

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

MİKROPAPİLLER VE SARKOMATOİD TİP İNVAZİV  
ÜROTELYAL KARSİNOMLARDA EPİTELYAL-  
MEZENKİMAL GEÇİŞİN SOX-4 EKSPRESYONU İLE  
İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Büşra ERŞAN ERDEM

Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

Uzmanlık Tezi

2017

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

MİKROPAPİLLER VE SARKOMATOİD TİP İNVAZİV  
ÜROTELYAL KARSİNOMLARDA EPİTELYAL-  
MEZENKİMAL GEÇİŞİN SOX-4 EKSPRESYONU İLE  
İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Büşra ERŞAN ERDEM

Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Bora GÜREL

Etik Kurul Onay Tarihi:05.07.2017 Proje No: GOKAEK 2017/190

2017

## İÇİNDEKİLER DİZELGESİ

TEŞEKKÜR	iv
KISALTMALAR DİZELGESİ	v
ÇİZELGELER DİZELGESİ	vii
ÇİZİMLER DİZELGESİ	viii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
1. GENEL BİLGİLER	2
1.1. Mesanenin Anatomisi ve Histolojisi	2
1.2. Mesane Kanseri	5
1.2.1. Epidemiyoloji	5
1.2.2. Etyoloji	6
1.2.3. Moleküler Biyoloji ve Patogenez	9
1.2.4. Klinik Bulgular ve Tanı	11
1.3.1. Histolojik Derecelendirme	12
1.3.2. Ürotelyal Sistem Tümörlerinin 2016 DSÖ Sınıflaması	14
1.3.3. 2004 ile 2016 DSÖ Sınıflamasının Karşılaştırması	16
1.3.4. İnvaziv Olmayan (Non-İnvaziv) Ürotelyal Tümörler	18
1.3.4.1. Ürotelyal Papillom	18
1.3.4.2. İnvaziv ürotelyal papillom	18
1.3.4.3. Ürotelyal displazi	18
1.3.4.4. Malignite potansiyeli belirsiz ürotelyal proliferasyon (hiperplazi)	19
1.3.4.5. Düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazi	19

1.3.4.6. Non-invaziv papiller ürotelyal karsinom, düşük dereceli	20
1.3.4.7. Non-invaziv papiller ürotelyal karsinom, yüksek dereceli	20
1.3.4.8. İn-situ ürotelyal karsinom	21
1.3.5. İnfiltratif Ürotelyal Karsinom	21
1.3.5.1. Ürotelyal Karsinomun Histolojik Alt Tipleri	22
1.3.6. Mesane Kanseri Tümör-Lenf nodu-Metastaz (TNM) Sınıflaması	24
1.3.7. Ürotelyal Tümörlerde Prognostik Belirteçler	28
1.3.8. Mikropapiller Tip Ürotelyal Karsinom ve Prognoz	30
1.3.9. Sarkomatoid Tip Ürotelyal Karsinom ve Prognoz	31
1.4. Epitelyal Mezenkimal Geçiş	32
1.4.1. EMG'nin Sınıflandırılması	33
1.4.2. EMG ve E-kaderin, N-kaderin	34
1.4.3. EMG ve $\beta$ -katenin	35
1.4.4. EMG ve Vimentin	36
1.4.5. EMG ve Kanser	36
1.5. İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2 (HER-2)	37
1.6. SOX4	38
2. GEREÇ VE YÖNTEM	39
2.1. Vaka Grubunun Tanımlanması	39
2.2. Doku Mikrodizini Yöntemi ile Blok hazırlanması	40
2.3. İmmünohistokimyasal Boyama	41
2.4. İmmünohistokimyasal Değerlendirme	42
2.5. İstatistiksel Analiz	44
3. BULGULAR	45
3.1. E-kaderin Ekspresyonu	46

3.2. $\beta$ -katenin Ekspresyonu	47
3.3. N-kaderin Ekspresyonu	48
3.4. Vimentin Ekspresyonu	48
3.5. HER-2 Ekspresyonu	49
3.6. SOX4 Ekspresyonu	50
3.7. Evre ile EMG belirteçleri, HER-2 ve SOX4 Ekspresyon İlişkisi	51
3.8. EMG belirteçleri, HER-2 ve SOX4 Ekspresyonlarının Birbirleriyle Karşılaştırması	52
4. TARTIŞMA	54
4.1. MİTÜK'lerde EMG, HER-2 ve SOX4 Ekspresyonlarının Değerlendirilmesi	55
4.2. SATÜK'lerde EMG, HER-2 ve SOX4 Ekspresyonlarının Değerlendirilmesi	60
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	64
6. ÖZET	66
7. İNGİLİZCE ÖZET	67
8. KAYNAKÇA	69

## TEŞEKKÜR

İhtisas sürem boyunca benden bilgi ve birikimlerini esirgemeyen tez danışmanım Doç. Dr. Bora GÜREL'e, eğitimimde büyük katkıda bulunan başta ana bilim dalı başkanımız sayın hocam, Prof. Dr. Demir Kürşat YILDIZ'a ve sayın hocalarım Prof. Dr. Nadir PAKSOY, Prof. Dr. Yeşim Saliha GÜRBÜZ'e, Prof. Dr. Sevgiye KAÇAR ÖZKARA'ya, Prof. Dr. Bahar MÜEZZİNOĞLU'na ve Doç. Dr. Çiğdem VURAL'a,

Birlikte çalışmaktan her zaman büyük keyif aldığım tüm asistan arkadaşlarım ve çalışma arkadaşlarıma,

Benim bugünlere gelmemde en büyük emeğin sahibi olan aileme,

Hayattaki en büyük destekçim sevgili eşim İbrahim ERDEM'e,

SONSUZ TEŞEKKÜRLER...

Dr. Büşra ERŞAN ERDEM

## KISALTMALAR DİZELGESİ

ÜK	: Ürotelyal Karsinom
Kİ-ÜK	: Kasa İnvaziv Ürotelyal Karsinom
KİO-ÜK	: Kasa İnvaziv Olmayan Ürotelyal Karsinom
EMG	: Epitelyal mezenkimal geçiş
ERBB2/HER-2	: İnsan büyüme faktörü reseptörü 2
SRY	: Sex-determining region Y
HMG-box	: High Mobility Group Box
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
SEER	: Surveillance, Epidemiology, and End Results Program
YSİH	: Yaşa Standardize İnsidans Hızı
YSMH	: Yaşa Standardize Mortalite Hızı
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
DMP-PÜN	: Düşük Malignite Potansiyelli Papiller Ürotelyal Neoplazi
BCG	: Bacillus Calmette-Guérin
TUR	: Transüretral Rezeksiyon
MAPK	: MitojenAktive Protein Kinaz
PI3K	: Fosfatidilinositol 3-kinaz
BT	: Bilgisayarlı Tomografi

MR	: Magnetik Rezonans Görüntüleme
WHO/ISUP	: The World Health Organization/International Society of Urologic Pathology of Consensus Classification
PÜK-DD	: Papiller Ürotelyal Karsinom, Düşük Dereceli
PÜK-YD	: Papiller Ürotelyal Karsinom, Yüksek Dereceli
İSÜK	: İn-situ Ürotelyal Karsinom
TNM	: Tümör-Lenf nodu-Metastaz
AJCC	: Amerikan Kanser Komitesi
MEG	: Mezenkimal Epitelyal Geçiş
MMP	: Matriks Metalloproteinazlar
MİTÜK	: Mikropapiller Tip Ürotelyal Karsinom
SATÜK	: Sarkomatoid Tip Ürotelyal Karsinom
H&E	: Hematoksilen ve Eosin



## ÇİZELGELER DİZELGESİ

<b>1.Çizelge.</b> DSÖ 1973 ve daha sonraki sınıflamaların karşılaştırılması	14
<b>2.Çizelge.</b> Üriner sistem tümörlerinin 2016 DSÖ sınıflaması	15
<b>3.Çizelge.</b> Non-invaziv ürotelyal tümörlerin 2004 ile 2016 DSÖ sınıflamaları farklılıkları	16
<b>4.Çizelge.</b> İnvaziv ürotelyal tümörlerin 2004 ile 2016 DSÖ sınıflamalarıarası farklılıkları	17
<b>5. Çizelge.</b> AJCC'ye göre mesane tümörü TNM evrelemesi	27
<b>6. Çizelge.</b> AJCC'ye göre mesane tümörü evrelemesi	28
<b>7. Çizelge.</b> Çalışmamızda kullanılan antikörlerin özellikleri	42
<b>8. Çizelge.</b> E-kaderin immunreaktivitesinin puanlaması	43
<b>9. Çizelge.</b> SOX4 immunreaktivitesinin puanlaması	44
<b>10.Çizelge.</b> MİTÜK VE SATÜK vakalarının klinikopatolojik özellikleri	46
<b>11.Çizelge.</b> Çalışma vakalarındaki epitelyal EMG belirteçlerinin ekspresyonları	48
<b>12.Çizelge.</b> Çalışma vakalarındaki mezenkimal EMG belirteçlerinin ekspresyonları	49
<b>13.Çizelge.</b> Çalışma vakalarındaki HER-2 ekspresyonu	50
<b>14. Çizelge.</b> Çalışma vakalarındaki SOX4 ekspresyonu	51

## ÇİZİMLER DİZELGESİ

1. **Çizim.** EMG ve belirteçlerinin şematik gösterimi 33
2. **Çizim** EMG ve MEG'nin metastaz aşamasındaki rolü 36
3. **Çizim.** Örnek alınacak alanın lam üzerinde belirlenmesinden sonra parafin bloktanörnek alınacak yerin işaretlenmesi41
4. **Çizim.** Parafin blokta işaretlenmiş alandan örneğin alınıp mikrodizin bloğunagömülmesi  
41
5. **Çizim.** Doku mikrodizin bloğuna dokuların gömülmüş hali 41
6. **Çizim.** Mikrodizin bloğundan kesilerek hazırlanmış Hematoksilen ve Eosin boyalı lam 41
7. **Çizim.** MİTÜK ve SATÜK'lerde EMG belirteçleri, HER-2 ve SOX4 53 ekspresyonları

## GİRİŞ VE AMAÇ

Mesane kanseri, prostat kanserinden sonra en sık görülen üriner sistem tümörü olup dünya çapındaki tüm kanserlerin yaklaşık %3,2'sini oluşturmaktadır.<sup>1</sup>Mesane kanserinin %90'ı ürotelyal karsinom(ÜK)'lerdir. ÜK'lerin farklılaşma yeteneklerinin oldukça yüksek olması nedeniyle birçok histolojik paterni ve spesifikalt tipleri mevcuttur. Bunların bir kısmı prognostik ve terapötik farklılıklar göstermekteyken, bir kısmı da benign lezyonlara benzeyip yalancı negatif tanı alabilmeleri nedeniyle önem taşımaktadır. Ayrıca bu alt tiplerin klinik gidişatları da klasik ÜK'lere göre oldukça farklıdır.

Mikropapiller tip ürotelyal karsinom (MİTÜK) ve sarkomatoid tipürotelyal karsinom (SATÜK)'ler, klasik ÜK'ye oranla daha nadir görülme ve daha agresif seyirli alt tiplerdir. ÜK'nin bu iki alt tipi, invazyon ve metastaz potansiyelleri yüksek tümörler olup, tanı anında hemen her zaman ileri evrededirler. Bu tümörlerin klasik ÜK'ye göre daha kötü prognozlu seyretmelerinin sebebi merak konusu olmuş ve moleküler patogenezi irdelenmiştir. Ancak agresif ve metastatik seyirli alt tiplerin çoğunun tanı anında kasa invaziv olması ve kasa invaziv ürotelyal karsinom (Kİ-ÜK)'lerle aynı moleküler yollar üzerinden gelişmeleri, araştırmacıları bu tümörlerinin agresif seyrinin moleküler yollar dışında daha farklı nedenlerini irdelemeye yönlendirmiştir. Araştırmalar, daha çok epitel hücrelerinin mezenkimal hücrelere dönüşüm hareket ve invazyon özelliklerini kazandıkları fizyolojik bir süreç olan epitelial mezenkimal geçiş (EMG) üzerine yoğunlaşmıştır.<sup>2</sup>Epitelial hücrelerin mezenkimal hücrelere dönüşümü sırasında EMG belirteçleri olan E-kaderin, $\beta$ -katenin ekspresyonunda azalma izlenirken, mezenkimal belirteçler olarak N-kaderin ve vimentin ekspresyonu artmaktadır.<sup>3</sup>Yapılan çalışmalarda EMG ile kas invazyonu yapan tümörler arasında yakın ilişki bulunmuştur.<sup>4</sup> Bu da ürotelyal tümörlerde lokal invazyon ve metastazın altında EMG mekanizmalarının yatabileceği fikrini ortaya çıkarmıştır.

Bu sebeplerden ötürü, biz de çalışmamızda ÜK'nin daha invaziv ve metastatik giden mikropapiller ve sarkomatoid alt tiplerinde EMG belirteçlerinin ekspresyonunu değerlendirmeyi amaçladık. Ayrıca bu iki alt tip üzerindeki EMG etkilerinin klasik yüksek dereceli invaziv ÜK'lerden farkının olup olmadığını incelemek istedik.

SOX4, SRY ile ilgili HMG-box transkripsiyon faktörü ailesinin bir üyesi olup mesane kanserinde kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir.<sup>5</sup>Ayrıca meme tümörü üzerinde

yapılmış bir çalışmada tümör hücrelerinin invazyon ve metastaz yeteneklerinin kazanımında SOX4 ile EMG'nin birlikte ortak ve bağlantılı bir rol oynadığı fikri ortaya atılmıştır.<sup>6</sup> Bu bulgular ışığında, biz de çalışmamızda invazyon ve metastaz yetenekleri yüksek olan MİTÜK ve SATÜK'lerde EMG ve SOX4 arasındaki ilişkiyi irdelemek istedik.

İnsan büyüme faktörü reseptörü 2 (ERBB2/HER-2), transmembran bir tirozin kinaz reseptörü olup, tümör hücrelerinde proliferasyon, hareketlilik ve invazyonu mümkün kılan hücre içi yolları aktive eder.<sup>7</sup> Bilindiği üzere HER-2 ekspresyonu mide ve meme kanserlerinde kötü prognoz ve agresiflik ile pozitif ilişkilidir.<sup>8</sup> Mesane kanserlerinde ise HER-2 ekspresyonu genellikle ileri evre, yüksek dereceli ve mikropapiller morfolojiye sahip tümörlerde izlenmiştir.<sup>9</sup> Ayrıca mesane kanserlerinde agresiflik ve metastatik gidişat ile ilgili olabileceği düşünülen EMG ve HER-2 arasındaki ilişki de çeşitli yayınlarda irdelenmiştir.<sup>7</sup> Bu bilgiler ışığında MİTÜK, SATÜK ve klasik yüksek dereceli invaziv ÜK'ler arasında HER-2 ekspresyon bulguları ile EMG ile HER-2 arasındaki ilişkiyi değerlendirmek tezimizin bir diğer amacıdır.

## **1. GENEL BİLGİLER**

### **1.1. Mesanenin Anatomisi ve Histolojisi**

Mesane idrar deposu görevi yapan içi boş, kastan ibaret bir organdır. Yetişkin mesanesi ortalama 350-450 ml'lik bir kapasiteye sahiptir. Mesane, pelviste, pubis kemiklerinin arka tarafında yer alır. Erişkinde boş olduğu zaman pelvis içindeyken, dolduğu zaman ise üst duvarı hipogastrik bölgeye doğru yükselir. Küçük çocuklarda ise mesane boş iken pelvis giriminin üstünde kalır; daha sonra pelvis boşluğu genişledikçe mesane pelvis içine doğru yerleşir ve erişkindeki konumuna gelir.<sup>10</sup> Kadınlarda mesane tabanı, vajen ön duvarı ve uterus, erkeklerde ise rektumla komşudur ve aralarında fasya rektovezikalis (Denonviller fasyası) bulunur. Mesanenin üst yüzeyi tamamen peritonla kaplı olup, erkeklerde sigmoid kolon ve ince bağırsaklarla, kadınlarda ise uterus ve ince bağırsaklarla komşudur. Mesanenin peritonla örtülü olmayan alt-yan yüzeyleri simfizis pubis, levator ani ve internal obturator kaslarla komşudur. Simfizis pubisle aralarında Retziüs aralığı denilen bir aralık vardır. Bu aralıkta gevşek yağ-bağ dokusu ve Santorini ven

pleksusu bulunur. Mesanenin hareketsiz bölümünü oluşturan mesane boynu prostatın tabanına oturur ve içinde internal sfinkter yer alır.

Üreterler, mesaneye postero-inferior yönde birbirlerinden yaklaşık 5 cm uzakta olmak üzere oblik girerler. Trigonun proksimal kısmını oluşturan yarımay şeklindeki üreterler arası tümseğin en uç noktalarında bulunan orifisler birbirinden 2,5 cm uzaklıktadır. Bu tümsek ile mesane boynu arasındaki alana trigon denir.

Mesanenin anterosüperior kısmı umbilikal arterin dalı olan süperior vezikal arterden, fundus kısmı da internal iliyak arterin dalı olan inferior vezikal arterden kanlanır. Kadınlarda uterin ve vajinal arterler de mesaneye dallar gönderir. Venöz drenajı ise vezikal venöz pleksustan gelen venlerin internal iliyak vene dökülmesiyle gerçekleşir, mesanenin lenfatikleri vezikal, eksternal iliyak, internal iliyak (hipogastrik) ve ana iliyak lenf nodüllerine boşalır. Mesane hem sempatik hemde parasempatik sinirlerden uyarı alır. Sempatik lifler, torakal 11-12 ve lumbal 1-2 sinirlerinden; parasempatik lifler, sakral 2-4 segmentlerinden kaynaklanır. Sempatik sinirler, mesanenin ağrı, dokunma, ısı hissini taşıırken; parasempatik lifler muskularis propriadaki kas lifleri ile ilişkili olup gerilme ve dolgunluk hissini taşırlar.<sup>11</sup>

Mesane, üreterler, renal pelvis ve kalikslerin histolojik yapısı aynıdır. Buorganların mukozası çok katlı değişici (transizyonel) epitel ile döşelidir. Transizyonel epitel terimi, epitelin histolojik görünümünün non-keratinize skuamöz ve yalancı çok katlı kolumnar epitel arasında bir geçiş göstermesi nedeniyle kullanılmıştır. WHO/ISUP 1998 toplantısında, transizyonel hücre terminolojisinin ürotelyal hücre olarak değiştirilmesi gerektiği belirtilmiş, ancak transizyonel hücre teriminin eş anlamlı olarak kullanılabileceği kabul edilmiştir.<sup>12</sup>

Histolojik olarak mesanenin tabakaları mukoza, muskularis propria ve adventisyadır.

*Mukoza*;epitel, lamina propria ve devamlı (nadiren) veya kesintili bir muskularis mukozadan oluşur. Ürotelyal epitel, kontrakte mesanede 6-7 hücre kalınlığında iken dolu mesanede sadece 2-3 hücre kalınlığındadır. Epitelde; yüzeyel hücreler, intermediyer hücreler ve bazal hücreler olmak üzere üç hücre tabakası bulunur.Yüzeyel tabaka,genişezinofilik sitoplazmaya sahip ve şemsiye hücreleri olarak anılan tek sıra iri eliptik hücrelerden oluşur. İntermediyer hücre tabakası, kontraktemesanede yaklaşık beş hücre kalınlığında olup, hücreler bazal membranın

uzun eksenine dik olarak dizilirler. Çekirdekleri yuvarlak olup, ince granüler kromatine sahiptir. Çekirdekçikleri küçüktür veya yoktur. Sitoplazmaları geniştir. Bu hücreler desmozomlarıyla birbirlerine bağlanmakta olup, sitoplazmik membranları seçilebilmektedir. Bazal tabaka, ince devamlı bir bazal lamina üzerine oturan küboidal hücre sırasından meydana gelir.

*Lamina propria*, mukozal bazal membran ile muskularis propria arasında uzanır. Zengin bir vasküler ağ, lenf damarları ve az miktarda elastik lif içeren gevşek bağ dokusundan oluşur. *Lamina propria*'nın orta kesiminde arterler ve venler nispeten belirgin bir şekilde bir aradadırlar. Bu damarlar ile birlikte genellikle izole demetler, bazen kesintili ince bir tabaka ve nadiren kesintisiz bir katman şeklinde yerleşmiş düz kas hücreleri bulunur. Düz kas hücrelerinin kesintisiz bir tabaka halinde yerleştiği alanlar muskularis mukoza olarak isimlendirilir. Bir mesane tümöründe, özellikle de biyopsi örneğinde invazyon derinliğini değerlendirirken bu yapılar muskularis propria ile karıştırılabilir. Mesane tümörlerinin evrelemesi ve tedavi planlamasına ağırlıklı olarak tümörün muskularis propria tabakasına invazyon durumu göz önüne alınarak yapılmasından ötürü bu karışıklık ciddi bir problemdir. Bu yüzden biyopsi örneğinde izlenen kas liflerinin muskularis mukozayı yoksa muskularis propriaya mı ait olduğunu bilmek çok önemlidir. Bu iki tabakayı ayırt etmede "smoothelin" adında immunohistokimyasal belirteç kullanılabilir. Smoothelin ile negatif veya zayıf boyanma muskularis mukozayı desteklerken pozitif boyanma muskularis propria lehinedir.<sup>13</sup>

*Muskularis propria*, içte ve dışta longitudinal, ortada sirküler tabaka olmak üzere üç düz kas demetinden oluşur. Gerçekte bu tabakalar sadece mesane boynunda devamlılık gösterir. Diğer bölgelerde bu longitudinal ve sirküler tabakalar birbirine karışır ve uzanımları belirsizdir. Erkeklerde, mesane boynunda muskularis propria demetleri, prostatın fibromuskuler dokusuna kadar devam ederken, kadınlarda üretraduvarı içindeki kas fibrilleri ile devam eder. Diğer tabakalarda olduğu gibi, muskularis propria'nın kalınlığı, kişiden kişiye, yaşa ve gerilmenin derecesine bağlı olarak farklılık gösterir.

Evrelemede muskularis propria, yüzeysel ve derin olmak üzere iki tabakada incelenir. Bu tabakaların ayırımında kullanılan belirli bir anatomik belirteç yoktur.<sup>14</sup>

*Adventisya*, mesanenin en dış tabakası olup, çevre bağ dokusu ile devamlılık gösteren damar ve sinirden zengin bağdokusundan oluşmaktadır. Mesanenin sadece superior kesimi paryetal periton ile temas halindedir ve bundan dolayı bu alan serozaya sahiptir.

## **1.2. Mesane Kanseri**

### **1.2.1. Epidemiyoloji**

Mesane kanseri dünya genelinde en sık görülen kanserler sıralamasında yedinci sıradadır.<sup>15</sup> Mesane kanseri, her yıl dünya çapında 330.000'den fazla yeni hastanın tanı aldığı ve bu hastalık nedeniyle yılda 130.000'den fazla ölümün gerçekleştiği sıklığı giderek artan bir kanserdir.<sup>16</sup> Amerika Birleşik Devletlerinde 2016 yılı içintahmini yeni vaka sayısı 76.960 ve mesane kanserinden öleceği öngörülen muhtemel hasta sayısı 16.390'dır.<sup>17</sup> Mesane kanserlerinin giderek artan oranlarda görülmesine karşın, insidans bölgelere ve ülkelere göre değişkenlik gösterir. Örneğin; Kuzey Amerika, Avrupa ve Avustralya gibi endüstrileşmiş ülkelerde gelişmekte olan ülkelere göre mesane kanseri sıklığı 6 kat fazladır.<sup>18</sup> Ülkemizdeki dökümantasyon çok sağlıklı olmasa da yapılan bazı çalışmalar Türkiye'de mesane kanseri insidansının dünya ortalamasının üstünde olduğunu düşündürmektedir.<sup>19</sup> Nüfus tabanlı kanser kayıt merkezi bulunan sekiz ilin verilerine dayanarak yapılan bir çalışmada, ülkemizde 2006 yılında mesane kanserinin yaşa standardize insidans hızı (YSİH) erkeklerde yüz binde 19,6, kadınlarda yüz binde 2,5 olarak tahmin edilmiştir.<sup>20</sup> Ülkemizdeki aktif kanser kayıtçılığı sistemi verilerine göre mesane kanserinde en yüksek insidans hızlarının gözleendiği iller erkeklerde İzmir, Eskişehir ve Trabzon; kadınlarda Antalya, Eskişehir ve İzmir'dir. En düşük insidans ise erkeklerde Bursa ilinde gözlenirken kadınlarda en düşük mesane kanseri insidansı Samsun'da görülmektedir.<sup>20</sup>

2016 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre mesane kanseri, erkeklerde kadınlara oranla 3-4 kat daha sık olarak görülmektedir.<sup>15</sup> Ancak bu oranın özellikle genetik ve çevresel faktörler nedeniyle coğrafi bölgelere göre değişiklik gösterdiği de bir gerçektir. Ülkemizdeki istatistiksel veriler erkek-kadın oranının 7/1 olduğunu göstermektedir. Mesane kanseri insidansının kadınlarda daha az olmasına karşın hastalığa bağlı sağkalımın, karşılaştırılan her evre düzeyinde, kadınlarda erkeklerle oranla daha düşük olduğu gösterilmiştir.<sup>19</sup> Mesane kanserlerinin ortalama görülme

yaşı 65-70 olmakla birlikte çocuklarda da görülebilmeleri nedeniyle oldukça geniş bir yaş aralığına sahiptir.<sup>15</sup>

Mesane kanserinin en sık görülen tipi ÜK olup skuamöz hücreli karsinom ve adenokarsinomdaha nadir olarak görülmektedir. Mesanenin primer adenokarsinomları %0,5-2 oranında, primer skuamöz hücreli karsinomları %1-7 oranında izlenmekte olup ÜK ise gelişmiş ülkelerde %90, dünyanın diğer bölgelerinde ise %80 oranında görülmektedir.<sup>21</sup>

Surveillance, Epidemiology, and End Results Program(SEER)'e göre mesane kanserli hastaların beş yıllık yaşam beklentisi %79'dur. Dünyada, erkeklerde mesane kanserine bağlı en yüksek mortalite hızı yüz binde 16,3 ile Mısır'da gözlenmiştir. Mısır'da mesane kanseri insidans hızının yüksek olması nedeniyle mortalite hızının da yüksek olması şaşırtıcı değildir. Türkiye'de ölüm kayıt sisteminden tam ve doğru veri elde edilememesi nedeniyle, diğer kanserlerde olduğu gibi mesane kanseri için de gerçeği yansıtan mortalite hızları hesaplanamamaktadır.<sup>22</sup> Ülkemizdeki mesane kanseri için sunulabilecek tek mortalite verisi, GLOBOCAN 2008'de erkekler için hesaplanan hızlardır. Buna göre mesane kanseri ülkemizde, erkeklerde en fazla ölüme neden olan beşinci kanser türü olup, yaşa standardize mortalite hızı(YSMH) yüz binde 8,5'tir. Kadınlarda ise ölüme yol açan ilk 22 kanser türü arasında mesane kanseri yer almamaktadır.<sup>23</sup>

### **1.2.2. Etiyoloji**

Mesane kanserlerinde etyolojik faktörler arasında genetik yatkınlığın dışında, sigara, mesleki karsinojenler, kronik infeksiyonlar, mesanede taş veya yabancı cisimler, pelvik radyasyon maruziyeti, sitotoksik kemoterapi, ilaçlar ve gıdalar sayılabilir.

Sigara, mesane kanserlerinin bilinen en önemli etyolojik faktörüdür.<sup>24</sup>Zeegers ve ark.<sup>25</sup> tarafından yapılan,43 epidemiyolojik çalışmanın meta regresyon analizleriyle derlendiği çalışmada, sigara içenlerde, içmeyenlere göre 3 kat daha fazla üriner sistemneoplazmıgörüldüğü saptanmıştır. Puro için bu risk 2,5 kat, pipo için 1,9 kat fazladır.<sup>26</sup> Sigara miktarının eşik değeri günde 15-20 sigaradır, bu sayıdan fazla sigara içimi riski ek olarak arttırmaz. Miktar kadar, içilen süre de kanser gelişiminde önemlidir: on yıldan az sigara içimi kanser riskini 2 kat artırırken, 40 yıldan fazla sigara içimi riski 4 katına kadar çıkarır. Sigara bırakıldıktan 25 yıl sonraya kadar bile



normal popülasyona göre kanser riskinin artmış olduğu gösterilmiştir.<sup>27</sup> Shapiro ve ark.<sup>28</sup> yapmış oldukları çalışmada sigara içimi ile mortalite arasında belirgin bir ilişki bulamamışlardır. Sigaranın kanser patogenezindeki rolü tam olarak aydınlatılamamış olsa da sigarada bulunan 2-naftilamin ve 4-aminobifenil bileşenlerin kanser oluşumuyla ilişkisi olabileceği düşünülmüştür. Aynı zamanda sigaranın mesane epitelinin proliferatif cevabını artırıp diğer karsinogenlerin etkisini tetiklediği de gösterilmiştir.<sup>24</sup>

Mesane kanserlerinin gelişiminde sigaradan sonra en önemli risk faktörüneleki karsinogenlerdir. Endüstriyel karsinogenler, tüm mesane tümörlerinin yaklaşık %25'inden sorumlu tutulmaktadır.<sup>29</sup> Sıklıkla, boya, lastik, deri sanayi, kağıt, kozmetik ve petrol sanayilerinde kullanılan karsinogen maddelerinden önemlileri anilin boyaları, 2-naftilamin, 4-aminobifenil ve benzidinlerdir.<sup>30,31</sup>

Tekrarlayıcı üriner sistem enfeksiyonları, uzun süreli üriner sistem taş hastalığı ve kateterizasyon gibi yabancı cisim travmasının mesane kanserinde etyolojik rol oynadığı gösterilmiştir. Bu tür malign gelişimler daha çok skuamöz hücreli karsinom şeklinde olmaktadır. Schistosomiasis, bu tür kanserlere yol açan bir enfestasyon olup Kuzey Afrika ülkelerinde sık görülmektedir.<sup>29,30</sup> Bu parazitin yumurtaları mesane duvarına yerleşerek granüloamatöz bir inflamasyona neden olmakta, ardından fibrozis ve kalsifikasyon ile birlikte skuamöz ve glandüler metaplazi, displazi ve bazı olgularda neoplazi gelişimine yol açmaktadır.<sup>29,30,32</sup> Bu parazitin neden olduğu tümörlerin %75'i skuamöz hücreli karsinom, %6'sı adenokarsinom, diğerleri ürotelyal ya da indiferansiye karsinomdur.<sup>30</sup>

Üriner sistem taşlarının mesane kanserindeki rolü tartışmalıdır. Chung ve ark.<sup>33</sup> çalışmalarında, mesane kanseri olan hastalarda mesane taşı öyküsü olma olasılığının 3,42 kat fazla olduğunu bulmuşlardır. Ancak, diğer bazı çalışmalarda taş ile mesane kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.<sup>34</sup> Burada öne sürülen mekanizma, taş ya da enfeksiyonları nedeniyle mesane epitelindeki kronik irritasyonunun oluşturduğu metaplazi sonucu riskin artması ve bunun daha sonra kansere dönüşmesidir.<sup>35</sup> Aynı mekanizmayla, mesane kanseri insidansının, uzun süreli kateterizasyonlu hastalarda normal popülasyona göre artmış olduğu tespit edilmiştir.<sup>36</sup>

Terapötik pelvik radyasyon, mesane kanseri riskini arttırmaktadır.<sup>34</sup>Radyoterapi uygulanmış over kanserli hastalarda, cerrahi tedavi görmüş hastalara oranla mesane kanseri riskinin daha yüksek olduğu saptanmış olup, radyoterapiye ek olarak kemoterapi de alanlarda bu riskin daha da arttığı bildirilmiştir.<sup>37</sup> Bu hastalardaki tümörlerin çoğunlukla histolojik olarak yüksek dereceli ve tanı anında lokal invaziv oldukları bildirilmiştir.

Yapılan çalışmalarda, fenasetin içeren analjeziklerin, mesane kanseri riskini arttırdığı bulunmuştur. Fakat, fenasetinin temel metaboliti olan asetaminofen (parasetamol) ile mesane kanseri arasında herhangi bir risk ilişkisi olmadığı tespit edilmiştir.<sup>38</sup>

Non-steroid antiinflamatuar ilaçlar, pyrazolon türevleri hariç, mesane kanserine karşı koruyucudur. Klornafazin, polistemia vera hastalarında kullanılan bir ilaç olup, yapılan çalışmalarda, mesane kanseri için karsinojenik olduğu saptanmıştır.<sup>34</sup>

Siklofosfamid, özellikle lenfoproliferatif ve myeloproliferatif hastalıkların tedavisinde kullanılan alkilleyici bir ajan olup, açık bir doz cevap ilişkisiyle mesane kanseri riskini arttırdığı bilinmektedir. Ancak bu ilişkinin ilacın immünsüpresif etkisinden mi yoksa karsinogenezi indüklenmesinden mi kaynaklandığı henüz net olarak ortaya konamamıştır. Her iki etkinin birlikte olması muhtemeldir. Siklofosfamidin mesanetoksitesinden sorumlu metabolitinin akrolein olduğu bilinmektedir.<sup>39</sup>Siklofosfamid alan hastalarda 6-13 yıllık bir dönemde mesane kanserine yakalanma riski yaklaşık dokuz kat artmaktadır.<sup>40</sup>Ancak olgu-kontrollü epidemiyolojik çalışmada bu ilişki resmi olarak gösterilememiştir. Bu tümörlerin çoğu tanı anında kas tabakasına invaziv olmuş yüksek dereceli tümörler olup, olgular klasik ÜK vakalarına göre daha genç bir yaş ortalamasına sahiptir ve her iki cinsiyet için dağılımları eşittir.<sup>41</sup>

Düşük meyve ve sebze içerikli, yüksek yağ içerikli besinler mesane kanseri riskini arttırmaktadır.<sup>42</sup> Yapılan birçok epidemiyolojik çalışmada, çay ve kahve tüketiminin mesane kanseri gelişiminde kanserojenik etkisi net olarak anlaşılamamıştır. Ancak, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) kahve tüketimini, muhtemel

karsinogenik bir faktör olarak kabul etmektedir.<sup>34</sup>Literatürde çay tüketiminin ise mesane kanserine karşı koruyucu olduğunu bildiren yayınlar mevcuttur.<sup>43</sup>

Tüketilen toplam sıvı miktarı ile mesane kanser gelişimi ilişkisi hakkında çelişkilisunuçlar vardır. Yüksek miktarlarda sıvı alımının, idrardaki metabolitleri sulandırdığı ve idrara çıkma sıklığını arttırdığı, dolayısı ile mesane epitelinin kanserojenlerle temasını önleyip kansere karşı koruyucu etki yaptığı bildirilmektedir.<sup>44</sup> Bazı yayınlarda ise herhangi bir ilişki bulunamamıştır. İçilen suyun niteliği de, mesane kanseri etyolojisinde önemlidir. İçme suyunun dezenfeksiyon amacıyla klorlanması, mesane kanseri riskini arttırdığı tespit edilmiştir.<sup>45</sup>

Arsenik, mesane kanseri etyopatogenezinde suçlanan bir diğer çevresel faktördür. Arsenik maruziyeti daha çok yiyecek yoluyla olsa da içme suyuyla da bu maruziyet olabilmektedir. Ayrıca böcek öldürücülerde, tahta koruyucularında, gıda katkı malzemelerinde arsenik bulunabilmektedir. Arsenik maruziyeti mesane kanser riskini 1,9 kat arttırmaktadır.<sup>46</sup>

Alkoltüketimi ile mesane kanseri arasında net bir ilişki bulunamamıştır.<sup>47</sup> Yapılan birçok çalışmada, alkol kullanımının doz ve kullanım süresi ile birlikte değerlendirildiğinde dahi mesane kanseri riskini arttırdığına dair bulgu saptanamamıştır.<sup>48,49</sup>

Mesane kanserine karşı koruyucu (negatif risk) faktörleri arasında ise yukarıda bahsedilen tüm risk faktörlerinde kaçınmak, beslenme alışkanlığında sebze ve meyve tüketiminin fazla olması, A, C, E vitaminleri, karotenoidler ve folik asitten zengin besinlerin diyetdeki oranının artırılması sayılabilir.<sup>50</sup>

### **1.2.3. Moleküler Biyoloji ve Patogenez**

Mesane ÜK'leri klinik davranışları, prognozları, tedavileri ve buna paralel olarak onkogenetik mekanizmaları açısından birbirinden farklı 2 ayrı gruba ayrılabilirler.

İlk grup; ÜK'lerin %70-80'ini oluşturan, düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazi (DMP-PÜN) ile pTa ve pT1 ÜK'leri içine alan, çoğunluğu düşük dereceli, papiller ve kasa invaziv olmayan ürotelyal karsinom (KİO-ÜK)'lerdir. İkinci

grup ise, tüm ÜK'lerin %20-30'unu oluşturan, yüksek dereceli, kasa invaziv ürotelyal karsinom (Kİ-ÜK)'lerdir.<sup>51</sup>

KİO-ÜK'ler, benign ürotelyumdan gelişen ürotelyal hiperplaziden köken almaktadır. Bu grup tümörlerin tedavisinin temelini intravezikal kemoterapi ve immün tedavinin de eklenebildiği Bacillus Calmette-Guérin (BCG)'nin de eklenebildiği transüretral rezeksiyon(TUR) oluşturur. TUR sonrası %70 oranında nüks izlenirken, pTa evresindeki tümörlerin sadece %2-5'inde, pT1 tümörlerin ise %20-30'unda daha yüksek evreye ilerleme görülür.

Kİ-ÜK'lerin çoğunluğu, ürotelyal displaziden köken alır ve düz (flat)in-situ karsinom ve yüksek dereceli invaziv-olmayan lezyonlar zemininde de nova olarak gelişir. Yaklaşık %15'i gibi az bir kısmı ise yüzeysel lezyonların Kİ-ÜK'lere ilerlemesi ile oluşur. Kİ-ÜK'lerin tedavisinde sistektomi ve kemoterapi gibi agresif tedaviler uygulanmasına rağmen, bu tümörlerin yaklaşık yarısında metastaz gelişmektedir.<sup>51</sup>

Her iki fenotipik grupta da mesane kanserlerinin gelişiminde rol oynadığı düşünülen önemli sayıda genetik değişiklik vardır. KİO-ÜK patogeneğinde FGFR3, HRAS ve PIK3CA gibi protoonkogenlerdeki mutasyonlar ön planda<sup>52,53</sup> iken, Kİ-ÜK'lerin gelişiminde ise TP53, p16, PTEN ve RB gibi tümör baskılayıcı genlerdeki değişiklikler primer sorumludur.<sup>54</sup> Ayrıca KİO-ÜK'lerde TP53 ve RB genlerinde meydana gelen değişikliklerin bu tümörlerindaha yüksek dereceli ve Kİ-ÜK'lere ilerlemesine yol açtığı kanıtlanmıştır.<sup>55</sup>

KİO-ÜK'lerin gelişiminden sorumlu en önemli mutasyonlar FGFR3 ve HRAS mutasyonlarıdır. FGFR3 tirozin kinaz reseptör gen ailesinin bir üyesidir. FGFR3 mutasyonları reseptörün artmış ve uzamış aktivasyonuna neden olarak mitojen aktive protein kinaz(MAPK) yolağını tetiklemektedir.<sup>56</sup> Hücresel transforme edici onkogenler ailesinden olan RAS geninde meydana gelen mutasyonlar yüzeysel ÜK'lerdeki bir diğer önemli genetik değişikliktir. RAS gen ailesinden KRAS ve NRAS mutasyonları pek çok kanser tipinde görülse de ÜK gelişiminde en etkili rolü HRAS oynamaktadır.<sup>57</sup>

Kİ-ÜK'lerin karsinogeneğinde rol alan bir tümör süpresör gen olan TP53, hücre siklusunun G1/S geçişinde rol oynayan, DNA tamirini ve apoptozu düzenleyen

bir proteini kodlar. RB ise negatif hücre siklus düzenleyicisi olarak fonksiyon gösteren bir nükleer fosfoprotein kodlar. PTEN, fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) ile başlatılan hücre sağ kalımı sinyal yolunun en önemli negatif düzenleyicisidir.<sup>58</sup> Bu sebeple PTEN ve RB gen mutasyonları, yer yer farklı ve yer yer birbiri ile kesişen yollarla TP53 mutasyonlarına benzer şekilde hücre döngüsü kontrolünün kaybı ile sonuçlanır.<sup>51</sup>

Mesanein ürotelyal kanserlerinde kromozomal düzeyde görülen mutasyonlar en sık olarak 1., 8., 9., 10., 11., 13. ve 14. kromozomlarda saptanmıştır. Mesane kanserlerindeki en önemli kromozomal değişiklikler kromozom 9'da meydana gelenlerdir. 9. kromozomun hem uzun hem de kısa kolundaki delesyonların ÜK'ler ile ilişkili olduğu tespit edilmiş olup, bu ilişkinin 9. kromozom üzerinde yer alan tümör baskılayıcı genlerdeki değişiklikler sonucunda olduğu düşünülmektedir. Kromozom 9'un uzun kolunda TSK1, PTCH1 ve DBC1 ile kısa kolundaki CDKN2A VE CDKN2B gibi tümör baskılayıcı genler yer almaktadır. Bu delesyonların sadece ÜK odaklarında değil hiperplastik ve displastik ürotelyal epitelde de tespit edilmiş olması, bu değişikliklerin ürotelyal karsinogenezin erken evrelerinde meydana geldiğini göstermektedir.<sup>59</sup> Karsinogenezin erken dönemlerinde izlenen bu değişikliğin ÜK'lerin her iki fenotipik grubunda da sonraki genetik değişikliklere ortam hazırlayan genetik instabiliteyi sağladığı düşünülmektedir.<sup>51</sup>

#### **1.2.4. Klinik Bulgular ve Tanı**

Mesane kanserli hastaların %85-90'ında ilk bulgu aralıklı, ağrısız makroskopik hematüridir.<sup>60</sup> Mikroskopik hematüri şeklinde de bulgu verebilir. Şikayetler genellikle tümörün büyüklüğüne ve yerleşim yerine göre farklılıklar göstermektedir. Örneğin, tümör boyutu büyük ise daha çok işeme sıklığında artma şikayeti görülürken, mesane boynuna yakın yerleşimli tümörlerde ise dizüri, acil ve sık idrara çıkma gibi şikayetler daha sıklıkla izlenir.<sup>14,21</sup> İn situ karsinom tanılı hastalarda en sık görülen şikayetler ise idrara sıkışma ve acil idrara çıkmadır. Üreter orifislerini tutan tümörler hidronefroza neden olabilir. İlerlemiş olgularda kemik metastazlarına bağlı kemik ağrıları, üreter obstrüksiyonuna bağlı yan ağrısı ve kilo kaybı görülebilir.<sup>21</sup>

Sistoskopi ve biyopsi/TUR tanı için en değerli yöntemler olup, tanıda intravenöz piyelogram ve transabdominal ultrasonografi de kullanılabilir.

Bilgisayarlıtomografi(BT) ve magnetik rezonans görüntüleme (MR) ise daha az duyarlı yöntemlerdir.<sup>61</sup> **1.3. Mesanenin Ürotelyal Tümörleri**

Üriner sistemin, böbrek toplayıcı tübüllerin proksimalinden başlayıp üretranın distaline kadar olan bölümü ürotelyal epitel ile döşelidir. Bu ürotelyal epitelden köken alan tümörler üriner sistemin en sık görülen tümörlerini oluşturmaktadır. Ürotelyal tümörlerin %90'dan fazlası mesanede görülmekte olup, %5-10'u ise üst üriner sistem yerleşimlidir.<sup>15</sup>

Mesanenin ürotelyal tümörleri invaziv olan ve invaziv olmayan olarak 2 ana gruba ayrılırlar. İnvaziv olmayan tümörlerin alt gruplarının tanımlanması ise histomorfolojik özellikleri ve histolojik derecelerine göre yapılmaktadır. Benzer şekilde infiltratif (invaziv) ÜK'ler de histomorfolojik ve klinik özellikleri bakımından farklı yapıda birçok alt tipe ayrılmaktadır.

### **1.3.1. Histolojik Derecelendirme**

Histolojik derece, mesane kanserinde en önemli prognostik faktördür. Aynı patoloğun aynı tümörü farklı zamanlarda farklı derecelendirebilmesi olasılığinedeniyle histolojik derecelendirme nispeten subjektiftir. Bununla birlikte ürotelyal tümörlerin derecelendirilmesinde, subjektiviteyi azaltmayı amaçlayan ve nispeten metrik verilere dayandırılan çeşitli derecelendirme sistemleri önerilmiştir.<sup>62</sup>

Tüm derecelendirme sistemlerinin temelini, normal ürotelyumun yapısal ve sitolojik özelliklerine benzerliğin azalmasıyla birlikte derecenin artıyor olması gerçeği oluşturmaktadır.

İnvazivÜK'lerin çok az bir kısmı düşük dereceli olup, bu tümörler genellikle lamina propriaya sınırlıdır.İnvaziv ÜK'lerin >%95'si yüksek derecelidir.<sup>15</sup>Bu yüzden ürotelyal tümörler içinde invaziv olmayan tümörlerin derecelendirilmesi önem taşımaktadır. İnvaziv olmayan tümörler derecelendirilirken, düz (flat) ve papiller yapıda olmalarına göre öncelikle iki grup altında incelenirler. Papiller tümörler de mimari ve sitolojik özelliklerine göre derecelendirilerek gruplandırılmıştır.

Papiller ürotelyal tümörler için kabul gören ilk sınıflama, 1925'te Albert C. Broders tarafından diferansiye ve indiferansiye epitelin oranına, tümörün büyüklüğüne ve lokalizasyonuna göre yapılan ve 1'den 4'e kadar olan bir derecelendirme sistemidir.<sup>1</sup>

1940 yılında Ash tarafından dört dereceli bir sınıflama sistemi tanımlanmıştır.1960 yılında Mostofi, iyi diferansiye papiller tümörleri ve papillomları tanımlamış, diğer ürotelyal tümörleri de üç dereceye ayırmak suretiyle Ash sınıflamasını modifiye etmiştir.<sup>1</sup>

DSÖ'nün 1973'te kabul ettiği sınıflama, diğer sınıflamalara göre en başarılı olanıdır. Tümörler bu sınıflama ile, hücre sel anaplazinin derecesine göre papillom, derece 1, derece 2 ve derece 3 karsinomlar olarak dört kategoriye ayrılırlar. Sınıflamanın basitliği, prognoz tahminindeki yüksek başarısı ve tedavi yönetiminde ürologlara büyük kolaylık sağlaması nedeniyle ürologlar tarafından dayaygın şekilde kabul görmüştür.<sup>63</sup>

1998 yılında "The Bladder Consensus Conference Committee" ürologlar, patoloğlar ve onkoloğlar tarafından efektif olarak kullanılabilcek mesane neoplazileri için kabul edilebilir evrensel ortak bir terminoloji geliştirmek amacı ile mesanenin papiller ürotelyal tümörleri için WHO/ISUP (The World Health Organization/International Society of Urologic Pathology Consensus Classification) yeni bir sınıflama geliştirdi.<sup>12</sup> Bu yeni sistem papiller ürotelyal tümörleri dört katogoriye ayırmıştır. 1) Papillom, 2) Düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazi (DMP-PÜN), 3) Papiller ürotelyal karsinom, düşük dereceli (PÜK-DD), 4) Papiller ürotelyal karsinom, yüksek dereceli (PÜK-YD). 1973 DSÖ sınıflamasına göre derece 1 tümörler 1998 DSÖ/ISUP sınıflamasında DMP-PÜN olarak, derece 2 tümörler PÜK-DD, derece 3 tümörler ise PÜK-YD olarak karşılık bulmuştur (1. Çizelge).

WHO/ISUP 1998 sınıflama sistemi, çok küçük birkaç değişiklikle, 2003 ve 2004'te tekrar kabul edilmiştir. En son yapılmış olan 2016 DSÖ sınıflamasında da 1998 WHO/ISUP sınıflama sistemi halen geçerliliğini koruyup kabul edilmiştir.

### 1. Çizelge. DSÖ 1973 ve daha sonraki sınıflamaların karşılaştırılması

---

1973 DSÖ	1998 DSÖ/ISUP	2004 DSÖ	2016 DSÖ
----------	---------------	----------	----------

---

Papillom	Papillom	Papillom	Papillom
Derece 1 tümörler	DMP-PÜN	DMP-PÜN	DMP-PÜN
Derece 2 tümörler	PÜK-DD	PÜK-DD	PÜK-DD
Derece 3 tümörler	PÜK-YD	PÜK-YD	PÜK-YD

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü; ISUP:International Society of Urologic Pathologists; DMP-PÜN:Düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazi; PÜK-DD: Papiller ürotelyal karsinom, düşük dereceli; PÜK-YD: Papiller ürotelyal karsinom, yüksek dereceli

### 1.3.2. Ürotelyal Sistem Tümörlerinin 2016 DSÖ Sınıflaması

2016 DSÖ sınıflamasında ürotelyal sistem tümörlerinde çok belirgin değişiklikler yapılmamış olup yeniliklerin çoğu invaziv ÜK ile bunun alt tipleri üzerine olmuştur. Üriner sistem tümörlerinin 2016 DSÖ sınıflaması 2. Çizelge'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

## 2. Çizelge. Üriner sistem tümörlerinin 2016 Dünya Sağlık Örgütü sınıflaması

Ürotelyal tümörler	Urakal karsinom
--------------------	-----------------



<p><b>İnfiltratif ürotelyal karsinom</b></p> <p>Nested,büyük nested dahil</p> <p>Mikrokistik</p> <p>Mikropapiller</p> <p>Lenfoepitelyoma benzeri</p> <p>Plazmasitoid/ taşlı yüzük hücreli/ diffüz</p> <p>Dev hücreli</p> <p>Kötü diferansiye</p> <p>Lipidden zengin</p> <p>Berrak hücreli</p> <p><b>Non-invaziv ürotelyal neoplazmlar</b></p> <p>İn-situ ürotelyal karsinom</p> <p>Non-invaziv papiller ürotelyal karsinom, düşük dereceli</p> <p>Non-invaziv papiller ürotelyal karsinom, yüksek dereceli</p> <p>Düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazi</p> <p>Ürotelyal papilloma</p> <p>İnverted ürotelyal papilloma</p> <p>Malignite potansiyeli belirsiz ürotelyal proliferasyon</p> <p>Ürotelyal displazi</p> <p><b>Skuamöz hücreli neoplaziler</b></p> <p>Pür skuamöz hücreli karsinom</p> <p>Verrüköz karsinom</p> <p>Skuamöz hücreli papillom</p> <p><b>Glandüler neoplaziler</b></p> <p>Adenokarsinom, NOS</p> <p>Enterik</p> <p>Müsinöz</p> <p>Mikst</p> <p>Villöz adenoma</p>	<p><b>Müllerian tip tümörler</b></p> <p>Berrak hücreli karsinom</p> <p>Endometrioid karsinom</p> <p><b>Nöroendokrin tümörler</b></p> <p>Küçük hücreli nöroendokrin karsinom</p> <p>Büyük hücreli nöroendokrin karsinom</p> <p>İyi diferansiye nöroendokrin tümör</p> <p>Paraganglioma</p> <p><b>Melanositik tümörler</b></p> <p>Malign melanom</p> <p>Nevüs</p> <p>Melanozis</p> <p><b>Mezenkimal tümörler</b></p> <p>Rabdomyosarkom</p> <p>Leiomyosarkom</p> <p>Anjiosarkom</p> <p>İnflamatuar myofibroblastik tümör</p> <p>Perivasküler epitelioid hücreli tümör</p> <p>Benign</p> <p>Malign</p> <p>Soliter fibröz tümör</p> <p>Leiomyom</p> <p>Hemanjiom</p> <p>Granüler hücreli tümör</p> <p>Nörofibrom</p> <p><b>Hematopoetik ve lenfoid tümörler</b></p> <p><b>Diğer tümörler</b></p> <p>Skene, Cowper ve Litre bezi karsinomları</p> <p>Metastatik ve diğer organlardan yayılım yoluyla gelen tümörler</p> <p>Üst üriner traktın epitelyal tümörleri</p> <p>Divertikül kaynaklı tümörler</p> <p>Üretranın ürotelyal tümörleri</p>
---	--

### 1.3.3. 2004 DSÖ ile 2016 DSÖ Sınıflaması Karşılaştırılması

2016 DSÖ üriner sistem tümörleri sınıflamasında temel bağlamda 2004 DSÖ sınıflaması kabul edilmiş olup klinikteki uygulamalara göre tanı ölçütleri daha pratik

olacak şekilde ek birkaç değişiklik yapılmıştır.2016 DSÖ sınıflamasında non-invaziv ürotelyal tümörler grubuna ek olarak ‘malignite potansiyeli belirsiz ürotelyal proliferasyon’ ve ‘ürotelyal displazi’ kavramları getirilmiştir (3. Çizelge).

**3.Çizelge.**Non-invaziv ürotelyal tümörlerin 2004 ile 2016 DSÖ sınıflamaları farklılıkları

2004 DSÖ	2016 DSÖ
Non-invaziv ürotelyal tümörler	Non-invaziv ürotelyal tümörler
İn-situ ürotelyal karsinom	İn-situ ürotelyal karsinom
Papiller ürotelyal karsinom, düşük dereceli	Papiller ürotelyal karsinom, düşük dereceli
Papiller ürotelyal karsinom, yüksek dereceli	Papiller ürotelyal karsinom, yüksek dereceli
Düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazi	Düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazi
Ürotelyal papillom	Ürotelyal papillom
İnverted ürotelyal papillom	İnverted ürotelyal papillom
	Malignite potansiyeli belirsiz ürotelyal proliferasyon(hiperplazi)
	Ürotelyal displazi

Ürotelyal tümörlerin 2016 sınıflaması, ürotelyal tümör morfolojisinin çağdaş bir incelemesini ortaya koymakta olup ayrıca ürotelyal tümörlerin, aynı tümör içinde farklı diferansiyasyon gösterebilme yeteneklerini de vurgulamaktadır. Terim olarak farklı diferansiyasyon, klasik tip ürotelyal karsinom alanlarının yanısıra diğer morfolojide tümör odaklarını da içermesi olarak tanımlanmaktadır.

Bu diferansiyasyonlar, skuamöz, glandüler, küçük hücreli ve trofoblastik olarak görülmektedir. En sık skuamöz diferansiyasyon izlenmekte olup invaziv ÜK’lerin %40’ında görülür. Bunların yanısıra ürotelyal karsinomun çok çeşitli morfolojik alt tipleri de klasik ÜK alanlarına eşlik edebilir.

İşte 2016 DSÖ sınıflamasında invaziv ÜK’nin bu farklı diferansiyasyon yeteneği göz önünde bulundurularak 2004 DSÖ sınıflamasına ek birkaç yenilikle yeniden düzenlenmiştir (4. Çizelge).

**4.Çizelge.**İnvaziv ürotelyal tümörlerin 2004 ile 2016 DSÖ sınıflamaları arası farklılıkları

<b>2004 DSÖ</b>	<b>2016 DSÖ</b>
<b><u>İnvaziv ürotelyal tümörler</u></b>	<b><u>İnvaziv ürotelyal tümörler</u></b>
İnfiltratif ürotelyal karsinom	İnfiltratif ürotelyal karsinom, farklı
-skuamöz diferansiyasyon	diferansiyasyon içeren
-glandüler diferansiyasyon	Nested,büyük nested dahil
-trofoblastik diferansiyasyon	Mikrokistik
Nested	Mikropapiller
Mikrokistik	Lenfoepitelyoma benzeri
Mikropapiller	Plazmasitoid/taşlı yüzük hücreli/diffüz
Lenfoepitelyoma benzeri	Sarkomatoid
Lenfoma benzeri	Dev hücreli
Plazmositoid	Az diferansiye
Sarkomatoid	Yağdan zengin
Dev hücreli	Şeffaf hücreli
Undiferansiye	Müllerian tip tümörler
	Divertikül kaynaklı tümörler

**1.3.4. İnvaziv Olmayan (Non-İnvaziv) Ürotelyal Tümörler**

**1.3.4.1. Ürotelyal Papillom**

Normal ürotelyum ile örtülü, ince fibrovasküler merkez etrafında papiller büyüme gösteren, epitelial atipi ve mitoz içermeyen lezyonlardır. Bazı vakalarda

dallanmalar gösteren papiller yapılar görülebilirse de, papiller yapılarda kaynaşma yoktur. Şemsiye hücreleri sıklıkla belirgin olup mitoz bazal tabaka haricinde görülmez. Stromada ödem ve inflamatuvar hücreler görülebilir. Sitokeratin ekspresyonu normal ürotelyumda olduğu gibi şemsiye hücrelerine sınırlıdır. İnsidansı tüm mesane tümörleri arasında %1'den daha azdır. Çoğu papillomlar genç yaşta, tek sayıda ve üretral orifise yakın olarak bulunurlar. Ürotelyal papillomlar rekürrens gösterebilirler ve benign kabul edilirler.<sup>64</sup> Ancak literatürde malign dönüşüme uğradığı bildirilen vakalar mevcuttur.<sup>65</sup>

#### ***1.3.4.2. İverted ürotelyal papillom***

Ürotelyal neoplazmların %1'inden azını oluşturan, çoğunlukla soliter, histopatolojisinde lamina propriaya invajinasyon gösteren, olağan morfolojide ürotelyal epitelle döşeli endofitik kordonlardan meydana gelmiş bir lezyondur. En sık trigon yerleşimlidirler.<sup>66</sup>Ayırıcı tanısında 'inverted' paternli invaziv karsinomun düşünülmesi çok önemlidir. Makroskopik gözlemede tümörün düzgün kubbe yüzeyli olması, mikroskopik incelemede ise dallara ayrılan kord ve trabeküllerin eşit genişlikte olması, periferinde içsileşme ve palizadlanma eğilimi gösteren düzgün dizilimli polarize hücrelerden oluşması ve şiddetli diffüz atipinin olmaması 'inverted' ürotelyal papillom lehine bulgulardır.İverted papillomlar benign lezyonlar olup nüks nadiren izlenir. Birkaç çalışmada, inverted papillomlara eşlik eden veya takip eden ürotelyal tümör riskinde hafif artış tespit edilmiştir.<sup>67</sup>

#### ***1.3.4.3. Ürotelyal displazi***

Preneoplastik olduğuna inanılmakla birlikte, in-situ ürotelyal karsinomi için gereken kriterleri tam karşılamayansitolojik ve mimari anormallikler gösteren düz(flat) bir lezyon olarak tanımlanmaktadır.Nadiren tek başına görülmesi nedeniyle bu lezyonların seyri hakkında yeterliklinik ve patolojik çalışma yoktur. Daha da önemlisi, gözlemciler arası belirgin değişkenliklerin olması ve in-situ karsinomadönüşümü ile ilgili geniş klinik çalışmaların olmaması nedeniyle morfolojik olarak tanımlanması en zor kategoridir. Bu tanı özellikle, daha önce ÜK öyküsü olan hastalarda önceki enstrümantasyona ikincil değişiklikler,eski biyopsi alanı değişiklikleri ve intravezikal tedavi ile indüklenen değişiklikler göz önüne alındığında zorlayıcıdır ve yorumlama değişkenliğine sahiptir.Noninvaziv papiller tümörlü hastalarda çevre ürotelyal epitelde izlenen displazi, ürotelyal instabiliteyi

belirtir ve progresyon veya rekürrens için potansiyel bir belirteçtir. De novo displazi olgularının %5-20'sinde in-situ ürotelyal karsinom (İSÜK) veya invaziv karsinoma ilerleme görülmektedir.<sup>68,69</sup>

#### ***1.3.4.4. Malignite potansiyeli belirsiz ürotelyal proliferasyon (hiperplazi)***

2016 DSÖ sınıflamasında, 'malignite potansiyeli belirsiz ürotelyal proliferasyon' terimi tanıtıldı ve hiperplazi terimi iptal edildi.<sup>21</sup> Mikroskopik olarak, sitolojik atipisi minimal olan veya hiç olmayan, gerçek papiller yapıların olmadığı ancak dalgalı bir morfolojiye sahip kalınlaşmış ürotelyum izlenmektedir. Daha önce karsinom öyküsü olanlarda veya papiller lezyonlara komşu bölgelerde daha sıklıkla görülmektedirler. Çoğulezyon papiller tümörün lateral ekstansiyonunu ("omuz lezyonu") temsil etmektedir.<sup>15</sup> Bu tümörlerde 9.kromozom ile FGFR3 anormalliklerinin tespit edilmesi papiller lezyonların öncüsü olduğunu desteklemektedir.<sup>15</sup>

#### ***1.3.4.5. Düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazi***

Histolojik olarak ekzofitik ürotelyal papilloma benzeyen, epitelin polaritesi korunmuş, normalden daha kalın ürotelyum içeren, non-invaziv papiller bir tümördür. Bu lezyon artmış hücresel proliferasyon içeren papiller ürotelyal tümör olarak tanımlanmıştır. Bu tümörlerde sitolojik atipi minimaldir ya da yoktur. Mimari anormallikler minimaldir, bazal katmanlarda palizatlanma olup, buralarda mitoz izlenebilir. Erkeklerde kadınlara oranla üç kat daha sık görülür. Sistoskopik olarak lezyonların en geniş çapı 1-2 cm olup, mesane yan duvarlarında veya üreter orifislerin yakınında yerleşim gösterirler.<sup>70</sup>

Rekürrens ve progresyon oranları ile ilgili tartışmalı sonuçlar mevcuttur. DMP-PÜN tanılı 112 hastanın ortalama 12.8 yıllık takiplerini inceleyen bir seride, olguların %30'unda rekürrens, %4'ünde invaziv kanser gelişimi bildirilmiştir, 3 hasta mesane kanseri nedeniyle kaybedilmiştir.<sup>71</sup> Samaratunga ve ark.<sup>72</sup> yaptıkları çalışmada DSÖ 1973 sistemine göre grade 1 olan tümörlerde progresyon oranını %11 olarak saptarken, 2004 sistemine göre DMP-PÜN tanısı alan hastalarda bu oranı %8 olarak bulmuşlardır. Holmang ve ark.<sup>73</sup> ise rekürrens oranını %35 olarak bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmalar, düşük malign potansiyelli papiller ürotelyal neoplazmaların, benign tümörler olmadığını, rekürrens açısından önemli bir risk taşıdıklarını göstermektedir. Bu hastalarda uzun süreli takip önerilmektedir.

#### **1.3.4.6. Non-invaziv papiller ürotelyal karsinom, düşük dereceli**

DMP-PÜN ile karşılaştırıldığında küçük büyütmelerde bile kolaylıkla tanınabilen yapısal ve sitolojik değişiklikler görülür. Sıklıkla dallanmalar ve minimal kaynaşma gösteren, nükleer polarite değişiklikleri içeren ince uzun papiller yapılardan oluşur. Çekirdekçik belirginliği görülebilir. Mitoz, epitelin genellikle alt ½'ye sınırlı olmakla birlikte herhangi bir seviyesinde görülebilir ancak sayıca azdır. Erkeklerde yaklaşık 3 kat fazla görülür. Vakaların %70'i üreter orifislerinin lateral ya da posterior duvar yerleşimlidir. Rekürrens oranları %70'e kadar çıkabilmektedir. %10'unda daha yüksek evrelere ilerleme görülür.<sup>66</sup>

#### **1.3.4.7. Non-invaziv papiller ürotelyal karsinom, yüksek dereceli**

Orta ve/veya belirgin derecede yapısal ve sitolojik atipinin izlendiği birleşme eğilimindeki papiller yapılardan oluşan tümörlerdir. Yapısal ve sitolojik anormallikler küçük büyütmelerde bile fark edilebilir. Çekirdekler pleomorfik olup, belirgin polarite kaybı mevcuttur. Çekirdekçik belirgindir. Mitoz sık olarak izlenmekte olup, epitelin her seviyesinde görülebilmektedir. Ürotelyumun kalınlığı farklılık gösterebilir. Bu lezyona çevre mukozada sıklıkla in situ karsinom odakları eşlik eder. Bu tümörler, endoskopik olarak tek veya çok sayıda olabilirler; papiller, nodüler veya solid gelişim gösterebilirler.<sup>66</sup>

PÜK-YD'lerde invaziv hastalığa progresyon riski %15-40 arası olarak bildirilmekte olup, PÜK-DD'lere göre daha yüksektir. Bu lezyonların ayrıca tanı anında invaziv olma oranı da daha yüksektir.<sup>66</sup>Yapılan bir çalışmada bu tümörlerde rekürrens oranı %73 ve hastalık progresyon oranı %23 olarak bildirilmiştir.<sup>73</sup>

#### **1.3.4.8. İn-situ ürotelyal karsinom**

İSÜK, malign ürotelyumdan oluşan invaziv olmayan yassı (flat) tümörlerdir. Yüksek dereceli ÜK'lerde görülen şiddette nükleer anaplazi izlenir. Ürotelyal neoplazilerin % 1-3'ünü oluşturur. Daha çok 50-60 yaş arasında görülür.<sup>66</sup> Histopatolojik olarak, kaba ve kondanse kromatin ile iri çekirdekçiklere sahip pleomorfik büyük nüklüslü hücreler izlenir. Hücre polaritesi genelde tamamen kaybolmuştur. Mitozlar atipiktir

ve yaygın olarak epitelin her tabakasında görülürler. Tüm bu değişiklikler tüm epiteli tutabileceği gibi bazal tabakada sınırlı olup yüzeyde normal şemsiye hücreleri görülebilir.

De novo (primer) İSÜK, tüm ürotelyal tümörlerin %1-3'ünden azını oluşturmakta olup invaziv ÜK'lerin %45-65'inde görülmektedir. Papiller tümörlerin ise %7-15'inde görülürler.<sup>15</sup>

İSÜK, agresif gidişli olup, immünterapiye yanıt vermektedir. Tedavi edilmediği takdirde %54-83 oranında Kİ-ÜK'e ilerleme olasılığı mevcuttur.<sup>74</sup>

### 1.3.5. İnfiltratif Ürotelyal Karsinom

Ürotelyal karsinomu oluşturan hücre ya da hücre grupları bazal membranı aşarsa infiltratif ÜK olarak kabul edilmektedir. İnfiltratif ÜK, tüm ÜK'lerin yaklaşık %30-35'ini oluşturmaktadır.<sup>21</sup> ÜK'lerin %37'si mesane lateral duvarda yerleşim gösterirken %18'i trigon, %12'si mesane boynu, %11'i üreter orifisleri, %10'u apeks, %4'ü ön duvar yerleşimlidir.<sup>1</sup>

Histopatolojik olarak, oldukça farklı morfolojilerde izlenebilirler. Genellikle büyük hiperkromatik çekirdekli, geniş amfofilik sitoplazmalı, infiltratif koheziv yuvalardan oluşurlar. Çekirdekler pleomorfik olup sınırları düzensizdir. Bir veya çok sayıda büyük ve eozinofilik çekirdekçik izlenebilir. Tipik ve atipik mitozlar sıktır. Vakaların çoğunda stromada plazma hücrelerinin de görüldüğü lenfositik infiltrasyon mevcuttur. Nötrofil ve eozinofil lökositler nadiren vardır. Sıklıkla çevre epitelde İSÜK odakları izlenir.

İnfiltratif ÜK'lerin, nükleer anaplazi derecesi ve mimari yapı anormalliklerine göre düşük ve yüksek dereceli olarak sınıflandırılması halen geçerliliğini korumakta olup nadir durumlar (nested alt tip gibi) haricinde ÜK'lerin çoğu nükleer atipi nedeniyle yüksek derecelidir. ÜK'lerin histolojileri çok değişken olup genelde pT1 tümörler, papiller olup düşük veya yüksek derecelidir. pT2-T4 tümörler ise düz (flat) ve yüksek derecelidir.<sup>12</sup>

ÜK'nin en tipik özelliği çok geniş, farklı histolojik paternler oluşturabilme yeteneğidir. Bu yeteneğin sebepleri arasında ürotelyal epitelin değişim kapasitesinin yüksek olması, embriyolojik olarak farklı 2 yolağının olması ve evrimsel olarak da suyun depolanmasından idrarın depolanmasına geçiş özellikleri sayılabilir. ÜK'lerde en sık olarak glandüler, skuamöz, küçük hücreli ve trofoblastik farklılaşma görülür. Bu

farklılaşma özellikle tümörün yüksek dereceli ve lokal agresif olmasının en sık rastlanılan sebeplerindedir. Sistektomimateriyallerinde ÜK'lerde farklı diferansiyasyon insidansının %33 olduğu tespit edilmiştir.<sup>21</sup> Bu diferansiyasyonun klinik olarak agresif gidişat ile ilişkili olduğu düşünülse de, aynı evre ve derecedeki klasik ÜK'den farkı ile ilgili net bir bilgi mevcut değildir. Bu nedenle biyopsi raporunda farklı diferansiyasyon odaklarının yüzdesinin belirtilmesi tavsiye edilmektedir.<sup>15</sup>

#### ***1.3.5.1. Ürotelyal Karsinomun Histolojik Alt Tipleri***

ÜK'nin çok sayıda alt tipi mevcut olup bu alt tipleri tanımak şu açılardan önem taşımaktadır: bazı alt tiplerin klinik gidişatının, prognozlarının klasik ÜK'lere göre farklı olması, bazılarının tedavi yaklaşımlarının değişik olması ve bazı alt tiplerin histomorfolojik özelliklerinin benign mesane lezyonlarına benzelikleri nedeniyle yanlış tanı almalarıdır. DSÖ 2016 sınıflamasında alt tipler ile ilgili sadeleşmeler yapılmış olup başlıca olarak nested/büyük nested dahil, mikrokistik, mikropapiller, lenfoepitelyoma benzeri, plazmasitoid/taşlı yüzük hücreli/diffüz, dev hücreli, kötü diferansiye, lipidden zengin ve berrak hücreli olarak gruplandırılmıştır.

*ÜK nested/büyük nested dahil alt tip*, lamina propriyayı infiltre eden von Brunn adalarına benzeyen benign histomorfolojik görüntüye sahip nadir bir agresiftiptir. Bu lezyonun malign olarak tanınmasında en kullanışlı özellikler; kas invazyonunun varlığı, yuvaların kalabalık ve düzensiz bir şekilde invazyon paternine sahip olması ve lezyonun derininde atipinin artmış olmasıdır. Tedaviye rağmen tanıdan 3-4 yıl içerisinde hastaların %70'i kaybedilmektedir.<sup>75</sup>

Bazı vakalarda ise invaziv yuvalar orta-büyük boyuttadır. Genellikle detrüör kaslara derinlemesine invazivdir. Tümör hücreleri ise aldatıcı şekilde nested alttipinde olduğu gibi masum görünümündedir. "Büyük nested" olarak adlandırılan bu alt tip klinik olarak diğer yüksek dereceli ÜK'ler ile benzer prognoza sahiptir.

*ÜK mikrokistik alt tip*, mikroskopik olarak 1 ila 2 mm arasında değişebilen boyutlarda mikrokistlere sahip, kistlerin lümeninde nekrotik materyal veya pembe soluk sekresyonların izlendiği bir alt tiptir. Kisti döşeyen epitel genellikle basıktır ve hatta olmayabilir. Ayrıca ürotelyal epitel veya müsinoz epitel ile de döşeli olabilir.



Genellikle nested alt tip ile birlikte bulunur, mesanenin primer adenokarsinomu ile ilgisi yoktur.<sup>76</sup> Bu ÜK alt tipinin herhangi farklı bir biyolojik önemi yoktur.

*ÜK mikropapiller alt tip*, aşağıdaki bölümlerde ayrıntılı olarak anlatılacaktır.

*ÜK lenfoepitelyoma benzeri alt tip*, morfolojik olarak nazofarenksin lenfoepitelyomasını andırır. Sıklıkla erkeklerde genç erişkinlerde görülür. Ortalama yaş insidansı 69'dur. Histolojik olarak tümör, belirgin çekirdekçikli, büyük pleomorfik çekirdekli sınırsız görünümdeki indiferansiye hücrelerden oluşur. Mitoz sıklığıdır. Zeminde T ve B lenfositler ile plazma hücreleri, histiyositler hatta eozinofil ve nötrofil lökositlerin de nadir de olsa izlenebildiği belirgin lenfoid infiltrat içerir. Ayırıcı tanısında malign lenfoma, lenfoid stroma sahip az diferansiye ÜK, az diferansiye skuamöz hücreli karsinom yer alır. Hatta sınırlı biyopsi örneğinde yoğun kronik sistit, bu alt tip ile karışabilmektedir. Bu tümörler kemoterapiye duyarlı olmaları nedeniyle doğru tanı konması terapötik açıdan önemlidir.

*ÜK plazmasitoid/taşlı yüzük hücreli/diffüz alt tip*, oldukça nadir görülmekle birlikte tümör hücreleri malign lenfoma veya plazmasitomdaki hücrelere benzerler. Gevşek veya miksoid bir stroma içinde oval-yuvarlak diskoheziv malign hücreler izlenir. Hücreler, ekzantrik yerleşimli çekirdekleri ve belirgin eozinofilik sitoplazmaları ile plazmositoid bir görünüme sahiptir. Ayrıca bazı hücrelerin sitoplazmalarında görülebilen vakuoller taşlı yüzük morfolojisine sebep olabilir. Sitoplazmadaki bu vakuoller müsin içerebilir. Ancak bu tümörlerdeki müsin, taşlı yüzük hücreli müsinöz adenokarsinomda görüldüğü gibi hücre dışı müsin değildir. Tümör hücreleri bir plazma hücre belirteci olan CD138 ile ürotelyal belirteç olan GATA-3 ile pozitif boyanırlar. E-kaderin sıklıkla negatiftir. Ayırıcı tanıda plazmasitoid tip lenfoma, multiple myelom, malign melanom, metastatik karsinom, paragangliom, nöroendokrin karsinom ve rabdomyosarkom vardır. Prognozları evre ile ilişkili olup genelde kötüdür. Metastatik hastalığa ilerleme riski yüksek ve hastaların sağkalım süresi kısadır.<sup>77</sup>

*ÜK sarkomatoid alt tip*, aşağıdaki bölümlerde ayrıntılı olarak anlatılacaktır.

*ÜK dev hücreli alt tip*, nadir ve agresif seyirli bir alt tiptir. Akciğerin dev hücreli karsinomuna benzer şekilde bizar pleomorfik tümör dev hücreleri içerir. Yaygın nekroz, çok sayıda tipik/mitoz ve sıklıkla kas infiltrasyonu vardır. ÜK gibi ileri

yaş erkeklerde görülür. Ayırıcı tanısında trofoblastik ile osteoklast benzeri diferansiyasyon gösteren ÜK'ler yer alır.

*ÜK kötü diferansiyalt tip*, birçok morfolojiyi (sarkomatoid karsinom, dev hücreli karsinom, indiferansiye karsinom gibi) içinde barındıran tümörlerdir. Osteoklast benzeri dev hücreleri sıklıkla içerir. Kötü prognozlu olup literatürde bildirilen sadece birkaç vaka vardır.

*ÜK lipidden zengin alt tip*, büyük lipoblast benzeri hücrelerle karakterize olup bir veya daha fazla sitoplazmik vakuolleri vardır. Bildirilmiş 37 vaka mevcuttur.<sup>66</sup> Tümör ileri evrede olup kötü prognozludur. Birçok kurumun katıldığı çalışmada 27 hastanın %60'ının 58 ay içinde öldüğü tespit edilmiştir.<sup>78</sup>

*ÜK berrak hücreli alt tip*, berrak hücreli böbrek karsinomuna benzer şekilde bir morfolojiye sahip olup glikojenden zengin bir sitoplazmaya sahiptir. Literatürde bildirilmiş 25'ten az vaka mevcuttur.<sup>66</sup> Tümör içinde klasik ÜK odakları da izlenir ve invazyon paterni klasik ÜK gibidir. Literatürde çok az sayıda vaka olması nedeniyle prognozu hakkına net bilgi yoktur.

### **1.3.6. Mesane Kanseri Tümör-Lenf nodu-Metastaz(TNM) Sınıflaması**

Mesane kanserlerinin patolojik evrelemesinde Amerikan Kanser Komitesi(AJCC) tarafından yapılan TNM sınıflaması kullanılmaktadır(5. Çizelge). Bu evrelemenin en önemli bileşeni tümörün invazyon derinliğidir.

*Lamina propria invazyonu*, özellikle ÜK'ler için değerlendirilmesi oldukça zor bir kriterdir. Biyopsilerin genellikle parçalı ve koter artefaktı içermesi bu durumu daha da zorlaştırmaktadır. pT1 tümörlerde invazyon odakları lamina propriada ve/veya papiller kordlarda yuva, küme veya tek hücre şeklindedir. İnvaziv yuvalar, psödosarkomatöz stromal reaksiyon olarak bilinen, malign iğsi hücreli lezyonları taklit eden bir dezmoplastik stromal yanıtı indükleyebilir. Ayrıca invaziv odaklar çevresinde görülebilen çekilme artefaktları lenfovasküler invazyon ile karışabilir.

Bazı çalışmalarda invazyon derinliğinin muskularis mukoza atında veya üstünde olmasının prognostik önemi olduğunu ve bunun belirtilmesi gerektiğini vurgulanmıştır, ancak DSÖ sınıflamasında evreleme şemasında bu kriter yer almamaktadır. Bununla birlikte patologlar, böyle bir değerlendirmenin mümkün

olması halinde, lamina propria invazyon derinliğini biyopsi raporunda belirtilebilirler.<sup>79</sup>

*Muskularis propria invazyonu*, kas tabakası lifleri içinde tümör odaklarının görülmesi olarak tanımlanır. Muskularis propia invazyonu pT2, mesane çevresi yağlı doku invazyonu pT3 ve çevre organ tutulumu pT4 olarak değerlendirilir. Kas invazyonunda dezmoplastik stromal yanıt şart değildir.

İnvaziv olmayan vakalarda patoloji raporunda örnek içerisinde muskularis propriafragmanlarının olup olmadığı mutlaka belirtilmelidir. Bu sayede örnekleme yeterliliği de değerlendirilmiş olmaktadır.

Detrüsör kas demetleri arasında yağ dokusu bulunabilmesinden ötürü, biyopsi örneklerinde yağlı doku invazyonu bulunması mesane çevresi yağlı doku invazyonunu kesin olarak göstermemektedir.

Mesane kanseri prostat bezini de infiltre edebilir. Prostat bezinin tutulumu birkaç farklı şekilde olabilir. Tümörler önce prostatik üretral mukoza ve prostat bezleri boyunca yayılıp sonra prostat stromasını invaze edebilir. Bu transüretral mukozal yol olarak adlandırılır.İkinci olarak mesane duvarını aşyp prostat tabanından doğrudan prostat bezine yayılabilir. Üçüncü bir yol da ekstravezikal yağ doku infiltrasyonu yapıp prostat bezine uzanabilirler. Son iki yol doğrudan transmural invazyon olarak kabuledilir.

AJCC evrelemesinin sekizinci baskısında, transmural prostat bezi tutulumu pT4 olarak tanımlanmakla birliktetransüretral-mukozal prostatik stroma invazyonupT4a olarak ayrı bir gruba alınmaktadır.

*Vasküler invazyon*,mesane kanserindekötü prognoza sebep olan bu yüzden raporda belirtilmesi gereken ek patolojik özelliktir. ÜK'lar genellikle stromal çekilme artefaktları içerdikleri için bazen vasküler invazyonu değerlendirmek güç olmaktadır. İmmünohistokimyasal olarak kullanılan endotel belirteçleri bu ayırmda kullanılabilir. TNM evrelemesinde T kategorisi için en önemli özelliğin tümörün invazyon derecesi olduğu açıkça görülmektedir. N kategorisinde iseperivezikal, obturator, internal ve eksternal iliak veya presakral lenf nodularının 1 tanesinde metastaz tespit edilmesi N1 olarak değerlendirilirken, birden fazla metastatik lenf nodu N2 olarak kabul edilir.Lenf nodu sayısına bakılmaksızın common iliak lenf nodu metastazı varlığı ise N3'tür.

Mkategorisi, uzak organ metastazı varlığı ve yokluğuna göre sırasıyla M1 ve M0 olarak gruplanır. Ancak common iliak lenf nodlarının ilerisindeki herhangi bir lenf nodu metastazı da uzak organ metastazı kabul edilip evreleme sisteminde M1a olarak yer alır. M1b ise lenf nodu dışı uzak organ metastazıdır.

Tümörler, TNM sınıflamasının kriterlerine göre yapılan değerlendirmeler sonrasında 6. Çizelge'de gösterildiği gibi evrelendirilirler.

##### 5. Çizelge. AJCC'ye göre mesane tümörü TNM evrelemesi<sup>80</sup>

---

<b>Tümör (T)</b>	
Tx	Primer tümör değerlendirilemez
T0	Primer tümöre ait kanıt yok
Ta	İnvaziv olmayan papiller karsinom

---

---

Tis	İn-situ ürotelyal karsinom ‘düz tümör’
T1	Tümör subepitelyal bağ dokuyu(lamina propria) invaze etmiş
T2	Tümör kas dokusunu(muskulais propria) invaze etmiş
T2a	Tümör yüzeysel kas dokusunu invaze etmiş (iç yarısı)
T2b	Tümör derin kas dokusunu invaze etmiş (dış yarısı)
T3	Tümör perivezikal dokuyu invaze etmiş
T3a	Mikroskopik
T3b	Makroskopik (ekstravezikal kitle)
T4	Ekstravezikal tümörün direkt komşu organ tutulumu (Prostat stroması, seminal vezikül, uterus, vajen, pelvik duvar,karın duvarı)
T4a	Ekstravezikal tümörün direkt prostat stroması, uterus veya vajen tutulumu
T4b	Ekstravezikal tümörün pelvik duvar veya karın duvarı tutulumu

---

**Node (N): Lenf nodu invazyonu**

---

Nx	Lenf nodu değerlendirilemez
N0	Lenf nodu metastazı yok
N1	Pelviste tek bir lenf nodu metastazı (perivezikal,obturator, internal ve eksternal iliak veya presakral)
N2	Pelviste birden fazla nod metastazı (perivezikal,obturator, internal ve eksternal iliak veya presakral)
N3	Common iliak lenf nodu veya nodları metastazı

---

**Metastaz (M): Uzak metastaz**

---

M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var
M1a	Uzak metastaz,common iliak lenf nodlarının ilerisindeki lenf nodlarına sınırlı
M1b	Lenf nodu dışı uzak metastaz

---

**6. Çizelge.AJCC’ye göre mesane tümörü evrelemesi<sup>80</sup>**

Evre Derecesi	Tümör	Lenf nodu	Matastaz
Evre 0a	Ta	N0	M0
Evre 0is	Tis	N0	M0

---

Evre I	T1	N0	M0
Evre II	T2a	N0	M0
Evre II	T2b	N0	M0
Evre IIIA	T3a, T3b, T4a	N0	M0
Evre IIIA	T1-T4a	N1	M0
Evre IIIB	T1-T4a	N2, N3	M0
Evre IVA	T4b	Herhangi N	M0
Evre IVA	Herhangi T	Herhangi N	M1a
Evre IVB	Herhangi T	Herhangi N	M1b

### 1.3.7. Ürotelyal Tümörlerde Prognostik Belirteçler

Mesane karsinomunda prognoz birçok parametre ile ilişkilidir:

*Evre:* Literatürdeki birçok çalışmada tümör evresinin en önemli prognostik belirleyici olduğunu gösterilmiştir. Kas invazyonu ile beklenen yaşam süresindeki keskin düşüş muhtemelen tümörün bu seviyede zengin vasküler ağa erişim kazanmasının sonucudur. Yüzeysel mesane tümörü için 5 yıllık sağ kalım %90'ın üzerindeyken derin invaziv mesane kanseri için %45 ile %55 arasındadır.<sup>1</sup>

*Lenf nodu tutulumu:* Lenf nodu tutulumu, mesane kanserlerinin evreleme sistemi içinde hali hazırda yer almakta olup, özellikle çok sayıda lenf nodu tutulduğunda kötü prognostik gidiş için bir göstergedir. Pelvik düğümler büyük boyutta olduğunda ve/veya ekstrakapsüler tutulum gösterdiğinde prognoz daha kötüdür.<sup>1</sup>

*Mikroskopik derece:* Çoğu düşük dereceli tümör yüzeysel iken birçok yüksek dereceli tümörün derin invazyon yapması bağlamında, derece ve evre birbiriyle yakın ilişki içindedir. Bununla birlikte, derece tek başına da bağımsız bir prognostik faktördür.<sup>1</sup>

*Hastanın yaşı:* Yaşamın ilk iki dekadı esnasında gelişen az sayıdaki tümör genellikle iyi diferansiyedir ve noninvazivdir, dolayısıyla mükemmel bir prognoza sahiptir.<sup>1</sup>

*Lokalizasyon:* Mesane boynu yerleşimli tümörler daha kötü prognozludur. Kubbe yerleşimli olanlar ise daha yüksek dereceli lezyonlar olarak gelişme eğiliminde iken üreter orifis ve lateral duvarların tümörleri genellikle daha düşük derecelidirler.<sup>1</sup>

*Kalan mesane mukozasındaki anormallikler:* Ana tümör kitlesinden uzakta bağımsız tümör odaklarının veya epitelde displastik değişikliklerin varlığı yüksek rekürrens hızı ile ilişkilidir.<sup>1</sup>

*Vasküler invazyon:* Mikroskopik olarak hematoksilen-eozin veya endotel boyaları ile lenf damarlarında veya kan damarlarında saptanan bu bulgu tümörün artmış rekürrens hızı ile birliktedir.<sup>1</sup>

*Tümör sınırları ve inflamatuvar yanıt:* Tümöre karşı lenfositik yanıt ile birliktelik gösteren itici sınırlara sahip tümörler daha iyi prognozludurlar.<sup>1</sup>

*Tümör boyutu:* Metastaz riski ve sağ kalım için en iyi belirteçlerden biridir. Tümör 4 cm'den büyükse, nüks riski %100'dür.<sup>1</sup>

*Mikrodamar yoğunluğu:* Bağımsız bir prognostik belirteç olarak iddia edilse de geniş kapsamlı araştırmalarla desteklenmesi gereklidir.

*Kan grup antijenlerinin durumu:* ABO ve Lewis antijenleri ürotelyal mukoza tarafından normalde eksprese edilir, ancak özellikle yüksek dereceli tümörlerde yoktur veya azalmıştır. Artmış rekürrens olasılığı ve invaziv özelliklerin kazanımı şeklinde agresif bir klinik seyir ile korele görünür.<sup>1</sup>

*DNA ploidi:* Özellikle düşük dereceli tümörlerde bağımsız bir prognostik faktördür. Çalışmalar, histolojik derece ve klinik gidiş arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir.<sup>81</sup>

*Kromozomal aberasyonlar:* Y kayıpları ve 1 ve 17. kromozomda polizomi varlığının, artmış progresyon riski ile korele olduğu söylenmektedir.<sup>82</sup>

*P53 aşırı ekspresyonu:* Evresi T1 ve T2a olan vakalarda, hastalığın progresyonu ile ilişkisi bulunmuştur. Hem evre hem de histolojik derece ile P53 değişikliklerinin ilişkili olduğu saptanmıştır.<sup>1</sup>

*RB geninin değişmiş ekspresyonu:* RB geninin artmış ekspresyonunun, daha agresif klinik seyir ile ilişkisi vardır fakat, bağımsız bir prognostik faktör olup olmadığı net değildir.<sup>1</sup>

*E-kaderin kaybı:* Bazı çalışmalarda, mesane tümörlerinde E-kaderin kaybı olan hastalar bu yüzey antijeni bulunanlara göre daha kötü prognozlu oldukları gösterilmiştir.<sup>83</sup>

*CD44 varyant protein kaybı:* Fokal CD44 varyant protein kaybı yüzeyel mesane karsinomunda rekürrensiz sürenin kısalığı ile yüksek bir korelasyona sahiptir.<sup>1</sup>

### 1.3.8. Mikropapiller Tip Ürotelyal Karsinom ve Özellikleri

MİTÜK, ilk olarak Amin ve ark.<sup>84</sup> tarafından 1994 yılında tanımlanmış olup klasik ÜK'lere göre agresif seyirli, nadir görülen bir tümördür. Tüm ÜK vakaları içindeki görülme oranı %0.6-6'dır ve 1994 yılından beri tanımlanmış vaka sayısı 1000'den azdır.<sup>85</sup> Nadir olarak görülmesine karşılık agresif gidişatı nedeniyle oldukça önemlidir. Ortalama görülme yaşı 70 olup, erkeklerde insidansı daha yüksektir.

MİTÜK, histomorfolojik olarak overin seröz karsinomuna benzer özelliklere sahiptir. Tümör genellikle merkezi bir vasküler kor olmaksızın ince, narin papiller ve villiform yapılar oluşturur. İnvaziv bileşen ise, lenfatik boşlukları andıran doku çekilme artefaktı içine yerleşmiş, merkezi vasküler korları olmayan minik yuva veya ince papiller yapılardan oluşur. Diğer önemli tanısal özellikler, yüksek dereceli atipi gösteren perifer yerleşimli çekirdekler ile taşlı yüzük benzeri görünüme yol açan intrasitoplazmik vakuollerdir. Bu alt tipin tanısında mikropapiller yapıların %10'dan fazla olması şartı aranmakla beraber, mikropapiller yapının yüzde oranının patoloji raporunda bildirilmesi önerilmektedir. Çünkü mikropapiller bileşenin yüzdesinin önemli bir kötüprognostik faktör olduğu literatürdeki çalışmalarda gösterilmiştir.<sup>86</sup>

MİTÜK'ler genellikle tanı anında yüksek dereceli olup T3-T4 gibi ileri evrede tespit edilirler.<sup>87</sup> Çoğu olguda tanı anında kas invazyonu ve pelvik lenf nodu metastazı bulunmaktadır ve olguların >%50'sine İSÜK eşlik etmektedir.<sup>88</sup> İSÜK varlığı ve lenfovasküler invazyon kötü prognostik belirteçlerdir. Lenf nodu metastazları radikal sistektomi sırasında sıklıkla mevcuttur. Literatüre göre mikropapiller ÜK vakalarının %56,1'inde kas invazyonu ve %75,5'inde kötü veya indifferansiye morfoloji izlenir.<sup>89</sup> Kamat ve ark. çalışmalarında mikropapiller tümörlerin 5 ve 10 yıllık tedavisiz sağkalım oranları sırasıyla %54 ve %27 olarak tespit edilmiştir.<sup>90</sup> Radikal sistektomi yapılan hastaların 5 yıllık sağkalım oranları %71, 10 yıllık ise %53 olup, ortalama sağkalım süresi 85 ay olarak tespit edilmiştir.<sup>91</sup> Ayrıca Alvarado ve ark. çalışmasında klasik ÜK'lere göre MİTÜK olgularının daha agresif klinik gidişata sahip olduğu kanıtlanmıştır.<sup>85</sup>

Tedavisinde mesanenin korunması ve radikal cerrahiden kaçınılması gereken durumlar haricinde, tüm hastalara acil radikal sistektomi önerilmektedir. İntravezikal BCG, bu alt tipin tedavisinde yarar sağlamamaktadır. Sistektomi öncesi neoadjuvan



kemoterapinin etkisi ise tam olarak ortaya konmamış olup bazı ÜK alt tiplerinde (küçük hücreli gibi) olduğu gibi işe yararlığı net değildir. HER-2'nin mutasyon sıklığının bu alt tipte yüksek bir sıklıkla görülmesi HER-2 inhibitörlerini kullanarak hedefe yönelik tedavi şansını arttırmaktadır.<sup>92</sup>

### **1.3.9. Sarkomatoid Tip Ürotelyal Karsinom ve Özellikleri**

Sarkomatoid tip karsinomlar morfolojik ve immünohistokimyasal olarak hem epitelyal hem de mezenkimal farklılaşmaya sahip bifazik tümörlerdir. İlk olarak 1955 yılında Dent<sup>93</sup> tarafından tanımlanmıştır. Moleküler çalışmalar, bu tümörlerin hem epitelyal hem de mezenkimal bileşenlerinin monoklonal orijinli olduğunu ileri sürmektedir. Mezenkimal bileşen sıklıkla indifferansiye yüksek dereceli işi hücreli tümör şeklindedir ve en sık heterolog eleman olarak osteosarkom görülmekte olup, kondrosarkom, rabdomyosarkom ve leiomyosarkom da eşlik edebilir. Literatürde bildirilmiş 100'den fazla SATÜK vakası mevcuttur.<sup>60</sup> Analizler SATÜK'lerin tüm mesane kanserlerinin yaklaşık %0.6'sını oluşturduğunu göstermektedir. Çalışmalarda SATÜK'lerin klasik ÜK'lere göre daha agresif seyirli ve tanı anında daha ileri evrede ve genellikle metastatik olduklarını tespit edilmiştir.<sup>94</sup> Wang ve ark.<sup>95</sup> yapmış oldukları çalışmada 1 yıl, 5 yıl ve 10 yıllık sağkalım oranlarını sırasıyla %53,9, %28,4 ve %25,8 olarak bulmuştur. Aynı çalışmada sistektomiden sonra 5 yıllık kanser spesifik sağkalım oranı ise %20,3 olarak saptanmış olup, bu bulgu, erken yayılım riskinin yüksek olduğunu düşündürmektedir.

SATÜK tedavisi konusunda tam bir netlik olmamakla birlikte radikal sistektomiye ek olarak adjuvan veya neoadjuvan kemoterapi ve radyoterapi tavsiye edilmektedir. Ancak sistektomi sonrası lokal rekürrens ve metastaz oranlarının oldukça yüksek olması araştırmaların hedefe yönelik tedavi yöntemlerine yoğunlaşmasına yol açmaktadır.<sup>94</sup>

### **1.4. Epitelyal Mezenkimal Geçiş**

EMG, normal embriyonik gelişimde merkezi rol alan bir süreçtir.<sup>3</sup> EMG süreci, hareketsiz epitel hücrelerinin hareketli ve invaziv yetenekteki mezenkimal hücrelere dönüşümünü içermektedir. Epitel hücrelerindeki bu dönüşüm sadece embriyonik

gelişim sürecinde değil, kanser progresyonunda, fibrozis ve kronik inflamasyonda da izlenmektedir.<sup>96-99</sup>

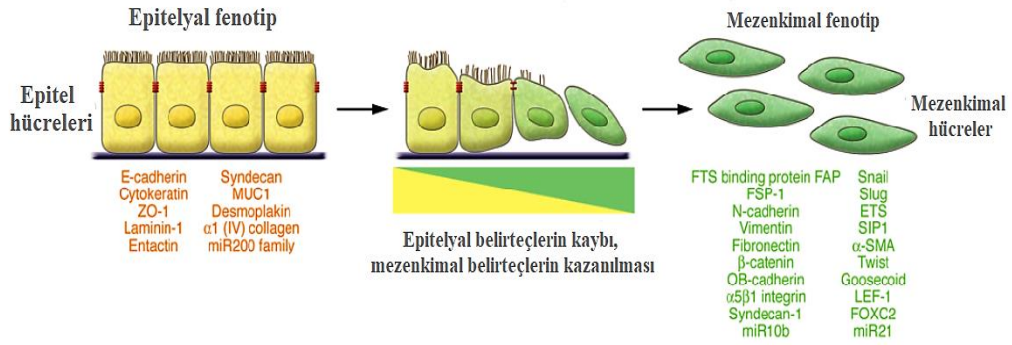
EMG ilişkili hücrel fenotipik değişiklikler ilk olarak 1967 yılında Trelstad ve ark.<sup>100</sup> tarafından embriyonik gelişim sürecinde tespit edilmiştir. 1980'li yıllardaki çalışmalarda ise civciv embriyosunda lens epitel hücrelerinde mezenkimal dönüşüm tanımlanmıştır.<sup>101</sup>Başlangıçta "epitelin mezenkimal transformasyonu" olarak tanımlanan bu farklılaşma süreci, geçici doğasını vurgulamak için yaygın olarak epitelyal mezenkimal geçiş olarak tanımlanmaya başlanmıştır.

Memelilerde epitelyal ve mezenkimal hücreler olmak üzere iki ana hücre tipi vardır. Epitelyal hücrelerin özellikleri şunlardır: i) hücreleri bir arada tutan,sağlam bir tabaka oluşturmalarını sağlayan hücreler arası bağlantılar içermeleri, ii) hücrelerin apikal, lateral ve bazal olmak üzere etkileşime açık üçmembran alanına sahip olmaları, iii) apikal ve lateral alanlar arasında sıkı bağlantıların varlığı, iv) çeşitli organellerin ve hücre iskelet bileşenlerinin apikobazal bölgelerde yoğunlaşmaları ve v) epitel hücrelerinin kendi çevrelerine göre hareketliliğinin olmaması.<sup>102</sup>

Mezenkimal hücrelerin özellikleri ise şöyle belirtilebilir: i)hücreleri bir arada tutan bir tabaka veya hücreler arası bağlantılar içermemeleri, ii) belirgin apikal veya lateral membranlara sahip olmamaları, iii) organellerin ve hücre iskeleti bileşenlerinin apikobazal bölgelerde yoğunlaşmaması ve iv) invaziv özelliklere sahip olabilen hareketli özellikteolmaları.<sup>102</sup>

EMG tam olarak, hücrelerin bu epitelyal özellikleri kaybedip mezenkimal hücre özelliklerini kazanması olarak tanımlanmaktadır. Mezenkimal epitelyal geçiş (MEG) iseEMG'nin tam tersi bir süreç olup mezenkimal hücrelerin epitelyal hücrelere dönüşümü olarak açıklanabilir. Ayrıca,içinde buldukları dokuya ve hücre mikroçevresi sinyal içeriklerine göre epitelyal hücreler bazı özelliklerini kaybedip hem epitelyal hem de mezenkimal özellikler içerir hale gelebilir. Bu duruma da parsiyel EMG olarak tanım getirilmiştir. EMG sırasında epitel hücrelerindeki ilk değişiklik, hücreler arası bağlantıların ile apikal-bazal polaritenin kaybıdır. Hücrelerarası bu bağlantıların temel bileşenleri komşu hücreleri birbirine bağlayan bir transmembran molekülü olan E-kaderin ile bu kaderinleri aktin iskeletinebağlayan proteinkompleksinin bir parçası olan  $\beta$ -katenin'dir.E-kaderin ve

$\beta$ -katenin'in düzgün bir şekilde düzenlenmesi, epitel fenotipinin kontrolü için çok önemlidir. Çünkü bu moleküller hücre içi yapışmayı korumakla kalmaz, aynı zamanda hücreler arası organizasyonu koordine eder, bilgiyi mikroçevreden hücrelere iletir ve epitel hücrelerinin fenotipik geçişlerini kontrol eder. Buna karşılık, mezenkimal hücreler kollajen ağlar boyunca üç boyutlu hareket yeteneğine sahip hücreler olup ekstrasellüler matriks ile ilişkileri bu hareket yeteneğine yardımcı olmaktadır. EMG'nin mezenkimal hücrelere özgün belirteçleri ise vimentin ve N-kaderin'dir. EMG sürecinde epitel belirteçler olan E-kaderin'de azalmış ekspresyon,  $\beta$ -katenin'in membranöz ekspresyonunda azalmaya ve bunun yanı sıra vimentin ve N-kaderin gibi mezenkimal belirteçlerin artmış ekspresyonu beklenmektedir (1. Çizim).



## 1. Çizim.EMG ve belirteçlerinin şematik gösterimi<sup>103</sup>

### 1.4.1. EMG'nin Sınıflandırılması

Mekanizmalarına ve işlevsel ayrımlarına bağlı olarak EMG 3 farklı sınıfta değerlendirilir. Tip 1 EMG olarak adlandırılan grup, embriyonik dönem ve organogenez ile ilişkili olup, tip 2 EMG fibrozis ve yara iyileşmesi süreçlerinde, ve son olarak tip 3 EMG de kanser progresyonu ve metastaz ile ilişkili süreçlerde görülmektedir.<sup>103</sup>

Tip 1 EMG, embriyonik gelişim sürecinin yanısıra doğum sonrası büyüme sürecinde de işlev görmektedir. Ayrıca epitel dengenin sürdürülmesinde de rol oynamaktadır. EMG süreci boyunca hücre fenotipi değişikliği dolayısıyla, hücreler

birbirlerinden ayrılarak, hareketlilik yeteneği kazanıp stromaya doğru invazyona başlarlar. EMG yoluyla epitel hücrelerden oluşan primer mezenkimal hücreler, akabinde EMG'nin tersi olan MEG'ile sekonder epitel hücrelerine dönüşebilmektedir. Bu mekanizma embriyonik gelişim ve sonrasında sıklıkla kullanılmaktadır.

Tip 1 EMG'nin aksine, tip 2 EMG inflamasyon ile ilişkili olup ve inflamasyon ortadan kalkar kalkmaz kaybolur. Fibrozise benzer biçimde, onkogenik süreç hücrede dengeyi bozabilir ve tip 3 EMG olarak adlandırılan onkogenik EMG'yi indükleyebilir. Onkogenik EMG, metastatik sürecinen önemli adımı olup tümör hücrelerine mezenkimal hücreler için karakteristik olan invaziv ve hareketliliğe sahip fenotipi kazanması için imkan sağlamaktadır.

#### **1.4.2. EMG ve E-kaderin, N-kaderin**

E-kaderin, hücreler arası bir adezyon molekülü olup, embriyonik ve erişkin dokulardaki epitelyal hücrelerin çoğunda bulunan bir kalsiyum bağımlı transmembran glikoproteindir. Normal embriyonik gelişim ve hemostaz için gereklidir ve bu nedenle işlevinin anlaşılması son derece önemlidir. E-kaderin'in, iki ana nedenden ötürü bir tümör baskılayıcı olarak hareket ettiği düşünülür: çeşitli kanserlerde E-kaderin geninin transkripsiyonunun olmaması ve in vitro deneylerde karsinomlarda doğal bir E-kaderin formunun tekarekspresyonunun sağlanması ile tümör hücrelerinin agresifliğinin azaldığının gösterilmesidir.<sup>104</sup> Yapılan çalışmalar hem EMG hem de MEG'nin E-kaderin bağımlı olduğunu göstermektedir. Preklinik modellerdeki çalışmalar E-kadherin kaybının direkt olarak bir EMG fenotipini teşvik ettiğini ve gen ekspresyonunu yeniden programladığını göstermiştir.<sup>105</sup>

Aynı zamanda EMG sırasında Notch1, Snail, Slug, TWIST gibi nükleer transkripsiyon faktörleri ve ZEB ailesi genleri tarafından E-kaderin ekspresyonu baskılanarak mezenkimal geçiş destek verilir. Bunların yanısıra ekstrasellüler matriks bileşenlerinden olan matriks metalloproteinazlar (MMP) ile E-kaderin ve dolayısıyla EMG arasında karşılıklı bir ilişki mevcuttur. Çalışmalar MMP'nin MG'yi indüklediği, EMG'in ise MMP'lerin ekspresyonunu arttırdığını kanıtlamaktadır.<sup>106</sup>

Mezenkimal ve inflamatuvar hücreler tarafından üretilen bir sitokin olan TGF- $\beta$ , hücre proliferasyonunu, hücre farklılaşmasını, apoptozu ve matriks üretimini düzenler ve EMG'nin birincil indükleyicisi olarak kabul edilir. Günümüzde TGF- $\beta$

sinyalizasyonunun tümör kanseri ve metastazında ikili bir rol oynadığı kabul edilmektedir. Erken dönemde TGF- $\beta$ , hücre büyümesini inhibe edip ve apoptozu teşvik ederek tümör baskılayıcı olarak etki ederken ileri evrede EMG ile birlikte invazyon ve metastazı sağlar.<sup>107</sup>

*N-kaderin*, ilk olarak kas ve sinir hücrelerinde tanımlanmış olmakla birlikte, son çalışmalarda mezenkimal hücrelerde de eksprese olabildiği gösterilmiştir. Mezenkimal hücreler arasındaki adezyonusağlayan *kaderin* ailesinin bir diğer üyesidir ve EMG sırasında artış gösterir. EMG ile E-*kaderin* ekspresyonunda azalma ve N-*kaderin*'de artma ile karakterize bu dengeli değişiklik EMG'nin kilit noktasıdır.<sup>102</sup>

### 1.4.3. EMG ve $\beta$ -katenin

$\beta$ -katenin, Wnt sinyal yolağında anahtar rol oynayan sitozolik bir proteindir. Fosforillenmeyen  $\beta$ -katenin, proteozomlarda parçalanamaz ve sitozolde birikir. Biriken  $\beta$ -kateninin bir kısmı, çekirdek zarından çekirdeğe girerek, burada bulunan transkripsiyon faktörlerini aktive eder ve Wnt sinyal yolunun hedef genlerinin transkripsiyonunu başlatır. Bu aktivasyonla, hem sinyal yolunda görev yapan proteinlerin transkripsiyonu gerçekleşir, hem de proliferasyonda, hücre siklusunda, farklılaşmada önemli rol oynayan birçok genin transkripsiyonunun kontrolü sağlanmış olur. Sitoplazmada biriken  $\beta$ -kateninin diğer bir kısmı ise hücreler arası bağlantıda önemli rol oynayan E-*kaderin*'in sitozol içindeki kısmına bağlanır. Bu E-*kaderin*/ $\beta$ -katenin kompleksi EMG'de aktif olarak rol alır.

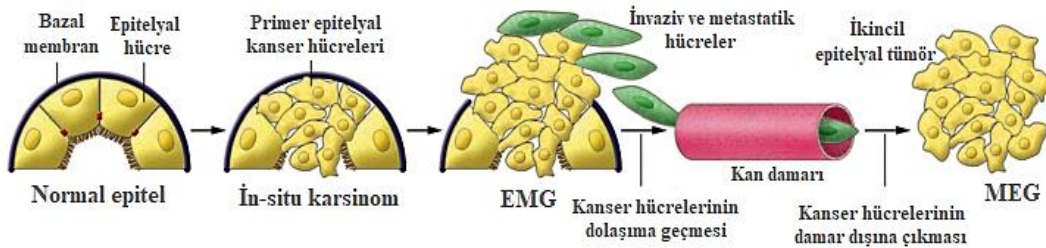
Normal fibroblastlarda ve endotel hücrelerinde,  $\beta$ -katenin boyanması sitoplazma ve/veya hücre membranları ile sınırlıdır, normal epitel hücrelerinde ise kesinlikle membranözdür. EMG sonrası oluşmuş mezenkimal hücrelerde ise  $\beta$ -katenin'in esas olarak nükleer olmakla birlikte sitoplazmik olarak da eksprese edildiği izlenmiştir.<sup>108</sup> Çekirdekteki  $\beta$ -katenin birikimi sıklıkla E-*kaderin* ekspresyonu kaybıyla ilişkili olup mezenkimal fenotipe geçiş yatkınlığı ve invaziv bir fenotipin elde edilmesi ile yakından ilişkilidir. Böylece, hücre yüzeyindeki E-*kaderin* kaybından hücreler, çeşitli büyüme faktörleri tarafından EMG'nin indüklenmesine karşı daha duyarlı hale gelirler.<sup>103</sup>

### 1.4.4. EMG ve Vimentin

Vimentin, çeşitli tip dokuların mezenkimal hücrelerinde tüm gelişim aşamaları boyunca eksprese edilen, hücre ve doku bütünlüğünü muhafaza eden bir tip III ara filamenttir. Vimentin ara filament mezenkimal hücrelerde bulunurken, keratin ara filament epitelyal hücrelerde bulunur. İşte bu ara filamentlerin ekspresyon tiplerinin değişmesi malignite gelişimi için oldukça önemlidir. Örneğin; EMG sürecinde, normalde yalnızca keratin ara filamentlerini eksprese eden epitel hücreleri, vimentin ara filamentlerini eksprese etmeye başlarlar. Filamentlerdeki bu çarpıcı değişiklik nedeniyle vimentin ekspresyonu EMG için anlamlı bir belirteç haline gelmiştir.

#### 1.4.5. EMG ve Kanser

Kanser hastalarında mortalite ve morbiditenin ana nedeni metastazlardır. Metastazdaki kilit nokta ise kanser hücrelerinin çevre dokulara invazyon yeteneği kazanmasıdır. Hücrelerin invazyon yeteneği, EMG indükleyici yollarla örtüşen onkojenik sinyal yolları ile çeşitli faktörlerin bir araya gelmesiyle kazanılmaktadır.<sup>109</sup>EMG ve invazyon arasındaki bu ilişkiyi saptamak için yapılan çalışmalar, kanser progresyonu sırasında hücre invazyonunun kritik olarak EMG özelliklerinin kazanılmasına bağlı olabileceğini ortaya koymaktadır.<sup>110,111</sup>EMG aktive olduğunda, tümör hücreleri primer tümör bölgelerinden sistemik dolaşım yoluyla distal bölgelere kolayca geçerler. Hedef bölgeye ulaştıklarında ise hücreler hızlıca çoğalır ve MEG sayesinde hücreler tekrar epitelyal belirteçleri eksprese etmeye başlarlar (2. Çizim).



#### 2.Çizim.EMG ve MEG'nin metastaz aşamasındaki rolü<sup>103</sup>

Hastaların klinik gidişatlarının değerlendirilmesinde tek başına TNM evrelemenin öngörücü doğruluğu sınırlıdır ve hastalar için prospektif olarak değerlendirilebilecek endeksler ne yazık ki kısıtlı sayıdadır. Birçok tümör çeşidi için metastaz ve invaziv karakterin kötü prognostik faktör olarak görülmesi nedeniyle araştırmalar daha çok

metastatik süreçlere doğru yoğunlaşmıştır. Araştırmalarda meme, gastrointestinal sistem ve prostat gibi birçok kanserde, hastaların klinik gidişatlarının kötü olmasının tümör hücrelerine invazivlik kazandıran EMG ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir.<sup>112-114</sup> Böylece EMG'nin, mesane kanseri dahil olmak üzere birçok epitelyal kökenli kanserin patogenezinde anahtar rol oynadığı kanıtlanmıştır.

### **1.5. İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2(cerbB2/HER-2)**

HER-2, hücre içi sinyal yollarını aktive eden bir tip I transmembran büyüme faktörü reseptörüdür. HER-2, tirozin kinaz ailesine ait 185-kDa'lık bir transmembran proteini olup geni kromozom 17q21'de bulunur.<sup>115</sup> Mesane kanserinde, HER-2 aşırı ekspresyonu ilk kez Zhau ve ark.<sup>116</sup> tarafından 1990 yılında tespit edilmiştir. Bunun üzerine yapılan çalışmalarda, klasik ÜK'lerde HER-2 amplifikasyonu ve HER-2 aşırı ekspresyonu tespit edilmiş ve aşırı ekspresyon mekanizmasının esas olarak HER-2 geninin amplifikasyonu olduğu bulunmuştur.<sup>117</sup> Yakın zamanda yapılan çalışmalar, HER-2 proteini aşırı ekspresyonu veya gen amplifikasyonunun ÜK'lerin %10-75'inde mevcut olduğu bildirilmiştir.<sup>118-120</sup>

HER-2 ekspresyonu, meme kanseri ve ileri evre gastrik kanserlerde yararlı bir prognostik ve terapötik belirteç olarak bilinir ve hedef tedaviyi oluşturmaktadır. Bu nedenle birçok kanser türünde HER-2 ile ilgili araştırmalar gündemdedir. Literatürde mesane kanserinde bu ekspresyon artışının, daha erken zamanda rekürrens, daha yüksek dereceli ve daha kötü prognoz ile orantılı olduğunu bildiren çalışmalar yanısıra herhangi bir ilişki tespit edemeyen yayınlar da mevcuttur.<sup>121,122</sup> Tschui ve ark.<sup>118</sup> ürotelyal mesane kanserinin agresif HER-2 amplifiye alt tipinin spesifik histomorfolojik özelliklere sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bu özellikler mikropapiller mimari, heterojen morfoloji ve tümörle ilişkili belirgin kronik inflamasyondur.

Ingthorsson ve ark.<sup>7</sup> tarafından meme epiteli kök hücre öncülleri üzerinde yapılmış çalışmada, HER-2 (ErbB2) geninin amplifikasyonunun meme epiteli üzerine hasar oluşturucu etkisinin olduğu ve meme kanserlerinin yaklaşık %20'sinde HER-2'nin artmış amplifikasyonun görüldüğünü bulmuşlardır. HER-2 amplifikasyonundaki bu artışın hücre hareketliliğine ve metastaza yol açtığını tespit etmişlerdir. Bu açıdan EMG ile HER-2 ilişkisini değerlendirdiklerinde, HER-2'nin, hücrelerde sitokeratin

ve E-kaderin gibi epitelyal belirteçlerde kayıplara ve mezenkimal belirteçlerde artmış ekspresyona yola açarak EMG'yi desteklediğini göstermişlerdir. HER-2'nin agresif mezenkimal fenotipin oluşmasında etkisinin olması nedeniyle, tedavinin hem HER-2 hem de mezenkimal fenotipi inhibe etmek için tasarlanması durumunda tedaviye direncin azalıp daha etkili olması kaçınılmazdır.

## 1.6. SOX4

SOX4, SOX (SRY ile ilgili HMG-box) transkripsiyon faktörü ailesinin C grubu üyesidir. Bu transkripsiyon faktörü ailesi (SOX), insanlarda yüksek oranda korunmuş olan 20 transkripsiyon faktöründen oluşmaktadır. SOX4 geni, 6p22.3 üzerinde bulunmakta ve 474 amino asitten (aa) oluşan bir proteini kodlamaktadır. Bu protein; HMG kutusu (aa 57-135), glisin açısından zengin bir bölge (aa 152-227) ve serin açısından zengin bir bölge (aa 333-397) gibi üç ayrı ana bölümden oluşmaktadır. HMG kutusu bir DNA bağlama bölgesi olarak görev yaparken, serin açısından zengin alan bir transaktivasyon alanı olarak işlev görür. HMG kutusu ile serin açısından zengin alanlar arasında bulunan glisin bakımından zengin bölgenin işlevi ise apoptotik hücre ölümünü teşvik etmektir.<sup>123</sup> SOX-4; kalp, pankreas ve sinir sisteminin organogenezisi yanısıra T ve B lenfosit farklılaşmasında da önemli işleve sahiptir.<sup>124</sup>

Gelişme sürecinin düzenlenmesinde transkripsiyonel bir faktör olarak işlev görmesinin yanı sıra, SOX4'ün tümör patogenezindeki rolü merak konusu olmuştur. SOX4'ün en iyi bilinen moleküler fonksiyonu interlökin-5 reseptörünün transkripsiyonel hedeflerinin aktivasyonuna aracılık etmektir.<sup>125</sup> Ayrıca hepatosellüler karsinomda da SOX4 aşırı ekspresyonun bir antiapoptotik etki göstererek kanser gelişimine katkıda bulunduğu bildirilmiştir.<sup>124</sup> Literatürde karaciğer, meme, beyin, akciğer, pankreas, tükrük bezi, mesane, prostat ve over kanseri gibi çeşitli kanser türlerinde artmış SOX4 ekspresyonu tespit edilmiştir.<sup>5,124,126-129</sup>

Ayrıca son yıllarda, SOX ile hücre çoğalması, hücre hareketliliği, invazyon, hücre ölümü ve EMG arasındaki ilişkiyi tespit eden çalışmaların varlığı sayesinde; tümör gelişimi ve ilerlemesinde SOX'un önemli bir işlev gördüğü kanıtlanmıştır.<sup>130</sup> Literatürde, SOX4'ün EMG indükleyici transkripsiyon faktörlerinden bazılarının mRNA sentezini arttırdığı ve aynı zamanda Snail, Twist,



RAS ve TGF- $\beta$  gibi EMG düzenleyicileri tarafından daSOX4 ekspresyonunun artışının uyarıldığı kanıtlanmıştır.<sup>131</sup>Zhang ve ark.<sup>131</sup>tarafından meme tümörü üzerinde yapılan çalışmada, SOX4'ün epitelyal fenotipi bastırıp, mezenkimal fenotipi indüklediğini ve hücrelerin hareket ve invazyon yeteneğini önemli ölçüde artırdığını tespit etmiştir. Ayrıca sıçan meme epitel hücrelerinde yapılmış bir çalışmada EMG'ninTGF- $\beta$  kaynaklı indüksiyonu için SOX4'ün gerekli olduğu gösterilmiştir.<sup>6</sup>

Kanıtların birikimi, SOX4'ün; EMG ve transkripsiyon faktörleri gibikanser progresyonunda kritik olan hücre çoğalmasını, hareketliliğini ve invazyon yeteneğini, EMG ile bağlantılı bir şekilde kontrol ettiğini ortaya koymaktadır.<sup>131</sup>

Mesane kanserinde SOX4 artışının gösterildiği ilk çalışma Aaboe ve ark.<sup>132</sup> tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada normal ürotelyum ile tümör arasındaki SOX4 ekspresyonu karşılaştırılmış olup, DNA mikrodizin yöntemi ile tümörde ürotelyuma göre artmış SOX4 düzeyi izlenmiştir. Ayrıca tümörün rekürrensi ve progresyonu ile SOX4 arasında korelasyon izlenmemişken, tümör spesifik sağkalım arasında pozitif ilişki tespit edilmiştir. Sonrasında yapılmış çalışmada ise SOX4 artmış ekspresyonu tespit edilen vakaların daha ileri evrede oldukları, lenf nodu metastazı olasılıklarının daha yüksek olduğu ve yaşam sürelerinin daha kısa olduğu görülmüştür.<sup>5</sup>

## **2. GEREÇ VE YÖNTEM**

### **2.1. Vaka Grubunun Tanımlanması**

Çalışmamız kapsamında 2000-2017 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi TıpFakültesi Patoloji Laboratuvarı'na gönderilen transüretal rezeksiyon materyalleri, hasta dosya ve patoloji rapor kayıtları üzerinden incelendi. Toplam 21 tane MİTÜK ve 19 tane de SATÜK tanısı alan olgu tespit edildi. Bu vakaların preparatları arşivden çıkarılarak 2 patolog tarafından(BE ve BG)yeniden incelendi ve 3 MİTÜK vakası ile 1 SATÜK vakası teknik nedenlerden ötürü(blokta dokunun bitmesi) çalışma dışında bırakıldı. Böylece çalışmaya 18 MİTÜK vakası ile 18 SATÜK vakası kabul edildi.

Doku mikrodizin (tissue microarray) yöntemi,formalin ile tespit edilmiş ve parafine gömülmüş dokularda; çalışmada kullanılacak lezyonlu alanlardan alınan örneklerin alıcı bir parafin bloğa aktarılması ve böylece çok sayıda dokunun tek bir blok ve

kesitte temsil edilmesi olarak tanımlanır.<sup>133</sup> Bu yöntem, çok sayıda farklı örnek üzerinde; hızlı ve ekonomik bir şekilde eş zamanlı patolojik incelemeler yapılabilmesine olanak sağlamaktadır.

Çalışmamızda kullandığımız doku mikrodizininin tasarımı aşamasında MİTÜK grubu için 18 MİTÜK örneğinin belirgin mikropapiller morfolojideki alanlarından alınan doku silindirleri yanı sıra, “iç kontrol” grubu için bu mikropapiller tümöre komşu klasik yüksek dereceli invaziv ÜK odaklarından 18 örnek ve “dış kontrol” grubu için ise aynı yaş, cinsiyet ve patolojik evrede farklı hastalardan alınan 18 adet klasik yüksek dereceli invaziv ÜK örnekleri gömüldü. SATÜK grubu için ise belirgin sarkomatoid morfolojideki alanlarından 18 SATÜK örneği, iç kontrol olarak yine her bir vaka için sarkomatoid alanlara komşu klasik yüksek dereceli invaziv ÜK odaklarından 17 örnek (1 vakanın iç kontrole uygun tümör odakları izlenmediği için) ve dış kontrol için 18 örnek alındı. Bu şekilde doku mikrodizinine dahil edilen örnek sayısı MİTÜK+iç kontrol+dış kontrol için 54; SATÜK+iç kontrol+dış kontrol için 53’tür. Toplamda 72 hastadan 107 örnek çalışmaya dahil edilmiştir.

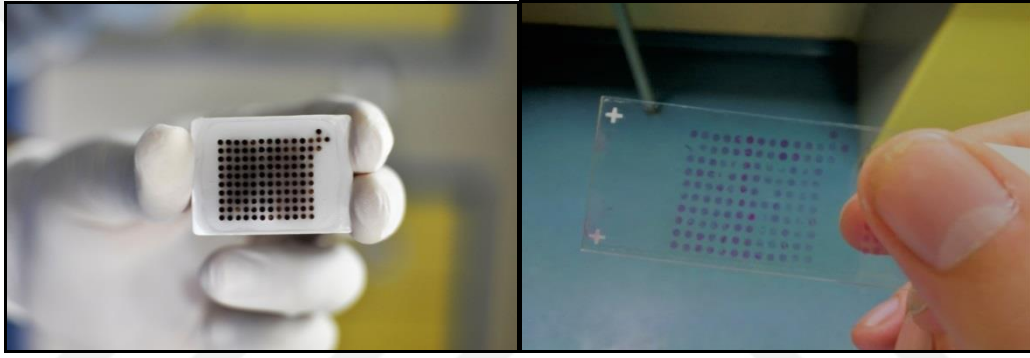
## **2.2. Doku Mikrodizin Yöntemi ile Blok Hazırlanması**

Her bir vaka (18 adet MİTÜK ve 18 adet SATÜK) için Hematoksilen ve Eosin (H&E) boyalı lamalarında tümörün genel morfolojisini (mikropapiller veya sarkomatoid) temsil eden en az 1,2 mm<sup>2</sup>’lik üç alan ile iç kontrol grubunu temsil edecek iki alan işaretlendi (3. Çizim). Dış kontrol bloklarında da 1,2 mm<sup>2</sup>’lik ikişer alan işaretlendi. Parafin blokta 3 mm’lik aralıklarla 1,2 mm<sup>2</sup>’lik 154 boşluk açıldı ve işaretlenmiş olan bu alanların bloklarından 1,2 mm<sup>2</sup>’lik dokular 14x11 matriksine göre, mikrodizin bloklarındaki boşluklara doku arrayer kullanılarak yerleştirildi (4. Çizim). Her bir mikrodizin bloğuna bu yöntemle 18 vaka (3’er kor) ile iç kontrol (2’şer kor) ve dış kontrol (2’şer kor) grupları yerleştirildi. MİTÜK için 1 blok SATÜK için 1 blok hazırlandı (5. Çizim). Sonrasında H&E ve immünohistokimyasal çalışmalar için kesitler alındı (6. Çizim).



**3. Çizim.** Örnek alınacak alanın lam üzerinde belirlenmesinden sonra parafin bloktan örnek alınacak yerin işaretlenmesi.

**4. Çizim.** Parafin blokta işaretlenmiş alandan örneğin alınıp mikrodizin bloğuna gömülmesi



**5. Çizim.** Doku mikrodizin bloğuna dokuların gömülmüş hali

**6. Çizim.** Mikrodizin bloğundan kesilerek hazırlanmış Hematoksilen ve Eosin boyalı lam

### 2.3. İmmünohistokimyasal Boyama

İmmünohistokimya çalışmaları için tüm doku, mikrodizin bloklarından Poly-L-Lysine ile kaplı lamlara 4 mikron kalınlığında seri kesitler hazırlandı. Kesitler ksilen ile deparafinize edildikten sonra, dereceleri azalarak ilerleyen bir şekilde etanol çözeltileri ile muamele edilerek rehidrate edildi. “Antijen retrieval” işlemi, kesitler sodyum sitrat tampon çözeltisinde (pH=6) 100°C’de 4 dakika bekletilerek yapıldı. Endojen peroksidaz aktivitesi, kesitlerin %3 derişimde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisinde 15 dakika bekletilmesi ile önleildi. Daha sonra kesitler anti-E-kaderin(E-kaderin, klon: EP700Y, 1/100, Biocare Medical, Concord, CA, USA), anti-vimentin(Vimentin, klon:V9, 1/800, Lieca Biosystems, Newcastle, UK) ve anti-HER-2(c-erbB2/HER-2/neu, klon:Ab-17, 1/200, Lieca Biosystems, Newcastle, UK) antikorları ile 1,5 saat, anti-N-kaderin(N-kaderin, klon:IAR06, 1/50, Lieca Biosystems, Newcastle, UK),

anti- $\beta$ -katenin( $\beta$ -katenin, klon:14, 1/50, Biocare Medical, Concord, CA, USA), anti-SOX4 (SOX4, klon:ab80261, 1/50, Abcam, Cambridge, UK) ile 20 saat inkübasyona bırakıldı (7.Çizelge). İnkübasyon sonrası streptavidin-biotin kompleksi ile konjuge ikincil antikor (UltraVision Detection SystemLarge Volume anti-Polyvalent, HRP, LabVision, Fremont, CA, USA) ve kromojen (AEC Substrate System, LabVision, CA, USA) kullanılarak birincil antikor görünür hale getirildi.

#### 7.Çizelge. Çalışmamızda kullanılan antikorların özellikleri

Antikor	Üretici firma	Antikor türü	Klon	Dilüsyon	Pozitif kontrol
E-kaderin	Biocare Medical	Fare monoklonal	EP700Y	1/100	Meme duktal karsinom
$\beta$ -katenin	Biocare Medical	Fare monoklonal	14	1/50	Kolon mukozası
N-kaderin	Leica	Fare monoklonal	IAR06	1/50	Böbreküstü bezi korteksi
Vimentin	Leica	Fare monoklonal	V9	1/800	Mesane stromal doku
HER-2	Leica	Fare monoklonal	Ab-17	1/200	Skor 3+ meme tümörü
SOX4	Abcam	Tavşan poliklonal	ab80261	1/50	Testis dokusu

#### 2.4. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

İmmünohistokimyasal çalışma yapılan preparatlar 2 patolog (BE ve BG) tarafından beraber değerlendirildi. E-kaderin için meme duktal karsinom dokusu, N-kaderin için böbreküstü bezi korteks dokusu,  $\beta$ -katenin için kolon mukoza dokusu, vimentin için mesane stromal doku, HER-2 için skor 3+ meme tümörü dokusu ve SOX4 için testis dokusu pozitif kontrol olarak seçilip boyandı.

E-kaderin için immünreaktivite; boyanma yaygınlığı ve şiddeti göz önünde bulundurularak yarı-nicel olarak puanlandı. Tümör hücrelerinde boyanma yaygınlığı için; boyanma olmayanlara 0, %1-10'unda boyanma olanlara 1, %11-50'sinde boyanma olanlara 2, >%50 boyanma olanlara 3 puan verildi. Boyanma şiddetinin değerlendirilmesinde ise; boyanma olmayanlara 0, zayıf boyanma olanlara 1, orta

şiddette boyanma olanlara 2, kuvvetli boyanma olanlara 3 puan verildi. Her olgu için 0 ile 6 arasında bir nihai puan belirlendi (8. Çizelge). Paliwal ve ark.<sup>134</sup> yapmış olduğu çalışma baz alınarak >4 puan, kuvvetli E-kaderin ekspresyonu lehine; ≤4 puan ise azalmış ekspresyon olarak değerlendirildi.

#### 8. Çizelge.E-kaderin immunreaktivitesinin puanlaması

Boyanma şiddeti	Puan	Yaygınlık	Puan
Boyanma yok	0	Boyanma yok	0
Zayıf boyanma	1	% 1-10	1
Orta şiddette boyanma	2	% 11-50	2
Kuvvetli boyanma	3	>%50	3

β-katenin için immünreaktivite değerlendirilirken ön planda boyanma paterni dikkate alındı. Membranöz boyanma yerine sitoplazmik ve/veya çekirdek boyanması pozitif kabul edildi.

N-kaderini için Stoyianni ve ark.<sup>135</sup> yaptıkları çalışma baz alınarak tümör hücrelerinin >%40 membranöz ekspresyonun olması pozitif olarak kabul edildi. Nükleer boyanma ise nonspesifikolarak değerlendirilip negatif ekspresyon olarak değerlendirildi.

Vimentin için N-kaderine benzer şekilde tümör hücrelerinin >%40 ancak sitoplazmik ekspresyon pozitif olarak değerlendirildi. Kabul edilen bu >%40 oranı Stoyianni ve ark.<sup>135</sup> çalışması dikkate alınarak belirlenmiştir.

HER-2 için değerlendirme ise meme tümöründe kullanılan standart kriterlere göre yapıldı. HER-2 immünreaktivitesi aşağıdaki puanlama sistemi kullanılarak değerlendirildi:

0 : Membranöz boyanma yok veya <% 10 hücrede membranöz boyanma var.

1+: >% 10 hücrede parsiyel membranöz boyanma var.

2+: >%10 hücrede zayıf, tam halka şeklinde membranöz boyanma, veya <%30 hücrede kuvvetli membranöz boyanma var.

3+: >%30 hücrede kuvvetli membranöz boyanma var.

SOX4 immünreaktivitesinin değerlendirilmesinde ise Wang ve ark.<sup>136</sup> tarafından kolorektal tümörlerdeki SOX4 ekspresyonu değerlendirme kriterleri kullanıldı. Tümör hücrelerindeki boyanma yaygınlığı şu şekilde puanlandı: boyanma

olmayanlara 0, hücrelerin %1-25'inde boyanma varsa 1, %26-50'sinde boyanma varsa 2, %51-75'inde boyanma varsa 3 ve >%75 boyanma görüldüyse 4 puan verildi. Boyanma şiddetinin değerlendirilmesinde boyanma olmayanlara 0, zayıf boyanma olanlara 1, orta şiddette boyanma olanlara 2, kuvvetli boyanma olanlara 3 puan verildi. Her olgu için 0 ile 7 arasında bir nihai puan belirlendi (9.Çizelge). Wang ve ark. yapmış olduğu çalışma baz alınarak  $\geq 4$  puan, kuvvetli SOX4 ekspresyonu lehine;  $< 4$  puan ise düşük ekspresyon olarak kabul edildi.

### 9. Çizelge.SOX4 immunreaktivitesinin puanlaması

Boyanma şiddeti	Puan	Yaygınlık	Puan
Boyanma yok	0	Boyanma yok	0
Zayıf boyanma	1	% 1-25	1
Orta şiddette boyanma	2	% 26-50	2
Kuvvetli boyanma	3	% 51-75	3
		>% 75	4

### 2.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme, IBM SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı ile yapıldı. Normal dağılıma uygunluk testi Kolmogorov-Smirnov Testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren nümerik değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma, normal dağılım göstermeyen nümerik değişkenler medyan (25.-75. persantil), kategorik değişkenler ise frekans (yüzdeler) olarak verildi. Gruplar arasındaki farklılık normal dağılıma sahip olmayan nümerik değişkenler için Mann Whitney U Testi, Kruskal Wallis Tek Yönlü Varyans Analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testi ile belirlendi. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler ise Fisher Exact Ki-kare, Yates Kikare ve Monte Carlo Kikare analizi ile değerlendirildi. İki yönlü hipotezlerin testi için  $p < 0.05$  istatistiksel önemlilik için yeterli kabul edildi.

### 3. BULGULAR

18 adet MİTÜK, 18 adet SATÜK vakası ile bu 2 gruptaki her bir vakanın iç kontrol örnekleri ve aynı yaş, cinsiyet ve patolojik evrede dış kontrol vakaları çalışmaya dahil edildi. Kullandığımız toplam örnek sayısı 107 idi.

Çalışmamızdaki 18 MİTÜK vakasının 15'i (%83,3) erkek olup 3'ü (%16,7) kadın idi. 18 SATÜK vakasının ise 13'ü (%72,2) erkek, 5'i (%27,8) kadın idi. Her 2 grup tümörde de sayıca erkek baskınlığı izlenmektedir. Sarkomatoid ile mikropapiller tip ÜK alt tipleri ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ( $p=0,69$ ).

MİTÜK vakalarında ortalama yaş 69,5 olup 25.-75. persentil değerleri sırasıyla 58,75 ve 75'di. En düşük görülme yaşı 39, en yüksek ise 89'dur. SATÜK olgularında da ortalama yaş 69,5 ve persentil değerleri sırasıyla 66,75 ve 85,25'di. En düşük görülme yaşı 43 olup en yüksek 91'di.

11 MİTÜK vakasının (%61,1) patolojik evresi 1 (kasa invaziv olmayan) olup, 7 vakanın (%38,9) evresi 2 (kasa invaziv)'dir. SATÜK vakalarında evre 1 tümörü olan 10 vaka (%55,6), evre 2 tümörü olan ise 8 vaka (%44,4) vardır. Tümörün patolojik evresi ile alt tip arasında anlamlı fark izlenmedi ( $p=1$ ) (10.Çizelge). Evre 1 olan 11 MİTÜK vakasının 7'sinin TUR materyalinde muskularis propria olmadığı için evre 1 olarak tanı aldığı izlendi. Aynı şekilde evre 1 olarak kabul edilen 10 SATÜK vakasının hiçbirinin TUR materyalinde muskularis propria örneklenmediği için evre 1 olarak kabul edildiği tespit edildi. Bu vakalarda TUR sonrası sistektomi operasyonu yapıp yapılmadığı arşiv kayıtlarından incelendiğinde; 18 MİTÜK vakasından sadece 5 tanesinde sistektomi yapılmış olduğu ve 5 vakanın da TUR materyalindeki evrelerden yüksek evrelere sahip olduğu izlendi. SATÜK vakalarının 5 tanesinde sistektomi uygulanmış olup sadece 1 vakada biyopsiye göre yüksek evre tespit edildi.

## 10.Çizelge. MİTÜK VE SATÜK Vakalarının Klinikopatolojik Özellikleri

	MİTÜK(n=18)	SATÜK(n=18)	P değeri
Yaş			
Ortalama değer	69,5	69,5	-
25-75. persantil	58,75-75,00	66,75-85,25	
Cinsiyet			
Kadın	3 (%16,7)	5(%27,8)	0,69
Erkek	15(%83,3)	13(%72,2)	
Evre			
Kas invazyonu olmayan (pT≤1)	11(%61,1)	10(%55,6)	1
Kas invazyonu olan (pT>1)	7(%38,9)	8(%44,4)	

MİTÜK: Mikropapiller tip ürotelyal karsinom; SATÜK: Sarkomatoid tip ürotelyal karsinom

### 3.1. E-kaderin Ekspresyonu

MİTÜK'lerde 18 vakanın 6'sında (%33,3) E-kaderin ile azalmış ekspresyon izlenirken 12 vakada (%66,7) kuvvetli ekspresyon (7. Çizim) izlendi. MİTÜK iç kontrol grubunda ise 2 vakada (%11,1) azalmış ekspresyon izlenirken 16 vakada (%88,9) kuvvetli ekspresyon görüldü. Dış kontrol grubunda E-kaderin ekspresyonunda azalma 3 vakada (%16,6) izlenirken 15 vakada (%83,4) kuvvetli ekspresyon görüldü. MİTÜK ile iç kontrol (p=0,2), MİTÜK ile dış kontrol grubu (p=0,4) ve iç ve dış kontrol grubu arasında ise anlamlı fark izlenmedi (p=1).

SATÜK'lerde E-kaderin ile 18 vakasının hiç birinde boyanma izlenmedi (7. Çizim). İç kontrol grubunda ise 8 vakada (%47,1) azalmış ekspresyon izlenirken 9 vakada (%52,9) kuvvetli ekspresyon görüldü. Dış kontrol grubunda ise 2 vakada (%11,1) azalmış ekspresyon izlenirken 16 vakada (%88,9) kuvvetli ekspresyon görüldü. SATÜK ile iç kontrol vakaları arasında ileri düzeyde önemli fark bulundu (p<0,001). SATÜK ile dış kontrol grubu arasında ise E-kaderin ekspresyonu açısından ileri düzeyde önemli fark bulundu (p<0,001). Ayrıca iç kontrol grubunda dış kontrol grubuna göre E-kaderin ekspresyonunun azalması açısından anlamlılık tespit edildi (p=0,02).



MİTÜK ile SATÜK vakaları arasında ise E-kaderin ekspresyonu açısından istatistiksel olarak ileri düzeyde önemli fark bulundu ( $p<0,001$ ). Her 2 tümörün iç kontrol grupları arasında da anlamlı fark izlenirken ( $p=0,027$ ), dış kontrol grupları arasında herhangi bir anlamlılık tespit edilmedi ( $p=1$ ) (11.Çizelge).

### 3.2.β-katenin Ekspresyonu

MİTÜK vakalarındaβ-katenin ile 15 vakada (%83,3) membranözboyanma izlenirken, 3 vakada (%16,7) nükleer ve sitoplazmik boyanma mevcut idi (7. Çizim). İç kontrol grubundaki vakaların hepsinde membranöz boyanma izlenmiş olup hiçbir vakada nükleer veya sitoplazmik ekspresyon görülmedi. Dış kontrol grubunda ise 17 vakada (%94,4) membranöz boyanma izlenirken, nükleer veya sitoplazmik ekspresyon tespit edilmemiştir.Dış kontrol grubundan 1 vakada (%5,6) β-katenin'insitoplazmik ekspresyonu görüldü.MİTÜK ile iç kontrol grubu ( $p=0,2$ ) ve MİTÜK ile dış kontrol grubu arasında β-katenin ekspresyonu açısından anlamlılık görülmedi ( $p=0,6$ ). İç ve dış kontrol grupları arasında da anlamlılık yoktu ( $p=1$ ).

SATÜK grubunda β-katenin ile 10 vakada (%55,6)sitoplazmik/nükleer boyanma mevcut iken 8 vakada (%44,4) hiç boyanma görülmedi (7. Çizim). İç kontrol grubundaki vakaların hiç birinde boyanma izlenmedi. Dış kontrol grubunda ise 17 vakada (%94,4) boyanma izlenmedi ancak 1 vakada (%5,6) anlamlı nükleer boyanma görüldü. SATÜK ile iç kontrol ve SATÜK ile dış kontrol grupları arasında β-katenin ekspresyonu açısından ileri düzeyde önemli fark bulundu ( $p<0,001$ ). İç ve dış kontrol grupları açısından anlamlılık yoktu ( $p=1$ ).

MİTÜK ve SATÜK arasında β-katenin ekspresyonu açısından anlamlı fark izlendi ( $p=0,03$ ). Her 2 tümörün iç kontrol gruplarında boyanma görülmediği için değerlendirilmedi. Dış kontrol grupları arasında ise anlamlı fark izlenmedi ( $p=1$ ) (11.Çizelge).

### 11.Çizelge.Çalışma vakalarındaki epitelyal EMG belirteçlerinin ekspresyonları

	<u>E-kaderin</u>		P değeri	<u>β-katenin</u>		P değeri
	Az.eks. n %	Kuv.eks. n %		Pozitif n %	Negatif n %	
MİTÜK(n=18)	6(33,3)	12(66,7)	<0,001	3(16,7)	15(83,3)	0,03
SATÜK(n=18)	18(100)	0		10(55,6)	8(44,4)	
MİTÜK iç kontrol (n=18)	2(11,1)	16(88,9)	0,027	0	18(100)	-
SATÜK iç kontrol(n=17)	8(47,1)	9(52,9)		0	17(100)	
MİTÜK dış kontrol (n=18)	3(16,6)	15(83,4)	1	1(5,6)	17(94,4)	1
SATÜK dış kontrol (n=18)	2(11,1)	16(88,9)		1(5,6)	17(94,4)	

MİTÜK: Mikropapiller tip ürotelyal karsinom; SATÜK: Sarkomatoid tip ürotelyal karsinom, Az.eks.: Azalmış ekspresyon; Kuv. eks: Kuvvetli ekspresyon

### 3.3.N-kaderin Ekspresyonu

Çalışmamızdaki vaka örneklerimizin tamamı yüksek dereceli invaziv ÜK'lerden ibaret olup N-kaderin ekspresyonu bu vakalarda değerlendirilmiştir.MİTÜK, SATÜK ile bunlara komşuklasik yüksek dereceli invaziv ÜK'lerden oluşan iç kontrol grubu ile farklı hastalardan alınmış klasik yüksek dereceli invaziv ÜK'lerden oluşandıış kontrol grubundaki hiçbir vakada boyanma izlenmedi (7. Çizim). Sadece 6 vakada çekirdek boyanması görüldü ve anlamsız olarak kabul edildi (12.Çizelge).

### 3.4.Vimentin Ekspresyonu

Vimentin ile de MİTÜK, iç ve dış kontrol gurubundaki hiçbir vakada boyanma izlenmedi (7. Çizim). Ancak 18 SATÜK vakasının hepsinde (%100) boyanma görüldü (7. Çizim). SATÜK iç kontrol grubundaki 17 vakanın 1 tanesinde (% 5,9) boyanma izlenirken 16 vakada (%94,1) boyanma görülmedi. Dış kontrol grubundaki 18 vakanın ise 1 tanesinde (% 5,6) boyanma izlenirken 17 vakada (%94,4) boyanma izlenmedi.SATÜK ile iç kontrol ve SATÜK ile dış kontrol gruplarının karşılaştırılmasında ileri düzeyde önemli fark vardı ( $p<0,001$ ). Fakat iç ve dış kontrol grupları arasında fark görülmedi ( $p=1$ ).

Vimentin ekspresyonu açısından MİTÜK ve SATÜK arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde önemli fark bulundu ( $p<0,001$ ). Her 2 tümör grubuna ait iç kontrol vakalarında ( $p=0,48$ ) ve dış kontrol vakalarında ( $p=1$ ) fark izlenmedi (12.Çizelge).

### 12.Çizelge.Çalışma vakalarındaki mezenkimal EMG belirteçlerinin ekspresyonları

	<u>Vimentin</u>		P değeri	<u>N-kaderin</u>		
	Pozitif	Negatif		Pozitif	Negatif	
	n	%	n	%	n	%
MİTÜK(n=18)	0		18(100)		0	18(100)
SATÜK(n=18)	18(100)		0		0	18(100)
MİTÜK iç kontrol (n=18)	0		18(100)		0	18(100)
SATÜK iç kontrol (n=17)	1(5,9)		16(94,1)	0,48	0	17(100)
MİTÜK dış kontrol (n=18)	0		18(100)		0	18(100)
SATÜK dış kontrol (n=18)	1(5,6)		17(94,4)	1	0	18(100)

MİTÜK: Mikropapiller tip ürotelyal karsinom; SATÜK: Sarkomatoid tip ürotelyal karsinom, Az.eks.: Azalmış ekspresyon; Kuv. eks: Kuvvetli ekspresyon

### 3.5. HER-2 Ekspresyonu

MİTÜK vakalarında, HER-2 ekspresyonu 10 vakada (%55,5) skor 0 olarak izlenmiş olup 2 vakada (%11,1) skor 1+, 1 vakada (%5,6) skor 2+ , 5 vakada (%27,8) ise skor 3+ idi (7. Çizim). MİTÜK vakalarının iç kontrol grubunda ise 9 vakada (%50) skor 0, 2 vakada (%11,1) skor 1+, 1 vakada (%5,6) skor 2+, 6 vakada (%33,3) ise skor 3+ boyanma izlendi Dış kontrol grubunda, 11 vakada (%61,1) skor 0 iken, 2 vakada (%11,1) skor 1+, 1 vakada (%5,6) skor 2+, 4 vakada (%22,2) ise skor 3+ idi. MİTÜK ile iç kontrol ve MİTÜK ile dış kontrol grubu arasında fark yoktu ( $p=1$ ). İç ve dış kontrol grupları arasında da anlamlı fark görülmedi ( $p=0,94$ ).

SATÜK olgularındaki HER-2 ekspresyonu değerlendirildiğinde ise hiçbir vakada boyanma görülmedi (7. Çizim), 18 vakada ekspresyon (%100) skor 0 olarak izlendi. SATÜK vakalarının iç kontrol grubunda ise 15 vakada (%88,2) skor 0, 1 vakada (%5,9) skor 2+ , 1 vakada (%5,9) ise skor 3+ idi. Dış kontrol grubunda, 8 vakada (%44,4) skor 0 iken, 2 vakada (%11,2) skor 2+ boyanma, 8 vakada (%44,4) ise skor 3+ idi. SATÜK ile iç kontrol grubu arasında fark bulunmadı ( $p=0,22$ ). SATÜK ile

dış kontrol grubu arasında ise önemli fark izlendi ( $p=0,01$ ). İç ve dış kontrol grupları arasında da fark görüldü ( $p=0,01$ ).

MİTÜK'lerdeki HER-2 ekspresyonunun SATÜK'lere oranla daha fazla vakada görülmesi nedeniyle bu 2 grup arasında istatistiksel olarak önemli fark bulundu ( $p=0,003$ ). MİTÜK ve SATÜK vakalarının iç kontrol grupları arasında da anlamlı fark izlendi ( $p=0,04$ ). Ancak dış kontrol grupları arasında istatistiksel anlamlılık görülmedi ( $p=0,2$ )(13.Çizelge).

### 13.Çizelge.Çalışma vakalarındaki HER-2 ekspresyonu

	HER-2 Skor						P değeri	
	0		1		2			3
	n	%	n	%	n	%	n	%
MİTÜK(n=18)	10(55,5)		2(11,1)	1(5,6)	5(27,8)			
SATÜK(n=18)	18(100)	0	0	0	0			0,003
MİTÜK iç kontrol (n=18)	9(50)		2(11,1)		1(5,6)		6(33,3)	
SATÜK iç kontrol (n=17)	15(88,2)		0		1(5,9)		1(5,9)	0,04
MİTÜK dış kontrol (n=18)	11(61,1)		2(11,1)	1(5,6)	4(22,2)			
SATÜK dış kontrol (n=18)	8(44,4)	0	2(11,2)		8(44,4)			0,2

MİTÜK: Mikropapiller tip ürotelyal karsinom; SATÜK: Sarkomatoid tip ürotelyal karsinom, Az.eks.: Azalmış ekspresyon; Kuv. eks.: Kuvvetli ekspresyon

### 3.6. SOX4 Ekspresyonu

MİTÜK vakalarından 13 tanesinde (%72,2) SOX4 ekspresyonu izlenmezken, 5 vakada (%27,8) düşük ekspresyon görüldü (7. Çizim). MİTÜK vakalarının hiçbirinde kuvvetli SOX4 ekspresyonu yoktu. İç kontrol grubunda 4 vakada (%22,2) güçlü, 2 vakada (%11,1) düşük ekspresyon izlenmiş olup 12 vakada (%66,7) ekspresyon görülmedi.Dış kontrol grubunda ise sadece 3 vakada (%16,7) kuvvetli ekspresyon izlenmiş olup diğer 15 vakada (%83,3) ekspresyon görülmedi.MİTÜK ile iç kontrol ( $p=0,06$ ) ve iç ve dış kontrol grubu arasında ( $p=0,376$ ) anlamlı fark bulunmadı. Ancak MİTÜK grubunda izlenen ekspresyon dış kontrol grubuna kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı olarak düşük tespit edildi ( $p=0,012$ ).

SATÜK'lerde, 7 vakada (%38,9) SOX4 ile kuvvetli ekspresyon, 7 vakada (%38,9) düşük ekspresyon izlenmiş olup 4 vakada (%22,2) immünreaktivite görülmedi (7. Çizim). İç kontrol grubundaki vakaların 3'ünde (%17,6) kuvvetli ekspresyon, 7'sinde (%41,2) düşük ekspresyon izlendi. 7 iç kontrol vakasında (%41,2) SOX4 negatifti. Dış kontrol grubunda 7 vakada (%38,9) güçlü ekspresyon, 3 vakada (%16,7) düşük ekspresyon izlenmiş olup 8 vakada (%44,4) boyanma görülmedi. İstatistiksel değerlendirme sonuçlarına göre SATÜK ile iç kontrol grubu arasında (p=0,334), SATÜK ile dış kontrol grubu arasında (p=0,217) veya iç ve dış kontrol grupları arasında da anlamlı fark bulunmadı (p=0,246).

#### 14. Çizelge. Çalışma vakalarındaki SOX4 ekspresyonu

	SOX4						P değeri
	Negatif		Düşük eks.		Kuvvetli eks.		
	n	%	n	%	n	%	
MİTÜK(n=18)	13 (72,2)		5 (27,8)	0			0,002
SATÜK(n=18)	4 (22,2)		7 (38,9)		7 (38,9)		
MİTÜK iç kontrol (n=18)	12 (66,7)		2 (11,1)		4 (22,2)		0,162
SATÜK iç kontrol (n=17)	7 (41,2)		7 (41,2)		3 (17,6)		
MİTÜK dış kontrol (n=18)	15 (83,3)		0		3 (16,7)		0,30
SATÜK dış kontrol (n=18)	8 (44,4)		3 (16,7)		7 (38,9)		

MİTÜK: Mikropapiller tip ürotelyal karsinom; SATÜK: Sarkomatoid tip ürotelyal karsinom, Az.eks.: Azalmış ekspresyon; Kuv. eks: Kuvvetli ekspresyon

#### 3.7. Evre ile EMG belirteçleri, HER-2 ve SOX4 Ekspresyon İlişkisi

Grup ayrımı yapılmaksızın tüm vakalar ele alındığında 63 vakada (%58,8) kas invazyonu yok iken 44 vakada (%41,2) kas invazyonu mevcuttur.

E-kaderin ekspresyonunda azalma kas invazyonu yapmayan vakaların 22'sinde (%34,9), kas invazyonu yapan vakaların ise 17'sinde (%38,6) görüldü. Evre ile E-kaderin ekspresyon kaybı arasında anlamlı fark izlenmedi (p=0,85).

$\beta$ -katenin ile kas invazyonu yapmayan vakaların 8'inde (%12,7), kas invazyonu yapan vakaların ise 7'sinde (%15,9) boyanma izlendi. Evre ile  $\beta$ -katenin arasında da anlamlılık görülmedi ( $p=0,851$ ).

N-kaderin ile hiçbir vakada boyanmanın elde edilemesi dolayısıyla değerlendirme yapılamadı.

Vimentin ekspresyonu ise kas invazyonu olmayan vakaların 10'unda (%15,9), kas invazyonu yapmayanların 10'unda (%22,7) izlenmiştir. Vimentin ile evre arasında da fark tespit edilmedi ( $p=0,52$ )

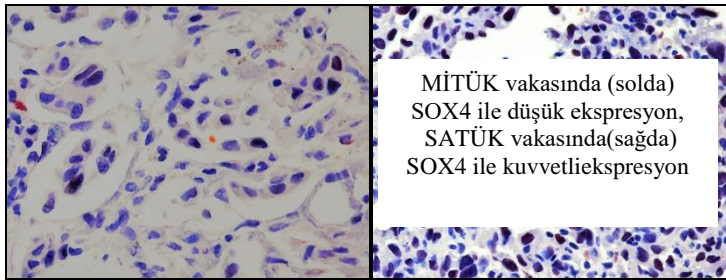
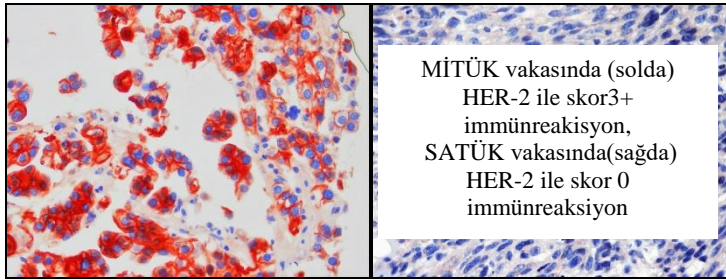
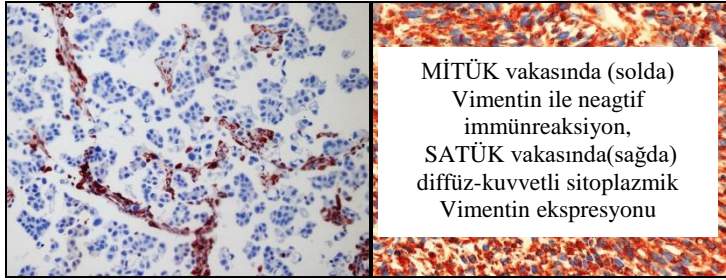
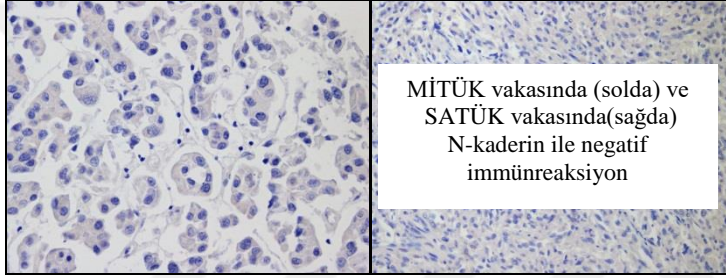
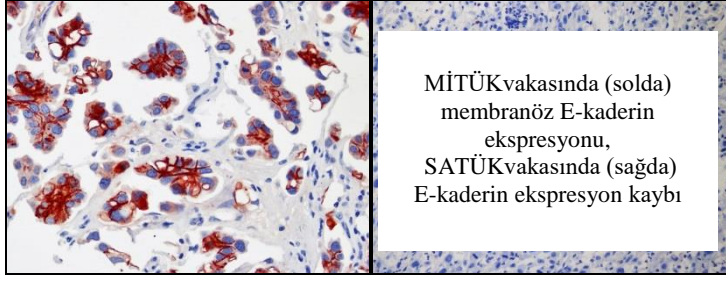
HER-2 değerlendirmesinde kasa invaziv olmayan vakaların 44'ü (%69,8) skor 0, 3'ü (%4,8) skor 1+, 2'si (%3,2) skor 2+, 14 tanesi (%22,2) ise skor 3+ idi. Kasa invaziv 44 vakanın 27'si (%61,4) skor 0, 3'ü (%6,8) skor 1+, 4'ü (%9,1) skor 2+, 10 vaka (%22,7) ise skor 3+ idi. Bu skorlar değerlendirildiğinde HER-2 ile evre karşılaştırılmasında anlamlılık tespit edilmedi ( $p=0,569$ ).

SOX4 ile kas invazyonu yapmayan vakaların 35 (%55,6) tanesinde ekspresyon görülmezken, 14 tanesinde (%22,2) kuvvetli ve 14 vakada (%22,2) düşük ekspresyon izlendi. Kas invazyonu yapan vakaların 24'ünde (%54,6) ekspresyon bulunmazken 10 vakada (%22,7) kuvvetli ve 10 vakada (%22,7) düşük ekspresyon görüldü. Evre ile SOX4 ekspresyonu arasında fark bulunmadı ( $p=0,829$ ).

### **3.8. EMG belirteçleri, HER-2 ve SOX4 Ekspresyonlarının Birbirleriyle Karşılaştırması**

Çalışmamızdaki tüm immünohistokimyasal belirteçler, gruplar bazında (MİTÜK, MİTÜK iç kontrol grubu, MİTÜK dış kontrol grubu ve SATÜK, SATÜK iç kontrol grubu, SATÜK dış kontrol grubu) ekspresyon değerleri açısından karşılaştırılmış olup herhangi bir grupta veya boyada anlamlı bir fark bulunmamıştır.

## **7. Çizim.** MİTÜK ve SATÜK'lerde EMG belirteçleri, HER-2 ve SOX4 ekspresyonları



#### 4. TARTIŞMA

Mesane kanserlerinin büyük bir kısmını ÜK'ler oluşturmakta olup, ürotelyumun ve dolayısı ile üroteliyal tümörlerin diferansiyasyon yeteneğinin yüksek olması birçok alt tipin ortaya çıkmasına yol açmıştır. Yapılan çalışmalar ÜK alt tiplerinin büyük bir kısmının klasik ÜK'ye oranla daha sık rekürrens, daha hızlı progresyon ve daha kötü prognozla ilişkili olduğunu göstermektedir.<sup>137</sup> Ancak bu agresif gidişatin bu tümörlerindiferansiyasyonundan mı yoksa tümörün zaten tanı anında yüksek dereceli ve yüksek evrede olmasından mı kaynaklandığı konusunda net bilgi yoktur. Ek olarak bazı histolojik alt tiplerin (ÜK, lenfoepitelyoma benzeri alt tip gibi) tedavisinde klasik ÜK'lere göre farklılıkların mevcut olması da ÜK'nin alt tip histolojisinin tanınmasının klinik önemini arttırmaktadır.

MİTÜK ve SATÜK gibi histolojik alt tipler tanı anında yüksek dereceli, ileri evreli ve genellikle metastatiktirler. Literatürde bu iki alt tip ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve çeşitli sonuçlar elde edilmiş olup, ortak kanı bu tümörlerin agresif seyirli olduklarıdır. Bu yüzden çalışmalar bu alt tiplerin neden daha agresif seyrettiklerini belirleme ve bunlara yönelik etkin tedavi yöntemlerini geliştirme üzerine yoğunlaşmıştır.

Literatürdeki veriler mesane tümörlerinde erkek baskınlığının görüldüğü yönünde olup, klasik ÜK'lerde olduğu gibi MİTÜK'ler ve SATÜK'ler için de aynı durum geçerlidir. Kamat ve ark.<sup>90</sup> çalışmasında 100 MİTÜK vakasının %90,6'sı erkek ve Comperat ve ark.<sup>138</sup> çalışmasında da 72 MİTÜK vakasının %86,1'i erkektir. Bizim çalışmamızda 18 MİTÜK vakasının %83,3'ü erkek, %16,7'sinin de kadın olması literatür ile örtüşen bir bulgudur. SATÜK vakalarının cinsiyet dağılımlarına baktığımızda, Sanfrancesco ve ark.<sup>139</sup> çalışmasında 28 vakanın 17'si erkek, 11'i kadındır. 14 vakalık SATÜK vakasından oluşan Ikegami ve ark.<sup>140</sup> çalışmasında da yine erkek baskınlığı (9/14) söz konusudur. Bu çalışmalardaki oranlara benzer şekilde bizim çalışmamızda da 18 SATÜK vakasının %72,2'sinin erkek olması SATÜK'lerdeki erkek baskınlığını desteklemektedir.

Wasco ve ark.<sup>141</sup> yapmış oldukları çalışmada saf klasik ÜK'lere oranla farklı diferansiyasyon alanları içeren ÜK'lerin daha invaziv seyrettikleri tespit edilmiş olup istatistiksel olarak ileri düzeyde önemli fark ( $p < 0,001$ ) bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada TUR materyalinde farklı histolojik morfolojilerin varlığının, radikal



sistektomi materyallerinde ekstrevezikal yayılımın görülmesine dair artmış riske işaret ettiği gösterilmiştir. Bu açıdan literatürdeki bulgular değerlendirildiğinde ÜK alt tiplerinin TUR materyallerinde almış oldukları evreden daha yüksek evrede olabilme risklerinin olması nedeniyle bu tümörlerin tedavileri aciliyet taşımakta ve daha agresif yaklaşım gerektirmektedir.

ÜK'in agresif alt tiplerinden biri olan MİTÜK ile ilgili az sayıda geniş çaplı çalışmanın olması nedeniyle MİTÜK'ün patolojik özellikleri ve klinik davranışı ile ilgili veriler kısıtlıdır. Ancak literatürde Johansson ve ark.<sup>142</sup> yaptıkları MİTÜK tanılı 20 vaka çalışmasında hastalarını yaklaşık %75'inin tanı anında ileri evrede ( $pT \geq 3a$ ) oldukları tespit etmişlerdir. Ayrıca Kamat ve ark.<sup>90</sup> çalışmasında TUR materyallerinde kas invaziv olmayan MİTÜK tanılı olguların erken dönemde uygulanmış radikal sistektomi materyallerinde %42'sinin daha yüksek evrede oldukları ve %25'inde lenf nodu metastazları olduğu saptanmıştır. Bizim çalışmamızda sadece TUR materyallerinin incelendiği göz önüne alınırsa, 18 adet MİTÜK vakasının %61,1'i evre 1 (kasa invaziv olmayan) iken sadece %38,9'unun evre 2 (kasa invaziv) çıkması şaşırtıcı değildir. Çalışmamıza dahil ettiğimiz MİTÜK vakalarının 5 tanesinin sistektomi raporlarına ulaşılabilmiş olup, hepsinin de TUR materyallerinde aldıkları evreye göre dahayüksek evreli olduklarının görülmesi literatür bulgularını destekler niteliktedir.

MİTÜK'lere benzer şekilde literatürde SATÜK'ler ile de ilgili geniş çaplı araştırma mevcut değildir. En geniş çaplı araştırmalardan birisi olan Wang ve ark.<sup>95</sup> tarafından yapılmış 221 vakalık SATÜK serisinde olguların %72,5'inin tanı anında ileri evrede oldukları ( $pT \geq 3$ ) bildirilmiştir. Çalışmamızda SATÜK grubumuzda da vakaların %55,6'sı evre 1 iken %44,4'ü evre 2'dir. Hasta dosyalarından elde edilen bilgilere göre 18 SATÜK vakasının 5 tanesine sistektomi yapılmış olup sadece 1 tanesinde TUR'a göre artmış evre tespit edilmiştir.

#### **4.1. MİTÜK'lerde EMG, HER-2 ve SOX4 Ekspresyonlarının Değerlendirilmesi**

Son yıllarda birçok tümör üzerinde EMG belirteçleri üzerine araştırmalar yapılmış olup, E-kaderin immünreaktivitesinin kaybının meme, baş-boyun, akciğer, mide, özofagus, kolorektal, prostat ve ürotelyal karsinomlarda diferansiyasyon ve agresif davranış ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir.<sup>143-149</sup> ÜK ile ilgili yayınlanmış bazı

çalışmalarda, membranöz E-kaderin immünreaktivitesinin kaybının invazyon ve ileri evre ile güçlü korelasyona sahip olduğu gösterilmiştir.<sup>150</sup> Buna karşın E-kaderin ekspresyon kaybı ile ileri evre, rekürrens ve metastaz ile korele olmadığını gösteren yayımlar da mevcuttur.<sup>151</sup> Klasik ÜK'lere oranla MİTÜK ve SATÜK'lerin daha invaziv ve agresif karakterde seyretmeleri nedeniyle, çalışmamızda bu histolojik diferansiye alanlar ile aynı hastanın klasik yüksek dereceli invaziv ÜK alanları ile başka hastalardan alınan klasik yüksek dereceli invaziv ÜK odakları arasında EMG belirteçlerinin ekspresyonu açasından fark olup olmadığını göstermek istedik.

MİTÜK vakalarımızın %33,3'ünde E-kaderin ekspresyon kaybı görülürken, bu kayıp i kontrol grubunun %11,1'inde ve dış kontrol grubunun %16,6'sında görölmüştür. MİTÜK vakalarındaki kayıp oransal olarak daha yüksek değerlerde olmakla birlikte, istatistiksel açıdan bu gruplar arası herhangi bir fark saptanamamıştır. Böylece çalışmamız, mikropapiller morfoloji ile EMG'nin epitelyal belirteci olan E-kaderin'in kaybı arasında ilişki olmadığını düşündürmektedir. Bu bulgumuzu destekler şekilde, Lim ve ark.<sup>152</sup> çalışmasında da klasik ÜK'ler ile MİTÜK vakalarının hiç birinde E-kaderin kaybı izlenmemiştir. Maranchie ve ark.<sup>153</sup> çalışmasında ise sadece 1 MİTÜK vakasında anormal sitoplazmik E-kaderin ekspresyonu görülürken 3 MİTÜK vakasında hiç boyanma görölmemiştir. Bizim çalışmamız ile literatür bilgileri korele bir şekilde mikropapiller morfoloji ve dolayısıyla da bu tümörün agresif davranışı ile E-kaderin ekspresyonu arasında bağlantı bulunmadığını düşündürmektedir.

Araştırmalarda, mikropapiller morfolojiye sahip mide ve kolon tümörlerinde klasik adenokarsinom morfolojisindeki vakalara göre yüksek oranda sitoplazmik veya nükleer  $\beta$ -katenin ekspresyonu gözlenmiştir. Bu ekspresyonun da mikropapiller morfolojideki tümörlerin agresifliği ile ilgili olabileceği fikri ortaya atılmıştır.<sup>154</sup> Bu açıdan bir EMG belirteci olarak değerlendirilen  $\beta$ -katenin'in, mikropapiller mesane tümörlerindeki ekspresyonu değerlendirildiğinde, çalışmamızdaki vakaların sadece %16,7'sinde sitoplazmik veya nükleer ekspresyon tespit edildi. Böylece MİTÜK vakalarımız, iç kontrol grubundaki klasik yüksek dereceli invaziv ÜK ve dış kontrol grubundaki klasik yüksek dereceli invaziv ÜK vakaları arasında herhangi bir istatistiksel farkın izlenmemesi  $\beta$ -katenin ile mikropapiller morfoloji ve bu tip

tümörün agresifliği arasında bir bağlantının olmadığı düşüncesini ön plana çıkarmaktadır.

EMG sürecinde E-kaderin ve  $\beta$ -katenin'in hücre iskeleti ve adezyonunda birbirlerine bağlantılı olarak çalışmaları yanı sıra, kanser hücrelerindeki ekspresyonları korele olmayabilmektedir.<sup>155</sup> Dolayısıyla ile, E-kaderin ekspresyon kaybı olan vakaların hepsinde  $\beta$ -katenin membranöz ekspresyonunda kayıp olma şartı mevcut değildir. Bizim çalışmamızda da E-kaderin ekspresyonu azalmış 6 MİTÜK vakasının sadece 2 tanesinde  $\beta$ -katenin immünreaktivitesi (azalmış membranöz boyanmasına ek sitoplazmik nükleer ekspresyon) izlenmiş olup bu proteinlerin ekspresyonları arasında korelasyon saptanmamıştır.

Literatürde mezenkimal EMG belirteci olarak bilinen N-kaderin'in klasik ÜK'lerde tümör derecesi ve evresi arttıkça ekspresyonun arttığını bildiren yayınlar<sup>156,157</sup> yanısıra, herhangi bir korelasyon olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur.<sup>134</sup> Bizim çalışmamızda N-kaderin pozitif kontrol olarak seçilen böbrek üstü bezi dokusunda çalıştırılmış olmasına rağmen çalışmamızdaki 107 örneğin hiç birisinde boyanma görülmemiştir. Abufaraj ve ark.<sup>158</sup> yapmış oldukları çalışmada N-kaderin ekspresyonunun artışı ile ÜK'nin agresif özellikleri (lenfovasküler invazyon, ileri evre, yüksek derece, alt tip morfolojisi ve lenf nodu metastazı gibi) arasında pozitif ilişki tespit edilmiştir. Ancak bu çalışmada alt tip histolojilerinin çeşitleri hakkında bir bilgi verilmemiştir. Bizim incelemelerimize göreliteratürde MİTÜK ile N-kaderin ekspresyonu arasındaki bağlantıyı değerlendiren herhangi bir çalışma mevcut değildir. Çalışmamızda klasik yüksek dereceli invaziv ÜK ile mikropapiller veya sarkomatoid alt tip morfolojisine sahip yüksek dereceli invaziv ÜK vakalarının hiçbirinde ekspresyon görülmedi.

Vimentin, EMG mezenkimal belirteçlerinden olup, yapılan araştırmalarda ÜK'lerde vimentin ekspresyonu ile tümörün derecesi, progresyonu ve rekürrensi arasında belirgin korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Vimentin pozitifliği izlenen ÜK'lerin prognozlarının vimentin negatif olanlara göre belirgin olarak kötü olduğunun tespit edilmesi üzerine vimentin pozitif vakaların tedavisinde kas invazyonu yapmamış olsalar bile daha agresif girişimde bulunulması gerektiği savunulmuştur.<sup>150</sup> Bu açıdan çalışmamızda SATÜK ve MİTÜK'lerin agresif seyirli olmalarının vimentin ekspresyonları ile bir bağlantısının olup olmadığını değerlendirmek istedik.

Çalışmamızdaki MİTÜK vakalarından hiçbirinde vimentin ekspresyonu veya E-kaderin ekspresyon kaybının görülmemesi bu tümörlerinin agresif ve invaziv seyretmelerinde EMG dışında başka faktörlerin etkili olduğunu düşündürmekte olup, bu konu üzerinde ek araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Mesane kanseri, farklı moleküler yolları, diferansiyasyon yeteneklerinin çeşitliliği, invaziv olma yetenekleri ve rekürrenslerinin sıklığı nedeniyle çok sayıda araştırmaya konu olmuş neoplazilerdir. En çok üzerinde durulan konu, radikal cerrahiye gitmeden uygulanabilecek etkili tedavi yöntemleri olmuştur. Yapılan çalışmalarda klasik ÜK'lerde HER-2 amplifikasyonu ve HER-2 aşırı ekspresyonu tespit edilmesi üzerine tedavide anti-HER-2 reseptör antikoru (trastuzumab) kullanımı gündeme gelmiştir. Ayrıca meme tümörlerinde olduğu gibi HER-2'nin mesane kanserinde kötü prognoz ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Mesane kanserinde, HER-2 ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğunu bildiren yayınlar yanısıra herhangi bir korelasyonun olmadığını bildiren yayınlar da mevcuttur.<sup>122,159,160</sup> ÜK'lerde %0 ile %59 arasında değişen HER-2 geni amplifikasyonu ve %21 ile %89 arasında değişen HER-2 reseptör proteini aşırı ekspresyonu tespit edilmiştir.<sup>122,161</sup> Bu oransal çeşitliliğin görülmesi, çalışmaları HER-2 aşırı ekspresyonuna işaret edebilecek karakteristik morfolojik özelliklerin olup olmadığını araştırmaya yönlendirmiştir. Bu güne kadar yapılan çalışmaların bulguları mikropapiller morfoloji ile HER-2 arasında ilişki olduğunu göstermektedir.<sup>118</sup>

Tschui ve ark.<sup>118</sup> çalışmasında 13 MİTÜK vakasının 10'unda (%77) skor 3+ HER-2 ekspresyonu tespit edilmiştir. Behzaoğlu ve ark.<sup>115</sup> çalışmasında da benzer şekilde MİTÜK'lerin %56'sında skor 3+ HER-2 ekspresyonu izlenmiştir. Aynı çalışmada klasik invaziv ÜK'lerin de %36'sında 3+ ekspresyon görülmüştür. Bizim çalışmamızda ise 18 MİTÜK vakamızın 5'inde (%27,8) 3+ ekspresyon, 1 vakada (%5,6) ise skor 2+ ekspresyon izlendi. Dış kontrol grubu olarak seçtiğimiz yüksek dereceli 18 ÜK'lerin 1 tanesinde (%5,6) skor 2+ iken, 4 vakada (%22,2) ise 3+ ekspresyon görüldü. Bu açıdan MİTÜK ile yüksek dereceli klasik ÜK arasında HER-2 ekspresyonu açısından fark izlenmedi (p=1). Bu bulgu literatürle çelişen bir bulgu olmakla birlikte klasik yüksek dereceli ÜK'lerde HER-2 ekspresyonunun önemli oranda görülebildiğini göstermesi açısından değerlidir.

SOX4 ekspresyonu birçok kanser türünde bildirilmiş olup, ürotelyal neoplazilerde tespit edilmiştir. SOX4 ekspresyonunun mesane tümörlerinde normal ürotelyal epitele göre artmış olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur.<sup>123,132,162</sup> Ayrıca SOX4 ekspresyonunun artışı ile agresif gidişat, yüksek derece, ileri evre ve lenf nodu metastazları arasında korelasyon izlenmiştir.<sup>5</sup> Bu bulgular ışığında çalışmamızda MİTÜK ve SATÜK gibi ÜK'nin agresif alt tipleri ile klasik yüksek dereceli invaziv ÜK'ler arasında SOX4 ekspresyonu açısından herhangi bir fark olup olmadığını, böylece bu iki ÜK alt tipin agresif gidişatının SOX4 bağlantılı olup olmadığını değerlendirmek istedik. Literatür taramamızda, MİTÜK ve SATÜK'lerde SOX4 ekspresyonunu değerlendiren çalışma bulunamamıştır.

Çalışmamızda MİTÜK vakalarının hiç birinde kuvvetli SOX4 ekspresyonu görülmemiş olup 5 vakada (%27,8) düşük ekspresyon izlendi. Dış kontrol grubundaki klasik yüksek dereceli invaziv ÜK vakalarında 3 vakada (%16,7) kuvvetli ekspresyon izlenmiş olup diğer 15 vakada (%83,3) ekspresyon görülmedi. MİTÜK ve dış kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark tespit edildi ( $p=0,012$ ). Bu farkı oluşturan veriler; MİTÜK'lerde dış kontrol grubu vakalarına göre daha çok vakada düşük SOX4 ekspresyonun görülmesi; dış kontrol grubundaki vakalarda ise MİTÜK'lere göre daha çok vakada kuvvetli SOX4 ekspresyonun bulunmasıdır. Kuvvetli SOX4 ekspresyonu, klasik yüksek dereceli invaziv ÜK alanlarından oluşan dış kontrol vakalarında görülürken, mikropapiller morfolojideki alanlardaki kuvvetli ekspresyon görülmemesi SOX4 ekspresyonu ile mikropapiller morfoloji arasında bir ilişkinin olmadığını tam olarak dışlamasa da ilişkinin olmayabileceğini düşündürmektedir.

MİTÜK iç kontrol grubunda SOX4 ile 4 vakada (%22,2) güçlü, 2 vakada (%11,1) düşük ekspresyon izlenmiş olup 12 vakada (%66,7) ekspresyon görülmemiş ve istatistiki anlamlı fark izlenmemiştir ( $p=0,06$ ). Benzer şekilde ve iç ve dış kontrol grubu arasında da anlamlı farkın olmaması ( $p=0,376$ ) mikropapiller morfoloji ile SOX4 ekspresyon kaybının bağlantılı olduğunu düşündürmektedir. İç kontrol grubu ile MİTÜK'ler arasındaki SOX4 ekspresyon kaybının benzer oranlarda görülmesi mikropapiller tümörlerde SOX4 ekspresyon kaybının tümörün erken dönemlerinde görüldüğü fikrini ortaya atmaktadır.

#### **4.2. SATÜK'lerde EMG, HER-2 ve SOX4 Ekspresyonlarının Değerlendirilmesi**

Çalışmamızdaki SATÜK vakaları değerlendirildiğinde, tüm vakalarda E-kaderin ekspresyon kaybı izlenmiş olmasına karşılıklı kontrol grubunda 8 vakada (%47), dış kontrol grubunda ise 2 vakada (%11,1) azalmış ekspresyon izlendi. SATÜK'ler ile iç kontrol ve dış kontrol grubu arasında ise E-kaderin ekspresyonu açısından ileri düzeyde önemli fark bulundu ( $p < 0,001$ ). EMG'deki mezenkimal hücre fenotipinin oluşmasının E-kaderin kaybı ile ilişkili olduğu literatürde kabul görmüş bir gerçektir. Bu bağlamda bakıldığında çalışmamızdaki SATÜK'lerle iç ve dış kontrol grubu arasında E-kaderin kaybı açısından ileri düzeyde önemli fark olması ( $p < 0,001$ ) sarkomatoid morfoloji ile E-kaderin ekspresyon kaybı arasındaki ilişkiyi net bir şekilde desteklemektedir. Ayrıca, iç kontrol grubundaki vakaların %47'sinde de E-kaderin kaybının görülmesi, SATÜK'ler çevresindeki klasik ürotelyal karsinom hücrelerinde mezenkimal hücre genotipine ait özellikler bulunabildiği ve klasik ürotelyal karsinom hücrelerini epitelial-mezenkimal geçişe yönlendiren genetik özelliklerin bir kısmının hücrelerin sarkomatoid morfoloji kazanmalarından önceki dönemlerde mevcut

olduğu desteklemektedir. Literatürdeki Sanfrancesco ve ark.<sup>139</sup> çalışmasında 28 SATÜK vakasının %85'inde E-kaderin ekspresyon kaybı tespit edilmesi çalışmamızdaki bulguları destekler niteliktedir. Çalışmamızda E-kaderin ekspresyon kaybının SATÜK'lerde MİTÜK'lere kıyasla istatistik olarak daha sıklıkla görülmesi ( $p = 0,001$ ) EMG sürecindeki E-kaderin kaybının sarkomatoid hücre özellikleri ile bağlantısını destekleyen bir diğer bulgudur. Bu açıdan SATÜK gelişimi ve ilerlemesinin biyolojisinde EMG'nin rolünün daha ileri araştırmalarla değerlendirilmesinin kıymetli bilgiler sunabileceği düşünülmektedir.

Klasik ÜK'lerde,  $\beta$ -katenin ekspresyonu ile tümörün invazivliği ve derecesi arasında istatistiksel anlamlılık tespit edilmiş olup,  $\beta$ -katenin ekspresyonu tespit edilen olguların daha invaziv karakterde ve yüksek dereceli oldukları saptanmıştır.<sup>155</sup> E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonlarını SATÜK'lerde değerlendiren araştırmalar genellikle E-kaderin üzerine yoğunlaşmakta olup vakaların büyük kısmında E-kaderin ekspresyonunda azalma tespit edilmiştir. SATÜK ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu ilişkisine dair literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamakla birlikte, SATÜK'lerde sarkomatoid morfoloji kazanımının EMG ile ilişkili olduğu göz önüne alınıp  $\beta$ -katenin'in membranöz ekspresyonunda azalma, nükleer ve sitoplazmik ekspresyonunda artış öngörülmüştür.<sup>139</sup> Çalışmamızdaki nükleer ve sitoplazmik  $\beta$ -

katenin ekspresyonunun SATÜK vakalarında iç ve dış kontrol gruplarına göre yüksek oranda bulunduğunun görülmesi ( $p<0,001$ ) öngörülen tezi destekler şekilde mezenkimal (sarkomatoid) hücre özelliğinin  $\beta$ -katenin ekspresyonu ile ilişkili olduğunu göstermektedir. MİTÜK ve SATÜK vakaları karşılaştırıldığında izlenen bu anlamlı farkın ( $p=0,03$ ) SATÜK lehine olması da yine bu ilişkiyi destekleyen bir diğer bulgudur.

Çalışmamızda SATÜK'lerin tümünde vimentin ekspresyonunun görülmesine karşın hiçbir MİTÜK vakasında ekspresyon saptanmamıştır. Vimentin ekspresyonu, dış kontrol grubunda sadece bir olguda görülmüştür. Ayrıca SATÜK olgularındaki vimentin ekspresyonunun; MİTÜK vakalarına, SATÜK iç kontrol ve SATÜK dış kontrol vakalarına göre istatistiksel açıdan ileri düzeyde önemli farka yol açacak oranda izlenmesi ( $p<0,001$ ), SATÜK'lerdeki mezenkimal fenotipin vimentin ekspresyonu ile ilişkisini göstermektedir.

Çalışmamızda, SATÜK ve klasik yüksek dereceli invaziv ÜK vakalarındaki HER-2 ekspresyonunu da karşılaştırdık. Çalışmamızdaki 18 SATÜK vakasının hiçbirinde HER-2 ekspresyonunun olmaması (skor 0) değerli bir bulgudur. Bizim çalışmamızın bulgularını destekler şekilde Behzatoğlu ve ark.<sup>115</sup> çalışmasında 5 SATÜK vakasının hiçbirinde skor 3+ boyanma görülmemiştir. Wang ve ark.<sup>163</sup> çalışmasında da 8 SATÜK vakasının hiç birinde HER-2 amplifikasyonu izlenmemiştir. Bu sonuçlar bağlamında SATÜK'lerde HER-2 ekspresyonunun olmadığı ve tedavide anti-HER-2 reseptör antikoru (trastuzumab) kullanımının yararlı olmayacağı aşikardır.

Ayrıca SATÜK iç kontrol grubunda da 15 vakada (%88,2) boyanma izlenmezken, 1 vakada 3+ boyanma görülmesi SATÜK'lerdeki HER-2 ekspresyon kaybını sadece sarkomatoid morfolojideki alanlarda değil, buna komşu klasik yüksek dereceli invaziv ÜK alanlarında görüldüğünü göstermektedir. Bu bulgu sayesinde SATÜK'lerdeki HER-2 ekspresyonunun, tümörün henüz sarkomatoid morfoloji kazanmadığı dönemlerden itibaren kaybedildiğini akla getirmektedir.

SATÜK dış kontrol grubunda ise 8 vakada 3+ boyanma, 2 vakada ise 2+ boyanma izlenmektedir. Dış kontrol grubunda SATÜK'e oranla belirgin anlamlılıkta ( $p=0,01$ ) HER-2 ekspresyonunun görülmesi, klasik yüksek dereceli invaziv ÜK'de HER-2

ekspresyonun azımsanmayacak oranda olduğu ve bu yüzden tedavide önemli bir yer kaplayabileceğini destekler niteliktedir.

Mesane kanserlerinde HER-2 ekspresyonunun kötü prognostik faktör olduğu ve SATÜK'lerin de kötü prognoza sahip oldukları düşünülürse; SATÜK'lerin agresif seyirinin HER-2 ekspresyonu ile ilişkili olmadığını gündeme getirmektedir. Aynı zamanda literatürde HER-2'nin EMG epitelyal belirteçlerinde azalmaya yol açarak EMG ile yakından ilişkili olduğu belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda SATÜK'lerde epitelyal belirteçlerde belirgin kayıp ile mezenkimal belirteçlerde belirgin artışın görülmesi ise SATÜK'lerdeki EMG etkisini destekler niteliktedir. Ancak hiçbir vakada HER-2 ekspresyonunun görülmemesi, literatür verilerinin tam tersi olarak HER-2 ekspresyonu değil de kaybının EMG'yi destekleyen bir bulgu olduğunu düşündürmektedir.

SOX4'ün epitelyal fenotipi bastırıp, mezenkimal fenotipi uyararak, hücrelerin hareket ve invazyon yeteneğini önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir.<sup>131</sup> Literatürde, mesane tümörü üzerine yapılmış çalışmalarda ağırlıklı olarak klasik invaziv ÜK'ler araştırma konusu olmuş olup, SATÜK'lerde SOX4 ekspresyonu ile ilgili yapılmış çalışma mevcut değildir. Bu açıdan çalışmamız MİTÜK ve SATÜK'lerdeki SOX4 ekspresyonunu değerlendiren ilk bulguları göstermesi açısından değerlidir. SOX4 üzerine diğer organ neoplazileri üzerinde yapılmış çalışmalara bakıldığında, meme tümörlerinde SOX4 ekspresyonunun EMG ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızın bulguları, klasik yüksek dereceli invaziv ÜK'lere ve MİTÜK vakalarına kıyasla SATÜK'lerde belirgin EMG etkisinin olduğunu desteklemektedir. Bu yüzden SOX4 ve EMG arasında tespit edilmiş olan ilişki göz önüne alındığında, EMG etkisinin görüldüğü SATÜK vakalarımızda SOX4 ekspresyonunun MİTÜK ve dış kontrol grubundaki klasik yüksek dereceli invaziv ÜK'lere oranla artmış olacağını öngördük. Beklediğimiz üzere SATÜK'lerde, 7 vakada (%38,9) SOX4 ile kuvvetli ekspresyon, 7 vakada (%38,9) düşük ekspresyon izlenmiş olup, SOX4 ekspresyonunun MİTÜK'lere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı oranda artmış olduğu görüldü (p=0,002). SATÜK'lerde E-kaderin ekspresyon kaybı görülen 18 vakanın 14'ünde,  $\beta$ -katenin nükleer ekspresyonu görülen 10 vakanın 9'unda, Vimentin ekspresyonu görülen 18 vakanın ise 14'ünde SOX4 ekspresyonu izlenmiştir. İmmünohistokimyasal boyanma patternleri bu açıdan değerlendirildiğinde



SATÜK'lerde EMG belirteçlerini eksprese eden vakaların büyük çoğunluğunda aynı anda SOX4 ekspresyonu görülmüştür. Bunun tersine, EMG belirteçlerinin daha düşük seviyede eksprese edildiği MİTÜK olgularında SOX4 ekspresyonunun buna uyumlu olarak daha düşük olduğu izlenmiştir. Bu bulgular, SATÜK'lerdeki EMG ile SOX4 ekspresyonunun pozitif korele olduğunu ve meme tümörlerinde gösterildiği üzere birbirleriyle bağlantılı olarak çalıştıklarını destekler niteliktedir.

Çalışmamızda SOX4 ekspresyonu açısından beklediğimiz bir diğer sonuç, SATÜK ile klasik yüksek dereceli invaziv ÜK'ler arasında SOX4 ekspresyonu açısından fark görülmesi olup istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,217$ ). Bu bulgu, SATÜK'lerdeki EMG etkisini dışlamamakla birlikte mesane klasik yüksek dereceli invaziv ÜK'lerde de yüksek SOX4 ekspresyonunun görülmesinin bu tümörlerde agresif gidişat için prognostik belirleyici olup olmayabileceğinin araştırmalar ile belirlenmesi gerekliliğinin yolunu açmaktadır.

SATÜK iç kontrol grubundaki vakaların 3'ünde (%17,6) SOX4 ile kuvvetli ekspresyon, 7'sinde (%41,2) düşük ekspresyon izlenirken 7 vakada (%41,2) ekspresyon görülmedi. İstatistiksel değerlendirme sonuçlarına göre SATÜK ile iç kontrol grubu arasında anlamlı farkın olmaması ( $p=0,334$ ), her iki grupta benzer SOX4 ekspresyonlarının görülmesi, MİTÜK'lerdeki SOX4 ekspresyonunun erken dönemlerde (tümörün mikropapiller morfoloji kazanmadan önce) kaybedildiği gibi SATÜK'lerde de SOX4 ekspresyonunun erken dönemde kazanıldığını göstermektedir. Bu bulgular ışığında, hücrelerde daha EMG belirteçlerindeki değişiklikler olmadan SOX4 değişikliklerinin başlayabildiğini ortaya çıkmaktadır. Literatürdeki bir çalışmada, bizim bulgularımızı destekler şekilde meme tümörlerinde EMG etkisinin başlamasında SOX4'ün önemli rol oynadığı yönünde değerli bulgular sunulmuştur.<sup>6</sup>Böylece SOX4 ekspresyonu değerlendirilerek, tümörün daha invaziv ve metastatik gitmesine yol açan EMG etkisi gösterip göstermeyeceği ile ilgili fikir sahibi olunabilir.

Özetle, çalışmamızda MİTÜK ve SATÜK gibi ÜK'nin iki histolojik alt tipinin klasik yüksek dereceli invaziv ÜK'lere göre niçin daha agresif seyrettiklerini araştırmak istedik. Bu yüzden çalışmamızda kontrol grubu olarak sadece klasik yüksek dereceli invaziv ÜK'leri seçtik. MİTÜK ve SATÜK'lerin ileri evre ve metastatik karakterlerinin tümör hücrelerinde hareketliliği ve invazivliği arttıran

EMG ile ilişkili olabileceği ön fikriyle yola çıktık. Ayrıca mesane tümörlerinde kötü prognostik belirteç olarak bilinen SOX4'ün EMG ile ilişkisini değerlendiren yayınlarda ilişki olduğu fikrinin öne çıkması sebebi ile, bu iki histolojik alt tipte EMG ile SOX4 ilişkisinin ne bağlamda görülebildiğini değerlendirmek istedik. Bu açıdan çalışmamızın bulguları SATÜK'lerde EMG etkisinin olabileceğini ancak MİTÜK'lerdeki agresif gidişatın EMG ile ilişkili olmadığını düşündüren kıymetli veriler sunması açısından değerlidir. EMG etkisinin görüldüğü SATÜK'lerde SOX4 ile belirgin ekspresyonun tespiti, EMG ve SOX4 ilişkisini kuvvetlendirecek bir diğer bulgu olarak kabul edilebilir. MİTÜK'lerde EMG etkisinin görülmemesi ve buna koreleolarak da SOX ekspresyon kaybının tespit edilmesi aynı şekilde EMG-SOX4 ilişkisini desteklemektedir.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

EMG'nin, doku ve organ oluşumunda önemli işlevlere sahip olduğu bilinmekte olup, kanser patogenezindeki fonksiyonunu belirlemek için çok sayıda araştırma yapılmıştır. Araştırmaların sonucunda, tümör hücrelerinin invazyonu, metastaz yetenekleri ve kötü klinik gidişatları ile EMG'nin yakın ilişki içinde oldukları tespit edilmiştir.

Bizim çalışmamızın sonuçlarına göre, MİTÜK vakalarında EMG etkisi görülmemektedir. Bu histolojik alt tipe sahip tümörlerin invaziv, metastatik ve kötü klinik gidişatlarının EMG üzerinden değil, farklı bir yolak üzerinden gerçekleştiğini düşünmekteyiz. Bu yüzden MİTÜK'lerin klasik ÜK'lere göre daha agresif seyretmelerine sebep olabilecek nedenlerin araştırılması gerektiğini söyleyebiliriz.

Çalışmamızın bulguları, SATÜK'lerde belirgin EMG etkisinin bulunduğu yönündedir. Aynı zamanda, sarkomatoid alanlara komşu klasik yüksek dereceli invaziv ÜK odaklarında da EMG lehine değişikliklerin tespit edilmesi, tümörün henüz diferansiye olmadan EMG etkisinin başlayabildiğini düşündürmektedir. Böylece, tümörün daha erken dönemlerinde EMG etkisinin tespit edilmesiyle bu tümörlerin daha agresif seyredeceğini öngörmekteyiz. Ancak bu fikirle birlikte, EMG etkisinin görülmediği tümörlerin ise iyi seyirli olacağı düşüncesi akla gelebilir ancak MİTÜK vakalarımızda gösterdiğimiz gibi EMG etkisi bulunmadığı durumlarda da tümörler agresif seyirli olabilmektedir. EMG etkisinin belirlenmesi ile bu hastaların

agresif seyretme olasılıklarının yüksek olma ihtimaline yönelik, hastaların takiplerinin daha sık ve tedavilerinin ise daha agresif olarak planlanması gerektiğini düşünmekteyiz.

SOX4'ün epitelyal fenotipi bastırıp, mezenkimal fenotipi uyararak, hücrelerin hareket ve invazyon yeteneğini önemli ölçüde artırdığı ve EMG ile korele çalıştığı göz önüne alındığında, EMG etkisinde olan SATÜK vakalarımızda SOX4 ekspresyonunun klasik yüksek dereceli invaziv ÜK'lere ve MİTÜK'lere göre belirgin oranda artmış olduğu görüldü. Benzer şekilde çalışmamızda, EMG etkisinin bulunmadığı MİTÜK vakalarımızda ise klasik ÜK'lere ve SATÜK'lere göre anlamlı SOX4 ekspresyon kaybı gözlenmiştir. Bu açıdan çalışmamızın bulguları, EMG ve SOX4'ün işlevinin birbiri ile ilişkili ve aynı paralelde gittiğini desteklemektedir.

Aynı zamanda MİTÜK ve SATÜK'lerin iç kontrol gruplarındaki SOX4 ekspresyon paterninin, mikropapiller ve sakomatoid alanlarla benzer olması, SOX4 etkisinin tümörün erken dönemlerinde ve EMG etkisi oluşmadan ortaya çıktığını düşündürmektedir.

MİTÜK'lerdeki HER-2 ekspresyonuna ait bulgularımız, literatür bulgularının aksine bu histolojik alt tip ile klasik invaziv yüksek dereceli ÜK'ler arasında HER-2 ekspresyonu açısından fark olmadığını göstermektedir. Yapılmış çalışmalarda, mikropapiller morfoloji ile HER-2 ekspresyonun ilişkili olduğu gösterilmiş olup, bizim bulgularımız ise tam tersine mikropapiller morfoloji ile HER-2 arasında ilişki olmadığını düşündürmektedir.

HER-2 ekspresyonunun, mesane tümörlerinde kötü prognostik faktör olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Bizim çalışmamızda SATÜK vakalarının hiçbirinde HER-2 ekspresyonu görülmemiştir. Bu bulgular ışığında, SATÜK'lerdeki agresif gidişatın, HER-2 ilişkili olmadığı düşüncesi ortaya çıkmaktadır.

## 6. ÖZET

EMG, normal embriyonik gelişimde merkezi bir rol oynamakta olup, kanser patogenezindeki işlevi ise hareketsiz epitel hücrelerinin hareketli ve invaziv yetenekteki mezenkimal hücrelere dönüşümünü sağlamaktır. EMG sürecinde, E-kaderin,  $\beta$ -katenin gibi epitelyal belirteçler ile Vimentin ve N-kaderin gibi mezenkimal belirteçlerdeki ekspresyon değişiklikleri görülmektedir. EMG etkisi, tümör hücrelerinde E-kaderin membranöz ekspresyonunda azalma,  $\beta$ -katenin'in membranöz ekspresyonunda azalma ve nükleer/sitoplazmik ekspresyon artışı, Vimentin sitoplazmik ekspresyonu ile N-kaderin ile sitoplazmik/membranöz ekspresyonunda artış ile ortaya çıkmaktadır. Ayrıca yapılmış çalışmalar, EMG'nin SRY ile ilgili HMG-box transkripsiyon faktörü ailesinin bir üyesi olan SOX4 ile bağlantılı olarak çalıştığını, hatta SOX4'ün EMG'nin tetikleyicisi olduğunu göstermektedir. HER-2, tip I transmembran büyüme faktörü reseptörü olup, yapılan araştırmalarda mesane tümörlerindeki kötü prognostik belirteç ve EMG'yi destekleyici özellikler taşıdığı belirtilmiştir. Literatürde, EMG'nin birçok tümör tipinde olduğu gibi, mesane tümörlerinde de agresif gidişat ve diferansiyasyon ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Mesane ÜK'lerdeki kuvvetli SOX4 ekspresyonunun, tümörün histolojik derecesi, evresi ve kötü klinik gidişat ile ilişkili olduğu bulunmuştur.

Çalışmamızda 2000-2017 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Laboratuvarı'nda tanı almış 18 MİTÜK ve 18 SATÜK tanısı alan olgu incelendi. Bu vakaların herbiri için iç ve dış kontrol grupları oluşturulmuş olup, "iç kontrol" grubu için mikropapiller veya sarkomatoid alanlara komşu klasik yüksek dereceli invaziv ÜK odaklarından ve "dış kontrol" grubu için ise aynı yaş, cinsiyet ve patolojik evrede farklı hastalardan alınan klasik yüksek dereceli invaziv ÜK örnekler seçilmiştir.

Çalışmamızın amacı, MİTÜK ve SATÜK'lerde EMG ve SOX4 ilişkisini göstermek ve bu iki histolojik alt tipin klasik yüksek dereceli invaziv ÜK'lere göre daha agresif seyirli olmalarının nedeninin EMG ve SOX4 ile ilişkili olup olmadığını değerlendirmektir. Ayrıca bu vakalardaki HER-2 ekspresyonunu da kıyaslamak tezimizin bir diğer amacıdır.

EMG belirteçleri (E-kaderin,  $\beta$ -katenin, Vimentin, N-kaderin), SOX4 ve HER-2 immünohistokimyasal boyama yöntemi ile araştırıldı. MİTÜK vakalarında E-kaderin ile 6 vakada (%33,3) azalmış ekspresyon,  $\beta$ -katenin ile 3 vakada (%16,7) nükleer/sitoplazmik ekspresyon, N-kaderin ve vimentin ile vakaların tümünde (%100) negatif immünreaktivite izlendi. 13 MİTÜK vakasında (%72,2) SOX4 ekspresyonu izlenmezken, 5 vakada (%27,8) düşük ekspresyon görüldü. MİTÜK grubunda izlenen ekspresyonun dış kontrol grubuna kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı oranda düşük olduğu tespit edildi ( $p=0,012$ ). MİTÜK'lerde HER-2 ile 5 vakada (%27,8) 3+ ekspresyon izlendi.

SATÜK'lerde E-kaderin ve N-kaderin ile hiçbir vakada boyanma izlenmezken, vimentin ile vakaların hepsinde kuvvetli ekspresyon görüldü.  $\beta$ -katenin ile 10 vakada (%55,6) sitoplazmik/nükleer boyanma mevcut idi. SATÜK'lerde 7 vakada (%38,9) SOX4 ile kuvvetli ekspresyon, 7 vakada (%38,9) düşük ekspresyon izlendi. HER-2 ile hiçbir vakada boyanma görülmedi.

MİTÜK ve SATÜK grupları arasında E-kaderin ekspresyonu ile ( $p<0,001$ ),  $\beta$ -katenin ekspresyonu ile ( $p=0,03$ ), vimentin ekspresyonu ile ( $p<0,001$ ), SOX4 ekspresyonu ile ( $p=0,002$ ), HER-2 ekspresyonunu ile ( $p=0,003$ ) istatistiksel olarak önemli fark bulundu.

Bu bulgular, SATÜK'lerde EMG etkisinin görülürken MİTÜK'lerde EMG etkisinin olmadığını düşündürdü. MİTÜK ve SATÜK'lerde izlenen SOX4 değişikliklerinin EMG ile bağlantılı ve korele olduğu bulgusunu ortaya çıkardı.

## 7. İNGİLİZCE ÖZET

Epithelial-mesenchymal transition (EMT) plays a central role in normal embryonic development and its role in cancer pathogenesis is to convert immobile epithelial cells to mobile and invasive mesenchymal cells. In the EMT process, changes in the expression of epithelial markers such as E-cadherin,  $\beta$ -catenin and mesenchymal markers such as Vimentin and N-cadherin are observed. In EMT, there is a decrease in the membranous expression of E-cadherin and  $\beta$ -catenin, and an increase in nuclear/cytoplasmic expression of  $\beta$ -catenin, an increase in expression of N-cadherin and vimentin in tumor cells. Furthermore, studies have shown that EMT is linked to SOX4, a member of the HMG-box transcription factor family of SRY, and there is

evidence that SOX4 is the trigger of EMT. HER-2 is a type I transmembrane growth factor receptor, and studies have shown that it has poor prognostic markers and EMT-supporting properties in bladder tumors. In the literature, it has been found that EMT is associated with aggressive course and differentiation in bladder tumors as well as in many tumor types. Strong SOX4 expression in urinary bladder urothelial carcinoma (UC) was found to be associated with histological grade, stage and poor clinical course of the tumor.

We studied 18 micropapillary type of urothelial carcinoma (MTUC) and 18 sarcomatoid type of urothelial carcinoma (STUC) cases diagnosed in the Pathology Department of Kocaeli University Medical School between 2000-2017. Internal and external control groups were established for each of these cases: classical high-grade invasive UC foci adjacent to micropapillary or sarcomatoid areas for the "internal control" group, and age/stage-matched classic high-grade invasive UC foci for the "external control" group.

The aim of our study was to demonstrate the association of EMT and SOX4 in MTUC and STUC and to evaluate whether the two histologic subtypes are more aggressive than classical high grade invasive UC in relation to EMT and SOX4. It is also another purpose of our study to compare HER-2 expression in these cases.

EMT markers (E-cadherin,  $\beta$ -catenin, Vimentin, N-cadherin), SOX4 and HER-2 were examined by immunohistochemical staining. Negative immunoreactivity was observed in all cases (%100) with N-cadherin and vimentin, nuclear/cytoplasmic expression in 3 cases (%16,7) with  $\beta$ -catenin, decreased expression in 6 cases (%33,3) with E-cadherin in MTUC cases. SOX4 expression was not observed in 13 cases (%72,2) at MTUC, whereas low expression was observed in 5 cases (%27,8). The expression observed in the MTUC group was statistically significantly lower than the external control group ( $p=0,012$ ). Immunohistochemically, 3+ staining with HER2 was detected in 5 MTUC cases (27.8%).

Strong expression was observed in all cases with vimentin, while no staining was observed with E-cadherin and N-cadherin in STUC. Cytoplasmic / nuclear staining was present with  $\beta$ -catenin in 10 cases (55.6%). There was strong expression with

SOX4 in 7 cases (38.9%) and low expression in 7 cases (38.9%). There was no staining with HER-2 at all.

Between MTUC and STUC groups with E-cadherin expression ( $p < 0,001$ ),  $\beta$ -catenin expression ( $p = 0,03$ ), with vimentin expression ( $p < 0,001$ ), with SOX4 expression ( $p = 0,002$ ), with HER-2 expression ( $p = 0,003$ ) were statistically significant.

These findings suggest that EMT effect is observed in STUC and EMT effect is not observed in MTUC. The findings of SOX4 changes observed in MTUC and STUC were revealed to be related to EMG and correlated.

#### **KAYNAKÇA**

1. Rosai J, Ackerman L V., Rosai J. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. Mosby; 2011.
2. Nistico P, Bissell MJ, Radisky DC. Epithelial-Mesenchymal Transition: General Principles and Pathological Relevance with Special Emphasis on the Role of Matrix Metalloproteinases. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2012;4(2).
3. Son H, Moon A. Epithelial-mesenchymal Transition and Cell Invasion. *Toxicol Res*. 2010;26(4):245-252.
4. Franzen CA, Blackwell RH, Todorovic V, et al. Urothelial cells undergo epithelial-to-mesenchymal transition after exposure to muscle invasive bladder cancer exosomes. *Oncogenesis*. 2015;4(8).
5. Shen H, Blijlevens M, Yang N, et al. Sox4 expression confers bladder cancer stem cell properties and predicts for poor patient outcome. *Int J Biol Sci*. 2015;11(12):1363-1375.
6. Tiwari N, Tiwari VK, Waldmeier L, et al. Sox4 Is a Master Regulator of Epithelial-Mesenchymal Transition by Controlling Ezh2 Expression and Epigenetic Reprogramming. *Cancer Cell*. 2013;23(6):768-783.
7. Ingthorsson S, Andersen K, Hilmarsdottir B, Maelandsmo GM, Magnusson

- MK, Gudjonsson T. HER2 induced EMT and tumorigenicity in breast epithelial progenitor cells is inhibited by coexpression of EGFR. *Oncogene*. 2016;35(32):4244-4255.
8. Desai K, Aiyappa R, Prabhu JS, et al. HR+HER2– breast cancers with growth factor receptor–mediated EMT have a poor prognosis and lapatinib downregulates EMT in MCF-7 cells. *Tumor Biol*. 2017;39(3).
  9. Reda M, Ochi E, Oukabli M, et al. Expression of human epidermal growth factor receptor 2 in bladder urothelial carcinoma. *BMC Clin Pathol*. 2017;17(3):13-17.
  10. Snell R.S. Clinical Anatomi. YILDIRIM C ( çeviri editörü). Klinik anatomi. 5. baskı, Yüce yayımları,istanbul.312-315, 1998.
  11. Moore KL, Dalley AF, Agur AMR. *Clinically Oriented Anatomy*. Vol 53.; 204AD.
  12. Epstein JI, Amin MB, Reuter VR, et al. 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(12):1435-1448.
  13. Bovio IM, Al-Quran SZ, Rosser CJ, Algood CB, Drew PA, Allan RW. Smoothelin immunohistochemistry is a useful adjunct for assessing muscularis propria invasion in bladder carcinoma. *Histopathology*. 2010;56(7):951-956.
  14. Mills SE, Greenson JK, Hornick JL, Longacre TA, Reuter VE. *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology*.
  15. Humphrey PA, Moch H, Cubilla AL, Ulbright TM, Reuter VE. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs—Part B: Prostate and Bladder Tumours. *Eur Urol*. 2016;70:106-119.
  16. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J cancer*. 2015;136(5):E359-86.
  17. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2016;66(1):7-30.
  18. Cheng L., A.Lopez-Beltran,MacLennan G. ve ark. Neoplasm of the Urinary Bladder Ed: Bostwick D., Cheng L. Urologic Surgical Pathology. Sf:260-338,



- Mosby Elsevier, Philadelphia, USA, 2008.
19. Eser S, Zorlu F, Divtik RT, Çal Ç, Özkan M, Kirkali Z. Incidence and epidemiological features of cancers of the genitourinary tract in Izmir between 1993-2002. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2009;10:491-496.
  20. Eser S, Yakut C, Özdemir R, et al. Cancer incidence rates in Turkey in 2006: A detailed registry based estimation. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2010;11(6):1731-1739.
  21. Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, Reuter VE, WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs, IARC, 4th ed, Lyon 2016.
  22. Eser S, Özdemir R. Dünya ve Türkiye’de mesane kanser epidemiyolojisi İzmir kanser kayıt merkezi, İzmir il sağlık müdürlüğü, Üroonkoloji bülteni cilt 11, sayı 1, 57 Mart 2012.
  23. Ferlay J, Shin H-R, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer.* 2010;127(12):2893-2917.
  24. Letašiová S, Medve’ová A, Šovčíková A, et al. Bladder cancer, a review of the environmental risk factors. *Environ Health.* 2012;11 Suppl 1(Suppl 1):S11.
  25. Zeegers M, Tan F, Dorant E, Van Den Brandt P. The impact of characteristics of cigarette smoking on urinary tract cancer risk: a meta-analysis of epidemiologic studies. *Cancer.* 2000;89:630-639.
  26. Pitard A, Brennan P, Clavel J, et al. Cigar, pipe, and cigarette smoking and bladder cancer risk in European men. *Cancer Causes Control.* 2001;12(6):551-556.
  27. Brennan P, Bogillot O, Greiser E, et al. The contribution of cigarette smoking to bladder cancer in women (pooled European data). *Cancer Causes Control.* 2001;12(5):411-417.
  28. Shapiro JA, Jacobs EJ, Thun MJ. Cigar smoking in men and risk of death from tobacco-related cancers. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(4):333-337.
  29. Pashos CL, Botteman MF, Laskin BL, Redaelli A. Bladder cancer: epidemiology, diagnosis, and management. *Cancer Pract.* 10(6):311-322.
  30. Johansson SL, Cohen SM. Epidemiology and etiology of bladder cancer. *Semin Surg Oncol.* 1997;13(5):291-298.

31. Talaska G. Aromatic Amines and Human Urinary Bladder Cancer: Exposure Sources and Epidemiology. *J Environ Sci Heal Part C*. 2003;21(1):29-43.
32. Kumar V, Abbas A, Fausto N. Lower Urinary Tract and Male Genital System. In: Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th ed. Philadelphia: Elsevier, 2005:1023-1058.
33. Chung S-D, Tsai M-C, Lin C-C, Lin H-C. A case-control study on the association between bladder cancer and prior bladder calculus. *BMC Cancer*. 2013;13(1):117.
34. Murta-Nascimento C, Schmitz-Dräger BJ, Zeegers MP, et al. Epidemiology of urinary bladder cancer: From tumor development to patient's death. *World J Urol*. 2007;25(3):285-295.
35. Reznikoff, C A, Belair, C D, Yeager, T R, Savelieva, E, Blelloch, R H, Puthenveetil, J A, & Cuthill S. A molecular genetic model of human bladder cancer pathogenesis. *Semin Oncol*, 23(5), 571-584.
36. Ho C-H, Sung K-C, Lim S-W, et al. Chronic Indwelling Urinary Catheter Increase the Risk of Bladder Cancer, Even in Patients Without Spinal Cord Injury. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(43):e1736.
37. Kaldor JM, Day NE, Kittelmann B, et al. Bladder tumours following chemotherapy and radiotherapy for ovarian cancer: a case-control study. *Int J cancer*. 1995;63(1).
38. Piper JM, Tonascia J, Matanoski GM. Heavy phenacetin use and bladder cancer in women aged 20 to 49 years. *N Engl J Med* 1985; 313:292.
39. Travis LB, Curtis RE, Glimelius B, et al. Bladder and kidney cancer following cyclophosphamide therapy for non-Hodgkin's lymphoma. *J Natl Cancer Inst*. 1995;87(7):524-530.
40. Monach PA, Arnold LM, Merkel PA. Incidence and prevention of bladder toxicity from cyclophosphamide in the treatment of rheumatic diseases: A data-driven review. *Arthritis Rheum*. 2010;62(1):9-21.
41. Vlaovic P, Jewett MAS. Cyclophosphamide-induced bladder cancer. *Can J Urol*. 1999;6(2):745-748.
42. Scélo G, Brennan P. The epidemiology of bladder and kidney cancer. *Nat Clin Pract Urol*. 2007;4(4):205-217.
43. Zeegers MPA, Dorant E, Goldbohm RA, Brandt PA van den. Are coffee, tea and total fluid consumption associated with bladder cancer risk? Results from

- the Netherlands Cohort Study. *Cancer Causes Control* 3, 12, 231-238. 2001.
44. Zhou J, Smith S, Giovannucci E, Michaud DS. Reexamination of total fluid intake and bladder cancer in the health professionals follow-up study cohort. *Am J Epidemiol.* 2012;175(7):696-705.
  45. Cantor KP, Lynch CF, Hildesheim ME, et al. Drinking water source and chlorination byproducts. I. Risk of bladder cancer. *Epidemiology.* 1998;9(1):21-28.
  46. Meliker JR, Nriagu JO. Arsenic in drinking water and bladder cancer: review of epidemiological evidence. In: ; 2007:551-584.
  47. Zeegers MPA, Kellen E, Buntinx F, van den Brandt PA. The association between smoking, beverage consumption, diet and bladder cancer: a systematic literature review. *World J Urol.* 2004;21(6):392-401.
  48. de Menezes RF, Bergmann A, Thuler LCS. Alcohol consumption and risk of cancer: a systematic literature review. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14(9):4965-4972.
  49. Pelucchi C, Galeone C, Tramacere I, et al. Alcohol drinking and bladder cancer risk: a meta-analysis. *Ann Oncol.* 2012;23(6):1586-1593.
  50. Park S, Ollberding NJ, Woolcott CG, Wilkens LR, Henderson BE, Kolonel LN. Fruit and Vegetable Intakes Are Associated with Lower Risk of Bladder Cancer among Women in the Multiethnic Cohort Study 1 , 2. 2013:1283-1292.
  51. Küçükodacı Z YK. Mesane Ürotelyal Kanserlerinin Tanısal Prognostik Moleküler Özellikleri ve Yeni Tedavi Yaklaşımları. *Bull Urooncology.* 2015;14:258-270.
  52. Mitra AP, Cote RJ. Molecular Pathogenesis and Diagnostics of Bladder Cancer. *Annu Rev Pathol Mech Dis.* 2009;4(1):251-285.
  53. López-Knowles E, Hernández 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(15):7401-7404.
  54. Wu X-R. Urothelial tumorigenesis: a tale of divergent pathways. *Nat Rev Cancer.* 2005;5(9):713-725.
  55. Mitra AP, Cote RJ. Molecular screening for bladder cancer: progress and potential. *Nat Rev Urol.* 2010;7(1):11-20.

56. Jebar AH, Hurst CD, Tomlinson DC, Johnston C, Taylor CF, Knowles M a. FGFR3 and Ras gene mutations are mutually exclusive genetic events in urothelial cell carcinoma. *Oncogene*. 2005;24(33):5218-5225.
57. Bos J. Ras oncogenes in human cancer: a review. *Cancer Res*. 1989;49(17):4682-4689. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2547513>. Accessed September 16, 2017.
58. 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(3):184-192.
59. Tsai YC, Nichols PW, Hiti AL. Allelic Losses of Chromosomes 9 , 11 , and 17 in Human Bladder Cancer Allelic Losses of Chromosomes 9 , 11 , and 17 in Human Bladder Cancer1. *Cancer Res*. 1990;7(25):44-47.
60. Eble JN, Sauter G, Epstein JI SI. WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs, IARC, 3rd ed, Lyon 2004. *BJU Int*. 2004;94(4):675-675.
61. Dershaw DD SH. Sonography in evaluation of carcinoma of bladder. *Urology* 29:454-7. *Urology*. 1987;29(4):454-457.
62. Busch C, Algaba F. The WHO/ISUP 1998 and WHO 1999 systems for malignancy grading of bladder cancer. Scientific foundation and translation to one another and previous systems. *Virchows Arch*. 2002;441(2):105-108.
63. Bostwick DG, Cheng L. *Urologic Surgical pathology.2 Nd Ed. Chapter 6, Mosby Elsevier, China, 2008: 216-227, 274-275, 287-296*. Mosby/Elsevier; 2008.
64. Pich A, Chiusa L, Formiconi A, Galliano D, Bortolin P, Navone R. Biologic differences between noninvasive papillary urothelial neoplasms of low malignant potential and low-grade (grade 1) papillary carcinomas of the bladder. *Am J Surg Pathol*. 2001;25(12):1528-1533.
65. McKenney JK, Amin MB, Young RH. Urothelial (Transitional Cell) Papilloma of the Urinary Bladder: A Clinicopathologic Study of 26 Cases. *Mod Pathol*. 2003;16(7):623-629.
66. Montironi R, Cheng L, Scarpelli M, Lopez-Beltran A. Pathology and Genetics: Tumours of the Urinary System and Male Genital System. *Eur Urol*. 2016;70(1):120-123.

67. Picozzi S, Casellato S, Bozzini G, et al. Inverted papilloma of the bladder: A review and an analysis of the recent literature of 365 patients. *Urol Oncol Semin Orig Investig*. 2013;31(8):1584-1590.
68. Murphy WM, Soloway MS. Urothelial dysplasia. *J Urol* 1982; 127:849. *Cancer*. 1984;53(7):1555-1565.
69. Amin MB, McKenney JK. An approach to the diagnosis of flat intraepithelial lesions of the urinary bladder using the World Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification system. *Adv Anat Pathol*. 2002;9(4):222-232.
70. Bostwick DG, Cheng L. *Urologic Surgical Pathology*.
71. Cheng L, Neumann RM, Bostwick DG. Papillary urothelial neoplasms of low malignant potential. Clinical and biologic implications. *Cancer*. 1999;86(10):2102-2108.
72. Samaratunga H, Makarov D V, Epstein JI. Comparison of WHO/ISUP and WHO classification of noninvasive papillary urothelial neoplasms for risk of progression. *Urology*. 2002;60(2):315-319.
73. Holmäng S, Andius P, Hedelin H, Wester K, Busch C, Johansson SL. Stage progression in Ta papillary urothelial tumors: relationship to grade, immunohistochemical expression of tumor markers, mitotic frequency and DNA ploidy. *J Urol*. 2001;165(4):1124-8-30.
74. Thomas DE, Kaimakliotis HZ, Rice KR, et al. Prognostic Effect of Carcinoma In Situ in Muscle-invasive Urothelial Carcinoma Patients Receiving Neoadjuvant Chemotherapy. *Clin Genitourin Cancer*. 2017;15(4):479-486.
75. Holmäng S, Johansson SL. The nested variant of transitional cell carcinoma - A rare neoplasm with poor prognosis. *Scand J Urol Nephrol*. 2001;35(2):102-105. doi:10.1080/003655901750170425.
76. Leroy X, Leteurtre E, De La Taille A, Augusto D, Biserte J, Gosselin B. Microcystic transitional cell carcinoma: a report of 2 cases arising in the renal pelvis. *Arch Pathol Lab Med*. 2002;126(7):859-861.
77. Fritsche HM, Burger M, Denzinger S, Legal W, Goebell PJ, Hartmann A. Plasmacytoid Urothelial Carcinoma of the Bladder: Histological and Clinical Features of 5 Cases. *J Urol*. 2008;180(5):1923-1927.
78. Lopez-Beltran A, Amin MB, Oliveira PS, et al. Urothelial Carcinoma of the

- bladder, lipid cell variant: clinicopathologic findings and LOH Analysis. *Am J Surg Pathol*. 2010;34(3):371-376.
79. Chang W-C, Chang Y-H, Pan C-C. Prognostic significance in substaging of T1 urinary bladder urothelial carcinoma on transurethral resection. *Am J Surg Pathol*. 2012;36(3):454-461.
  80. Bochner BH, Hansel DE, Efsthathiou JA, et Al. Urinary Bladder. In: *AJCC Cancer Staging Manual, 8th, Amin MB (Ed), Springer, New York 2017. p.757.*
  81. Murphy WM, Chandler RW, Trafford RM. (1986). Flow cytometry of deparaffinized nuclei compared to histological grading for the pathological evaluation of transitional cell carcinomas. *J Urol*, 135(4), 694-697.
  82. Neuhaus M, Wagner U, Schmid U, et al. Polysomies but not Y chromosome losses have prognostic significance in pTa/pT1 urinary bladder cancer. *Hum Pathol*. 1999;30(1):81-86.
  83. Otto T, Bex A, Schmidt U, Raz A, Rübber H. Improved prognosis assessment for patients with bladder carcinoma. *Am J Pathol*. 1997;150(6):1919-1923.
  84. Amin MB, Ro JY, el-Sharkawy T, et al. Micropapillary variant of transitional cell carcinoma of the urinary bladder. Histologic pattern resembling ovarian papillary serous carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 1994;18(12):1224-1232.
  85. Alvarado-Cabrero I, Sierra-Santiesteban FI, Mantilla-Morales A, Hernández-Hernandez DM. Micropapillary carcinoma of the urothelial tract. A clinicopathologic study of 38 cases. *Ann Diagn Pathol*. 2005;9(1):1-5.
  86. Lopez-Beltran A, Cheng L. Histologic variants of urothelial carcinoma: differential diagnosis and clinical implications. *Hum Pathol*. 2006;37(11):1371-1388.
  87. Watts KE, Hansel DE. Emerging concepts in micropapillary urothelial carcinoma. *Adv Anat Pathol*. 2010;17:182–6.
  88. Amin MB. Histological variants of urothelial carcinoma: diagnostic, therapeutic and prognostic implications. *Mod Pathol*. 2009;22(S2):S96-S118.
  89. Wang J, Wang FW. The natural history, treatment pattern, and outcomes of patients with micropapillary bladder carcinom. *Am J Clin Oncol*. 2015;38:472–8.
  90. Kamat AM, Dinney CPN, Gee JR, et al. Micropapillary bladder cancer: A review of the University of Texas M. D. Anderson Cancer Center experience

- with 100 consecutive patients. *Cancer*. 2007;110(1):62-67.
91. Millikan R, Dinney C, Swanson D, et al. Integrated therapy for locally advanced bladder cancer: final report of a randomized trial of cystectomy plus adjuvant M-VAC versus cystectomy with both preoperative and postoperative M- VAC. *J Clin Oncol*. 2001;19:4005–4013. *J Clin Oncol*. 2001;19(20):4005-4013.
  92. Ross JS, Wang K, Gay LM, et al. A High Frequency of Activating Extracellular Domain ERBB2 ( HER2 ) Mutation in Micropapillary Urothelial Carcinoma. 2014;20(1):68-76.
  93. Dent ED. Carcinosarcoma (“Collision Tumor”) of the Urinary Bladder. *J Urol*. 1955;74(1):104-108.
  94. Wright JL, Black PC, Brown GA, et al. Differences in Survival Among Patients With Sarcomatoid Carcinoma, Carcinosarcoma and Urothelial Carcinoma of the Bladder. *J Urol*. 2007;178(6):2302-2307.
  95. Wang J, Wang FW, Lagrange CA, Hemstreet GP, Kessinger A. Clinical features of sarcomatoid carcinoma (carcinosarcoma) of the urinary bladder: Analysis of 221 cases. *Sarcoma*. 2010;2010.
  96. Thiery JP. Epithelial–mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(6):442-454.
  97. Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies. *Curr Opin Cell Biol*. 2003;15(6):740-746.
  98. Grünert S, Jechlinger M, Beug H. Opinion: Diverse cellular and molecular mechanisms contribute to epithelial plasticity and metastasis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2003;4(8):657-665.
  99. Kalluri R, Neilson EG. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *J Clin Invest*. 2003;112(12):1776-1784.
  100. Trelstad RL, Hay ED, Revel JD. Cell contact during early morphogenesis in the chick embryo. *Dev Biol*. 1967;16(1):78-106.
  101. Greenburg G, Hay ED. Epithelia suspended in collagen gels can lose polarity and express characteristics of migrating mesenchymal cells. *J Cell Biol*. 1982;95(1):333-339.
  102. Larue L, Bellacosa A. Epithelial–mesenchymal transition in development and cancer: role of phosphatidylinositol 3' kinase/AKT pathways. *Oncogene*.

- 2005;24(50):7443-7454.
103. Kalluri R, Weinberg R a. Review series The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest.* 2009;119(6):1420-1428.
  104. Vleminckx K, Vakaet L, Mareel M, Fiers W, van Roy F. Genetic manipulation of E-cadherin expression by epithelial tumor cells reveals an invasion suppressor role. *Cell.* 1991;66(1):107-119.
  105. Onder TT, Gupta PB, Mani SA, Yang J, Lander ES, Weinberg RA. Loss of E-Cadherin Promotes Metastasis via Multiple Downstream Transcriptional Pathways. 2008;(10):3645-3655.
  106. Radisky ES, Radisky DC. Matrix metalloproteinase-induced epithelial-mesenchymal transition in breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2010;15(2):201-212.
  107. Liu J, Shen JX, Hu JL, Dou XW, Zhang GJ. Critical review Role of epithelial – mesenchymal transition in invasion and metastasis of breast cancers. 2013:1-6.
  108. Voulgari A, Pintzas A. Epithelial-mesenchymal transition in cancer metastasis: Mechanisms, markers and strategies to overcome drug resistance in the clinic. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer.* 2009;1796(2):75-90.
  109. Boyer B, Vallés AM, Edme N. Induction and regulation of epithelial-mesenchymal transitions. *Biochem Pharmacol.* 2000;60(8):1091-1099..
  110. Thiery JP, Morgan M. Breast cancer progression with a Twist. *Nat Med.* 2004;10(8):777-778.
  111. Kang Y, Massague J. Epithelial-Mesenchymal Transitions : Twist in Development and Metastasis. 2004;118:277-279.
  112. Blick T, Widodo E, Hugo H, et al. Epithelial mesenchymal transition traits in human breast cancer cell lines. *Clin Exp Metastasis.* 2008;25(6):629-642.
  113. Rosivatz E, Becker KF, Kremmer E, Schott C, Blechschmidt K, Hofler H, et al. Expression and nuclear localization of Snail, an E-cadherin repressor, in adenocarcinomas of the upper gastrointestinal tract. *Virchows Arch* 2006;448:277-87.
  114. Fondrevelle M, Kantelip B, Reiter RE, Chopin DK, Thiery JP, Monnier F, et al. The expression of Twist has an impact on survival in human bladder cancer and is influenced by the smoking status. *Urol Oncol* 2009;27:268-76.



115. Behzatoğlu K, Yörükoğlu K, Demir H, Bal N. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Overexpression in Micropapillary and Other Variants of Urothelial Carcinoma. *Eur Urol Focus*. 2016:1-6.
116. Zhau HE, Zhang X, Von Eschenbach AC, et al. Amplification and expression of the c-erb B-2/neu proto-oncogene in human bladder cancer. *Mol Carcinog*. 1990;3(5):254-257.
117. Nicholson R., Gee JM., Harper M. EGFR and cancer prognosis. *Eur J Cancer*. 2001;37:9-15.
118. Tschui J, Vassella E, Bandi N, et al. Morphological and molecular characteristics of HER2 amplified urothelial bladder cancer. *Virchows Arch*. 2015;466(6):703-710.
119. Caner V, Turk N Sen, Duzcan F, et al. No strong association between HER-2/neu protein overexpression and gene amplification in high-grade invasive urothelial carcinomas. *Pathol Oncol Res*. 2008;14(3):261-266.
120. Fleischmann A, Rotzer D, Seiler R, Studer UE, Thalmann GN. Her2 amplification is significantly more frequent in lymph node metastases from urothelial bladder cancer than in the primary tumours. *Eur Urol*. 2011;60(2):350-357.
121. Bellmunt J, Werner L, Bamias A, et al. HER2 as a target in invasive urothelial carcinoma. *Cancer Med*. 2015;4(6):844-852.
122. Laé M, Couturier J, Oudard S, Radvanyi F, Beuzeboc P, Vieillefond A. Assessing HER2 gene amplification as a potential target for therapy in invasive urothelial bladder cancer with a standardized methodology: Results in 1005 patients. *Ann Oncol*. 2009;21(4):815-819.
123. Gunes S, Yegin Z, Sullu Y, Buyukalpelli R, Bagci H. SOX4 expression levels in urothelial bladder carcinoma. *Pathol Res Pract*. 2011;207(7):423-427.
124. Hur W, Rhim H, Jung CK, et al. SOX4 overexpression regulates the p53-mediated apoptosis in hepatocellular carcinoma: Clinical implication and functional analysis in vitro. *Carcinogenesis*. 2010;31(7):1298-1307.
125. Geijsen N, Uings IJ, Pals C, et al. Cytokine-specific transcriptional regulation through an IL-5 $\alpha$  interacting protein. *Science* 2001;293:1136-8.
126. Lee CJ, Appleby VJ, Orme AT, Chan WI, Scotting PJ. Differential expression of SOX4 and SOX11 in medulloblastoma. *J Neurooncol*. 2002;57(3):201-214.

127. Frierson HF, El-Naggar AK, Welsh JB, et al. Large scale molecular analysis identifies genes with altered expression in salivary adenoid cystic carcinoma. *Am J Pathol.* 2002;161(4):1315-1323.
128. Liu P, Ramachandran S, Seyed MA, et al. Sex-determining region Y box 4 is a transforming oncogene in human prostate cancer cells. *Cancer Res.* 2006;66(8):4011-4019.
129. Castillo SD, Matheu A, Mariani N, et al. Novel transcriptional targets of the SRY-HMG box transcription factor SOX4 link its expression to the development of small cell lung cancer. *Cancer Res.* 2012;72(1):176-186.
130. Vervoort SJ, van Boxtel R, Coffey PJ. The role of SRY-related HMG box transcription factor 4 (SOX4) in tumorigenesis and metastasis: friend or foe? *Oncogene.* 2013;32(29):3397-3409.
131. Zhang J, Liang Q, Lei Y, et al. SOX4 induces epithelial-mesenchymal transition and contributes to breast cancer progression. *Cancer Res.* 2012;72(17):4597-4608.
132. Aaboe M, Birkenkamp-Demtroder K, Wiuf C, et al. SOX4 expression in bladder carcinoma: Clinical aspects and in vitro functional characterization. *Cancer Res.* 2006;66(7):3434-3442.
133. Kallioniemi OP, Wagner U, Kononen J, Sauter G. (2001) Tissue microarray technology for high-throughput molecular profiling of cancer. *Hum Mol Genet.* Apr;10(7):657-62.
134. Paliwal P, Arora D, Mishra A. Epithelial mesenchymal transition in urothelial carcinoma: Twist in the tale. *Indian J Pathol Microbiol.* 2012;55(4):443.
135. Stoyianni A, Goussia A, Pentheroudakis G, et al. Immunohistochemical study of the epithelial-mesenchymal transition phenotype in cancer of unknown primary: Incidence, correlations and prognostic utility. *Anticancer Res.* 2012;32(4):1273-1281.
136. Wang B, Li Y, Tan F, Xiao Z. Increased expression of SOX4 is associated with colorectal cancer progression. *Tumor Biol.* 2016;37(7):9131-9137.
137. Linder BJ, Boorjian SA, Cheville JC, et al. The Impact of Histological Reclassification during Pathology Re-Review—Evidence of a Will Rogers Effect in Bladder Cancer? *J Urol.* 2013;190(5):1692-1697.
138. Compérat E, Roupret M, Yaxley J, et al. Micropapillary urothelial carcinoma

- of the urinary bladder: a clinicopathological analysis of 72 cases. *Pathology*. 2010;42(7):650-654.
139. Sanfrancesco J, McKenney JK, Leivo MZ, Gupta S, Elson P, Hansel DE. Sarcomatoid urothelial carcinoma of the bladder: Analysis of 28 cases with emphasis on clinicopathologic features and markers of epithelial-to-mesenchymal transition. *Arch Pathol Lab Med*. 2016;140(6):543-551.
  140. Ikegami H, Iwasaki H, Ohjimi Y, Takeuchi T, Ariyoshi a, Kikuchi M. Sarcomatoid carcinoma of the urinary bladder: a clinicopathologic and immunohistochemical analysis of 14 patients. *Hum Pathol*. 2000;31(3):332-340.
  141. Wasco MJ, Daignault S, Zhang Y, et al. Urothelial Carcinoma with Divergent Histologic Differentiation (Mixed Histologic Features) Predicts the Presence of Locally Advanced Bladder Cancer When Detected at Transurethral Resection. *Urology*. 2007;70(1):69-74.
  142. Johansson SL, Borghede G, Holmang S. Micropapillary bladder carcinoma: a clinicopathological study of 20 cases. *J Urol*. 1999;161(6):1798-1802.
  143. Oka H, Shiozaki H, Kobayashi K, et al. Immunohistochemical evaluation of Ecadherin adhesion molecule expression in human gastric cancer. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1992;421:149–156.
  144. Oka H, Shiozaki H, Kobayashi K, et al. Expression of E-cadherin cell adhesion molecules in human breast cancer tissues and its relationship to metastasis. *Cancer Res*. 1993;53(7):1696-1701.
  145. Schipper JH, Frixen UH, Behrens J, Unger A, Jahnke K, Birchmeier W. E-cadherin expression in squamous cell carcinomas of head and neck: inverse correlation with tumor dedifferentiation and lymph node metastasis. *Cancer Res*. 1991;51(23 Pt 1):6328-6337.
  146. Umbas R, Schalken JA, Aalders TW, et al. Expression of the cellular adhesion molecule E-cadherin is reduced or absent in high-grade prostate cancer. *Cancer Res*. 1992;52(18):5104-5109.
  147. Sun W, Herrera GA. E-cadherin expression in invasive urothelial carcinoma. *Ann Diagn Pathol*. 2004;8(1):17-22.
  148. Kadowaki T, Shiozaki H, Inoue M, et al. E-cadherin and alpha-catenin expression in human esophageal cancer. *Cancer Res* 1994;54:291–296.

149. Kinsella AR, Lepts GC, Hill CL, Jones M. Reduced E-cadherin expression correlates with increased invasiveness in colorectal carcinoma cell lines. *Clin Exp Metastasis*. 1994;12(4):335-342.
150. Sun L. Prognostic significance of the epithelial-to-mesenchymal transition markers e-cadherin, vimentin and twist in bladder cancer. *Int Braz J Urol*. 2014;40(2):179-189.
151. Singh R, Ansari JA, Maurya N, Mandhani A, Agrawal V, Garg M. Epithelial-to-mesenchymal transition and its correlation with clinicopathological features in patients with urothelial carcinoma of the bladder. *Clin Genitourin Cancer*. 2016;15(2):e187-e197.
152. Lim MG, Adsay NV, Grignon DJ, Osunkoya AO. E-cadherin expression in plasmacytoid , signet ring cell and micropapillary variants of urothelial carcinoma : comparison with usual-type high-grade urothelial carcinoma. *Mod Pathol*. 2010;24(2):241-247.
153. Maranchie JK, Bouyounes BT, Zhang PL, O'Donnell M a, Summerhayes IC, DeWolf WC. Clinical and pathological characteristics of micropapillary transitional cell carcinoma: a highly aggressive variant. *J Urol*. 2000;163(3):748-751.
154. Guzińska-Ustymowicz K, Niewiarowska K, Pryczynicz A. Invasive micropapillary carcinoma: A distinct type of adenocarcinomas in the gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol*. 2014;20(16):4597-4606.
155. Garcia del Muro X, Torregrosa a, Muñoz J, et al. Prognostic value of the expression of E-cadherin and beta-catenin in bladder cancer. *Eur J Cancer*. 2000;36(3):357-362.
156. Lascombe I, Clairotte A, Fauconnet S, et al. N-Cadherin as a Novel Prognostic Marker of Progression in Superficial Urothelial Tumors. *Clin Cancer Res*. 2006;12(9):2780-2787.
157. Jäger T, Becker M, Eisenhardt A, et al. The prognostic value of cadherin switch in bladder cancer. *Oncol Rep*. 2010;23(4):1125-1132.
158. Abufaraj M, Haitel A, Moschini M, et al. Prognostic Role of N-cadherin Expression in Patients With Invasive Bladder Cancer. *Clin Genitourin Cancer*. 2017:1-6.
159. Olsson H, Fyhr I-M, Hultman P, Jahnson S. HER2 status in primary stage T1

- urothelial cell carcinoma of the urinary bladder. *Scand J Urol Nephrol*. 2012;46(2):102-107.
160. Chen PC, Yu HJ, Chang YH, Pan CC. Her2 amplification distinguishes a subset of non-muscle-invasive bladder cancers with a high risk of progression. *J Clin Pathol*. 2013;66:113–9 .
161. Latif Z, Watters AD, Dunn I, Grigor K, Underwood MA, Bartlett JMS. HER2/neu gene amplification and protein overexpression in G3 pT2 transitional cell carcinoma of the bladder: a role for anti-HER2 therapy?
162. Dyrskjøt L, Ostenfeld MS, Bramsen JB, et al. Genomic profiling of microRNAs in bladder cancer: miR-129 is associated with poor outcome and promotes cell death in vitro. *Cancer Res*. 2009;69(11):4851-4860.
163. Wang X, MacLennan GT, Zhang S, et al. Sarcomatoid carcinoma of the upper urinary tract: clinical outcome and molecular characterization. *Hum Pathol*. 2009;40(2):211-217.