

YÜZEYEL ÜROTELİYAL HÜCRELİ MESANE KANSERLERİNİN TAKİBİNDE p53 VE Ki-67 OVEREKSPRESYONLARININ YERİ

THE ROLE OF THE OVEREXPRESSION OF p53 AND Ki-67 IN THE UROTHELIAL CELL BLADDER CANCERS DURING FOLLOW UP

SARI R.*, KURTULUŞ F.*, EVİRGEN M.*, CEYLAN O.*, İĞDEM A.A.***, ÇEK M.*

* Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği, İSTANBUL

** Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniği, İSTANBUL

ÖZET

1998 World Health Organization (WHO)/International Society of Urologic Pathologists (ISUP) Consensus sınıflamasına göre yeniden derecelendirilen “Evre Ta, G1-2” yüzeysel ürotelyal hücreli mesane kanserlerinin prognozuyla p53 ve Ki-67 overekspresyonlarının korelasyonunu araştırdık.

Ocak 1995 ile aralık 1999 tarihleri arasında primer yüzeysel ürotelyal hücreli mesane kanseri (evre pTa,G1-2) tanısı almış 48 hasta retrospektif çalışmamıza dahil edilmiştir. Vakalar 1998 WHO/ISUP Consensus sınıflamasına göre yeniden derecelendirildi. Buna göre hastaların alt gruplara göre dağılımı: 1-Ürotelyal papillom (ÜP): 7 (%14,6), 2-Düşük malin potansiyelli papiller ürotelyal neoplazi (DMP): 16 (%33,3), 3-Düşük grade papiller ürotelyal karsinom (DG): 14 (%29,2), 4-Yüksek grade papiller ürotelyal karsinom (YG): 11 (%22,9) şeklinde oluştu. Toplam 17 vakada görülen nüksün 1'i (%5,8) DMP, 8'i (%47,1) DG ve 8'i (%47,1) YG gruptadır. p53 ve Ki-67'ye ait immünreaktivite indeksi (p53i, Ki-67i) ortalama değerleri sırasıyla ÜP'de %2,5 ve %3,8; DMP'de %6,6 ve %8; DG'de %19,9 ve %19,7; YG'de %35,1 ve %30,1 olarak bulundu. Nüks grubunda p53i ve Ki-67i ortalamaları sırasıyla %27 ve %23; nüks görülmeyen grupta ise %10 ve %11 bulunmuştur. p53i eşik değeri %22 alındığında nüks grubunda vakaların 13'ü pozitif, 4'ü ise negatiftir. Ki-67i eşik değeri %10 alındığında ise nüks grubunda vakaların 15'i pozitif, 3'ü negatiftir.

İmmünohistokimyasal olarak belirlenen p53 ve Ki-67 immünreaktiviteleri nüks riskini belirlemede, multisentrisite ve tümör büyüklüğüne göre daha başarılı bulunmuştur. p53 ve Ki-67 indeksinin rutinde kullanılan prognostik faktörlere eklenmesi, hastalarda uygun ve etkili tedavi seçimi ile izlem sürecinin sıklığı, yöntemi ve tutumunun belirlenmesinde klinik yarar sağlayacağı kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Mesane tümörü, Yüzeysel ürotelyal hücreli mesane kanseri, p53, Ki-67

ABSTRACT

We determined the correlation between recurrence and overexpressions of p53 and Ki-67 in the prognosis of stage pTa, G1-2 superficial urothelial cell bladder cancers regraded according to the classification of 1998 WHO/ISUP Consensus.

Forty eight patient who were diagnosed to have primary superficial urothelial cell bladder cancer (stage pTa,G1-2) between January 1995 and December 1999 were examined retrospectively. Subgroups of patients were as follows: 1-Urothelial papilloma (UP): 7 (14,6%), 2-Papillary Urothelial Neoplasm of Low Malignant Potential (LMP): 16 (33.3%), 3-Papillary Urothelial Carcinoma, Low grade (LG): 14 (29.2%), 4-Papillary Urothelial Carcinoma, High grade (HG): 11 (22.9%). Mean percentage values of p53 and Ki-67 (immunoreactivity index) were found as 2,5 and 3,8% in UP; 6,6 and 8% in LMP; 19,9 and 19,7% in LG; 35,1 and 30,1 in HG respectively. If threshold percentage value of p53 were taken as 22%, 13 cases were positive and 4 cases were negative in recurrent group. When threshold percentage value of Ki-67 was taken as 10%, 15 cases were positive and 2 cases were negative in recurrent group.

When tumor markers such as p53 and Ki-67 were together with other criteria, not even by their own, we concluded that superficial bladder tumors, which have high recurrency rate and progression risk, can be differentiated from others and so that proper cure and observation frequency can be planned according to this.

Key Words: Bladder cancer, Superficial Urothelial Cell Bladder Cancer, p53, Ki-67

GİRİŞ

Mesane tümörlerinde prognozu belirleyen en önemli faktör histolojik grade ve evredir. Ancak aynı histolojik grade ve evrede bile farklı

kllinik sonuçların olması histolojik bulgular üzerine kurulu pek çok klasifikasyon (Bergkvist, Broders, Mostofi, WHO) yapılmasına yol açmıştır. Yüzeysel mesane tümörlerinde Ta/T1 ayrımı

Dergiye Geliş Tarihi: 09.04.2001

Yayına Kabul Tarihi: 01.02.2002 (Düzeltilmiş hali ile)

olmaksızın %80 oranında izlenen özellik nüks gelişimi iken, iki tümör grubunu birbirinden ayıran en önemli özellik olan progresyon, başlıca evre, grade, ve tümör büyüklüğü gibi kriterlerle belirlenir. Lamina propria invazyonu bir mesane tümörünün gösterebileceği ilk invazyon kademesini oluşturmakta ve böylece tümör agresivitesini yansıtmaktadır. Bu nedenle 1998 World Health Organization (WHO)/International Society of Urologic Pathologists (ISUP) toplantısında yüzeysel mesane tümörü kavramı tümüyle ortadan kaldırılmış tümörel oluşumlar papiller ve invaziv neoplazmlar olarak ayrılmış, invaziv tümörlerde ise invazyon derinliğine göre lamina propria ve muskularis propria ayırımına gidilmiştir.

Histolojik olarak belirlenen tümör grade ve evresi, tedavi stratejilerini belirleyen primer prognostik değişkenler olmasına rağmen hastalığın seyri konusunda kesin karar verilmesini engeller. Tümörün gerçek malin potansiyelini tanıyıp hastanın takip ve tedavisini yönlendirebilecek çeşitli potansiyel prognostik 'marker'lara gerek vardır.

Bu çalışmada, 1998 World Health Organization (WHO)/International Society of Urologic Pathologists (ISUP) Consensus sınıflamasına göre yeniden derecelendirilen "evre Ta, G1-2" yüzeysel ürotelyal hücreli mesane kanserlerinin prognozunda rekürrens ile p53 ve Ki-67 overekspresyonlarının korelasyonunu araştırılmıştır³.

GEREÇ ve YÖNTEM

Ocak 1995 ve Aralık 1999 tarihleri arasında primer mesane kanseri tanısı almış 152 hastanın arşiv dosyaları incelendi. Hastalara ait klinik ve patolojik bilgiler gözden geçirildi. Yapılan incelemeler sonunda bu 152 hastanın 145'inin (%95,4) ürotelyal hücreli karsinom olduğu görüldü. Patoloji raporları sonucuna göre evre pTa (AJCC/UICC-1997 sınıflaması) olan 52 (%34,21) hasta yeniden değerlendirildi. Değerlendirme sonunda mesane tümörü tanısı aldıktan kısa bir süre sonra miyokard enfarktüsü ve düşme sonucu ölen evre pTa 2 hasta çalışma dışı bırakılarak 50 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışma grubu kapsamına aldığımız evre pTa 50 hasta, mesane tümörü rezeksiyonlarını (TUR-MT) ve takiplerini hastanemizde yaptıran ve en az 6 aylık takibi olan hastalardır. Hastaların 47'si (%94)

erkek, 3'ü (%6) kadındır. Yaş ortalamaları 59,98 (24-75)'dir. Hastalarımız ortalama 26,8 ay (6 ay-58 ay) izlendi. Hastalarımızdan 10 tanesi hastalıkları süresince hiç kemoterapi ve immünoterapi (intravezikal ya da sistemik) almadı. 30 hasta intravezikal BCG, 9 hasta intravezikal mitomisin-C ve 1 hasta da her ikisini almıştır. Takipleri süresince toplam 286 kez sistoskopi yapılan hastalarımızın tüm sistoskopik bulguları ve ameliyat raporları elden geçirildi. İlk ve takip eden rekürrenslerle beraber tümör sayı ve büyüklüğü kaydedildi. Sistoskopik kontroller ilk yıl her 3 ayda bir, ikinci yıl 6 ayda bir ve sonraki yıllar için yılda 1 kez yapıldı. Bu sistoskopi programı nüks etmeyen hastalar için geçerli olup nüks eden hastalarda program, her nükste yeniden başlatıldı. Sistoskopik incelemelerde sitolojik tetkik için mesaneden irrigasyon sıvısı alındı.

Primer ve nüks tümörlerin tedavisi transüretral rezeksiyon ile sağlandı. İşlemlere başlamadan önce her hastadan sitolojik inceleme için mesaneden irrigasyon sıvısı alındı. Asıl tümörün bulunduğu yer dışındaki alanlarda da ciddi atipik değişiklikler ve CIS (carcinoma in situ) görülme olasılığının yüksek olması nedeniyle multipl tümörü olan hastalar ile mukozada şüpheli alanları olan hastalardan biyopsiler alındı. Transüretral rezeksiyonu takiben tümörün tamamen rezeke edildiğinden emin olmak için tümör tabanından da biyopsi alındı ve tümör tabanı koterize edildi. Nüks görülen hastalarda bu işlemler sırasıyla aynen tekrarlandı. WHO/ISUP Consensus patolojiler grubunca yeni geliştirilen gradelendirme prensiplerine göre yeniden değerlendirmek üzere, ilk patoloji raporları çalışma grubumuza ait cam preperatlar ve parafin bloklar arşivden çıkarıldı. Tüm preperatlar teker teker patolog tarafından yeniden incelenip 1998 WHO/ISUP Consensus sınıflamasına göre derlendi. Boyanma sonunda alt grup ÜP (ürotelyal papillom) içinde bulunan 2 invert papillomlu olgunun değerlendirme sonuçları aynı gruptaki diğer olguların sonuçlarına göre çok yüksek olduğundan bu 2 olgu istatistiksel değerlendirmelere alınmamış ve bütün istatistiksel analizler 48 hasta üzerinden yapılmıştır.

Buna göre hastaların alt gruplara göre dağılımı: 1-Ürotelyal papillom (ÜP): 7 (%14,6), 2-Düşük malin potansiyelli papiller ürotelyal neo-

plazi (DMP): 16 (%33,3), 3-Düşük grade papiller ürotelyal karsinom (DG): 14 (%29,2), 4-Yüksek grade papiller ürotelyal karsinom (YG): 11 (%22,9) şeklinde oluştu. Bu alt gruplarda, proliferatif markerlardan p53 ve Ki-67 ile immünohistokimyasal çalışmalar yapmak üzere vakalara ait formol fikse parafin bloklardan, Poly-L-Lysin kaplı lamlara 0,5 mikronluk kesitler alındı. Her iki antikor içinde neoplastik karakterdeki hücrelerin nükleuslarında pozitivite değerlendirilirken boyanma yoğunluğu göz önüne alınmadı. Her bir vakada p53 ve Ki-67 immünreaktivite indeksi, 1000 hücrede pozitif boyanmış hücre sayısı olarak hesaplandı. Çalışmamızda p53 için eşik değer %22 olarak belirlenmiştir. Diğer çalışmalarda da eşik değerin %1-22 olarak alındığı görülmüştür^{1,11,12}. Farklı serilerde normal ürotelyumda izlenen Ki-67 immünreaktivite indeksi %0,1-6,2 arasında değişmektedir^{16,17,18}. Biz çalışmamızda Ki-67 için eşik değerini %10 olarak belirledik.

İstatistiksel olarak histolojik grade ile rekürrensler, 'grade'ler arasındaki ilişkiler Independent Samples T testi ile araştırıldı. Eşik değere göre p53 ve Ki-67 pozitivitesinin diğer nonparametrik değişkenlerle değerlendirilmesi ki kare testi ile gerçekleştirildi. p53 ve Ki-67 immünreaktivite arasındaki istatistiksel ilişki Pearson Korelasyon Katsayı testi ile araştırıldı. Rekürrenslerde Kaplan-Meier sağkalım analizi kullanıldı. Nüske etkili faktörler için adimsal lojistik regresyon analizi yapılarak sonuçlar değerlendirildi.

BULGULAR

Vakaların takipleri süresince görülen nükslerden 1'i (%5,8) DMP, 8'i (%47,1) DG ve 8'i (%47,1) YG gruptadır. Progresyon ise LG'de 1 ve YG'de 2 olmak üzere 3 vakada görüldü. p53 ve Ki-67'i ait immünreaktivite indeksi (p53i, Ki-67i) ortalama değerleri sırasıyla ÜP'de %2,5 ve %3,8; DMP'de %6,6 ve %8; DG'de %19,9 ve %19,7; YG'de %35,1 ve %30,1 olarak bulundu. Nüks grubunda p53i ve Ki-67i ortalamaları sırasıyla %27 ve %23; nüks görülmeyen grupta ise %10 ve %11 bulunmuştur. p53i eşik değeri %22 alındığında nüks grubunda vakaların 13'ü pozitif, 4'ü ise negatiftir; nüks görülmeyen grupta ise 11'i pozitif, 20'si negatiftir. Ki-67i eşik değeri %10 alındığında ise nüks grubunda vakaların

15'i pozitif, 2'si negatif; nüks görülmeyen grupta ise 13'ü pozitif, 18'i negatiftir.

Çalışma vakalarımız değerlendirildiğinde yeni sınıflamaya göre yapılan alt grupların ÜP ve DMP ile DG, ÜP ve DMP ile YG arasındaki nüks oranı ile yapılan istatistiksel ilişki anlamlı bulunurken ($p<0,05$) ÜP ile DMP arasındaki ve DG ile YG arasındaki ilişki anlamlı bulunmadı. Bu istatistiksel değerlerin gösterdiği sonuç doğrultusunda yaptığımız 2 grade'li (ÜP-DMP ve DG-YG) nüks çalışması istatistiksel olarak nüksü belirlemede son derece anlamlı bulunmuştur. Gradelerin ÜP+DMP ve DG+YG şeklinde birlikte alınması, nüks riskini %94,11 duyarlılık ve %70,96 özgüllük ile belirlemektedir. Grade çalışmasıyla elde edilen bu istatistiksel sonuçlar, multisentrisite, tümör büyüklüğü ve immünohistokimyasal çalışmalara göre nüks riskini çok daha iyi belirlenebildiğini göstermektedir.

Nüks eden ve nüks etmeyen tümörleri arasındaki olguları, multisentrisite açısından karşılaştırdığımızda, nüks grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,018$).

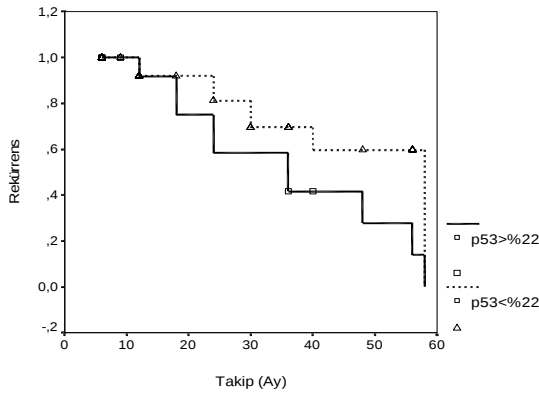
Grade'ler arasındaki ilişkiler tümör büyüklüğü yönünden incelendiğinde hiçbir grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). Tümör büyüklüğü nüks görülen grupta 6 olguda 1cm'den küçük ve eşitken 11 olguda 1 cm den büyük; nüks görülmeyen grupta ise 21 olguda 1 cm ve altında iken 10 olguda 1 cm'nin üstündeydi. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,03$).

Progresyon, nüks eden olguların sadece 3'ünde (%17,6) görüldü. Progrese olan 2 (%18,2) olgu YG grupta, 1 (%7,14) olgu da DG gruptadır. Bunlardan YG grupta progrese olan 1 olguda hem grade hem de evre (Lamina propria invazyonu) artışı olurken diğer 2 olguda sadece grade artışı gözlemlendi. Ayrıca progresyon gösteren tümörler, multifokal tümörlerden gelişmiştir. Progresyon gösteren olgu sayısının az olması nedeni ile istatistiksel olarak çalışmamızda değerlendirilmemiştir.

İmmünohistokimyasal olarak anti p53 antikor (klon DO7+BP53-12) ile yapılan değerlendirmelerde immünreaktivite indeksinin %0-68,6 arasında değişkenlik gösterdiği saptandı.

Saptanan p53 immünreaktivite indeksleri grade yükselmesine paralel olarak artmaktadır. Gradeler arası karşılaştırmalarda p53 immünreaktivitelerinin histolojik gruplardan ÜP-DMP arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). Fakat ÜP-DG ($p<0,006$), ÜP-YG ($p<0,000$), DMP-DG ($p<0,003$), DMP-YG ($p<0,000$) ve DG-YG ($p:0,03$) arasındaki p53 immünreaktivite indeks farkları istatistiksel olarak anlamlıdır. İstatistiksel olarak saptanan bu anlamlı ilişki özellikler ÜP-YG, DMP-YG arasında ileri düzeyde belirlenmiştir. Buna göre gradeler arasında p53 nükleer birikimi açısından istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı ilişki vardır ($p<0,05$). p53 immünreaktivite indeksleri nüks eden vakalarda nüks etmeyen vakalara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ($p=0,001$).

Çalışmamızda vakalarımız göz önüne alındığında immünohistokimyasal olarak saptanan p53 pozitivitesi, nüks riskini %76,47 duyarlılık ve %64,52 özgüllük ile belirlemektedir.



Şekil 1. %22 eşik değeri alındığında p53 rekürrens analizi ($p=0,001$)

İmmünohistokimyasal olarak Ki-67 antikoru ile (klon MIB1) yapılan değerlendirmelerde immünreaktivite indeksinin %0-76,2 arasında değişkenlik gösterdiği saptandı.

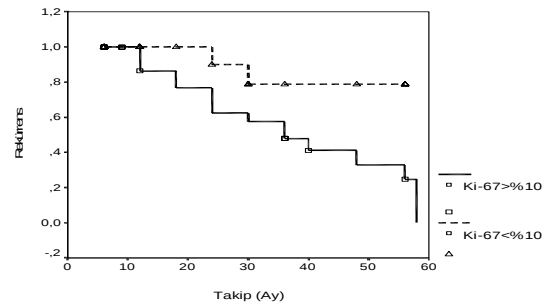
Saptanan Ki-67 immünreaktivite indeksleri grade yükselmesine paralel olarak artmaktadır. Ki-67 immünreaktiviteleri histolojik gruplardan ÜP-DMP ile DG-YG arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı.

Fakat ÜP-DG ($P<0,000$), ÜP-YG ($P:0,003$) ve DMP-DG ($p:0,003$), DMP-YG ($p<0,000$) arasındaki farklar p53 te olduğu gibi ileri derecede

anlamlıdır. Gruplardan ÜP-DG, DMP-YG arasındaki istatistiksel ilişki ileri derecede anlamlı bulunmuştur ($p<0,000$).

Çalışma vakalarımız göz önüne alındığında eşik değere göre (%10) immünohistokimyasal olarak saptanan Ki-67 pozitivitesi nüks riskini %88,23 duyarlılık ve %58,06 özgüllük ile belirlemektedir.

p53 ve Ki-67 immünreaktivite indeksleri ile bu şekilde yapılan çalışmalarda istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı ilişki vardır ($p<0,0001$). Yine aynı şekilde yapılan çalışmalarda, rekürrens görülen ve görülmeyen olgular arasındaki değerlendirilmelerde de istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bir ilişki vardır ($p<0,000$).



Şekil 2. Ki-67'nin %10 eşik değeri alındığında rekürrens analizi ($p<0,000$). (Kaplan-Meier)

Çalışmamızda, nükste etkili olduğu düşünülen değişkenler Patoloji, Grade, Tümör boyutu, p53, Ki-67 bağımsız değişken olarak düşünüldüğü lojistik bir model oluşturulmuştur. Oluşturulan modelin sonucu Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tüm değişkenler modele katılarak adimsal olarak değerlendirildiğinde ve multivariye analiz yapıldığında, nüksü en çok açıklayıcı değişkenin Ki-67 olduğu diğer değişkenlerin modele anlamlı olarak girmediği bulunmuştur. Nüks edenlerde, Ki-67 değerinin 0,10'dan büyük olması, etmeyenlere oranla 25 kat daha fazla görülmektedir. Dolayısı ile nüks etme risklerinin değerlendirilmesinde yüksek ki-67 sonuçlarının önemi büyüktür.

TARTIŞMA

Mesane tümörlerinin biyolojik davranışı ve nüks etme eğiliminde tümör 'grade'i oldukça yer tutar. Yüksek 'grade'li tümörler, düşük 'grade'li olanlara kıyasla ilk tanıda daha yüksek evreli ve

daha kötü prognozlu olmaya eğilimlidirler³⁻⁴. Friedell'in 1984'deki çalışmasına göre grade 1 tümörlerde ilk tanıda metastaz hiç görülmezken, grade 1 olup invaziv özellik gösteren tümör oranı %1'dir. Ancak bu oranlar grade 2 tümörler için %52, grade 3 tümörler için %82'dir⁵.

Yüzeyel mesane tümörlerinde Ta/T1 ayrımı olmaksızın %80 oranında izlenen özellik, nüks gelişimidir. Burada da en önemli belirleyici faktör multifokalite iken iki tümör grubunu birbirinden ayıran en önemli özellik olan ve T1 tümörlerde %25-35, Ta tümörlerde ise ancak %4-5 düzeyinde gözlenen progresyon, başlıca evre, grade, ve tümör büyüklüğü gibi kriterlerce belirlenir. Ayrıca progresyonun grade 1-2 tümörlerde %0-7, grade 3 tümörlerde ise %33 düzeyinde saptandığı literatürden anlaşılmaktadır⁶. Çalışmamızda 3 hastada gözlenen progresyon (%6,2) aynı evre ve grade ile ilgili yapılan diğer çalışmalara benzerlik göstermektedir. Yine çalışmamızda, multipl tümörü olan 19 hastanın 11'inde (%57,8)

nüks olurken, soliter tümörü olan 29 hastanın 6'sında (%20,6) nüks görülmüştür. Çalışmamız sonuçları, gerek evre ve grade gözetilmeksizin yapılan, gerekse aynı evre ve 'grade'deki literatür çalışmaları ile benzerlik göstermektedir.

Mesane tümörlerinde prognostik faktörler arasında tümör çapı da önemli yer tutmaktadır. Çapı 3 cm'den fazla olan tümörlerde 1 yıl içinde nüks görülme olasılığı daha küçük çaplı tümörlere göre daha fazladır⁷. Heney ve arkadaşları yaptıkları 249 hastalık (evre Ta ve T1) çalışmalarında tümör büyüklüğü 5 cm'den büyük olduğunda %35 ve 5 cm'den küçük olduğunda ise %9'luk progresyon oranı bildirmişlerdir⁸. Vakalarımızda tümör büyüklükleri ortalamasının 2 cm olması nedeniyle 1 cm ve daha küçük tümörler ile 1 cm'den büyük tümörleri rekürren açısından karşılaştırdığımızda sırasıyla %22 ve %52'lik bir oran bulduk. Progrese olan vakaların tamamının da büyük çaplı tümörlerden geliştiğini gözledik.

Categorical Variables Codings					
		Frequency	Parameter coding		
			(1)	(2)	(3)
PAT.	ÜP	7	,000	,000	,000
	LMP	16	1,000	,000	,000
	LG	14	,000	1,000	,000
	HG	11	,000	,000	1,000
TNM	Grade 1	30	,000		
	Grade 2	18	1,000		
TM-BOY	≤1 cm	27	,000		
	>1 cm	21	1,000		
P53-KOD	<22	24	,000		
	≥22	24	1,000		
KI67-KOD	<10	20	,000		
	≥10	28	1,000		
TMTYPE	Soliter	25	,000		
	Multiple	23	1,000		

Bağımlı Değişken	Bağımsız Değişken	B	Standart Hata	Serbestlik Derecesi	P	Odds Ratio	%95,0 Güvenilirlik Aralığı	
							Alt Sınır	Üst Sınır
Nüks var/yok		3,231	1,094	1	,003		2,963	215,922
	KI67<0.10 (referans)					1		
	KI67>0.10					25,294		
	Sabit	-2,943	1,025	1	,004	,053		

Tablo 1. Lojistik regresyon analizi sonuçları

Histolojik olarak belirlenen tümör grade ve evresi, tedavi stratejilerini belirleyen primer prognostik değişkenlerdir. Aynı klinik alt grupta bile tümör heterojenliği hastalığın seyri konusunda kesin karar verilmesini engeller. Bu nedenle çalışmamızda p53 ve Ki-67 için prognostik marker olarak çalışma yapılmış, tümörün gerçek malin potansiyeli tanınıp derecelendirilmeye çalışılmıştır.

Çalışmamızda %0-69 arasında değişen oranlarda p53 immünreaktivitesi izlendi. Belirlenen eşik değere göre (%22) vakaların %50'sinde p53 overekspresyonu saptandı. Diğer çalışmalarda eşik değerin %1-22 arasında belirlendiği görülmüştür. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda mesane ürotelyal hücreli tümörlerinin %50-65'inde saptanan p53 gen değişimi, grade, rekürrens, progresyon ve sürvi ile ilişkili bulunmuştur^{1,11,12}. Az sayıda olmakla birlikte p53 nükleer birikimi ile histolojik grade ve patolojik evre arasında ilişki olmadığını ortaya koyan çalışmalar da vardır^{11,12}.

İmmünohistokimyasal olarak belirlenen p53 overekspresyonu çalışmamızda, nüks gösteren vakalarda göstermeyenlere göre ve yüksek 'grade'lerde düşük 'grade'lere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek p53 saptanmıştır ($p < 0,05$).

p53 overekspresyonu ile indirekt olarak belirlenen p53 mutasyonunun, çalışmamızda histolojik grade ve patolojik evreden bağımsız bir prognostik faktör olarak, mesanenin yüzeyel ürotelyal hücreli karsinomlarında, nüks riskini %76 duyarlılık ve %64,52 özgüllük ile belirleyebileceği saptanmıştır.

İmmünohistokimyasal olarak uygulanan Ki-67 antikoru ile hücre siklusunun G0(dinlenme) fazı dışında, proliferen olan tüm hücreler belirlenebilmektedir. Böylece dokularda büyüme fraksiyonu ölçülebilme olanağı vardır. Tümör dokularında proliferasyon hızı; nüks, metastaz potansiyeli ve mortaliteyi yansıtmaktadır. Bromodeoksiüridin indeksi, PCNA indeksi, hücre siklusunun S fazında (DNA sentez fazı) olan hücreleri belirlemektedir. AgNOR sayısı, DNA akım sitometrisi proliferen olan hücreleri belirlemek için kullanılan diğer yöntemlerdir^{13,14}. Bunlar arasında Ki-67 immünreaktivite indeksi en popüler olan yöntemdir. Farklı serilerde normal ürotelyumda izlenen

Ki-67 immünreaktivite indeksi %0,1-6,2 arasında değişmektedir^{15,16,17}.

Çalışmamızda %0-76 arasında değişen oranlarda Ki-67 immünreaktivitesi izlendi. Belirlenen eşik değere göre (%10) vakaların 28'inde (%58) Ki-67 overekspresyonu saptandı.

Okamura ve arkadaşları Ki-67 immünreaktivite indeksinin grade ve evre ile ileri derecede anlamlı ve histolojik grade göre objektif bir kriter olduğunu, klinik davranışı belirleyecek bir prognostik faktör olarak kabul edilebileceğini belirtmektedir¹⁷. Cohen ve arkadaşları da Ki-67 de içeren 5 ayrı proliferasyon belirleyicisi ile yaptıkları araştırmada mesane ürotelyal hücreli karsinomlarında histolojik grade ile proliferasyon indeksi arasında anlamlı ilişki olduğunu göstermişlerdir²⁰. Bu çalışmada ise Ki-67 immünreaktivite indeksi hem nüks hem de 'grade'ler arası ilişkide anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Nüks gösteren vakalarda Ki-67 immünreaktivite indeksi nüks göstermeyenlere istatistiksel olarak ileri derece anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ve tüm değişkenler modele katılarak adimsal olarak değerlendirildiğinde, nüksü en çok açıklayıcı değişkenin Ki-67 olduğu diğer değişkenlerin modele anlamlı olarak girmedikleri bulunmuştur.

Vorreuther ve arkadaşlarının da Ki-67 immünreaktivite indeksini nüks ile ileri derecede anlamlı düzeyde ilişkili saptamaları bu bulgumuza desteklemektedir²¹.

Ki-67 immünreaktivitesinin bağımsız bir prognostik faktör olarak mesanenin ürotelyal hücreli karsinomlarında nüks riskini %88,2 duyarlılık ve %58 özgüllük ile belirleyebileceği saptanmıştır. Bu çalışmada immünohistokimyasal olarak değerlendirilen p53 ve Ki-67 immünreaktivite birbirleri ile istatistiksel olarak anlamlı derecede uyumludur ($p < 0,05$). Başka çalışmalarda da p53 ve Ki-67 immünreaktiviteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmıştır¹³. Popov ve arkadaşları, p53 ekspresyonu ve Ki-67 pozitifitesinin klinikopatolojik parametrelerden bağımsız prognostik belirleyici olduğunu öne sürmüşlerdir²².

SONUÇ

Çalışmamızda immünohistokimyasal olarak belirlenen p53 ve Ki-67 immünreaktivitelerinin mesane yüzeyel ürotelyal hücreli karsinomlarında histolojik grade ve nüks ile istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ilişkili olduğu saptanmıştır.

Mesanenin yüzeyel ürotelyal hücreli karsinomlarında, rutin olarak kullanılan histolojik grade ve evre, prognozu belirlemede yetersiz kalmaktadır. İmmünohistokimyasal olarak belirlenen p53 ve Ki-67 immünreaktiveleri nüks riskini belirlemede, mültisentrisite ve tümör büyüklüğüne göre daha başarılı bulunmuştur.

Nüks üzerinde etkili olduğu düşünülen değişkenler (Grade, patoloji, tümör boyutu, tümör tipi, p53 ve Ki-67) modele katılarak adimsal olarak değerlendirildiğinde, nüksü en çok açıklayıcı değişkenin Ki-67 olduğu diğer değişkenlerin modele anlamlı olarak girmediği istatistiksel olarak ortaya konmuştur. Nüks etme risklerinin değerlendirilmesinde yüksek Ki-67 sonuçlarının önemi büyüktür.

P53 ve Ki-67 indeksinin rutinde kullanılan prognostik faktörlere eklenmesi, hastalarda uygun ve etkili tedavi seçimi ile izlem süresinin sıklığı, yöntemi ve tutumunun belirlenmesinde klinik yarar sağlayacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

- 1- **Stein JP, Grossfeld GD, Ginsberg et al:** Prognostic markers in bladder cancer: A contemporary review of the literature. *The Journal of Urology* 160:645-659, 1998
- 2- **Skinner DG and Leikovsky G:** Management of invasive and high-grade bladder cancer. In: *Diagnosis and Management of Genitourinary Cancer*. Philadelphia: WB Saunders, Co., Chapt.16, pp. 295-312, 1998
- 3- **Epstein J, Amin M, Reuter V, Motofi F and the Bladder Consensus Conference Committee:** The World Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification of urothelial neoplasm of urinary bladder. *Am J Surg Path* 22:1435-1448, 1998
- 4- **Friedell GH, Nagy GK, Cohen:** Pathology of human bladder cancer and related lesion (eds.) Bryan GT, Cohen SM (ir) pathology of bladder cancer, pp.11-42, CRC Press: Florida, 1984
- 5- **Narayana AS, Looning SA, Slyman DJ:** Bladder cancer: Factors effecting survival. *The Journal of Urology*, 130: 56-60, 1983.
- 6- **Friedell GH:** Urinary bladder cancer: Selecting initial therapy. *Cancer*, 60: 496-501, 1987
- 7- **Van der Meijden APM:** Is intravesical BCG superior to chemotherapy? In: *Renal, Bladder and prostate cancer*. Kurth K, Miskisch G, Schröder FH (eds) The Parthenon Publishing group, New York, 1998.
- 8- **Young JL Jr, Asine AJ, Pollack ES:** Cancer incidence and mortality in the United States (ed) Bethesda MD, 78: 1387, DEHM Publication: Philadelphia.
- 9- **Heney MN, Ahmed S, Falanigan JM, Frable W et al:** Superficial Bladder Cancer: Progression and recurrence. *The Journal of Urology*, 130: 1083-3, 1983.
- 10- **Holstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC:** P53 mutations in human cancers. *Science*, 253: 49-53, 1991
- 11- **Cordon-Cordo C, Reuter VE:** Alterations of tumor suppressor genes in bladder cancer. *Semin. Diagn. Pathol.*, 2: 123-132, 1997
- 12- **Skopelitou A, Hadjiyannakis M, Dimopoulos D, Kamina S et al:** p53 and c-jun expression in urinary bladder transitional cell carcinoma: Correlation with proliferating cell nuclear antigen (PCNA) histological grade and clinical stage. *Eur. Urol.*, 31: 464-471, 1997.
- 13- **Tsuji M, Kojima K, Murakami Y, Kanayama H et al:** Prognostic value of Ki-67 antigen and p53 protein in urinary bladder cancer: Immunohistochemical analysis of radical cystectomy specimens. *Br. J.Urol.*, 79: 367-372, 1997
- 14- **Vatne V, Maartmann-Moe, Hoestmark J:** Flow cytometric DNA and p53 analysis in superficially infiltrating bladder carcinoma. *Anticancer Res.*, 14: 2735-38, 1994
- 15- **Quinn CM, Wright NA:** The clinical assessment of proliferation and growth in human tumors: Evaluation of methods and applications as prognostic variables. *J. Pathol.*, 160: 93-102, 1990.
- 16- **Hall PA, Levison DA:** Review: Assessment of cell proliferation in histological material. *J. Clin. Pathol.*, 43: 875-78, 1990
- 17- **Okamura K, Miyake K, Koshikawa T et al:** Growth fractions of transitional cell carcinomas of the bladder defined by the monoclonal antibody Ki-67. *The Journal of Urology*, 145: 846-849, 1991.
- 18- **Limas C, Bigler A, Bair R, Bernhart P et al:** Proliferative activity of urothelial neoplasms: Comparison of BrdU incorporation, Ki-67 immunostaining. *The Journal of Urology*, 145: 846-49, 1991
- 19- **Tsujihashi H, Nakanishi A, Matsuda H, Uejima S et al:** Cell proliferation of human bladder tumors determined by BrdUrd and Ki-67 immuno-

- staining. The Journal of Urology, 145:846-849, 1991
- 20- **Cohen MB, Waldman FM, Carroll PR et al:** Comparison of five histopathologic methods to assess cellular proliferation in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. Hum.Pathol., 24: 772-78, 1993.
- 21- **Vorreuther R, Hake R, Borchmann P et al:** Expression of immunohistochemical markers (PCNA, Ki-67, 486p, p53) on paraffin sections and their relation to the recurrence rate of superficial bladder tumors. Urol. Int., 59: 88-94, 1997
- 22- **Popov Z, Hoznek A, Colombel M, Bellot J et al:** The prognostic value of p53 nuclear overexpression and BIB 1 as a proliferative marker in transitional cell carcinoma of the bladder. Cancer, 80: 1472-81, 1997.