

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

**MESANENİN NON- İNVAZİV PAPİLLER ÜROTELYAL NEOPLAZİLERİNDE  
REKÜRRENS VE PROGRESYONU ÖNGÖREBİLECEK KLİNİK VE  
HİSTOMORFOLOJİK PARAMETRELERİN ANALİZİ**

**Dr. Sehbâl ARSLANKOZ**

UZMANLIK TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır.

ANKARA  
2013

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

**MESANENİN NON- İNVAZİV PAPİLLER ÜROTELYAL NEOPLAZİLERİNDE  
REKÜRRENS VE PROGRESYONU ÖNGÖREBİLECEK KLİNİK VE  
HİSTOMORFOLOJİK PARAMETRELERİN ANALİZİ**

**Dr. Sehbal ARSLANKOZ**

**UZMANLIK TEZİ**  
Olarak Hazırlanmıştır.

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. Dilek ERTÖY BAYDAR**

**ANKARA**  
**2013**

## TEŞEKKÜR

Bu araştırma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 012 D06 101 014 numaralı bilimsel araştırma projesi olarak desteklenmiştir.

Bu çalışmanın başından sonuna kadar gece-gündüz, hafta sonu demeden özveri ile alışan Özlem Kalaycı'ya, blokların temininde emeği geçen Lokman Kale'ye, immünohistokimyasal boyamaların yapılmasına katkı sağlayan Jessica Hicks'e,

Çalışmamın istatistik danışmanlığını yapan Selçuk Korkmaz'a,

Başta tez hocam Dilek Ertoy Baydar olmak üzere patoloji hayatına adım attığım ilk günden beri iyi bir patoloji eğitimi almamı ve akademik hayatta kendimi geliştirmemi teşvik edip destekleyen tüm hocalarıma,

Özellikle üropatoloji alanındaki engin bilgisini benimle paylaşan, hoşgörüsünü ve desteğini hep hissettiğim Dr. George J. Netto'ya,

Son olarak canım eşim Kamil Arslankoz'a

Sonsuz teşekkürler.

## ÖZET

**Arslankoz S, Mesanenin Non- invaziv Papiller Ürotelyal Neoplazilerinde Rekürrens ve Progresyonu Öngörebilecek Klinik ve Histomorfolojik Parametrelerin Analizi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Tezi, Ankara, 2013.** Mesanenin non-invaziv papiller ürotelyal neoplazileri (NİPÜN) sık nüks eden ve prognozu değişkenlik gösteren kronik bir hastalıktır. Tekrarlayan kontroller ve tedaviler nedeniyle hasta başına maliyeti en yüksek kanser tipidir. Bu çalışmanın amacı NİPÜN tanısı alan olguların klinik ve patolojik parametreler arasında rekürrens ve progresyonu öngörebilecek olanları ortaya koymaktır. Çalışmada Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2000 ile 2010 yılları arasında primer tanısı bu merkezde konan ve en az bir yıllık klinik takibi olan 115 mesane kökenli NİPÜN olgusu analiz edilmiştir. Olguların %7'si düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazi, %71'i düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom ve %22'si yüksek dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom tanısı almıştır. Primer tümörden ve nüks materyallerinden, tümörlü ve normal mukozayı içeren doku mikro-dizinleri hazırlanmıştır. Bunlardan elde edilen kesitlerde PTEN, phos-Akt, phos-mTOR, phos-S6, phos-4E-BP1, p27, c-MYC, siklin D1, siklin D3, p53, p63, 34BE12, SK-20, SK-7, sinaptofizin, kromogranin ve Ki-67 ekspresyonu, in-situ hibridizasyon yöntemi ile HER2 gen amplifikasyonu ve Kr17 anöploidileri araştırılmıştır. Olguların %49,6'sında rekürrens, %12,2'sinde progresyon gelişmiştir. Çalışma sonucunda tek değişkenli analizlerde yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi ve yüksek phos-mTOR ekspresyonu progresyon ile ilişkili bulunmuştur. Erkek cinsiyet ve 27 mm üzerindeki tümör boyutu rekürrens riskini arttıran bağımsız klinik risk faktörleridir. 10 BBA'da 2 ve üzerindeki mitoz sayısının rekürrens riskini arttırdığı görülmüştür (p=0,024). Sonuç olarak, rekürrensi öngörmede tümör boyutunun tespiti ve mitoz sayısının belirlenmesi önemlidir. Ki-67 ve phos-mTOR progresyon gösterecek olguları önceden tespit etmede faydalı olabilecek immünohistokimyasal belirteçlerdir. **Anahtar kelimeler:** Mesane, non-invaziv papiller ürotelyal neoplazi, rekürrens, progresyon.

## ABSTRACT

**Arslankoz S, Clinical and Pathological Analysis of the Parameters That Can be Predictive for Recurrence and Progression in Non-invasive Papillary Urothelial Neoplasias of the Urinary Bladder, Hacettepe University School of Medicine, Pathology Thesis, Ankara, 2013.** Non-invasive papillary neoplasia of the urinary bladder (NIPUN) is a chronic disease with frequent recurrence and variable prognosis. Due to lifelong control regimens and repetitive treatments, it is the most expensive tumor per capita. The aim of this study is to establish clinical and pathological parameters that can predict recurrence and progression in NIPUN. 115 cases of NIPUN of which the primary diagnoses were given at the Pathology Department of Hacettepe University Hospital between the years 2000 – 2010 with at least one year clinical follow-up were analysed. 7% of the cases were papillary urothelial neoplasia of low malignant potential, 71% were low grade non-invasive papillary urothelial carcinoma and 22% were high grade non-invasive papillary urothelial carcinoma. Tissue microarrays containing both tumor tissue and nontumoral mucosa from primary and recurrent lesions were prepared. The immunohistochemical expressions of PTEN, phos-Akt, phos-mTOR, phos-S6, phos-4E-BP1, p27, c-MYC, cyclin D1, cyclin D3, p53, p63, 34BE12, SK-20, SK-7, synaptophysin, chromogranin and Ki-67 were explored, and HER2 gene amplification and Chr17 aneuploidy were investigated by in-situ hybridisation on the cut-sections from microarrays. 49.6% of the cases showed recurrence and 12.2% had progression. Results of univariant analysis indicated that high Ki-67 proliferation index and high phos-mTOR are associated with progression. Male sex and tumor size larger than 27 mm were independent prognostic factors that correlated with the risk of recurrence. 2 or more mitoses per 10 HPFs had statistically significant relation with the risk of recurrence ( $p=0.024$ ). As a conclusion, noting the size of tumor and mitotic count is important. Ki-67 and phos-mTOR are the immunohistochemical markers that can be useful to determine the group of cases that may progress. **Keywords:** Bladder, non-invasive papillary urothelial neoplasia, recurrence, progression.

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
KISALTMALAR.....	viii
ŞEKİLLER .....	ix
TABLolar.....	x
1 GİRİŞ .....	1
2 GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Embriyoloji .....	3
2.2 Mesanenin mikroskopik anatomisi .....	4
2.3 Mesane mukozasının immünohistokimyasal özellikleri.....	5
2.4 Mesane Kanselerinde Etiyoloji .....	6
2.5 Papiller Ürotelyal Karsinomların Sınıflaması .....	6
2.5.1 2004 DSÖ/ İÜPG sınıflaması .....	7
2.6 Mesane Kanselerinin Patogenezi.....	10
2.6.1 Kromozomal Anomaliler .....	11
2.6.2 Onkogenlerin aktivasyonu .....	12
2.6.3 Tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu .....	15
2.7 Prognostik faktörler .....	16
2.7.1 Rekürrens ile ilişkili risk faktörleri .....	16
2.7.2 Progresyon ile ilişkili risk faktörleri .....	17
3 GEREÇ VE YÖNTEM .....	18
3.1 Olgu Seçimi.....	18
3.2 Klinik.....	18
3.3 Histomorfoloji .....	19
3.4 Doku mikro dizinlerinin hazırlanması.....	20
3.5 İmmünohistokimya .....	21
3.6 İn-situ hibridizasyon (İSH) .....	24

3.7	İstatistiksel analiz .....	25
4	BULGULAR.....	26
4.1	Klinik bulgular (Tablo 4.1) .....	26
4.2	Morfolojik bulgular .....	29
4.2.1	Patolojik Tanı.....	29
4.2.2	Histomorfolojik Özellikler (Tablo 4.3) .....	29
4.2.3	İmmünohistokimyasal bulgular (tablo 4.4 ve tablo 4.5) .....	31
4.2.4	Gümüş ve kromojen in-situ hibridizasyon bulguları .....	39
4.2.5	Rekürrens (Tablo 4.6).....	39
4.2.6	Progresyon .....	44
5	TARTIŞMA.....	47
6	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	57
	KAYNAKLAR .....	58
	EK (İncelenen Hastalara Ait Biyopsi Numaraları) .....	69

**KISALTMALAR**

NIPUN	: Non-invaziv papiller ürotelyal neoplazi
ÜH	: Ürotelyal hiperplazi
ÜP	: Ürotelyal papillom
TÜP	: Ters ürotelyal papillom
DMPÜN	: Düşük malignite potansiyelli non-invaziv papiller ürotelyal neoplazm
DDNİPÜK	: Düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom
YDNİPÜK	: Yüksek dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom
ÜKİS	: Ürotelyal karsinoma in-situ
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
İÜPG	: İnternasyonal Ürolojik Patoloji Grubu
TUR	: Transüretal rezeksiyon
HK	: Heterozigosite kaybı
KGH	: Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon
TM	: Tümör
BBA	: Büyük büyütme alanı
SİSH	: Gümüş in-situ hibridizasyon
H-RAS	: Harvey sıçan sarkoma viral onkogen homolog geni
FGFR3	: Fibroblast büyüme faktör reseptörü 3
RTK	: Tirozin kinaz reseptörü
MAPK	: Mitojen aktive edici protein kinaz
Pİ3K	: Fosfotidilinozitol 3- kinaz
EGFR	: Epidermal büyüme faktör reseptörü
Rb	: <i>Retinoblastom</i>
PTEN	: Fosfataz ve tensin homologu
mTOR	: Rapamisin'in memeli hedefi
Rheb	: Sıklıkla beyinde bulunan Ras homologu
TSK	: Tüberoskleroz kompleksi
4E-BP1	: Ökaryotik translasyon başlama faktörü 4E- bağlayıcı protein 1



## ŞEKİLLER

<b>Şekil 2.1:</b> Normal ürotelyal mukoza.....	5
<b>Şekil 2.2:</b> Düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazm.....	8
<b>Şekil 2.3:</b> Düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom.....	9
<b>Şekil 2.4:</b> Yüksek dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom.....	9
<b>Şekil 3.1:</b> İmmünohistokimyasal belirteçlerin boyanma paternleri.....	23
<b>Şekil 3.2:</b> HER2 gen kopyaları iki siyah nokta halinde, Kr17 sentromeri ise 2 kırmızı nokta halinde izlenmektedir (SİSH ve Kırmızı ISH, 1000x).....	25
<b>Şekil 4.1:</b> Tümörlerde izlenen histomorfolojik özellikler .....	30
<b>Şekil 4.2:</b> Neoplastik doku ile non-neoplastik ürotelyumda phos-mTOR ekspresyonu.....	32
<b>Şekil 4.3:</b> Düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinomda (A) ve non-neoplastik ürotelyal mukozada (B) phos-S6 ekspresyonu (A ve B; immünohistokimya, anti phos-S6 Ab, 400x).....	33
<b>Şekil 4.4:</b> Neoplastik doku ile non-neoplastik ürotelyumda phos-4E-BP1 ekspresyonu .....	34
<b>Şekil 4.5:</b> Non-invaziv papiller ürotelyal karsinomda yüksek (A), non-neoplastik ürotelyal mukozada düşük (B) siklin D3 ekspresyonu (A ve B; immünohistokimya, anti siklin D3 Ab, 400x).....	35
<b>Şekil 4.6:</b> Yüksek dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom (A) ile düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazi (B) olgularında p53 ekspresyonu (A ve B; immünohistokimya, anti p53 Ab, 400x).....	36
<b>Şekil 4.7:</b> Rekürren düşük dereceli papiller ürotelyal karsinom olgusunda yüksek c-MYC (A) ve phos-mTOR (B) ekspresyonu. Rekürrens göstermeyen düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom olgusunda negatif c-MYC (C) ve negatif phos-mTOR (D) (A ve C; immünohistokimya, anti c- MYC Ab, 400x, B ve D; immünohistokimya, anti phos-mTOR Ab, 400x) .....	43
<b>Şekil 4.8:</b> Progresyon ile ilişkili bulunan immünohistokimyasal belirteçlerin ekspresyonu .	46
<b>Şekil 4.9:</b> Progresyon gösteren yüksek dereceli karsinom olgusunda PTEN kaybı (A). Progresyon göstermeyen yüksek dereceli karsinom olgusunda PTEN ekspresyonu (B) (A ve B; İmmünohistokimya, anti PTEN Ab, 400x).....	46

**TABLolar**

<b>Tablo 2.1:</b> Ürotelyal (transizyonel hücreli) neoplazilerin DSÖ/ İÜPG 1998 konsensus sınıflaması. ....	7
<b>Tablo 3.1:</b> Kullanılan antikorların özellikleri. ....	22
<b>Tablo 4.1:</b> Klinik özellikler .....	27
<b>Tablo 4.2:</b> Rezeksiyonların tanısal kategorilere göre dağılımı. ....	29
<b>Tablo 4.3:</b> Tümör subtipleri arasında farklılık gösteren histomorfolojik bulgular .....	31
<b>Tablo 4.4:</b> İmmünohistokimyasal belirteçlerin non-neoplastik ürotelyal mukozadaki ve neoplastik dokulardaki ortalama H skor değerleri.....	38
<b>Tablo 4.5:</b> İmmünohistokimyasal belirteçlerin farklı tümör kategorilerinde ortalama H skor değerleri. ....	39
<b>Tablo 4.6:</b> NIPUN'de rekürrens.....	41
<b>Tablo 4.7:</b> NIPUN'de rekürrens ve İmmünohistokimyasal ekspresyonlarının ortalama H skor değerleri.....	42
<b>Tablo 4.8:</b> DDNİPÜK'larda rekürrens ile ilişkili parametreler. ....	43
<b>Tablo 4.9:</b> Progresyon gösteren olgular.....	44
<b>Tablo 4.10 :</b> Progresyon ile ilişkili immünohistokimyasal sonuçlar. ....	45

## 1 GİRİŞ

Dünyada izlenen kanserlerin %3,2'sini mesane kanserleri oluşturmaktadır<sup>1,2</sup>. Ürotelyal karsinomlar mesane kanserleri arasında en sık karşılaşılan subtipdir, kanserlerin sıklık sıralamasında 9.<sup>3,4</sup>, sadece erkekler dikkate alındığında 4. sırada yer alırlar ve erkeklerde kanser ilişkili ölümlerin 8. en sık nedenini oluştururlar<sup>4</sup>. Her yıl dünyada 260.000 erkek ve 76.000 kadın ürotelyal karsinom tanısı almaktadır. Mesane kanserleri arasında ürotelyal kanserlerin oranı erkeklerde %84, kadınlarda %79'dur<sup>4,5</sup>.

Muskularis propria (m.p.) invazyonu göstermeyen mesane tümörlerinin %70'i non-invaziv papiller ürotelyal karsinom<sup>6</sup>, %20'si lamina propriaya invaze ürotelyal karsinom ve %10'u ürotelyal karsinoma in-situ (ÜKİS) olarak karşımıza çıkmaktadır. Genel olarak m.p. invazyonu negatif olguların prognozu iyi olmakla birlikte bu olguların %30-80'i rekürrens, %10-45'i 5 yıl içinde progresyon (m.p. invazyonu) göstermektedir<sup>7,8</sup>. Bu kanserler sık takip gerektiren ve prognozu değişkenlik gösteren kronik bir hastalık olarak kabul edilmekte olup tekrarlayan kontroller ve tedaviler gerektirirler. Bu nedenle kanserler içinde hasta başına maliyeti en yüksek kanser tipidirler<sup>9</sup>.

2004 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflamasına göre ürotelyal tümörler invaziv ve non-invaziv ürotelyal neoplaziler olmak üzere iki kategoride incelenmektedir. Non-invaziv ürotelyal tümörler ürotelyal karsinoma in situ (ÜKİS), yüksek dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom (YDNİPÜK), düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom (DDNİPÜK), düşük malignite potansiyelli non-invaziv papiller ürotelyal neoplazm (DMPÜN), ürotelyal papillom (ÜP) ve ters ürotelyal papillom (TÜP) olmak üzere altı alt sınıfa ayrılmaktadır<sup>2</sup>.

Bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2000 ile 2010 yılları arasında tanı alan papillom dışı non-invaziv ürotelyal mesane tümörlerinin detaylı klinikopatolojik analizi gerçekleştirildi. Klinik ve patolojik parametrelerin hastalık seyri ile ilişkisi araştırıldı. Yanı sıra çeşitli tümör baskılayıcı gen, onkogen ve

hücre siklus düzenleyicilerine karşı geliştirilmiş antikorlarla (PTEN, phos-Akt, phos-mTOR, phos-S6, phos-4E-BP1, p27, c-MYC, siklin D1, siklin D3, p53, p63, 34BE12, SK-20, SK-7, sinaptofizin, kromogranin ve Ki-67) immünohistokimyasal çalışmalar yapıldı, gümüş ve kromojen in-situ hibridizasyon yöntemi ile HER2 amplifikasyonu ve kromozom 17 anöplodileri araştırılarak hastalıkta rekürrens ve progresyonu öngörebilecek parametreleri ortaya koymak amaçlandı.

## 2 GENEL BİLGİLER

Mesane, epitel ile döşeli müsküler bir organdır. İntraluminal basıncı değişmeden genişleyerek 400 ile 500 ml idrarı biriktirebilme kapasitesine sahiptir. Ek olarak kontraksiyonları başlatabilir ve içi boşalana kadar bu kontraksiyonları devam ettirebilir. İstemsiz çalışan bir organ olmakla birlikte miksiyon istemli olarak başlatılabilir ya da durdurulabilir<sup>10</sup>.

### 2.1 Embriyoloji

Ürogenital sistem, birbirinden tamamen farklı işlevlere sahip iki kısımdan oluşur: üriner sistem ve genital sistem. Ancak bu iki sistem embriyolojik ve anatomik olarak iç içedir. Her ikisi de karın boşluğunun arka duvarında yer alan ortak bir mezodermal kabarıklıktan ("intermediyer mezoderm"den) gelişir ve her iki sistemin boşaltım kanalları da başlangıçta ortak bir boşluğa, kloakaya, açılır<sup>11</sup>.

Gelişimin 4. ve 7. haftaları arasında, ürorektal septum kloakayı anorektal kanal ve primitif ürogenital sinüse böler. Kloakal membranın kendisi de önde ürogenital membran, arkada da anal membran kalacak şekilde ikiye bölünür. Primitif ürogenital sinüs üç kısımdan meydana gelir: üst ve en büyük parça mesanedir. Başlangıçta mesane allantois ile ilişkidir. Allantoisin oblitere olmasının ardından geride mesanenin tepesini göbeğe bağlayan urakus adı verilen fibröz bir kordon kalır. Bir sonraki parça, erkeklerde üretranın prostatik ve membranöz parçalarının geliştiği, nispeten daha dar bir kanal halindeki, ürogenital sinüsün pelvik parçasıdır. Son parça da ürogenital sinüsün fallik parçası olarak bilinen kalıcı ürogenital sinüstür<sup>11</sup>.

Kloakanın bölünmesi sırasında mezonefrik kanalların kaudal kısımları mesane duvarı içine doğru emilir. Başlangıçta mezonefrik kanalların birer çıkıntısı halindeki üreterler mesaneye ayrı ayrı girer. Böbreklerin yukarı doğru yükselişinin bir sonucu olarak üreter orifisleri de yukarı doğru kayar. Mezonefrik kanal orifisleri ise prostatik üretraya açılmak üzere birbirlerine yaklaşırlar ve erkeklerde ejakülatuar kanalları meydana getirirler. Hem mezonefrik kanallar, hem de üreterler mezoderm kaynaklı

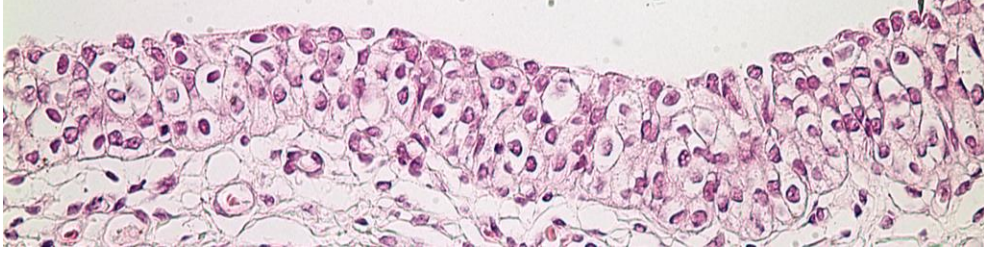
olduğundan, bu kanalların birleşmesi ile oluşan mesane mukozası (mesane trigonu) da mezodermden köken alır<sup>11</sup>. Zamanla trigondaki mezodermal epitel ürogenital sinüsün kaudal parçasından köken alan endodermal epitelle yer değiştirir ve sonuçta tüm mesanenin içi endoderm kaynaklı epitelle döşeli hale gelir. Lamina propria, muskularis propria ve adventisya splanknik mezenkim kaynaklıdır<sup>10</sup>.

## 2.2 Mesanenin mikroskopik anatomisi

Mesane içi boş olan bir iç organdır. Boşken dört yüzeye sahip ters piramit görünümünde iken, içi dolu olduğunda yuvarlak hale gelir. Üst yüzey (dış yüzü pelvik periton ile örtülü olup “kubbe” olarak da bilinir), arka yüzey (“taban” olarak da bilinir) ve alt yan yüzler olmak üzere dört kısma ayrılır<sup>10</sup>.

Mesane içten dışarıya doğru mukoza, muskularis propria ve adventisya tabakalarından oluşur. Kubbe kısmında adventisya periton ile döşelidir. Mukoza epitel, lamina propria ve nadiren kesintili ya da devamlılık halindeki muskularis mukozadan oluşur.

Epitel geleneksel olarak transizyonel olarak adlandırılrsa da ürotelyum terimi daha bilgi verici ve daha doğrudur. Mesane boş iken 6-7 hücre tabakasından oluşurken, dolu olduğunda 2-3 hücre tabakasından ibarettir. Epitelde üç katman vardır; yüzeysel, intermediyer ve bazal tabaka. Yüzeysel tabaka tek sıra, elips şeklinde ve geniş eozinofilik sitoplazmalı hücrelerden oluşur. Bu hücreler “şemsiye” hücreleri olarak adlandırılırlar<sup>10</sup>. İntermediyer hücreler küboidal - düşük kolumnar şekilli, ince kromatin paternine sahip, oval nükleuslu, sitoplazmaları orta miktarda ve sitoplazmik sınırları belirgin hücrelerdir. Bazal tabaka, ince bazal lamina üzerine oturmuş tek sıralı küboidal hücrelerden oluşur (Şekil 2.1).



**Şekil 2.1:** Normal ürotelyal mukoza.

Hali hazırda kabul gören, ürotelyal farklılaşmanın derideki epidermin farklılaşmasına benzer bir yol izlediğidir. Derinin bazal tabakası progenitör hücrelere ve erken farklılaşma elemanlarına sahip olup, bu hücrelerin intermediyer ve sonuçta da skuamöz hücrelere farklılaştığı kabul görmektedir<sup>12</sup>. Benzer bir gelişim modeli ürotelyum için de önerilmektedir. Bazal tabaka progenitör ve diferansiye ürotelyal hücreler içermekte olup, bu hücreler intermediyer ve daha sonra da matür şemsiye hücrelere farklılaşmaktadır.

Lamina propria, zengin vasküler yatağa sahip, lenfatik damarlar ve birkaç elastik lif içeren gevşek bağ dokudan oluşur. Lamina propriada genellikle izole bantlar şeklinde, bazen kesintili (nadiren devamlılık gösteren) ince bir tabaka halinde düz kas hücreleri izlenebilir. Düz kas hücreleri tabaka halinde izlenirlerse muskularis mukoza olarak adlandırılırlar<sup>10</sup>.

Muskularis propria iç ve dış longitüdüal tabaka ile bunlar arasında yer alan santral sirküler tabakalara ayrılmıştır. Bu tabakalar en fazla mesane boyun bölgesinde farklılaşmıştır.

Matür yağ hücre grupları özellikle lamina proprianın derin kısmı olmak üzere tüm mesane duvarında yaygın olarak izlenir<sup>13</sup>.

### **2.3 Mesane mukozasının immünohistokimyasal özellikleri**

Ürotelyumun tüm katmanları düşük molekül ağırlıklı sitokeratin (SK) 7'yi kuvvetli ve homojen olarak eksprese etmektedir<sup>14</sup>. SK7 ürotelyuma spesifik bir belirteç olmayıp diğer bir çok epitelde ve bunların tümörlerinde de izlenir. p53 homologu olan p63, bazal ve intermediyer hücrelerde eksprese edilirken şemsiye

hücrelerinde eksprese edilmezler<sup>15</sup>. Benzer şekilde SK5, SK10 ve SK14 gibi yüksek molekül ağırlıklı sitokeratinler de ürotelyumda yalnızca bazal ve intermediyer tabakada eksprese edilirler. Düşük molekül ağırlıklı SK18 ve SK20 ise sadece şemsiye hücrelerinde eksprese edilir<sup>16</sup>.

#### **2.4 Mesane Kanselerinde Etiyoloji**

Ürotelyumun kan ve idrar arasında geçirgenlik bariyeri teşkil etmesi nedeniyle epitel sürekli olarak çeşitli potansiyel karsinojenlere maruz kalmaktadır. Bundan dolayı ürotelyal kanserlerin sık olması şaşırtıcı değildir. Bu kanserler ile güçlü ilişkisi tespit edilen risk faktörleri arasında sigara kullanımı, aromatik aminlere maruziyet, arsenik içeren suların tüketimi, kronik Şistozoma enfeksiyonu, çevre organların radyasyon tedavisi ve alkilleyici ajanların kullanımı yer almaktadır<sup>17</sup>. Bu risk faktörleri arasında en önemli olanları sigara kullanımı ve aromatik amin maruziyetidir<sup>18</sup>.

Sigara kullanan kişilerde mesane kanseri riski kullanmayan kişilere göre 2-6 kat artmış olup<sup>18,19,20</sup>, sigara kullanım süresi ve kullanım miktarı ile bu risk artmaktadır<sup>18</sup>. Sigara kullanımı bırakıldıktan sonra ise kanser riski giderek azalır ve 15 yıl sonunda risk hiç sigara kullanmayan bir kişi ile aynı olur<sup>21</sup>.

Etiyolojik ajanlar arasında mesane kanserlerinin ikinci en sık nedeni mesleki aromatik amin maruziyetidir. İlk defa 1895 yılında Rehn, anilin boya sanayisinde çalışan erkeklerde mesane kanser oranlarının yüksek olduğunu gözlemlemiştir<sup>22</sup>. Takip eden araştırmalarda boya sanayinde kullanılan aromatik aminlerden benzidin ve 2-naftilamin ile muhtemel 1-naftilamin karsinojen olarak tanımlanmıştır<sup>23</sup>.

#### **2.5 Papiller Ürotelyal Karsinomların Sınıflaması**

Papiller ürotelyal karsinomların derecelendirilmesinde yaygın olarak kabul edilen ilk klasifikasyon Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 1973'te yayınladığı klasifikasyon sistemidir. Bu sınıflamaya göre epitelyal anormallikler anaplazi kanıtı olarak kabul edilmiştir; bunlar sellülaritede artış, nükleer kalabalıklaşma, hücresel polaritede kayıp, bazalden yüzeye doğru matürasyonda kayıp, pleomorfizm, hücre



boyutlarında artış, çekirdek kromatin paterninde ve şeklinde varyasyonlar, anormal mitoz ve dev hücreleri içermektedir. Yukarıda tarif edilen anaplazi kriterleri varlığında, net invazyon olmasa da, “karsinom” tanısı verilmelidir<sup>24</sup>.

Bu sınıflamada papiller ürotelyal tümörler 4 kategoriye ayrılmıştır: papillom, derece 1 karsinom, derece 2 karsinom ve derece 3 karsinom<sup>24</sup>. Derece 1 karsinomlar malign kriterlere sahip olmakla birlikte en düşük düzeyde anaplazi gösterirler. Derece 3 tümörlerde ise şiddetli anaplazi kriterleri izlenir. Derece 2 tümörler bu ikisi arasındaki özelliklere sahiptir<sup>24</sup>.

1973 yılında DSÖ'nün yayınladığı bu sınıflamanın temel eksiği, farklı derecedeki tümörlerin yetersiz tanımlanması ve spesifik histolojik kriterlerin olmamasıdır<sup>25</sup>. 1998 yılında DSÖ ve İnternasyonal Ürolojik Patoloji Grubu (İÜPG) üyeleri mesanenin ürotelyal (transizyonel hücreli) neoplazilerinin DSÖ/ İÜPG konsensus sınıflamasını yayınladılar<sup>26</sup>. Bu sınıflama sadece neoplastik lezyonları değil aynı zamanda preneoplastik lezyonların isimlendirmesini de kapsamaktadır (Tablo 2.1).

**Tablo 2.1:** Ürotelyal (transizyonel hücreli) neoplazilerin DSÖ/ İÜPG 1998 konsensus sınıflaması.

Hiperplazi	Atipili Flat Lezyonlar	Papiller neoplaziler
Düz ürotelyal hiperplazi	Reaktif (inflamatuvar) atipi	Papillom
Papiller ürotelyal hiperplazi	Displazi	Düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazm (DMPÜN)
	ÜKİS	Papiller ürotelyal karsinom, düşük dereceli
		Papiller ürotelyal karsinom, yüksek dereceli

### 2.5.1 2004 DSÖ/ İÜPG sınıflaması

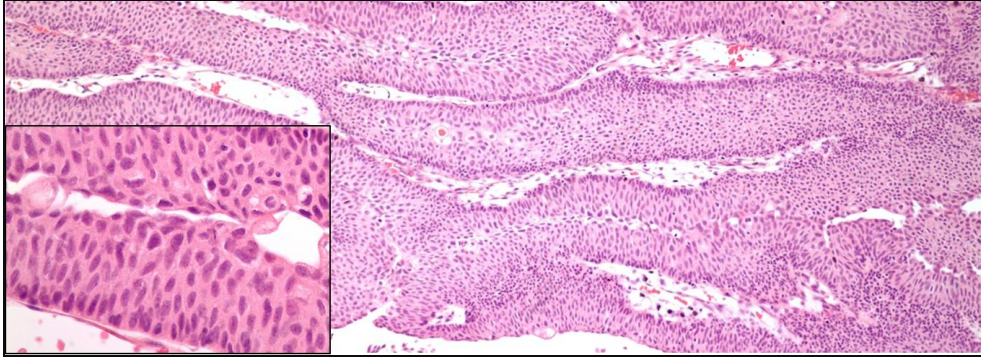
2004 DSÖ sınıflamasında invazyon göstermeyen (pTa) ürotelyal papiller neoplazilerin isimlendirmesi 1998 DSÖ/ İÜPG sınıflaması ile aynıdır. Ancak düşük dereceli ve yüksek dereceli kanserlerin başına “non-invaziv” terimi getirilerek invaziv

tümörler ile aralarındaki biyolojik davranış farklılığına dikkat çekilmiştir. Ayrıca pratikte kullanımını kolaylaştırmak için tanısal kriterler detaylandırılmıştır<sup>27</sup>.

### 2.5.1.1 2004 DSÖ/ İÜPG sınıflamasında yer alan NIPUN'lerin histomorfolojik bulguları

#### 2.5.1.1.1 Düşük Malignite Potansiyelli Papiller Ürotelyal Neoplazm

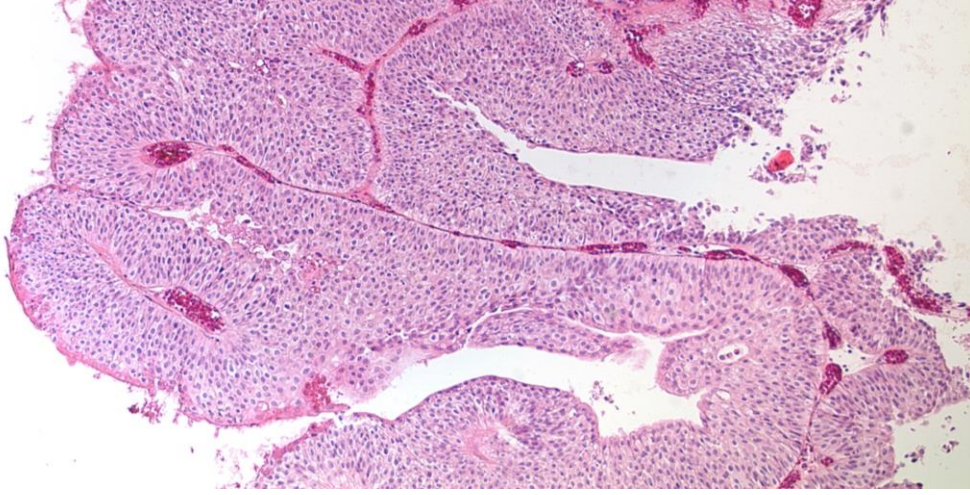
Bu lezyonu oluşturan papillalar silindirik yapıda olup kompleks dallanma göstermezler. Ürotelyum kalınlaşmıştır. Papiller yapıları oluşturan hücrelerde sitolojik atipi yok ya da minimaldir. Normal ürotelyum ile kıyaslandığında hücresel yoğunluk artmıştır, polarite korunmuştur ve düzenli bir görünüm mevcuttur. Yapısal ve nükleer atipi yok ya da minimaldir. Normal ürotelyal hücre çekirdekleri ile karşılaştırıldığında çekirdek boyutu artmıştır. Bazal tabaka palizatlanma gösterir ve şemsiye hücreleri sıklıkla korunur. Mitoz nadirdir ve bazalde lokalizedir<sup>27</sup> (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazm.

#### 2.5.1.1.2 Düşük Dereceli Non-invaziv Papiller Ürotelyal Karsinom

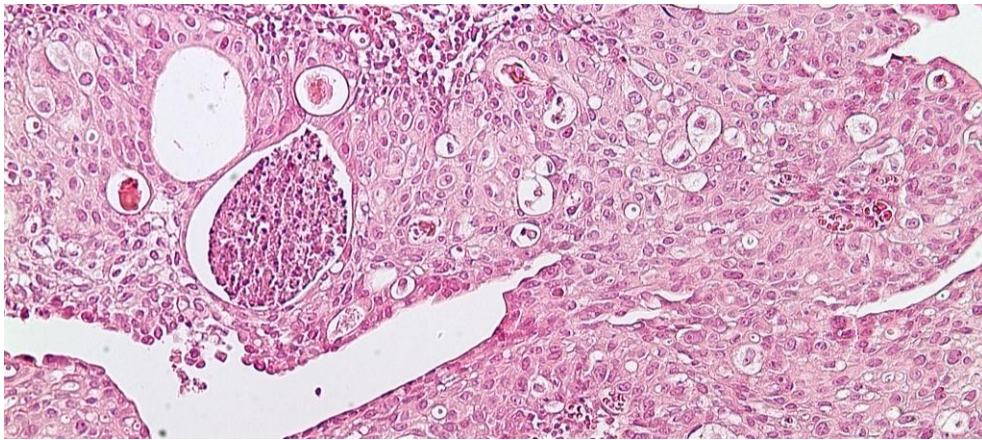
Dallanma ve minimal füzyon gösteren silindirik papiller yapılar ile karakterize tümördür. Tarama büyütmesinde hücresel özelliklerdeki değişiklikler kolayca göze çarpar. Bu lezyonlar düzenli yapıya sahiptirler. DMPÜN'un aksine nükleer polarite, boyut, şekil ve kromatin paternindeki değişiklikleri tanımak kolaydır. Çekirdekler üniform büyümüştür, şekil, kontür ve kromatin dağılımlarında orta derecede farklılıklar vardır. Çekirdekçik olabilir, ama belirsizdir. Mitoz enderdir, daha ziyade bazalde izlenmekle birlikte herhangi bir seviyede de izlenebilir<sup>27</sup> (Şekil 2.3).



**Şekil 2.3:** Düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom.

#### 2.5.1.1.3 Yüksek Dereceli Non-invaziv Papiller Ürotelyal Karsinom

Sıklıkla papillalarda birleşme ve dallanma izlenen tümörlerdir. Tarama büyütmesinde bile düzensiz patern ile yapısal ve hücresel özelliklerdeki değişiklikler kolaylıkla seçilebilmektedir. Düşük dereceli papiller ürotelyal karsinomların aksine nükleer polarite, boyut, şekil ve kromatin dağılımındaki varyasyonlar şiddetlidir. Çekirdeklerde irregüler kromatin dağılımı ve orta ve şiddetli düzeyde boyut farklılıkları ile ortaya çıkan pleomorfizm vardır. Çekirdekçikler belirgindir. Mitotik aktivite siktir, mitoz yüzey dahil olmak üzere herhangi bir seviyede izlenebilir, atipik mitoz görülebilir. Ürotelyumun kalınlığı değişken olabilir ve hücreler arasında sıklıkla diskohezyon gözlenir<sup>27</sup> (Şekil 2.4).



**Şekil 2.4:** Yüksek dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom.

## 2.6 Mesane Kanserlerinin Patogenezi

Epitel kökenli tümörlerin büyük bir kısmının hücre büyümesini, yaşamını, programlı hücre ölümünü ve hücreler arasındaki etkileşimi sağlayan önemli genlerde meydana gelen ardışık mutasyonlar sonucu, tek bir yolak üzerinden geliştiklerine inanılmaktadır<sup>28,29</sup>. Bununla birlikte klinik ve patolojik çalışmalar ürotelyal karsinomların birbirinden ayrı en az iki farklı yoldan geliştiğine işaret etmektedir<sup>30</sup>.

Mesanenin ürotelyal neoplazisi biyolojik davranışları ve prognozları tamamen ayrı olan temel iki fenotipik grubun meydana getirdiği heterojen bir antitedir. Düşük dereceli papiller grup (ürotelyal papillom (ÜP), düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazm (DMPÜN) ve düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom) ürotelyal neoplazilerin yaklaşık %80 kadarını oluşturur<sup>27</sup>. Sıklıkla multifokal ve rekürren olup kasa invazyon potansiyeli düşük lezyonlardır. Bu lezyonların ürotelyal hiperplaziden köken aldıkları düşünülmekte, erken intravezikal immünoterapi aldıklarında 5 yıllık sağ kalım oranı %90'lara ulaşmaktadır. Non-invaziv düşük dereceli papiller ürotelyal neoplaziler sadece birkaç genomik bozukluk içerirler ve bu nedenle de "genetik olarak stabil" kabul edilmektedirler<sup>31,32,33,34</sup>. Çoğu zaman kromozomun tümünü kapsayan kromozom 9 kayıpları ve FGFR-3 (fibroblast büyüme faktör reseptörü-3) mutasyonları bu tümörlerde izlenen en sık genetik değişikliklerdir. Gen amplifikasyonları ve TP53 mutasyonları nadirdir<sup>32,35,36,37,38,39</sup>. Anöploidi %50'den azdır<sup>40,41,42</sup>.

Diğer grup (yüksek dereceli varyant), ürotelyal neoplazilerin yaklaşık %20'sini oluşturur. İnvazyon gösteren tümörler ve yüksek dereceli tümörler, non-invaziv düşük dereceli papiller ürotelyal neoplazilerden (NIPUN) belirgin olarak farklıdır. Genellikle düşük dereceli ürotelyal karsinom öyküsü bulunmaz, de-novo ya da ürotelyal karsinoma in-situ (ÜKİS) zemininde gelişirler. Radikal sistektomi ve sistemik kemoterapiye rağmen bu hastaların en az %50'si metastaz nedeni ile iki yıl içerisinde kaybedilmektedirler<sup>43,44</sup>. Genetik olarak stabil değildirler. Sıklıkla yüksek derecelerde onkogen amplifikasyonları ve TP53 mutasyonlarını içeren çok sayıda

farklı kromozomal anomalilere sahiptirler<sup>45,46,47,48</sup>. Anöploidi %90'ın üzerinde izlenir<sup>40,42</sup>.

### 2.6.1 Kromozomal Anomaliler

Kromozom kaybı, delesyon ve amplifikasyonları içeren, hemen hemen tüm kromozomları etkileyen aberasyonlar ürotelyal karsinomlarda siktir<sup>49</sup>. Dokuzuncu kromozomun total veya parsiyel kaybı non-invaziv düşük dereceli papiller ürotelyal neoplazilerde görülen en sık kromozomal bozukluktur<sup>31</sup>. Y kromozomunun kaybı bu lezyonlarda ikinci sırada gelir<sup>34,50</sup>. Bununla birlikte mesane kanseri öyküsü bulunmayan olgularda da izleniyor olması nedeni ile Y kromozom kaybının biyolojik önemi açık değildir<sup>50</sup>. Yüksek dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinomlar (YDNİPÜK) ve ÜKİS düşük dereceli neoplazilerden oldukça farklıdır. Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (KGH) çalışmaları ile 18 pTaG3 olguda 2q, 5q, 10q ve 18q'da delesyon yanı sıra 5p ve 20q'da kazanım olduğu gösterilmiştir<sup>34</sup>. Başka bir çalışmada 31 ÜKİS olgusunda farklı lokuslarda yüksek sıklıkta heterozigosite kaybı (HK) saptanmıştır. Bu çalışmada HK ağırlıklı olarak 3p, 4q, 5q, 8p, 9p,11p,13q, 14q, 17p ve 18q bölgelerindedir.

#### 2.6.1.1 Kromozom 9

Ürotelyal karsinogenezin erken basamaklarından itibaren sitogenetik, HK analizleri, KGH ve array KGH gibi birbirinden bağımsız yöntemlerle kromozom 9'un her iki kolunda da delesyonlar saptanması, non-invaziv düşük dereceli papiller ürotelyal neoplaziler ile yüksek dereceli kanserler arasında benzer sıklıkta kromozom 9 kayıpları izlenmesi bu kromozom üzerindeki çalışmaların yoğunlaşmasına, bu kromozom üzerinde lokalize, kanser gelişimini başlatabilecek tümör baskılayıcı genlerin araştırılmalarına neden olmuştur<sup>51,52,53</sup>. Mikrosatellite analizleri kullanılarak yapılan haritalama çalışmalarında ürotelyal karsinomlarda çok sayıda ortak HK bölgeleri tanımlanmıştır<sup>51,54,55,56</sup>. Bunlardan ikisi hücre siklus kontrol genleri p16 ve p14<sup>ARF</sup>ü kodlayan siklin bağımlı kinaz inhibitörü 2A (CDKN2A) ve p15'i kodlayan CDKN2B'nin bulunduğu 9p21 bölgesinde tanımlanmıştır<sup>55</sup>. CDKN2B'ye göre CDKN2A'da homozigot delesyonlarının daha yüksek olması 9p21

delesyonlarında p16/ p14<sup>ARF</sup>'nin hedef bölge olabileceğine işaret etmektedir<sup>55</sup>. p16 Rb yolağının, p14<sup>ARF</sup> ise p53 yolağının negatif düzenleyicileridirler. CDKN2A'yı kapsayan nokta mutasyonlar ürotelyal kanserlerde nadir izlenmekle birlikte bu tümörlerin %30-50'sinde heterozigot ve homozigot delesyonlar saptanmıştır<sup>57,58</sup>. Jones ve arkadaşları ürotelyal tümör örneklerinin %67'sinde CDKN2A'nın 5'CpG bölgesinin metile olduğunu ve bu metilasyonun gen ekspresyon kaybı ile korele olduğunu göstermiştir<sup>59,60</sup>.

Diğer kabul gören tümör baskılayıcı gen bölgeleri PTCH (*Patched Drosophila* homologu), DBCCR-1 (mesane kanser kromozom bölgesinde delesyona uğramış aday-1) ve TSK-1 (Tüberoskleroz kompleks gen-1) olup 9q13-q31, 9q32-q33 ve 9q34 üzerinde haritalanmaktadır<sup>61</sup>. PTCH mutasyonları sık olmamakla birlikte<sup>62</sup> %40'lara varan oranlarda papiller ürotelyal tümörlerde 9q22'de HK saptanmış ve bu tümörlerde mRNA ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir<sup>62,63</sup>. Mesane kanserlerinin yaklaşık %50'sinde DBCCR-1 geninde<sup>64,65</sup> ve %10'unda TSK-1 geninde delesyon saptanmıştır<sup>66</sup>.

## 2.6.2 Onkogenlerin aktivasyonu

Bu güne kadar yapılan araştırmalar yüzeysel papiller ürotelyal tümörlerin patogeneğinde, özellikle de başlangıç aşamasında Harvey sıçan sarkoma viral onkogen homolog geni (H-RAS), fibroblast büyüme faktör reseptör-3 (FGFR-3) ve PIK3CA (Fosfoinozitol 3 kinaz katalitik alfa peptid) onkogenlerinde mutasyonların etkin olduğuna işaret etmektedir<sup>67,68,69,70,71,72,73,74,75</sup>.

### 2.6.2.1 Tirozin Kinaz Reseptörü (RTK)- Harvey sıçan sarkoma viral onkogen homolog geni (H-RAS) yolağı

RTK-RAS yolağı epitelyal hücrelerin çoğalması ve yenilenmesinde, mitojenik sinyallerin hücre yüzeyinden çekirdeğe iletilmesinde merkezi rol almaktadır<sup>76</sup>.

#### 2.6.2.1.1 H-RAS

RAS küçük G proteinleri ailesinden olup guanozin nükleotidlerine (guanozin difosfat (GDP) ve guanozin üç fosfat (GTP)) bağlanır. H-RAS ürotelyal karsinomlarda

tanımlanan ilk onkogen olup sıklıkla kodon 12, 13 ve 61'de aktive edici mutasyonlar içermektedir<sup>77</sup>.

#### 2.6.2.1.2 FGFR

FGFR ailesi 4 adet (FGFR-1 – FGFR-4) yüksek afiniteye sahip hücre yüzey reseptöründen oluşur. Bu aile içerisinde FGFR-3'ün aktive edici mutasyonları, en yaygın olarak üzerinde çalışılan mutasyonlardır. Düşük dereceli ürotelyal neoplazilerin yaklaşık %70'inde FGFR-3 mutasyonları tespit edilmiş ve bu mutasyonlar düşük dereceli ürotelyal neoplazi patogenezi ile yakından ilişkili bulunmuştur<sup>78,79,80</sup>. Ürotelyal tümörlerde tespit edilen FGFR-3 mutasyonlarının hemen tümü ekstrasellüler, transmembran ve/ veya sitoplazmik parçalardaki aminoasitlerin yer değiştirmesine neden olan yanlış anlam (*missense*) mutasyonlarıdır<sup>78,81,82</sup>.

Mutasyonlar sonucu aktive olan FGFR-3, onkogenik etkisini RAS iletim yoluğ üzerinden gösterir. NIH-3T3 hücrelerinde mutant FGFR-3'lerin zorunlu ekspresyonu aktive H-RAS'ın etkisine benzer şekilde hücre transformasyonuna ve MAPK (mitojen aktive edici protein kinaz) aktivasyonuna neden olmaktadır<sup>83,84</sup>. FGFR-3, RTK-RAS yoluğının aktivasyonu yanı sıra fosfotidilinozitol 3- kinaz'ı (PI3K) da uyarabilme yeteneğine sahiptir.

FGFR-3 ve RAS muhtemelen aynı yol ile RTK-RAS yoluğını aktive ettikleri için bu genlerde eş zamanlı mutasyonlar izlenmez<sup>71</sup>.

FGFR-3 dışında epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR), ERBB2 (HER2), ERBB3 ve ERBB4 gibi diğer RTK'lar da ürotelyal karsinomlarda aşırı eksprese edilmektedirler. EGFR ve ERBB2'nin aşırı ekspresyonu daha sıklıkla invaziv kanserlerle ve kötü prognozla ilişkili iken<sup>85,86,87</sup>, ERBB3 ve ERBB4'ün aşırı ekspresyonu düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinomlarla ilişkili bulunmuştur<sup>88</sup>.

### 2.6.2.2 Fosfotidil inozitol 3 Kinaz (Pİ3K)/Akt/ Rapamisinin memeli hedefi (mTOR) yolağı

Fosfotidil inozitol 3 Kinaz (Pİ3K)/ Akt/ Rapamisinin memeli hedefi (mTOR) yolağı hücre büyümesini, yaşamını ve çoğalmasını kontrol eden önemli yollardan biridir<sup>89,90,91</sup>.

Pİ3K, fosfotidilinozitol üç fosfatı (PIP<sub>3</sub>) sentezleyerek Akt'ı aktive eder ve bu şekilde sinyal iletimini başlatmış olur. Pİ3K/ Akt/ mTOR, büyüme faktörleri, mitojenler, hormonlar ve besinler tarafından aktive edilebilirken<sup>92</sup>, PIP<sub>3</sub>'ün fosfataz ve tensin homologu (PTEN) tarafından defosforile edilmesi sureti ile Akt'ın aktivasyonu engellenir ve yolak baskılanır.

Akt, hedef alt basamağı olan ve 2 farklı kompleksten meydana gelen mTOR'un (mTORC-1 ve mTORC-2) regülatörüdür. mTORC-2 *feed back* mekanizması ile Akt'ı doğrudan aktive ederken mTORC-1 yolağı hücre büyümesini düzenler<sup>93</sup>. Aktive Akt, "sıklıkla beyinde bulunan Ras homologu" (Rheb) proteinini negatif regüle ederek tümör baskılayıcı gibi davranan Tüberoskleroz kompleksi'ni (TSK) inaktive eder. TSK'nin baskılayıcı etkisinden kurtulan Rheb mTORC-1'i aktive eder<sup>94,95</sup>. Aktif hale gelen mTORC-1, daha alt basamaklardaki p70S6 kinaz-1'i aktif hale getirir. p70S6 kinaz-1, 40S ribozomal subünitinin parçası olan ribozomal protein S6'yı fosforilleyerek protein sentezinin başlamasına neden olur. mTORC-1'in ökaryotik translasyon başlatıcı faktörü 4E- bağlayıcı protein 1'i (4E-BP1) fosforillemesi ise, 4E-BP1'i inaktive ederek hücre siklusunun ilerlemesi için gerekli olan messenger RNA'nın translasyonunu başlatır<sup>96</sup>.

Akt'ın aktivasyonu aynı zamanda p27<sup>kip1</sup>'i (p27) azaltarak hücre siklusunun progresyonuna<sup>97</sup> ve c-MYC'in up-regülasyonuna neden olarak hücre proliferasyonunu tetikler<sup>98</sup>.

c-MYC'in up-regülasyonu siklin bağımlı kinazlara etki ederek hücreyi proliferasyona sürükler. Siklin D ailesinin bir üyesi olan siklin D3 hücre siklusunun düzenlenmesinde görev alır. CDK4 ve CDK6 ile kompleks oluşturarak Rb proteininin fosforilasyon yolu ile inaktivasyonuna neden olur. İnaktive olan Rb proteinini E2F-1'in



serbest kalmasına, sonuçta da hücrenin G1 fazından S fazına geçişine olanak sağlar. Lenfoma, meme kanserleri, renal hücreli kanserler ve melanom gibi malign kanserlerde siklin D3'ün aşırı eksprese olduğu, düzenleyici etkisinin ortadan kalktığı gösterilmiştir. pTa ve pT1 mesane tümörlerinde hücre siklus düzenleyicilerinin progresyon ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmalarda siklin D3 proteininin aşırı ekspresyonu izlenmiş ve bunun büyük tümör boyutu, yüksek tümör derecesi ve artmış progresyon riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur<sup>99,100</sup>.

PI3KCA tarafından kodlanan proteinlerin PTEN/ Akt sinyal iletim yolağının başlatılmasında görev aldıkları anlaşılmıştır<sup>75</sup>. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda DDPK'lerde %10'lara varan oranlarda PI3KCA geninde nokta mutasyonlar saptanmıştır<sup>75</sup>.

Prostat ve böbrek kanserleri gibi genitoüriner kanserleri de içine alan birçok solid organ tümöründe mTOR yolağının aktive olduğu gösterilmiştir<sup>89,101,102,103</sup>. Ayrıca mTOR yolağının anahtar üyeleri olan Akt, mTOR ve S6'nın aktive (fosforile) formları tüm ürotelyal karsinom hücre kültürlerinde pozitif saptanmıştır<sup>104,105</sup>. Ek olarak ürotelyal karsinomlarda immünohistokimyasal olarak da fosforile mTOR (phos-mTOR), phos-Akt ve phos-S6'nın aşırı ekspresyonu ile PTEN kaybı gösterilmiştir<sup>93,105,106,107,108</sup>.

### **2.6.3 Tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu**

Düşük dereceli papiller ürotelyal kanserlerin aksine ÜKİS ve invaziv kanserlerde TP53, Rb ve PTEN gibi tümör baskılayıcı genlerde mutasyonlar saptanır<sup>109,110,111,112,113,114,115,116</sup>. Bu mutasyonların sebep olduğu genetik instabilite ve antiapoptotik fenotip kritik fizyolojik fonksiyonların kaybına ve çok sayıda genetik bozukluğun akümüülasyonuna neden olur. Aşağıda tanımlanan bu 3 yolağın mesane kanser progresyonunda rol aldığı bilinmektedir<sup>110</sup>.

#### **2.6.3.1 p53**

17p23 üzerinde lokalize olan TP53, DNA hasarlarını tanıma ve buna yanıt oluşturmanın yanı sıra apoptozisi denetleyen genlerin ekspresyonunu da kontrol

etmekle görevlidir<sup>117</sup>. Tümör baskılayıcı gen TP53 bozukluklarının mesane kanserlerinde tümör evresi, tümör derecesi ve hastalık seyri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir<sup>118</sup>. İmmünohistokimyasal boyamada P53'ün güçlü nükleer ekspresyonu ile TP53'teki mutasyonlar arasında korelasyon olduğu saptanmıştır<sup>45,114</sup>.

### **2.6.3.2 Rb**

İnsan kanserlerinde tanımlanan ilk tümör baskılayıcı gen retinoblastomdur. 13q14 üzerinde lokalize olan Rb geni hücre siklusunun negatif düzenleyicisi görevini gören nükleer pRb'yi kodlamaktadır. Kasa invazyon gösteren mesane tümörlerinin %30-80 kadarında Rb'nin inaktive olduğu gösterilmiştir<sup>119,120,121,122</sup>. Rb delesyonları olan tümörlerde pRb ekspresyonunun kaybolduğu, bunun kötü prognoz ve agresif seyir ile ilişkili olduğu saptanmıştır<sup>111,112</sup>. Ayrıca immünohistokimyasal kuvvetli ve homojen nükleer boyanmanın inaktif hiperfosforile pRb'ye karşılık geldiği ve bunun siklin D1 aşırı ekspresyonu veya p16 delesyonu ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır.<sup>113</sup>

### **2.6.3.3 PTEN**

PTEN'in kromozom 10q23.3 üzerinde lokalize tümör baskılayıcı gen olduğu tahmin edilmektedir. Kasa invazyon gösteren mesane kanserlerinde %20-30'lara varan oranlarda 10q23 bölgesinde HK izlenmesi PTEN'i iyi bir tümör baskılayıcı gen adayı yapmaktadır<sup>123</sup>. Mesanenin ürotelyal kanserlerinin %50-70'inde PTEN ekspresyon kaybı saptanmış ve kayıp invazyon ile ilişkili bulunmuştur<sup>124,125,126</sup>.

## **2.7 Prognostik faktörler**

Yüzeysel mesane tümörlerinde klinikopatolojik parametrelerin rekürrens ve progresyon ile ilişkisinin araştırıldığı birkaç çalışma mevcuttur. Bunlarda ağırlıklı olarak eski sınıflama (1973 DSÖ sınıflaması) kullanılmıştır.

### **2.7.1 Rekürrens ile ilişkili risk faktörleri**

Rekürrensi öngörmede en çok öne çıkan klinik parametrelerden biri, ilk tanıda birden fazla odakta tümör saptanması olmuştur<sup>127,128,129,130,131</sup>. Soliter gelişim gösteren çok düşük dereceli lezyonların (yani ÜP ve DMPÜN'ların) lokal rezeksiyonu

sonrasında rekürrens riskinin düşük olduğu, bununla birlikte multifokal lezyonlarda rekürrens riskinin önemli derecede arttığı gösterilmiştir<sup>132,133</sup>. Rekürrens ile ilişkili bulunan bir diğer faktör tümör boyutu olmuştur. Tümör çapı 30 mm'nin üzerinde olan olgularda rekürrens riskinin arttığı gösterilmiştir<sup>127,128,134,135</sup>. Bu parametrelere ek olarak ilk tanıdan sonra 3-4 ay içinde sistoskopi ile muayenede tümör saptanan hastaların nüks riskinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir<sup>127,129,130</sup>.

### **2.7.2 Progresyon ile ilişkili risk faktörleri**

Mesane kanserlerinde progresyon riskini arttıran en önemli klinikopatolojik parametre tümörün patolojik evresidir<sup>136,137</sup>. Yüzeysel mesane kanseri hastalarının 5 yıllık sağ kalım şansı %90'ın üzerinde iken, derin invazyon gösteren hastalarda bu oran %45-55 arasında değişmektedir<sup>138,139</sup>. Yüzeysel tümörler sıklıkla düşük dereceli iken derin invazyon gösteren tümörler büyük oranda yüksek derecelidirler<sup>140</sup>. Aynı patolojik evrede olan, ancak farklı derecelerdeki tümörlerin prognozlarının farklı olduğu bilinmektedir. Birçok çalışma aynı patolojik evredeki tümörlerde histopatolojik derecelendirmenin progresyonu ön görmede bağımsız risk faktörü olduğunu göstermiştir<sup>141,142,143,144,145,146</sup>.

Progresyon ile ilişkili bulunan bir diğer parametre hücre proliferasyon hızıdır. Bazı çalışmalarda, özellikle düşük dereceli tümörlerde, progresyonu ön görmede yüksek mitotik aktivitenin bağımsız risk faktörü olduğu gösterilmiştir<sup>147,148,149,150,151,152</sup>. Ki-67 ile yapılan çalışmalarda, düşük dereceli tümörlerdeki Ki-67 pozitif hücrelerin oranı immünohistokimyasal olarak belirlenmiş ve benzer sonuçlar elde edilmiştir<sup>153</sup>.

### **3 GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1 Olgu Seçimi**

Bu çalışma için 2000-2010 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (HÜTF) Patoloji Anabilim Dalı'nda incelenen ve mesanede "Papiller Ürotelyal Neoplazi/ Karsinom" tanısı alan tüm olgular gözden geçirildi. Olguların ilk tanısının HÜTF Patoloji bölümünde konmuş olması ve en az bir yıllık klinik takibinin bulunması çalışmaya alınma koşulu olarak belirlendi. İlk rezeksiyon materyalinde invazyon veya invazyon şüphesi olanlar, ürotelyal karsinoma in-situ (ÜKİS)'nin eşlik ettiği olgular, tanı anında, öncesinde veya takipleri esnasında üst üriner sistem ürotelyal karsinom tespit edilenler ve ürotelyal papillomlar çalışma dışı bırakıldı.

Yukarıda tanımlanan kriterleri karşılayan 115 olgunun tamamı tez çalışmasına dahil edildi.

#### **3.2 Klinik**

Hastalara ait klinik bilgiler, hasta takipleri ve hastaların son durumları hakkında veri toplamak için HÜTF Hastaneleri Bilgisayar Ağı Veri Giriş Sistemi kullanıldı. Aşağıda belirtilen bilgiler elde edilebilen her hasta için kaydedildi: Doğum tarihi, cinsiyet, öz geçmiş, soy geçmiş, başvuru şikayeti, tümör lokalizasyonu, tümör odak sayısı, tümör boyutu, prostatik üretra tutulumu, nüks varlığı/ sıklığı, progresyon olup olmadığı, hastalığı nedeni ile aldığı tedavi ve takip süresi.

Tümör odak sayısı, tümör lokalizasyonu ve tümör boyutu ile ilgili verilere olguya ait sistoskopi, radyolojik tetkik sonuçları, kısa ameliyat notları ve patoloji raporlarındaki klinik bilgilerden ulaşıldı. Tümör odak sayısı 3 kategori altında toplandı:

- 1) Ünifokal: tümör tek odakta izlendi ise,
- 2) Multifokal: tümör birden fazla odakta gelişmiş ise,
- 3) Yaygın: tümör tüm mesane mukozasında yaygın gelişim gösterdiyse.

Ünifokal gelişim gösteren tümörler için en geniş tümör çapı milimetre cinsinden kaydedildi. Multifokal ve yaygın gelişim gösteren tümörlerde tümör boyutu olarak, en büyük tümör odağının çapı kullanıldı ve milimetre cinsinden kaydedildi.

Hastanın tanı aldığı günden itibaren ilk rekürrensiz izlendiği güne kadar geçen süre "hastaliksız sağ kalım" olarak tanımlandı.

İlk tanıdan 2. ayın sonuna kadar tespit edilen tümörler rezidü, daha sonra saptananlar "rekürrens" olarak kabul edildi.

"Rekürrens hızı" bir yıl içindeki toplam rekürrens sayısı olarak belirlendi.

Hastaların takip biyopsilerinde bir üst dereceye ve/ veya evreye atlamaları "progresyon" olarak kabul edildi.

### **3.3 Histomorfoloji**

115 hastaya ait toplam 398 patoloji raporu mevcuttur. Bir rezeksiyon materyaline ait hematoxilen-eozin (H&E) preparat ve parafin bloklar patoloji arşivinde bulunamadı. 397 materyalin H&E kesitleri HÜTF Patoloji A.D arşivinden çıkarıldı ve yeniden ışık mikroskopunda değerlendirildi. Mikroskopik inceleme rekürren lezyonlarda olguların daha önceki tanısı hakkında bilgi sahibi olmaksızın yapıldı. Tüm tanılar yukarıda tanımlanan 2004 DSÖ/ İÜPG klasifikasyonuna göre güncellendi. Hem düşük, hem de yüksek dereceli alanlar içeren karsinomlarda yüksek dereceli komponent  $\geq 5\%$  ise tümör yüksek,  $< 5\%$  ise düşük dereceli olarak kategorize edildi; düşük dereceli olarak sınıflananlarda yüksek dereceli alanların varlığı ve oranı kaydedildi.

Tümörler mitoz sayısı, apoptoz, nekroz varlığı, nükleol belirginliği ve yüksek dereceli komponent mevcudiyeti açısından değerlendirildi.

Mitoz ölçümünde 400x objektif kullanılarak 10 alanda mitoz (mitoz/10 BBA) sayıldı. Mitotik aktivite 3 grupta sınıflandırıldı:

1) Düşük mitotik aktivite: mitoz sayısı  $\leq 1/10$  BBA,

2) Orta derecede mitotik aktivite: mitoz sayısı 2/10 BBA - 9/ 10 BAA

3) Yüksek derecede mitotik aktivite: mitoz sayısı  $\geq 10/ 10$  BBA

Apoptoz varlığı 40x büyütme ile taramada apoptotik cisimlerin izlenmesi esas alınarak 2 grupta toplandı: 1) Apoptotik cisim yok, 2) Apoptotik cisim var.

Tümörler nekroz içerip içermemelerine göre 2 grupta değerlendirildi.

Nükleol belirginliği; 100x, 200x ve 400x objektifler kullanılarak nükleolün bu büyütmelelerde seçilebilir olması esas alınarak 3 grupta sınıflandırıldı:

- Derece 1; 400x büyütmede nükleolün seçilmesi,
- Derece 2; 200x büyütmede nükleolün seçilmesi,
- Derece 3; 100x veya daha küçük büyütmede nükleolün seçilmesi.

Tüm diğer morfolojik özellikler (endofitik / ekzofitik büyüme paterni, sitoplazmik boyanma özellikleri, skuamöz veya glandüler farklılaşma, mikropapiller yapılanma, solid büyüme, neoplastik hücrelerde içsileşme ve tümörü infiltre eden lenfoid hücre varlığı) ayrıca not edildi.

### **3.4 Doku mikro dizinlerinin hazırlanması**

114 hastanın primer tümörü ile neoplastik ve non-neoplastik takip biyopsilerinin tamamını kapsayan toplam 363 materyalden doku mikro dizin blokları hazırlandı. 115. olgu çalışmaya daha sonradan alındığı için bu hastaya ait 14 biyopsi doku mikro dizinlerine dahil edilemedi. Ayrıca aşağıdaki sebeplerle toplam 21 takip biyopsi materyali mikro dizin dışı kaldı:

- mikro dizinler hazırlandıktan sonra gelen 9 hastaya ait 13 son kontrol rezeksiyon materyali,
- arşivde bulunamadığından 1 hastaya ait takip biyopsi materyali,
- ürotelyal epitel içermeyen 5 adet takip biyopsi materyali ve
- şiddetli takip / tespit artefaktı sergileyen 2 takip biyopsi materyali.

Çalışmaya dahil edilen her spesmen için H-E kesitlerinden tümörü temsil eden iki ayrı alan ve non-neoplastik mukozayı temsil eden bir alan seçilerek

işaretlendi. Bu işaretlere kesitlerin parafin bloklarında karşılık gelen alanlardan 0,6 mm çaplı dokular elde edilerek manuel doku mikrodizin aracı Advanced Tissue Arrayer (ATA100), CTR scientific) ile 7 adet doku mikro dizin bloğu oluşturuldu. Her mikro dizine kontrol maksatlı 26 adet çeşitli insan dokuları veya mesane dışı tümör örnekleri sistematik bir düzende ilave edildi. Oluşturulan bloklardan (+) yüklü lamlara, immünohistokimyasal çalışmalar için 5 mikrometre ve in-situ hibridizasyon için 4 mikrometre kalınlıkta kesitler alındı.

### **3.5 İmmünohistokimya**

PTEN, phos-Akt, phos-mTOR, phos-S6, phos-4E-BP1, p27, c-MYC, siklin D1, siklin D3, p53, p63, 34BE12, SK-20, SK-7, sinaptofizin, kromogranin ve Ki-67 ekspresyonları immünohistokimyasal boyamalarla değerlendirildi.

Kullanılan antikorların özellikleri Tablo 3.1’de verilmiştir. Dilüsyonlar ve optimum boyama tekniği uygun pozitif ve negatif kontroller kullanılarak ayarlandı. Formalin tespitli parafine gömülü dokulardan elde edilen 5 mikron kalınlığındaki kesitlere, üretici firmanın önerileri göz önüne alınarak standart immünohistokimyasal boyama tekniği uygulandı: Özetle, deparafinizasyon, dehidratasyon, endojen peroksidaz inaktivasyonu ve antikorlar için uygun antijen açığa çıkarma yöntemleri sonrasında kesitler yarım saat oda ısısında primer antikor ile inkübe edildi. Ardından camlara biotinlenmiş sekonder antikor ve sonra streptavidin konjuge horseradish peroksidaz (Ultra Tek HRP Anti-Polyvalent Alb Pack, ScyTek) uygulandı ve diaminobenzidin (DakoCytomation) kromojeni ile işaretleme gerçekleştirildi.

**Tablo 3.1:** Kullanılan antikorların özellikleri.

Antikor	Sağlayıcı	Klon	Dilüsyon	Antijen açığa çıkarma
PTEN	Cell Signaling	D4.3	1:100	EDTA*
phos-Akt	Cell Signaling	736E11	1:50	EDTA*
phos-mTOR	Cell Signaling	49F9	1:50	EDTA*
phos-S6	Cell Signaling	Polyclonal	1:200	EDTA*
phos-4EBP-1	Cell Signaling	Thr70	1:50	EDTA*
p27	Transduction Laboratories	57	1:4000	Sitrat**
c-MYC	Epitomics	Y69	1:300	EDTA*
Siklin D1	Cell Marque	SP4	1:300	EDTA*
Siklin D3	Neomarkers	MS-215-P1	1:25	Sitrat**
p53	Biocare Medical	CM042C	1:100	EDTA*
p63	Biocare Medical	CM163B	1:100	EDTA*
34BE12	Leica	NCL-SK34BE12	1:100	EDTA*
SK-20	Invitrogen	Ks20.8	1:200	EDTA*
SK-7	Biocare Medical	CM061C	1:200	EDTA*
Sinaptofizin	Novocastra	NCL-L-SYNAP-299	1:100	Sitrat**
Kromogranin	Neomarkers	SP12	1:200	EDTA*
Ki-67	Thermo	RM-9106-S1	1:500	EDTA*

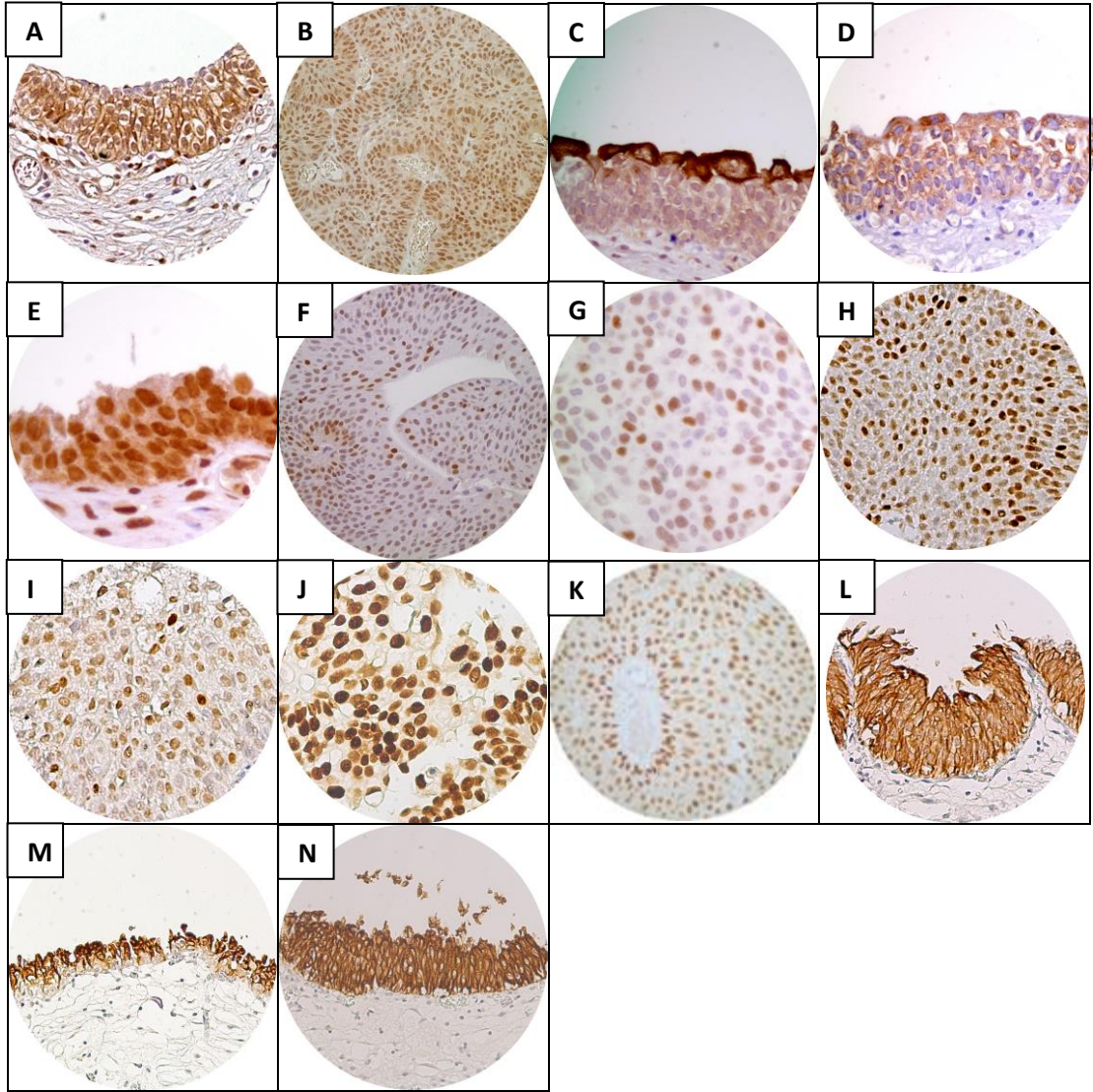
PTEN: Fosfatase ve tensin homologu, phos-Akt: Fosforile protein kinaz B, phos-mTOR: Fosforile rapamisinin memeli hedefi, phos-S6: Fosforile S6 protein, phos-4E-BP1: Fosforile ökaryotik transkripsiyon başlama faktörü 4E- bağlayıcı protein 1, SK: Sitokeratin.

\*Basınçlı kaptaki pH=8 EDTA solüsyonunda 3 dakika.

\*\*Basınçlı kaptaki pH=6 sitrat solüsyonunda 3 dakika.

İmmünohistokimyasal boyamaların sonuçları değerlendirilirken 200x objektif kullanıldı. Değerlendirmede her bir belirteç için uygun boyanma paterni (nükleer, sitoplazmik) göz önüne alındı. Ki-67 için pozitif hücre oranı yüzde olarak belirlendi. p53 için epitelin bazal üstü kesimlerinde ve %10'un üzerinde nükleer boyanma pozitif olarak kabul edildi. p63 için %10'un üzerinde nükleer boyanma pozitif olarak kabul edildi. Diğer belirteçlerde boyanma şiddeti 4 gruba kategorize edildi (0: negatif, 1+: zayıf pozitif, 2+: orta şiddette pozitif, 3+: kuvvetli pozitif). Ayrıca her bir boyama için tümörde ve non-neoplastik epitelde pozitif hücre yaygınlığı yüzde olarak kaydedildi. İmmünohistokimyasal belirteçlerin boyanma paternleri Şekil 3.1'de belirtilmiştir.





**Şekil 3.1:** İmmünohistokimyasal belirteçlerin boyanma paternleri: A) Sitoplazmik/ nükleer PTEN ekspresyonu (immünohistokimya, anti PTEN Ab, 200x). B) Nükleer phos-Akt ekspresyonu (immünohistokimya, anti phos-Akt Ab, 100x). C) Sitoplazmik phos-mTOR ekspresyonu (immünohistokimya, anti phos-mTOR Ab, 400x). D) Sitoplazmik phos-S6 ekspresyonu (immünohistokimya, anti phos-S6 Ab, 400x). E) Nükleer phos-4E-BP1 ekspresyonu (immünohistokimya, anti phos-4E-BP1 Ab, 400x). F) Nükleer p27 ekspresyonu (immünohistokimya, anti p27 Ab, 200x). G) Nükleer c-MYC ekspresyonu (immünohistokimya, anti c-MYC Ab, 400x). H) Nükleer siklin D1 ekspresyonu (immünohistokimya, anti siklin D1 Ab, 400x). I) Nükleer siklin D3 ekspresyonu (immünohistokimya, anti siklin D3 A,b 400x). J) Nükleer p53 ekspresyonu (immünohistokimya, anti p53 Ab, 400x). K) Nükleer p63 ekspresyonu (immünohistokimya, anti p63 Ab, 200x). L) Sitoplazmik 34BE12 ekspresyonu (immünohistokimya, anti 34BE12 Ab, 400x). M) Sitoplazmik SK20 ekspresyonu (immünohistokimya, anti SK20 Ab, 200x). N) Sitoplazmik SK7 ekspresyonu (immünohistokimya, anti SK7, 200x).

Boyamaların istatistiksel analizi için “H skor” hesaplaması kullanıldı. Buna göre mikrodizinlerdeki her bir doku için boyanma şiddetini gösteren değer (1’den 3’e), o değerde pozitif boyanan hücrelerin oranı (%) ile çarpıldı ve elde edilen rakamlar toplandı ( $H = (1x\%) + (2x\%) + (3x\%)$ ). Dizinlerde her bir neoplastik yapıyı

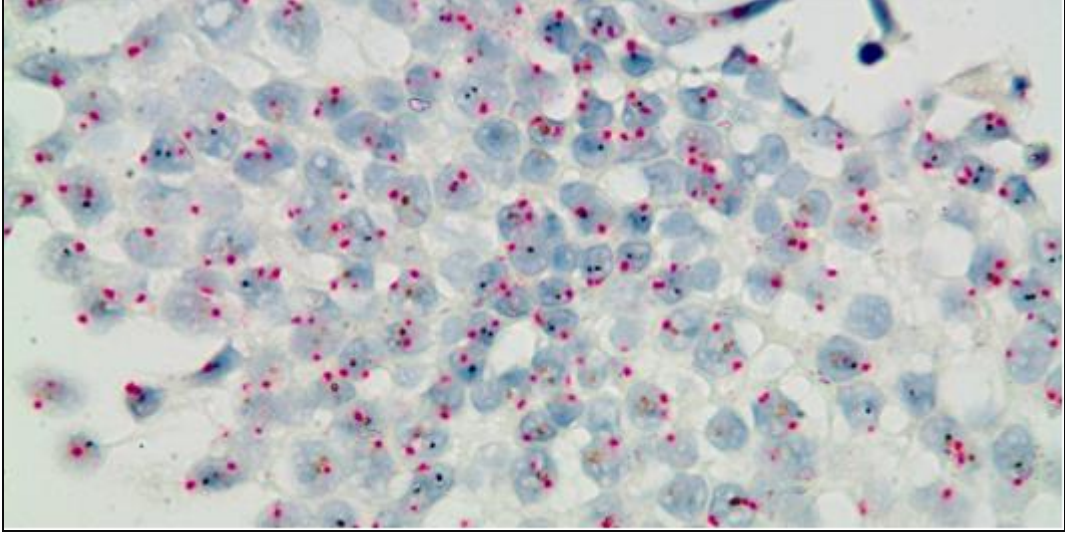
temsil eden iki doku olduğundan çıkan toplamların aritmetik ortalaması “H skor” olarak alındı.

İmmünohistokimyasal çalışmaların sonucunda belirteçlerin farklı tümör tanı kategorilerindeki ekspresyon durumu istatistiksel yöntemlerle karşılaştırıldı. Yanı sıra non-neoplastik mukoza ile tümör arasında da belirteçlerin ekspresyon farklılıklarına bakıldı.

### **3.6 İn-situ hibridizasyon (İSH)**

Doku mikro dizin bloklarından (+) yüklü lamlara alınan 4 mikron kalınlığındaki kesitlere Ventana otomatik boyama platformunda Inform HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail Assay (Ventana, NewYork, USA) kullanılarak, HER2 geni ve kromozom 17 (Kr17) sentromeri için çift renkli in-situ hibridizasyon uygulandı. Yöntemin çalışma prensibi aşağıdaki gibidir:

HER2 genini tanımak için dinitrofenil (DNP) işaretli prob kullanılır ve “ultraView SİSH (gümüş in-situ hibridizasyon) DNP” tanıma kiti ile HER2 ile hibridizasyon ışık mikroskobunda görünür hale getirilir. Kr17 sentromerini tanımak için digoksinin (DIG) işaretli prob kullanılır ve “ultraView Kırmızı ISH DIG” tanıma kiti kullanılarak Kr17 ışık mikroskobunda görünür hale getirilir. HER2 gen kopyaları normalde iki siyah nokta halinde, Kr17 sentromeri ise iki kırmızı nokta şeklinde izlenir (Şekil 3.2).



**Şekil 3.2:** HER2 gen kopyaları iki siyah nokta halinde, Kr17 sentromeri ise 2 kırmızı nokta halinde izlenmektedir (SISH ve Kırmızı ISH, 1000x).

Değerlendirme ışık mikroskopunda 630x objektif kullanılarak yapıldı. 20 hücrede siyah ve kırmızı renkli sinyaller sayıldı. Sinyallerin sayısal oranı elde edildi ve aşağıdaki gibi yorumlandı<sup>154</sup>.

- HER2/Kr17 < 1,8 : HER2 gen amplifikasyonu negatif  
 1,8 ≤ HER2/Kr17 ≤ 2,2 : Borderline HER2 gen amplifikasyonu  
 HER2/Kr17 > 2,2 : HER2 gen amplifikasyonu pozitif kabul edildi.

### 3.7 İstatistiksel analiz

Bağımsız gruplar karşılaştırılırken parametrik varsayımlar sağlandığında iki grup için *t*-testi, grup sayısı ikiden büyük olduğunda ise tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Parametrik varsayımlar sağlanmadığı takdirde iki grup için Mann Whitney U-testi, grup sayısı ikiden büyük olduğunda ise Kruskal- Wallis testi kullanıldı. Nitel değişkenler arasındaki ilişkinin incelenmesinde Pearson ki-kare ve Fisher'in kesin testi kullanıldı. Çok değişkenli analizler için lojistik regresyon ve Cox regresyon yöntemleri kullanıldı. Çok değişkenli analizlerde değişken seçimi için adimsal regresyon yöntemi kullanıldı. Tek değişkenli analizler için anlamlılık düzeyi 0,05 olarak belirlenirken, çok değişkenli analizlerde modele giriş kriteri 0,25 olarak belirlendi. İstatistiksel analiz için IBM SPSS 20 paket programı kullanıldı.

## 4 BULGULAR

### 4.1 Klinik bulgular (Tablo 4.1)

Çalışmaya dahil edilen 115 NIPUN olgusunun 94'ü erkek, 21'i kadındır (E:K=4,5:1). Tanı anındaki hasta yaş ortalaması  $60,5 \pm 11,6$  (aralık, 33–87)'dir. Hastaların ortalama takip süresi  $62 \pm 37$  (aralık, 14–285) aydır. Serimizde hastalığa bağlı ölüm kaydedilmemiştir.

Hastaların kliniğe en sık başvuru nedeni makroskopik hematüriydi (%54). Diğer nedenler dizüri (%4), makroskopik hematüri ve dizüri (%6), makroskopik hematüri ve yan ağrısı (%3,5), prostatizm bulguları (%2) ve suprapubik ağrı (%1) idi. 51 hastada sigara kullanım öyküsü mevcuttu. 20 hastanın özgeçmişinde veya takibinde başka bir primer neoplazi varlığı saptandı. Bunlar larenks skuamöz hücreli karsinomu (4 hasta), prostatik adenokarsinom (4 hasta), B hücreli lenfoma (3 hasta), akciğer karsinomu (2 hasta), mide adenokarsinomu (2 hasta), metastatik malign epitelyal tümör (2 hasta), GİST (1 hasta), infiltratif lobüler karsinom (1 hasta) ve duktal karsinoma in-situ (1 hasta) idi.

Hastaların 6'sında eşlik eden mesane divertikülü, 15'inde nefrolitiazis vardı.

77 hastada tümör boyutuna ait verilere ulaşıldı. En büyük tümör çapı 2 mm ile 80 mm arasında değişmekteydi (ortalama çap  $24,04 \text{ mm} \pm 14,64$ ).

59 hastada tümör ünifokal, 31 hastada multifokaldi. 5 hastada ise tüm mesane mukozasını tutan yaygın küçük odaklar şeklindeydi. 20 olgunun odak sayısına ilişkin bilgiye ulaşılamadı. Prostatik üretra örnekleme 16 hastada yapılmıştır, bunların 5'inde prostatik üretrada tümör saptandı.

Hastaların 47'si intravezikal veya sistemik tedavi almıştır (22'si intrakaviter mitomisin, 16'sı intrakaviter epirubisin, 8'i intrakaviter BCG, 1'i sistemik gemzar + sisplatin).

57 (%49,6) hasta rekürrens göstermiştir. Rekürrens sayısı 1 ile 13 arasında değişmekteydi. 14 hastada (%12,17) rekürren tümörde derece ve/ veya evrede progresyon tespit edildi.

**Tablo 4.1:** Klinik özellikler

<b>Cinsiyet</b>	<b>N (%)</b>
Kadın	21 (%18)
Erkek	94 (%82)
<b>Tanı yaşı</b>	<b>Yıl</b>
Min-maks	33,7-87,4
Ortalama	60,496
<b>Takip süresi</b>	<b>Ay</b>
Min-maks	14-285
Ortalama	61,96
<b>Başvuru şikayeti</b>	<b>N (%)</b>
Makroskobik hematüri	62 (%54)
Dizüri	5 (%4)
Makroskobik hematüri+ dizüri	7 (%6)
Makroskobik hematüri+ yan ağrısı	4 (%3,5)
Prostatizm	2 (%2)
Suprapubik ağrı	1 (%1)
İnsidental	3 (%2,5)
Bilinmiyor	31 (%27)
<b>Sigara kullanım öyküsü</b>	<b>N (%)</b>
Var	51 (%44)
Yok	26 (%23)
Bilinmiyor	38 (%33)
<b>Metakron veya senkron ikinci primer</b>	<b>N</b>
Skvamöz hücreli karsinom, larenks	4
Prostat adenokarsinomu	4
B hücreli lenfoma	3
Akciğer karsinomu	2
Adenokarsinom, mide	2
Metastatik malign epitelyal tümör	2
GİST	1

İnfiltratif lobüler karsinom, meme	1
Duktal karsinoma in-situ	1
<b>Radyolojik Bulgular</b>	N
Nefrolitiazis	15
Divertikül	6
<b>Prostatik üretra tutulumu</b>	N
Var	5 (%4,3)
Yok	110 (%95,7)
<b>İntravezikal tedavi</b>	N (%)
Aldı	47 (%41)
Almadı	68 (%59)
<b>Tümör odak sayısı (n)</b>	N (%)
Ünifokal	59 (%51)
Multifokal	31 (%27)
Yaygın	5 (%4,5)
Bilinmiyor	20 (%17,5)
<b>En büyük tümör odağının lokalizasyonu</b>	N (%)
Yan duvarlar	67 (%58)
Tavan, posterior veta anterior duvar	9 (%8)
Üreter orifis komşuluğu	3 (%3)
Trigon	2 (%1,5)
Mesane boynu	2 (%1,5)
Prostatik üretra	1 (%1)
Bilinmiyor	31 (%27)
<b>En büyük tümör odağının çapı (mm)*</b>	
Min-maks	2-80
Ortalama	24
<b>Rekürrens</b>	N (%)
Var	57 (%49,6)
Yok	58 (%%51,4)
<b>Progresyon</b>	N (%)
Var	14 (%12)
Yok	101 (%88)

\*Olguların 38'inde tümör çapı bilgisine erişilemedi.

## 4.2 Morfolojik bulgular

### 4.2.1 Patolojik Tanı

Çalışmaya dahil edilen 115 hastanın tanıları şöyledir: 8 (%7) DMPÜN, 82 (%71) DDNİPÜK ve 25 (%22) YDNİPÜK. Takip süreci de göz önüne alındığında hastalardan alınan toplam mesane TUR veya biyopsi sayısı 398'dir. Bunların 276'sında ürotelyal neoplazi mevcuttu. Patoloji tanıları Tablo 4.2'de sunuldu.

**Tablo 4.2:** Rezeksiyonların tanısal kategorilere göre dağılımı.

Tanı	N	%
Non-neoplastik ürotelyum	93	23,4
ÜH	21	5,3
ÜP	1	0,2
DMPÜN	31	7,8
DDNİPÜK	185	46,5
ÜKİS	1	0,2
YDNİPÜK	47	11,8
IYDPUK	7	1,8
IDDPUK	4	1
Değerlendirilemeyen	8	2
<b>Toplam</b>	<b>398</b>	<b>100</b>

UH: Ürotelyal hiperplazi, ÜP: Ürotelyal papillom, DMPÜN: Düşük malignite potansiyelli non-invaziv papiller ürotelyal neoplazm, DDNİPÜK: Düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom, YDNİPÜK: Yüksek dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom, ÜKİS: Ürotelyal karsinoma in-situ, IDDPUK: invaziv düşük dereceli papiller ürotelyal karsinom, IYDPUK: invaziv yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinom.

### 4.2.2 Histomorfolojik Özellikler (Tablo 4.3)

Mitoz sayısı 10BBA'da 0 ile 76 arasında değişmektedir. 10BBA'da saptanan ortalama mitoz sayısı YDNİPÜK'larda 16, DDNİPÜK'larda 4 ve DMPÜN'ta 0,4'tür ( $p < 0,0001$ ).

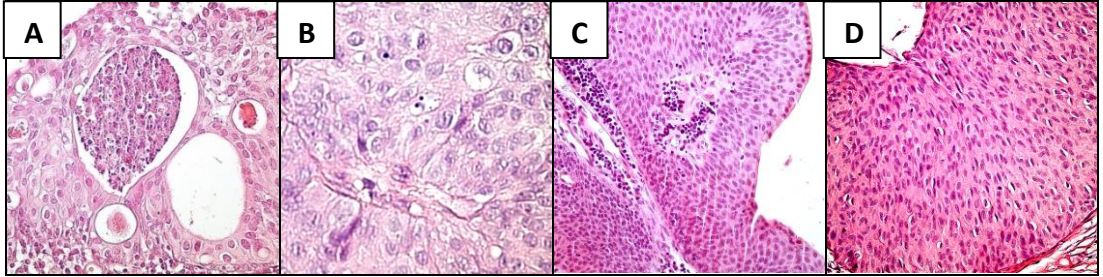
YDNİPÜK'ların 7'sinde (%15), DDPUK'ların 1'inde (%1) ve DMPÜN'ların 1'inde (%3) derece 3 nükleol saptandı ( $p < 0,0001$ ).

Tümörlerin 46'sında (%17,5) tümör içerisinde nekroz odakları saptandı (**Şekil 4.1A**). Bu oran DMPÜN'larda %3 (1 olgu), DDNİPÜK'larda %15 (27 olgu), YDNİPÜK'larda %38 (18 olgu) idi ( $p<0,0001$ ).

Apoptotik cisimler (**Şekil 4.1B**) DMPÜN'ların 3'ünde (%10), DDNİPÜK'ların 122'sinde (%66), YDNİPÜK'ların 39'unda (%83) saptandı. Bu bulgunun tümör histolojik alt tipi ile ilişkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p< 0,0001$ ).

Tümör içi lenfositik infiltrasyon (**Şekil 4.1C**) 136 (%52) olguda mevcuttu. DDNİPÜK'ların %56'sında, YDNİPÜK'ların %45'inde ve DMPÜN'ların %39'unda saptandı ( $p=0,113$ )

Tüm neoplastik rezeksiyon materyallerinden 8'inde (4 DDNİPÜK ve 4 YDNİPÜK) fokal alanlarda neoplastik hücrelerde iğsileşme dikkati çaktı (**Şekil 4.1D**). Düşük dereceli tümörlere kıyasla yüksek dereceli tümörlerde daha fazla izlenen bu değişiklik istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,045$ ).



**Şekil 4.1:** Tümörlerde izlenen histomorfolojik özellikler: A) nekroz odakları (H&E, 400x). B) apoptotik cisimler (H&E, 400x). C) lenfoid hücre varlığı (H&E, 400x). D) iğsi patern (H&E, 400x).



**Tablo 4.3:** Tümör subtipleri arasında farklılık gösteren histomorfolojik bulgular

Değişken	DMPÜN	DDNİPÜK	YDNİPÜK	P
Mitoz sayısı ortalama (SS)	0,4(±0,56)	4(±6)	16(±17)	<0,0001
Nükleol belirginliği drc 1/ drc 2/drc 3	22(%71) / 8(%26) /1(%3)	139(%75,5)/43(%23,5)/2(%1)	24(%51)/16(%34)/7(%15)	<0,0001
Nekroz var/ yok	1(%3)/30(%97)	27(%15)/157(%85)	18 (%38)/ 29(%62)	<0,0001
Apoptoz var/ yok	3 (%10)/ 28 (%90)	122(%66)/62(%34)	39(%83)/8(%17)	<0,0001
İğsileşme var/ yok	0 (%0)/31(%100)	4(%2)/180(%98)	4(%8,5)/43(%91,5)	0,045

DMPÜN: Düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazm, DDNİPÜK: Düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom, YDNİPÜK: Yüksek dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom, SS: standart sapma, drc: derece.

### 4.2.3 İmmünohistokimyasal bulgular (tablo 4.4 ve tablo 4.5)

Doku mikro dizin bloklarında yer alan dokulardan bir kısmının immünohistokimyasal boyamalar esnasında dökülmesi, bir kısım dokuda tümörlü dokunun ya da non-neoplastik ürotelyal mukozanın bitmesi nedeni ile değerlendirilebilen vaka sayıları çalışılan immünohistokimyasal belirteçler arasında farklıdır.

#### 4.2.3.1 PTEN

Sitoplazmik ve/veya nükleer PTEN ekspresyonu 176 tümörde (87'si ilk rezeksiyon materyalidir) ve 29 non-neoplastik ürotelyal mukozada değerlendirilebildi.

Non-neoplastik ürotelyal mukozanın temsil edildiği dokuların hiçbirinde PTEN kaybı görülmedi. Tümör rezeksiyon materyallerinden 8'inde PTEN'de kayıp saptandı. Bunların 1'i yüksek dereceli invaziv papiller ürotelyal karsinom, 3'ü YDNİPÜK, 1'i düşük dereceli invaziv papiller ürotelyal karsinom, 2'si DDNİPÜK ve 1'i DMPÜN idi. Tümör tipi veya evresi ile PTEN kaybı arasında korelasyon izlenmedi.

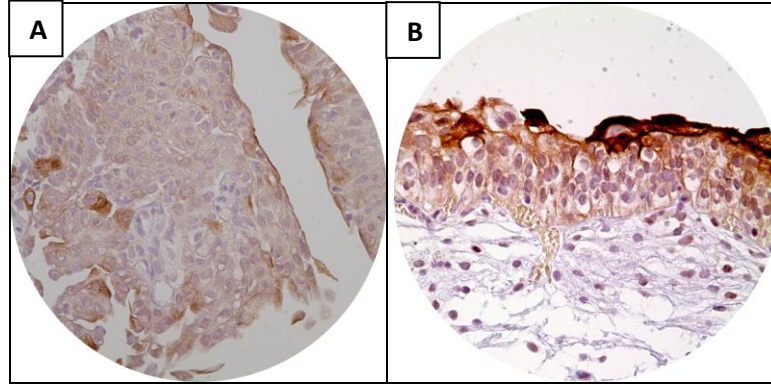
#### 4.2.3.2 Phos-Akt

Nükleer phos-Akt ekspresyonu 176 tümörde (89'u ilk rezeksiyon materyalidir) ve 28 non-neoplastik ürotelyal mukozada değerlendirilebildi. Ekspresyon açısından non-neoplastik mukoza ile tümörler arasında anlamlı fark izlenmedi ( $p=0,240$ ). Tümör kategorileri arasında phos-Akt açısından istatistiksel olarak fark saptanmadı ( $p=0,540$ ).

#### 4.2.3.3 Phos-mTOR

Sitoplazmik phos-mTOR ekspresyonu, 171 tümörde (85'i ilk rezeksiyon materyalidir) ve 27 non-neoplastik ürotelyal mukozada değerlendirilebildi.

Phos-mTOR tümürlü dokuların 11'inde negatifken non-neoplastik mukozal örneklerin tümünde pozitif olup non-neoplastik ürotelyal mukozada daha yüksek, tümürlü dokularda daha düşük seviyelerde eksprese edilmekteydi. Non-neoplastik ürotelyal mukozada phos-mTOR için ortalama H skoru  $149 (\pm 53)$ , neoplastik dokularda phos-mTOR için ortalama H skoru  $115'ti (\pm 58)$  ( $p=0,009$ ) (Şekil 4.2). Phos-mTOR ekspresyon şiddeti ve yaygınlığı açısından tümör kategorileri arasında fark izlenmedi ( $p=0,874$ ).

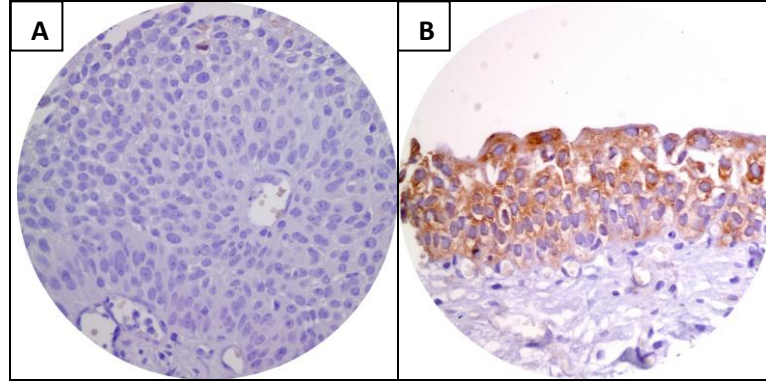


**Şekil 4.2:** Neoplastik doku ile non-neoplastik ürotelyumda phos-mTOR ekspresyonu: A) Yüksek dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinomda düşük phos-mTOR ekspresyonu. B) Non-neoplastik ürotelyal mukozada kuvvetli phos-mTOR ekspresyonu (A ve B; immünohistokimya, anti phos-mTOR Ab, 400x).

#### 4.2.3.4 Phos-S6

Sitoplazmik phos-S6 ekspresyonu 165 tümörde (88'i ilk tanı rezeksiyon materyalidir) ve 29 non-neoplastik ürotelyal mukozada değerlendirilebildi.

Non-neoplastik ürotelyal mukozada phos-S6'nın daha yüksek, tümörlü dokularda daha düşük seviyelerde eksprese edildiği görüldü. Phos-S6 benign dokuların 5'inde, tümörlü dokuların ise 58'inde tamamen negatifti. Non-neoplastik ürotelyal mukozada ortalama H skoru 106 ( $\pm 100$ ), neoplastik dokularda 47 ( $\pm 58$ ) bulundu ( $p=0,003$ ) (Şekil 4.3). Phos-S6 ekspresyon şiddeti ve yaygınlığı açısından tümör kategorileri arasında fark izlenmedi ( $p=0,183$ ).

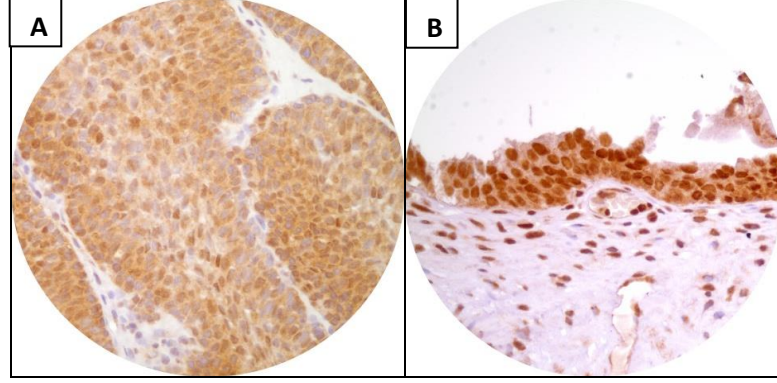


**Şekil 4.3:** Düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinomda (A) ve non-neoplastik ürotelyal mukozada (B) phos-S6 ekspresyonu (A ve B; immünohistokimya, anti phos-S6 Ab, 400x).

#### 4.2.3.5 Phos-4E-BP1

Nükleer phos-4E-BP1 ekspresyonu 176 tümörde (90'ı ilk tanı rezeksiyon materyalidir) ve 29 non-neoplastik ürotelyal mukozada değerlendirilebildi.

Phos-4E-BP1 örneklerin tümünde eksprese edilmekle birlikte non-neoplastik ürotelyal mukozada daha yüksek, tümörlü dokularda daha düşük seviyelerde idi. Non-neoplastik ürotelyal mukozada phos-4E-BP1 için ortalama H skoru 256 ( $\pm 36$ ), neoplastik dokularda 228 ( $\pm 52$ ) idi ( $p=0,005$ ) (Şekil 4.4). Tümör tipleri arasında phos-4E-BP1 ekspresyon farkı saptanmadı ( $p=0,199$ ).



**Şekil 4.4:** Neoplastik doku ile non-neoplastik ürotelyumda phos-4E-BP1 ekspresyonu: A) Düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinomda düşük phos-4E-BP1 ekspresyonu. B) Non-neoplastik ürotelyal mukozada kuvvetli phos-4E-BP1 ekspresyonu (A ve B; immünohistokimya, anti phos-4E-BP1 Ab, 400x).

#### 4.2.3.6 p27

Nükleer p27 ekspresyonu 172 tümörde (89'u ilk rezeksiyon materyalidir) ve 28 non-neoplastik ürotelyal mukozada değerlendirilebildi.

p27 tümörlerin 22'sinde, non-neoplastik mukozal dokuların 2'sinde negatifti. Non-neoplastik dokular ile neoplastik dokular arasında ve tümör histolojik alt tipleri arasında p27 için ekspresyon açısından fark saptanmadı (sırasıyla,  $p=0,69$  ve  $p=0,322$ ).

#### 4.2.3.7 c-MYC

Nükleer c-MYC ekspresyonu 183 tümör (95'i ilk rezeksiyon materyalidir) ve 30 non-neoplastik ürotelyal mukozada değerlendirilebildi.

c-MYC over-ekspresyonu non-neoplastik dokuların 6'sında, neoplastik dokuların 110'unda saptandı. Gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark izlenmedi ( $p=0,544$ ).

c-MYC tüm tümör kategorilerinde düşük seviyedeydi (+1) ve tipler arasında istatistiksel fark saptanmadı ( $p=0,450$ ).

#### 4.2.3.8 Siklin D1

Nükleer siklin D1 ekspresyonu 188 tümörde (90'ı ilk tanı rezeksiyon materyalidir) ve 19 non-neoplastik ürotelyal mukozada değerlendirilebildi.

Non-neoplastik dokuların siklin D1 over-ekspresyonu non-neoplastik dokuların 13'ünde, neoplastik dokuların 156'sında saptandı ve iki grup arasında istatistiksel olarak ekspresyon farkı yoktu ( $p=0,081$ ).

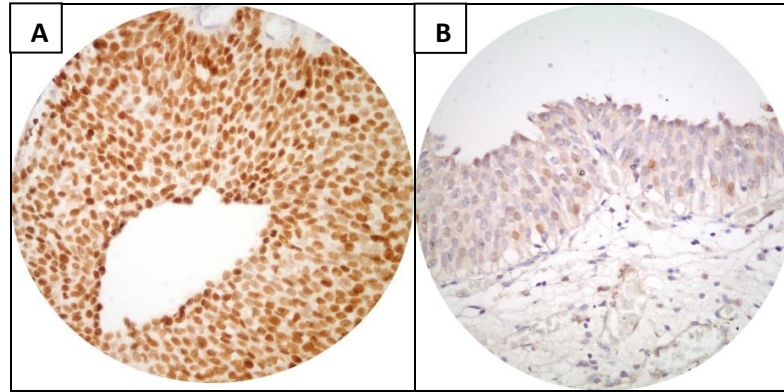
Tümör histolojik alt tipleri arasında siklin D1 için ekspresyon farkı saptanmadı ( $p=0,322$ ).

#### 4.2.3.9 Siklin D3

Nükleer siklin D3 ekspresyonu 190 tümörde (91'i ilk tanı rezeksiyon materyalidir) ve 24 non-neoplastik ürotelyal mukozada değerlendirilebildi.

Siklin D3 190 tümör materyalinden 27'sinde pozitif bulundu. Buna karşın 24 non-neoplastik mukozadan skuamöz metaplazi gösteren tek birinde pozitif. Non-neoplastik dokular ile neoplastik dokular karşılaştırıldığında, non-neoplastik ürotelyal mukozada siklin D3 ekspresyonunun tümörlü dokulardakinden daha düşük olduğu görüldü ( $p=0,030$ ) (Şekil 4.5). Non-neoplastik ürotelyal dokuda ortalama H skoru  $2 (\pm 8)$ , tümörlü dokularda ortalama H skoru  $8' di (\pm 32)$ .

Üç grup tümör kategorisi arasında siklin D3 ekspresyonu açısından fark saptanmadı ( $p=0,826$ ).

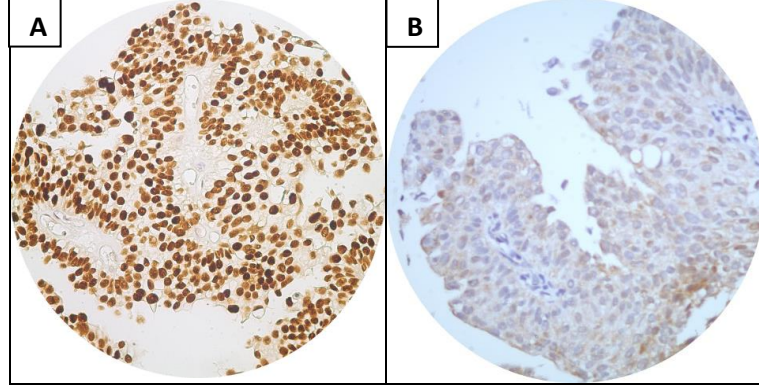


**Şekil 4.5:** Non-invasiv papiller ürotelyal karsinomda yüksek (A), non-neoplastik ürotelyal mukozada düşük (B) siklin D3 ekspresyonu (A ve B; immünohistokimya, anti siklin D3 Ab, 400x).

#### 4.2.3.10 p53

Nükleer p53 ekspresyonu, 183 tümörde (88'i ilk tanı rezeksiyon materyalinde) ve 24 non-neoplastik ürotelyal mukozada değerlendirilebildi.

p53 non-neoplastik dokuların tümünde negatifken tümörlü dokuların % 45,9'unda pozitif, fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,001$ ). İlk tanı biyopsilerinde YDNİPÜK'ların 12'sinde (%57,1), DDNİPÜK'ların 15'inde (%24,2) ve DMPÜN'ların 1'inde (%20) p53 pozitif saptandı. YDNİPÜK'larla diğerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,009$ ) (Şekil 4.6).



**Şekil 4.6:** Yüksek dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom (A) ile düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazi (B) olgularında p53 ekspresyonu (A ve B; immünohistokimya, anti p53 Ab, 400x).

#### 4.2.3.11 p63

Nükleer p63 ekspresyonu, 187 tümörde (93'ü ilk tanı rezeksiyon materyalidir) ve 26 non-neoplastik ürotelyal mukozada değerlendirilebildi.

Non-neoplastik ürotelyal mukoza örneklerinin 7'sinde, tümör örneklerinin 19'unda p63 negatif, iki grup arasında istatistiksel olarak fark yoktu ( $p=0,058$ ). Her üç kategoriye ait tümörlerde p63 yüksek seviyelerde eksprese edilmekte olup, kategoriler arasında ekspresyon farkı saptanmadı ( $p=0,713$ ).

#### 4.2.3.12 34BE12

Sitoplazmik 34BE12 ekspresyonu 187 tümörde (92'si ilk tanı rezeksiyon materyalidir) ve 25 non-neoplastik ürotelyal mukozada değerlendirilebildi.

34BE12, non-neoplastik ürotelyal mukoza örneklerinin 1'inde, tümörlü doku örneklerinin 11'inde negatif. Non-neoplastik ürotelyal epitel ile neoplastik dokular arasında, ve tümör tipleri arasında istatistiksel olarak p63 ekspresyon farkı yoktu (sırasıyla p değerleri  $p=246$  ve  $p=0,252$ ).

**4.2.3.13 SK20**

Sitoplazmik SK20 ekspresyonu 189 tümörde (96'sı ilk tanı rezeksiyon materyalidir) ve 26 non-neoplastik ürotelyal mukozada değerlendirilebildi.

SK20 ekspresyonu açısından non-neoplastik mukoza ile tümörler arasında ve tümör kategorileri arasında fark saptanmadı (sırasıyla,  $p=0,608$ ,  $p=0,291$ ).

**4.2.3.14 SK7**

Sitoplazmik SK7 ekspresyonu 191 (93'ü ilk tanı rezeksiyon materyalidir) ve 21 non-neoplastik ürotelyal mukozada değerlendirilebildi.

SK7 non-neoplastik örneklerin 2'si ve tümör örneklerinin 4'ü dışındaki tüm rezeksiyon materyallerinde kuvvetli (+3) ve tam kat eksprese edilmekteydi ( $p=1$ ).

**4.2.3.15 Sinaptofizin**

Sitoplazmik sinaptofizin ekspresyonu 189 tümörde (93'ü ilk tanı rezeksiyon materyalidir) ve 22 non-neoplastik ürotelyal mukozada değerlendirilebildi.

Tümörler veya tümör dışı mukozada sinaptofizin ekspresyonu tespit edilmedi.

**4.2.3.16 Kromogranin**

Sitoplazmik kromogranin ekspresyonu, 186 tümörde (91'i ilk tanı rezeksiyon materyalidir) ve 23 non-neoplastik ürotelyal mukozada değerlendirilebildi.

Tümörler veya tümör dışı mukozada kromogranin ekspresyonu tespit edilmedi.

**4.2.3.17 Ki-67**

Nükleer Ki-67 ekspresyonu 186 tümörde (91'i ilk tanı rezeksiyon materyalidir) ve 23 non-neoplastik ürotelyal mukozada değerlendirilebildi.

Ki-67 proliferasyon indeksi non-neoplastik ürotelyumda ortalama %1, neoplastik lezyonlarda ise ortalama %5 olarak saptandı ( $p=0,042$ ). DMPÜN

lezyonlarda Ki-67 ortalama %2; DDNİPÜK'da ortalama %5 ve YDNİPÜK ortalama %10 olup, tümör grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p= 0,001$ ).

**Tablo 4.4:** İmmünohistokimyasal belirteçlerin non-neoplastik ürotelyal mukozadaki ve neoplastik dokulardaki ortalama H skor değerleri.

Belirteç	Non-neoplastik ürotelyal mukoza	Neoplastik Doku	p
PTEN	152 ( $\pm 61$ )	137 ( $\pm 53$ )	0,354
phos-AKT	65 ( $\pm 65$ )	50 ( $\pm 49$ )	0,240
phos-mTOR	149 ( $\pm 53$ )	115 ( $\pm 58$ )	<b>0,009</b>
phos-S6	106 ( $\pm 100$ )	47 ( $\pm 58$ )	<b>0,003</b>
phos-4EB-P1	256 ( $\pm 36$ )	228 ( $\pm 52$ )	<b>0,005</b>
p27	92 ( $\pm 60$ )	72 ( $\pm 55$ )	0,690
cMYC	34 ( $\pm 49$ )	30 ( $\pm 40$ )	0,544
Siklin D1	66 ( $\pm 68$ )	100 ( $\pm 84$ )	0,081
Siklin D3	2 ( $\pm 8$ )	8 ( $\pm 32$ )	<b>0,030</b>
SK7	259 ( $\pm 104$ )	271 ( $\pm 64$ )	0,485
SK20	84 ( $\pm 115$ )	78 ( $\pm 83$ )	0,608
34BE12	225 ( $\pm 92$ )	256 ( $\pm 42$ )	0,246

PTEN: Fosfataz ve tensin homologu, phos-Akt: Fosforile protein kinaz B, phos-S6: Fosforile S6 protein, phos-mTOR: Fosforile rapamisininin memeli hedefi, phos-4E-BP1: Fosforile ökaryotik translasyon başlama faktörü 4E- bağlayıcı protein 1.



**Tablo 4.5:** İmmünohistokimyasal belirteçlerin farklı tümör kategorilerinde ortalama H skor değerleri.

Belirteç	İlk rezeksiyon		
	DMPÜN + DDNİPÜK	YDNİPÜK	p
PTEN	142 (±48)	123 (±48,5)	0,113
phos-AKT	51,5 (±54)	48 (±40,5)	0,914
phos-mTOR	111 (±58)	113 (±47)	0,906
phos-S6	51 (±60)	32 (±41,5)	0,552
phos-4EB-P1	215 (±59)	242 (±34)	0,073
p27	64 (±49,5)	82 (±64)	0,295
c-MYC	25(±37)	22 (±20)	0,223
Siklin D1	125 (±86)	93 (±84,5)	0,132
Siklin D3	12 (±41)	14 (±33)	0,713
SK7	274 (±68)	269 (±70,5)	0,646
SK20	63 (±74)	97 (±97)	0,130
34BE12	227,5 (±84)	217 (±90)	0,512

DMPÜN: Düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazm, DDNİPÜK: Düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom, YDNİPÜK: Yüksek dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom, sp: standart sapma, PTEN: Fosfataz ve tensin homoloğu, phos-Akt: Fosforile protein kinaz B, phos-S6: Fosforile S6 protein, phos-mTOR: Rapamisinin memeli hedefi- fosforile, phos-4E-BP1: Ökaryotik translasyon başlama faktörü 4E- bağlayıcı protein1- fosforile.

#### 4.2.4 Gümüş ve kromojen in-situ hibridizasyon bulguları

115 olgunun 91'inde HER2 gen statüsü ve Kr17 anöploidisi çalışılabilir. HER2/Kr17 oranı ortalama 1 (aralık, 0,94-1,76) olarak bulundu. Değerlerin tümü meme karsinomu kılavuzlarında belirtilen sınırlar içerisinde olup olguların hiçbirinde HER2 gen amplifikasyonu ya da Kr17 anöploidisi saptanmadı.

#### 4.2.5 Rekürrens (Tablo 4.6)

Rekürrens gösteren 57 hastanın, takip süreleri ortalama 64 aydır, göstermeyenlerin ise 56 aydır. İlk rekürrense kadar geçen süre ortalama 19,5 ay (aralık, 2 ay-63 ay)'di. Olguların hemen tümü ilk 5 yıl içerisinde nüks etmiştir; 32 olgu (%56) ilk yılda, 41 (%71) ilk iki yıl içinde, 55 olgu (%96,5) ilk 5 yıl içinde rekürrens gösterdi. Bir olgu 61. ayda, bir diğeri 63. ayda rekürrens gösterdi. Yıldaki rekürrens sayısı 0 ile 3 arasında değişmekteydi.

Erkeklerin 51'inde (%54), kadınların 6'sında (%29) rekürrens izlendi. Erkeklerde ortalama rekürrens sayısı 2,75 (aralık, 1-13), kadınlarda ortalama rekürrens sayısı 1,8 (aralık, 1-4) idi. Erkeklerde rekürrens riski daha yüksek olup, fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,033$ ).

Rekürrens gösteren olgularda ortalama tümör çapı  $27,9 \text{ mm} \pm 16$  bulundu. Bu hastaların 18 (%51,4)'inde tümör çapı 30 mm ve üzerinde, 12 (%34,3)'sinde 29 mm ile 11 mm arasında, 5 (%14,3)'inde 10 mm ve altında saptandı. Rekürrens göstermeyen olgularda ortalama çap  $20,8 \text{ mm} \pm 13$  olarak bulundu. Rekürrens göstermeyen 13 (%31) hastanın tümör çapı 30 mm ve üzerinde, 15 (%36) hastanın 11 mm ile 29 mm arasında, 14 (%33) hastanın 10 mm ve altında saptandı. Tümör çapı arttıkça rekürrens riskinin arttığı ve aradaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p=0,033$ ). 27 mm üzerindeki tümörlerde tümör çapındaki her 1 mm'lik artış rekürrens riskini 1.8 kat arttırmaktadır.

Yaygın tümör odağı saptanan 5 olgunun 4'ünde (%80), multifokal tümör izlenen hastaların 16'sında (%52), ünifokal olguların ise 23'ünde (%39) rekürrens tespit edildi ( $p=0,059$ ).

Sigara içen hastaların %54'ünde, içmeyenlerin ise %39'unda rekürrens izlendi, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p=0,221$ ).

Rekürrens, DMPÜN olgularında %62,5, DDNİPÜK olgularında %50 ve YDNİPÜK olgularında %44'tür. Gruplar arasında istatistiksel fark saptanmadı ( $p=0,653$ ). Ters patern DDNİPÜK tanısı konan 4 hastanın hiçbirinde rekürrens gelişmedi.

10BBA'da mitoz sayısı 1 ve/ veya 1'in altında olan 51 hastanın 18'inde (%35) 2 ve 9 arasında olan 38 hastanın 23'ünde (%60,5), 10 ve/ veya üzerinde olan 26 hastanın 16'sında (%61,5) rekürrens gelişmiştir. 10BBA'da 2 veya daha fazla mitoz görmek rekürrens riskini arttırmakta olup fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,024$ ).

**Tablo 4.6:** NIPUN'de rekürrens.

Değişken	Rekürrens var	Rekürrens yok	P
Yaş ortalama	61.3 (±11)	60 (±12)	0,476
Takip süresi (ay) ortalama	64 (±32)	56 (±29)	0,157
Tümör çapı (mm) ortalama	27,91 (±16)	20,81 (±13)	<b>0,033</b>
Cinsiyet erkek/ kadın	51 (%54)/ 6 (%29)	43 (%46)/ 15 (%71)	<b>0,033</b>
Tanı DMPÜN/ DDNİPÜK/ YDNİPÜK	5 (%62,5)/ 41 (%50)/ 11 (%44)	3 (%37,5)/ 41 (%50)/ 14 (%56)	0,653
Odak sayısı ünifokal/ multifokal/ yaygın	23 (%39)/ 16 (%52)/ 4 (%80)	36 (%61)/ 15 (%48)/ 1 (%20)	0,059
Sigara evet/ hayır	14 (%54)/ 20 (%39)	12 (%46)/ 31 (%61)	0,221
Mitoz (n / 10BBA) Düşük/ orta / yüksek	18(%35)/ 23(%60,5)/ 16(%61,5)	33(%65)/ 15 (%39,5)/ 10 (%38,5)	<b>0,024</b>
Nekroz var/ yok	11 (%46)/ 46 (%50,5)	13 (%54)/ 45 (%49,5)	0,681
Apoptoz var/ yok	44 (%52)/ 13 (%43)	41 (%48)/ 17 (%57)	0,427
Lenfoid hücre infiltrasyonu var/ yok	31 (%45)/ 26 (%56,5)	38 (%55)/ 20 (%43,5)	0,223
İğsileşme var/ yok	2 (%29)/ 55 (%51)	5 (%71)/ 53 (%49)	0,438

Çalışmaya dahil edilen hastalara ait ilk tanısal rezeksiyon materyallerinde immünohistokimyasal boyama sonuçları ile rekürrens arasında ilişki saptanmamıştır (Tablo 4.7).

**Tablo 4.7:** NIPUN’de rekürrens ve İmmünohistokimyasal ekspresyonlarının ortalama H skor değerleri.

Belirteç	Rekürrens var	Rekürrens yok	p
PTEN	142 (±46)	135 (±51)	0,409
phos-AKT	44 (±31)	56 (±62)	0,632
phos-mTOR	120 (±45)	104 (±63)	0,257
phos-S6	44 (±53)	49 (±61)	0,836
phos-4EB-P1	227 (±57)	216 (±54)	0,247
p27	64 (±46)	71 (±59)	0,671
cMYC	27 (±38)	20 (±31)	0,151
Siklin D1	113 (±92)	121 (±82)	0,438
Siklin D3	3 (±7)	21 (±53)	0,247
SK7	280 (±60)	267 (±75)	0,240
SK20	84 (±92)	60 (±69)	0,426
34BE12	209 (±93)	239 (±77)	0,123

PTEN: Fosfataz ve tensin homoloğu, phos-Akt: Fosforile protein kinaz B, phos-mTOR: Rapamisinin memeli hedefi- fosforile, phos-S6: Fosforile S6 protein,, phos-4E-BP1: Ökaryotik translasyon başlama faktörü 4E- bağlayıcı protein 1- fosforile.

#### 4.2.5.1 Düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinomlarda rekürrens (Tablo 4.8)

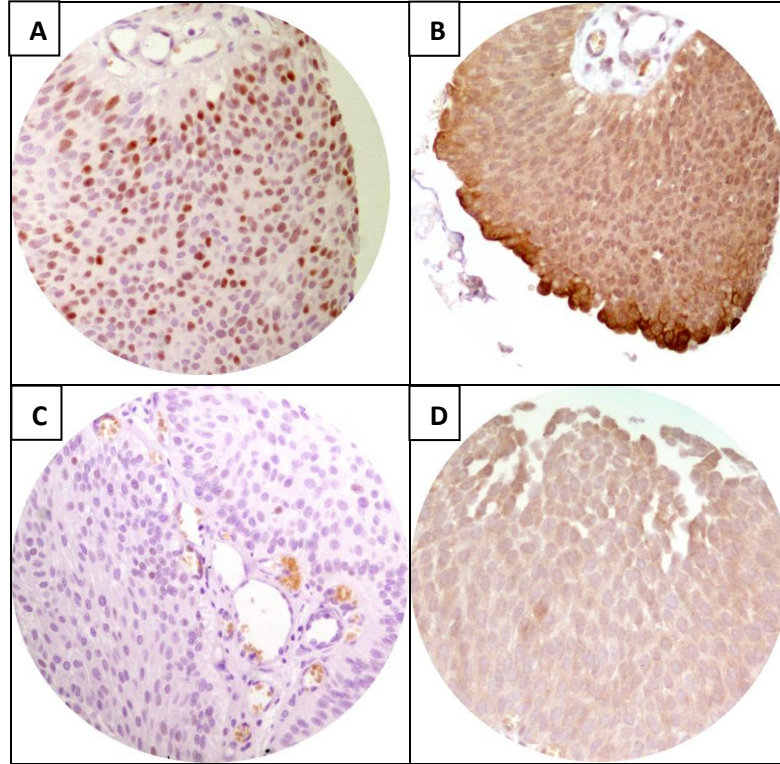
DDNİPÜK tanısı alan 82 hasta mevcuttu. Bu hastaların yarısında rekürrens gelişti. 10 BBA’da mitoz sayısı 1 veya 1’in altında olan 39 hastanın 12’sinde (%31), 2 ve 9 arasında olan 33 hastanın 21’inde (%64), 10 ve/ veya üzerinde olan 10 hastanın 8’inde (%80) rekürrens gelişmiştir. 10BBA’da 2 veya daha fazla mitoz görmek rekürrens riskini arttırmakta olup fark istatistiksel olarak anlamlıdır (0,010). Derece 2 ve derece 3 nükleole sahip DDNİPÜK larda rekürrens oranı daha yüksektir (%32’ye karşın %68), fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,030).

Rekürrens gösteren DDNİPÜK hastalarında phos-mTOR ve c-MYC için ortalama H skor değerleri sırası ile 126 ( $\pm$ 45) ve 28 ( $\pm$ 40), rekürrens gelişmeyen düşük dereceli karsinom olgularında ise 96 ( $\pm$ 64) ve 19 ( $\pm$ 14) idi. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırası ile,  $p=0,031$  ve  $p=0,049$ ) (Şekil 4.7).

**Tablo 4.8:** DDNİPÜK'larda rekürrens ile ilişkili parametreler.

Değişken	Rekürrens var	Rekürrens yok	P
<b>Mitoz</b> düşük/ orta/ yüksek	12 (%31) / 21 (%64) / 8 (%80)	27 (%69) / 12 (%36) / 2 (%20)	<b>0,003</b>
<b>Nükleol belirginliği</b> derece 1/ derece 2/ derece 3	26 (%43)/ 13 (%65)/ 2 (%100)	34 (%57)/ 7 (%35)/ 0 (%0)	<b>0,030</b>
<b>phos-mTOR (H skor)</b> ortalama	126 ( $\pm$ 45)	96 ( $\pm$ 64)	<b>0,031</b>
<b>c-MYC (H skor)</b> ortalama	28 ( $\pm$ 40)	19 ( $\pm$ 34)	<b>0,049</b>

Phos-mTOR: Fosforile rapamisinin memeli hedefi.



**Şekil 4.7:** Rekürren düşük dereceli papiller ürotelyal karsinom olgusunda yüksek c-MYC (A) ve phos-mTOR (B) ekspresyonu. Rekürrens göstermeyen düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom olgusunda negatif c-MYC (C) ve negatif phos-mTOR (D) (A ve C; immünohistokimya, anti c-MYC Ab, 400x, B ve D; immünohistokimya, anti phos-mTOR Ab, 400x)

#### 4.2.6 Progresyon

Progresyon gösteren 14 olgunun klinik özellikleri Tablo 4.9'da belirtildi.

**Tablo 4.9:** Progresyon gösteren olgular.

No	C	Yaş	İlk Tanı	DPT	EPT	OS	TÇ (mm)	TR	İRS	TS (ay)	PS (ay)
1	E	53,7	DMPÜN	DDNİPÜK	-	Unifokal	15	5	1	99	4
2	K	61,8	DDNİPÜK	YDNİPÜK	-	Unifokal	35	4	0	70	47
3	E	75,2	DDNİPÜK	YDNİPÜK	-	BE	BE	2	0	83	42
4	E	60,8	DDNİPÜK	YDNİPÜK	-	Unifokal	15	5	2	47	4
5	E	62,7	DDNİPÜK	YDNİPÜK	-	Multifokal	30	5	0	99	19
6	E	78,1	DDNİPÜK	YDNİPÜK	-	Unifokal	9	1	0	119	61
7	E	50,8	DDNİPÜK	YDNİPÜK	-	Multifokal	10	2	2	54	12
8	E	47,2	DDNİPÜK	-	DDİPUK	Unifokal	30	2	2	32	8
9	E	86	DDNİPÜK	-	DDİPUK	BE	BE	8	0	285	255
10	E	74,2	DDNİPÜK	YDİPUK	DDİPUK	BE	BE	3	1	86	14
11	E	54,6	DDNİPÜK	YDNİPÜK	DDİPUK	BE	BE	13	0	171	113
12	E	71,8	YDNİPÜK	-	YDİPUK	Unifokal	45	3	1	39	14
13	E	70,8	YDNİPÜK	-	YDİPUK	Unifokal	10	2	0	63	53
14	K	40,8	YDNİPÜK	-	YDİPUK	BE	BE	1	0	68	56

DMPÜN: düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazm, DDNİPÜK: düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom, YDNİPÜK; yüksek dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom, DDİPUK: düşük dereceli invaziv papiller ürotelyal karsinom, YDİPUK: yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinom, C: cinsiyet, DPT: derecede progresyon sonrası tanı, EPT: evrede progresyon sonrası tanı, OS: odak sayısı, TÇ: tümör çapı, TR:Toplam rekürrens sayısı, İRS: ilk bir yıldaki rekürrens sayısı, TS: takip süresi, PS: progresyona kadar geçen süre. BE: Bilgi edinilemedi.

Hastaların 14'ünün (%12,17) derece progresyonu (DP) ve/veya evre progresyonu (EP) gösterdiği tespit edildi. 7'sinde (%6) DP, 5'inde (%4,34) EP, 2 (%1,73) hastada DP,+ EP görüldü.

DP gösteren hastaların ortalama yaşı 63,67 ( $\pm 9,87$ ), ortalama takip süresi 92 ay ( $\pm 9,8$ ); EP gösteren hastaların ortalama yaşı 63,71 ( $\pm 16,3$ ), ortalama takip süresi 106 aydı ( $\pm 91$ ). Progresyon ile ilk yılda rekürrens gelişimi arasında ilişki saptanmamıştır.

DMPÜN'ların 1'inde (%12,5) sadece DP; DDNİPÜK'ların 6'sında (%7,3) DP; 2'sinde (%2,4) EP ve 2'sinde (%2,4) ise DP + EP; YDNİPÜK'ların ise 3'ünde (%12) EP gözlemlendi. Tümör tipi ile progresyon arasında ilişki saptanmadı.

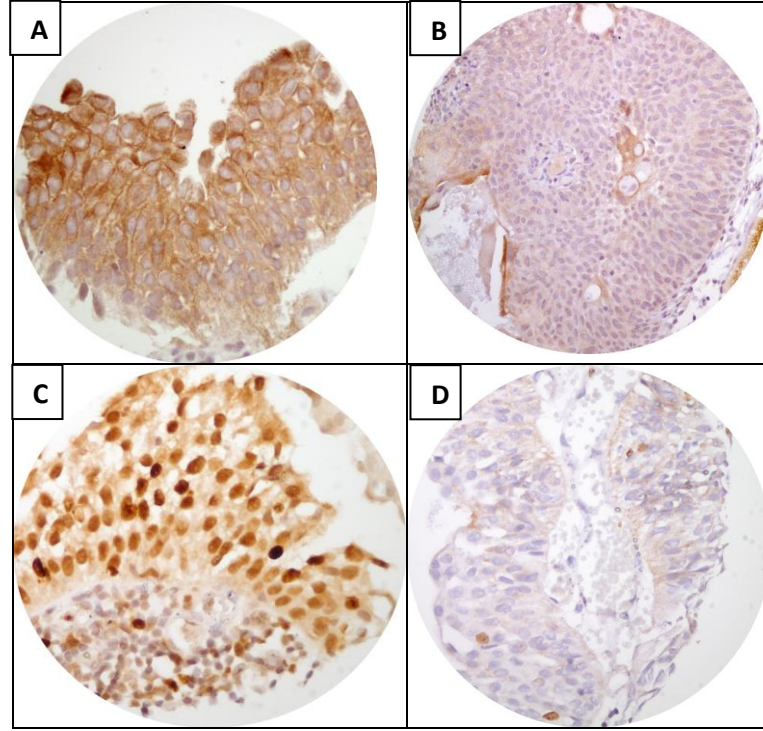
Olguların ilk rezeksiyon materyallerinin morfolojik özellikleri karşılaştırıldığında progresyon gösterenler ile göstermeyenler arasında sitolojik / histolojik herhangi bir parametre açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

DP ve/veya EP gösteren olguların ilk rezeksiyon materyallerine ait immünohistokimyasal boyanma sonuçları, progresyon göstermeyen olgularınki ile karşılaştırıldığında, progresyon gösterenlerde daha yüksek düzeyde phos-mTOR ekspresyonu izlendi ( $p= 0,048$ ). Ki-67 proliferasyon indeksi progresyon gösteren olguların 7'sinde %10 ve üzerinde olup ortalama %12'dir; 5 hastada (dokuların dökülmesi nedeniyle) sonuç alınamadı. Ki-67 proliferasyon indeksi yüksek olan olgularda progresyon riskinin yüksek olduğu saptandı ( $p=0,047$ )(Şekil 4.8) (Tablo 4.10).

**Tablo 4.10** : Progresyon ile ilişkili immünohistokimyasal sonuçlar.

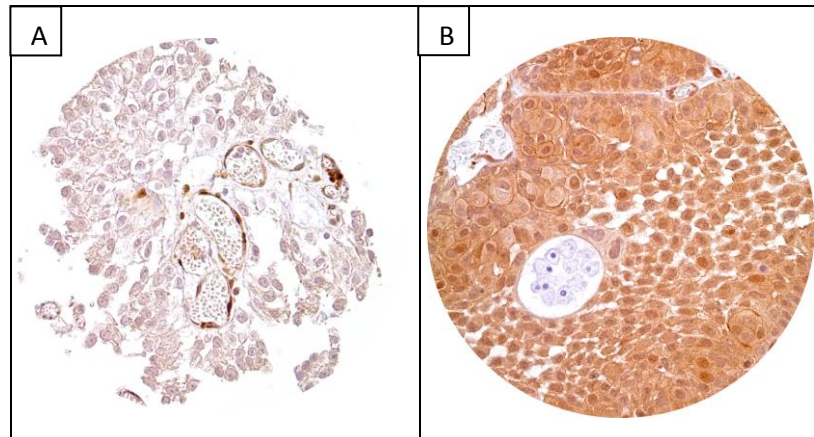
Değişken	Progresyon Var	Progresyon Yok	p
Ki-67 (%)	13 ( $\pm 9$ )	9 ( $\pm 11$ )	<b>0,047</b>
phos-mTOR (ortalama H skor)	153 ( $\pm 54$ )	108 (55)	<b>0,048</b>
PTEN kaybı (n / %)	4 (%30,7)	8 (%4,3)	<b>0,008</b>

phos-mTOR: Rapamisinin memeli hedefi- fosforile.



**Şekil 4.8:** Progresyon ile ilişkili bulunan immünohistokimyasal belirteçlerin ekspresyonu: A) Derece progresyonu gösteren düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom olgusunda kuvvetli phos-mTOR ekspresyonu (İmmünohistokimya, anti phos-mTOR Ab, 400x). B) Progresyon göstermeyen düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom olgusunda düşük phos-mTOR ekspresyonu (İmmünohistokimya, anti phos-mTOR Ab, 400x). C) Derece progresyonu gösteren düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom olgusunda yüksek Ki-67 pozitifliği (İmmünohistokimya, anti Ki-67, 400x). D) Progresyon göstermeyen düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom olgusunda seyrek Ki-67 boyanması (İmmünohistokimya, anti Ki-67, 400x).

DP ve/ veya EP göstermeyen 92 hastadan sadece %4,3'ünde (4 hasta) PTEN kaybı izlenirken, progresyon gelişen 13 hastanın %30,7'sinde (4 hasta) PTEN kaybı saptandı ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,008$ ) (Şekil 4.9).



**Şekil 4.9:** Progresyon gösteren yüksek dereceli karsinom olgusunda PTEN kaybı (A). Progresyon göstermeyen yüksek dereceli karsinom olgusunda PTEN ekspresyonu (B) (A ve B; İmmünohistokimya, anti PTEN Ab, 400x).



## 5 TARTIŞMA

Mesane karsinomları en sık tanı konan kanserlerdendir, tüm kanserlerin %3.2'sini oluşturur; maligniteler arasında 9., erkeklerde 4. sıradadırlar<sup>2,3</sup>. Bu tümörler içerisinde en büyük grup ürotelyal neoplazilerdir ve bunların da %70'ini non-invaziv kategori teşkil eder<sup>6</sup>.

Etiyoloji ve patogenezi anlamaya yönelik araştırmalarda sigara kullanımı, aromatik aminler gibi çeşitli etiyolojik ajanın mesane kanserlerinin gelişiminde rol aldığı gösterilmiştir<sup>17,18</sup>. Genetik ve moleküler çalışmalarda birçok kromozomal bozukluk, tümör baskılayıcı gen ve onkogen değişiklikleri tespit edilmiştir. Bunlar içerisinde hem non-invaziv hem de invaziv ürotelyal tümörlerin erken evrelerinden itibaren sıklıkla kaybı saptanan kromozom (Kr) 9'daki bozukluklar en dikkat çekici olanlardır. Kr9 kaybının bu tümörlerin gelişiminde en önemli basamak olduğu ve bundan sonra gelişecek ardışık mutasyonlara yatkınlık oluşturduğu düşünülmektedir<sup>33,34</sup>. Non-invaziv tümörlerin oluşumunda Kr9 kayıpları beraberinde, yaklaşık %70 olguda tespit edilen FGFR3 onkogeni ve daha az oranda RAS onkogenindeki mutasyonlar rol almaktadır<sup>77,78,79,80</sup>. Bu onkogenlerin patogenezi yanı sıra rekürrens ve progresyon ile de ilişkili olduğunu söyleyen yayınlar mevcuttur<sup>69,155</sup>. Tümör baskılayıcı gen olarak görev yapan TP53'ün mutasyonları ise invaziv tümörlerde sıklıkla tespit edilmiştir<sup>32,35,36,37,38,39</sup>.

Yukarıda adı geçen onkogen ve tümör baskılayıcı genler dışında birçok solid organ tümörünün patogenezinde rolü tespit edilen yeni yolakların mesane kanserlerinin gelişimindeki yeri merak uyandırmaktadır. Bunlardan biri de protein translasyonu ve hücre proliferasyonunda görev alan Akt/ mTOR yolığıdır. Bu yolak mitojenik uyarıların iletiminde pozitif düzenleyici göreve sahiptir. mTOR protein translasyonunda görev alan alt basamak proteinlerini fosforilleyerek protein sentezi ve hücre büyümesi için gelen uyarıların iletimini sağlar. Yakın zamanda yapılan araştırmalarda tiroid kanserleri, akciğerin küçük hücreli kanseri, gastrointestinal sistem tümörleri ve renal hücreli karsinomlar gibi solid organ tümörlerinin bir kısmında bu yolağın up-regüle olduğu gösterilmiştir<sup>156,157,158,159,160</sup>. Akt/mTOR yolağının mesane kanserleri ile ilişkisinin araştırıldığı yayın sayısı literatürde çok az

olmakla birlikte bu alandaki bilgiler hızla artmaktadır. İnvaziv mesane kanserlerini kapsayan bir çalışmada, bu yolağın alt basamak hedefleri olan phos-mTOR, phos-S6 ve phos-4E-BP1 proteinlerinin normal ürotelyal mukoza ve tümörlerdeki immünohistokimyasal ekspresyonları araştırılmış, non-neoplastik ürotelyal mukozada daha yüksek, tümörlerde ise daha düşük oranlarda eksprese edildikleri saptanmıştır<sup>161</sup>. Bizim çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edilmiş olup phos-mTOR, phos-S6 ve phos-4E-BP1 proteinlerinin non-neoplastik ürotelyal mukozadaki immünohistokimyasal ekspresyonlarının daha yüksek, tümörlerde ise daha düşük olduğu gözlenmiştir (sırası ile,  $p=0,009$ ,  $p=0,003$  ve  $p=0,005$ ). Hücre çoğalması, farklılaşması ve sağ kalımı gibi insan kanserlerinde sıklıkla tutulmuş olan hücresel programların kontrolü ortamdaki besin- enerji- miktarına göre sağlanmaktadır. Bu bilgilerin gönderilmesinden sorumlu ileti yollarının kontrolünde moleküler oksijenin kullanılabilirliği kritik role sahiptir. Akt/ mTOR yolağının hipoksi ve mikroçevredeki diğer streslere hücresel yanıtın oluşturulmasında temel düzenleyici olduğu düşünülmektedir. Hücresel enerji tüketimi, hipoksi gibi hücresel stres varlığında tuberoskleroz kompleks1/ tuberoskleroz kompleks2 tümör süpresör kompleksinin aktivasyonu yolu ile mTOR aktivitesi azaltılarak hücresel enerji tüketimi azaltılmaktadır<sup>95,162,163,164,165</sup>. Bizim sonuçlarımız NİPUN' lerde Akt/mTOR yolağının düşük aktivasyonunu desteklemektedir.

Hücre siklusunun düzenlenmesinde rol alan proteinlerin ekspresyonundaki bozukluklar ile kanserler arasındaki ilişki bir diğer araştırma konusudur. Hücre siklusunun düzenlenmesinde görev alan siklin D3'ün lenfoma, meme kanserleri, renal hücreli kanserler ve melanom gibi malign kanserlerde aşırı eksprese olduğu, düzenleyici etkisinin ortadan kalktığı bilinmektedir. Önceki çalışmalarda pTa ve pT1 mesane tümörlerinde siklin D3 proteininin aşırı ekspresyonu izlenmiş ve bunun büyük tümör boyutu, yüksek tümör derecesi ve artmış progresyon riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur<sup>99,100</sup>. Biz de çalışmamızda siklin D3'ün tümörlü dokularda, non-neoplastik ürotelyal mukozadan daha yüksek düzeylerde eksprese olduğunu gözledik ( $p=0,030$ ). Bu sonuç hücre siklus düzenleyicilerinin ekspresyonundaki artışın non-invaziv papiller ürotelyal neoplazilerin patogeneğinde rol alabileceğini

desteklemektedir. Serimizde siklin D3'ün rekürrens veya tümör progresyonu ile ilişkisi saptanmamıştır.

Ürotelyal kanserlerin DSÖ/İÜPG 2004 histomorfolojik sınıflamasında, tümör tiplerini birbirinden ayırt ettiren temel morfolojik özellikler sitolojik ve yapısal atipidir. Artmış mitotik aktivite ve anormal mitotik figürler de yardımcı bulgulardır<sup>27</sup>. Bizim tümör gruplarımızda da beklendiği üzere mitotik aktivite düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazilerde (DMPÜN) en düşük, yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinomlarda (YDNİPÜK) en yüksektir ( $p<0,0001$ ), yanı sıra iri nükleol ve nekroz varlığı da tümör derecesi ile bağlantılıdır ( $p<0,0001$ ).

Literatürde apoptozisin mesanede tümör derecesi ile ilişkisinin TUNEL yöntemi ve immünohistokimyasal çalışmalar ile araştırıldığı sınırlı sayıda yayın mevcuttur. Bu yayınlardan bir kısmı apoptozisi tümör derecesi ile ilişkili bulurken<sup>166</sup> bir kısım yayında ise ilişki saptanmadığı belirtilmiştir<sup>167,168</sup>. Daha önce yapılan çalışmalarda apoptotik cisimlerin H-E kesitlerde varlığı değerlendirilmemiştir. Apoptotik cisimlerin tümör içerisinde varlığı/yokluğu esasına dayalı yaptığımız morfolojik analizde DMPÜN'ların 3'ünde (%10), DDNİPÜK'ların 122'sinde (%66), YDNİPÜK'ların 39'unda (%83) tümör içi apoptotik cisimler gözlenmiştir. Bulgu tümör histolojik derecesi ile ilişkilidir ( $p< 0,0001$ ). Apoptotik cisimlerin varlığı tümör alt tiplendirilmesinde faydalı olabilecek histomorfolojik bulgulardan biri olarak karşımıza çıkmakta olup özellikle karsinom olgularını DMPÜN'lerden ayırt etmede ek katkı sağlayabilir.

Morfolojik analizler esnasında dikkatimizi çeken bir diğer bulgu tümörlerin bir kısmında neoplastik hücrelerde içsileşme olmuştur. Bu bulgu 8 tümörde fokal alanlarda vardır: 184 DDNİPÜK olgusunun % 2'sinde ve 47 YDNİPÜK olgusunun %8,5'inde bu özellik mevcuttur ( $p=0,045$ ). DMPÜN'lerin hiçbirinde içsileşmeye rastlanmamıştır. Bu güne kadar farklı tümör derecelerinin morfolojik özelliklerinin irdelendiği çalışmalarda bu bulgudan bahsedilmemektedir. İçsileşme saptanması, özellikle DDNİPÜK olgularını DMPÜN'lerden ayırmada tereddüt yaşanmakta ise

destekleyici bir özellik olabilir. Kesin sonuçlar için daha geniş serilerde, hücrelerdeki iğsileşme paterninin dikkate alındığı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Ürotelyal neoplazilerde tümör derecesine işaret eden en önemli immünohistokimyasal belirteç p53'tür. Çok sayıda mesane kanser örneğinin dahil edildiği doku mikrodizineri ile yapılan çalışmalarda normal ürotelyumdan kas-invazyonu göstermeyen tümörlere ve kas invazyonu göstermeyen tümörlerden kası invaze eden tümörlere doğru gidildikçe immünohistokimyasal yöntemlerle saptanan p53 pozitif olguların oranının giderek arttığı görülmüştür<sup>169,170,171</sup>. Bizim çalışmamızda, literatür bilgileri ile uyumlu olarak p53 en az DMPÜN grubunda (%20), daha sonra DDNİPÜK (%24,2) ve en çok YKNİPUK'da (%57,1) eksprese edilmektedir (p=0,009). P53'ün mesane kanserlerinde rekürrens ve progresyon ile ilişkisini araştıran bir çok yayın bulunmaktadır. Malats ve arkadaşlarının, mesane kanserlerinde TP53'ün yerini ve önemini belirlemek amacı ile yapılan çalışmaları derlediği yazı, p53 ekspresyonunun 34 yayından 9'unda rekürrens, 24 yayından 12'sinde progresyon ve 35 yayından 10'unda sağ kalım ile ilişkili saptandığını bildirmektedir<sup>172</sup>. Bizim olgularımızda p53 pozitifliği tümör progresyonunu veya rekürrensini ön görmede katkı sağlamamıştır.

Non-invaziv mesane neoplazilerinde hastaların temel sorunu tümör nüksüdür. Çoğu merkezde hemen tüm hastalar periodik sistoskopilerle takip edilir. Hasta için hem eziyet, hem de maliyet getiren rekürrens için riski belirlemeye yönelik çalışmalar literatürde önemli yer işgal etmektedir, bu doğrultuda gerek klinikopatolojik bulgular gerekse immünohistokimyasal ve moleküler belirteçler araştırma konusudur. Düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazilerin (DMPÜN) %17-52'sinde, düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinomların (DDNİPÜK) %34-77'inde ve yüksek dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinomların (YDNİPÜK) %43-73'ünde rekürrens gelişmektedir<sup>127,145,151,173,174,175,176,177,178,179,180</sup>. Bizim serimizde DMPÜN'de %62,5, DDNİPÜK'da %50 ve YDNİPÜK'da %44 oranda rekürrens görülmüştür. DMPÜN olgularımızda rekürrens sıklığının literatüre kıyasla daha yüksek bulunması muhtemelen bu gruptaki hasta sayımızın az (8 hasta) olması ile ilişkilidir. Ters

patern sergileyen 4 DDNIPUC olgumuz vardır ve hiçbirinde rekürrens gelişmemesi dikkat çekicidir, bu paternin rekürrens ile ilişkisinin daha büyük serilerde araştırılmalıdır.

Önceki çalışmalarda 3 cm'nin üzerinde tümör çapı, yüksek rekürrens riskine işaret etmektedir<sup>128,134,135</sup>. Çok değişkenli analizlerde tümör çapı rekürrensi etkileyen bağımsız bir değişken olarak ortaya çıkmaktadır. Biz de çalışmamızda rekürrens olasılığını artıran en önemli risk faktörlerinden birinin tümör çapı olduğunu gözledik. 27 mm üzerindeki boyutlarda tümör çapının her 1 mm'lik artışı rekürrens riskini 1,8 kat artırmaktadır. Büyük tümörlerin daha sık rekürrens göstermeleri, bu tümörlerin hızlı büyüme potansiyeli ile açıklanabilir. Bir diğer neden ise, büyük lezyonların cerrahi olarak tam çıkarılamamaları ve rezidü tümörün kalması olabilir. Bu nedenle tümör çapının 27 mm'nin üzerinde saptandığı durumlarda sistoskopik kontrollerin ihmal edilmemesi daha da önem arz etmektedir.

Literatürde yer alan yayınların bir kısmında cinsiyet ile rekürrens riski arasında ilişki bulunmazken<sup>135,145</sup>, yakın zamanda yapılan araştırmalardan birinde yüksek dereceli pT1 ürotelyal karsinomların kadınlarda daha sık nüks ettiği bildirilmiştir<sup>181</sup>. Biz çalışmamızda rekürrensin erkeklerde daha sık olduğu saptadık. Serimizde yaptığımız analizlerde erkek cinsiyetin rekürrens riskini 4 kat arttırdığı görülmüştür. Erkeklerde daha yüksek oranlarda rekürrens görülmesini açıklayabileceği düşünülen değişkenler irdelendiğinde, tanı yaşı, takip süresi, tümör çapı, odak sayısı, tanı kategorileri ve sigara kullanma öyküsü açısından kadın ve erkek gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık saptamadık. Hormonal ve anatomik değişkenler, farklı meslek gruplarında çalışma gibi iki grup arasında rekürrens farkını açıklayabilecek diğer faktörlerin araştırılmasına ihtiyaç vardır.

Birçok çalışmada rekürrensi öngörmede multifokal tümör gelişiminin en önemli klinik bulgulardan biri olduğu belirtilmiştir<sup>69,127,175,180,182</sup>. Bizim hasta grubumuzda multifokal gelişim gösteren tümörler ile tek odaklı tümörler arasında rekürrens riski açısından istatistiksel fark saptanmamıştır. Bununla birlikte unifokal tümör hastalarımızda %39, yaygın tümör odağı saptananlarda ise %80 rekürrens

geliştiği gözlenmiştir. Ancak yaygın tümör gelişimi gösteren olgu sayımız sadece 5'tir ve düşük sayı nedeniyle rekürrens ile ilişkisi net olarak ortaya konamamıştır. Bununla birlikte oranlar yaygın tümör gelişiminin rekürrens ile yakından ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Tanı yaşı, tümör lokalizasyonu ve daha önceki rekürrens sıklığı gibi parametrelerin hastalık rekürrensi ile ilişkili bulunduğu yayınlar mevcuttur<sup>130,135,183,184,185,186</sup>. Bizim çalışmamızda hasta yaşı veya tümör lokalizasyonu ile rekürrens arasında ilişki saptanmamıştır.

Morfolojik parametrelerin rekürrensi öngörmedeki kıymeti araştırılmaya devam etmektedir. Mitoz sayısı bunlar arasında en fazla ilgi çekenlerden biridir. Düşük dereceli tümörlerde rekürrens riskini öngörebilecek parametrelerin araştırıldığı bir çalışmada tek değişkenli analizler sonucunda mitoz sayısı ile rekürrens arasında pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir<sup>151</sup>. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da DDNİPUC'larda yüksek mitoz sayısı artan rekürrens riski ile beraberdir. 10BBA'da 2 veya daha fazla mitoz düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinomlarda rekürrens riskini arttırmaktadır ( $p=0,003$ ). Patoloji raporlarında 10 BBA'da izlenen mitoz sayısının belirtilmesi rekürrens potansiyeli açısından klinisyene ek bilgi sağlayabilecek morfolojik bulgulardan biri olarak durmaktadır.

DDNİPÜK'larda rekürrens açısından bir diğer önemli bulgu nükleol belirginliği olarak durmaktadır. İri nükleol varlığı daha ziyade YDNİPÜK'larda beklenen bir bulgudur. Bununla birlikte DDNİPÜK'larda da zaman zaman az sayıda hücrede de olsa karşımıza çıkabilmektedir<sup>27</sup>. Çalışmamızda nükleol belirginliği düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinomlarda rekürrens ile ilişkilidir. 200x ve 100x büyütmelerde nükleol seçilebilen DDNİPÜK olgularında rekürrensin daha yüksek olduğu görülmüştür ( $p=0,030$ ). İri nükleollerin başka organ tümörlerinde de benzer anlamı olabilmektedir. Örneğin benign ekrin akrospiromlarda nükleol belirginliği dahil atipik nükleer değişiklikler içeren tümörlerin nüks gösterdiği saptanmıştır<sup>187</sup>. Yine menenjiomlarda rekürrensi öngörebilecek parametrelerin araştırıldığı

çalışmalarda nükleol belirginliği ile rekürrens arasında anlamlı ilişki gözlenmiştir<sup>188,189</sup>.

Diğer birçok solid organ tümöründe olduğu gibi mesane kanserlerinde de hastalık nüks ve progresyonunda rol alan moleküler değişikliklerin tespiti bu hastaların takibinde ve tedavisinde yeni bir çığır açacaktır. Bu güne kadar yapılan çalışmalarda Pİ3K/Akt yolağının, hücre büyümesinde görev alan birçok farklı mekanizmanın merkezinde düzenleyici görev aldığı gösterilmiştir<sup>190,191</sup>. Pİ3K/Akt aktivasyonunun sonuçlarından birinin c-MYC up-regülasyonu ve hücre proliferasyonu olduğu bilinmektedir. Meme, kolon, akciğer gibi birçok kanserde MYC'in amplifiye olduğu gösterilmiştir. Mesane kanserlerinde yapılan araştırmaların bir kısmında c-MYC amplifikasyonu tümör evresi ve prognoz ile ilişkili bulunurken bir kısmında ilişki bulunamamıştır<sup>192,193</sup>. Literatürde c-MYC'in ürotelyal karsinom rekürrensi ile ilişkisinin sorgulandığı yayına rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda c-MYC'in rekürrens gösteren düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinomlarda göstermeyenlere göre daha yüksek düzeylerde eksprese edildiği görülmüştür (p=0,049). Bu c-MYC ekspresyonunun DDNİPÜK'larda rekürrens ile ilişkisini ortaya koyan ilk dökümantasyondur. Bulgu, diğer serilerde de teyit edilmesi halinde, mesane kanseri hasta takibinde yol gösterici bir veri olarak kullanıma girebilir.

Pİ3K/Akt'ın hücre büyümesi sürecinde etkilediği bir diğer moleköl mTOR ve onun alt basamak efektörleridir. Bu güne kadar mesane tümörlerinde bu yolağın etkisi bazı yayınlarda araştırılmış olmakla birlikte non-invaziv papiller ürotelyal tümörlerdeki çalışmalar çok az sayıdadır ve rekürrens ile bağlantısı net değildir. Daha önceki çalışmalardan birinde kas invazyonu göstermeyen pTa ve pT1 mesane tümörlerinde Akt/mTOR yolağı kapsamındaki belirteçlerin rekürrens ile ilişkisinin saptanmadığı belirtilmiştir<sup>103</sup>. Bizim çalışmamızda ise DDNİPÜK grubunda phos-mTOR rekürrens gösteren olguların ilk rezeksiyon materyallerinde daha yüksek düzeylerde eksprese edilmiştir (p=0,031). Farklı sonuçlar serilerdeki tümör evre ve derecelerinin örtüşmemesi ile açıklanabilir. Pİ3K/Akt yolağı aktivasyonunun olumsuz

hastalık seyirindeki rolünü progresyon ile ilişkisi de göstermektedir. Bulgularımız progresyon gösteren olgularda göstermeyenlere kıyasla yüksek phos-mTOR ekspresyonu ortaya koymaktadır.

Non-invaziv papiller ürotelyal neoplazilerde agresif seyir sık rastlanan bir durum değildir. Düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazilerde %0-7, düşük dereceli papiller ürotelyal karsinomlarda %4-18 ve yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinomlarda %8-35 arasında değişen oranlarda derece ve/veya evre progresyonu saptanmaktadır<sup>127,145,151,173,174,175,176,177,178,179,180</sup>. Bizim hastalarımızın 14'ünde (%12,17'inde) derece ve/veya evre progresyonu izlenmiştir (7 hastada DP, 5 hastada EP ve 2 hastada DP+EP). EP lamina propria invazyonu ile sınırlı kalmış, hiçbir hastada muskularis propria tutulumu gelişmemiştir. Sağ kalım ile ilişkili bu güne kadarki en kapsamlı çalışmada, pTa tümörlerde hastalığa bağlı ölüm %4 oranında bildirilmiştir<sup>175</sup>. Bizim hasta grubumuzda hastalık nedeni ile ölüm izlenmemiştir. İzlediğimiz olumlu prognozun bir nedeninin ürotelyal karsinoma in-situ (ÜKİS) eşlik eden ve hikayesinde ya da takibinde üst üriner sistem kanseri bulunan olguların çalışma harici tutulmuş olması muhtemeldir. ÜKİS'nun progresyonu ve dolayısı ile prognozu olumsuz etkileyen en önemli risk faktörlerinden biri olduğu bilinmektedir<sup>128,135,194,195,196,197</sup>. Bir diğer durum da önceki çalışmalardan bir kısmının pTa yanı sıra pT1 tümörleri de kapsayan "yüzeysel mesane tümörleri" grubunda yapılmış olmasıdır<sup>128,135,194,195,196,197</sup>. Bu noktada progresyonu öngörmeye tümör derecesine bakılmaksızın invaziv tümör grubu ile non-invaziv tümör grubunu birbirinden ayırmanın önemi daha net anlaşılmaktadır.

Mesane kanserlerinde progresyon ile ilişkili bulunan en istikrarlı faktör tümör hücrelerinin bölünme hızıdır. Çalışmalarda, özellikle düşük dereceli tümörlerde, progresyonu öngörmeye yüksek mitotik aktivitenin bağımsız risk faktörü olduğu ileri sürülmüştür<sup>147,148,149,150,151,152</sup>. Ki-67 ile yapılan çalışmalarda, düşük dereceli tümörlerde Ki-67 pozitif hücrelerin oranı immünohistokimyasal olarak belirlenmiş ve benzer sonuçlar elde edilmiştir<sup>153</sup>. Kas invazyonu göstermeyen ürotelyal kanserlerde de Ki-67 indeksinin progresyonla ilişkisi gösterilmiştir<sup>4,198,199</sup>. Çalışmamızda yüksek



Ki-67 proliferasyon indeksi artmış progresyon riski ile beraberdir ( $p=0,048$ ). Hızlı bölünen tümörlerin sıklıkla agresif seyir gösterdiği göz önüne alındığında Ki-67 proliferasyon indeksi ile progresyon arasında pozitif ilişki saptanması şaşırtıcı değildir ve Ki-67 progresyonu öngörmede kullanılabilecek immünohistokimyasal belirteçlerden biri olarak durmaktadır.

Çalışmamız progresyon sergileyen olguların %30,7'sinde PTEN kaybı gösterirken, progresyon gelişmeyenlerin sadece %4,3'ünde PTEN kaybı saptamıştır ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,008$ ). PTEN, PI3k/Akt yolağının negatif düzenleyicisi olup tümör baskılayıcı olarak görev görmektedir. Mesanenin ürotelyal karsinomları dahil olmak üzere bir çok tümörde PTEN'de mutasyonlar ve delesyonlar tespit edilmiştir. Bununla birlikte bu mutasyonların daha sıklıkla invaziv ürotelyal kanserlere eşlik ettiği gözlenmiştir<sup>159,161,200</sup>. Bu çalışmalardan birinde, özellikle solid gelişim gösteren invaziv ürotelyal kanserlerde PTEN kaybının progresyon ile ilişkili olduğunu destekleyecek bulgular elde edilmiştir<sup>200</sup>. Ayrıca PTEN'in baskılayıcı etkisi altındaki PI3K/Akt/mTOR yolağının üyeleri olan phos-S6 ve phos-Akt'ın yüksek düzeylerde ekspresyonunun mesane kanserlerinde progresyon ile ilişkili olduğu bildirilmiştir<sup>103</sup>. Derece ve/veya evrede progresyon gösteren olgularda Akt/mTOR yolağında görev alan phos-mTOR'un yüksek ekspresyonu beraberinde PTEN kaybı gösteren sonuçlarımız PTEN inaktivasyonu neticesinde PI3K/Akt/ mTOR yolak aktivasyonunun tümör progresyonunda etkin olduğunu düşündürmektedir.

Kronik hastalıklardan biri olarak kabul edilen non-invaziv papiller ürotelyal neoplazi hastalarında majör problem yüksek rekürrens riskidir. Hastalığın sık doktor takibi, tekrarlayan laboratuvar tetkikleri, girişimsel işlemler ve tedaviler gerektirmesi hasta başına düşen maliyeti doğrudan arttırmakta, iş gücü kaybı, üretkenliğin azalması ve hastaların yaşam kalitesini ileri derecede düşürmektedir. Rekürrens gösterecek olguları önceden tanımak, rekürrens göstermeyecek grupta gereksiz hasta takibinin önüne geçecek, maliyeti azaltacak, aynı zamanda hastaların maruz kaldığı psiko-sosyal travmayı da ortadan kaldıracaktır. 115 hastanın oluşturduğu

çalışma grubumuzda rekürrens siktir. Çalışmamızda erkek cinsiyet ve tümör boyutu rekürrens ile ilişkisi saptanan risk faktörleri olarak karşımıza çıksa da klinik veriler rekürrensi yeterli sensitivite ile öngörmede kısıtlı kalmaktadır. Bu alanda daha kesin ve net verilere ihtiyaç vardır ve bu konudaki çalışmalar devam etmelidir.

Ürotelyal mesane tümörlerinde prognozu belirleyen en önemli parametre tümör evresidir. Non-invaziv papiller ürotelyal neoplazilere karsinoma in-situ ya da üst sistem transizyonel hücreleri karsinom eşlik etmediği takdirde hastalık iyi seyir göstermektedir. Ancak bu hastalarda nadir de olsa progresyon gelişebilmektedir. Progresyon gösterecek olguları ve progresyon zamanını öngörmek oldukça zordur. Non-invaziv papiller ürotelyal neoplazi olgularında progresyonu öngörmede Ki-67 proliferasyon indeksi, PTEN kaybı ve phos-mTOR overekspresyonu anlamlı durmaktadır.

## 6 SONUÇ VE ÖNERİLER

- 1- PI3K/Akt/mTOR yolağının phos-mTOR, phos-S6 ve phos-4E-BP1 proteinleri ile siklin D3 proteininin non-neoplastik ürotelyum ve ürotelyal tümörlerdeki farklı ekspresyonları bu proteinlerin karsinogenezde rol aldığına işaret olabilir.
- 2- Apoptotik cisimlerin varlığı ürotelyal karsinomların DMPÜN'lerden ayırmasına katkı sağlar.
- 3- Neoplastik hücrelerde iğsileşme DDNİPÜK – DMPÜN ayırımında karsinomu destekler.
- 4- P53 boyanan ürotelyal tümörler genellikle yüksek dereceli, nadiren düşük derecelidir.
- 5- Non-invaziv papiller ürotelyal neoplazi olgularında 27 mm üzerindeki tümörlerde tümör çapının her 1 mm'lik artışı rekürrens riskini 1,8 kat artırır.
- 6- Non-invaziv papiller ürotelyal neoplazilerde rekürrens riski erkek cinsiyette kadınlara göre 4 kat daha yüksektir.
- 7- 10BBA'da  $\geq 2$  ve üzerinde mitoz içeren non-invaziv papiller ürotelyal neoplazi olguları  $\leq 1$  mitoz içerenlere kıyasla daha yüksek rekürrens riskine sahiptir.
- 8- Ters patern sergileyen düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom olgularında rekürrens saptanmamıştır. Hasta sayısı artırılarak bu grupta rekürrens riskini araştırmak gerekmektedir.
- 9- Düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinom olgularında ışık mikroskop altında iri nükleol izlenmesi artan rekürrens olasılığı ile beraberdir.
- 10- Rekürrens gösteren düşük dereceli non-invaziv papiller ürotelyal karsinomlar göstermeyenlerden daha yüksek skorda phos-mTOR ve c-MYC eksprese eder.
- 11- Yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi artmış progresyon riskine işaret eden immünohistokimyasal belirteçlerden biridir.
- 12- Non-invaziv papiller ürotelyal neoplazilerin tümör progresyonunda, PTEN kaybı beraberinde PI3K/ Akt/mTOR yolak aktivasyonu etkin mekanizma olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. *Int J Cancer* 1999;80:827-41.
2. Eble John N. SG, Epstein Jonathan I., Sesterhenn Isabell A. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. International Agency for Research on Cancer (IARC); 2004.
3. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005;55:74-108.
4. Society AC. Cancer facts and figures. American Cancer Society. Atlanta, Georgia; 2009.
5. Parkin DM WS, Ferlay J, Teppo L, Thomas DB. Cancer Incidence in Five Continents. International Agency for Research on Cancer (IARC); 2003.
6. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin* 2007;57:43-66.
7. Haukaas S, Daehlin L, Maartmann-Moe H, Ulvik NM. The long-term outcome in patients with superficial transitional cell carcinoma of the bladder: a single-institutional experience. *BJU Int* 1999;83:957-63.
8. Bryan RT, Wallace DM. 'Superficial' bladder cancer - time to uncouple pT1 tumours from pTa tumours. *BJU Int* 2002;90:846-52.
9. James AC, Gore JL. The costs of non-muscle invasive bladder cancer. *Urol Clin North Am* 2013;40:261-9.
10. VE R. Histology for pathologists. Lippincott Williams&Wilkins; 2007.
11. Sadler TW. Medical Embryology. Williams&Wilkins; 1995.
12. Fuchs E, Horsley V. More than one way to skin. *Genes Dev* 2008;22:976-85.
13. Philip AT, Amin MB, Tamboli P, Lee TJ, Hill CE, Ro JY. Intravesical adipose tissue: a quantitative study of its presence and location with implications for therapy and prognosis. *Am J Surg Pathol* 2000;24:1286-90.
14. Moll R, Divo M, Langbein L. The human keratins: biology and pathology. *Histochem Cell Biol* 2008;129:705-33.
15. Di Como CJ, Urist MJ, Babayan I, et al. p63 expression profiles in human normal and tumor tissues. *Clin Cancer Res* 2002;8:494-501.
16. Harnden P, Eardley I, Joyce AD, Southgate J. Cytokeratin 20 as an objective marker of urothelial dysplasia. *Br J Urol* 1996;78:870-5.
17. Johansson SL, Cohen SM. Epidemiology and etiology of bladder cancer. *Semin Surg Oncol* 1997;13:291-8.
18. Negri E, La Vecchia C. Epidemiology and prevention of bladder cancer. *Eur J Cancer Prev* 2001;10:7-14.
19. Bretheau D, Lechevallier E, Jean F, Rampal M, Coulange C. [Tumors of the superior urinary tract and associated bladder tumors: clinical and etiological aspects]. *Prog Urol* 1993;3:979-87.
20. Castelao JE, Yuan JM, Skipper PL, et al. Gender- and smoking-related bladder cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:538-45.
21. Tobacco smoke and involuntary smoking. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 2004;83:1-1438.
22. Dietrich H, Dietrich B. Ludwig Rehn (1849-1930)--pioneering findings on the aetiology of bladder tumours. *World J Urol* 2001;19:151-3.

23. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC Monographs volumes 1 to 42. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum Suppl 1987;7:1-440.
24. Mostofi FK SL, Torloni H. Histological typing of urinary bladder tumours. Geneva, Switzerland; 1973.
25. Epstein JI. The new World Health Organization/International Society of Urological Pathology (WHO/ISUP) classification for TA, T1 bladder tumors: is it an improvement? Critical Reviews in Oncology/Hematology 2003;47:83-9.
26. 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.
27. Sauter G AF, Amin MB, et al. World Health Organization classification of tumours pathology and genetics: tumours of the urinary system and male genital organs. International Agency for Research on Cancer (IARC); 2004.
28. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell 2000;100:57-70.
29. Kinzler KW, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. Cell 1996;87:159-70.
30. Koss LG. Bladder cancer from a perspective of 40 years. J Cell Biochem Suppl 1992;161:23-9.
31. Richter J, Jiang F, Gorog JP, et al. Marked genetic differences between stage pTa and stage pT1 papillary bladder cancer detected by comparative genomic hybridization. Cancer Res 1997;57:2860-4.
32. Simon R, Richter J, Wagner U, et al. High-throughput tissue microarray analysis of 3p25 (RAF1) and 8p12 (FGFR1) copy number alterations in urinary bladder cancer. Cancer Res 2001;61:4514-9.
33. Takahashi T, Habuchi T, Kakehi Y, et al. Clonal and chronological genetic analysis of multifocal cancers of the bladder and upper urinary tract. Cancer Res 1998;58:5835-41.
34. Zhao J, Richter J, Wagner U, et al. Chromosomal imbalances in noninvasive papillary bladder neoplasms (pTa). Cancer Res 1999;59:4658-61.
35. Fujimoto K, Yamada Y, Okajima E, et al. Frequent association of p53 gene mutation in invasive bladder cancer. Cancer Res 1992;52:1393-8.
36. Miyamoto H, Kubota Y, Shuin T, et al. Analyses of p53 gene mutations in primary human bladder cancer. Oncol Res 1993;5:245-9.
37. Pfister C, Flaman JM, Martin C, Grise P, Frebourg T. Selective detection of inactivating mutations of the tumor suppressor gene p53 in bladder tumors. J Urol 1999;161:1973-5.
38. Richter J, Wagner U, Kononen J, et al. High-throughput tissue microarray analysis of cyclin E gene amplification and overexpression in urinary bladder cancer. Am J Pathol 2000;157:787-94.
39. Simon R, Struckmann K, Schraml P, et al. Amplification pattern of 12q13-q15 genes (MDM2, CDK4, GLI) in urinary bladder cancer. Oncogene 2002;21:2476-83.
40. Sauter G, Gasser TC, Moch H, et al. DNA aberrations in urinary bladder cancer detected by flow cytometry and FISH. Urol Res 1997;25 Suppl 1:S37-43.
41. Tetu B, Allard P, Fradet Y, Roberge N, Bernard P. Prognostic significance of nuclear DNA content and S-phase fraction by flow cytometry in primary papillary superficial bladder cancer. Hum Pathol 1996;27:922-6.
42. Zhang FF, Arber DA, Wilson TG, Kawachi MH, Slovak ML. Toward the validation of aneusomy detection by fluorescence in situ hybridization in bladder cancer: comparative analysis with cytology, cytogenetics, and clinical features predicts recurrence and defines clinical testing limitations. Clin Cancer Res 1997;3:2317-28.

43. Steinberg GD, Trump DL, Cummings KB. Metastatic bladder cancer. Natural history, clinical course, and consideration for treatment. *Urol Clin North Am* 1992;19:735-46.
44. Liebert M, Seigne J. Characteristics of invasive bladder cancers: histological and molecular markers. *Semin Urol Oncol* 1996;14:62-72.
45. Cordon-Cardo C, Dalbagni G, Saez GT, et al. p53 mutations in human bladder cancer: genotypic versus phenotypic patterns. *Int J Cancer* 1994;56:347-53.
46. Kusser WC, Miao X, Glickman BW, et al. p53 mutations in human bladder cancer. *Environ Mol Mutagen* 1994;24:156-60.
47. Nouri AM, Darakhshan F, Cannell H, Paris AM, Oliver RT. The relevance of p53 mutation in urological malignancies: possible clinical implications for bladder cancer. *Br J Urol* 1996;78:337-44.
48. Spruck CH, 3rd, Rideout WM, 3rd, Olumi AF, et al. Distinct pattern of p53 mutations in bladder cancer: relationship to tobacco usage. *Cancer Res* 1993;53:1162-6.
49. Sandberg AA. Cytogenetics and molecular genetics of bladder cancer: a personal view. *Am J Med Genet* 2002;115:173-82.
50. Sauter G, Moch H, Wagner U, et al. Y chromosome loss detected by FISH in bladder cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 1995;82:163-9.
51. Cairns P, Shaw ME, Knowles MA. Initiation of bladder cancer may involve deletion of a tumour-suppressor gene on chromosome 9. *Oncogene* 1993;8:1083-5.
52. Habuchi T, Ogawa O, Kakehi Y, et al. Accumulated allelic losses in the development of invasive urothelial cancer. *Int J Cancer* 1993;53:579-84.
53. Tsai YC, Nichols PW, Hiti AL, Williams Z, Skinner DG, Jones PA. Allelic losses of chromosomes 9, 11, and 17 in human bladder cancer. *Cancer Res* 1990;50:44-7.
54. Habuchi T, Devlin J, Elder PA, Knowles MA. Detailed deletion mapping of chromosome 9q in bladder cancer: evidence for two tumour suppressor loci. *Oncogene* 1995;11:1671-4.
55. Keen AJ, Knowles MA. Definition of two regions of deletion on chromosome 9 in carcinoma of the bladder. *Oncogene* 1994;9:2083-8.
56. Simoneau AR, Spruck CH, 3rd, Gonzalez-Zulueta M, et al. Evidence for two tumor suppressor loci associated with proximal chromosome 9p to q and distal chromosome 9q in bladder cancer and the initial screening for GAS1 and PTC mutations. *Cancer Res* 1996;56:5039-43.
57. Baud E, Catilina P, Bignon YJ. p16 involvement in primary bladder tumors: analysis of deletions and mutations. *Int J Oncol* 1999;14:441-5.
58. Orlow I, Lacombe L, Hannon GJ, et al. Deletion of the p16 and p15 genes in human bladder tumors. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:1524-9.
59. Gonzalez-Zulueta M, Bender CM, Yang AS, et al. Methylation of the 5' CpG island of the p16/CDKN2 tumor suppressor gene in normal and transformed human tissues correlates with gene silencing. *Cancer Res* 1995;55:4531-5.
60. Gonzalgo ML, Hayashida T, Bender CM, et al. The role of DNA methylation in expression of the p19/p16 locus in human bladder cancer cell lines. *Cancer Res* 1998;58:1245-52.
61. Habuchi T, Yoshida O, Knowles MA. A novel candidate tumour suppressor locus at 9q32-33 in bladder cancer: localization of the candidate region within a single 840 kb YAC. *Hum Mol Genet* 1997;6:913-9.
62. McGarvey TW, Maruta Y, Tomaszewski JE, Linnenbach AJ, Malkowicz SB. PTCH gene mutations in invasive transitional cell carcinoma of the bladder. *Oncogene* 1998;17:1167-72.
63. Aboukassim TO, LaRue H, Lemieux P, Rousseau F, Fradet Y. Alteration of the PATCHED locus in superficial bladder cancer. *Oncogene* 2003;22:2967-71.

64. Habuchi T, Luscombe M, Elder PA, Knowles MA. Structure and methylation-based silencing of a gene (DBCCR1) within a candidate bladder cancer tumor suppressor region at 9q32-q33. *Genomics* 1998;48:277-88.
65. Louhelainen JP, Hurst CD, Pitt E, Nishiyama H, Pickett HA, Knowles MA. DBC1 re-expression alters the expression of multiple components of the plasminogen pathway. *Oncogene* 2006;25:2409-19.
66. Hornigold N, Devlin J, Davies AM, Aveyard JS, Habuchi T, Knowles MA. Mutation of the 9q34 gene TSC1 in sporadic bladder cancer. *Oncogene* 1999;18:2657-61.
67. Czerniak B, Cohen GL, Etkind P, et al. Concurrent mutations of coding and regulatory sequences of the Ha-ras gene in urinary bladder carcinomas. *Hum Pathol* 1992;23:1199-204.
68. Billerey C, Chopin D, Aubriot-Lorton MH, et al. Frequent FGFR3 mutations in papillary non-invasive bladder (pTa) tumors. *Am J Pathol* 2001;158:1955-9.
69. Hernandez S, Lopez-Knowles E, Lloreta J, et al. Prospective study of FGFR3 mutations as a prognostic factor in nonmuscle invasive urothelial bladder carcinomas. *J Clin Oncol* 2006;24:3664-71.
70. Junker K, van Oers JM, Zwarthoff EC, Kania I, Schubert J, Hartmann A. Fibroblast growth factor receptor 3 mutations in bladder tumors correlate with low frequency of chromosome alterations. *Neoplasia* 2008;10:1-7.
71. Jebar AH, Hurst CD, Tomlinson DC, Johnston C, Taylor CF, Knowles MA. FGFR3 and Ras gene mutations are mutually exclusive genetic events in urothelial cell carcinoma. *Oncogene* 2005;24:5218-25.
72. Dalbagni G, Presti J, Reuter V, Fair WR, Cordon-Cardo C. Genetic alterations in bladder cancer. *Lancet* 1993;342:469-71.
73. Zieger K, Dyrskjot L, Wiuf C, et al. Role of activating fibroblast growth factor receptor 3 mutations in the development of bladder tumors. *Clin Cancer Res* 2005;11:7709-19.
74. Gomez-Roman JJ, Saenz P, Molina M, et al. Fibroblast growth factor receptor 3 is overexpressed in urinary tract carcinomas and modulates the neoplastic cell growth. *Clin Cancer Res* 2005;11:459-65.
75. Lopez-Knowles E, Hernandez S, Malats N, et al. PIK3CA mutations are an early genetic alteration associated with FGFR3 mutations in superficial papillary bladder tumors. *Cancer Res* 2006;66:7401-4.
76. Gschwind A, Fischer OM, Ullrich A. The discovery of receptor tyrosine kinases: targets for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2004;4:361-70.
77. Reddy EP, Reynolds RK, Santos E, Barbacid M. A point mutation is responsible for the acquisition of transforming properties by the T24 human bladder carcinoma oncogene. *Nature* 1982;300:149-52.
78. Rieger-Christ KM, Mourtzinis A, Lee PJ, et al. Identification of fibroblast growth factor receptor 3 mutations in urine sediment DNA samples complements cytology in bladder tumor detection. *Cancer* 2003;98:737-44.
79. van Rhijn BW, van der Kwast TH, Vis AN, et al. FGFR3 and P53 characterize alternative genetic pathways in the pathogenesis of urothelial cell carcinoma. *Cancer Res* 2004;64:1911-4.
80. Bakkar AA, Wallerand H, Radvanyi F, et al. FGFR3 and TP53 gene mutations define two distinct pathways in urothelial cell carcinoma of the bladder. *Cancer Res* 2003;63:8108-12.
81. Cappellen D, De Oliveira C, Ricol D, et al. Frequent activating mutations of FGFR3 in human bladder and cervix carcinomas. *Nat Genet* 1999;23:18-20.

82. van Rhijn BW, Montironi R, Zwarthoff EC, Jobsis AC, van der Kwast TH. Frequent FGFR3 mutations in urothelial papilloma. *J Pathol* 2002;198:245-51.
83. Agazie YM, Movilla N, Ischenko I, Hayman MJ. The phosphotyrosine phosphatase SHP2 is a critical mediator of transformation induced by the oncogenic fibroblast growth factor receptor 3. *Oncogene* 2003;22:6909-18.
84. Kanai M, Goke M, Tsunekawa S, Podolsky DK. Signal transduction pathway of human fibroblast growth factor receptor 3. Identification of a novel 66-kDa phosphoprotein. *J Biol Chem* 1997;272:6621-8.
85. Lipponen P, Eskelinen M. Expression of epidermal growth factor receptor in bladder cancer as related to established prognostic factors, oncoprotein (c-erbB-2, p53) expression and long-term prognosis. *Br J Cancer* 1994;69:1120-5.
86. Messing EM. Growth factors and bladder cancer: clinical implications of the interactions between growth factors and their urothelial receptors. *Semin Surg Oncol* 1992;8:285-92.
87. Coogan CL, Estrada CR, Kapur S, Bloom KJ. HER-2/neu protein overexpression and gene amplification in human transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology* 2004;63:786-90.
88. Memon AA, Sorensen BS, Melgard P, Fokdal L, Thykjaer T, Nexø E. Expression of HER3, HER4 and their ligand heregulin-4 is associated with better survival in bladder cancer patients. *Br J Cancer* 2004;91:2034-41.
89. Ching CB, Hansel DE. Expanding therapeutic targets in bladder cancer: the PI3K/Akt/mTOR pathway. *Lab Invest* 2010;90:1406-14.
90. Strimpakos AS, Karapanagiotou EM, Saif MW, Syrigos KN. The role of mTOR in the management of solid tumors: an overview. *Cancer Treat Rev* 2009;35:148-59.
91. Garcia JA, Danielpour D. Mammalian target of rapamycin inhibition as a therapeutic strategy in the management of urologic malignancies. *Mol Cancer Ther* 2008;7:1347-54.
92. Sarbassov DD, Ali SM, Sabatini DM. Growing roles for the mTOR pathway. *Curr Opin Cell Biol* 2005;17:596-603.
93. Kim DH, Sarbassov DD, Ali SM, et al. mTOR interacts with raptor to form a nutrient-sensitive complex that signals to the cell growth machinery. *Cell* 2002;110:163-75.
94. Hay N. The Akt-mTOR tango and its relevance to cancer. *Cancer Cell* 2005;8:179-83.
95. Sabatini DM. mTOR and cancer: insights into a complex relationship. *Nat Rev Cancer* 2006;6:729-34.
96. Hay N, Sonenberg N. Upstream and downstream of mTOR. *Genes Dev* 2004;18:1926-45.
97. Viglietto G, Motti ML, Fusco A. Understanding p27(kip1) deregulation in cancer: down-regulation or mislocalization. *Cell Cycle* 2002;1:394-400.
98. Dominguez-Caceres MA, Garcia-Martinez JM, Calcabrini A, et al. Prolactin induces c-Myc expression and cell survival through activation of Src/Akt pathway in lymphoid cells. *Oncogene* 2004;23:7378-90.
99. Levidou G, Saetta AA, Karlou M, et al. D-type cyclins in superficial and muscle-invasive bladder urothelial carcinoma: correlation with clinicopathological data and prognostic significance. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010;136:1563-71.
100. Lopez-Beltran A, Requena MJ, Luque RJ, et al. Cyclin D3 expression in primary Ta/T1 bladder cancer. *J Pathol* 2006;209:106-13.
101. Schultz L, Chaux A, Albadine R, et al. Immunoexpression status and prognostic value of mTOR and hypoxia-induced pathway members in primary and metastatic clear cell renal cell carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2011;35:1549-56.



102. Lotan TL, Gurel B, Sutcliffe S, et al. PTEN protein loss by immunostaining: analytic validation and prognostic indicator for a high risk surgical cohort of prostate cancer patients. *Clin Cancer Res* 2011;17:6563-73.
103. Sun CH, Chang YH, Pan CC. Activation of the PI3K/Akt/mTOR pathway correlates with tumour progression and reduced survival in patients with urothelial carcinoma of the urinary bladder. *Histopathology* 2011;58:1054-63.
104. Mansure JJ, Nassim R, Chevalier S, Rocha J, Scarlata E, Kassouf W. Inhibition of mammalian target of rapamycin as a therapeutic strategy in the management of bladder cancer. *Cancer Biol Ther* 2009;8:2339-47.
105. Makhlin I, Zhang J, Long CJ, et al. The mTOR pathway affects proliferation and chemosensitivity of urothelial carcinoma cells and is upregulated in a subset of human bladder cancers. *BJU Int* 2011;108:E84-90.
106. Qian CN, Furge KA, Knol J, et al. Activation of the PI3K/AKT pathway induces urothelial carcinoma of the renal pelvis: identification in human tumors and confirmation in animal models. *Cancer Res* 2009;69:8256-64.
107. Tickoo SK, Milowsky MI, Dhar N, et al. Hypoxia-inducible factor and mammalian target of rapamycin pathway markers in urothelial carcinoma of the bladder: possible therapeutic implications. *BJU Int* 2011;107:844-9.
108. Hansel DE, Platt E, Orloff M, et al. Mammalian target of rapamycin (mTOR) regulates cellular proliferation and tumor growth in urothelial carcinoma. *Am J Pathol* 2010;176:3062-72.
109. Cheng L, Cheville JC, Neumann RM, et al. Survival of patients with carcinoma in situ of the urinary bladder. *Cancer* 1999;85:2469-74.
110. Cordon-Cardo C. Molecular alterations associated with bladder cancer initiation and progression. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 2008:154-65.
111. Cordon-Cardo C, Wartinger D, Petrylak D, et al. Altered expression of the retinoblastoma gene product: prognostic indicator in bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 1992;84:1251-6.
112. Cordon-Cardo C, Zhang ZF, Dalbagni G, et al. Cooperative effects of p53 and pRB alterations in primary superficial bladder tumors. *Cancer Res* 1997;57:1217-21.
113. Hernando E, Nahle Z, Juan G, et al. Rb inactivation promotes genomic instability by uncoupling cell cycle progression from mitotic control. *Nature* 2004;430:797-802.
114. George B, Datar RH, Wu L, et al. p53 gene and protein status: the role of p53 alterations in predicting outcome in patients with bladder cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:5352-8.
115. Puzio-Kuter AM, Castillo-Martin M, Kinkade CW, et al. Inactivation of p53 and Pten promotes invasive bladder cancer. *Genes Dev* 2009;23:675-80.
116. Cully M, You H, Levine AJ, Mak TW. Beyond PTEN mutations: the PI3K pathway as an integrator of multiple inputs during tumorigenesis. *Nat Rev Cancer* 2006;6:184-92.
117. Hickman ES, Moroni MC, Helin K. The role of p53 and pRB in apoptosis and cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2002;12:60-6.
118. Sarkis AS, Dalbagni G, Cordon-Cardo C, et al. Nuclear overexpression of p53 protein in transitional cell bladder carcinoma: a marker for disease progression. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:53-9.
119. Cairns P, Proctor AJ, Knowles MA. Loss of heterozygosity at the RB locus is frequent and correlates with muscle invasion in bladder carcinoma. *Oncogene* 1991;6:2305-9.
120. Ioachim E, Charchanti A, Stavropoulos NE, Skopelitou A, Athanassiou ED, Agnantis NJ. Immunohistochemical expression of retinoblastoma gene product (Rb), p53 protein, MDM2, c-erbB-2, HLA-DR and proliferation indices in human urinary bladder carcinoma. *Histol Histopathol* 2000;15:721-7.

121. Logothetis CJ, Xu HJ, Ro JY, et al. Altered expression of retinoblastoma protein and known prognostic variables in locally advanced bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 1992;84:1256-61.
122. Wright C, Thomas D, Mellon K, Neal DE, Horne CH. Expression of retinoblastoma gene product and p53 protein in bladder carcinoma: correlation with Ki67 index. *Br J Urol* 1995;75:173-9.
123. Kagan J, Liu J, Stein JD, et al. Cluster of allele losses within a 2.5 cM region of chromosome 10 in high-grade invasive bladder cancer. *Oncogene* 1998;16:909-13.
124. Platt FM, Hurst CD, Taylor CF, Gregory WM, Harnden P, Knowles MA. Spectrum of phosphatidylinositol 3-kinase pathway gene alterations in bladder cancer. *Clin Cancer Res* 2009;15:6008-17.
125. Wu X, Obata T, Khan Q, Highshaw RA, De Vere White R, Sweeney C. The phosphatidylinositol-3 kinase pathway regulates bladder cancer cell invasion. *BJU Int* 2004;93:143-50.
126. Harris LD, De La Cerda J, Tuziak T, et al. Analysis of the expression of biomarkers in urinary bladder cancer using a tissue microarray. *Mol Carcinog* 2008;47:678-85.
127. Herr HW, Donat SM, Reuter VE. Management of low grade papillary bladder tumors. *J Urol* 2007;178:1201-5; discussion 5.
128. Millan-Rodriguez F, Chechile-Toniolo G, Salvador-Bayarri J, Palou J, Vicente-Rodriguez J. Multivariate analysis of the prognostic factors of primary superficial bladder cancer. *J Urol* 2000;163:73-8.
129. Holmang S, Hedelin H, Anderstrom C, Holmberg E, Busch C, Johansson SL. Recurrence and progression in low grade papillary urothelial tumors. *J Urol* 1999;162:702-7.
130. Ali-El-Dein B, Sarhan O, Hinev A, Ibrahim el HI, Nabeeh A, Ghoneim MA. Superficial bladder tumours: analysis of prognostic factors and construction of a predictive index. *BJU Int* 2003;92:393-9.
131. Miyamoto H, Miller JS, Fajardo DA, Lee TK, Netto GJ, Epstein JI. Non-invasive papillary urothelial neoplasms: the 2004 WHO/ISUP classification system. *Pathol Int* 2010;60:1-8.
132. Lerman RI, Hutter RV, Whitmore WF, Jr. Papilloma of the urinary bladder. *Cancer* 1970;25:333-42.
133. Magi-Galluzzi C, Epstein JI. Urothelial papilloma of the bladder: a review of 34 de novo cases. *Am J Surg Pathol* 2004;28:1615-20.
134. Hong SJ, Cho KS, Han M, et al. Nomograms for prediction of disease recurrence in patients with primary Ta, T1 transitional cell carcinoma of the bladder. *J Korean Med Sci* 2008;23:428-33.
135. Sylvester RJ, van der Meijden AP, Oosterlinck W, et al. Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials. *Eur Urol* 2006;49:466-5; discussion 75-7.
136. Jewett HJ. Carcinoma of the bladder: influence of depth of infiltration on the 5-year results following complete extirpation of the primary growth. *J Urol* 1952;67:672-80.
137. Jewett HJ, King LR, Shelley WM. A Study of 365 Cases of Infiltrating Bladder Cancer: Relation of Certain Pathological Characteristics to Prognosis after Extirpation. *J Urol* 1964;92:668-78.
138. Cheng L, Weaver AL, Leibovich BC, et al. Predicting the survival of bladder carcinoma patients treated with radical cystectomy. *Cancer* 2000;88:2326-32.
139. Skinner DG. Current perspectives in the management of high-grade invasive bladder cancer. *Cancer* 1980;45:1866-74.

140. Kern WH. The grade and pathologic stage of bladder cancer. *Cancer* 1984;53:1185-9.
141. Gilbert HA, Logan JL, Kagan AR, et al. The natural history of papillary transitional cell carcinoma of the bladder and its treatment in an unselected population on the basis of histologic grading. *J Urol* 1978;119:488-92.
142. Heney NM, Ahmed S, Flanagan MJ, et al. Superficial bladder cancer: progression and recurrence. *J Urol* 1983;130:1083-6.
143. 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.
144. 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.
145. Miyamoto H, Brimo F, Schultz L, et al. Low-grade papillary urothelial carcinoma of the urinary bladder: a clinicopathologic analysis of a post-World Health Organization/International Society of Urological Pathology classification cohort from a single academic center. *Arch Pathol Lab Med* 2010;134:1160-3.
146. Pan CC, Chang YH, Chen KK, Yu HJ, Sun CH, Ho DM. Prognostic significance of the 2004 WHO/ISUP classification for prediction of recurrence, progression, and cancer-specific mortality of non-muscle-invasive urothelial tumors of the urinary bladder: a clinicopathologic study of 1,515 cases. *Am J Clin Pathol* 2010;133:788-95.
147. Lipponen PK, Eskelinen MJ, Jauhiainen K, Harju E, Terho R, Haapasalo H. Grading of superficial bladder cancer by quantitative mitotic frequency analysis. *J Urol* 1993;149:36-41.
148. 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.
149. Oosterhuis JW, Schapers RF, Janssen-Heijnen ML, Smeets AW, Pauwels RP. MIB-1 as a proliferative marker in transitional cell carcinoma of the bladder: clinical significance and comparison with other prognostic factors. *Cancer* 2000;88:2598-605.
150. Otto T, Bex A, Schmidt U, Raz A, Rubben H. Improved prognosis assessment for patients with bladder carcinoma. *Am J Pathol* 1997;150:1919-23.
151. Pich A, Chiusa L, Formiconi A, et al. Proliferative activity is the most significant predictor of recurrence in noninvasive papillary urothelial neoplasms of low malignant potential and grade 1 papillary carcinomas of the bladder. *Cancer* 2002;95:784-90.
152. Suwa Y, Takano Y, Iki M, Asakura T, Noguchi S, Masuda M. Prognostic significance of Ki-67 expression in transitional cell bladder carcinoma after radical cystectomy. *Pathol Res Pract* 1997;193:551-6.
153. Mulder AH, Van Hootegem JC, Sylvester R, et al. Prognostic factors in bladder carcinoma: histologic parameters and expression of a cell cycle-related nuclear antigen (Ki-67). *J Pathol* 1992;166:37-43.
154. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med* 2007;131:18-43.
155. Fontana D, Bellina M, Scoffone C, et al. Evaluation of c-ras oncogene product (p21) in superficial bladder cancer. *Eur Urol* 1996;29:470-6.
156. Miyakawa M, Tsushima T, Murakami H, Wakai K, Isozaki O, Takano K. Increased expression of phosphorylated p70S6 kinase and Akt in papillary thyroid cancer tissues. *Endocr J* 2003;50:77-83.

157. Seufferlein T, Rozengurt E. Rapamycin inhibits constitutive p70s6k phosphorylation, cell proliferation, and colony formation in small cell lung cancer cells. *Cancer Res* 1996;56:3895-7.
158. Tampellini M, Longo M, Cappia S, et al. Co-expression of EGF receptor, TGF $\alpha$  and S6 kinase is significantly associated with colorectal carcinomas with distant metastases at diagnosis. *Virchows Arch* 2007;450:321-8.
159. Feng W, Brown RE, Trung CD, et al. Morphoproteomic profile of mTOR, Ras/Raf kinase/ERK, and NF-kappaB pathways in human gastric adenocarcinoma. *Ann Clin Lab Sci* 2008;38:195-209.
160. Hartman TR, Nicolas E, Klein-Szanto A, et al. The role of the Birt-Hogg-Dube protein in mTOR activation and renal tumorigenesis. *Oncogene* 2009;28:1594-604.
161. Schultz L, Albadine R, Hicks J, et al. Expression status and prognostic significance of mammalian target of rapamycin pathway members in urothelial carcinoma of urinary bladder after cystectomy. *Cancer* 2010;116:5517-26.
162. Reiling JH, Sabatini DM. Stress and mTOR signaling. *Oncogene* 2006;25:6373-83.
163. Arsham AM, Howell JJ, Simon MC. A novel hypoxia-inducible factor-independent hypoxic response regulating mammalian target of rapamycin and its targets. *J Biol Chem* 2003;278:29655-60.
164. Koritzinsky M, Magagnin MG, van den Beucken T, et al. Gene expression during acute and prolonged hypoxia is regulated by distinct mechanisms of translational control. *EMBO J* 2006;25:1114-25.
165. Liu L, Cash TP, Jones RG, Keith B, Thompson CB, Simon MC. Hypoxia-induced energy stress regulates mRNA translation and cell growth. *Mol Cell* 2006;21:521-31.
166. Koyuncuoglu M, Kargi A, Cingoz S, Kirkali Z. Investigation of p53, c-erbB-2, PCNA immunoreactivity, DNA content, AgNOR and apoptosis in bladder carcinoma as prognostic parameters. *Cancer Lett* 1998;126:143-8.
167. Amirghofran Z, Monabati A, Khezri A, Malek-Hosseini Z. Apoptosis in transitional cell carcinoma of bladder and its relation to proliferation and expression of p53 and bcl-2. *Pathol Oncol Res* 2004;10:154-8.
168. King ED, Matteson J, Jacobs SC, Kyprianou N. Incidence of apoptosis, cell proliferation and bcl-2 expression in transitional cell carcinoma of the bladder: association with tumor progression. *J Urol* 1996;155:316-20.
169. Shariat SF, Ashfaq R, Sagalowsky AI, Lotan Y. Correlation of cyclin D1 and E1 expression with bladder cancer presence, invasion, progression, and metastasis. *Hum Pathol* 2006;37:1568-76.
170. Shariat SF, Ashfaq R, Sagalowsky AI, Lotan Y. Predictive value of cell cycle biomarkers in nonmuscle invasive bladder transitional cell carcinoma. *J Urol* 2007;177:481-7; discussion 7.
171. Shariat SF, Zlotta AR, Ashfaq R, Sagalowsky AI, Lotan Y. Cooperative effect of cell-cycle regulators expression on bladder cancer development and biologic aggressiveness. *Mod Pathol* 2007;20:445-59.
172. Malats N, Bustos A, Nascimento CM, et al. P53 as a prognostic marker for bladder cancer: a meta-analysis and review. *Lancet Oncol* 2005;6:678-86.
173. Oosterhuis JW, Schapers RF, Janssen-Heijnen ML, Pauwels RP, Newling DW, ten Kate F. Histological grading of papillary urothelial carcinoma of the bladder: prognostic value of the 1998 WHO/ISUP classification system and comparison with conventional grading systems. *J Clin Pathol* 2002;55:900-5.

174. Ramos D, Navarro S, Villamon R, Gil-Salom M, Llombart-Bosch A. Cytokeratin expression patterns in low-grade papillary urothelial neoplasms of the urinary bladder. *Cancer* 2003;97:1876-83.
175. Holmang 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;165:1124-8; discussion 8-30.
176. Lee TK, Chaux A, Karram S, et al. Papillary urothelial neoplasm of low malignant potential of the urinary bladder: clinicopathologic and outcome analysis from a single academic center. *Hum Pathol* 2011;42:1799-803.
177. 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.
178. Campbell PA, Conrad RJ, Campbell CM, Nicol DL, MacTaggart P. Papillary urothelial neoplasm of low malignant potential: reliability of diagnosis and outcome. *BJU Int* 2004;93:1228-31.
179. Yin H, Leong AS. Histologic grading of noninvasive papillary urothelial tumors: validation of the 1998 WHO/ISUP system by immunophenotyping and follow-up. *Am J Clin Pathol* 2004;121:679-87.
180. Desai S, Lim SD, Jimenez RE, et al. Relationship of cytokeratin 20 and CD44 protein expression with WHO/ISUP grade in pTa and pT1 papillary urothelial neoplasia. *Mod Pathol* 2000;13:1315-23.
181. Kluth LA, Fajkovic H, Xylinas E, et al. Female gender is associated with higher risk of disease recurrence in patients with primary T1 high-grade urothelial carcinoma of the bladder. *World J Urol* 2013;31:1029-36.
182. Herr HW, Donat SM, Dalbagni G. Can restaging transurethral resection of T1 bladder cancer select patients for immediate cystectomy? *J Urol* 2007;177:75-9; discussion 9.
183. Kurth KH, Denis L, Bouffieux C, et al. Factors affecting recurrence and progression in superficial bladder tumours. *Eur J Cancer* 1995;31A:1840-6.
184. Fujii Y, Fukui I, Kihara K, et al. Significance of bladder neck involvement on progression in superficial bladder cancer. *Eur Urol* 1998;33:464-8.
185. Herr HW, Badalament RA, Amato DA, Laudone VP, Fair WR, Whitmore WF, Jr. Superficial bladder cancer treated with bacillus Calmette-Guerin: a multivariate analysis of factors affecting tumor progression. *J Urol* 1989;141:22-9.
186. Holmang S, Johansson SL. Stage Ta-T1 bladder cancer: the relationship between findings at first followup cystoscopy and subsequent recurrence and progression. *J Urol* 2002;167:1634-7.
187. Mambo NC. The significance of atypical nuclear changes in benign eccrine acrospiromas: a clinical and pathological study of 18 cases. *J Cutan Pathol* 1984;11:35-44.
188. Sanson M, Richard S, Delattre O, et al. Allelic loss on chromosome 22 correlates with histopathological predictors of recurrence of meningiomas. *Int J Cancer* 1992;50:391-4.
189. Abramovich CM, Prayson RA. Histopathologic features and MIB-1 labeling indices in recurrent and nonrecurrent meningiomas. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123:793-800.
190. Huang J, Manning BD. A complex interplay between Akt, TSC2 and the two mTOR complexes. *Biochem Soc Trans* 2009;37:217-22.
191. Jiang BH, Liu LZ. PI3K/PTEN signaling in angiogenesis and tumorigenesis. *Adv Cancer Res* 2009;102:19-65.

192. Zaharieva B, Simon R, Ruiz C, et al. High-throughput tissue microarray analysis of CMYC amplification in urinary bladder cancer. *Int J Cancer* 2005;117:952-6.
193. Schmitz-Drager BJ, Schulz WA, Jurgens B, et al. c-myc in bladder cancer. Clinical findings and analysis of mechanism. *Urol Res* 1997;25 Suppl 1:S45-9.
194. Millan-Rodriguez F, Chechile-Toniolo G, Salvador-Bayarri J, Palou J, Algaba F, Vicente-Rodriguez J. Primary superficial bladder cancer risk groups according to progression, mortality and recurrence. *J Urol* 2000;164:680-4.
195. Bernardini S, Billerey C, Martin M, Adessi GL, Wallerand H, Bittard H. The predictive value of muscularis mucosae invasion and p53 over expression on progression of stage T1 bladder carcinoma. *J Urol* 2001;165:42-6; discussion 6.
196. Orsola A, Trias I, Raventos CX, et al. Initial high-grade T1 urothelial cell carcinoma: feasibility and prognostic significance of lamina propria invasion microstaging (T1a/b/c) in BCG-treated and BCG-non-treated patients. *Eur Urol* 2005;48:231-8; discussion 8.
197. Smits G, Schaafsma E, Kiemeny L, Caris C, Debruyne F, Witjes JA. Microstaging of pT1 transitional cell carcinoma of the bladder: identification of subgroups with distinct risks of progression. *Urology* 1998;52:1009-13; discussion 13-4.
198. Burger M, van der Aa MN, van Oers JM, et al. Prediction of progression of non-muscle-invasive bladder cancer by WHO 1973 and 2004 grading and by FGFR3 mutation status: a prospective study. *Eur Urol* 2008;54:835-43.
199. Lopez-Beltran A, Luque RJ, Alvarez-Kindelan J, et al. 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.
200. Tsuruta H, Kishimoto H, Sasaki T, et al. Hyperplasia and carcinomas in Pten-deficient mice and reduced PTEN protein in human bladder cancer patients. *Cancer Res* 2006;66:8389-96.

### EK (İncelenen Hastalara Ait Biyopsi Numaraları)

Sıra No	Biyopsi Yılı	Biyopsi Numarası
1	1989	952
2	1993	621
3	1993	5230
4	1993	9484
5	1993	14027
6	1998	5492
7	1998	7631
8	1998	10616
9	1999	14674
10	1999	15560
11	2000	3024
12	2000	9776
13	2000	13666
14	2000	15312
15	2001	2647
16	2001	6392
17	2001	8219
18	2001	9798
19	2001	13534
20	2001	15000
21	2002	231
22	2002	1894
23	2002	2154
24	2002	5535
25	2002	6101
26	2002	7900
27	2002	9148
28	2002	9644
29	2002	9882
30	2002	10020
31	2002	11402
32	2002	11918
33	2002	12325
34	2002	13614
35	2002	13987
36	2002	14863
37	2002	15158
38	2002	16035
39	2002	16133
40	2002	16140
41	2003	924
42	2003	2881
43	2003	6380
44	2003	7414
45	2003	8794
46	2003	8837
47	2003	8958
48	2003	9204
49	2003	9724
50	2003	9933
51	2003	13376
52	2003	13491
53	2003	14271

Sıra No	Biyopsi Yılı	Biyopsi Numarası
54	2003	14618
55	2003	14642
56	2003	15968
57	2003	17123
58	2003	17550
59	2004	101
60	2004	798
61	2004	1753
62	2004	4151
63	2004	4443
64	2004	4544
65	2004	5079
66	2004	5627
67	2004	6277
68	2004	7086
69	2004	8973
70	2004	9239
71	2004	10438
72	2004	10902
73	2004	11723
74	2004	12320
75	2004	12873
76	2004	14045
77	2004	14361
78	2004	14390
79	2004	14929
80	2004	15099
81	2004	16311
82	2004	17410
83	2004	17785
84	2004	18705
85	2005	425
86	2005	611
87	2005	1849
88	2005	3765
89	2005	4998
90	2005	5281
91	2005	6289
92	2005	6518
93	2005	6629
94	2005	11302
95	2005	11315
96	2005	11338
97	2005	12764
98	2005	13930
99	2005	13955
100	2005	14068
101	2005	14070
102	2005	14559
103	2005	16438
104	2005	16443
105	2005	16992
106	2005	17031

Sıra No	Biyopsi Yılı	Biyopsi Numarası
107	2005	17161
108	2005	17192
109	2005	18174
110	2005	18304
111	2005	18549
112	2005	18569
113	2005	18575
114	2005	18654
115	2005	18808
116	2005	19219
117	2005	19394
118	2005	19538
119	2005	19783
120	2006	510
121	2006	770
122	2006	1741
123	2006	1955
124	2006	2026
125	2006	3323
126	2006	3689
127	2006	3855
128	2006	4547
129	2006	4715
130	2006	5181
131	2006	5183
132	2006	5271
133	2006	5636
134	2006	6132
135	2006	6621
136	2006	7012
137	2006	7630
138	2006	7979
139	2006	8181
140	2006	9680
141	2006	9686
142	2006	10428
143	2006	11057
144	2006	11914
145	2006	12287
146	2006	12705
147	2006	13071
148	2006	13749
149	2006	14918
150	2006	15393
151	2006	15854
152	2006	17146
153	2006	17148
154	2006	17421
155	2006	17828
156	2006	19558
157	2006	19976
158	2006	20399
159	2006	20868

Sıra No	Biyopsi Yılı	Biyopsi Numarası
160	2006	20870
161	2006	21157
162	2007	118
163	2007	186
164	2007	628
165	2007	662
166	2007	1911
167	2007	2034
168	2007	2074
169	2007	3589
170	2007	4111
171	2007	4329
172	2007	4796
173	2007	6552
174	2007	6562
175	2007	7374
176	2007	7766
177	2007	7773
178	2007	8164
179	2007	8271
180	2007	8690
181	2007	8694
182	2007	9521
183	2007	9536
184	2007	9544
185	2007	10391
186	2007	11382
187	2007	11755
188	2007	13347
189	2007	13853
190	2007	13879
191	2007	14622
192	2007	14641
193	2007	15199
194	2007	15297
195	2007	15330
196	2007	15674
197	2007	15712
198	2007	16458
199	2007	17536
200	2007	17953
201	2007	17975
202	2007	18104
203	2007	19052
204	2007	19168
205	2007	20127
206	2007	21360
207	2008	96
208	2008	937
209	2008	1104
210	2008	1724
211	2008	1849
212	2008	2299
213	2008	2621
214	2008	3800
215	2008	3839
216	2008	4045

Sıra No	Biyopsi Yılı	Biyopsi Numarası
217	2008	4198
218	2008	4586
219	2008	4929
220	2008	5898
221	2008	6462
222	2008	6952
223	2008	7376
224	2008	8099
225	2008	8177
226	2008	9362
227	2008	9407
228	2008	9432
229	2008	10242
230	2008	10762
231	2008	11152
232	2008	11154
233	2008	11180
234	2008	11412
235	2008	12409
236	2008	12856
237	2008	13202
238	2008	13247
239	2008	13480
240	2008	13948
241	2008	15007
242	2008	15011
243	2008	15675
244	2008	15805
245	2008	16206
246	2008	16209
247	2008	16258
248	2008	16981
249	2008	17667
250	2008	17886
251	2008	18528
252	2008	18643
253	2008	19003
254	2008	19500
255	2008	20381
256	2008	20437
257	2008	20889
258	2008	20917
259	2008	20936
260	2008	21328
261	2009	626
262	2009	1523
263	2009	1525
264	2009	2021
265	2009	2932
266	2009	3154
267	2009	3181
268	2009	4034
269	2009	4573
270	2009	5039
271	2009	5604
272	2009	5996
273	2009	6013

Sıra No	Biyopsi Yılı	Biyopsi Numarası
274	2009	6438
275	2009	6813
276	2009	6904
277	2009	6937
278	2009	7235
279	2009	7302
280	2009	7962
281	2009	8074
282	2009	8544
283	2009	10100
284	2009	10802
285	2009	10829
286	2009	11440
287	2009	11552
288	2009	11883
289	2009	12048
290	2009	12165
291	2009	12371
292	2009	12399
293	2009	12401
294	2009	12837
295	2009	13104
296	2009	13521
297	2009	13523
298	2009	13541
299	2009	13848
300	2009	13939
301	2009	14267
302	2009	14688
303	2009	15495
304	2009	16034
305	2009	16038
306	2009	16076
307	2009	17985
308	2009	18410
309	2009	18825
310	2009	18864
311	2009	19041
312	2009	19268
313	2009	19306
314	2009	19752
315	2009	19758
316	2009	20211
317	2010	753
318	2010	844
319	2010	1797
320	2010	1843
321	2010	2202
322	2010	4628
323	2010	4633
324	2010	5115
325	2010	5501
326	2010	5570
327	2010	5997
328	2010	6437
329	2010	6447
330	2010	6877



Sıra No	Biyopsi Yılı	Biyopsi Numarası
331	2010	7165
332	2010	7198
333	2010	7305
334	2010	7564
335	2010	8001
336	2010	8446
337	2010	8845
338	2010	9290
339	2010	9532
340	2010	10702
341	2010	11913
342	2010	11972
343	2010	11997
344	2010	12295
345	2010	12604
346	2010	13046
347	2010	13115
348	2010	13435
349	2010	14024
350	2010	14143
351	2010	15640
352	2010	15897
353	2010	16158

Sıra No	Biyopsi Yılı	Biyopsi Numarası
354	2010	17111
355	2010	17447
356	2010	18105
357	2010	18185
358	2010	18235
359	2010	18576
360	2010	19711
361	2011	833
362	2011	2005
363	2011	2590
364	2011	3227
365	2011	5021
366	2011	5056
367	2011	5750
368	2011	6573
369	2011	6594
370	2011	6851
371	2011	7424
372	2011	11001
373	2011	11643
374	2011	12873
375	2011	12875
376	2011	13703

Sıra No	Biyopsi Yılı	Biyopsi Numarası
377	2011	13925
378	2011	13978
379	2011	14776
380	2011	14778
381	2011	16307
382	2011	19120
383	2011	19525
384	2011	19537
385	2012	1283
386	2012	3769
387	2012	8541
388	2012	13093
389	2012	13324
390	2012	14351
391	2012	14746
392	2012	15153
393	2012	16410
394	2012	17032
395	2012	17642
396	2012	18536
397	2012	19446
398	2012	20887