 cm’den fazla lenf nodu metastazı

Uzak metastaz (M)

MX	Uzak metastaz değerlendirilemedi
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz

Evre gruplaması

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

2.1.11. Tedavi

Seçilecek tedavi hastanın yaşı ve cerrahi riski, tümörün grade'i, evresi ve yaygınlığı, karsinoma in situ ya da displazi varlığına göre değişiklik gösterir.

Karsinoma in situnun önerilen tedavisi, küçük ve aşikar olarak lokalize lezyonlar dışında, sistektomidir. Bu lezyonlarda intravezikal kemoterapi geçici ve bazen komplet remisyonu sağlayabilir. Ancak olguların %40-70'inde genellikle 6-12 ay içinde yeni tümörler gelişir (68).

Kas invazyonu olmayan grade 1 ve 2 DEHK'lar başlangıçta transüretal rezeksiyonla tedavi edilir. Özellikle multipl veya rekürren tümör olgularında buna bazen intravezikal kemoterapi ya da radyoterapi eklenebilir. Grade 3 ve 4 DEHK'lar, grade'e bakılmaksızın kas invazyonu olan tümörler ve konservatif tedaviye dirençli tümörlerde en iyi tedavi radikal sistektomidir. Sistektomiye preoperatif radyoterapi veya kemoterapi eklenebilir. Bazı merkezlerde radikal sistektomi blok halinde pelvik lenf nodu diseksiyonu ile kombine edilir. İlerlemiş mesane kanseri olanlarda sistektomiye neoadjuvan kemoterapinin eklenmesi hastaların sağkalımını iyileştirir (69). Segmental (parsiyel) sistektomi yüksek rekürrens riski nedeniyle tercih edilmemektedir. Papiller veya in situ özellikteki yüzeysel mesane kanserlerinde BCG ile intravezikal immünoterapi son zamanlarda yaygın kabul görmektedir.

2.1.12. Prognoz

Mesane kanserlerinin prognozunda çok sayıda parametre rol oynar.

1-Evre: En önemli prognostik belirleyicidir. Kas invazyonu ile birlikte sağkalımda çarpıcı bir azalma olmaktadır. Tümörün perivezikal yağ dokuya yayılımı çok kötü bir prognostik işaretidir. Küçük yüzeysel mesane karsinomlarında 5 yıllık sağkalım oranı %90'ın üzerinde iken, derin invaziv mesane kanserlerinde %45-55 arasındadır (70,71).

2-Lenf Nodu Tutulumu: Lenf nodu tutulumu olan hastaların uzun dönem sağkalım oranı, özellikle de çok sayıda lenf nodu tutulmuşsa, hemen hemen 0'dır. Primer mesane tümörlerinin progresyonu ile lokal ve reyonel lenf nodu tutulum riski artar. Cerrahi anında hastaların yaklaşık %25'i reyonel lenf nodu metastazına sahiptir. Obturator/hipogastrik ve eksternal iliak lenf nodları en sık metastaz yerleridir (72). Common iliak ve presakral bölge lenf nodları da sık metastatik yerler olup, bu lenf nodları da çıkarılmalıdır. Literatür bilgileri invaziv mesane kanserli hastalarda

bilateral yaygın lenf nodu diseksiyonu yapılması gerektiğini desteklemektedir. Çalışmalar, morbidite ve mortalite açısından yaygın lenf nodu diseksiyonu ile sınırlı lenf nodu diseksiyonu karşılaştırıldığında belirgin bir fark olmadığını göstermektedir. Radikal sistektomi sonrası lenf nodu metastazı olan hastalarda prognostik faktörler patolojik tümör evresi ve tümörle tutulmuş lenf nodlarının total sayısıdır (72). Çeşitli araştırmacılar tümörle tutulmuş lenf nodu sayısının rezeke edilmiş lenf nodlarının total sayısına bölünmesiyle elde edilen “lenf nodu yoğunluğu”nun prognostik önemini vurgulamışlardır. Stein ve ark. (73) lenf nodu yoğunluğu %20 veya daha az olan hastaların ortalama 5 yıllık sağkalımının %43, %20’nin üzerinde olan hastalarda bu oranın %8 olduğunu ortaya koymuşlardır. Benzer bulgular birçok araştırmacı tarafından da desteklenmiştir (74,75).

3-Mikroskobik Grade: Evre ile ilişkili olup, grade 1 ve 2 tümörlerin çoğu yüzeysel, grade 3 ve 4 tümörlerin çoğu derin invazivdir. Ancak belli bir evre ele alındığında grade bağımsız prognostik değere sahiptir. Leblanc ve ark. (41) evre Ta, grade 1 DEHK’u olan hastaları içeren 152 olguluk serilerinde hastaların %55’inin rekürrens, %37’sinin progresyon gösterdiğini saptamışlardır. Jordan ve ark. (42) grade 1 papiller ürotelyal tümörü olan 91 hastalık serilerinde hastaların %40’ında rekürrens geliştiğini ortaya koymuşlardır. Buna karşılık çeşitli çalışmalarda non-invaziv, grade 2 tümörlerde rekürrens riski %45-67 olarak bildirilmiştir (43-45). Grade 2 kanseri ve lamina propria invazyonu olan hastalardan %67-80’inde rekürrens, %21-49’unda kas-invaziv kanser gelişimi, %17-51’inde kanser spesifik ölüm görülmektedir (43-45). Non-invaziv, grade 3 kanseri olanlarda rekürrens riski %65-85, invazyon gelişim riski %20-52, kanser spesifik ölüm %35 oranında saptanmıştır (43). Cerrahi olarak tedavi edilen, grade 3 kanseri ve lamina propria invazyonu olan hastalardan %46-71’inde rekürrens, %24-48’inde kas-invaziv kanser, %25-71’inde kanser spesifik ölüm gelişmiştir (44-46).

4-Histolojik Varyant: DEHK’ların histolojik varyantları arasında sarkomatoid karsinom, nested varyant ve mikropapiller karsinom olguları genellikle kötü prognoza sahiptir.

5-Yaş: Mesane kanserli ileri yaş grubunun daha kötü kanser spesifik sağkalıma sahip olduğu ve ilerlemiş hastalıkla birliktelik gösterdiği bildirilmiştir (76).

6-Lokalizasyon: Mesane boynu tümörleri daha kötü prognoz ile birlikte. Mesane kubbesinde yerleşim gösteren tümörler daha yüksek grade'li lezyonlar olma eğiliminde iken, üreter orifisleri ve lateral duvar tümörleri daha düşük grade'li olmaya eğilimlidir (35). Martin ve ark. (77) mesane kubbesinde yer alan tümörlerde 5 yıllık sağkalımın %62'den %19'a gerilediğini ortaya koymuşlardır.

7-Tümör Dışı Mesane Mukozasındaki Anormallikler: Ana tümör kitlesinden uzakta yer alan daha küçük, bağımsız tümörler veya displastik değişikliklerin varlığı daha yüksek rekürrens oranı ile ilişkilidir (78).

8-Vasküler İnvazyon: Bu özelliğin varlığı yüksek rekürrens oranı ile ilişkilidir. Streeper ve ark. (79) lenfovasküler invazyonun mesane kanserli hastalarda kötü prognoz ile ilişkili olduğunu vurgulamışlardır. Bu araştırmacılar transüretal rezeksiyon materyallerinde lenfovasküler invazyon saptanmasının evre T1 ve T2 hastalarda daha kısa sağkalımla, radikal sistektomilerde saptanmasının ise hastalık rekürrensi ve daha kısa sağkalımla ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Bir başka çalışmada da evre T1 mesane kanserli olgularda solid tümör paterni ve vasküler invazyonun hastalık spesifik sağkalım için bağımsız prognostik öneme sahip olduğu gösterilmiştir (80).

9-Tümör Sınırının Tipi ve İnflamatuar Cevap: Lenfositik reaksiyonla birlikte olan itici sınırlara sahip tümörler daha iyi prognozla birlikte (81).

10-Tümör Boyutu: Mesane tümörlerinde tümör boyutu ile genel sağkalım arasında korelasyon saptanmıştır (82).

11-Tümörü İnfiltrate Eden Lenfositler: Bu lenfositlerin yoğunluğu Ta-T1 tümörlerde progresyon ve tümör grade'i ile korele bulunmakla birlikte, çok değişkenli analizde bağımsız prediktif değere sahip oldukları gösterilememiştir (83).

12-Cerrahi Sınır Durumu: Sistektomi ardından cerrahi sınır pozitifliği prognozu belirleyen önemli faktörlerden biridir (26).

13-Mikrodamar Yoğunluğu: Bu özelliğin bağımsız prognostik belirleyici olduğu öne sürülmektedir. Evre T1, grade 2 mesane tümörlerinde mikrodamar yoğunluğunun bağımsız prognostik faktör olduğu, artmış mikrodamar yoğunluğunun erken rekürrens ile anlamlı ilişki gösterdiği bildirilmiştir (84). Miyata ve ark. (85) mesane tümörlerinde anjiogenez ve lenfanjiogenezin metastazsız sağkalımı belirlediğini ortaya koymuşlardır.

14-Kan Grup Antijenlerinin Durumu: ABH ve Lewis antijenleri ürotelyal mukozada normalde eksprese olur, fakat tümörlerde, özellikle de yüksek grade'li olanlarda belirgin olarak azalır ya da eksprese edilmez. Bu delesyon immünohistokimyasal olarak ya da eritrosit aderans testi ile değerlendirilebilir. İnvaziv özelliklerin kazanılması ve rekürrens olasılığında artış gibi agresif klinik gidiş özellikleri ile koreledir (86).

15-DNA Ploidi: Akım sitometrisi veya statik tekniklerle saptanan bu parametrenin mesane karsinomlarında, özellikle grade 2 tümörlerde bağımsız prognostik değere sahip olduğu kanıtlanmıştır (87). DNA ploidi, mikroskobik grade ve klinik gidiş arasında korelasyon olduğu saptanmıştır (88).

16-Hücre Proliferasyonu: Hücre proliferasyon belirleyicileri grade ile koreledir. Bazı serilerde artmış mitoz sayısı ya da artmış S faz fraksiyonunun özellikle düşük evreli tümörlerde prognoz tahmininde bağımsız öneme sahip olduğu bildirilmiştir (89). Evre Ta ve T1 mesane tümörlerinde Ki-67 indeksinin rekürrens ve genel sağkalım açısından anlamlı olduğu gösterilmiştir (82). Mesane ürotelyal neoplazmi olan 84 olguyu içeren bir seride çok değişkenli analizde sadece Ki-67 indeksinin genel sağkalım açısından bağımsız prognostik öneme sahip olduğu gösterilmiştir (90).

17-Kromozomal Aberasyonlar: Çeşitli tiplerde karyotipik aberasyonların (Y kayıpları, 1 ve 17 polisomileri) progresyon riskinde artış ile korele olduğu bildirilmiştir (91).

18-p53 Overekspresyonu: İmmünohistokimyasal olarak saptanan p53 nükleer *overekspresyonunun*, T1 ve T2a mesane karsinomlarında hastalığın progresyonu ile istatistiksel olarak anlamlı derecede korele olduğu gösterilmiştir (18). Mesane ürotelyal neoplazmi olan 84 olguyu içeren bir seride tek değişkenli analizde p53 *overekspresyonunun* kötü genel sağkalımla ilişkili olduğu saptanmıştır (90).

19-E-Kaderin Kaybı: Bir çalışmada E-kaderin kaybı gösteren tümörü olan hastaların daha kötü prognoza sahip olduğu gösterilmiştir (92).

20-p27(Kip1) ve Siklin E Kaybı: Bu iki hücre siklus düzenleyicisinin kaybı artmış histolojik agresiflik ve azalmış sağkalım ile koreledir (93). Dybowski ve ark. (94) düşük p27 indeksine sahip tümörlerin daha kısa hastalığına sahip

olduklarını ortaya koymuş olup, bu çalışmada p27 ile genel sağkalım arasında ilişki saptanmamıştır.

21-Sitokeratin 20: Bir çalışmada sitokeratin 20 immünohistokimyasal boyası ile anormal patern gösteren tümörlerin diğerlerinden daha fazla rekürrens olasılığına sahip olduğu gösterilmiştir (95). Fakat bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Gee ve ark. (96) sitokeratin 20 ekspresyonunun yüksek evre tümörlerde azaldığını saptamışlardır.

22- Protoonkojenler/Onkojenler: Çeşitli çalışmalarda EBFR overekspresyonu ile yüksek grade ve yüksek evre arasında pozitif ilişki saptanmış olup, bu ilişki EBFR ekspresyonunun ileri mesane kanserli hastalarda bağımsız bir prognostik faktör olduğunu desteklemektedir (97,98). HER-2 proteinin ürotelyal kanserlerde ekspresyon seviyesi ve prognostik önemi çeşitli çalışmalar arasında farklılıklar göstermektedir. Bazı çalışmalar bu proteinin prognostik öneminin olmadığını vurgularken, diğer çalışmalarda iyi veya kötü prognozla ilişkili olduğu öne sürülmüştür (99). C-myc overekspresyonu daha sıklıkla yüksek grade'li tümörlerde bildirilmiş olmakla birlikte, rekürrens, progresyon veya sağkalımla korelasyonu kanıtlanamamıştır (99).

2.2. Ürotelyal Karsinoma İn situ

Karsinoma in situ ve displazi aynı zamanda sırasıyla yüksek grade'li ve düşük grade'li intraürotelyal neoplazi olarak bilinir (28). Karsinoma in situ sitolojik özelliklerinin aşikar olması dolayısıyla kolaylıkla tanınır (1). Olguların çoğu konvansiyonel DEHK'lar, özellikle de yüksek grade'li lezyonlar ile birlikte görülür. Soto ve ark. (100) yaptığı bir çalışmada invaziv karsinomu olan 45 hastanın 2/3'ünde komşu alanlarda karsinoma in situ saptanmıştır. Bazen karsinoma in situ, invaziv komponent olmadan da bulunabilir. İzole karsinoma in situ tüm mesane neoplazilerinin %1-3'ünü oluşturur (25). Hemen daima çeşitli derecelerde hiperplazi ve displazi ile birlikte.

Lezyon asemptomatik olabilir, fakat sıklıkla irritatif mesane semptomları vardır. Hastaların çoğunda mikroskobik hematüri görülür. Sistoskopik olarak mukoza inflame, eritematöz, kadifemsi ya da kaldırım taşı görünümündedir (1). Lezyon sıklıkla mültisentriktir. Trigon, lateral duvarlar ve kubbe lokalizasyonunu tercih eder. Tanı üriner sitoloji ve/veya mültipl biyopsilerle konulur.

Mikroskopik kriterleri, diğer lokalizasyonlardaki karsinoma in situ'lar ile aynıdır. Genellikle ürotelyal yüzey, karsinom morfolojik özelliklerine sahip hücreler ile kısmi olarak ya da tümüyle yer değiştirir. Hücre sırası artar ve arşitektür bozulur (28). Epitel kohezivitesi gevşektir, hücreler kolaylıkla dökülür (1). Sonuçta, mesanede karsinoma in situ terimi papiller konfigürasyona sahip olmayan, belirgin sitolojik atipi gösteren yüksek grade'li lezyonlar için kullanılır (28). Bu lezyonlarda şemsiye hücreleri bulunabilir ya da bulunmayabilir.

Karsinoma in situ'nun morfolojik varyasyonları nükleer pleomorfizm gösteren büyük hücreli tip, nükleer pleomorfizm göstermeyen büyük hücreli tip ve küçük hücreli tip'tir.

Karsinoma in situ'ya ait hücreler bazal membran boyunca yayılıp normal değişici epitel hücrelerini yukarı iterek pagetoid büyüme paterni gösterebilir. Karsinoma in situ hücreleri diskoheziv özellikte olup, yaygın olarak dökülme eğilimindedir. Bunun sonucunda mukozal yüzey çıplak görülebilir (*denuding sistitis*). Bu durum yanlış negatif biyopsilere neden olabileceğinden klinik şüphe kuvvetli ise tekrarlayan mültipl biyopsiler alınması önerilmektedir.

Melamed ve ark. (101)'nin yaptığı çalışmada karsinoma in situ'su olan 25 olgudan 8'inde 8-67 aylık intervalde invaziv karsinom gelişimi görülmüştür. Bir başka çalışmada lokalize ürotelyal displazisi olan 36 hastadan 7'sinde (%19) biyopsi ile kanıtlanmış karsinoma in situ veya invaziv karsinoma progresyon saptanmıştır (102). Karsinoma in situ tanısı ile kansere progresyonun saptanması arasındaki süre ortalama 5 yıldır (25).

Sistektomi yapılan hastaların %15'inde distal üreter ve aynı oranda proksimal üreterde tutulum vardır. Bu yüzden üreterin frozen incelemelerinde cerrahi sınırdaki karsinoma in situ'nun olup olmadığından emin olunmalıdır (1).

İnvaziv mesane karsinomlarında bulunan lektin ekspresyonu, kan grup antijen ekspresyonu ve DNA ploidi'deki anormallikler karsinoma in situ'da da bildirilmiştir. Karsinoma in situ ile reaktif atipinin ayrımı güç olabilmektedir. Bu iki lezyonun ayırıcı tanısında sitokeratin 20, kaderin, p53 ve CD44 immünohistokimyasal boyalarının yararlı olduğu bildirilmiştir. Adı geçen ilk 3 belirleyici karsinoma in situ'da pozitif olmaya eğilimli iken, CD44 başlıca reaktif atipide eksprese olur (103,104).

2.3. Maspin

Serin proteaz inhibitörleri (serpinler) farklı biyolojik fonksiyonlar gösteren büyük bir protein ailesinden meydana gelir. Serpin ailesinin bir üyesi olan maspin, ov-serpin alt ailesi içinde gruplandırılmıştır. Halen bilinen 13 insan ov-serpin'i mevcut olup, bunlar arasında plazminojen aktivatör inhibitör 2 ile yassı epitel hücreli karsinom antijenleri 1 ve 2 de bulunmaktadır (6). İnsan ov-serpinleri çoğunlukla intrasellülerdir, fakat maspin'in de dahil olduğu birkaçı aynı zamanda ekstrasellüler olarak da fonksiyon gösterir (105). Maspin haricinde bütün ov-serpinler fonksiyonel proteaz inhibitörü olarak bilinir. Proteaz inhibisyonu, serpin *reaktif site loop(RSL)* yolu ile meydana gelir. İnhibisyon geri dönüşümsüzdür. Maspin ise noninhibitör serpin olarak sınıflandırılmaktadır, çünkü maspin için halen bilinen bir hedef proteaz bulunmamaktadır (6). Maspin *RSL*'si korunmaz ve serpin üst ailesindeki diğer *RSL*'lerin çoğundan daha kısadır. Kısa *RSL*'nin molekülün stabilitesini azalttığı varsayılmaktadır. Bu durum maspin'in proteolize aşırı duyarlı olmasına neden olmaktadır. Boyutuna karşın, maspin *RSL*'sinin, maspinin bazı tümör supresif fonksiyonları için gerekli olduğuna inanılmaktadır.

2.3.1. Maspin Lokalizasyonu

Maspin ekspresyonu meme, prostat, cilt, over, pankreas ve akciğer epitel hücreleri ile korneanın stromal hücreleri gibi çok çeşitli hücrelerde gösterilmiştir (Tablo 2.7). Maspin baskın olarak sitoplazmik lokalizasyon gösterir, ancak hücre tipine bağlı olarak geniş bir lokalizasyon paternine sahiptir. Maspinin değişik subsellüler lokalizasyonu, farklı fonksiyonlarının ve bağlanma partnerlerinin varlığını gösterir (106) (Tablo 2.8). Meme epitel hücrelerinde maspin primer olarak sitoplazmada lokalizedir, fakat aynı zamanda nükleusta (myoepitelyal hücrelerde), sekretuar veziküllerde ve hücre yüzeyinde de lokalize olabilir (7). Bazı dokularda aberran maspin lokalizasyonu neoplastik bir lezyonun göstergesi olabilir. Sood ve ark. (14) ovaryan karsinomlarda maspinin sitoplazmik lokalizasyonunun kötü prognozla ilişkili olduğunu, bu kanserlerde nükleer maspin lokalizasyonunun ise daha benign lezyonları gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu paradoksik maspin lokalizasyon paterni küçük hücreli olmayan akciğer karsinomunda da gösterilmiştir (107).

Tablo 2.7. Maspin ekspresyonu gösteren çeşitli dokular

Doku	Hücre tipi	Subsellüler alan
Meme	Epitel, adiposit, endotel	Sitoplazmik
Prostat	Epitel	Sitoplazmik
Cilt	Keratinosit	Sitoplazmik
	Melanosit	Sitoplazmik?
Pankreas	Epitel	Nükleer?
Over	Epitel	Nükleer?
Akciğer	Epitel	
Kolon	Epitel	Sitoplazmik
Kornea	Epitel, endotel, stromal	Sitoplazmik/nükleer

Tablo 2.8. Maspin-bağlayıcı partnerler ve fonksiyonları

Partnerler	Doku	Fonksiyon
Kollajen I ve III		Matriks adezyonu
Transketolaz		Glükoz metabolizması
Metallotionein		Bakır homeostazı
IFN regülatuar faktör-6	Meme	Hücre diferansiyasyonu, immün cevap
Prostat kanser antijeni 1	Meme	
Beta-katenin	Meme	Transkripsiyon faktörü
Beta-aktin	Meme	<i>Scaffolding</i>
Erken büyüme cevap proteini 1	Meme	Transkripsiyon faktörü
Glutasyon peroksidaz	Meme	H ₂ O ₂ <i>scavenger</i>
Pirüvat karboksilaz	Meme	<i>Anaplerotik enzim</i>
Glutasyon S-transferaz	Prostat	Oksidatif stres
Histon deasetilaz 1	Prostat	Aktivatör reseptör regülasyonu
Isı şok proteini 70 ve 90	Prostat	Isı-nedenli moleküler <i>şaperon</i>
uPA/UPAR*	Prostat/meme	Perisellüler proteoliz
Beta1 integrin	Meme	Hücre tutunması

*uPA/UPAR: ürokinaz-tip plazminojen aktivatör/ürokinaz-tip plazminojen aktivatör reseptör

2.3.2. Maspinin Fonksiyonları

Çalışmalar maspinin pro-apoptotik, anti-anjiogenik ve anti-metastatik fonksiyonlara sahip olduğunu göstermektedir. Maspin ayrıca anti-inflamatuar özelliklere de sahiptir. Maspin anti-inflamatuar etkisini, inflamatuvar yanıtta rol alan interlökin-1alfa, interlökin-6, CCL20, CXCL2 ve PTX3 gibi genleri *downregüle* ederek göstermektedir (6).

Motilite, İnvazyon ve Metastaz

İlk çalışmalarda meme ve prostat kanser hücrelerinde maspinin hücre invazyonunu ve metastazı inhibe ettiği gösterilmiştir (7,8). Maspinin anti-metastatik etkilerini ortaya çıkaran mekanizmaları belirleyebilmek üzere çok sayıda çalışma yapılmıştır. Maspin hücrenin integrin profilini değiştirerek hücre invazyonunu düzenlemektedir. Hücresel integrin profilindeki değişiklikler fibronektine aderansı artırırken, fibronektin/jelatin matrikste invazyonu azaltmaktadır. Maspinin hücre integrin profilini değiştirme yeteneği ile birlikte, maspin re-ekspresyonu da motilite ve invazyonda rol alan sinyal yollarını değişikliğe uğratar (6). Maspinin anti-metastatik etki mekanizmaları Tablo 2.9'da özetlenmiştir.

Tablo 2.9. Maspinin anti-metastatik etkileri

Yolak	Etki
Maspin tarafından değiştirilmiş integrin profili	Fibronektine artmış hücre adezyonu
Maspin tarafından azaltılmış uPA/uPAR*	Aktif plazminde azalmaya yol açan azalmış aktif uPA ve azalmış hücre yüzey uPAR seviyeleri
Maspin tarafından inhibe edilmiş Rac1 aktivitesi	Azalmış hücre motilitesi
Uyarılmış PI3K/ERK yolları	Artmış fokal adezyonlar ve stres lif oluşumu yoluyla artmış hücre adezyonu

*uPA/uPAR: Ürokinaz plazminojen aktivatör / Ürokinaz plazminojen aktivatör reseptör kompleksi

Anjiogenez ve Apoptoz

Anjiogenez yeni kan damarları oluşumunu tanımlamaktadır ve tümör gelişiminde anahtar role sahiptir. Yüksek miktarda anjiogenik faktör (vasküler endotelial büyüme faktörü gibi) salgılayan tümörlerin artmış invaziv ve metastatik kapasiteye sahip oldukları bilinmektedir. Çeşitli araştırmalar maspinin anjiogenez inhibitörü olarak fonksiyon görebileceğini ortaya koymaktadır. rMaspin ve sekrete edilen maspin kültüre endotelial hücrelerin migrasyonunu engellemektedir (9). Ayrıca maspinin in vivo olarak neovaskülarizasyonu etkili bir şekilde durdurduğu ve tümör ilişkili mikrodamar yoğunluğunu azalttığı gösterilmiştir (9). Solomon ve ark. (108) ovaryan seröz karsinomda maspinin nükleer yerleşiminin vasküler büyüme faktörü gibi anjiogenik faktörlerin azalması ile ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Maspin reekspressiyonunun uyardığı genlerden biri olan trombospondin-1 anti-anjiogenik özelliklere sahip bir modüler glikoproteindir. Trombospondin-1 hücre adezyonu ve motilitesinde rol alır, ayrıca apoptozu da uyaran bir moleküldür.

Maspin apoptoz olayında başka mekanizmalarla da görev almaktadır. Maspinin meme kanser hücrelerini apoptozu duyarlılaştırdığı gösterilmiştir (109). Maspin apoptozu bcl-2'yi regüle ederek de uyarmaktadır (110).

2.3.3. Maspin Regülasyonu

Maspinin olası terapötik kullanım potansiyeli nedeniyle maspin ekspresyon regülasyonunun daha iyi anlaşılabilmesine çalışılmaktadır. İlk regülatuar mekanizmalardan biri p53 ile ilişkilidir. P53, hücre siklus regülatuar proteini olarak davranan bir tümör süpresör olarak bilinir ve aynı zamanda apoptoz ve anjiogenezde de rol oynar. Araştırmacılar p53'ün hücre invazyon ve metastazındaki rolünün maspinin p53 tarafından regülasyonu ile açıklanabileceğini öne sürmekte ve mutant p53 eksprese eden kanser hücrelerinin daha fazla metastaz yapma eğilimi gösterdiğini, bunun da kısmen maspin genini upregüle etme yeteneğindeki kayba bağlı olduğunu varsaymaktadırlar (111).

Khalkhali-Ellis ve ark. (112) meme kanseri tedavisi ve profilaksisinde sık olarak kullanılan ve östrojen reseptörlerine bağlanmada östrojen ile yarışarak fonksiyon gören tamoksifenin in vitro ve in vivo olarak maspin ekspresyonuna yol açtığını göstermişlerdir. Bu regülasyonun başlıca maspin geninde yerleşim gösteren hormon reseptör eleman yoluyla oluşturulduğu gösterilmiştir ki bu da maspin

ekspresyonunun regülasyonunda hormonların rolünü düşündürmektedir. Liu ve ark. (113) tamoksifen tarafından maspinin uyarılmasında östrojen reseptör-alfa'nın rolü olduğunu ortaya koymuşlardır.

Khalkhali-Ellis ve Hendrix (114) nitrik oksitin meme kanseri hücre serisi MCF-7'de maspin ekspresyonunu hem mRNA hem de protein seviyeleri düzeyinde uyarma yeteneğine sahip olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada elde edilen veriler uyarılmış maspin ekspresyonunun azalmış hücre motilitesi ve invazyonu ile buna eşlik eden artmış apoptotik indeks ile sonuçlandığını ortaya koymuştur. Araştırmacılar bu bulguların meme kanserinin gelecekteki tedavi stratejilerinin belirlenmesinde potansiyel bir öneme sahip olabileceğini vurgulamışlardır.

Maspinin epigenetik olarak regüle olduğu ve doku-spesifik ekspresyonunun DNA metilasyonu ile yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir (115). Maspin ekspresyonunun epigenetik değişiklikleri sitozin metilasyonu ve histon deasetilasyonu ile ilişkilidir. DNA metilasyonu, histon lizin metilasyonu ve/veya deasetilasyon epigenetik programları tanımlayan sabit kromatin modifikasyonlarıdır. Epigenetik deregülasyon sıklıkla tümör süpresör genlerin inaktivasyonu yoluyla tümör gelişimine katılır (116).

Bazı somatik dokularda tümör hücreleri normal kardeşlerine nazaran global DNA hipometilasyonuna sahiptir (117). Hipometilasyon premalign lezyondan malign gelişime progresyonda rol oynar ve kanser gelişiminde önemli olan genlerin aktivasyonuna neden olur. Çeşitli çalışmalar mide, pankreas ve over kanserlerinde maspin overekspresyonunun DNA hipometilasyonu sonucu olduğunu göstermektedir (106). Histon deasetilasyonunun meme ve mesane kanserlerinde maspin gen aktivasyonunu baskılayabileceği bildirilmiştir.

2.3.4. Maspinin Klinik Önemi

Maspin ile ilgili in vitro çalışmalar, bir tümör süpresör olarak maspin fonksiyonunun artmış hücre adezyonu ve apoptozis ile azalmış motilite, anjiogenez ve perisellüler proteoliz kombinasyonundan oluştuğunu ortaya koymaktadır (106). Maspinin kanser progresyonu ve metastazdaki klinik önemiyle ilgili en çarpıcı veriler kanserli hastaların sağkalımı ile ilişkili çalışmalardan elde edilmektedir. İlk gözlemler azalmış maspin ekspresyonunun kanser progresyonunu işaret ettiği yönündeyken, daha sonraki çalışmalar bu korelasyonun daha önce bilinenden çok

daha kompleks olduğunu ortaya koymuştur. Bu kompleksiteye katkıda bulunan faktörler olarak genetik zemin, kanserin tipi, kaynak aldığı doku, bu dokunun normalde maspin eksprese edip etmemesi, maspinin subsellüler dağılımı ve kanser tedavisinde sitotoksik ilaçların kullanımı sayılabilir (106).

Çeşitli dokularda maspin ekspresyonunun prognostik öneminin araştırıldığı çalışmalar mevcut olup, bu çalışmalarda birbiriyle çelişen sonuçlar elde edilmiştir.

2.4. Ki-67

Çeşitli malignensilerde neoplastik hücrelerin proliferasyonu önemli bir prognostik belirleyicidir. Hücre siklusu ile ilişkili nükleer antijenlerin saptanması immünohistokimyasal yöntemlerle proliferatif aktivitenin tahmin edilebilmesini mümkün hale getirmiştir. Proliferasyonun immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi akım sitometri ile elde edilen S-faz fraksiyon analizi ile belirgin korelasyon göstermektedir (118). Ki-67'nin histolojik materyallerde proliferasyonu belirlemede değerli olduğu yönünde genel bir uzlaşma mevcuttur. Ki-67 hücre siklusunun aktif fazlarında bulunan hücrelerde eksprese edilen bir nükleer antijen olup, G0 hücrelerde bulunmamaktadır. Ki-67 proliferasyon indeksinin çeşitli tümörlerde prognostik öneme sahip olduğu yapılan çok sayıda çalışma ile ortaya konmuştur.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olgu Seçimi

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 1996-2007 yılları arasında “primer, evre T1 değişici epitel hücreli karsinom” tanısı alan toplam 66 olgu çalışmaya dahil edildi. Olguların yaşı, takip süreleri, tümör boyutu ve soliter ya da multipl oluşu, rekürrens ve progresyon varlığı durumunda ilk tanıdan ne kadar süre sonra geliştiği ve tümör nedenli ölüm gibi bilgiler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'ndan elde edildi.

Olgulara ait daha önceden hazırlanmış ve H&E ile boyanmış histolojik kesitler tekrar gözden geçirilerek mikroskopik özellikler, tümörün grade'i ve lamina propria invazyonu tekrar değerlendirildi. Grade'leme 1973 DSÖ Klasifikasyon Sistemi'ne, evreleme ise TNM Sistemi'ne (2002 revizyonu) göre yapıldı.

Her olgu için tümöre ait özellikleri içeren parafin bloktan 3-4 mikron kalınlığında yeni kesitler alındı. Bu kesitlere maspin ve Ki-67 ile immünohistokimyasal boyama yapıldı.

Ayrıca kontrol grubu olarak olgulardan 10'unda tümör dışı alanlarda izlenen normal ürotelyal epiteldeki maspin ekspresyonu da değerlendirildi.

3.2. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi

Her olgu için alınan 3-4 mikron kalınlığındaki kesitlere fare konağında hazırlanmış maspin (Novocastra, clone EAW24) ve yine fare konağında hazırlanmış Ki-67 (ScyTek, clone MM1) monoklonal antikoları ile streptavidin-biotin peroksidaz yöntemi kullanılarak immünohistokimyasal boyama uygulandı. Pozitif kontrol olarak maspin için prostat, Ki-67 için tonsil dokusu kullanıldı.

Hazırlanan kesitler 3 kez 5'er dakika ksilenden geçirilerek deparafinize edildi. Daha sonra 1 kez 1 dakika absölu alkol ve 2 kez 1'er dakika %96'luk alkolden geçirilerek hidrate edildi.

Deparafinize kesitler 10 dakika %3'lük hidrojen peroksidaz (H₂O₂) ile inkübe edilip, 30 saniye distile su ile yıkandı. Daha sonra 2 dakika phosphate buffer saline (PBS) (pH:7.4) uygulanıp, 5 dakika blok solüsyonunda bekletildi. Sırasıyla 60 dakika primer antikor (maspin ve Ki-67), 2 dakika phosphate buffer saline (PBS) (pH:7.4), 30 dakika link, 2 dakika phosphate buffer saline (PBS) (pH:7.4), 30 dakika

streptavidin, 2 dakika phosphate buffer saline (PBS) (pH:7.4), 1-10 dakika chromogen (AEC) uygulandı ve 30 saniye distile su ile yıkandı. Hematoksilin ile 30 saniye zemin boyaması yapıldı. 30 saniye distile su ile yıkandı. Havada kurutulup, Aqueous Mounting Medium ile kapatıldı.

3.3. İmmünohistokimyasal Analiz

İmmünohistokimyasal analizde, maspin için sitoplazmik ve nükleer, Ki-67 için nükleer boyanma dikkate alındı. Maspin için tümöre ait beş alanda boyanma gösteren hücre yüzdesi değerlendirildi. Maspin ile boyanma gösteren hücre yüzdesi 0-4 arasında olanlar negatif, 5 ve üzerinde olanlar pozitif olarak sınıflandırıldı.

Ki-67 için tümöral hücrelerde boyanma yoğunluğunun en belirgin olduğu alan saptandı. Bu alanda en az 500 hücre sayılarak, nükleer pozitiflik gösteren hücre yüzdesi, boyanma şiddetine bakılmaksızın belirlendi. Ki-67 için *cut-off* değeri %10 olarak kabul edilerek, olgular %10 ve altı ve %10'un üzeri olarak iki kategoriye ayrıldı.

3.4. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS 15.0 for Windows programında gerçekleştirildi. Maspin ve Ki-67 ekspresyon kategorileri ile çeşitli klinikopatolojik parametrelerin karşılaştırılması ki-kare testleri (Pearson, Exact, Fisher's exact, Yates') aracılığıyla yapıldı. Rekürrensiz, progresyonsuz ve genel sağkalım eğrileri Kaplan-Meier metodu kullanılarak oluşturuldu ve sağkalım süreleri *log-rank* test aracılığıyla karşılaştırıldı. Çeşitli klinikopatolojik parametreler ile rekürrens, progresyon ve ölüm varlığı arasındaki ilişkiyi değerlendirmek üzere *Cox proportional hazard regression* modeli kullanıldı. $P < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

*Tez çalışması için yaptığımız başvuruya Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 18.03.2008 tarih ve 2008/140 sayılı yazısı ile onay verilmiştir.

4.BULGULAR

4.1. Klinik ve Histopatolojik Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 66 olgudan 65'i erkek, 1'i kadın olup, tanı anındaki yaşları 35-85 (ortalama 63.41 ± 10.897) arasında değişmekteydi. Olguların takip süresi 12-132 ay (ortalama 51.55 ± 28.817) idi. Tüm olgular T1 evresinde olup, DSÖ 1973 Klasifikasyon Sistemine'e göre 11'i (%16.7) grade 1, 29'u (%43.9) grade 2, 26'sı (%39.4) grade 3 özellik göstermekteydi.

Tümör boyutu olguların 17'sinde (%25.8) <3 cm, 49'unda (%74.2) ≥ 3 cm olup, tümör sayısı olguların 22'sinde (%33.3) tek, 44'ünde (%66.7) birden fazla idi.

Olguların 34'ünde (%51.5) rekürrens gelişmiş olup, ilk tanıdan itibaren rekürrense dek geçen süre 4-96 ay (ortalama 34.11 ± 26.995) arasında değişmekteydi. Olguların 8'inde (%12.1) ilk tanıdan 8-132 ay (ortalama 50.48 ± 29.384) sonra progresyon geliştiği saptandı. Tümör nedenli ölüm olguların 7'sinde (%10.6) görülmüş olup, ilk tanıdan itibaren ölüme dek geçen süre 12-132 ay (ortalama 51.55 ± 28.817) arasında değişmekteydi. Olguların 4'ünde tümör dışı nedenlerle ölüm görüldü.

Olguların klinikopatolojik özellikleri Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Olgulara ait klinikopatolojik özellikler

No	Biopsi no	Y	Takip süresi (ay)	Tümör boyutu (cm)	Tümör sayısı	Grade (DSÖ 1973)	Rekürrens (varsa süresi)	Progresyon (varsa süresi)	Ölüm (varsa süresi)
1	3330-1 /96	69	24	<3	M	3	Var (5 ay)	Yok	Yok
2	2822/97	50	120	≥3	M	2	Var (5 ay)	Yok	Yok
3	4371/97	36	132	≥3	M	2	Var (60 ay)	Yok	Yok
4	5432/98	76	18	<3	M	2	Var (8 ay)	Var (8 ay)	Var (18 ay)
5	5845/98	59	48	≥3	M	3	Var (34 ay)	Yok	Yok
6	3811-2 /99	61	96	<3	M	1	Yok	Yok	Var (TDN)
7	5976/99	59	36	≥3	S	1	Var (21 ay)	Yok	Yok
8	6711-2 /99	64	36	≥3	S	2	Var (12 ay)	Var (28 ay)	Var (36 ay)
9	7147/99	73	29	≥3	M	2	Var (28 ay)	Yok	Yok
10	7451-2 /99	43	60	<3	S	2	Var (4 ay)	Yok	Yok
11	9194-5 /99	57	88	<3	S	1	Var (12 ay)	Yok	Yok
12	1777-9 /00	66	42	≥3	M	2	Var (18 ay)	Var (36 ay)	Var (42 ay)
13	4477-8 /00	69	110	<3	S	2	Var (18 ay)	Yok	Yok
14	6418-9 /00	47	108	<3	M	1	Var (6 ay)	Yok	Yok
15	7196-7 /00	67	40	<3	M	3	Yok	Yok	Var (TDN)
16	1208-10 /01	65	40	<3	M	1	Var (18 ay)	Yok	Var (TDN)
17	2765-6 /01	63	50	≥3	M	3	Var (42 ay)	Var (42 ay)	Var (50 ay)
18	4806-7 /01	73	15	≥3	M	3	Var (4 ay)	Var (12 ay)	Var (15 ay)
19	6167/01	78	96	≥3	S	2	Yok	Yok	Yok
20	8395-7 /01	64	94	≥3	S	3	Yok	Yok	Yok
21	574-7 /02	70	92	≥3	S	1	Yok	Yok	Yok
22	2574-5 /02	57	78	<3	S	3	Var (6 ay)	Yok	Yok
23	6495/02	57	84	≥3	M	2	Var (6 ay)	Yok	Yok
24	6988-9 /02	61	84	<3	S	1	Yok	Yok	Yok
25	7099/02	76	18	≥3	M	3	Var (14 ay)	Var (14 ay)	Var (18 ay)
26	8398-9 /02	51	83	≥3	S	3	Yok	Yok	Yok
27	8781/02	62	12	<3	S	3	Yok	Yok	Yok
28	9244-6 /02	76	82	≥3	M	3	Var (78 ay)	Yok	Yok
29	1982-4 /03	70	68	≥3	S	2	Var (54 ay)	Var (54 ay)	Var (68 ay)
30	3127-8 /03	66	76	≥3	M	3	Yok	Yok	Yok
31	3651-2 /03	70	24	≥3	S	3	Var (18 ay)	Yok	Yok
32	4883-5 /03	72	22	≥3	M	2	Yok	Yok	Yok
33	7165-6 /03	43	72	<3	S	2	Yok	Yok	Yok
34	9830-1 /03	70	70	<3	S	3	Var (12 ay)	Yok	Yok
35	9944-5 /03	66	20	≥3	M	2	Var (10 ay)	Yok	Yok
36	116-8/04	35	68	<3	S	1	Yok	Yok	Yok
37	2879-81 /04	66	65	≥3	M	2	Yok	Yok	Yok
38	8609-10 /04	63	61	≥3	S	3	Var (51 ay)	Yok	Yok

Tablo 4.1. ”Devam”

No	Biopsi no	Y	Takip süresi (ay)	Tümör boyutu (cm)	Tümör sayısı	Grade (DSÖ 1973)	Rekürrens (varsa süresi)	Progresyon (varsa süresi)	Ölüm (varsa süresi)
39	9055-7 /04	76	61	≥3	M	3	Yok	Yok	Yok
40	9312-4 /04	69	61	≥3	S	2	Yok	Yok	Yok
41	10431-5/04	70	15	≥3	M	3	Yok	Yok	Yok
42	11081-3/04	85	42	≥3	M	3	Var (6 ay)	Yok	Var (TDN)
43	12399/04	60	56	<3	M	2	Yok	Yok	Yok
44	4385-6/05	50	52	≥3	M	3	Var (12 ay)	Yok	Yok
45	6079-80/05	77	50	≥3	M	2	Var (15 ay)	Yok	Yok
46	6933-5/05	59	49	≥3	S	2	Var (21 ay)	Yok	Yok
47	7174-5/05	71	15	≥3	M	3	Var (6 ay)	Yok	Yok
48	8173-4/05	45	48	≥3	M	2	Yok	Yok	Yok
49	9338-9/05	74	48	≥3	M	2	Yok	Yok	Yok
50	11686/05	60	46	≥3	M	1	Yok	Yok	Yok
51	2634-35/06	43	42	≥3	M	2	Yok	Yok	Yok
52	2636-7/06	60	42	≥3	M	2	Var (15 ay)	Yok	Yok
53	3088-9/06	65	41	≥3	M	1	Var (6 ay)	Var (24 ay)	Yok
54	4179-80/06	50	40	≥3	M	1	Yok	Yok	Yok
55	9742-3/06	63	36	≥3	M	2	Yok	Yok	Yok
56	11501-3/06	70	36	≥3	M	3	Yok	Yok	Yok
57	11701-2/06	59	36	≥3	M	2	Yok	Yok	Yok
58	1868-9/07	64	30	≥3	M	3	Yok	Yok	Yok
59	4087-9/07	64	30	≥3	M	2	Yok	Yok	Yok
60	6735-6/07	62	28	≥3	S	3	Yok	Yok	Yok
61	8569-71/07	48	26	≥3	M	3	Var (9 ay)	Yok	Yok
62	10534-5 /07	77	25	≥3	M	3	Yok	Yok	Yok
63	13246-8/07	69	22	≥3	M	2	Var (15 ay)	Yok	Yok
64	14662-3/07	71	22	≥3	M	3	Yok	Yok	Yok
65	16625-6/07	77	21	<3	S	2	Yok	Yok	Yok
66	17073-4/07	82	21	≥3	M	2	Yok	Yok	Yok

Y: Yaş, M: Mültipl, S: Soliter, TDN: Tümör dışı nedeni

4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

Maspin ile olguların 54’ünde boyanma gözlenirken, 12 olguda boyanma görülmedi. Maspin ile boyanma gösteren hücre yüzdesi 1-90 arasında değişmekteydi. Boyanma olguların 40’ında sitoplazmik, 14’ünde sitoplazmik+nükleer olarak izlendi. Maspin ekspresyonu, olgulardan 26’sında negatif (0-4), 40’ında pozitif (5 ve üzeri) olarak değerlendirildi. Ki-67 ile tüm olgularda %1-90 arasında değişen oranlarda

boyanma görüldü. Ki-67 indeksi olgulardan 20'sinde \leq %10, 46'sında $>$ %10 idi. Olgulara ait immünohistokimyasal boyama sonuçları Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Olgulara ait immünohistokimyasal boyama sonuçları

No	Biopsi no	Maspin (+) hücre yüzdesi	Maspin boyanmasının lokalizasyonu	Maspin ekspresyonunun sınıflandırılması	Ki-67 (+) hücre yüzdesi
1	3330-1 /96	0		Negatif	21
2	2822/97	2	S+N	Negatif	35
3	4371/97	0		Negatif	20
4	5432/98	30	S+N	Pozitif	17
5	5845/98	1	S	Negatif	60
6	3811-2 /99	0		Negatif	9
7	5976/99	15	S+N	Pozitif	11
8	6711-2 /99	3	S	Negatif	28
9	7147/99	12	S	Pozitif	19
10	7451-2 /99	1	S	Negatif	4
11	9194-5 /99	35	S	Pozitif	9
12	1777-9 /00	0		Negatif	1
13	4477-8 /00	11	S	Pozitif	37
14	6418-9 /00	4	S	Negatif	4
15	7196-7 /00	0		Negatif	35
16	1208-10 /01	1	S	Negatif	4
17	2765-6 /01	4	S	Negatif	45
18	4806-7 /01	8	S	Pozitif	58
19	6167/01	28	S	Pozitif	90
20	8395-7 /01	0		Negatif	65
21	574-7 /02	6	S	Pozitif	4
22	2574-5 /02	0		Negatif	39
23	6495/02	0		Negatif	1
24	6988-9 /02	90	S+N	Pozitif	2
25	7099/02	2	S	Negatif	24
26	8398-9 /02	8	S	Pozitif	67
27	8781/02	6	S	Pozitif	41
28	9244-6 /02	12	S	Pozitif	31
29	1982-4 /03	0		Negatif	57
30	3127-8 /03	16	S+N	Pozitif	20
31	3651-2 /03	0		Negatif	25
32	4883-5 /03	0		Negatif	1
33	7165-6 /03	27	S	Pozitif	1

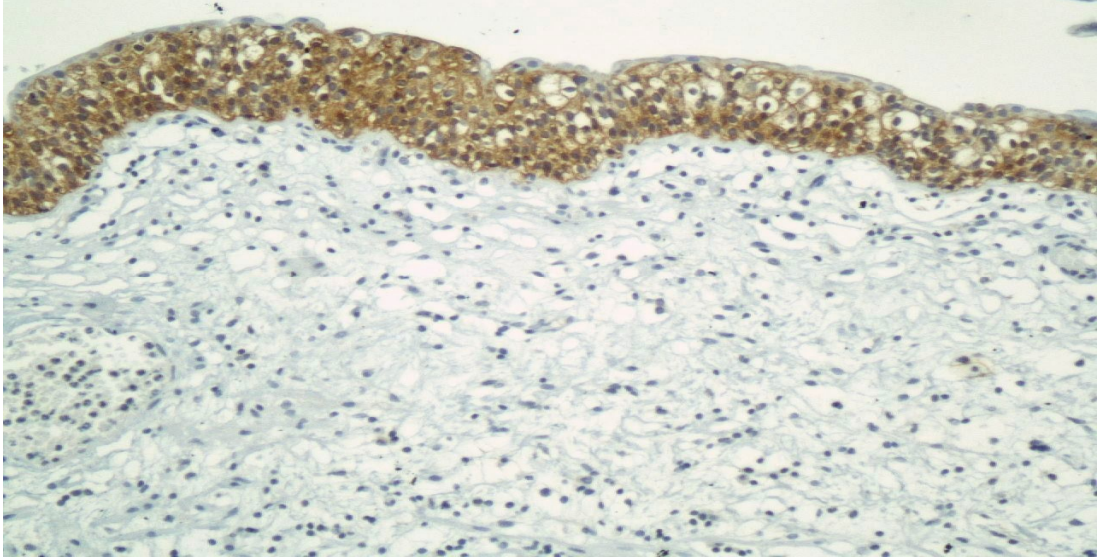
Tablo 4.2. “Devam”

No	Biopsi no	Maspin (+) hücre yüzdesi	Maspin boyanmasının lokalizasyonu	Maspin ekspresyonunun sınıflandırılması	Ki-67 (+) hücre yüzdesi
34	9830-1 /03	15	S	Pozitif	21
35	9944-5 /03	1	S	Negatif	8
36	116-8/04	2	S	Negatif	1
37	2879-81 /04	3	S+N	Negatif	1
38	8609-10 /04	22	S+N	Pozitif	27
39	9055-7 /04	16	S+N	Pozitif	35
40	9312-4 /04	62	S	Pozitif	3
41	10431-5/04	22	S+N	Pozitif	17
42	11081-3/04	10	S+N	Pozitif	20
43	12399/04	45	S	Pozitif	1
44	4385-6/05	26	S	Pozitif	11
45	6079-80/05	65	S	Pozitif	16
46	6933-5/05	3	S	Negatif	12
47	7174-5/05	7	S	Pozitif	37
48	8173-4/05	15	S	Pozitif	2
49	9338-9/05	34	S	Pozitif	12
50	11686/05	70	S	Pozitif	9
51	2634-35/06	70	S+N	Pozitif	11
52	2636-7/06	40	S+N	Pozitif	6
53	3088-9/06	3	S	Negatif	30
54	4179-80/06	42	S	Pozitif	42
55	9742-3/06	18	S	Pozitif	27
56	11501-3/06	0		Negatif	62
57	11701-2/06	34	S	Pozitif	22
58	1868-9/07	22	S	Pozitif	56
59	4087-9/07	44	S	Pozitif	18
60	6735-6/07	8	S	Pozitif	81
61	8569-71/07	18	S	Pozitif	87
62	10534-5 /07	2	S	Negatif	42
63	13246-8/07	15	S+N	Pozitif	14
64	14662-3/07	22	S+N	Pozitif	37
65	16625-6/07	13	S	Pozitif	10
66	17073-4/07	10	S	Pozitif	30

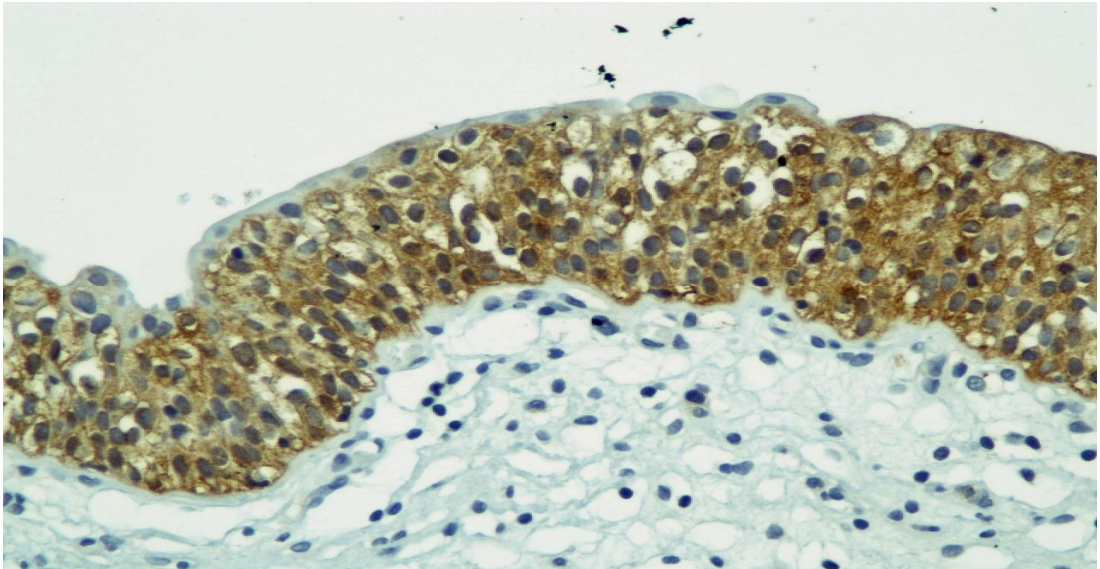
S: Sitoplazmik, N: Nükleer.

Olgulardan 10’unda tümör dışı alanlarda izlenen normal ürotelyal epiteldeki maspin ekspresyonu da değerlendirilmiş olup, epitelde bazal ve intermedier

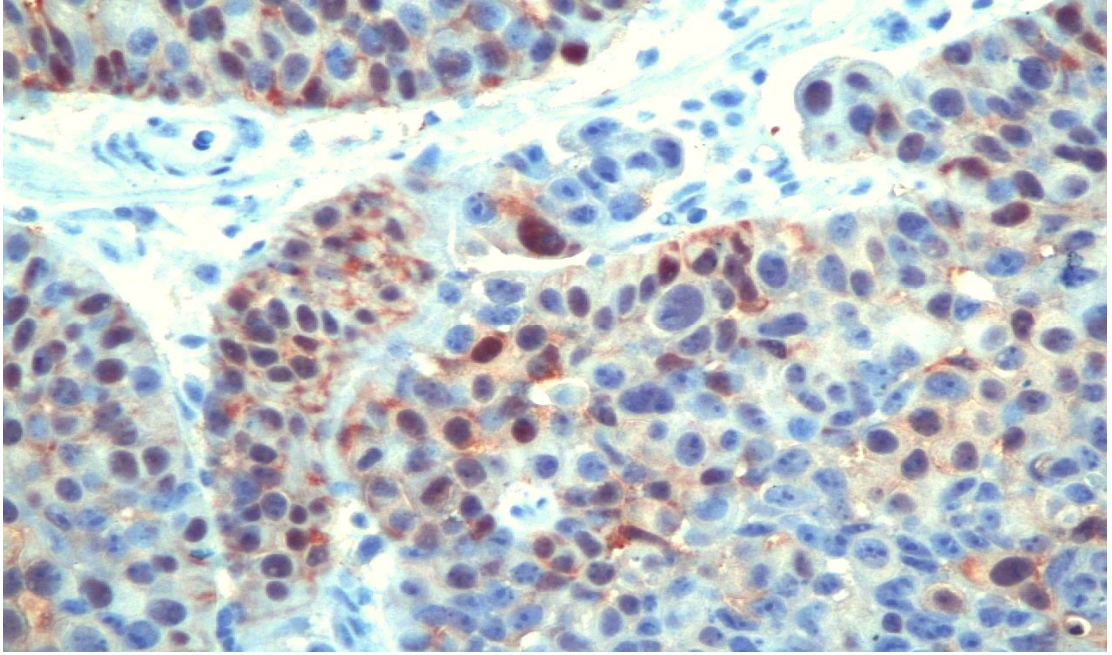
hücrelerde orta-kuvvetli derecede boyanma görüldü. Olgulara ait immünohistokimyasal boyama örnekleri Resim 4.1-4.12'de gösterilmiştir.



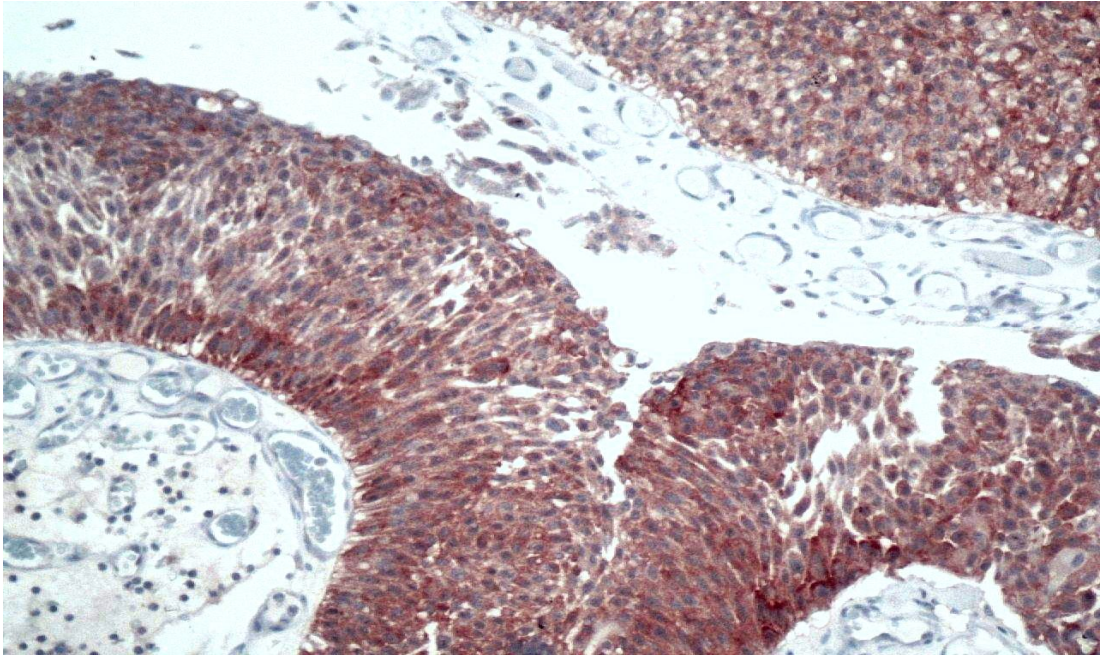
Resim 4.1. Maspin ile normal ürotelyal epitelde bazal ve intermedier hücrelerde orta-kuvvetli derecede boyanma (Biyopsi no: 7452/99) (x200)



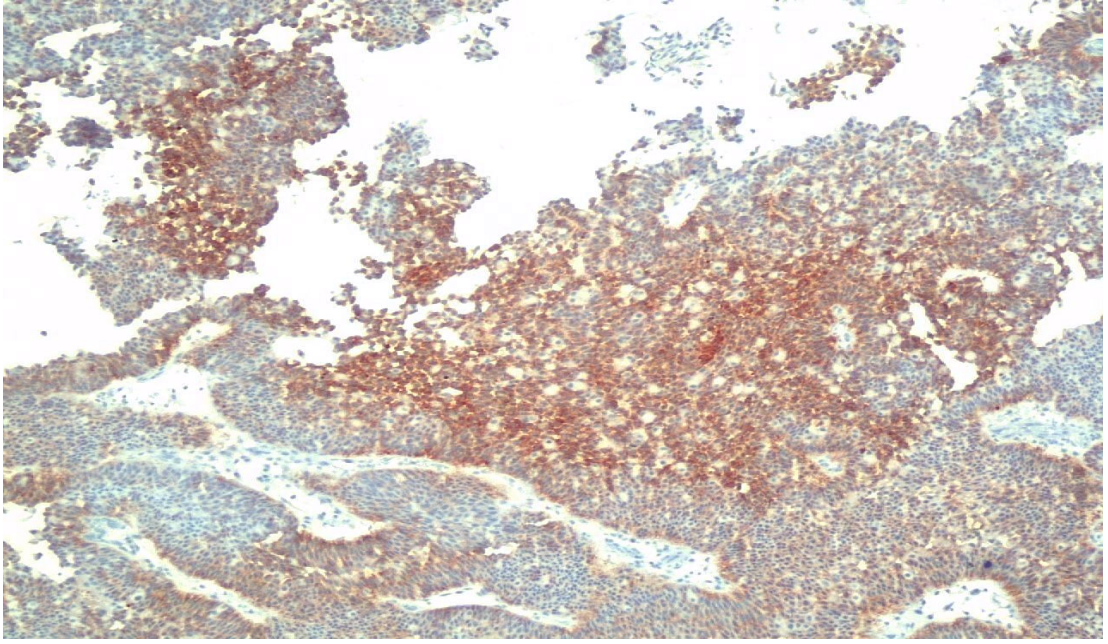
Resim 4.2. Maspin ile normal bazal ve intermedier hücrelerde orta-kuvvetli derecede boyanma görülürken, şemsiye hücrelerinde boyanma izlenmedi (Biyopsi no: 7452/99) (x400)



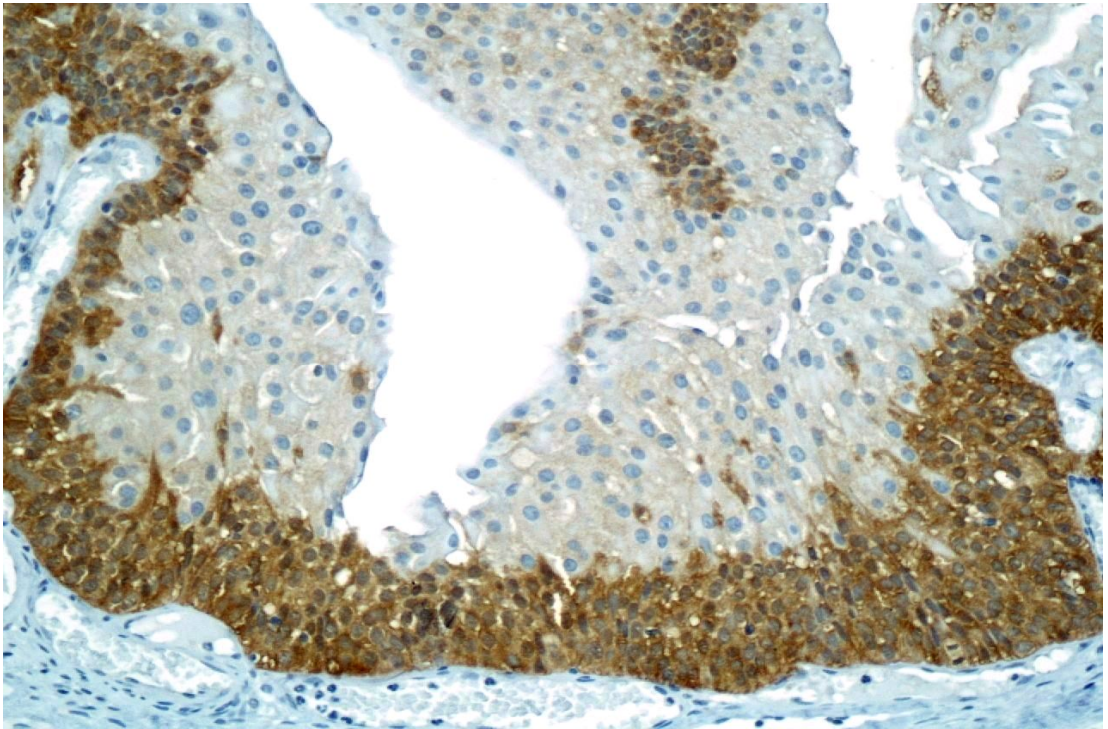
Resim 4.3. Maspin ile nükleer boyanma (Biyopsi no: 9055/04) (x400).



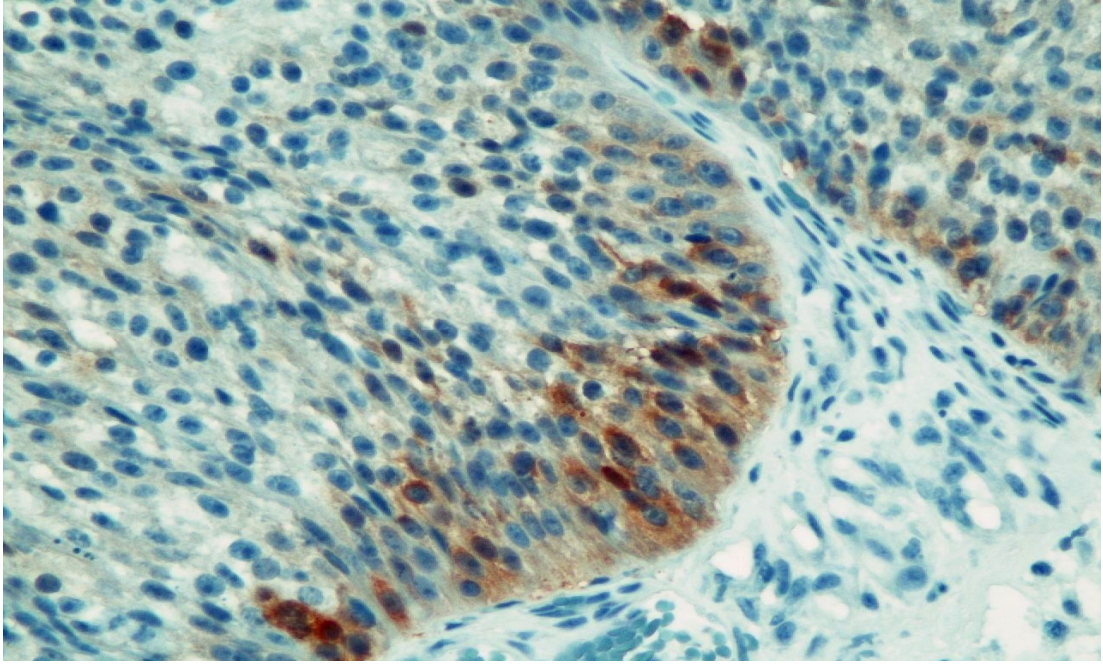
Resim 4.4. Grade 1 tümörde sitoplazmik maspin pozitifliği (%42 boyanma) (Biyopsi no: 4179/06) (x200).



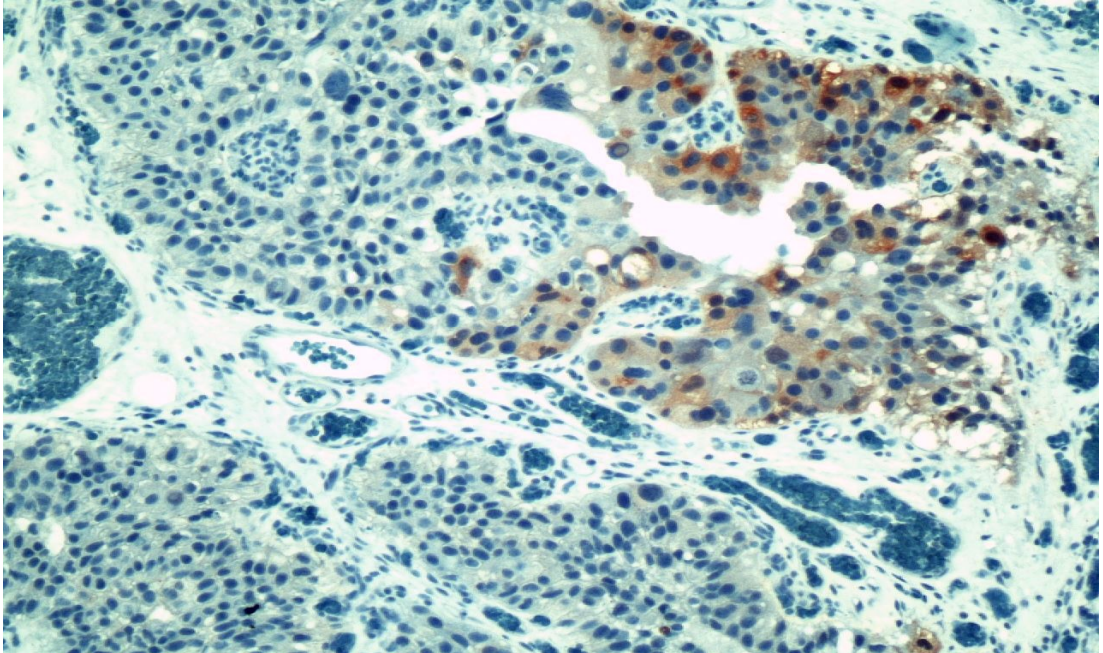
Resim 4.5. Grade 2 tümörde sitoplazmik maspin pozitifliği (%44 boyanma) (Biyopsi no: 4087/07) (x100).



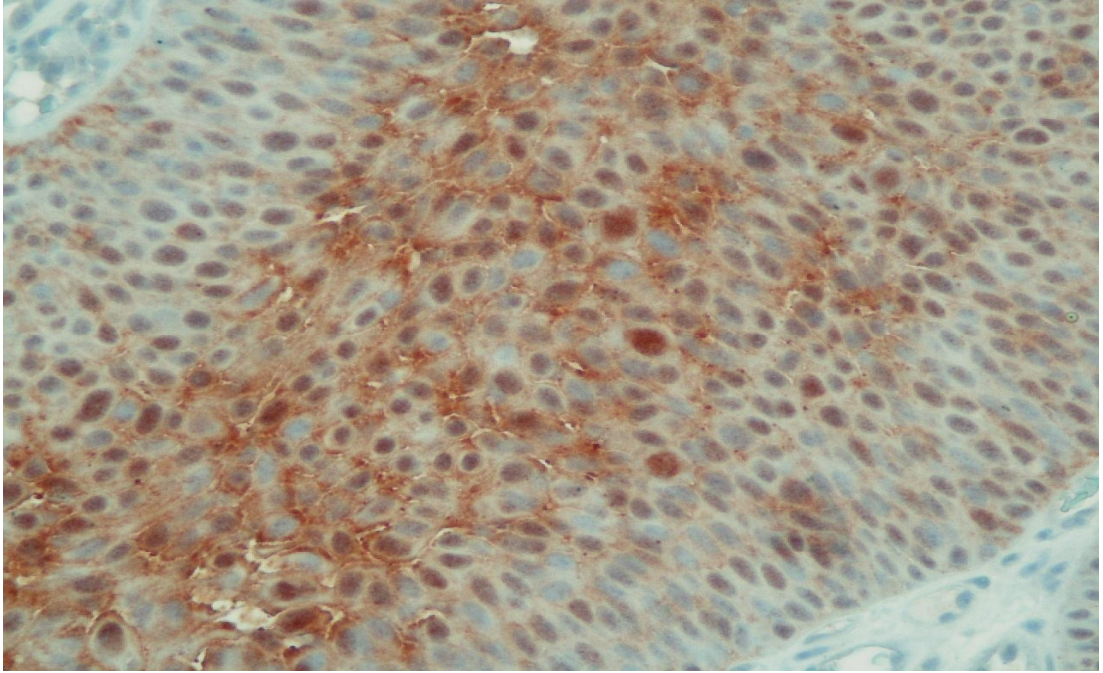
Resim 4.6. Grade 2 tümörde sitoplazmik maspin pozitifliği (%15 boyanma) (Biyopsi no: 5976/99) (x200)



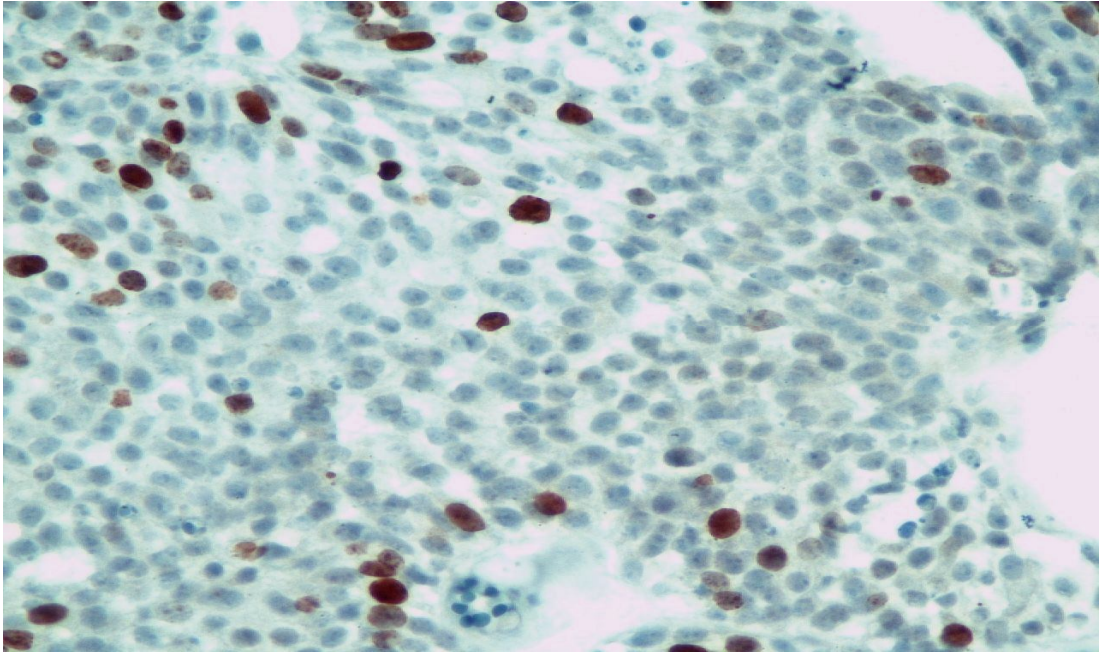
Resim 4.7. Grade 2 tümörde sitoplazmik maspin pozitifliği (%12 boyanma) (Biyopsi no: 7147/99) (x400)



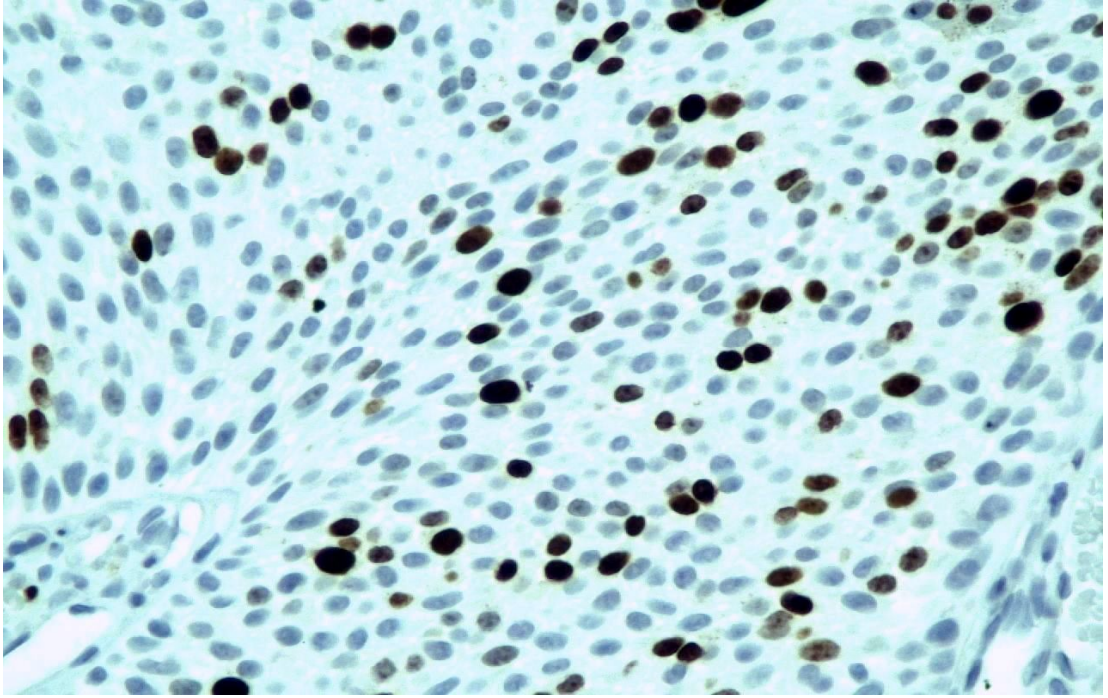
Resim 4.8. Grade 3 tümörde maspin ile seyrek sitoplazmik boyanma (%1 boyanma) (Biyopsi no: 9245/02) (x200)



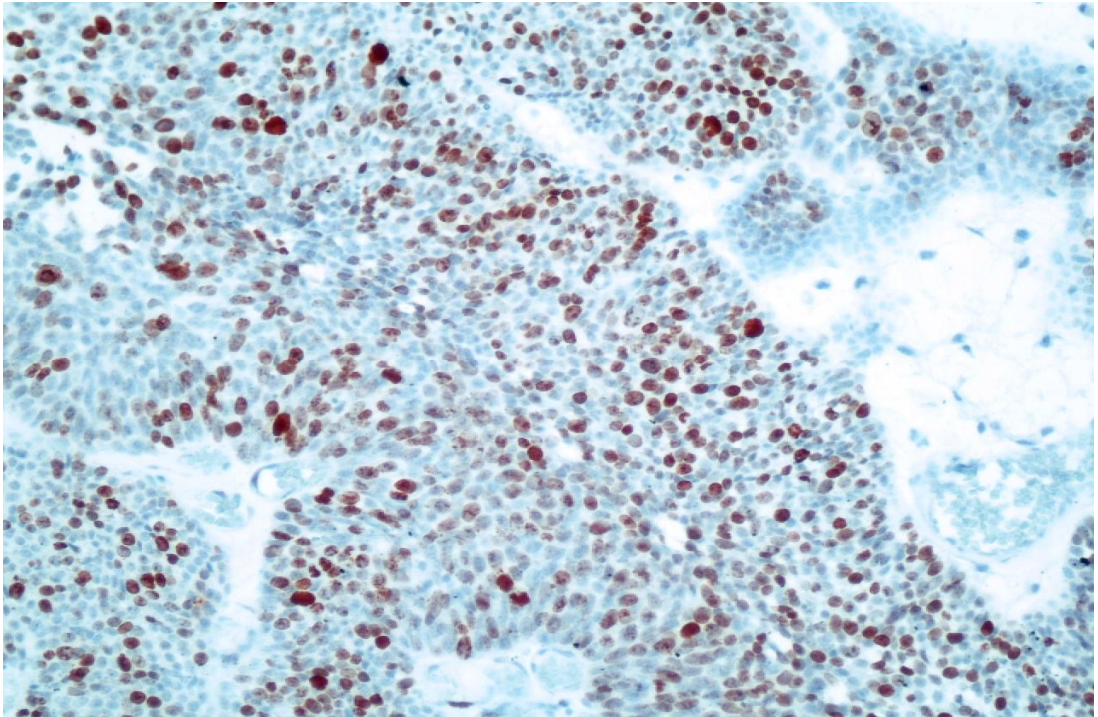
Resim 4.9. Grade 3 tümörde maspin ile sitoplazmik + nükleer boyanma (%22 boyanma) (Biyopsi no: 10431/04) (x400)



Resim 4.10. Grade 1 tümörde Ki-67 pozitifliği (<%10) (Biyopsi no:3811/99) (x400)



Resim 4.11. Grade 2 tümörde Ki-67 pozitifliği (>%10) (Biyopsi no: 6711/99) (x400)



Resim 4.12. Grade 3 tümörde Ki-67 pozitifliği (>%10) (Biyopsi no: 5845/98) (x200)

4.3. Maspin ve Ki-67 Ekspresyonunun Klinikopatolojik Parametrelerle İlişkisi

Maspin ve Ki-67 ekspresyonunun klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi Tablo 4.3 ve Tablo 4.4'de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Maspin ekspresyonunun klinikopatolojik parametreler ve Ki-67 ekspresyonu ile ilişkisi

Parametreler	n	Maspin ekspresyonu		P
		Negatif	Pozitif	
Yaş				0.57
<60	19	9	10	
≥60	47	17	30	
Tümör boyutu				0.64
<3cm	17	8	9	
≥3cm	49	18	31	
Tümör sayısı				0.92
Soliter	22	8	14	
Mülipl	44	18	26	
Grade				0.90
1	11	5	6	
2	29	11	18	
3	26	10	16	
Rekürrens				0.038
Yok	32	8	24	
Var	34	18	16	
Progresyon				0.049
Yok	58	20	38	
Var	8	6	2	
Tümör nedenli ölüm				0.10
Yok	59	21	38	
Var	7	5	2	
Ki-67 indeksi				0.37
≤%10	20	10	10	
>%10	46	16	30	

Değerlendirme sonuçlarına göre (Tablo 4.3) maspin ekspresyonu ile rekürrens ve progresyon sıklığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanırken ($p<0.05$), maspin ekspresyonu ile hasta yaşı, tümör boyutu, tümör sayısı, grade, tümör nedenli ölüm ve Ki-67 indeksi arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı ($p>0.05$). Negatif maspin ekspresyonu olan olgularda rekürrens ve progresyon sıklığının daha fazla olduğu saptandı ($p<0.05$).

Tablo 4.4. Ki-67 ekspresyonunun klinikopatolojik parametreler ve maspin ekspresyonu ile ilişkisi

Parametreler	n	Ki-67 ekspresyonu		P
		≤%10	>%10	
Yaş				0.66
<60	19	7	12	
≥60	47	13	34	
Tümör boyutu				0.008
<3cm	17	10	7	
≥3cm	49	10	39	
Tümör sayısı				0.63
Soliter	22	8	14	
Müktipl	44	12	32	
Grade				0.001
1	11	8	3	
2	29	12	17	
3	26	0	26	
Rekürrens				0.33
Yok	32	12	20	
Var	34	8	26	
Progresyon				0.41
Yok	58	19	39	
Var	8	1	7	
Tümör nedenli ölüm				0.66
Yok	59	19	40	
Var	7	1	6	
Maspin ekspresyonu				0.37
Negatif	26	10	16	
Pozitif	40	10	30	

Ki-67 ekspresyonunun klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi Tablo 4.4'te gösterilmiş olup, Ki-67 ekspresyonu ile tümör boyutu ve grade'in anlamlı bir pozitif ilişki gösterdiği saptandı ($p<0.05$). Ki-67 ekspresyonu ile hasta yaşı, tümör sayısı, rekürrens, progresyon, tümör nedenli ölüm ve maspin ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki görülmedi ($p>0.05$).

4.4. Maspin ve Ki-67 Ekspresyonu ile Prognoz Arasındaki İlişki

Olgularda klinikopatolojik parametreler (hasta yaşı, tümör boyutu, tümör sayısı, grade), maspin ekspresyonu ve Ki-67 indeksi ile rekürrens, progresyon ve tümör nedenli ölüm riski arasındaki ilişkiyi değerlendirmek üzere *Cox proportional hazard regression* modeli kullanıldı.

Tek değişkenli *Cox proportional hazard regression* analizinde (Tablo 4.5) değerlendirilen parametreler arasında sadece maspin ekspresyonunun rekürrens ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gösterdiği saptandı ($p<0.05$).

Tablo 4.5. Tek değişkenli *Cox proportional hazard regression* analizinde klinikopatolojik parametreler, maspin ve Ki-67 ekspresyonunun rekürrens ile ilişkisi

Klinikopatolojik parametre	Rekürrens		
	Hazard ratio	%95 CI	<i>P</i>
Yaş (≥ 60 vs. * < 60)	0.641	0.316-1.297	0.21
Tümör boyutu (≥ 3 cm vs. < 3 cm)	0.827	0.385-1.777	0.62
Tümör sayısı (multipl vs. soliter)	1.324	0.638-2.750	0.45
Grade (grade 2 vs. grade 1)	1.313	0.473-3.645	0.60
(grade 3 vs. grade 1)	1.463	0.525-4.078	0.46
(grade 3 vs. grade 2)	1.113	0.432-1.864	0.77
Maspin ekspresyonu (neg. vs. poz.)	2.046	1.042-4.015	0.038
Ki-67 indeksi ($> \% 10$ vs. $\leq \% 10$)	1.648	0.742-3.660	0.22

*vs. : versus

Çok değişkenli *Cox proportional hazard regression* (Backward Stepwise-Wald) analizinde maspin ekspresyonunun rekürrens açısından bağımsız bir öneme sahip olduğunu saptadık ($p<0.05$). Bu analizde maspin ekspresyonunun negatif olduğu hasta grubunda maspin pozitif gruba göre 2.046 kat daha fazla rekürrens riski bulunduğu gözlemlendi.

Tek değişkenli *Cox proportional hazard regression* analizinde (Tablo 4.6) değerlendirilen parametrelerle progresyon riski arasında istatistiksel olarak anlamlı

bir ilişkiye rastlanmadı. Benzer şekilde, çok değişkenli analizde de progresyon açısından anlamlı bir parametre saptanmadı. Maspin ekspresyonunun %5'in altında ve Ki-67 indeksinin %10'un üzerinde oluşu progresyon riskini sırasıyla 4.373 ve 3.988 kat artırmasına karşın bu iki parametre ile progresyon arasındaki ilişki istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı.

Tablo 4.6. Tek değişkenli *Cox proportional hazard regression* analizinde klinikopatolojik parametreler, maspin ve Ki-67 ekspresyonlarının progresyon ile ilişkisi

Klinikopatolojik parametre	Progresyon		
	Hazard ratio	%95 CI	P
Yaş (≥ 60 vs. * < 60)	**	**	0.22
Tümör boyutu (≥ 3 cm vs. < 3 cm)	2.883	0.350-23.721	0.32
Tümör sayısı (multipl vs. soliter)	2.035	0.402-10.305	0.39
Grade (grade 2 vs. grade 1)	1.769	0.197-15.857	0.61
(grade 3 vs. grade 1)	1.671	0.173-16.137	0.65
(grade 3 vs. grade 2)	0.944	0.237-4.742	0.94
Maspin ekspresyonu (neg. vs. poz.)	4.373	0.882-21.685	0.071
Ki-67 indeksi ($> \%10$ vs. $\leq \%10$)	3.988	0.487-32.695	0.19

*vs. : versus, ** : Yakınsama sağlanamadığından elde edilen değerler güvenilir değildir.

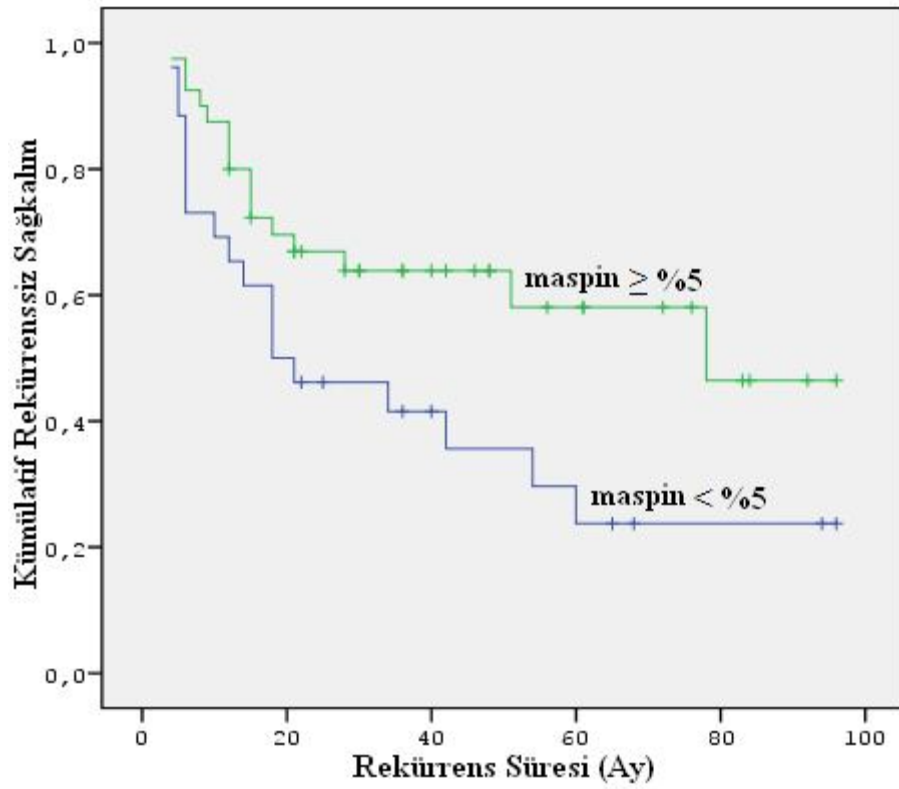
Tek değişkenli *Cox proportional hazard regression* analizinde (Tablo 4.7) değerlendirilen parametrelerle tümör nedenli ölüm riski arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı. Çok değişkenli analizde de parametrelerle tümör nedenli ölüm arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Tablo 4.7. Tek değişkenli *Cox proportional hazard regression* analizinde klinikopatolojik parametreler, maspin ve Ki-67 ekspresyonlarının tümör nedenli ölüm ile ilişkisi

Klinikopatolojik parametre	Tümör nedenli ölüm		
	Hazard ratio	%95 CI	<i>P</i>
Yaş (≥ 60 vs.* < 60)	**	**	0.25
Tümör boyutu (≥ 3 cm vs. < 3 cm)	2.837	0.335-24.035	0.33
Tümör sayısı (multipl vs. soliter)	1.923	0.360-10.288	0.44
Grade (grade 2 vs. grade 1)	**	**	0.95
(grade 3 vs. grade 1)	**	**	0.95
(grade 3 vs. grade 2)	**	**	0.98
Maspin ekspresyonu (neg. vs. \geq poz.)	3.378	0.655-17.436	0.14
Ki-67 indeksi ($> \% 10$ vs. $\leq \% 10$)	3.595	0.430-30.043	0.23

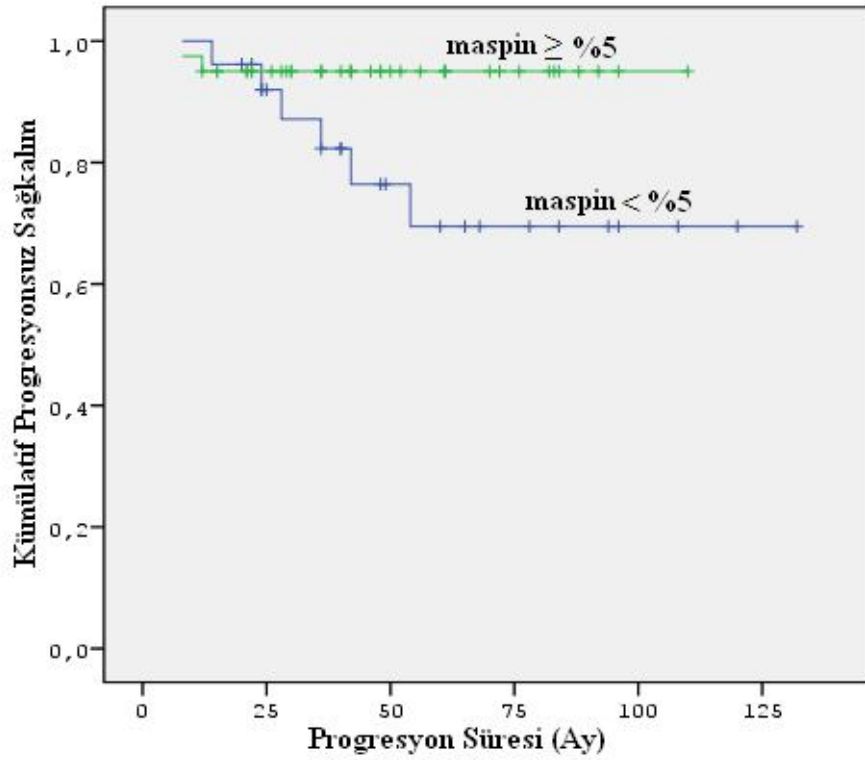
*vs. : versus, **: Yakınsama sağlanamadığından elde edilen değerler güvenilir değildir.

Kaplan-Meier metodu kullanılarak rekürrenssiz, progresyonsuz ve genel sağkalım eğrileri oluşturuldu, maspin ve Ki-67 ekspresyon gruplarına ait sağkalım sürelerinin farklılığı *log-rank* test aracılığıyla araştırıldı. Rekürrens açısından maspin negatif grup ile pozitif grup karşılaştırıldığında, maspin negatif grubun daha erken rekürrens gösterdiği saptandı ($p=0.030$, *log-rank* test) (Şekil 4.9). Ortalama rekürrens süresi maspin pozitif grupta 61.38 ± 6.568 ay iken, maspin negatif grupta 39.34 ± 7.315 ay olarak bulundu.



Şekil 4.1. Rekürrensiz sağkalım süresinin maspin ekspresyonu ile ilişkisi ($p=0.030$, log-rank test).

Progresyon açısından maspin negatif grup ile pozitif grup karşılaştırıldığında, maspin negatif grubun daha erken progresyon gösterdiği saptandı ($p=0.048$, log-rank test) (Şekil 4.10). Ortalama progresyon süresi maspin pozitif grupta 105.00 ± 3.447 ay iken, maspin negatif grupta 102.55 ± 10.243 ay olarak bulundu. Bu analizde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmış olmakla birlikte, progresyon gösteren olgu sayısının az olması (maspin pozitif grupta 2, maspin negatif grupta 6 olgu) nedeniyle test sonucunun güvenilirliği düşük olarak değerlendirildi.



Şekil 4.2. Progresyonsuz sağkalım süresinin maspin ekspresyonu ile ilişkisi ($p=0.048$, log-rank test).

Ortalama tümör nedenli ölüm süresi maspin pozitif grupta 105.07 ± 3.392 ay, maspin negatif grupta 106.13 ± 9.944 ay olarak bulundu. Bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı ($p=0.122$, log-rank test).

Ki-67 indeksi $\leq \%10$ ve $> \%10$ olanlar arasında rekürrens, progresyon ve tümör nedenli ölüm süreleri açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p>0.05$, log-rank test).

5.TARTIŞMA

Evre T1 mesane tümörlerinin yaklaşık %70'inin rekürrens gösterdiği, %25'inin 2 yıl içinde kas invaziv tümöre progrese olduğu bildirilmektedir (4,5). Tümör mültifokalitesi, tümör boyutu, intravezikal tedaviye yanıt, erken rekürrensin varlığı ve histolojik grade gibi parametrelerin evre T1 tümörlerde prognostik öneme sahip olabileceği düşünülmektedir. Son zamanlarda, DEHK'larda DNA ploidi, hücre proliferasyon belirleyicileri, büyüme faktörleri ve reseptörleri, çeşitli adezyon molekülleri, angiogenez uyarıcı ve baskılayıcı moleküller, onkogenler ve tümör süpresör genler gibi çeşitli faktörlerin prognostik önemini saptamak için çok sayıda araştırma yapılmaktadır.

Biz de bu çalışmada mesanenin primer evre T1 DEHK'larında maspin ve Ki-67 ekspresyonlarını araştırarak prognostik önemini ortaya koymayı amaçladık.

Maspin, serin proteaz inhibitör ailesinin tümör süpresör aktiviteye sahip bir üyesi olup, pro-apoptotik, anti-angiogenik ve anti-metastatik fonksiyonlara sahip olduğu gösterilmiştir. Değişik tümörlerde maspin ekspresyonunun prognostik önemini araştırıldığı çalışmalar mevcut olup, bu çalışmalarda birbiriyle çelişen sonuçlar elde edilmiştir.

Memedede duktal karsinoma in situ'dan invaziv karsinoma progresyonda ve ardından lenf nodu metastazı gelişiminde maspin ekspresyonunun kademeli olarak azaldığı saptanmıştır (119). Meme kanserlerinde maspin ekspresyon kaybının erken rekürrens ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Maspin ekspresyonunda *downregülasyonun* progresyon ve metastaz ile korelasyonu meme dokusu dışında prostat, kolon ve oral kanserler gibi çeşitli kanser tiplerinde de gösterilmiştir (10-12).

Aksine, Joensuu ve ark. (15) erken metastaz yapan meme kanserlerinde maspin ekspresyonunun anlamlı derecede arttığını ortaya koymuşlardır. Küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde de maspin *overekspresyonunun* tümör progresyonu ve kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (13). Benzer olarak, artmış maspin ekspresyonunun kötü prognozla ilişkisi pankreatik, gastrik ve ovaryan kanser gibi çeşitli kanserlerde de ortaya konmuştur (14,16,17). Bu bulgular, maspinin invaziv aktivite, motilite, tümör büyümesi ve metastazı inhibe eden tümör süpresör gen özelliğine ters görünmektedir.

Literatürde mesane tümörlerinde maspin ekspresyonunun incelendiği az sayıda çalışma bulunmaktadır (3,120-122). Bu çalışmalarda maspinin prognostik önemi konusunda farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Normal ürotelyal epitelde, Beecken ve ark. (121)'ları maspin ile bazal ve intermedier hücrelerde orta-kuvvetli derecede boyanma gözlemişler, şemsiye hücrelerinde boyanma izlenmemişlerdir. Buna karşılık, Blandamura ve ark. (122) normal ürotelyumun maspinle immünreaktivite göstermediğini veya bazal ve suprabazal tabakalarda zayıf sitoplazmik boyanma gösterdiğini bildirmişlerdir. Friedrich ve ark. (3) normal ürotelyumda maspinle negatif veya zayıf pozitif boyanma, Sugimoto ve ark. (120) ise negatif boyanma saptamışlardır.

Çalışmamızda Beecken ve ark. (121)'larının çalışmasına benzer şekilde normal ürotelyal epitelin bazal ve intermedier hücrelerinde orta-kuvvetli boyanma gördük. Şemsiye hücrelerinde boyanma izlemedik.

Çalışmamızda evre T1 mesane DEHK'ü olan 66 olguda maspin ve Ki-67 ekspresyonlarını ve bunların rekürrens, progresyon ve tümör nedenli ölüm ile ilişkisini araştırdık. Maspin ekspresyonu çalışma grubumuzdaki olguların 26'sında negatif, 40'ında ise pozitif olarak bulundu. Maspin ekspresyonu ile rekürrens ve progresyon sıklığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı ($p<0.05$). Maspin ekspresyonu negatif olan olgularda rekürrens ve progresyon sıklığının daha fazla olduğu görüldü. Maspin ekspresyonu ile tümör nedenli ölüm arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı ($p>0.05$).

Çok değişkenli *Cox proportional hazard regression* analizinde sadece maspin ekspresyonunun rekürrens riski açısından bağımsız bir öneme sahip olduğu ($p<0.05$) ve maspin ekspresyonunun negatif olduğu hasta grubunda, pozitif gruba göre 2.046 kat daha fazla rekürrens riski bulunduğu gözlemlendi. Tek ve çok değişkenli analizlerde maspin ekspresyonu ile progresyon ve tümör nedenli ölüm riski arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>0.05$)

Maspin ekspresyon gruplarına ait sağkalım sürelerinin farklılığı *log-rank* test aracılığıyla araştırıldığında, maspin negatif olgularda daha erken rekürrens geliştiği saptandı ($p=0.030$). Benzer şekilde, maspin negatif grup ile pozitif grup karşılaştırıldığında, maspin negatif grubun daha kısa sürede progresyon gösterdiği saptandı ($p=0.048$). Ancak, bu analizde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı

fark saptanmış olmakla birlikte, progresyon gösteren olgu sayısının az olması nedeniyle test sonucunun güvenilirliği düşük olarak değerlendirildi. Maspin ekspresyon grupları arasında tümör nedeni ölüm süreleri açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0.122$).

Bulgularımız evre T1 mesane tümörlerinde maspin ekspresyon kaybının daha agresif davranış ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Beecken ve ark. (121) DEHK tanısı olan 51 olguyu (evre Ta-T4) içeren serilerinde invaziv tümöre sahip hasta grubunda, tümör progresyonu nedeniyle ölen hastalarda azalmış maspin ekspresyonu, rekürrens bulgusu olmadan yaşayan hastalarda artmış maspin ekspresyonu gözlemişler ve bu hastalar arasında ortalama maspin boyanma derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulmuşlardır ($p<0.001$). Ancak bu çalışmada rekürrens gösteren Ta tümörlerle rekürrens göstermeyen Ta tümörler arasında maspin boyanma derecesi açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Araştırmacılar mesane invaziv DEHK'larında maspin kaybının kötü prognozu işaret edebileceği sonucuna varmışlardır.

Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular, Beecken ve ark. (121)'lerinin ortaya koyduğu bulgularla uyumluluk göstermektedir.

Blandamura ve ark. (122) DEHK tanısı olan 66 olguyu (evre Ta ve T1) içeren serilerinde maspin immünreaktivitesini maspin pozitif hücre yüzdesi ve boyanma paterni olarak iki farklı şekilde değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar normal ürotelyumun boyanma paternini esas alarak olguları 4 grupta (negatif boyanma, normal-benzeri patern, epitelin tüm katlarında kuvvetli boyanma, epitelin derin kısımlarında kuvvetli boyanma) sınıflandırmışlardır. Bu değerlendirmedeki en çarpıcı bulgular negatif boyanma ve normal benzeri paternlerin DMPPÜN'lerin, düşük grade'li papiller karsinomların ve evre Ta tümörlerin çoğunda görülmesi, buna karşın diğer iki paternin (kuvvetli boyanma) daha çok yüksek grade'li papiller karsinomlar ve evre T1 tümörlerde gözlenmesidir. Çalışmada maspin paterni ile evre ve histolojik grade arasında istatistiksel ilişki bulunduğu ortaya konmuştur ($p<0.001$). Bu çalışmada maspin pozitif hücre yüzdesinin esas alındığı değerlendirmede azalmış maspin ekspresyonunun ($<60\%$), erken rekürrens ve hastalık progresyonu ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Araştırmacılar maspinin DEHK'ların davranışlarının tahmininde yararlı bir belirleyici olabileceği sonucuna

varmışlardır.

Çalışmamızda maspin boyanma paterni değil, maspin pozitif hücre yüzdesi değerlendirilmiş olup, sonuçlarımız Blandamura ve ark. (122)'lerinin maspin pozitif hücre yüzdesini esas aldığı değerlendirmenin sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir.

Friedrich ve ark. (106) kas invaziv olmayan 110 mesane kanseri örneğinde (evre Ta ve T1) maspin ekspresyonunun prognozla korelasyonunu araştırmışlardır. Bu çalışmada azalmış maspin ekspresyonu (negatif veya $<5\%$) gösteren tümöre sahip olgularda kuvvetli maspin ekspresyonu ($\geq 5\%$) gösterenlere göre daha kısa hastaliksız interval (sırasıyla 23 ay ve 29 ay) gözlenmiş olmakla birlikte, istatistiksel analiz hastalar arasında anlamlı düzeyde hastaliksız sağkalım farklılığı ortaya koymamıştır.

Friedrich ve ark. (3)'lerinin çalışması ile aynı *cut-off* değerini kullandığımız çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar bu çalışmayla benzerlik göstermekte olup, farkı istatistiksel anlamlılığa ulaşmasıdır.

Çalışmamızda sadece evre T1 tümörlerin yer almasının bu farklılıkta etken olmuş olabileceğini düşünmekteyiz.

Sugimoto ve ark. (120) 22'sine TUR (evre Ta-T2), 43'üne radikal sistektomi (evre Ta-T4) uygulanmış 65 olguya ait mesane kanser örneğinde maspin ekspresyonunu araştırmışlardır. Bu çalışmada radikal sistektomi uygulanmış olgularda kas invaziv kanser gelişimi ile maspin ekspresyonunun anlamlı derecede arttığı saptanmıştır. Araştırmacılar sonuçlarının maspinin tümör süpresif özelliği ile uyumsuzluk gösterdiğini, ancak mesane kanserlerinde maspinin moleküler ve biyolojik mekanizmalarının henüz bilinmediğini vurgulamışlardır.

Sonuçlarımız, Sugimoto ve ark. (120)'lerinin ortaya koyduğu sonuçlarla uyumsuz görünmektedir. Ancak Sugimoto ve ark. (120)'lerinin bulguları mesane tümörlerinde maspin ekspresyonunun araştırıldığı diğer çalışmaların bulguları ile de uyumsuzluk göstermektedir.

Çalışmamızda ayrıca maspin ekspresyonu ile hasta yaşı, tümör boyutu, tümör sayısı, tümör grade'i ve Ki-67 indeksi arasındaki ilişki de araştırılmış olup, anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı ($P>0.05$).

Literatürde maspin ekspresyonu ile hasta yaşının araştırıldığı iki çalışma mevcut olup, bu çalışmalarda da maspin ekspresyonu ve hasta yaşı arasında anlamlı

bir ilişki saptanmamıştır (120,122). Ayrıca bu çalışmalardan birinde maspin ekspresyonu, tümör sayısı ile de karşılaştırılmış olup, anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir (120).

Sonuçlarımız, maspin ekspresyonu ile hasta yaşı ve tümör sayısının araştırıldığı bu çalışmaların sonuçları ile uyumluluk göstermektedir.

Sugimoto ve ark. (120) maspin ekspresyonu ile tümör grade'i arasında anlamlı bir ilişki gözlememişlerdir.

Blandamura ve ark. (122) maspin pozitif hücre yüzdesi ve maspin boyanma paternini değerlendirdikleri çalışmalarında maspin boyanma paterni ve tümör grade'i arasında anlamlı bir ilişki saptamışlardır. Negatif boyanma ve normal benzeri paternleri düşük grade'li tümörlerde, kuvvetli boyanmayı yüksek grade'li tümörlerde gözlemlemişlerdir.

Maspin pozitif hücre yüzdesini değerlendirdiğimiz çalışmamızda sonuçlarımız maspin ekspresyonu ve tümör grade'i açısından Sugimoto ve ark. (120) ile uyumluluk göstermektedir.

Blandamura ve ark. (122)'nin çalışmasında maspin pozitif hücre yüzdesi yerine maspin boyanma paterninin esas alınmış olması sonuçlarımızın uyumlu olmamasına neden olmuş olabilir.

Literatürde mesane tümörlerinde maspin ve Ki-67'nin birlikte incelendiği tek çalışma mevcut olup, bu çalışmada maspin ile Ki-67 ekspresyonları arasındaki ilişki araştırılmamıştır (122).

Ki-67 hücre siklusunun, G₀ fazı hariç, tüm fazlarında eksprese olan bir nükleer proteindir. İmmünohistokimyasal olarak belirlenen Ki-67 antijen ekspresyonunun çeşitli tiplerdeki karsinomlarda tümör büyümesi ile korelasyon gösterdiği bilinmektedir.

Çok sayıdaki çalışma Ki-67'nin mesane kanser rekürrensi ve progresyonu için bağımsız prognostik belirleyici olduğunu göstermektedir.

Rodriguez-Alonso ve ark. (18) evre T1 ve T2a DEHK'u olan 210 hastalık serilerinde Ki-67 indeksinin rekürrenssiz ve progresyonsuz sağkalım açısından bağımsız prognostik öneme sahip olduğunu ortaya koymuşlardır.

Gontero ve ark. (19) primer evre Ta-T1/grade 1-2 DEHK'u olan hastalarda Ki-67 indeksinin rekürrens için bağımsız prognostik faktör olduğunu bildirmişlerdir.

Shariat ve ark. (20) radikal sistektomi ve bilateral pelvik lenfadenektomi ile tedavi edilen evre T1 mesane DEHK'larında Ki-67'nin rekürrens ve hastalık spesifik mortalite ile bağımsız ilişki gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

Margulis ve ark. (21) radikal sistektomi ve bilateral lenfadenektomi ile tedavi edilen mesane kanserli 713 olguyu içeren geniş serilerinde yüksek Ki-67 indeksinin hastalık rekürrensi ve kanser spesifik sağkalımla bağımsız bir ilişkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Quintero ve ark. (22) evre Ta/T1 mesane tümörlü hastalarda Ki-67 indeksinin hastaliksız, progresyonsuz ve kanser spesifik genel sağkalım için bağımsız bir belirleyici olduğunu göstermişlerdir.

Buna karşın, Rodriguez-Alonso ve ark. (5) evre T1 DEHK'larda Ki-67'nin genel sağkalım açısından bağımsız prognostik öneme sahip olmadığını göstermişlerdir.

Krüger ve ark. (23) evre T1 tümörlerde Ki-67 indeksinin tümör rekürrensi ve progresyonu açısından bağımsız prognostik belirleyici olmadığını ortaya koymuşlardır.

Pfister ve ark. (123) yüzeysel mesane tümörü olan 244 olguyu içeren serilerinde Ki-67'nin rekürrens riskini belirlemede anlamlı bir prognostik belirleyici olmadığını saptamışlardır.

Burger ve ark. (24) evre Ta/T1 mesane tümörlerinde, çok değişkenli analizde Ki-67'nin rekürrens için bağımsız bir öneme sahip olmadığını bildirmişlerdir.

Mhaweck ve ark. (24) evre T1a ve T1b mesane tümörlerinde Ki-67'nin tümör progresyon riskinin belirlenmesinde rolü olmadığını ortaya koymuşlardır.

Genel görüş Ki-67 ekspresyonunun yüzeysel mesane kanserlerinde rekürrens ve progresyon açısından ümit verici bir belirleyici olduğu yönündedir.

Bizim çalışmamızda Ki-67 indeksi ile tümör rekürrensi, progresyonu ve tümör nedeni ölüm arasında anlamlı bir korelasyona rastlanmadı ($p>0.05$).

Sonuçlarımız yüzeysel mesane tümörlerinde Ki-67 indeksinin iyi bir prognostik belirleyici olduğu görüşüne ters görünmekle birlikte, yapılan çalışmalardan büyük bir kısmında, çalışmamızdan farklı olarak, evre T1 tümörler ile evre Ta tümörlerin birarada çalışmaya dahil edildikleri görülmektedir. Sadece evre T1 mesane tümörlerinin dahil edildiği çalışmaların çoğunda (5,23,24) Ki-67'nin

tümör rekürrensi, progresyonu ve genel sağkalım açısından bağımsız prognostik belirleyici olmadığı ortaya konmuştur.

Özellikle progresyon riskinin daha yüksek olduğu evre T1 tümörlerin, evre Ta tümörlerden ayrı olarak inceleneceği geniş serilerle Ki-67'nin prognostik değerinin daha net olarak ortaya konabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda ayrıca Ki-67 indeksi ile hasta yaşı, tümör boyutu, tümör sayısı, tümör grade'i arasındaki ilişkiyi de araştırdık.

Çalışmamızda Ki-67 indeksi ile tümör boyutu arasında anlamlı bir ilişki saptandı ($P<0.05$). Tümör boyutunun 3cm ve daha büyük olduğu olgularda Ki-67 indeksi %10'dan fazlaydı.

Quintero ve ark. (22) yüzeysel mesane tümörlerinde Ki-67 indeksi ile tümör boyutu arasında anlamlı bir ilişki saptamışlardır.

Pfister ve ark. (123)'ları da büyük boyutlu tümörlerde küçük olanlara göre Ki-67 indeksinin yüksek olduğunu, ancak farklılığın istatistiksel anlamlılığa ulaşmadığını bildirmişlerdir.

Sonuçlarımız Ki-67 indeksi ve tümör boyutu açısından Quintero ve ark. (22)'nin sonuçları ile uyumluluk göstermektedir.

Çalışmamızda Ki-67 indeksi ve tümör grade'i arasında anlamlı bir ilişki saptandı ($p<0.05$). Yüksek grade'li tümörlerde, düşük grade'li tümörlere göre Ki-67 indeksi yüksekti.

Yüzeysel mesane tümörlerinde Ki-67 ekspresyonunun araştırıldığı çok sayıdaki çalışmada, çalışmamızda olduğu gibi Ki-67 ekspresyonu ile tümör grade'i arasında anlamlı ilişki saptandığı bildirilmiştir (5,123,125,126).

Ki-67 indeksi ve tümör grade'i arasında ortaya koyduğumuz ilişki literatür ile uyumluluk göstermektedir.

Çalışmamızda Ki-67 indeksi ile hasta yaşı ve tümör sayısı arasında anlamlı bir korelasyona rastlanmadı ($p>0.05$).

Quintero ve ark. (22) ile Pfister ve ark. (123)'larının çalışmalarında da yüzeysel mesane tümörlerinde Ki-67 ekspresyonu ile hasta yaşı arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır.

Pfister ve ark. (123) ile Santos ve ark. (126) yüzeysel mesane tümörlerinde Ki-67 ekspresyonu ile tümör sayısı arasında anlamlı bir korelasyon olmadığını

bildirmişlerdir.

Sonuçlarımız, Ki-67 indeksi ile hasta yaşı ve tümör sayısı arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalarla uyumludur.

Sonuç olarak, bulgularımız evre T1 mesane tümörlerinde Ki-67'nin tümör davranışı açısından anlamlı bir belirleyici olmadığını düşündürmektedir. Sadece evre T1 tümörlerin dahil edildiği geniş serilerle Ki-67'nin prognostik değerinin daha net olarak ortaya konulabileceği aşikardır.

Bulgularımız evre T1 mesane tümörlerinde maspin ekspresyonunun değerlendirilmesinin tümörün davranışının tahmininde yararlı bir prognostik belirleyici olabileceğini düşündürmektedir. Çeşitli çalışmalarda maspinin mesane tümörlerindeki rolü konusunda birbiriyle çelişen sonuçların elde edilmesi farklı sayım ve kategorilendirme yöntemlerinin kullanılmış olmasından kaynaklanabilir.

Standardize edilmiş metodlarla ve özellikle sabit bir *cut-off* değerle yapılacak geniş serilere dayanan çalışmalarla maspinin mesane kanserlerindeki rolünün daha net anlaşılabilmesi kanaatindeyiz.

6.SONUÇLAR

1. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 1996-2007 yılları arasında “primer, evre T1 değişici epitel hücreli karsinom” tanısı alan toplam 66 olgu çalışmaya dahil edildi.
2. Çalışmaya dahil edilen 66 olgudan 65'i erkek, 1'i kadın olup, tanı anındaki yaşları 35-85 (ortalama 63.41±10.897) arasında değişmekteydi.
3. Olguların takip süresi 12-132 ay (ortalama 51.55±28.817 ay) idi.
4. Tüm olgular T1 evresinde olup, DSÖ 1973 Klasifikasyon Sistemine'e göre 11'i (%16.7) grade 1, 29'u (%43.9) grade 2, 26'sı (%39.4) grade 3 özellik göstermekteydi.
5. Tümör boyutu olguların 17'sinde (%25.8) <3 cm, 49'unda (%74.2) ≥3 cm olup, tümör sayısı olguların 22'sinde (%33.3) tek, 44'ünde (%66.7) birden fazla idi.
6. Olguların 34'ünde (%51.5) rekürrens gelişmiş olup, ilk tanıdan itibaren rekürrense dek geçen süre 4-96 ay (ortalama 34.11±26.995 ay) arasında değişmekteydi.
7. Olguların 8'inde (%12.1) ilk tanıdan 8-132 ay (ortalama 50.48±29.384 ay) sonra progresyon geliştiği saptandı.
8. Tümör nedeni ölüm olguların 7'sinde (%10.6) görülmüş olup, ilk tanıdan itibaren ölüme dek geçen süre 12-132 ay (ortalama 51.55±28.817 ay) arasında değişmekteydi.
9. Maspin ile olguların 54'ünde boyanma gözlenirken, 12 olguda boyanma görülmedi. Maspin ile boyanma gösteren hücre yüzdesi 1-90 arasında değişmekteydi. Boyanma olguların 40'ında sitoplazmik, 14'ünde sitoplazmik+nükleer olarak izlendi. Maspin ekspresyonu sınıflandırıldığında, olgulardan 26'sı negatif, 40'ı pozitif olarak değerlendirildi.
10. Ki-67 ile tüm olgularda %1-90 arasında değişen oranlarda boyanma görüldü. Ki-67 indeksi olgulardan 20'sinde ≤%10, 46'sında >%10 idi.
11. Olgulardan 10'unda tümör dışı alanlarda izlenen normal ürotelyal epiteldeki maspin ekspresyonu da değerlendirilmiş olup, epitelde bazal ve intermedier hücrelerde orta-kuvvetli derecede boyanma görüldü. Maspin ekspresyonu ile rekürrens ve progresyon sıklığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki

saptanırken ($p<0.05$), maspin ekspresyonu ile hasta yaşı, tümör boyutu, tümör sayısı, grade, tümör nedenli ölüm ve Ki-67 indeksi arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı ($p>0.05$). Negatif maspin ekspresyonuna sahip olan olgularda rekürrens ve progresyon sıklığının daha fazla olduğu saptandı.

12. Ki-67 ekspresyonu ile tümör boyutu ve grade'in anlamlı bir pozitif ilişki gösterdiği saptandı ($p<0.05$). Buna karşılık, Ki-67 ekspresyonu ile hasta yaşı, tümör sayısı, rekürrens, progresyon, tümör nedenli ölüm ve maspin ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki görülmedi ($p>0.05$).
13. Tek değişkenli *Cox proportional hazard regression* analizinde, değerlendirilen parametreler arasında sadece maspin ekspresyonunun rekürrens ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gösterdiği saptandı ($p<0.05$).
14. Çok değişkenli *Cox proportional hazard regression* (Backward Stepwise-Wald) analizinde maspin ekspresyonunun rekürrens açısından bağımsız bir öneme sahip olduğu bulundu ($p<0.05$). Bu analizde maspin ekspresyonunun negatif olduğu hasta grubunda maspin pozitif gruba göre 2.046 kat daha fazla rekürrens riski bulunduğu gözlemlendi.
15. Tek değişkenli *Cox proportional hazard regression* analizinde, değerlendirilen parametrelerle progresyon riski arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı ($p>0.05$). Benzer şekilde, çok değişkenli analizde de progresyon açısından anlamlı bir parametre saptanmadı ($p>0.05$).
16. Tek değişkenli *Cox proportional hazard regression* analizinde, değerlendirilen parametrelerle tümör nedenli ölüm riski arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı ($p>0.05$). Çok değişkenli analizde de parametrelerle tümör nedenli ölüm arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>0.05$).
17. Kaplan-Meier metodu kullanılarak rekürrens, progresyon ve tümör nedenli ölüm sürelerine ait eğriler oluşturuldu. Maspin ve Ki-67 ekspresyonlarına ait sağkalım sürelerinin farklılığı *log-rank* test aracılığıyla araştırıldı. Maspin negatif grup ile pozitif grup karşılaştırıldığında, maspin negatif grubun daha erken rekürrens gösterdiği saptandı ($p=0.030$, *log-rank* test). Ortalama rekürrens süresi maspin pozitif grupta 61.38 ± 6.568 ay iken, maspin negatif grupta 39.34 ± 7.315 ay olarak bulundu.

18. Maspin negatif grup ile pozitif grup karşılaştırıldığında, maspin negatif grubun daha erken progresyon gösterdiği saptandı ($p=0.048$, log-rank test). Ortalama progresyon süresi maspin pozitif grupta 105.00 ± 3.447 ay iken, maspin negatif grupta 102.55 ± 10.243 ay olarak bulundu. Bu analizde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmış olmakla birlikte, progresyon gösteren olgu sayısının az olması (maspin pozitif grupta 2, maspin negatif grupta 6 olgu) nedeniyle test sonucunun güvenilirliği düşük olarak değerlendirildi.
19. Ortalama tümör nedenli ölüm süresi maspin pozitif grupta 105.07 ± 3.392 ay, maspin negatif grupta 106.13 ± 9.944 ay olarak bulundu. Bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı ($p= 0.122$, log-rank test).
20. Ki-67 indeksi $\leq 10\%$ ve $>10\%$ olanlar arasında rekürrens, progresyon ve tümör nedenli ölüm süreleri açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p>0.05$, log-rank test).
21. Bulgularımız evre T1 mesane tümörlerinde Ki-67 indeksinin rekürrens, progresyon ve tümör nedenli ölüm açısından anlamlı bir prognostik belirleyici olmadığını düşündürmektedir. Sadece evre T1 tümörleri içeren geniş serilere dayanan çalışmalarla Ki-67'nin prognostik değerinin daha net olarak ortaya konulabileceği kanaatindeyiz.
22. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular maspin ekspresyonunun, evre T1 mesane tümörlerinde tümörün davranışını tahmin etmede yararlı olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde farklı sayım ve kategorilendirme yöntemleri kullanılmış olup, bu durum maspinin mesane tümörlerindeki rolü konusunda birbiriyle çelişen sonuçların elde edilmiş olmasının nedeni olabilir. Standardize edilmiş metodlarla ve özellikle sabit bir *cut-off* değerle yapılacak geniş serilere dayanan çalışmalarla maspinin mesane kanserlerindeki rolünün daha net anlaşılabilmesi kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Reuter VE, Melamed MR. The urothelial tract: Renal pelvis, ureter, urinary bladder, and urethra. In: Sternberg SS, editor. Diagnostic surgical pathology. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999. p.1853-1891.
2. Herr HW. Tumor progression and survival of patients with high grade, noninvasive papillary (TaG3) bladder tumors: 15-year outcome. *J Urol* 2000; 163: 60-2.
3. Friedrich MG, Toma MI, Petri S, Cheng JC, Hammerer P, Erbersdobler A, Huland H. Expression of Maspin in non-muscle invasive bladder carcinoma: correlation with tumor angiogenesis and prognosis. *Eur Urol* 2004; 45: 737-43.
4. Stein JP, Grossfeld GD, Ginsberg DA, Esrig D, Freeman JA, Figueroa AJ, Skinner DG, Cote RJ. Prognostic markers in bladder cancer: a contemporary review of the literature. *J Urol* 1998; 160: 645-59.
5. Rodríguez-Alonso A, Pita-Fernández S, González-Carreró J, Nogueira-March JL. p53 and ki67 expression as prognostic factors for cancer-related survival in stage T1 transitional cell bladder carcinoma. *Eur Urol* 2002; 41: 182-8.
6. Bailey CM, Khalkhali-Ellis Z, Seftor EA, Hendrix MJ. Biological functions of maspin. *J Cell Physiol*. 2006; 209: 617-24.
7. Zou Z, Anisowicz A, Hendrix MJ, Thor A, Neveu M, Sheng S, Rafidi K, Seftor E, Sager R. Maspin, a serpin with tumor-suppressing activity in human mammary epithelial cells. *Science* 1994; 263: 526-9.
8. Sheng S, Carey J, Seftor EA, Dias L, Hendrix MJ, Sager R. Maspin acts at the cell membrane to inhibit invasion and motility of mammary and prostatic cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 11669-74.
9. Zhang M, Volpert O, Shi YH, Bouck N. Maspin is an angiogenesis inhibitor. *Nat Med* 2000; 6: 196-9.
10. Zou Z, Zhang W, Young D, Gleave MG, Rennie P, Connell T, Connelly R, Moul J, Srivastava S, Sesterhenn I. Maspin expression profile in human prostate cancer

(CaP) and in vitro induction of Maspin expression by androgen ablation. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1172-7.

11. Song SY, Lee SK, Kim DH, Son HJ, Kim HJ, Lim YJ, Lee WY, Chun HK, Rhee JC. Expression of maspin in colon cancers: its relationship with p53 expression and microvessel density. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 1831-5.

12. Xia W, Lau YK, Hu MC, Li L, Johnston DA, Sheng S, El-Naggar A, Hung MC. High tumoral maspin expression is associated with improved survival of patients with oral squamous cell carcinoma. *Oncogene* 2000; 19: 2398-403.

13. Hirai K, Koizumi K, Haraguchi S, Hirata T, Mikami I, Fukushima M, Yamagishi S, Kawashima T, Okada D, Shimizu K, Kawamoto M. Prognostic significance of the tumor suppressor gene maspin in non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2005; 79: 248-53.

14. Sood AK, Fletcher MS, Gruman LM, Coffin JE, Jabbari S, Khalkhali-Ellis Z, Arbour N, Seftor EA, Hendrix MJ. The paradoxical expression of maspin in ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 2924-32.

15. Joensuu KM, Leidenius MH, Andersson LC, Heikkilä PS. High expression of maspin is associated with early tumor relapse in breast cancer. *Hum Pathol* 2009; 40: 1143-51.

16. Maass N, Hojo T, Ueding M, Lüttges J, Klöppel G, Jonat W, Nagasaki K. Expression of the tumor suppressor gene Maspin in human pancreatic cancers. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 812-7.

17. Son HJ, Sohn TS, Song SY, Lee JH, Rhee JC. Maspin expression in human gastric adenocarcinoma. *Pathol Int* 2002; 52: 508-13.

18. Rodríguez-Alonso A, Pita-Fernández S, González-Carrero J, Nogueira-March JL. Multivariate analysis of survival, recurrence, progression and development of metastasis in T1 and T2a transitional cell bladder carcinoma. *Cancer* 2002; 94: 1677-84.

19. Gontero P, Casetta G, Zitella A, Ballario R, Pacchioni D, Magnani C, Muir GH, Tizzani A. Evaluation of P53 protein overexpression, Ki67 proliferative activity and

mitotic index as markers of tumour recurrence in superficial transitional cell carcinoma of the bladder. *Eur Urol* 2000; 38: 287-96.

20. Shariat SF, Bolenz C, Godoy G, Fradet Y, Ashfaq R, Karakiewicz PI, Isbarn H, Jeldres C, Rigaud J, Sagalowsky AI, Lotan Y. Predictive value of combined immunohistochemical markers in patients with pT1 urothelial carcinoma at radical cystectomy. *J Urol* 2009; 182: 78-84.

21. Margulis V, Lotan Y, Karakiewicz PI, Fradet Y, Ashfaq R, Capitanio U, Montorsi F, Bastian PJ, Nielsen ME, Müller SC, Rigaud J, Heukamp LC, Netto G, Lerner SP, Sagalowsky AI, Shariat SF. Multi-institutional validation of the predictive value of Ki-67 labeling index in patients with urinary bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101: 114-9.

22. Quintero A, Alvarez-Kindelan J, Luque RJ, Gonzalez-Campora R, Requena MJ, Montironi R, Lopez-Beltran A. Ki-67 MIB1 labelling index and the prognosis of primary TaT1 urothelial cell carcinoma of the bladder. *J Clin Pathol* 2006; 59: 83-8.

23. Krüger S, Mahnken A, Kausch I, Feller AC. P16 immunoreactivity is an independent predictor of tumor progression in minimally invasive urothelial bladder carcinoma. *Eur Urol* 2005; 47: 463-7.

24. Mhaweche P, Greloz V, Oppikofer C, Szalay-Quinodoz I, Herrmann F. Expression of cell cycle proteins in T1a and T1b urothelial bladder carcinoma and their value in predicting tumor progression. *Cancer* 2004; 100: 2367-75.

25. Cheng L, Lopez-Beltran A, MacLennan GT, Montironi R, Bostwick DG. Neoplasms of the urinary bladder. In: Bostwick DG, Cheng L, editors. *Urologic surgical pathology*. 2nd ed. China: Mosby Elsevier, 2008. p.259-352.

26. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA. *World Health Organization classification of tumours: Pathology and genetics of tumours of the urinary system and male genital organs*. Lyon: IARC Press; 2004.

27. Lopez-Beltran A. Bladder cancer: Clinical and pathological profile. *Scand J Urol Nephrol* 2008; 42 (Suppl 218): 95-109.

28. Ordonez NG, Rosai J. Urinary tract: Kidney, renal pelvis, ureter, bladder. In: Rosai J, editor. *Rosai and Ackerman's surgical pathology*. 9th ed. Edinburgh: Mosby Elsevier, 2004. p.1163-1359.
29. Zeegers MP, Kellen E, Buntinx F, van den Brandt PA. The association between smoking, beverage consumption, diet and bladder cancer: a systematic literature review. *World J Urol* 2004; 21: 392-401.
30. Johansson SL, Cohen SM. Lower urinary tract. In: Damjanov I, Linder J, editors. *Anderson's Pathology*. 10th ed. St. Louis: Mosby, 1996. p.2143-2165.
31. Mohseni M, Zand S, Aghamir S. Effect of smoking on prognostic factors of transitional cell carcinoma of the bladder. *Urol J* 2004; 1: 250-2.
32. Kirkali Z, Chan T, Manoharan M, Algaba F, Busch C, Cheng L, Kiemeny L, Kriegmair M, Montironi R, Murphy WM, Sesterhenn IA, Tachibana M, Weider J. Bladder cancer: epidemiology, staging and grading, and diagnosis. *Urology* 2005; 66: 4-34.
33. Lomax-Smith JD, Seymour AE. Neoplasia in analgesic nephropathy: a urothelial field change. *Am J Surg Pathol* 1980; 4: 565-72.
34. National Bladder Cancer Collaborative Group A. Development of a strategy for a longitudinal study of patients with bladder cancer. *Cancer Res* 1977; 37: 2898-906.
35. Stephenson WT, Holmes FF, Noble MJ, Gerald KB. Analysis of bladder carcinoma by subsite. Cystoscopic location may have prognostic value. *Cancer* 1990; 66: 1630-5.
36. Li M, Cannizzaro LA. Identical clonal origin of synchronous and metachronous low-grade, non-invasive papillary transitional cell carcinomas of the urinary tract. *Hum Pathol* 1999; 30: 1197-200.
37. Hartmann A, Rösner U, Schlake G, Dietmaier W, Zaak D, Hofstaedter F, Knuechel R. Clonality and genetic divergence in multifocal low-grade superficial urothelial carcinoma as determined by chromosome 9 and p53 deletion analysis. *Lab Invest* 2000; 80: 709-18.

38. Holmang S, Johansson SL. The nested variant of transitional cell carcinoma: a rare neoplasm with poor prognosis. *Scand J Urol Nephrol* 2001; 35: 102-5.
39. Zukerberg LR, Harris NL, Young RH. Carcinomas of the urinary bladder simulating malignant lymphoma. A report of five cases. *Am J Surg Pathol* 1991; 15: 569-76.
40. Wurzel RS, Yamase HT, Nieh PT. Ectopic production of human chorionic gonadotropin by poorly differentiated transitional cell tumors of the urinary tract. *J Urol* 1987; 137: 502-4.
41. Ikegami H, Iwasaki H, Ohjimi Y, Takeuchi T, Ariyoshi A, Kikuchi M. Sarcomatoid carcinoma of the urinary bladder: a clinicopathologic and immunohistochemical analysis of 14 patients. *Hum Pathol* 2000; 31: 332-40.
42. Ash JE. Epithelial tumors of the bladder. *J Urol* 1940; 44: 135-45.
43. Mostofi FK. Standardization of nomenclature and criteria for diagnosis of epithelial tumors of urinary bladder. *Acta Unio Int Contra Cancer* 1960; 16: 310-4.
44. Bergkvist A, Ljungqvist A, Moberger G. Classification of bladder tumours based on the cellular pattern. Preliminary report of a clinical-pathological study of 300 cases with a minimum follow-up of eight years. *Acta Chir Scand* 1965; 130: 371-8.
45. Mostofi FK, Sobin LH, Torloni H. Histological typing of urinary bladder tumours. Geneva: World Health Organization, 1973.
46. Malmström PU, Busch C, Norlén BJ. Recurrence, progression and survival in bladder cancer. A retrospective analysis of 232 patients with greater than or equal to 5-year follow-up. *Scand J Urol Nephrol* 1987; 21: 185-95.
47. Epstein JI, Amin MB, Reuter VR, Mostofi FK. The World Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification of urothelial (transitional cell) neoplasms of the urinary bladder. Bladder Consensus Conference Committee. *Am J Surg Pathol* 1998; 22: 1435-48.

48. Holmäng S, Hedelin H, Anderström C, Johansson SL. The relationship among multiple recurrences, progression and prognosis of patients with stages Ta and T1 transitional cell cancer of the bladder followed for at least 20 years. *J Urol* 1995; 153: 1823-7.
49. Leblanc B, Duclos AJ, Bénard F, Côté J, Valiquette L, Paquin JM, Mauffette F, Faucher R, Perreault JP. Long term follow-up of initial Ta grade 1 transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol* 1999; 162: 1946-60.
50. Jordan AM, Weingarten J, Murphy WM. Transitional cell neoplasms of the urinary bladder. Can biologic potential be predicted from histologic grading? *Cancer* 1987; 60: 2766-74.
51. Bostwick DG. Natural history of early bladder cancer. *J Cell Biochem* 1992; 161: 31-8.
52. Bostwick DG, Ramnani DM, Cheng L. Diagnosis and grading of bladder cancer and associated lesions. *Urol Clin North Am* 1999; 26: 493-507.
53. Bostwick DG, Mikuz G. Urothelial papillary (exophytic) neoplasms. *Virchows Arch* 2002; 441: 109-16.
54. Lopez-Beltran A, Montironi R: Non-invasive urothelial neoplasms: according to the most recent WHO classification. *Eur Urol* 2004; 46: 170-6.
55. Cheng L, Neumann RM, Bostwick DG. Papillary urothelial neoplasms of low malignant potential. Clinical and biologic implications. *Cancer* 1999 Nov 15; 86: 2102-8.
56. Samaratunga H, Makarov DV, Epstein JI. Comparison of WHO/ISUP and WHO classification of noninvasive papillary urothelial neoplasms for risk of progression. *Urology* 2002; 60: 315-9.
57. Holmäng S, Andius P, Hedelin H, Wester K, Busch C, Johansson SL. Stage progression in Ta papillary urothelial tumors: relationship to grade, immunohistochemical expression of tumor markers, mitotic frequency and DNA ploidy. *J Urol* 2001; 165: 1124-30.

58. Sheinfeld J, Reuter VE, Fair WR, Cordon-Cardo C. Expression of blood group antigens in bladder cancer: Current concept. *Semin Surg Oncol* 1992; 8: 308-15.
59. Cairns P, Suarez V, Newman J, Crocker J. Nucleolar organizer regions in transitional cell tumors of the bladder. *Arch Pathol Lab Med* 1989; 113: 1250-2.
60. Dalbagni G, Presti J, Reuter V, Fair WR, Cordon-Cardo C. Genetic alteration in bladder cancer. *Lancet* 1993; 342: 469-71.
61. Presti JC Jr, Reuter VE, Galan T, Fair WR, Cordon-Cardo C. Molecular genetic alterations in superficial and locally advanced human bladder cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 5405-9.
62. Cordon-Cardo C, Reuter VE. Alteration of tumor suppressor genes in bladder cancer. *Semin Diagn Pathol* 1997; 14: 123-32.
63. Coombs LM, Oliver S, Sweeney E, Knowles M. Immunohistochemical localization of c-erbB-2 protein in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *J Pathol* 1993; 169:35-42.
64. Nakopoulou L, Vourlakou C, Zervas A, Tzonou A, Gakioopoulou H, Dimopoulos MA. The prevalence of *bc1-2*, *p53* and *Ki-67* immunoreactivity in transitional cell bladder carcinoma and their clinicopathologic correlates. *Hum Pathol* 1998; 29: 146-54.
65. Lee CC, Yamamoto S, Morimura K, Wanibuchi H, Nishisaki N, Ikemoto S, Nakatani T, Wada S, Kishimoto T, Fukushima S. Significance of cyclin D1 overexpression in transitional cell carcinomas of the urinary bladder and its correlation with histopathologic features. *Cancer* 1997; 79: 780-9.
66. Orlow I, LaRue H, Osman I, Lacombe L, Moore L, Rabbani F, Meyer F, Fradet Y, Cordon-Cardo C. Deletions of the *INK4A* gene in superficial bladder tumors. Association with recurrence. *Am J Pathol* 1999; 155: 105-13.
67. Sharma TC, Melamed MR, Whitmore WF Jr. Carcinoma in situ of the ureter in patients with bladder carcinoma treated by cystectomy. *Cancer* 1970; 26: 583-7.
68. Soloway MS. Rationale for intensive intravesical chemotherapy for superficial bladder cancer. *J Urol* 1980; 123: 461-6.

69. Grossman HB, Natale RB, Tangen CM, Speights VO, Vogelzang NJ, Trump DL, deVere White RW, Sarosdy MF, Wood DP Jr, Raghavan D, Crawford ED. Neoadjuvant chemotherapy plus cystectomy compared with cystectomy alone for locally advanced bladder cancer. *N Engl J Med* 2003; 349: 859-66.
70. Cheng L, Weaver AL, Leibovich BC, Ramnani DM, Neumann RM, Scherer BG, Nehra A, Zincke H, Bostwick DG. Predicting the survival of bladder carcinoma patients treated with radical cystectomy. *Cancer* 2000; 88: 2326-32.
71. Skinner DG. Current perspectives in the management of high-grade invasive bladder cancer. *Cancer* 1980; 45: 1866-74.
72. Bruins HM, Stein JP. Risk factors and clinical outcomes of patients with node-positive muscle-invasive bladder cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2008; 8: 1091-101.
73. Stein JP, Cai J, Groshen S, Skinner DG. Risk factors for patients with pelvic lymph node metastases following radical cystectomy with en bloc pelvic lymphadenectomy: the concept of lymph node density. *J Urol* 2003; 170: 35-41.
74. Herr HW. Superiority of ratio based lymph node staging for bladder cancer. *J Urol* 2003; 169: 943-5.
75. Konety BR, Joslyn SA, O'Donnell M. Extent of pelvic lymphadenectomy and its impact on outcome in patients diagnosed with bladder cancer: analysis of data from the surveillance, epidemiology and end results program database. *J Urol* 2003; 169: 946-50.
76. Resorlu B, Beduk Y, Baltaci S, Ergun G, Talas H. The prognostic significance of advanced age in patient with bladder cancer treated with radical cystectomy. *BJU Int* 2008; 103: 480-3.
77. Martin M, Bernardini S, Kleinclauss F, Della Negra E, Henry PC, Bittard H. Prognostic value of tumor location of urothelial tumors of the bladder, after total cystectomy. *Prog Urol* 2002; 12: 1221-7.
78. Lapham RL, Grignon D, Ro JY. Pathologic prognostic parameters in bladder urothelial biopsy, transurethral resection, and cystectomy specimens. *Semin Diagn Pathol* 1997; 14: 109-22.

79. Streeper NM, Simons CM, Konety BR, Muirhead DM, Williams RD, O'Donnell MA, Joudi FN. The significance of lymphovascular invasion in transurethral resection of bladder tumour and cystectomy specimens on the survival of patients with urothelial bladder cancer. *BJU Int* 2009; 103: 475-9.
80. Andius P, Johansson SL, Holmäng S. Prognostic factors in stage T1 bladder cancer: tumor pattern (solid or papillary) and vascular invasion more important than depth of invasion. *Urology* 2007; 70: 758-62.
81. Sarma KP. The role of lymphoid reaction in bladder cancer. *J Urol* 1970; 104: 843-9.
82. Lopez-Beltran A, Luque RJ, Alvarez-Kindelan J, Quintero A, Merlo F, Requena MJ, Montironi R. Prognostic factors in survival of patients with stage Ta and T1 bladder urothelial tumors: the role of G1-S modulators (p53, p21Waf1, p27Kip1, cyclin D1, and cyclin D3), proliferation index, and clinicopathologic parameters. *Am J Clin Pathol* 2004; 122: 444-52.
83. Lipponen PK, Eskelinen MJ, Jauhiainen K, Harju E, Terho R. Tumour infiltrating lymphocytes as an independent prognostic factor in transitional cell bladder cancer. *Eur J Cancer* 1992; 29: 69-75.
84. Santos L, Costa C, Pereira S, Koch M, Amaro T, Cardoso F, Guimarães T, Bento MJ, Lobo F, Pinto S, Lopes C. Neovascularisation is a prognostic factor of early recurrence in T1/G2 urothelial bladder tumours. *Ann Oncol* 2003; 14: 1419-24.
85. Miyata Y, Kanda S, Ohba K, Nomata K, Hayashida Y, Eguchi J, Hayashi T, Kanetake H. Lymphangiogenesis and angiogenesis in bladder cancer: prognostic implications and regulation by vascular endothelial growth factors-A, -C, and -D. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 800-6.
86. Vallancien G, Rouger PH, LeClerc JP, Kuss R. Immunofluorescence study of the distribution of A, B, and H cell surface antigens in bladder tumors. *J Urol* 1983; 130: 67-70.
87. Murphy WM. DNA flow cytometry in diagnostic pathology of the urinary tract. *Hum Pathol* 1987; 18: 317-9.

88. Murphy WM, Chandler RW, Trafford RM. Flow cytometry of deparaffinized nuclei compared to histological grading for the pathological evaluation of transitional cell carcinomas. *J Urol* 1986; 135: 694-7.
89. Lipponen PK, Eskelinen MJ, Jauhiainen K, Terho R, Nordling S. Proliferation indices as independent prognostic factors in papillary Ta-T1 transitional cell bladder tumours. *Br J Urol* 1993; 72: 451-7.
90. Yurakh AO, Ramos D, Calabuig-Fariñas S, López-Guerrero JA, Rubio J, Solsona E, Romanenko AM, Vozianov AF, Pellin A, Llombart-Bosch A. Molecular and immunohistochemical analysis of the prognostic value of cell-cycle regulators in urothelial neoplasms of the bladder. *Eur Urol* 2006; 50: 506-15.
91. Neuhaus M, Wagner U, Schmid U, Ackermann D, Zellweger T, Maurer R, Alund G, Knönagel H, Rist M, Moch H, Mihatsch MJ, Gasser TC, Sauter G. Polysomies but not Y chromosome losses have prognostic significance in pTa/pT1 urinary bladder cancer. *Hum Pathol* 1999; 30: 81-6.
92. Arisan S, Caskurlu T, Guney S, Sonmez NC, Keles B, Buyuktuncer ED, Ergenekon E. The prognostic importance of e-cadherin and p53 gene expression in transitional bladder carcinoma patients. *Int Urol Nephrol* 2005; 37: 485-92.
93. Del Pizzo JJ, Borkowski A, Jacobs SC, Kyprianou N. Loss of cell cycle regulators p27(Kip1) and cyclin E in transitional cell carcinoma of the bladder correlates with tumor grade and patient survival. *Am J Pathol* 1999; 155: 1129-36.
94. Dybowski B, Kupryjańczyk J, Rembiszewska A, Pykało R, Borkowski A. P27(Kip1) and Ki-67 expression analysis in transitional cell carcinoma of the bladder. *Urol Res* 2003; 31: 397-401.
95. Alsheikh A, Mohamedali Z, Jones E, Masterson J, Gilks CB. Comparison of the WHO/ISUP classification and cytokeratin 20 expression in predicting the behavior of low-grade papillary urothelial tumors. World/Health Organization/International Society of Urologic Pathology. *Mod Pathol* 2001; 14: 267-72.
96. Gee JR, Montoya RG, Khaled HM, Sabichi AL, Grossman HB. Cytokeratin 20, AN43, PGDH, and COX-2 expression in transitional and squamous cell carcinoma of the bladder. *Urol Oncol* 2003; 21: 266-70.

97. Neal DE, Marsh C, Bennett MK, Abel PD, Hall RR, Sainsbury JR, Harris AL. Epidermal-growth-factor receptors in human bladder cancer: comparison of invasive and superficial tumours. *Lancet* 1985; 1: 366-8.
98. Messing EM. Clinical implications of the expression of epidermal growth factor receptors in human transitional cell carcinoma. *Cancer Res* 1990; 50: 2530-7.
99. Habuchi T, Marberger M, Droller MJ, Hemstreet GP 3rd, Grossman HB, Schalken JA, Schmitz-Dräger BJ, Murphy WM, Bono AV, Goebell P, Getzenberg RH, Hautmann SH, Messing E, Fradet Y, Lokeshwar VB. Prognostic markers for bladder cancer: International Consensus Panel on bladder tumor markers. *Urology* 2005; 66: 64-74.
100. Soto EA, Friedell GH, Tiltman AJ. Bladder cancer as seen in giant histologic sections. *Cancer* 1977; 39: 447-55.
101. Melamed MR, Voutsas NG, Grabstald H. Natural history and clinical behavior of in situ carcinoma of the human urinary bladder. *Cancer* 1964; 17: 1533-45.
102. Cheng L, Cheville JC, Neumann RM, Bostwick DG. Natural history of urothelial dysplasia of the bladder. *Am J Surg Pathol* 1999; 23: 443-7.
103. Mallofré C, Castillo M, Morente V, Solé M. Immunohistochemical expression of CK20, p53, and Ki-67 as objective markers of urothelial dysplasia. *Mod Pathol* 2003; 16: 187-91.
104. McKenney JK, Desai S, Cohen C, Amin MB. Discriminatory immunohistochemical staining of urothelial carcinoma in situ and non-neoplastic urothelium: an analysis of cytokeratin 20, p53, and CD44 antigens. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 1074-8.
105. Silverman GA, Bird PI, Carrell RW, Church FC, Coughlin PB, Gettins PG, Irving JA, Lomas DA, Luke CJ, Moyer RW, Pemberton PA, Remold-O'Donnell E, Salvesen GS, Travis J, Whisstock JC. The serpins are an expanding superfamily of structurally similar but functionally diverse proteins. Evolution, mechanism of inhibition, novel functions, and a revised nomenclature. *J Biol Chem*. 2001; 276: 33293-6.

106. Khalkhali-Ellis Z. Maspin: the new frontier. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 7279-83.
107. Lonardo F, Li X, Siddiq F, Singh R, Al-Abbadi M, Pass HI, Sheng S. Maspin nuclear localization is linked to favorable morphological features in pulmonary adenocarcinoma. *Lung Cancer* 2006; 51: 31-9.
108. Solomon LA, Munkarah AR, Schimp VL, Arabi MH, Morris RT, Nassar H, Ali-Fehmi R. Maspin expression and localization impact on angiogenesis and prognosis in ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2006; 101: 385-389.
109. Jiang N, Meng Y, Zhang S, Mensah-Osman E, Sheng S. Maspin sensitizes breast carcinoma cells to induced apoptosis. *Oncogene* 2002; 21: 4089-98.
110. Zhang W, Shi HY, Zhang M. Maspin overexpression modulates tumor cell apoptosis through the regulation of bcl-2 family proteins. *BMC Cancer* 2005; 5: 50.
111. Zou Z, Gao C, Nagaich AK, Connell T, Saito S, Moul JW, Seth P, Appella E, Srivastava S. p53 regulates the expression of the tumor suppressor gene maspin. *J Biol Chem* 2000; 275: 6051-4.
112. Khalkhali-Ellis Z, Christian AL, Kirschmann DA, Edwards EM, Rezaie-Thompson M, Vasef MA, Gruman LM, Seftor RE, Norwood LE, Hendrix MJ. Regulating the tumor suppressor gene maspin in breast cancer cells: a potential mechanism for the anticancer properties of tamoxifen. *Clin Cancer Res* 2004 15; 10: 449-54.
113. Liu Z, Shi YH, Nawaz Z, Zhang M. Tamoxifen induces the expression of maspin through estrogen receptor-alpha. *Cancer Lett* 2004; 209: 55-65.
114. Khalkhali-Ellis Z, Hendrix MJ. Nitric oxide regulation of maspin expression in normal mammary epithelial and breast cancer cells. *Am J Pathol* 2003; 162: 1411-7.
115. Domann FE, Rice JC, Hendrix MJ, Futscher BW. Epigenetic silencing of maspin gene expression in human breast cancers. *Int J Cancer* 2000; 85: 805-10.
116. Laird PW, Jaenisch R. DNA methylation and cancer. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 1487-95.

117. Goelz SE, Vogelstein B, Hamilton SR, Feinberg AP. Hypomethylation of DNA from benign and malignant human colon neoplasms. *Science* 1985; 228: 187-90.
118. Kamel OW, Franklin WA, Ringus JC, Meyer JS. Thymidine labeling index and Ki-67 growth fraction in lesions of the breast. *Am J Pathol* 1989; 134: 107-13.
119. Maass N, Teffner M, Rösel F, Pawaresch R, Jonat W, Nagasaki K, Rudolph P. Decline in the expression of the serine proteinase inhibitor maspin is associated with tumour progression in ductal carcinomas of the breast. *J Pathol* 2001; 195: 321-6.
120. Sugimoto S, Maass N, Takimoto Y, Sato K, Minei S, Zhang M, Hoshikawa Y, Jünemann KP, Jonat W, Nagasaki K. Expression and regulation of tumor suppressor gene maspin in human bladder cancer. *Cancer Lett* 2004; 203: 209-15.
121. Beecken WD, Engl T, Engels K, Blumenberg C, Oppermann E, Camphausen K, Shing Y, Reinecke G, Jonas D, Blaheta R. Clinical relevance of maspin expression in bladder cancer. *World J Urol* 2006; 24: 338-44.
122. Blandamura S, D'Alessandro E, Giacomelli L, Guzzardo V, Battanello W, Repele M, Ninfo V. Expression of maspin in papillary Ta/T1 bladder neoplasms. *Anticancer Res* 2008; 28: 471-8.
123. Pfister C, Moore L, Allard P, Larue H, Lacombe L, Têtu B, Meyer F, Fradet Y. Predictive value of cell cycle markers p53, MDM2, p21, and Ki-67 in superficial bladder tumor recurrence. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 4079-84.
124. Burger M, Denzinger S, Hartmann A, Wieland WF, Stoehr R, Obermann EC. Mcm2 predicts recurrence hazard in stage Ta/T1 bladder cancer more accurately than CK20, Ki67 and histological grade. *Br J Cancer* 2007; 96: 1711-5.
125. Gonzalez-Campora R, Davalos-Casanova G, Beato-Moreno A, Luque RJ, Alvarez-Kindelan J, Requena MJ, Montironi R, Lopez-Beltrán A. Apoptotic and proliferation indexes in primary superficial bladder tumors. *Cancer Lett* 2006; 242: 266-72.
126. Santos L, Amaro T, Costa C, Pereira S, Bento MJ, Lopes P, Oliveira J, Criado B, Lopes C. Ki-67 index enhances the prognostic accuracy of the urothelial superficial bladder carcinoma risk group classification. *Int J Cancer* 2003; 105: 267-72.