

TAVŞAN MESANESİNDE İNTRAVEZİKAL BCG TEDAVİSİNİN LOKAL İMMÜN CEVABININ DEĞERLENDİRİLMESİ

EVALUATION OF LOCAL IMMUNE RESPONSE AFTER INTRAVESICAL BCG TREATMENT IN RABBIT BLADDER

KÜPELİ B.*, GÜNLÜSOY B.**, YALÇINKAYA F.**, ALÇIĞIR G.***

* Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, ANKARA

** SSK Ankara Eğitim Hastanesi II. Üroloji Kliniği, ANKARA

*** Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, ANKARA

ÖZET

Yüzeyel Mesane Tümörlerinde rekürrensi önlemek ve terapötik amaçlı olarak kullanılan intravezikal Bacillus-Calmette-Guerin (BCG) tedavisi lokal immün cevabı arttırarak etkili olmaktadır. Tavşanlar üzerinde yapılan bu çalışmada, BCG tedavisinin normal mesane ve komşu dokular üzerindeki etkileri incelenmiştir. Doza bağlı olarak artan lenfosit infiltrasyonu, lenf nodlarındaki derin kortikal hiperaktivasyon ve mesane epitelindeki dejenerasyon göze çarpan en önemli bulgulardır. Bu sonuçlar, BCG tedavisinin mesane duvarında hücrel immüniteyi arttırarak etkili olduğunu ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: BCG, Yüzeyel Mesane Tümörü, İmmün Cevap

ABSTRACT

Intravesical Bacillus-Calmette-Guerin (BCG) treatment which can be used for prevention of the recurrences and therapeutic purposes in the management of superficial bladder tumors, is effective with enhancing local immune response. In this study on rabbits, the effects of BCG treatment in normal bladder and adjacent tissues were examined. Dose related lymphocytes infiltration, deep cortical hyperactivation of lymph nodes and degeneration of bladder epithelium were main findings. These results suggest that the humoral immunity were enhanced in the bladder wall after BCG treatment.

Key Words: BCG, Superficial Bladder Tumor, Immune Response

GİRİŞ

İlk kez 1976 yılında Morales'in bir canlı bakteri aşısı olan Bacillus-Calmette-Guerin'i (BCG) yüzeyel mesane tümörlerinde intravezikal olarak kullanmasından sonra, bu tedavinin trans-üretral rezeksiyon sonrası rekürrens oranlarını azalttığı ve hastalısız dönemi uzattığı bir çok çalışmada gösterilmiştir^{1,2}. Günümüzde intravezikal BCG tedavisinin karsinoma insitu'da ve komplet rezeksiyon yapılamayan olgularda terapötik amaçlı, pT1 ve yüksek grade'li Ta tümörlerde de rekürrensi önlemek için profilaktik amaçlı kullanılması önerilmektedir³. Terapötik amaçlı kullanımda cevap oranı %34 ile %89 arasında değişmektedir^{4,5}. Profilaktik amaçlı kullanımda da diğer intravezikal tedavilere göre (tiyotepa, mitomisin-C, doksorubisin) BCG'nin belirgin derecede üstün olduğu ortaya konmuştur^{6,7,8,9}.

Yüzeyel mesane tümörlerinde intravezikal BCG tedavisinin endikasyonlar belli olmasına rağmen, optimal dozu, uygulama süresi ve BCG'nin etki mekanizması yönünden tam bir görüş birliği yoktur. Deneysel olarak tavşanlar

üzerinde yapılan bu çalışmada, düşük ve yüksek doz BCG'nin normal mesane, komşu ve uzak dokular üzerindeki etkileri incelenmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma 6 aylık 12 dişi Yeni Zellanda tipi tavşan üzerinde yapıldı. Tavşanlar standart tavşan yemi ile beslenip normal oda ısısında tutuldu. Tavşanlar randomize olarak 3 gruba ayrıldı. Birinci gruptaki 5 tavşana 6 hafta süreyle haftada bir gün üretral kateterizasyonu takiben 2.8×10^7 ($1.4-4.2 \times 10^7$) CFU dozda intravezikal Connaught BCG tedavisi uygulandı. İkinci gruptaki 5 tavşana ise BCG dozu 1.45×10^7 ($0.7-2.2 \times 10^7$) CFU olarak aynı tedavi verildi. Hayvanlara verilen ilaç dozları, hayvanların ağırlıkları ölçülerek kilogram başına insanlara verilen doza göre hesaplandı. Birinci grupta verilen BCG dozu yüksek doz, ikinci grupta verilen düşük doz olarak kabul edildi. Dozlar 1170 ile 1485 gr arasında olan tavşanların ağırlıklarına göre hesap edildi. Üçüncü gruptaki iki tavşana ise 6 hafta süreyle haftada bir gün yalnızca üretral kateterizasyon yapılarak kontrol grubu olarak alındı.

Dergiye Geliş Tarihi: 18.04.2000

Yayına Kabul Tarihi: 05.09.2000 (Düzeltilmiş hali ile)

Girişimlerde 0.05 mg/kg ketamin HCL anestezi kullanıldı. Tavşanlar son tedavilerinden 2 hafta sonra kurban edilerek perivezikal doku ile birlikte tüm mesane ve uretra çıkarıldı. Perivezikal bölgedeki lenf nodlarından biyopsi alındı. Elde edilen dokular Hematoxilen -Eosin ile boyanarak histopatolojik yönden incelemeye tabi tutuldu.

BULGULAR

Normal tavşan mesanelerine uygulanan BCG tedavisinin sonuçları şu şekildedir :

Düşük doz BCG: 1.45×10^7 ($0.7-2.2 \times 10^7$) CFU dozda verilen BCG sonrası mesanede görülen temel bulgu lenfosit infiltrasyonuydu. İnfiltrasyon yer yer yoğun olmakla beraber daha az olduğu, hatta hiç lenfoid hücrenin bulunmadığı bölgeler mevcuttu. Nadir görülen histiyositler bazen 3'lü veya 4'lü kümeler halinde epitelioid histiyosit benzeri bir reaksiyona girmiş olarak izlendiler. Bununla beraber dağınık olarak makrofajların da bulunması dikkat çekiciydi.

Mesane mukozası çoğunlukla hidrofilik dejenerasyona uğramış, vakuolize olmuş ve yer yer dejenere epitel hücrelerinin hakim olduğu bir görünümdeydi. Submukoza vaskülarizasyon artışı olmakla birlikte normal olarak değerlendirildi. Mesane adale tabakası aynı şekilde normal özelliklerini korumaktaydı.

Perivezikal bölgede 0,1 cm'den küçük ve 3' den az lenf nodu mevcuttu. Perivezikal ve pelvik lenf nodlarının derin kortikal bölümlerindeki hiperaktivasyon çok belirgindi. Santral bölge tamamen lenfosit prekürsörleri ile doluydu. Periferde ise özellikle B-lenfositlerde ciddi artış görüldü.

Yüksek Doz BCG: BCG dozu 2.8×10^7 ($1.4-4.2 \times 10^7$) CFU'ya çıkarıldığında düşük dozda görülen bulgulara ilave olarak mesane duvarındaki hücre infiltrasyonu daha belirgindi. Özellikle T-lenfosit ve histiyosit sayısındaki artış mukoza ve submukozal bölgeyi lenfoid follikül benzeri çok yoğun bir hale getirmişti. Yine yer yer dejenere olmuş epitel hücreleri, bazı sahalarda bol miktarda nekrotik epitel artıkları izlendi. Mesane adale tabakasında da dağınık olarak nadir lenfosit ve histiyositler göze çarpmaktaydı. Perivezikal bölgede 0,3-0,5 cm çaplarında ve sayıları 5 den fazla lenf nodu mevcuttu. Makroskobik olarak bile görülebilen hiperplazik lenf nodlarında derin

kortikal hiperaktivasyona ek olarak periferik kortikal bölgelerde de belirgin hücre artışı izlendi.

Kontrol Grubu: Kontrol grubu olarak alınan 2 tavşanda herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı.

TARTIŞMA

Mesane tümörü tanısı konduğunda, olguların yaklaşık %75-85'ini Tis (karsinoma insitu), Ta (mukozaya sınırlı tümör) ve T1 (submukozal invazyon olan) tümörler oluşturmaktadır^{6,10-14}. Bu tümörler için günümüzde en yaygın kullanılan tedavi yöntemi transüretral rezeksiyon sonrası intravezikal BCG tedavisidir. Daha önceden immünize edilmiş hayvanlarda yapılan çalışmalarda BCG'nin gecikmiş tipte bir hipersensitivite reaksiyonu oluşturduğu bilinmektedir¹⁵. Bu reaksiyonlar, aşının intravezikal uygulanımını takiben özellikle hasarlı mesane epitelinin bulunduğu bölgelerde oluşmaktadır. Ancak, bütünlüğü bozulmamış mesane epitelinde de aşının anti-tümöral etki gösterebileceği iddia edilmiştir¹⁵.

Bu çalışmada, daha önce immünize edilmiş 6 aylık tavşanlara 6 haftalık intravezikal BCG uygulamasından sonra mesane ve çevre dokuların histolojik incelemesi yapıldı. Gözlemlenen temel bulgu mesanede doza bağlı olarak artan yoğun lenfosit infiltrasyonu ve perivezikal lenf nodlarında derin kortikal bölgelerdeki hiperaktivasyondur. Bu değişiklikler öncelikle BCG'nin normal mesane mukozası üzerinden de immün cevap oluşturabileceğini göstermektedir. BCG'nin impermeabl olarak kabul edilen mesane duvarından nasıl geçtiği tam olarak bilinmemekle birlikte mesane tümör kültürleri ve mesane epitelinde fagosite edilmiş BCG gösterilmiştir^{16,17,18}. Bizim incelememizde de yer yer makrofajların görülmesi immün reaksiyonun fagositoz ile başladığını düşündürmektedir.

BCG'nin potansiyel anti-tümör etkisi immünolojik yada non-immünolojik olabilmektedir¹⁶. Mesane duvarı ve lenf nodlarında özellikle T-lenfosit subpopülasyonundaki artış hücresel immün cevabın bir göstergesi sayılabilir. Ancak bazı tümörler tedaviye rağmen ilerlemeye devam etmektedir. Bu da ya hastaların immün sistemlerinde bir defekt olduğu yada immün cevabın yeterli kuvvetli olmadığını düşündürmektedir. Yine de lokal yada sistemik olarak anti-tümör

immün cevabın artırılmasının hastaya fayda sağlayacağı açıktır. Bizim incelememizde de, mesane mukozası ve submukozasındaki artmış T-lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu, BCG'nin lokal immün cevabı arttırdığını ortaya koymaktadır.

Bununla birlikte incelenen mesanelerde, mesane mukozasında hidrofilik dejenerasyona uğramış ve parçalanmış epitel hücre artıklarının belirgin olarak arttığı izlenmiştir. Bu da BCG'nin direk toksik etkilerinde olduğu ve tümör ile birlikte normal mesane mukozasında da zedelenmeye yol açabileceğini göstermektedir.

Mesane tümörlü hastalara uygulanan BCG'nin dozu, ilacın etkinlik ve toksisitesi göz önüne alınarak uygulanmaya çalışılmaktadır. Blumens-tain, Connaught BCG suşu ile 0.083×10^9 ile 1.939×10^9 CFU'luk geniş bir varyasyonda ilacın etkinliğini incelemiş ve arada hiç bir fark bulamamıştır¹⁹. Bunun yanında dozun düşmesi ile başarı oranının %67'den %37'ye düştüğünü gösteren Morales'in çalışması, aynı zamanda ilacın yan etkilerinin de belirgin olarak azaldığına işaret etmektedir²⁰. Bizim çalışmamızda da tavşanların ağırlıklarına göre hesap edilen yüksek ve düşük doz BCG tedavilerinde, yüksek dozun belirgin olarak daha yoğun hücre infiltrasyonuna neden olduğu görülmüştür. Bu bulgular, BCG tedavisinin lokal immün cevabı doza bağlı olarak arttırdığını düşündürmektedir. Ancak BCG'nin tümör dokusu üzerine olan etkisinin artmış hücre infiltrasyonu ile paralel olarak artabileceğini söylemek güçtür. Mesanenin mukoza ve submukoza bölgesinde artmış T lenfosit ve histiyositler intravezikal BCG'nin lamina propria invazyonu mevcut mesane tümörlerinde de kullanılabileceğini işaret etmektedir. Klinik uygulamada pT1 ve kötü diferansiye Ta tümörlü hastalarda tümöral kitle çıkarıldıktan sonra rekkürens önlemede intrakaviter BCG kullanılmaktadır²¹. Sonuç olarak, intravezikal BCG immünoterapisi normal mesane mukozasında ve bölgesel lenf nodlarında meydana getirdiği enflamatuvar hücre proliferasyonu ile, lokal hücresel immüneyi arttırmaktadır. Bu nedenle özellikle karsinoma insitu'da ve Ta tümörlerinde tek başına terapötik amaçlı olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Ancak yine de BCG'nin anti-tümör etkisi ve tümör immünolojisi üzerine yapılacak ileri çalışmalarla ve bunu destek-

leyen geniş çaplı klinik serilerle en doğru tedavi şekli bulunacaktır.

KAYNAKLAR

- 1- **Morales A, Eidinger G, Bruce AW:** Intracavitary Bacillus Calmette-Guerin in the treatment of superficial bladder tumors. J.Urol. 116: 180-184, 1976.
- 2- **Sosnowski JT, Lamm DL:** Immunotherapy for bladder cancer. In: Rous S.N. ed. Urology Annual. East Norwalk, Connecticut: Appleton&Lange, 4: 123-135, 1990.
- 3- **Balbay D, Özyavuz R, Şahin A, ve ark:** Mesanenin yüzeyel değişici epitel karsinomları ve bacillus Calmette-Guerin immünoterapisi. Üroloji Bülteni, 3: 195-201, 1992.
- 4- **Lamm DL, Griffith JG:** Intravesical therapy: Does it effect the natural history of superficial bladder cancer? Semin. Urol. 10: 19-23, 1992.
- 5- **Lutzeyer W, Rübber H, Dahm H:** Prognostic parameters in superficial bladder cancer. An analysis of 315 cases. J.Urol. 127: 250-254, 1982.
- 6- **Herr HW, Laudone VP:** Intravesical therapy for superficial bladder cancer. AUA Update Series, 8: 90-97, 1989.
- 7- **Herr HW, Laudone VP, Whitmore WF:** An overview of intravesical therapy for superficial bladder tumors. J. Urol. 60: 502-506, 1987.
- 8- **Heney NM, Ahmed S, Flanagan MJ:** Superficial bladder cancer: Progression and recurrence. J. Urol. 130: 1083-1088, 1983.
- 9- **Martinez-Pinerio JA, Leon JJ, Martinez-Pinerio L:** Bacillus Calmette-Guerin versus thiotepa: A randomized prospective study in 202 patients with superficial bladder cancer. J.Urol. 143: 502-507, 1990.
- 10- **Badalement RA, Drago JR:** Bladder Cancer: What's new in diagnosis and treatment. Postgrad Med. 88: 63-70, 1990.
- 11- **Thompson IM, Fair WR:** The epidemiology of bladder cancer. AUA Update Series, 8: 210-219, 1989.
- 12- **Fradet Y:** Markers of prognosis in superficial bladder cancer. Semin Urol. 10: 28-32, 1992.
- 13- **Soloway MS:** Selecting initial therapy for bladder cancer. Cancer, 60: 502-505, 1987.
- 14- **Soloway MS:** Intravesical therapy for bladder cancer. Urol. Clin. North Am., 15:661-668, 1988.
- 15- **Morales A, Ottenhof P, Emerson L:** Treatment of residual non-infiltrating bladder cancer with Bacillus Calmette-Guerin. J. Urol. 125: 649-651, 1981.
- 16- **Ratliff TL:** Mechanism of action of intravesical BCG for superficial bladder cancer. In: Pagano F., Bassi P. Eds. BCG Immunotherapy in Superfi-

- cial bladder cancer. Padova, Italy: CLEUP. 25-31, 1994.
- 17- **Becich M, Carroll S, Ratliff T:** Internalization of Bacillus Calmette-Guerin by bladder tumor cells. J.Urol.145: 1316-1319, 1991.
- 18- **Teppema J, DeBoer E, Steeremberg P, et al:** Morphological aspects of the interaction of Bacillus Calmette-Guerin with urothelial bladder cells in vivo and in vitro: relevance for antitumor activity. Urol. Research, 20: 219-223, 1992.
- 19- **Blumenstain BA, Lamm DL, Jewett MA, et al:** Effective colony-forming unit dose of Connaught BCG on outcome to immunotherapy and superficial bladder cancer: A SWOG study. J.Urol. 143: 348-352, 1990.
- 20- **Morales A, Nickel JC, Wilson JWL:** Dose response of Bacillus Calmette-Guerin in the treatment of superficial bladder cancer. J.Urol. 147: 1256-1260, 1992.
- 21- **Balbay DM, Özyavuz R, Şahin A, Ergen A, Özen H:** Mesanenin yüzeyel değişici epitel karsinomları ve Bacillus Calmette-Guerin immunoterapisi: Üroloji Bülteni, 4: 195-201, 1992.