

MESANE TÜMÖRLERİNDE İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME ETKENİ-I EKSPRESYONUNUN ÖNEMİ

SIGNIFICANCE OF INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-I EXPRESSION IN BLADDER TUMORS

Fikret ÖZBAKIR*, Mustafa KAPLAN*, Ufuk USTA**, Tevfik AKTOZ*, İrfan Hüseyin ATAKAN*, Osman İNCİ*

* Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, EDİRNE

** Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, EDİRNE

ABSTRACT

Introduction: Insulin-like growth factor-I is a mitogenic peptide which overexpression involved in the aberrant cell proliferation and malign transformation. It was thought that it can show the malign behavior of bladder tumors. Our aim in this study is to investigate the relationship between insulin like growth factor expression and tumor grade, stage and recurrence in patients with bladder tumor.

Materials and Methods: 53 patients that performed transurethral tumor resection or radical cystectomy between 2002 and 2007 were included in this study. Insulin like growth factor-I staining was determined by immunohistochemically from the bladder tumor tissue. Then we investigated the relationship between insulin like growth factor expression in bladder tumor tissue and tumor grade, stage, and recurrence.

Results: The mean age was 64.4±11.9, 32 patients have low grade, 21 have high grade; 35 have superficial, 18 have muscle invasive tumor. Of 35 patients with superficial tumors, 25 patients have regular follow-up and the mean follow-up duration was 21.9±8.1 month. There was no significant difference in insulin-like growth factor-I staining degree between low grade and high grade tumors. Insulin-like growth factor-I staining degree was same in both superficial and muscle invasive tumors. We found no relationship between recurrence and insulin-like growth factor-I staining degree.

Conclusion: We found no association between tumor grade, stage, and recurrence and insulin-like growth factor-I staining degree in bladder tumors.

Key words: Bladder tumor, Insulin-like growth factor-I, Recurrence

ÖZET

İnsülin benzeri büyüme etkeni-I peptid yapıda bir hormon olup aşırı ekspresyonunun anormal hücre proliferasyonuna ve malin transformasyona neden olmaktadır. Mesane tümörlerinin malinite potansiyelini gösterebileceği düşünülmektedir. Bu çalışmamızdaki amacımız mesane tümörlü hastalarda tümör dokusunda insülin benzeri büyüme faktörü-I ekspresyonu ile tümör derece, evre ve nüks arasındaki ilişkiyi incelemektir.

Çalışmaya 2002-2007 yılları arasında mesane tümörü nedeniyle transüretal rezeksiyon veya radikal sistektomi yapılan 53 hasta alındı. İnsülin benzeri büyüme faktörü-I tayini immünohistokimyasal olarak tümör dokusunda bakıldı. Sonrasında insülin benzeri büyüme faktörü-I ekspresyonu ile tümör derece, evre ve nüks ilişkisini araştırdık.

Yaş ortalaması 64.4±11.9 olup hastaların 32'sinin düşük derece, 21'inin yüksek derece; 35'inin yüzeysel, 18'inin de kas invaziv tümörü mevcuttu. Yüzeysel tümörlü 35 hastadan 25'inin ortalama 21.9±8.1 ay takibi vardı. Düşük dereceli tümörler ile yüksek dereceli tümörler arasında IGF-I boyanma derecesi açısından anlamlı fark saptanmadı. Ayrıca yüzeysel tümörlerde IGF-I boyanma derecesi invaziv tümörler ile aynı saptandı. İzlenebilen hastalarda ise nüks ile IGF-I boyanması arasında bir ilişki görülmedi.

Mesane tümörü dokusunda insülin benzeri büyüme etkeni-I boyanma derecesinin tümör derece, evre ve nüksü ile belirleyici ilişkisi olmadığı sonucuna vardık.

Anahtar kelimeler: İnsülin benzeri büyüme etkeni-I, Mesane tümörü, Nüks

GİRİŞ

Mesane tümörü ürogenital kanserler içinde prostat kanserinden sonra 2. sırada olup mortalite ve morbiditenin önemli bir nedenini oluşturmaktadır¹. Mesane tümörlerinde progresyonu belirleyen en önemli ölçütler tümör derece ve evresidir^{2,3}.

Ayrıca, transforming büyüme etkeni beta₁⁴, interlökin-6⁵ ve matriks metalloproteinaz-2⁶ gibi serum mesane tümör belirteçleri hem tanı ve evrelendirilmesinde hem de prognoz tayininde önemi olan ancak klinik kullanımı için prospektif çalışmalara ihtiyaç olan belirteçlerdir. İnsülin benzeri büyüme

Dergiye Geliş Tarihi: 07.03.2007

Yayına Kabul Tarihi: 14.02.2008 (Düzeltilmiş hali ile)

etkeni-I (IGF-I) ise hücre proliferasyonu ve apoptozisin önlenmesi gibi işlevlerin regülasyonunda rol alan mitojenik, peptid yapıda bir hormondur. Yapısı proinsüline benzemektedir. Embriyolojik gelişme, normal büyüme ve diferansiyasyon da farklı tipte hiperplazi ve neoplazi oluşumunda rol oynadığı düşünülmektedir^{7,8}. IGF-I'in mitojenik etkisi IGF-I reseptörü (IGF-IR) aracılığı ile olmaktadır. IGF-IR, tirozin kinaz aktivitesine sahip bir hücre membran reseptörü olup hücre büyüme ve diferansiyasyonunda önemli rol oynar. Aşırı ekspresyonu anormal proliferasyon ve malin transformasyona sebep olur. IGF-IR IGF-I ve II'nin reseptörü özelliğine sahiptir⁹. IGF-I, serumda IGF-bağlayıcı 6 proteinden, dolaşımda en fazla bulunan IGF-bağlayıcı protein-3 (IGFBP-3)'e bağlı olarak bulunur. IGFBP-3 IGF-I'e bağlanarak IGF-I'in reseptörüne bağlanmasını inhibe eder ve serbest IGF-I düzeyini düşürür. Böylece IGF-I'nin mitojenik etkisini inhibe eder. IGF-I biyoaktivitesi dolaşımdaki düzeyi ve dokudaki üretimi ile ilgilidir. Son zamanlardaki bir çok epidemiyolojik çalışmada serumda yüksek IGF-I ve düşük IGFBP-3 seviyelerinin prostat, meme ve kolon gibi pek çok kanser için artmış risk ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir¹⁰⁻¹³. IGF-I'nin aşırı ekspresyonu anormal hücre proliferasyonuna ve malin transformasyona neden olması nedeniyle diğer malin tümörlerde olduğu gibi mesane tümörlerinde de malinite potansiyelini gösterebileceği düşünülmektedir.

Bugüne kadar yapılan çalışmalar daha çok serum ve idrar serbest IGF-I düzeyi ile ilgili olup mesane tümör dokusunda IGF-I'in düzeyini belirleyen tek bir araştırma mevcuttur¹⁴. Biz bu çalışmada mesane tümör dokusunda immünohistokimyasal olarak IGF-I boyanma derecesini inceleyerek ve bunun tümör derece, evre ve nüksü ile ilişkisini göstermeyi amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Eylül 2002-Mayıs 2007 tarihleri arasında mesane tümörü nedeniyle transüretal rezeksiyon (TUR-T) ve radikal sistektomi yapılan 53 hasta çalışmaya alındı. Bu hastalardan 35'i yüzeysel mesane tümörü olup bunlara TUR-T yapıldı. Bu hastalar risk gruplarına göre TUR-T sonrası intrakaviter kemoterapi veya immunoterapi aldılar. Düşük riskli tümöre sahip hastalara TUR sonrası ilk sistoskopi 3. ayda, eğer negatifse 9. ayda ve daha sonra yılda bir kez yapıldı. Yüksek riskli hastalara ise

TUR-T sonrası ilk iki yıl 3 ayda bir, 3. yıl her 4 ayda bir sistoskopi yapıldı. Kontrol sistoskopisinde tümör görülmesi nüks, tümör derece ve/veya evresindeki artış da progresyon olarak kabul edildi. Kas invaziv 18 mesane tümürlü hastadan 10'una radikal sistektomi yapılırken bu ameliyatı kabul etmeyen 8 hastaya TUR-T ve adjuvan radyoterapi ve/veya kemoterapi uygulandı. Hastalara ait tüm klinik bilgiler hastaların dosyaları incelenerek edildirdi.

Patolojik sonuçlara Patoloji Anabilim Dalı'nda tekrar ulaşıldı ve ışık mikroskopunda yeni bir mikroskopik değerlendirme ile uygun olan bloklar seçilerek IGF-I antikoru boyandı (NeoMarkers-Fremont, CA). Eski hemotoksilen-eozin boyalı kesitler yeniden değerlendirmeye tabi tutularak histopatolojik tanımlar WHO 2004¹⁵'e göre verilerek standardizasyon sağlandı.

İmmünohistokimyasal yöntem; polizimli lam üzerine alınan doku kesitleri deparafinizasyonun ardından antijen geri kazanımı için ısıya tabi tutuldu. Hidrojen peroksit uygulamasının ardından avidin-biotin tekniği uygulanan dokular AEC kromojen ile boyanıp gliser jel ile kapatılarak ışık mikroskopunda incelendi.

Genellikle IGF-I ile sadece sitoplazmik boyanma olmaktadır. Çalışmamızda mesane dokularında boyananların tamamında sitoplazmik boyanmaya eşlik eden nükleer boyanma da olmuştur. Dört tanesi sadece nükleer boyanmış olup, bu olgular pozitif olarak kabul edilmemiştir. Ancak boyanma olmayanlarda bir tek hücrede dahi nükleer boyanma görülmemiştir. H-Skor değerlendirmesi asıl olarak bcl-2 ve benzer şekilde sitoplazmik boyanma yapan antikorların değerlendirilmesinde kullanılmaktadır¹⁶. Biz de IGF-I'nin sitoplazmik reaksiyonunun değerlendirilmesinde değerleri sayısal hale getirebilmek için bu sistemi kullandık. Boyanma zayıf, orta ve şiddetli boyanma olarak 1'den 3'e kadar skorlandı. IGF-I'in bu şekilde değerlendirilmesinden sonra boyanma şiddeti ve boyanma yaygınlığını tek değer altında birleştirmek amacıyla tüm olgular için ayrı ayrı H-skor değerleri bulundu, buna göre en yüksek H-skor değeri 4 olarak kabul edildi.

H-Skor = Boyanan hücre yüzdesi x (boyanma şiddeti+1)/100

*MESANE TÜMÖRLERİNDE İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME ETKENİ-I
(Insulin-Like Growth Factor-I in Bladder Tumors)*

Çalışma sonuçlarının istatistiksel analizi yapılırken, normal dağılıma uygunluk One-Sample Kolmogorov-Smirnov analizi ile bakıldı. Normal dağılıma uyanlarda ikili karşılaştırmalar Student-t testi ile, çoklu karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ile yapıldı. Normal dağılıma uymayanlarda Mann-Whitney-U testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin analizinde Fisher'in exact testi kullanıldı. İstatistiksel analizler Statistica 7.0 (seri no: AXF507C 775406FAN2) programı kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

Yaş ortalaması 64.4±11.9 olan 51'i erkek 2'si kadın 53 hasta çalışmaya alındı. Tümörlerin 35'i yüzeysel, 18'i kas invazivdi. Hastalara ait histopatolojik sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir. Yüzeysel mesane tümürlü 35 hastadan izlemi olan 25 hasta olup bunların ortalama izlem süresi 21.9±8.1 ay (11-31 ay) idi. Bu hastaların derece, evre, odak ile nüks ilişkisi Tablo 2, 3, 4'de gösterilmiş olup aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Hiçbir hastamızda progresyon görülmedi. Diğer 10 hasta izlem protokolüne uymaması, görev yeri değişikliği, diğer hastalıklardan kaybedilmesi gibi nedenlerden dolayı izlenememiştir. IGF-I ile boyanma gösteren ve göstermeyen olgular Resim 1, 2, 3'de gösterildi. Pozitif kontrol olgusu olarak prostat kanser dokusu seçilmiş olup bu olguya ait resim (Resim 4) ayrıca gösterilmiştir.

Tablo 1: 53 hastanın histopatolojik sonuçları

Evre	Derece		Toplam
Ta	Düşük	8	8
	Yüksek	-	
T1	Düşük	23	27
	Yüksek	4	
T2	Düşük	1	10
	Yüksek	9	
T3	Düşük	-	8
	Yüksek	8	
Toplam			53

Tablo 2. İzlemi yapılabilen yüzeysel mesane tümürlü hastalardaki tümörlerin derece-nüks ilişkisi

	Nüks var	Nüks yok	Toplam
Düşük derece	6	17	23
Yüksek derece	2	-	2
Toplam	8	17	25

Fischer's exact test p=0.093

Tablo 3. İzlemi yapılabilen yüzeysel mesane tümürlü hastalardaki tümörlerin evre-nüks ilişkisi

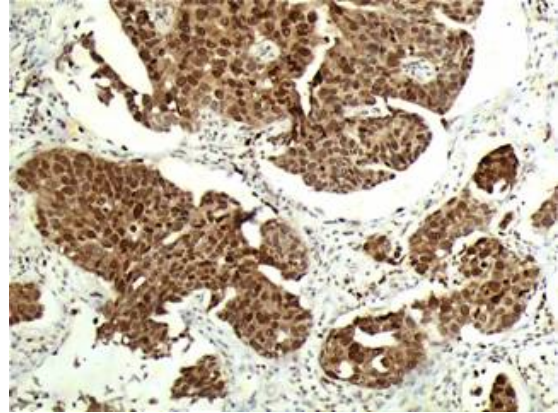
	Nüks var	Nüks yok	Toplam
Ta	1	7	8
T1	7	10	17
Toplam	8	17	25

Fischer's exact test p=0.349

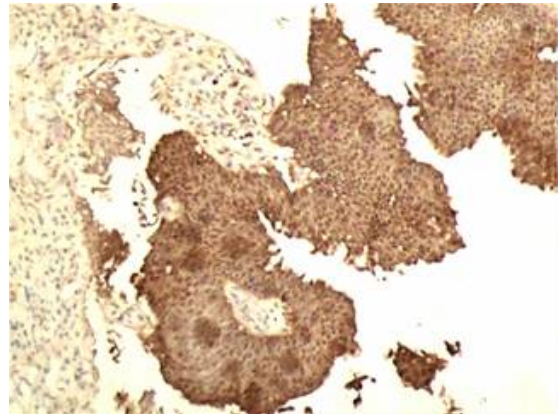
Tablo 4. İzlemi yapılabilen hastalardaki tümörlerin sayı-nüks ilişkisi

	Nüks var	Nüks yok	Toplam
Tek	5	7	12
Çok odaklı	3	10	13
Toplam	8	17	25

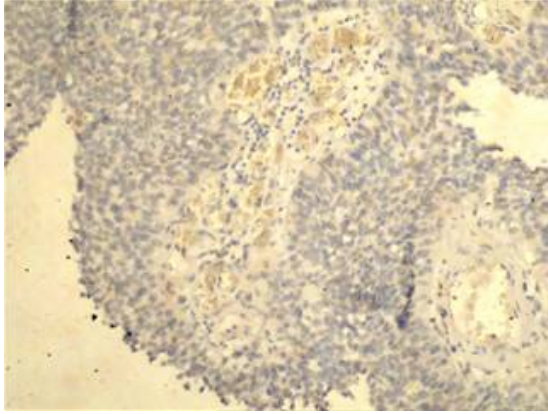
Fischer's exact test p=0.296



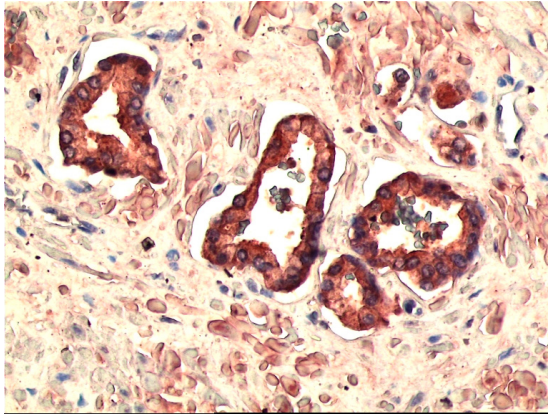
Resim 1. Yüksek dereceli atipi gösteren invaziv neoplastik epitel adalarında IGF-1 ile şiddetli sitoplazmik ve nükleer reaksiyon (IGF-1x100)



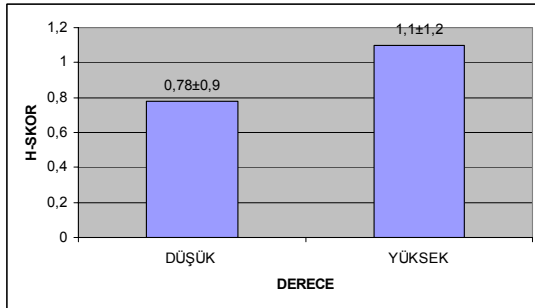
Resim 2. Hafif dereceli atipi gösteren noninvaziv urotelyal epitelde IGF-1 ile şiddetli sitoplazmik ve nükleer reaksiyon (IGF-1x100)



Resim 3. Hafif dereceli atipi gösteren neoplastik urotelyal epitelde IGF-1 ile negatif reaksiyon (IGF-1x100)



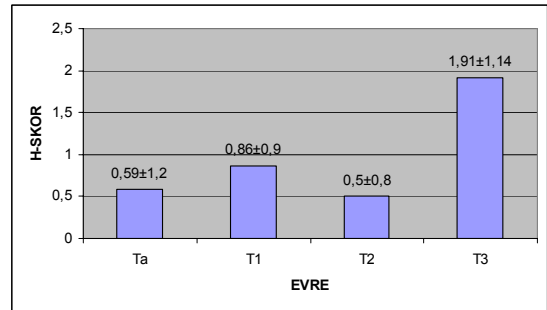
Resim 4. IGF-1 ile pozitif reaksiyon veren prostat kanser dokusu (IGF-1x200)



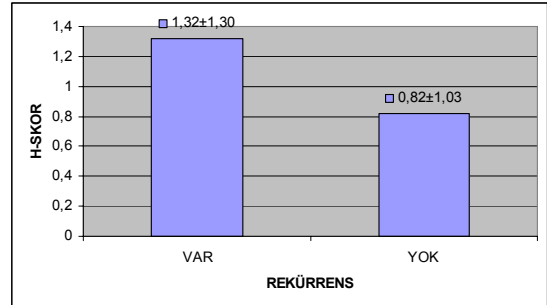
Şekil 1. Derece ile H-Skor arasındaki ilişki (p=0.316)

Düşük dereceli 32 hastanın H skor ortalaması 0.78 ± 0.9 iken yüksek dereceli 21 hastanın H skor ortalaması 1.10 ± 1.2 idi. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0.316$) (Şekil 1). H skor ortalaması Ta evresinde 0.59 ± 1.2 , T1 evresinde 0.86 ± 0.9 , T2 evresinde 0.50 ± 0.8 , T3 evresinde ise 1.91 ± 1.14 idi. Sadece T2 ve T3 evreleri arasın-

da anlamlı fark bulundu ($p=0.022$) (Şekil 2). Ayrıca yüzeysel mesane tümürlü hastalar H-skoru açısından invaziv tümürlü hastalarla karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.435$). İzlemi yapılan 25 hastadan nüks gösteren 8 hastanın H-skor ortalaması 1.32 ± 1.30 iken, nüks göstermeyen 17 hastanın H-skor ortalaması 0.82 ± 1.03 idi. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.374$) (Şekil 3).



Şekil 2. Evre ile H-Skor arasındaki ilişki (T2 ile T3 karşılaştırıldığında, $p=0.022$, diğer karşılaştırmalarda $p>0,05$)



Şekil 3. Nüks ile H-Skor arasındaki ilişki ($p=0,374$)

TARTIŞMA

Bazı büyüme etkenleri hücrel proliferasyonu ve proteolitik enzim sekresyonunu uyarmakta ve bazal membran yapısını bozmaktadır¹⁷. Böylece tümörde invazyon ve çevre dokulara ilerleme başlanmaktadır. IGF-I'nin bu enzimleri düzenlediğine dair bir bulgu olmasa da mesane tümörlerinin malin potansiyelini gösterecek önemli bir belirteç olabileceği düşünülmektedir¹⁴. Alkol alımı, açlık ve puberte gibi birçok etken dolaşımdaki IGF-I düzeylerini değiştirebilmektedir. Bundan dolayı serum ve idrar IGF-I düzeyi tek başına mesane tümörleri için bir prognostik etken olmayabileceği düşünülmektedir¹⁸. Bu nedenle biz çalışmamızda serum ve idrar IGF-I düzeyi yerine immünohisto-

kimyasal boyama ile mesane tümör dokusunda IGF-I boyanma derecesini incelemeyi tercih ettik.

Ürolojide IGF-I ile ilgili çalışmalar genellikle prostat kanseri (PKa) üzerinedir. Yapılan çalışmalarda serum yüksek serum IGF-I düzeyi ile PKa arasında pozitif ilişki bulunmuş ve serum IGF-I seviyesinin düşmesiyle PKa riskinin azaldığı gösterilmiştir¹⁹⁻²³. İlerlemiş PKa hastalarında benin prostat hiperplazili hastalara göre IGF-I serum seviyelerinin anlamlı ölçüde artmış, IGFBP-3 seviyelerinin de anlamlı ölçüde azalmış olduğu rapor edilmiştir²⁴. Ancak PKa ve IGF-I arasında ilişki olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur^{25,26}. Kaynaklarda mesane tümörü ve IGF-I ilişkisini inceleyen pek az çalışma mevcuttur^{14,27-31} ve bu çalışmalarda daha çok serum ve idrar IGF-I düzeyleri araştırılmış ve sağlıklı kontrol ile karşılaştırılmıştır. IGF-I ve reseptörünün aşırı ekspresyonu diğer malin tümörlerde olduğu gibi mesane tümörlerinde de malinite potansiyelini göstermektedir^{14,27,28}. Ancak sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırmada mesane tümürlü hastalarda yüksek plazma IGF-I düzeyi ile düşük IGFBP-3 düzeyi saptanırken³¹, serum IGF-I ve IGFBP-3 düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre farklı bulunmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur^{29,30}. Ayrıca plazma IGFBP-3 düzeyinin düşüklüğünün lenf nodu tutulumunun bir göstergesi olduğu bu nedenle lokal tedavi başarısını öngörmeye kullanılabileceği bildirilmiştir³⁰.

IGF-I ekspresyonunun mesane tümör dokusunda araştırıldığı bulabildiğimiz tek bir çalışmada 88 mesane tümürlü 12 sağlıklı kontrol alınmış. Bu çalışmada IGF-I ve IGF-IR düzeyinin mesane tümör dokusunda normal mesane dokusuna göre daha yüksek bulunduğu ve IGF-I ekspresyonu ile tümör nüksü ve IGF-IR ile tümör derece, evre ve nüksü arasında anlamlı ilişki bulunduğu belirtilmiştir¹⁴. Biz ise çalışmamızda IGF-I ekspresyonu ile tümör derecesi arasında anlamlı ilişki bulamadık. Ancak T3 evre tümörlerde T2 evre tümörlere göre daha yüksek IGF-I ekspresyonu bulduk. Buna karşın diğer evreler arasında (T3 ile Ta, T1; T2 ile Ta, T1; Ta ile T1) IGF-I ekspresyonu açısından bir fark olmaması nedeniyle tümör evresi ve IGF-I arasında bir ilişki olmadığını düşünmekteyiz. Ayrıca IGF-I ve rekürrens arasında bir ilişki bulamadık. Bu sonuç mesane tümör dokusunda IGF-I ekspresyonu ve nüks ilişkisinin incelendiği tek çalışma ile karşıtık göstermektedir. Bu durum hasta sayısının

azlığı, izlem süresi veya IGF-I düzeyinin ölçümündeki farklılığa bağlı olabilir.

SONUÇ

Bu çalışmamızda mesane tümörlerinde doku IGF-I boyanma derecesi ile tümör derece, evre ve nüksü arasında anlamlı bir ilişki görülmedi. IGF-I'in mesane tümörünün biyolojik davranışı ile ilişkisini inceleyen daha fazla olgu içeren çalışmalara ihtiyaç olduğu görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

- 1- **Bedük Y:** Mesane tümörleri. Anafarta K, Göğüş O, Bedük Y, Arıkan N (Editörler). Temel Üroloji. Ankara: Güneş Kitabevi; 707-26, 1998.
- 2- **Greenlee RM:** Cancer statistics. CA Cancer J Clin.; 50: 7, 2000.
- 3- **Ozen H, Hall MC:** Bladder cancer. Curr Opin Oncol.; 12: 255-259, 2000.
- 4- **Shairat SF, Kim JH, Andrews B, et al:** Preoperative plasma levels of transforming growth factor beta (1) strongly predict clinical outcome in patients with bladder carcinoma. Cancer. 92: 2985-2992, 2001.
- 5- **Andrews B, Shairat SF, Kim JH, et al:** Preoperative plasma levels of interleukin-6 and its soluble receptor predict disease recurrence and survival of patients with bladder cancer. J Urol. 167: 1475-1481, 2002.
- 6- **Gohji K, Fujimoto N, Komiyama T, et al:** Elevation of serum levels of matrix metalloproteinase-2 and 3 as new predictors of recurrence in patients with urothelial carcinoma. Cancer. 78: 2379-2387, 1996.
- 7- **Sporn MB, Roberts AB:** Autocrine growth factors and cancer. Nature. 313: 745-747, 1985.
- 8- **Macaulay VM:** Insulin-like growth factors and cancer. Brt J Cancer. 65: 311-320, 1992.
- 9- **Wang Y, Hailey J, Williams D, et al:** Inhibition of Insulin-like growth factor-I receptor (IGF-IR) signaling and tumor cell growth by a fully human neutralizing anti-IGF-IR antibody. Mol Cancer Ther. 4: 1214-1221, 2005.
- 10- **Chan JM, Stampfer MJ, Giovannucci E, et al:** Plasma Insulin-like growth factor-I and prostate cancer risk: A prospective study. Science. 279: 563-566, 1998.
- 11- **Ma J, Pollak M, Giovannucci E, et al:** Prospective study of colorectal cancer risk in men and plasma levels of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3. J Natl Cancer Inst; 91: 620-625, 1999.
- 12- **Vadgama JV, Wu Y, Data G, et al:** Plasma Insulin-like growth factor-I and serum IGF-binding protein-3 can be associated with the progression of breast cancer and predict the risk of recurrence and the probability of survival in African-American and Hispanic women. Oncology. 57: 330-340, 1999.
- 13- **Decensi A, Veronesi U, Miceli R, et al:** Relationships between plasma insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 and second breast cancer risk in a prevention trial of Fenretinide. Clin Cancer Res. 9: 4722-4729, 2003.
- 14- **Xie QX, Lin XC, Zhang MF, Han CX, Guo YH:** Expression of IGF-I and IGF-IR in bladder cancer. Ai Zheng. 23: 707-779, 2004.

- 15- **Sauter G, Algaba F, Amin M, et al:** Tumors of the urinary system: Non-invasive urothelial neoplasias. In: Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn I, eds. WHO classification of classification of tumors of the urinary system and male genital organs. Lyon: IARCC Pres, 2004.
- 16- **Castro A, Johnson MC, Ando M, Cortinez A, Gabler F, Vega M:** Role of nitric oxide and bcl-2 family genes in the regulation of human endometrial apoptosis. *Fer Ster.* 78: 587-595, 2002.
- 17- **Laiho M, Keski-Oja J:** Growth factors in the regulation of pericellular proteolysis: A review. *Cancer Res.* 49: 2533-2553, 1989.
- 18- **Serel TA, Turan T, Soyupek S, et al:** Urine and serum free IGF-I levels in patients with bladder cancer: A brief report. *Urol Res.* 31: 297-299, 2003.
- 19- **LeRoith D, Baserga R, Helman L, Roberts CT Jr:** Insulin like Growth Factors and Cancer. *Ann Intern Med.* 122: 54-59, 1995.
- 20- **Stattin P, Bylund A, Rinaldi S, et al:** Plasma insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor binding proteins, and prostate cancer risk: a prospective study. *J Natl Cancer Inst.* 92: 1910-1917, 2000.
- 21- **Wolk A, Anderson SO, Mantzoros CS, et al:** Can measurements of IGF-I and IGFBP-3 improve the sensitivity of prostate cancer screening? *Lancet.* 356: 1902-3, 2000.
- 22- **Harman SM, Metter EJ, Blackman MR, et al:** Serum levels of insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-II, IGF binding protein-3, and prostate-specific antigen as predictors of clinical prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 4258-4265, 2000.
- 23- **Wolk A, Mantzoros CS, Andersson SO, et al:** Insulin-like growth factor I and prostate cancer risk: A population-based, case-control study. *J Natl Cancer Inst* 90: 911-915, 1998.
- 24- **Aksoy Y, Aksoy H, Bakan E, et al:** Serum insulin-like growth factor-I and insulin-like binding protein-3 in localized, metastasized prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *Urol Int* 72: 62-65, 2004.
- 25- **Woodson K, Tangrea JA, Pollak M, et al:** Serum insulin-like growth factor I: Tumor marker or etiologic factor? A prospective study of prostate cancer among Finnish men. *Cancer Res.* 63: 3991-3994, 2003.
- 26- **Lacey JV, Hsing AW, Fillmore CM, et al:** Null association between insulin-like growth factors, insulin-like growth factor binding proteins and prostate cancer in a prospective study. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 10: 1101-1102, 2001.
- 27- **Li SL, Goko H, Xu ZD, et al:** Expression of insulin-like growth factor (IGF)-I in human prostate, breast, bladder and paraganglioma tumors. *Cell Tissue Res.* 291: 469-479, 1998.
- 28- **Iwamura M, Ishibe M, Sluss PM, Cockett AT:** Characterization of insulin-like growth factor binding sites in human bladder cancer cell lines. *Urol Res* 21: 27-32, 1993.
- 29- **Serel TA, Turan T, Soyupek S, et al:** Urine and serum free IGF-I levels in patients with bladder cancer: A brief report. *Urol Res.* 31: 297-299, 2003.
- 30- **Shariat SF, Kim J, Nguyen C, et al:** Correlation of pre-operative levels of IGF-I and IGFBP-3 with pathologic parameters and clinical outcome in patients with bladder cancer. *Urology.* 61: 359-364, 2003.
- 31- **Zhao H, Grossman HB, Spitz MR, et al:** Plasma levels of insulin-like growth factor-I and binding protein-3 and their association with bladder cancer risk. *J Urol.* 169: 714-717, 2003.