TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ÜROTELYAL KARSİNOM VARLIĞI SAPTANMIŞ VE ARDINDAN BACİLLUS CALMETTE-GUERİN TEDAVİSİ UYGULANAN OLGULARDA TEDAVİ ÖNCESİ VE SONRASI STAT3, PD-L1 VE PD-L2'NİN EKSPRESYONLARINDAKİ DEĞİŞİMLERİN PROGNOSTİK DEĞERİ

DR. AZİZ HAKKI CİVRİZ

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ

2022





TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ÜROTELYAL KARSİNOM VARLIĞI SAPTANMIŞ VE ARDINDAN BACİLLUS CALMETTE-GUERİN TEDAVİSİ UYGULANAN OLGULARDA TEDAVİ ÖNCESİ VE SONRASI STAT3, PD-L1 VE PD-L2'NİN EKSPRESYONLARINDAKİ DEĞİŞİMLERİN PROGNOSTİK DEĞERİ

DR. AZİZ HAKKI CİVRİZ

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı
DOÇ. DR. BÜŞRA YAPRAK BAYRAK

Etik Kurulu Proje No: 2022/03,
Karar No: KÜ GOKAEK-2022/01.07

2022

TEŞEKKÜR

Patoloji uzmanlık eğitimimde çalışkanlığı ve azmi ile patolojiye dair güzel bir vizyon kazanmamda rol sahibi olan, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman saygıyla ve sevgiyle anacağım tez danışmanım, değerli hocam Doc. Dr. Büşra YAPRAK BAYRAK'a, asistanlıktan hocalığa, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Anabilim dalında tüm basamakları tırmanmış, kıymetli hocam, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sevgiye KAÇAR ÖZKARA'ya; bilgisiyle ve enerjisiyle bölümümüzün gülen yüzü, sevgili hocam Prof. Dr. Çiğdem VURAL'a; kibarlığıyla, hoşgörüsüyle ve çalışkanlığıyla bize her zaman örnek olan değerli hocam Doc. Dr. Gupse TURAN'a; patolojiye olan sevgisi ve tecrubesiyle her zaman yol gösterici olan kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Tuğrul ERUYAR'a; dinamizmi ve bölümümüze kattığı değerle patolojinin aydınlık yüzü olan sevgili hocam Dr. Öğr. Üyesi Seda DUMAN ÖZTÜRK'e; birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk ve onur duyduğum çok kıymetli asistan arkadaşlarıma; yardımlarını ve güler yüzlerini esirgemeyen teknisyenlerimize, sekreterlerimize ve diğer tüm çalışma arkadaşlarıma, hayatımın ve eğitimimin her anında yanımda olan, bugünlere gelmemde en büyük emek ve özveriyi gösteren sevgili aileme, en sevdiğim çalışma arkadaşım ve patolojinin bana kazandırdığı en büyük değer olan sevgili eşim Esra'ya ve oğlumuz Mehmet Umut'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Aziz Hakkı CİVRİZ
Eylül 2022
Kocaeli

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i
İÇİNDEKİLER ii
KISALTMALAR DİZİNİ iv
RESİMLER DİZİNİ v
ŞEKİLLER DİZİNİ vi
TABLOLAR DİZİNİ vii
1. GİRİŞ ve AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Mesane Embriyolojisi, Histolojisi ve Anatomisi 3
2.1.1. Mesane Embriyolojisi 3
2.1.2. Mesane Anatomisi 3
2.1.3. Mesane Histolojisi 4
2.1.3.1. Epitelyum 4
2.1.3.2. Lamina Propria 5
2.1.3.3. Muskularis Propria 6
2.1.3.4. Adventisya/Seroza 7
2.2. Mesane Tümörleri 8
2.2.1. Epidemiyoloji 8
2.2.2. Etiyoloji 9
2.2.3. Makroskopi 9
2.2.4. Mikroskopi 9
2.2.5. İmmünohistokimya 14
2.2.6. Moleküler Patoloji ve Genetik 15
2.2.7. Evreleme 15
2.2.7.1. T Komponenti 16
2.2.7.2. N Komponenti 17
2.2.7.3. M komponenti 17
2.3. Kas invaziv olmayan mesane karsinomları 19
2.3.1. Sınıflama 20
2.3.2. Hastalık Yönetimi 21
2.3.2.1. Sigara Bırakma Danışmanlığı 21
2.3.2.2. Adjuvan Tedaviler 21
2.3.3. Takip 22
2.3.4. Mesane Kanserlerinde Prognostik Belirteçler 23
2.4. BCG Tedavisi 24
2.4.1. Endikasyonu ve Epidemiyolojisi 24
2.4.2. Etki Mekanizmaları 24
2.4.2.1. Doğrudan Sitotoksik Etki 24
2.4.2.2. İmmün Yanıt 25
2.4.3. Yan Etkileri 26
2.5. PD-1, PD-L2 ve Klonları 26
2.6. STAT3 33
3. GEREÇ ve YÖNTEM 38
3.1. Çalışmanın Evreni ve Olgu Seçimi 38
3.2. Çalışmanın Tipi/Türü 38

3.3. Araştırmaya Alınma ve Dışlanma Kriterleri ... **38**
3.4. Veri Toplama Araçları ve Yöntemi ... **38**
3.5. Hematoksilen & Eosin Değerlendirme ... **39**
3.6. İmmünohistokimyasal Boyama ... **40**
3.7. İmmünohistokimyasal Değerlendirme ... **40**
3.7.1. PD-L1 ... 40
3.7.2. PD-L2 ... 42
3.7.3. STAT3 ... 44
3.8. İstatistiksel Analiz ... **45**
4. BULGULAR ... 46
4.1. Tüm Hastaların Demografik ve Klinikopatolojik Verileri ... **46**
4.2. BCG Tedavisi Yanıtına Göre Hastaların Demografik ve Klinikopatolojik Verileri ... **53**
4.3. BCG Refrakter Olguların Demografik ve Klinikopatolojik Verileri ... **57**
4.4. Tüm Hastaların İmmunohistokimyasal Bulgularının Korelasyon Analizleri ... **63**
4.5. BCG Refraktör Olguların İmmunohistokimyasal Bulgularının Korelasyon Analizleri ... **66**
5. TARTIŞMA ... 69
6. SONUÇ ve ÖNERİLER ... 77
7. ÖZET ... 79
8. SUMMARY ... 81
9. KAYNAKLAR ... 83

KISALTMALAR DİZİNİ

ADCC : Antikora bağımlı hücresel sitotoksisite

APC : Antijen sunan hücre

BCG : "Bacillus Calmette-Guérin"

CTL : Sitotoksik T hücreleri

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

FDA : Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

FGFR : "Fibroblast Growth Factor"

H-E : Hematoksilen – eozin

HG : High grade

GA : Güven aralığı

İS : İmmün skor

iNOS : indüklenebilir nitrik oksit sentetaz

KİS : Karsinoma in-situ

KS : Kombine skor

LG : Low grade

LP : Lamina Propria

MSF : Makrofaj salgılama faktörü

NK : Doğal öldürücü

NO : Nitrik oksit

PD-L : Programmed Cell Death Ligand

PRR : Patern tanıma reseptörü

SD : Standart deviasyon (standart sapma)

SHK : Skuamöz hücreli karsinom

STAT : Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü

TİİH : Tümörü infiltre eden inflamatuar hücre

TİL : Tümörü infiltre eden lenfosit

TRAIL : Tümör nekroz faktör ilişkili apoptotik ligand

TS : Tümör skoru

TUR : Transüretral rezeksiyon

RESİMLER DİZİNİ

Resim 2. 1. Normal ürotelyal epitelyum tabakası (H&E x200). 5

Resim 2. 2. Displastik ürotelyumun altında normal lamina propria tabakası (H&E x200). . 6

Resim 2. 3. Transüretral rezeksiyon materyalinde muskularis propria (H&E x100). 7

Resim 2. 4. Seroza: Yağ dokusu ve bağ dokudan zengin, damarlar, sinirler, lenfatikler ve inflamatuar hücreler (H&E x40)..... 8

Resim 2. 5. Düşük dereceli papiller ürotelyal karsinom (H&E 200). 10

Resim 2. 6. Yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinomda belirgin nükleer pleomorfizm (H&E 400). 11

Resim 2. 7. İnvaziv ürotelyal karsinomda invazyon paternleri (H&E x200 ve x400). 12

Resim 2. 8. Yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinomda skuamöz diferansiyasyon (H&E 400). 13

Resim 2. 9. İnvaziv yüksek dereceli ürotelyal karsinomda desmoplazi (H&E 200). 14

Resim 2. 10. Plasental dokuda PD-L1(+) ve (-) hücreler (PD-L1 x200). 28

Resim 2. 11. İmmünohistokimyasal olarak çoğu sitoplazmik STAT3 boyanması, seyrek hücrede güçlü nükleer boyanma (STAT3 x200). 35

Resim 3. 1. Düşük evreli tümörü infiltre eden inflamatuar hücre yüzdesi (sol, 1.Grup, H&Ex200); yüksek evreli tümörü infiltre eden inflamatuar hücre yüzdesi (sağ, 3.Grup, H&Ex400) 40

Resim 3. 2. PD-L1 ile Tümör hücrelerinin %80'inde, TİİH'de %0'ında boyanma (PD-L1, x200). 41

Resim 3. 3. PD-L1 ile Tümör hücrelerinin %0'ında, TİİH'de %30'unda boyanma (PD-L1, x200)..... 42

Resim 3. 4. PD-L2 ile Tümör hücrelerinin %70'ide, TİİH'de %0'ında boyanma (PD-L2, x200). 43

Resim 3. 5. PD-L2 ile Tümör hücrelerinin %0'ında, TİİH'de %10'unda boyanma (PD-L2, x200). 44

Resim 3. 6. STAT3 ile düşük ve yüksek nükleer boyanma (STAT3, x200 ve x100) 45

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Erkek mesanesi anatomisi ve organ komşulukları 4
Şekil 2. 2. B7–CD28–CTLA-4 Yardımcı Uyarıcı Moleküller ve PD-1'in yapısı 27
Şekil 2. 3. T hücresi aktivasyonunun baskılanmasında programlanmış hücre ölümü (PD) ve Sitotoksik T lenfosit antijen-4 (CTLA-4) yolu. 29
Şekil 2. 4. PD-1/PD-L1'in aracılık ettiği tümör bağışıklığına karşı uyarlanabilir direnç. ... 31
Şekil 2. 5. PD-L1 için kullanılan farklı skorlama örnekleri. 33
Şekil 2. 6. STAT3'ün moleküler yapısı 34
Şekil 2. 7. STAT3'ün IL-6, IL10 ve VEGF ile tümör mikroçevresi düzenlemesi 36

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2. 1. AJCC-8'e göre Mesane Karsinomu İçin Primer Tümör Sınıflaması (T) 16
Tablo 2. 2. AJCC-8'e göre Mesane Karsinomu İçin Bölgesel Lenf Nodülü Sınıflaması (N) 17
Tablo 2. 3. AJCC-8'e göre Mesane Karsinomu İçin uzak metastaz sınıflaması (M) 18
Tablo 2. 4. AJCC-8 Prognostik Evre Gruplar 18
Tablo 2. 5. Risk Grupları 20
Tablo 2. 6. Bacillus Calmette-Guérin (BCG) başarısızlığında tedavi seçenekleri 21
Tablo 2.7. Ürotelyal karsinom için klonlara göre skorlama sistemleri ve kesme değerleri[56] 32
Tablo 3. 1. İmmünohistokimyasal çalışmada kullanılan antikorların özellikleri 40
Tablo 4. 1. Hastaların demografik ve klinik verileri 46
Tablo 4. 2. Hastaların patolojik verileri 47
Tablo 4. 3. Hastaların demografik ve klinik verilerinin tümör evresine göre karşılaştırması 49
Tablo 4. 4. Hastaların patolojik verilerinin tümör evresine göre karşılaştırılması 50
Tablo 4. 5. Hastaların immunohistokimyasal verilerinin tümör evresine göre karşılaştırılması 52
Tablo 4. 6. Hastaların demografik ve klinik verilerinin BCG tedavi yanıtına göre karşılaştırması 54
Tablo 4. 7. Hastaların patolojik verilerinin BCG tedavi yanıtına göre karşılaştırılması 55
Tablo 4. 8. Hastaların immunohistokimyasal verilerinin BCG tedavi yanıtına göre karşılaştırılması 56
Tablo 4. 9. BCG refrakter olguların demografik ve klinik verilerinin tümör evresine göre karşılaştırması 58
Tablo 4. 10. BCG refrakter olguların patolojik verilerinin tümör evresine göre karşılaştırılması 59
Tablo 4. 11. BCG refrakter olguların immunohistokimyasal verilerinin tümör evresine göre karşılaştırılması 60
Tablo 4. 12. Hastaların BCG tedavisi yanıtına ve PD-L1 ifadesine göre dağılımları 62
Tablo 4. 13. BCG tedavisi başarısız olan olguların tedavi öncesi ve sonrası PD-L1 ifadesine göre dağılımları 62
Tablo 4. 14. Tüm hastalarda PD-L1 ekspresyon durumları ile tümör histolojik evrelerinin ilişkisi 63
Tablo 4. 15. Tüm hastalarda PD-L1 tümör skorunun %1 eşik değerine göre TİİH ve STAT3 ile ilişkisi 64
Tablo 4. 16. Tüm hastalarda PD-L1 immün skorunun %1 eşik değerine göre TİİH ile ilişkisi 65

Tablo 4. 17. Tüm hastalarda PD-L1 skorunun korelasyon analizleri 65
Tablo 4. 18. Tüm hastalarda PD-L2 skorunun korelasyon analizleri 66
Tablo 4. 19. BCG refrakter olguların PD-L1 skorunun korelasyon analizleri 66
Tablo 4. 20. BCG refrakter olguların PD-L2 skorunun korelasyon analizleri 67
Tablo 4. 21. BCG refrakter olguların STAT3 skorunun korelasyon analizleri 68

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Mesane karsinomları üriner sistemin en sık görülen neoplazmıdır. Ürotelyal kökenli neoplastik hücrelerden köken alan ürotelyal karsinom, mesane tümörlerinin ek yaygın histolojik alt tipidir (yaklaşık %90).[1] Bu karsinomların büyük kısmını kasa invaze olmayan (evre Ta, Tis, T1) yüzeyel ürotelyal karsinomalar oluşturur.[2] Bu tümörler kasa invaziv olmayan mesane tümörleri olarak adlandırılır ve konservatif yöntemlerle tedavi edilebilmeleri oldukça önemlidir.[3]

Bu tümörlerin tedavisinde ilk basamak transüretral rezeksiyondur. Yüksek riskli kas invaziv olmayan tümörlerde TUR sonrası intravezikal Bacillus-Calmette-Guérin (BCG) uygulaması altın standart tedavi yaklaşımıdır. BCG, immün yanıt oluşturması ve doğrudan sitotoksik etki gibi birçok farklı mekanizma ile etkisini gösteren ve kanser tedavisi için kullanılan ilk immünoteropötik ajandır. Ancak bu tedavilere rağmen hastaların %30-45'inde tedavisi başarısız olmakta, rekürrens veya progresyon gelişmektedir. Bu durum, yeni tedavilerin gündeme gelmesini zorunlu kılmıştır. [4]

Yakın zamanda kanser ile savaşta yeni tedavi yaklaşımları gündeme gelmiştir. Bunların başında da immünoterapi gelmektedir. Tümör hücrelerinin bağışıklık sistemini kandırarak hayatta kalması tümör gelişmesi ve progresyonu açısından oldukça önemlidir. İmmün sistemden kurtulmanın yollarından biri Programmed Cell Death Ligand 1 (PD-L1) ve Programmed Cell Death Ligand 2 (PD-L2) yolağı üzerinden olmaktadır. PD-L1 ve PD-L2, inflamatuar hücrelerde ve inflamatuar hücrelerin öldürücü etkilerinden kaçmayı amaçlayan tümör hücre membranlarında eksprese edilen bir glikoproteindir.[5] Bu yolağın keşfinden sonra bu yolağın blokajı ile yeni tedavi yöntemleri denenmiş ve başarılı sonuçlar alınmıştır. Uzun yıllardır BCG immünoterapisi kullanılan mesane kanserleri için ise bu tedavi yöntemi BCG refrakter olgular için umut ışığı olmuştur. Ancak PD-L1 ve PD-L2 ekspresyonlarının ürotelyal karsinomlarda prognostik etkilerinin tanımlanması henüz yapılamamıştır.

Hemen hemen tüm memeli hücrelerinin sitoplazmasında keşfedilen sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) ailesinin bir üyesi olan STAT3 biyolojik fonksiyonlarda önemli bir rol oynar.[6] Normal dokularda STAT3 aktivasyonunun süresi geçici bir olaydır ve sıkı bir şekilde düzenlenir. Ancak kanser dokularında STAT3 anormal

bir şekilde aktive edilir ve belirli sitokinler tarafından indüklenir.[7] STAT3'ün sürekli aktivasyonu, kanserlerin oluşumu, ilerlemesi ve metastazı ile ilişkili bazı proteinlerinin ekspresyonunu düzenler. Bu nedenle, STAT3 düzenleme mekanizmalarını aydınlatmak ve bu yolu hedefleyen inhibitörleri tasarlamak, kanser tedavisi için umut verici stratejiler olarak kabul edilir. Yüksek fosforillenmiş STAT3 ekspresyonu, çeşitli kanser türlerinde kötü prognoz ile ilişkilidir.[8] Bu bilgiler ışığında, mesane kanserlerinde kullanılan, etki mekanizmalarından biri interlökinler olan BCG tedavisinin STAT3 ile ilişkisi ve nüks/progresyon durumunun belirlenmesi araştırılmaya değerdir.

Çalışmamızda kas invaziv olmayan mesane kanserlerinin BCG tedavisine yanıtta PD-L1 ve PD-L2 aracılı immün kaçış mekanizmalarının rolünü birlikte araştırılması ve immün mekanizmalar ile yakın ilişkili olan STAT3'ün bu belirteçlerle ve nüks ile ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Hipotezlerimiz;

- BCG tedavisi öncesi saptanan PD-L1, PD-L2 ve STAT3 ekspresyon düzeylerinin, kasa invaziv olmayan ürotelyal karsinom hastalarının tümör evreleriyle ve hastalığın kötü prognozuyla ilişkili olması,
- BCG tedavi öncesi PD-L1, PD-L2 ve STAT3 ekspresyon düzeylerinin nüksü öngörebilen parametreler olması,
- BCG tedavi öncesi ve sonrası PD-L1, PD-L2 ve STAT3 ekspresyon düzeylerinin aralarındaki ilişkilerin farklılık göstermesidir.

2. GENEL BİLGİLER

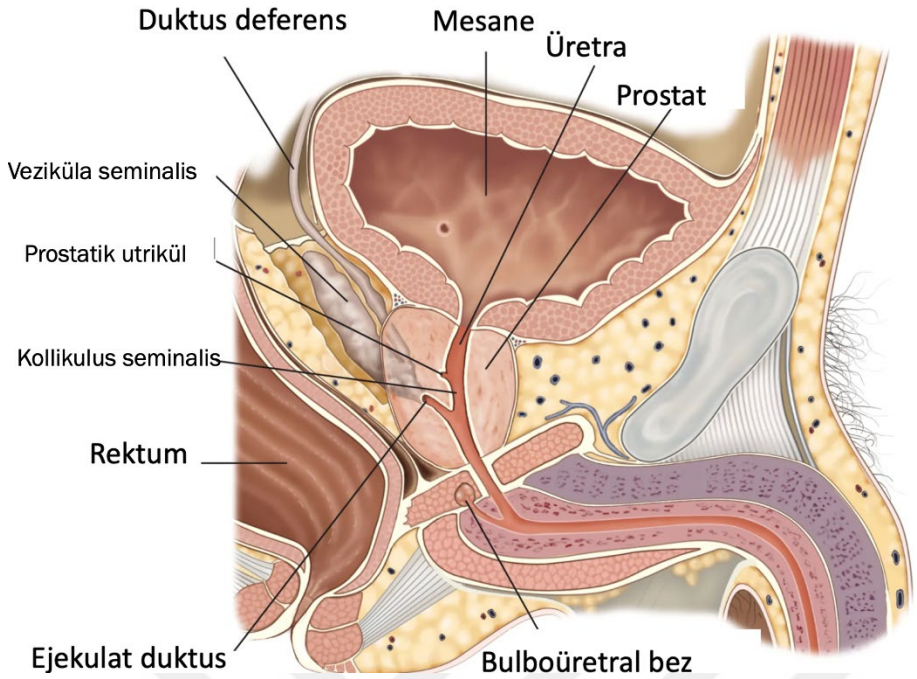
2.1. Mesane Embriyolojisi, Histolojisi ve Anatomisi

2.1.1. Mesane Embriyolojisi

Mesane embriyolojisi birkaç embriyonel elemanın ekileşimiyle oluşan karmaşık bir süreçtir. Embriyonel katlanma sırasında yolk sac, embriyonel disk tarafından sarılır ve Foregut, midgut ve hindgut meydana gelir. Bu yapının hindgut kısmından kloaka oluşur. Bu yapı, üriner ve alt gastrointestinal sistemin (anorektal bölge) geliştiği bölgedir. Kloaka dördüncü haftada oluşan bir septum vasıtasıyla ikiye bölünür. Böylelikle ön tarafta kalan kısımdan ürogenital sinüs, arka tarafta kalan kısımdan ise anorektal bölge oluşarak gastrointestinal sistem ve üriner sitem birbirinden ayrışmış olur.[9]

2.1.2. Mesane Anatomisi

Mesane anatomisine bakıldığında; ters piramit şeklinde olan bu organın üst kısmı geniş, alt kısmı daha dar olduğu dikkati çekmektedir. Boşken intrapelvik yerleşimli iken, idrar ile dolduğunda büyüyerek pelvis dışına doğru yönelim gösterir. Önünde symphisis pubis bulunan mesanenin arkasında kadınlarda; vajen, serviks ve uterus, erkeklerde ise; ampulla duktus deferens bulunur (Şekil 2.1). Mesanenin yalnızca kubbe kısmı periton ile örtülüdür.[10]



Şekil 2. 1. Erkek mesanesi anatomisi ve organ komşulukları[11]

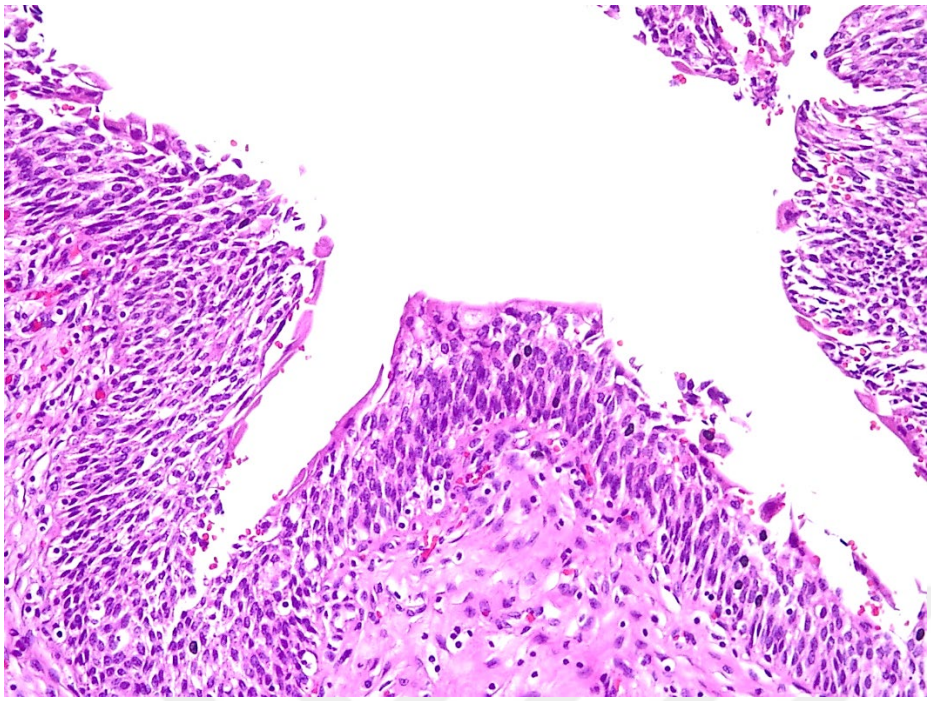
2.1.3. Mesane Histolojisi

Mesane histolojik olarak içten dışa doğru; epitelyum, lamina propria, muskularis propria, adventisya/seroza olmak üzere 4 ana tabakadan oluşur.[12]

2.1.3.1. Epitelyum

Mesane, üreter, üretranın bir kısmı ve böbrek pelvisi döşeyen epitelyum tabakası, değişici epitelyum veya ürotelyum olarak isimlendirilir. Bu epitel, beş ile yedi hücre kalınlığında, üç katmana bölünmüş özel bir epiteldir (Resim 2.1). Üç ana katmana ayrılarak incelenebilir. Bu katmanlar; apikal, ara ve bazal katmandır. [13]

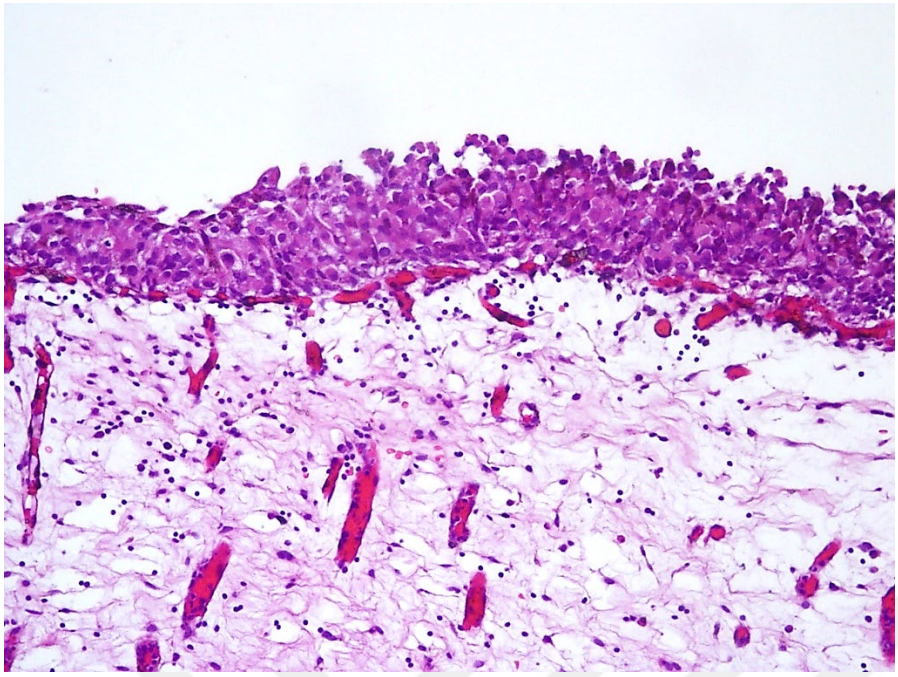
Apikal katman, yalnızca şemsiye hücrelerden oluşan, idrara direkt temas eden, kalın bir hücre katmanıdır. Bu tabakayı oluşturan özelleşmiş epitel hücreleri 'şemsiye hücreleri' olarak isimlendirilir. Ürotelyum, kan ile idrar arasında bariyer olmak dışında, dış uyaranları algılayan, çeşitli aracıları serbest bırakan ve böylece düz kas tonusunu ve mesane duvarındaki diğer hücre tiplerinin işlevini değiştiren oldukça aktif bir hücre tabakasıdır.[13]



Resim 2. 1. Normal ürotelyal epitelyum tabakası (H&E x200).

2.1.3.2. Lamina Propria

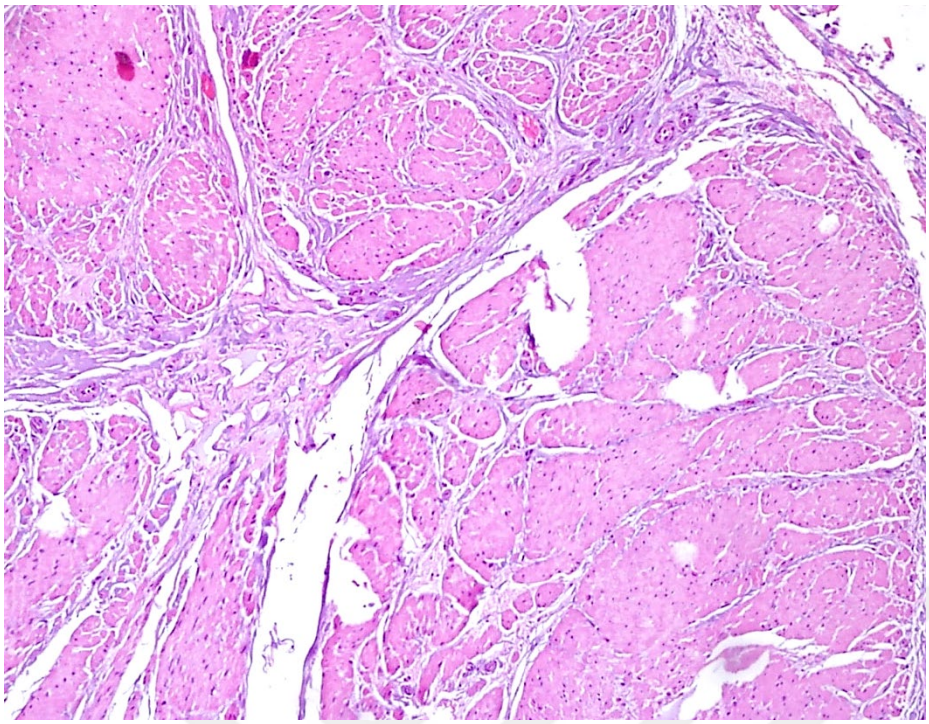
Üroepitelin bazal membranı ile muskularis propria arasında kalan bu tabakada, elastik lifler, kılcal damarlar, lenfatikler, inflamatuar hücreler, aferent ve eferent sinir uçları, fibroblastlar, miyofibroblastlar, adipositler, Cajal'in interstisyel hücreleri, telositler, muskularis mukoza gibi birçok komponentten oluşur [12] (Resim 2.2). Bu tabaka mesane fonksiyonlarının düzenlenmesi, immün savunma oluşturulması, beslenme gibi önemli görevleri üstlenmektedir.



Resim 2. 2. Displastik ürotelyumun altında normal lamina propria tabakası (H&E x200).

2.1.3.3. Muskularis Propria

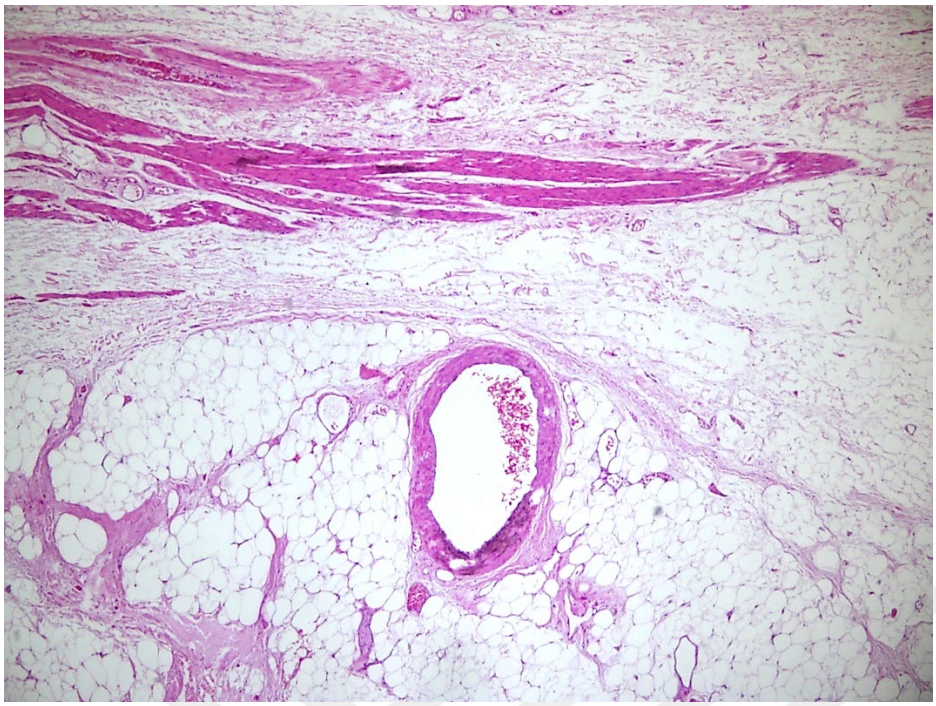
Klinikte ‘detrussor kas’ olarak da bilinen, mesane duvar kalınlığının büyük kısmını oluşturan, histolojik olarak düz kas yapısında olan kas grubudur. Temelde 3 kattır: en içte longitudinal, ortada dairesel, en dışta tekrar longitudinal tabaka mevcuttur. Bu yapısı, idrar için rezervuar görevi gören mesanenin gevşemesi ve etkili bir boşaltım fonksiyonu için gereklidir. Muskularis proprianın bir diğer klinik önemi ürotelyal karsinomlarda tümör evrelemesindeki rolüdür. Muskularis propria invazyonu güncel evreleme sistemine göre ‘T2’ kabul edilir ve bu tümörler ‘kas invaziv tümörler’ olarak adlandırılırlar. Bu nedenle transüretral rezeksiyon (TUR-M) materyellerinde, muskularis mukoza ile ayrımı oldukça önemlidir. Muskularis mukoza daha yüzeyel ve daha ince kas grubudur. sıklıkla vaskuler pleksusla ilişkili olmasına karşın; muskularis propria daha derinde, daha kalın, kas lifleri farklı yöne uzanım gösteren kas grubudur [14] (Resim 2.3). Bazı durumlarda bu ayrım net olarak yapılamamakla birlikte; vimentin, smoothelin gibi immünohistokimyasal belirteçler bu ayrımda fayda sağlayabilir. [15]



Resim 2. 3. Transüretral rezeksiyon materyalinde muskularis propria (H&E x100).

2.1.3.4. Adventisya/Seroza

Mesanenin bu tabakası muskularis proprianın dışını kaplayan, yağ dokusu ve bağ dokudan oluşan, mesanenin beslenmesiyle ilgili damarlar, innervasyonuyla ilgili sinirler, lenfatikler ve inflamatuar hücreleri barındıran kısımdır (Resim 2.4). Adventisyanın gevşek, yağ dokudan zengin yapısı lümenli, kasılıp gevşeyebilen bir organ olan mesanenin daha rahat hareket etmesine yardımcı olmakla birlikte travmalara karşı da koruyucu etki sağlar.



Resim 2. 4. Seroza: Yağ dokusu ve bağ dokudan zengin, damarlar, sinirler, lenfatikler ve inflamatuar hücreler (H&E x40).

2.2. Mesane Tümörleri

2.2.1. Epidemiyoloji

Mesane tümörleri, GLOBOCAN 2020 verilerine göre her iki cinsiyette tüm sistem tümörlerinin %3'ünü oluşturur.[16] Kadınlarda %1,6 oranında görülen bu tümörün erkeklerde görülme oranı ise %4,4'tür. Bu tümör her iki cinsiyet için kansere bağlı mortalitelerinin %2'sini oluştururken; bu oran erkeklerde %2.9, kadınlarda %1,1 olarak belirlenmiştir.[17]

Türkiye'de ise bu tümörün diğer tümörler arasındaki insidansı 12.248 vaka ile %5,2 olarak belirlenmiştir. 3771 olgu ise mortal seyrederek diğer tümörler içerisinde mortalite oran %3 olarak belirlenmiştir. [18] Bu bulgularla Türkiye'de en sık görülen 6. tümör olan mesane kanserleri, mortalite sıralamasında rektum kanserlerinin ardından 11. sıraya yerleşmiştir.[19]

2.2.2. Etiyoloji

Mesane tümörleri farklı sebeplere bağlı olarak oluşabileceği gibi genetik yatkınlık da bilinen bir etkendir. Lynch sendromu, gastrointestinal sistem tümörleri ile ilişkisinin dışında birçok farklı organ tümörleriyle de ilişkilidir ve mesane kanserlerinin de bu sendromla ilişkisini ortaya koyan çalışmalar mevcuttur.[20]

Sigara ve mesane kanseri ilişkisi uzun süredir bilinmektedir. Sigaranın mesane üzerindeki kanserojen etkisinin, aromatik aminler gibi metabolitlerle DNA hasarlanmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.[21] Bu metabolitler yalnızca sigara maruziyetinde değil, bazı mesleki maruziyetlerde de mesane tümörlerine sebep olabilmektedir.

Çeşitli enfeksiyonlar veya kateter, taş gibi kronik mesane irritasyon sebepleri de mesane tümörlerine yatkınlık oluşturabilir. Uzun süredir bilindiği gibi *Schistosoma haematobium* enfestasyonu, mesane kanseri sebeplerindendir ve genellikle skuamoz hücreli karsinom tipinde kanserler oluşturur.[22]

2.2.3. Makroskopi

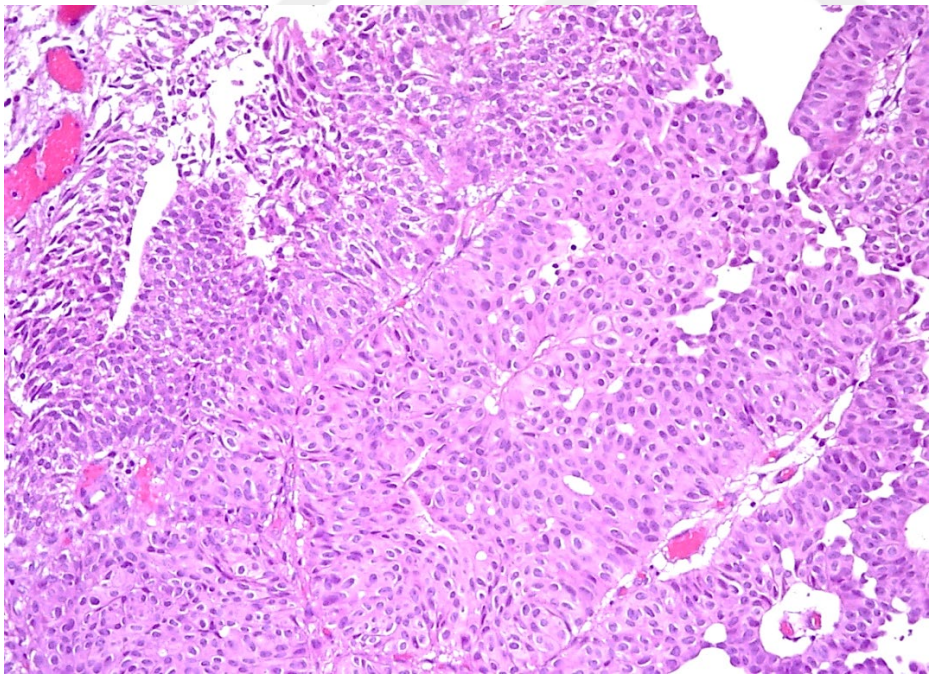
Ürotelyal karsinomlar bej renkli, oldukça frajil yapıda tümörler olup, bazen sarı renkli nekrotik alanlar da barındırırlar. Bunun yanında sarkomatoid diferansiyasyon var ise kesit yüzü miksoid, kanamalı görünümde olabilir. Tümöre komşu alanlarda hiperemik-kırmızı alanlar ise karsinoma in-situ ile ilişkilidir.[1]

2.2.4. Mikroskopi

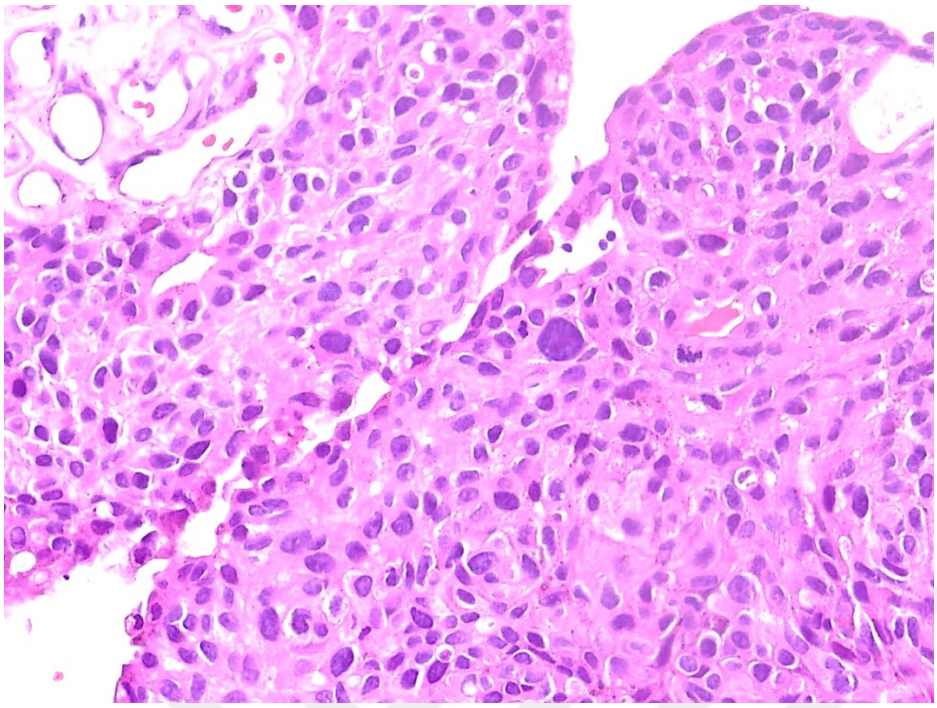
Mesanedeki malign tümörlerin %98 ini değişici epitel kaynaklı ürotelyal karsinomlar oluşturur.[23] Skuamoz hücreli karsinom, adenokarsinom, küçük hücreli karsinom gibi diğer tümörler ise daha nadir görülürler. Değişici epitel hücre kökenli tümörler invaziv ve non-invaziv tümörler olarak sınıflandırılırlar. İnvaziv tümörler, mikrokistik, mikropapiller, lenfoepitelyoma benzeri tip gibi farklı paternlerde karşımıza çıkabilmektedir. Non-invaziv tümörler ise ürotelyal karsinoma in-situ, non-invaziv papiller ürotelyal karsinom, düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazmlar gibi farklı tümöral lezyonları kapsamaktadır.[1]

Non-invaziv lezyonlar papiller ve “flat” lezyonlar olarak karşımıza çıkabilir. ‘Ürotelyal papillom’, diğer lezyonlara göre erken yaşlarda ortaya çıkan, fibrovaskuler kor etrafında normal kalınlıkta, atipi içermeyen değişici epitel ile örtülü lezyonlardır. Minimal nükleer

atipi ve minimal yapısal anomali bulunan papiller lezyonlar ise ‘düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazm’ olarak adlandırılır. Bu lezyonlarda ürotelyum kalınlaşmış, hafif hiperkromatik olmasına rağmen; sitolojik ve yapısal düzen tamamen korunmuştur. Lezyonu oluşturan hücreler genellikle birbirine benzemekle birlikte yalnızca bazal tabakada mitoz görülür. Bu iki lezyona göre yapısal ve sitolojik atipinin belirginleştiği papiller lezyonlar ise atipi derecesine göre ‘düşük dereceli invaziv olmayan papiller ürotelyal karsinom’ ve ‘yüksek dereceli invaziv olmayan papiller ürotelyal karsinom’ olarak isimlendirilir. Düşük dereceli invaziv olmayan papiller ürotelyal karsinomda düzenli bir görünüm olmasına karşın; küçük büyütmede sitolojik ve yapısal bozukluk dikkati çekmektedir (Resim 2.5). Papillaların yüzeyinde bulunan hücrelerde hiperkromazi, polarite kaybı sıktır ancak mitoz bu alanda seyrektir. Yüksek dereceli invaziv olmayan papiller ürotelyal karsinomlarda düzenli görünüm kaybolarak daha düzensiz görünüm izlenir. Hiperkromazi ve nükleer atipinin (resim 2.6) belirginleştiği tümör hücrelerinde mitoz, diğer lezyonların aksine her tabakada karşımıza çıkabilir. Tek bir papiller lezyonda, tüm bu lezyonlar görülebileceği akılda tutulmalı ve prognozu belirleyeceği için en yüksek dereceli olana göre tanı verilmelidir.[19,20]



Resim 2. 5. Düşük dereceli papiller ürotelyal karsinom (H&E 200).

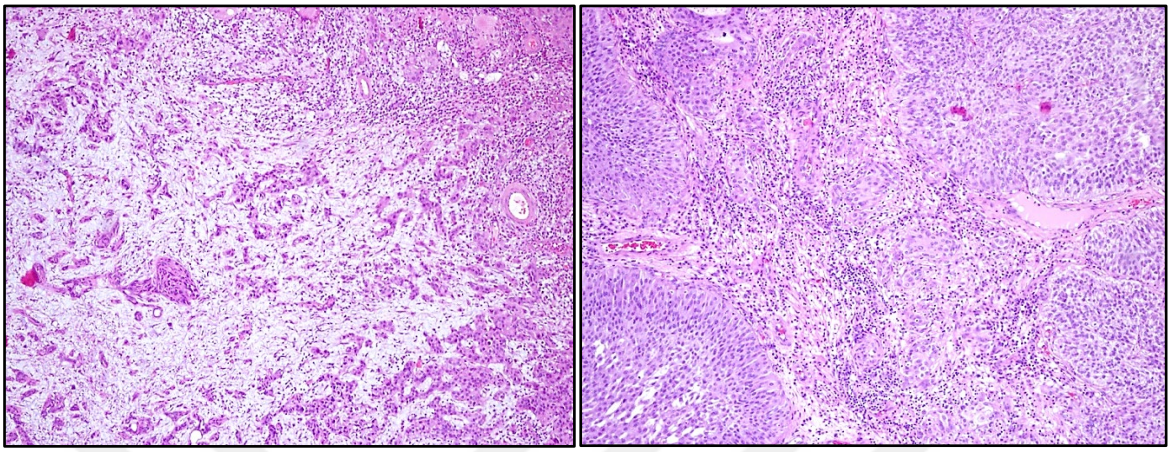


Resim 2. 6. Yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinomda belirgin nükleer pleomorfizm (H&E 400).

'Flat' lezyonlar, papiller lezyonlara benzer şekilde sınıflandırılır. Atipinin görülmediği flat lezyonlar 'epitelyal hiperplazi' olarak değerlendirilir. Hafif atipinin görüldüğü, bunun yanında inflamasyonun da eşlik ettiği lezyonlar 'reaktif atipi' olarak değerlendirilirken; inflamasyon ile orantısız olarak atipi izlenen lazyonlar 'önemi belirsiz atipi' tanısı altında değerlendirilir. Atipinin belirginleştiği, invazyon izlenmeyen lezyonlar ise atipinin derecesine göre 'düşük dereceli ürotelyal neoplazi (displazi)' ve 'yüksek dereceli intraepitelyal neoplazi (karsinoma in-situ)' olarak değerlendirilir [23]. Yukarıda bahsedildiği gibi invaziv olmayan lezyonlar lamina propriayı infiltre etmezler. Bunun aksine invaziv ürotelyal karsinomlar, lamina propriayı infiltre etmekle birlikte muskularis propria, seroza ve hatta komşu organlara kadar yayılım gösterebilirler. İnvaziv olmayan karsinomlarda olduğu gibi invaziv ürotelyal karsinomlar da atipinin derecesine göre 'düşük dereceli invaziv ürotelyal karsinom' ve 'yüksek dereceli invaziv ürotelyal karsinom' olarak sınıflandırılır.

İnvaziv ürotelyal karsinom, çok geniş bir yapısal paterne sahiptir. Tümör hücreleri yuvalanmalar, trabeküller, kordonlar meydana getirebileceği gibi tek hücre şeklinde

infiltrasyon oluşturabilir (Resim 2.7). Paternler genellikle iç içe geçmiş şekilde karşımıza çıkar. İnfiltratif kordonlar ya da tek hücre şeklinde infiltrasyon alanlarının fazla olması daha agresif klinik seyir ile ilişkilendirilmiştir.

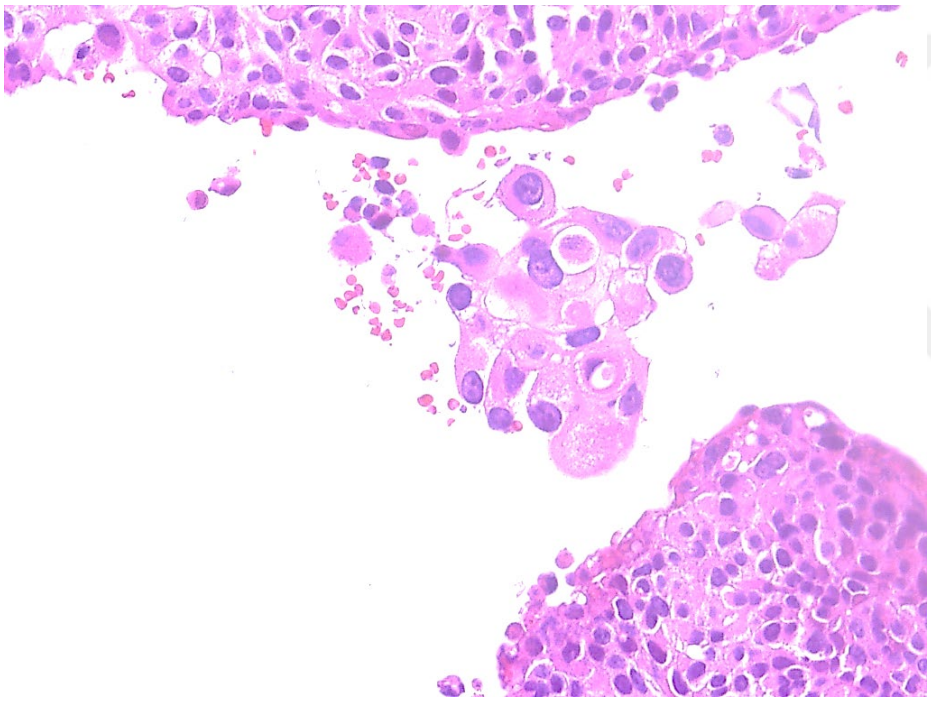


Resim 2. 7. İnvaziv ürotelyal karsinomda invazyon paternleri (H&E x200 ve x400).

İnvaziv ürotelyal karsinomda tümör hücreleri belirgin pleomorfizm, düzensiz sınır, hiperkromatik nükleuslara sahiptir. Mitoz oranının arttığı bu tümörlerde, atipik mitozlara da rastlanır. Sitoplazma genellikle soluk veya eozinofilik, orta-geniş boyuttadır. Bazen bu görünüm skuamöz diferansiyasyon açısından kafa karıştırıcı olabilir. H-E boyalı kesitlerde görülmemesine karşın yüksek dereceli tümörlerde müsin boyalarıyla sitoplazmik müsin saptanabilir. Fakat bu müsin varlığının gösterilmesi tek başına glandüler diferansiyasyon demek için yeterli değildir.[1]

İnvaziv ürotelyal karsinomlar klasik görüntüsü dışında farklı paternlerle karşımıza çıkabilmektedir. 'Nested' varyant, sakin görünümlü, hafif-orta derecede nükleer atipi içeren varyanttır. Bu sakin görüntüsü agresif kliniğine ters düşmekte ve aldatıcı olabilmektedir. Lenfoepitelyoma benzeri varyant ise lenfoma ayırıcı tanısını akla getirmekte olup, immünohistokimyasal olarak epitelyal belirteçler ile ürotelyal karsinom tanısı doğrulanmalıdır. Mikropapiller varyant, overin papiller seröz karsinomuna benzer morfolojidedir. Klinik gidişi, yüksek dereceli invaziv ürotelyal karsinom ile benzerdir. Mikrokistik varyant, sistitis sistika ile karışabilen ve akılda tutulması gereken bir varyanttır.[24] Plazmositoid, dev hücreli, yağdan zengin, berrak hücreli gibi varyantları bulunan invaziv ürotelyal karsinomda bu varyant çeşitliliği bu tümörün diferansiyasyon kapasitesini ortaya koymaktadır.

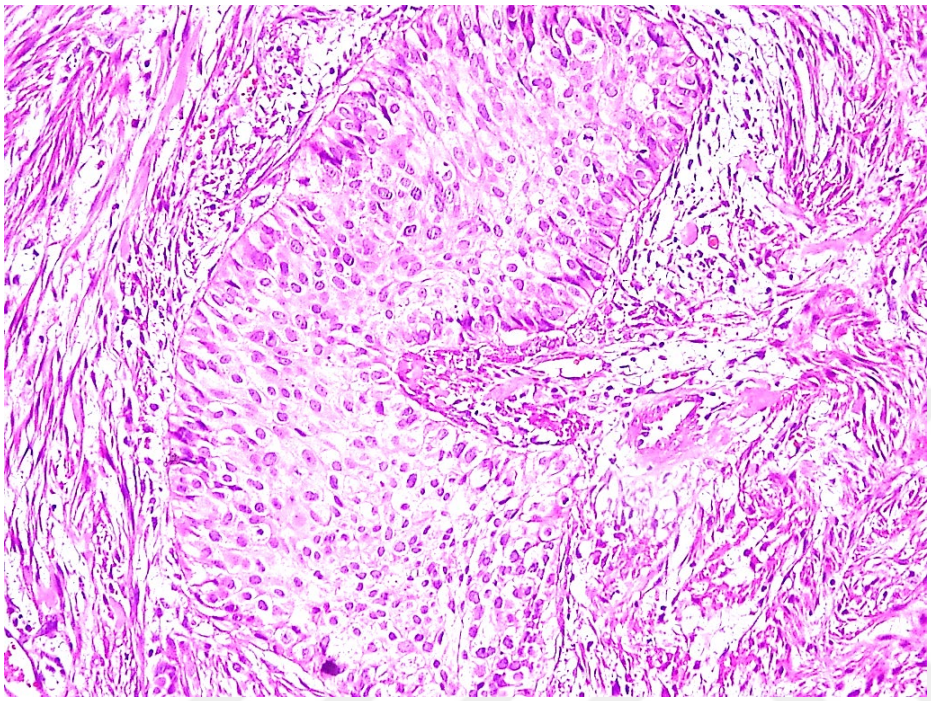
Bu varyantlar dışında invaziv ürotelyal karsinomlarda tümör hücreleri farklı diferansiyasyonlar gösterebilmektedir. Skuamoz diferansiasyon bunların içerisinde en sık rastlananıdır (Resim 2.8). Biyopsi materyallerinde saptandığında lokal ileri hastalıkla işişkili bulunmuştur ancak sistektomi materyallerinde sağkalıma etkisi saptanmamıştır.[25] Glandüler diferansiyasyon daha az karşımıza çıkmakta ve en sık kolonik tipte olmaktadır. Çeşitli çalışmalarda bu diferansiyasyonun da klinik gidişe etkisinin olmadığı bildirilmiştir.[25,26] Klinik gidişle ilişkili bulunan ancak nadir görülen diferansiyasyon ise trofoblastik diferansiyasyondur. Trofoblastik diferansiyasyon idrar sitolojisinde saptanabileceği gibi kanda b-HCG yüksekliği saptanması da dikkate alınması gereken bir bulgudur.[27]



Resim 2. 8. Yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinomda skuamöz diferansiyasyon (H&E 400).

İnvaziv ürotelyal karsinomda stromal reaksiyonlar da sıklıkla görülür (Resim 2.9). Desmoplazi nadir olmasının yanında diffüz infiltratif paternde daha sık karşımıza çıkmaktadır. Stromal miksoid değişiklikler de invaziv ürotelyal karsinomlarda stromada görülen, tümörün miksoid diferansiyasyonundan ayırt edilmesi gereken değişikliklerdendir. Retraksiyon artefaktı subepitelyal bağ doku invazyonu gösteren

vakalarda görülmekle birlikte bu bulgu lenfovasküler invazyondan ayırt edilmelidir.[1] Ayrıca stromada lenfoplazmositik yanıt görülebilmektedir ve bu bulgunun daha iyi prognozla ilişkili olabileceğine dair yayınlar mevcuttur.[7]



Resim 2. 9. İnvaziv yüksek dereceli ürotelyal karsinomda desmoplazi (H&E 200).

2.2.5. İmmünohistokimya

Çeşitli varyant ve diferansiyasyonu bulunan ürotelyal karsinomlarda immünohistokimyasal değerlendirme, tümörün primeri açısından bazı durumlarda gerekli olabilmektedir. Bunun yanında primeri bilinmeyen tümörlerde de değişik paternlerde ortaya çıkabilen bu karsinomun ayırıcı tanısını yapmak oldukça önemlidir.

Epitel orijinli bir tümör olan ürotelyal karsinom Sitokeratin 7, sitokeratin 20 ve yüksek molekül ağırlıklı keratinler ile immünohistokimyasal olarak pozitif reaksiyon gösterirler. Sitokeratin 20'nin karsinom primerini saptamak dışında, ürotelyal lezyonları ayırmakta da kullanımı yararlıdır. Normal epitelyumda sadece şemsiye hücrelerinde eksprese edilen sitokeratin 20, tam kat displazi bulunduran karsinoma in-situ olgularında da tam kat boyanma göstermektedir.[28]

GATA-3 gen promotor bölgelerindeki GATA nükleotid motifine bağlanarak transkripsiyonu düzenleyen bir belirteçtir.[29] Ürotelyal karsinomların %67-91'inde eksprese

edilen bu belirteç, ürotelyal karsinoma özgü olmayıp meme duktal karsinomu, derinin bazal hücreli karsinomu, skuamöz hücreli karsinomlar gibi tümörlerde de değişen oranlarda pozitifliği bilinmektedir. Skuamöz hücreli karsinomlarda ve skuamöz diferansiyasyon gösteren ürotelyal karsinomda da eksprese edilen bu marker bu tümörleri ayırmada bazen yetersiz kalabilmektedir. Skuamöz hücreli karsinomların aksine ürotelyal karsinomlar immünohistokimyasal olarak S100P ile pozitif reaksiyon gösterir. S100P, GATA-3 ten daha duyarlı olmasına karşın mide, özofagus, kolorektal adenokarsinomlar gibi tümörlerde de pozitifliği bilinmektedir. Glandüler diferansiyasyon gösteren ürotelyal karsinomlarda %100; skuamöz diferansiyasyon gösteren ürotelyal karsinomlarda ise %78 oranında pozitiftir. Bu oranlar GATA-3 ile kıyaslandığında daha yüksektir.[1,30]

P63 ürotelyal karsinomlarda sıklıkla pozitif olan, başka organ tümörlerinde de eksprese edilmesi nedeniyle çok spesifik olmayan bir belirteçtir.

2.2.6. Moleküler Patoloji ve Genetik

Ürotelyal karsinogeneziste başlıca iki yolak olduğuna inanılmaktadır. Bunlardan ilki fibroblast büyüme faktörü reseptör 3 genin (FGFR3) mutasyonu üzerindendir. Bu yolak daha çok düşük dereceli, invazyon yapmayan ancak nüks edebilen papiller tümörlerle ilişkilidir. İkinci yolak ise TP53 geni üzerinden gerçekleşmektedir. Bu yolaktan gelişen tümörler yüksek dereceli karsinomlar olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu yolaklar dışında yüksek dereceli ürotelyal karsinomlarda 9p ve 9q delesyonları, 2q,8p,11p,13q, 14q delesyonları, 3,7,17. kromozom kazanımları gibi değişiklikler de bildirilmiştir.[31] Tümörogeneziste bu yolaklar farklı aşamalarda birbiri ile kesişebilir. Örneğin FGFR3 mutant bir hücre önce hiperplaziye uğrar. Tekrarlayan PIK3CA/STAG2 mutasyonları nedeniyle invaziv olmayan düşük dereceli papiller karsinom gelişir. Süreç içerisinde TP53 kaybı da eklendiğinde invaziv veya invaziv olmayan yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinom gelişir. TP53 yolağında bulunan RB kaybı da eklendiğinde artık karşımızda kas invaziv ürotelyal karsinom vardır.[32]

2.2.7. Evreleme

AJCC 8'e göre tanımlanan TNM sınıflaması Tablo 2.1, Tablo 2.2 ve Tablo 2.3'te gösterilmiştir. Bu sınıflama tümörün invazyon durumuna göre sınıflandığı T komponenti, metastatik lenf nodu durumunun belirlendiği N komponenti ve metastaz durumunu içeren

M komponentlerinden oluşmaktadır.[33] Ayrıca bu parametrelere bağlı olarak oluşturulan prognostik evre grupları Tablo 2.4'te gösterilmiştir.

2.2.7.1. T Komponenti

Sistoskopi sırasında alınan biyopsi veya yapılan TUR materyali, evrelemede ilk basamağı oluşturur. Bu materyaller ile lezyonun tanısı, derecesi ve verilebiliyorsa invazyon derinliği verilmiş olur. Bu materyallerin kısıtlı bir alanı göstermesi nedeniyle daha doğru ve güvenilir olan evreleme rezeksiyon materyalinde yapılması uygundur ancak rezeksiyon öncesi tümörün tipi derecesi ve invazyon derinliği yapılacak olan tedavileri değiştirdiğinden bu parametrelerin verilebilmesi oldukça önem arz etmektedir.[33]

Tablo 2. 1. AJCC-8'e göre Mesane Karsinomu İçin Primer Tümör Sınıflaması (T)

T	Primer Tümör
Tx	Primer tümör değerlendirilemiyor
T0	Primer tümöre ait bulgu izlenmedi
Ta	Non-invaziv papiller karsinom
Tis	Karsinoma in-situ ('Flat' tümör)
T1	Tümör subepitelyal bağ dokuya infiltredir
T2	Tümör muskularis propriaya infiltredir
T2a	Tümör yüzeyel muskularis propriaya infiltredir (Yarısından azına)
T2b	Tümör derin muskularis propriaya infiltredir (Yarısından fazlasına)
T3	Tümör perivezikal dokuya infiltredir
T3a	Mikroskopik olarak

T3b	Makroskopik olarak
T4	Tümör aşağıdakilerden birini invaze eder; Prostatik stroma, veziküla seminalis, uterus, vajen, pelvik duvar, abdominal duvar
T4a	Tümör prostatik stroma, veziküla seminalis, uterus veya vajene infiltredir.
T4b	Tümör pelvik veya abdominal duvara infiltredir.

2.2.7.2. N Komponenti

Radikal sistektomi sırasında pelvik lenf nodu diseksiyonu uygulanır. Metastatik lenf nodlarının sayısı ve lokalizasyonu evre ve prognoz açısından önemlidir. [33] Diğer bazı tümörlerde olduğu gibi metastatik lenf nodunda mikrometastaz terimi bu sınıflamada kullanılmaz (Tablo 2.2).

Tablo 2. 2. AJCC-8'e göre Mesane Karsinomu İçin Bölgesel Lenf Nodülü Sınıflaması (N)

N	Bölgesel Lenf Nodları
Nx	Bölgesel lenf nodu değerlendirilemiyor
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı saptanmadı
N1	Pelvik lenf nodlarında tek lenf nodu metastazı mevcuttur
N2	Pelvik lenf nodlarında multiple lenf nodu metastazı mevcuttur
N3	Common iliak lenf nodu metastazı mevcuttur

2.2.7.3. M komponenti

Metastaz durumu radikal cerrahi işlemlerden önce belirlenmeli ve tedavi planı buna göre yapılmalıdır.[33] (Tablo 2.3).

Tablo 2. 3. AJCC-8'e göre Mesane Karsinomu İçin uzak metastaz sınıflaması (M)

M	Uzak Metastaz
M0	Uzak metastaz izlenmedi
M1	Uzak metastaz izlendi

Tablo 2. 4. AJCC-8 Prognostik Evre Gruplar

Prognostik Grup	**T**	**N**	**M**
0a	Ta	N0	M0
0is – Tis	N0	M0	M0
I	T1	N0	M0
II	T2a	N0	M0
II	T2b	N0	M0
IIIA	T3a, T3b, T4a	N0	M0
IIIA	T1-T4a	N1	M0
IIIB	T4b	N0	M0
IVA	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1a
IVB	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1b

2.3. Kas invaziv olmayan mesane karsinomları

Avrupa Üroloji Derneği (AÜD) güncel tedavi yaklaşımını kas invaziv olmayan mesane kanserleri ve kasa invaze mesane kanserleri olmak üzere 2 ana başlık altında toplanmıştır. Kas invaziv olmayan mesane tümörleri terimi bir tanı olmaktan ziyade bir grup tanımıdır. Bu tümörler mukoza ile sınırlı olup lamina propriayı invaze eder ancak muskularis propriayı (detrusör kas) invaze etmezler. TNM sınıflandırma sistemine göre sırasıyla evre Ta ve T1 olarak sınıflandırılırlar. Mukozaya sınırlı intraepitelyal, yüksek dereceli (HG) tümörler CIS (Tis) olarak sınıflandırılır. Bu tümörlerin tümü, nihayetinde intravezikal insilasyonu ve mesanenin transüretral rezeksiyonu (TUR) ile tedavi edilebilir. Bu nedenle terapötik amaçlar için kas invaziv olmayan mesane karsinomu başlığı altında gruplandırılır.[4]

Sistoskopik bir işlem olan TUR'da asıl amaç tümörün total olarak çıkartılarak geride tümör bırakmamaktır. İşlemin doğası gereği parçalı bir şekilde rezeke edilen tümörün, özellikle ekzofitik büyüme gösterenlerin, yüzeyinin, lateral sınırlarının ve taban kısmının ayrı ayrı örneklenerek patolojiye öyle ulaştırılması tümörün lateral ve vertikal yayılımını göstermekte oldukça faydalıdır. Örneklerde detrusör kas varlığı (Ta düşük dereceli evresi hariç) yeterlilik kriteri olarak kullanılmakta ve daha az nüks ile ilişkili bulunmaktadır.[4] Sistoskopide düz, kırmızı bir lezyon olarak görülen karsinoma in-situ olgularında ise TUR yeterli olmayıp sistoskopi, çoklu biyopsiler ve idrar sitolojisi kombine edilerek tedavi ve takipleri sağlanmalıdır. Fotodinamik floresan sistoskopi ise karsinoma in-situ olarak tanınması ve doğru yerden biyopsi alınmasında olukça faydalı olan yeni tanı yöntemlerinden biridir. Bu yöntem ile nüksün azaldığı ancak hastalık ilerlemesi ve sağkalımda bir fark olmadığı çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir.[4]

Bu tümörlerin yönetiminde önemli bir basamak da ikinci TUR zamanıdır. BCG tedavisi öncesi yapılması gereken bu basamağın, ilk TUR dan 2 ila 6 hafta sonra yapılması önerilmektedir. Ayrıca dikkat edilmesi gereken bir nokta da prostatik üretra biyopsileridir. Mesane boynu tümörü vakalarında, karsinoma in situ varsa veya şüpheleniliyorsa, tümör kanıtı olmayan pozitif sitoloji veya idrar moleküler belirteç testi varsa veya prostat üretra anormallikleri varsa, prostat üretra biyopsisi alınması önerilmekte, ilk işlem sırasında biyopsi yapılmazsa, ikinci rezeksiyon sırasında tamamlanmalıdır.[4]

2.3.1. Sınıflama

TUR-MT sonrası tedavi seçeneklerinin belirlenebilmesi için hastalar prognostik faktörlere göre risk gruplarına ayrılmalıdır [4] (Tablo 2.5 ve 2.6).

Tablo 2. 5. Risk Grupları

Risk kategorisi	**Tanımlama**	**Tedavi önerileri**
Düşük riskli tümörler	Primer, soliter, Ta G1 (PUNLMP, LG*)	TUR-MT'den sonra hemen tek doz intravezikal kemoterapi instilasyonu
Orta riskli tümörler	İki bitişik kategoride tanımlanmayan tüm tümörler (Düşük ve yüksek dereceli arasında tanımlanan tümörler)	TUR-MT'den sonra hemen tek doz intravezikal kemoterapi instilasyonu önceden düşük rekürens oranları olan (yıllık ≤1 rekü-rens) ve EORTC risk skoru <5 olan hastalarda TUR-MT sonrası hemen tek doz intravezikal kemoterapi. Tüm hastalarda ya yıllık tam doz intravezikal BCG (İndüksiyon ve 3,6. ve 12. aylarda üçer haftalık tedavi) ya da Maksimum 1 yıllık kemoterapi instilasyonu (optimal doz takvimi bilinmemektedir)
Yüksek riskli tümörler	Aşağıdakilerin herhangi biri: • T1 tümörler • G3 (HG**) tümörler • CIS • Multipl, tekrarlayan ve 3 cm'den büyük olan Ta G1G2/LG tümörler (tüm bu özellikler mevcut olmalıdır).	1-3 yıllık tam doz BCG tedavisi veya radikal sistektomi (en yüksek riskli tümörlerde, aşağıya bkz)
En yüksek riskli tümörler	Mesane CIS' ın eşlik ettiği T1G3/ HG tümörler, multipl ve/ veya büyük T1G3/HG ve/ veya rekürren T1G3/HG, prostatik üretrada CIS ile birlikte T1G3/HG, ürotelyal karsinomada nadir görülen bazı histolojilerde, LVI.	Radikal sistektomi önerilmelidir.

Tablo 2. 6. Bacillus Calmette-Guérin (BCG) başarısızlığında tedavi seçenekleri

Kategori	Tedavi seçenekleri
BCG-cevapsız (BCG refraktör veya Son BCG maruziyeti sonrası, ≤ 6 ayda T1Ta/Yüksek-dereceli [HG] nüks veya ≤ 12 ayda CIS)	1. Radikal sistektomi (RS) 2. Radikal sistektomi için uygun olmayan hastalarda mesane-koruyucu tedaviler
Son BCG maruziyeti sonrası, > 6 ayda T1Ta/HG nüks veya > 12 ayda CIS	1. Radikal sistektomi veya Bireysel duruma göre BCG kürünü tekrarlayın 2. Mesane-koruyucu tedaviler
Primer orta riskli tümör için BCG sonrası HG olmayan nüks	1. BCG'yi tekrarla veya intravezikal kemoterapi 2. Radikal sistektomi

2.3.2. Hastalık Yönetimi

2.3.2.1. Sigara Bırakma Danışmanlığı

Sigara kullanımı tümör nüksü ve ilerlemesini artırdığı çeşitli çalışmalarla doğrulanmıştır.[4,34]

2.3.2.2. Adjuvan Tedaviler

İntravezikal kemoterapi: Postoperatif erken dönem tek doz kemoterapi instilasyonu, operasyon sonrasında dolaşıma geçen tümör hücrelerinin elimine edilmesini sağlamaktır. Bu uygulamada tek doz mitomisin C, epirubisin, pirarubisinden birisi kullanılabilir. Bu tedaviler TUR sonrası 6 saat içinde kullanılmalıdır. Erken dönem tek doz acil kemoterapi belirgin veya kuşkulu mesane perforasyon şüphesi olanlarda veya irrigasyon gerektiren kanaması olanlarda uygulanmamalıdır. Ek doz kemoterapi instilasyonları orta derecede riskli tümörlerde nükssüz sağkalımı iyileştirebilirse de hastalığın ilerlemesini önleyemez.[4]

İntravezikal BCG (indüksiyon ve idame): Rekürensi azaltmada ve progresyonu önlemede ya da geciktirmede intravezikal kemoterapiye üstün olduğu bildirilmektedir. İndüksiyon tedavi siklusları haftalık olarak 6 kez intravezikal BCG uygulanmasını içermekte olup bu tedavilerin belirgin toksisite olmadan kesilmesi, optimal bir immün yanıt elde edilmesini engelleyebilir. İdame tedavisi için toplam 10 doz intravezikal

BCG'nin 18-27 hafta arasında değişen süreler içinde uygulandığı farklı protokoller mevcuttur ve bu yöntemle tedavi başarısı genel olarak %60-70'lere ulaşmaktadır. Hastaların %30-45'inde BCG tedavisi başarısız olmakta, rekürrens veya progresyon gelişmektedir. Bu hasta grubu için etkili bir konservatif ikinci basamak tedavi seçeneğinin bulunmaması sistektomiyi gündeme getirmekle birlikte yaşlı ve komorbiditesi olan hastalar olmaları sistektomi gibi radikal yaklaşımlar için engel oluşturmaktadır. Herhangi bir zamanda kas invaziv karsinoma ilerleme, 3. ay biyopsisinde kas invaziv olmayan yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinom bulunması, hem 3. ay hem de 6. ayda karsinoma in situ (eşlik eden papiller tümör olmaksızın) görülmesi, BCG tedavisi sırasında yüksek dereceli tümörün ortaya çıkması, BCG tedavisi sonrasında ya da idame tedavisi tamamlandıktan sonra yüksek dereceli tümör rekürrensi olması BCG tedavisine yanıtsızlık olarak kabul edilmekte ve ek tedavi yöntemlerini gündeme getirmektedir.[4]

İntravezikal BCG uygulanmamasını gerektiren kesin kontrendikasyonlar:

• TUR-MT sonrası ilk 2 hafta içinde uygulanması

• Makroskopik hematürisi olan hastalarda uygulanması

• Travmatik üretra kateterizasyonu sonrası uygulanması

• Semptomatik idrar yolu enfeksiyonu olan hastalarda uygulanmasıdır.[4]

2.3.3. Takip

Rekürens ve progresyon riskinden dolayı kas invaziv olmayan mesane karsinomlu hastalar takip edilmeli hastanın riskine göre sistoskopi ve görüntülemelerin sıklığı ve süresi belirlenmelidir. TUR-MT sonrası üçüncü aydaki ilk sistoskopi rekürens ve progresyon riski açısından önemlidir. Bu nedenle Ta, T1 ve CIS olan tüm olgularda ilk sistoskopi TUR-MT sonrası 3. ayda yapılmalıdır. Düşük riskli tümörlerde rekürenssiz 5 yıl sonrası yeniden rekürens görülme riski oldukça düşüktür. Bu yüzden düşük riskli tümörlerde, beş yıllık izlemeden sonra, sistoskopinin kesilmesi veya daha az invaziv yöntemlerle değiştirilmesi düşünülebilir. Orta veya yüksek riskli tümörlerde tümörsüz 10 yıllık takip sonrası rekürens beklenmeyen bir durum değildir. Bu olgularda yaşam boyu takip önerilmektedir. Ta LG/G1-2 mesane kanseri tanısı olan hastalarda sistoskopi yapılamıyorsa ya da hasta isteği yoksa ultrasonografi ile takip uygulanabilir. Ancak invaziv olmayan hiçbir yöntem endoskopinin yerini alamaz. Sistoskopi bu nedenle takiplerde oldukça önemlidir.[4]

2.3.4. Mesane Kanserlerinde Prognostik Belirteçler

Hastaya ait demografik bir parametre olan yaş, prognozun belirlenmesine yardımcı olur. Yaşamın ilk iki dekadında genellikle iyi diferansiye ve non-invaziv olduğu için mükemmel prognoza sahiptir. Hastaya ait bir diğer prognostik belirteç kan grubudur. ABO ve Lewis antijenleri normal ürotelyumda eksprese edilir. Buna karşın yüksek dereceli tümörlerde bu antijenite kaybolmaktadır ve bu bulgu artmış nüks ve rekürrens ile ilişkilidir.[35]

Sistoskopik bir veri olan tümör boyutu, nüksü belirlemede en iyi belirteçlerden biridir. Tümör 4 cm'den büyükse nüks riski %100'dür. Prognozu belirleyen bulgulardan biri tümörün yerleşim yeridir. Mesane boynu yerleşimli tümörler diğer lokalizasyonlara göre daha kötü prognoza sahiptirler. Kubbe yerleşimli tümörler daha yüksek dereceli, orifis ve lateral duvar kaynaklı olanlar ise daha düşük dereceli tümörler olarak karşımıza çıkmaktadır. Ana tümör kitlesi dışında saptanan bağımsız tümör odakları veya displastik değişiklikler yüksek nüks ile ilişkilidir.[35] Bu nedenle sistoskopik olarak şüphe duyulan alanların örneklenmesi oldukça önemli olup patoloji raporlarında bu parametrenin belirtilmesi hasta prognozunu belirlemede yol göstericidir.[35]

Mesane kanserlerinde prognozu belirleyen en önemli prognostik parametre tümör evresidir. Kas invazyonu ile beklenen yaşam süresindeki düşüş, tümörün vasküler ağa erişim kazanmasının sonucudur. Bunun sonucu olarak yüzeyel mesane tümörleri için 5 yıllık sağkalım %90'ın üzerindeyken; daha derin invazyon gösteren tümörlerde bu oran %45-55 arasındadır. Evreleme sisteminin yanı sıra birden fazla metastatik lenf nodu varlığı, lenf nodu boyutu ve perinodal yayılım da kötü prognozla ilişkilidir.[35]

Düşük dereceli tümörlerin çoğu yüzeyel iken; tümörün derin invazyon yapması prognozu evreyle yakından ilişkili hale getirmektedir. Bunun yanında, derece tek başına da bağımsız bir prognostik faktördür. Ayrıca mikrovaskuler invazyon, yüksek rekürrens ile ilişkilidir. Yapılan bazı çalışmalar, itici tarzda büyüyen tümörler ve inflamatuar yanıtı fazla olan tümörlerin daha iyi prognoza sahip olduğunu ortaya koymaktadır.[35]

Tümörün moleküler özelliklerine baktığımızda DNA ploidisi genellikle düşük dereceli tümörlerde bağımsız bir prognostik faktördür. Y kromozomu kayıpları, 1 ve 17. kromozomda polizomi ise artmış progresyon riski ile ilişkilendirilmiştir. İmmünohistokimyasal olarak belirlenebilen E-kaderin kaybı olan hastalar, bu yüzey

antijeni bulunanlara göre daha kötü prognozlu oldukları bazı çalışmalarda gösterilmiştir.[4,35] Bir diğer immünohistokimyasal çalışma bulgusu olan fokal CD44 varyant protein kaybı, yüzeyel mesane karsinomlarında rekürens süresinin kısalığı ile ilişkili saptanmıştır.[35]

2.4. BCG Tedavisi

2.4.1. Endikasyonu ve Epidemiyolojisi

İlk olarak Kanadalı bir onkolog olan Alvaro Morelesin 1976 yılında 10 kas invaziv olmayan mesane karsinomlu olguya *Bacillus Calmette-Guérin*'nin (BCG) uygulamasıyla başlayan bu tedavi, 1990 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmasıyla ilk kanser immünoterapisi olarak karşımıza çıkmaktadır.[2] Bu tedavi kas invaziv olmayan mesane karsinomlarında altın standart tedavi olarak kabul edilmektedir. Tedavide birden fazla BCG suşu kullanılmakta olup bunların tümü kemoterapiden daha etkindir. Mitomisin c ile karşılaştırıldığında BCG idame tedavisi alanlarda %32'lik bir azalma izlenmiştir.[36]

BCG'nin terapötik etkisini uyguladığı kesin mekanizma tam olarak anlaşılmamış olsa da immün modulasyonu ile ilgili birkaç teori ortaya çıkmıştır. En son kanıtlar, BCG tedavisi bağlamında malign ürotelyal hücreler ve konakçı bağışıklık sistemi arasında karmaşık bir etkileşim olduğunu göstermektedir. [37]

2.4.2. Etki Mekanizmaları

2.4.2.1. Doğrudan Sitotoksik Etki

İn-vivo ve in-vitro çalışmalar intravezikal BCG tedavisinin doğrudan hücre ölümüne sebep olduğu veya proliferasyonu durduğu saptanmıştır. Ancak yapılan fare deneylerinde immün yetmezliği bulunan deneklerde BCG'nin hiçbir etkisi olmamıştır. Bu da BCG'nin kompleks bir etki mekanizması olduğunu destekler niteliktedir. Apoptozu indükleme, nekroz oluşturma ve oksidatif stres olası sitotoksik etki mekanizmalarıdır.[38]

BCG'nin apoptoz oluşturma yollarından biri, TLR7 aktivasyonundan sonra başlatıcı kaspaz olan kaspaz 8 sinyal yolunu aktive etmesidir.[39]

Normal ürotelyal epitelde TLR7 kanser hücrelerine göre daha az miktarda bulunmaktadır. Başka bir apoptoz mekanizması da BID1 ve pro-kaspaz 9 üzerinden olduğu ortaya koyulmuştur. Bunun yanında tümör hücreleri TNF-a aracılı p53 inhibisyonu yapan tümör hücreleri bu etki mekanizmasından kaçmayı başarabilmektedir.[37]

Doğrudan apoptoz ve hücre nekrozu dışında hücre içi oksidatif stresi artırması, BCG'nin doğrudan sitotoksik etkilerinden birisidir. Oksidatif stres oksijen radikallerinin üretimi ve tüketimi arasındaki dengesizlik sonucu oluşan bir etkidir. BCG, tümör hücrelerinin iNOS yani indüklenebilir nitrik oksit sentetaz alımını artırır. Nitrik oksit (NO) mesane kanseri hücreleri üzerindeki toksik etkisi uzun zamandır bilinmektedir.[40] Bunun yanında BCG reaktif oksijen radikali (H202 gibi) üretimini arttırır. NO ve reaktif oksijen radikalleri DNA hasarı yaparak apoptoz yolağını aktive eder.[37]

2.4.2.2. İmmün Yanıt

İmmün yanıtın bu fazının ilk basamağı patern tanıma reseptörü (PRR) aracılığı ile başlamaktadır. Bu reseptör makrofajlar, dentritik hücreler gibi antijen sunan hücrelerde (APC) bulunur. BCG ile karşılaşan bu hücreler MyD88 sinyal yolunu aktive eder ve ardından nükleer kappa-B (NF-κB) hücrelerin sitokin üretimini artırır.[41]

Ayrıca BCG'nin makrofaj fagositozu sonrası antijen sunan hücreler BCG'yi işler ve antijenlerini CD4+ ve CD8+ T lenfositlere sunar. Bunun dışında yapılan bazı çalışmalar mesane kanseri hücrelerinin de MHC-II eksprese ettiği ve antijen sunduğu şaşırtıcı bir şekilde ortaya konmuştur. APC antijeni T hücrelerine sunduktan sonra, CD4+ T hücreleri IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17, IL-18, TNF-a, IFN-y, GM-CSF ve diğer sitokinlerini serbest bırakır. Bu sitokinlerin çoğu Th-1 reaktif sitokinleridir. Th-1 sitokinleri CD8+ T lenfositler için daha elverişli bir ortam oluşturur. İlk doz BCG insilasyonundan sonra idrarda IL-6 ve IL-8 gibi az sayıda sitokin tespit edilirken ikinci insilasyon sonrası diğer sitokinlerin miktarı artmaktadır. Bu nedenle idrar sitokinlerinin miktarı ile klinik arasındaki ilişkiyi ortaya koymayı amaçlayan bazı çalışmalar yapılmıştır.[42,43]

Bununla birlikte, sitokinlerin varlığı, CD8+ sitotoksik T-hücreleri (CTL'ler), makrofajlar, nötrofiller, doğal öldürücü (NK) hücreler ve diğerleri gibi efektör hücreleri aktive eder. Bu bağışıklık hücreleri bir yandan sitokin salmaya devam ederek bağışıklık kaskad reaksiyonunu teşvik eder, öte yandan da tümör hücrelerini kendi yollarıyla öldürebilirler. Araştırmalar, ilk ulaşan hücrelerin %75'inin nötrofiller olduğunu göstermiştir. BCG'nin ilk stimülasyonu ile üretilen IL-6 ve IL-8'in çok sayıda nötrofilin yanı sıra yakın zamanda keşfedilen IL-17'yi topladığı düşünülmektedir.[44] Nötrofiller

fakositoz ve degranülasyon yoluyla tümör hücrelerini öldürebileceği gibi tümör nekroz faktör ilişkili apoptotik ligand (TRAIL) aracılığıyla da apoptozu indükleyebilirler.

Makrofajlar, antijen sunumu olarak hizmet etmenin yanı sıra APC'nin ve tümör hücrelerinin fagositozuna bağlı olarak, BCG'nin makrofajları uyarması, NO üretimini indükleyebilen makrofaj salgılama faktörünün (MSF) üretimine yol açar. NK hücreleri, antikora bağımlı hücresel sitotoksisite (ADCC) yoluyla tümör hücrelerini öldürür. Aktive edilmiş CD8+ T hücreleri, sitotoksisite ile tümör hücrelerini de öldürebilir.[40]

2.4.3. Yan Etkileri

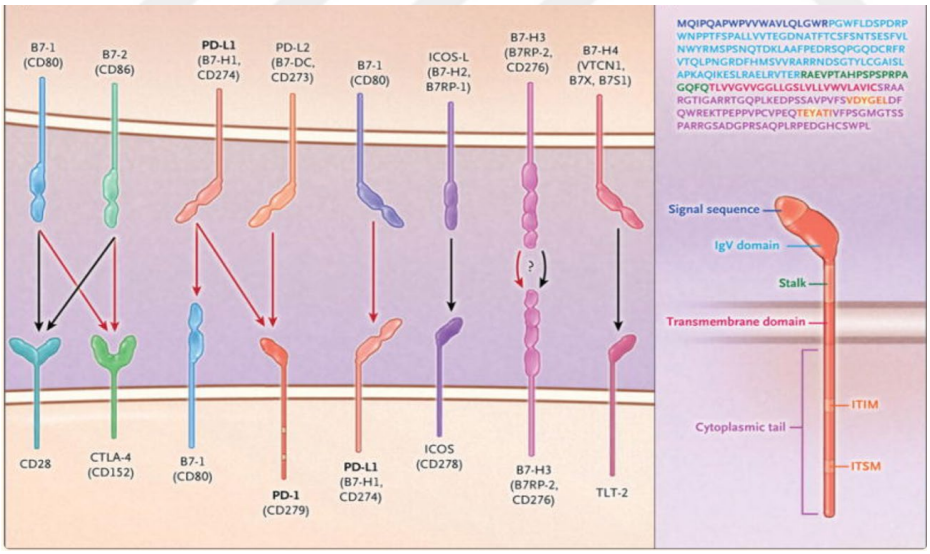
BCG ile ilişkili en sık görülen yan etkiler sık idrara çıkma, irritatif mesane semptomları, hematüri, subfebril ateş ve grip benzeri semptomlardır. Bunlar genellikle semptomatik tedavilerle tolere edilebilir. Bununla birlikte, tipik olarak canlı BCG ile lokal veya sistemik enfeksiyon nedeniyle şiddetli yan etkiler meydana gelebilir. Bu yaygın olmayan olaylar arasında BCG sepsisi, granülomatöz prostatit, granülomatöz epididimo-orşit, alerjik reaksiyon, kasılmış mesane, hepatit ve pnömoni yer alır. Bu yan etkiler ciddi derecede olup BCG'nin kesilmesini ve genellikle antitüberküloz tedavinin hızla başlatılmasını gerektirir.[45]

2.5. PD-1, PD-L2 ve Klonları

Bağışıklık kontrol noktaları, kendi kendine toleransı koruyan, otoimmüniteyi önleyen ve çevre doku hasarlarını hafifleten bir dizi bağışıklık düzenleyici yoldur.[5] T lenfositler bir antijen ile karşılaştığında APC'ler tarafından iki sinyal ile stimule olur. İlk sinyal MHC ile TCR arasında gerçekleşir. İkinci sinyal ise antijenden bağımsız eş (co-stimulator) sinyaldir. Bu iki sinyal birlikte ulaştırılmadığı taktirde T lenfositler tepkisizdir. Bu pozitif uyarıcıların yanında inhibitörle de bulunmakta olup bu sinyalleri düzenlemektedir. T hücresi co-stimulasyonu için en iyi açıklanmış yol B7-1, B7-2/ CD28 ailesidir. CD28 T lenfositlerin yüzeyinde bulunan reseptör, B7-1 (CD80) ve B7-2 (CD86) ise APC yüzeyinde bulunan ligandlardır. CTLA-4 ise T hücre aktivitesini negatif yönde düzenleyen, CD28 homoloğu olan bir reseptördür. CTLA-4'ün B7-1/B7-2'ye afinitesi CD28 e göre yaklaşık 10-20 kat daha fazladır. PD-1/ PD-L1-PD-L2 de CTLA-4 ile birlikte bu yolağın düzenlenmesini sağlar[5]

İlk olarak 1992 yılında varlığı keşfedilen PD-1'in ilerleyen yıllarda etkileşim modelleri de ortaya konmaya başlanmıştır. Yapılan ilk çalışmalarda PD-1 eksikliği olan farelerin

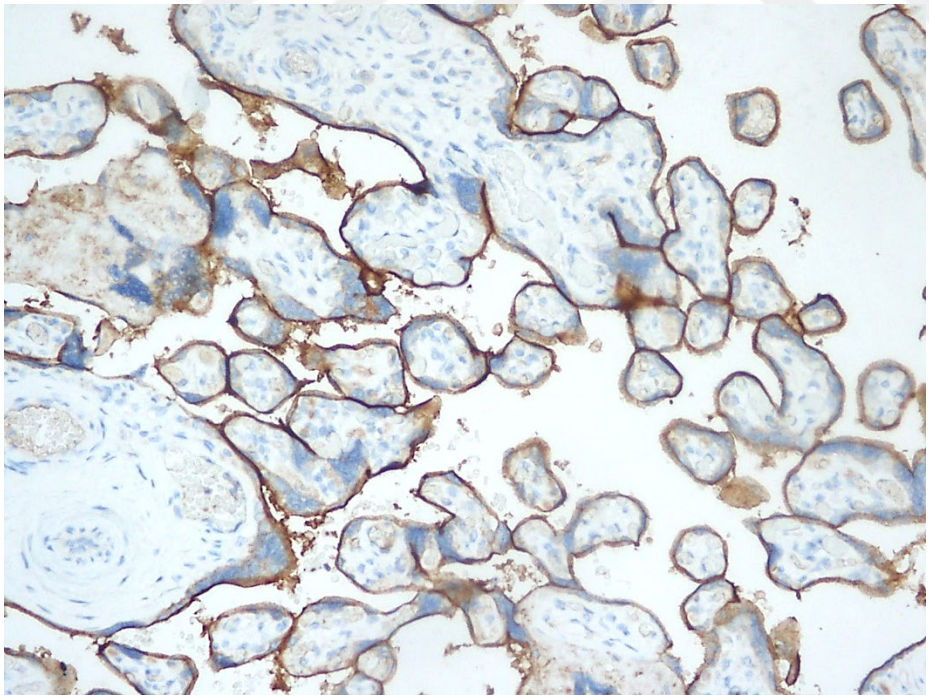
otoimmün hastalıklara daha yatkın olduğu görülmüştür.[5] PD-1, 2. kromozom üzerindeki PDCD1 geni tarafından kodlanan, bir N-terminal IgV alanı, bir transmembran alanı, iki tirozin bazlı sinyalleme motifli bir sitoplazmik kuyruk ve IgV alanını plazma alanından ayıran 20 amino asitli bir yan zincirden oluşan 288 amino asitli bir proteindir (Şekil 2.2). PD-1, N-terminal alanında bir amino asit dizisine (VDYGEL) ve C-terminal alanına 37-39 bir diziye (TEYATI) sahip proteinleri içeren SH2/ SHP3 alanını alır. Her iki dizi de, PD-1'in inhibe edici işlevi için gerekli olan tirozin bazlı bir immünoreseptör anahtar motifi oluşturur. PD-1, dinlenme halindeki naif T hücrelerinin yanı sıra, gelişmekte olan timositlerin bir kısmında bazal seviyelerde ifade edilir. Bir immün uyarımının ardından, PD-1, CD4 (+) ve CD8 (+) T hücreleri, B hücreleri, makrofajlar ve dendritik hücreler dahil olmak üzere birçok immün hücre tipinde geçici olarak eksprese edilerek immünitede önemli bir görev edinmektedir. Akut olarak antijene maruz kalma durumunda, antijen klirensi ile eşzamanlı olarak '*down'* regüle edilmesine karşın; kronik immün stimülasyon sırasında PD-1, yüksek düzeyde ekspresyonda kalır. Bu durum, fonksiyonel tükenmeye neden olabilir. Yüksek PD-1 ekspresyonu, düzenleyici T hücresi (Treg) gelişimi için gereklidir.[46]



Şekil 2. 2. B7–CD28–CTLA-4 Yardımcı Uyarıcı Moleküller ve PD-1'in yapısı[47]

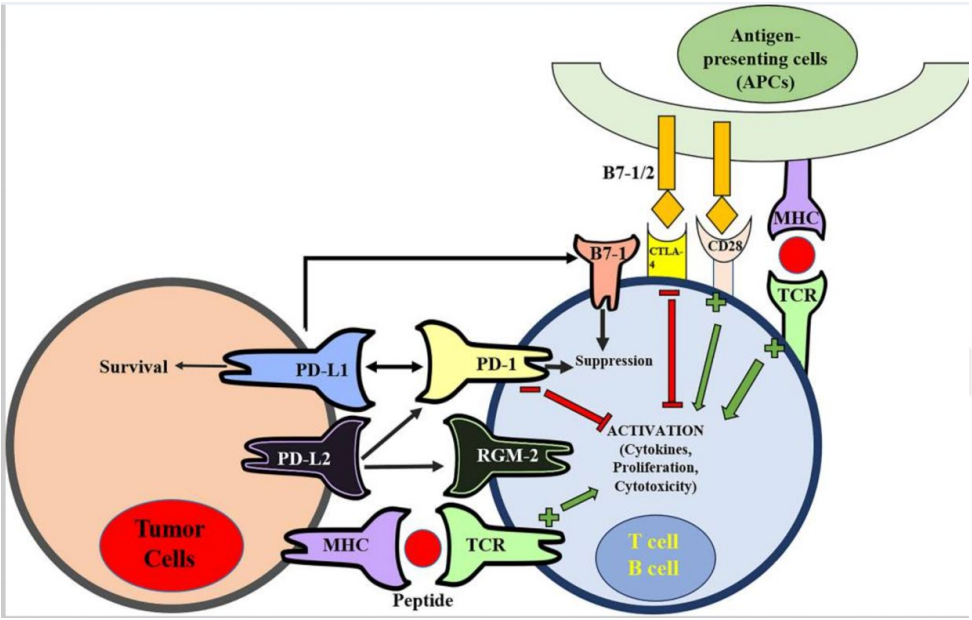
PD-1 ligandlarının (PD-L1 ve PD-L 2) her ikisi de IgC ve IgV alanlarını içeren tip 1 transmembran glikoproteinleridir. Bu ligandlar PD-L1/PD-L2 diğer B7 homologları ile %20 benzerlik paylaşırken, %40 amino asit özdeşliğini paylaşırlar. İnsan ve fare PD-L1/PD-L2 otologları arasındaki karşılaştırmalı bir çalışma, %70 benzerlik olduğunu ortaya koymuştur.[48] PD-L1, 9. kromozomda p24.1 konumunda bulunan PDCDL1 geni tarafından kodlanır. PD-L1 290 amino asitlik transmembran bir proteindir. IgV benzeri ve IgC benzeri hücre dışı alanlardan, hidrofobik bir transmembran alanından ve belirsiz sinyal iletim özelliklerine sahip 30 amino asitten oluşan kısa bir sitoplazmik kuyruktan oluşur.[49] Yapılan ilk çalışmalarda PD-L1 eksikliği olan farelerde de PD-1 ile benzer olarak, otoimmün hastalık eğilimi görülmüştür.[5,48,49] Bunun ardından yapılan in-vivo çalışmalarda PD-1/PD-L1 etkileşiminin T lenfosit yanıtının baskıladığı saptanmıştır. 2001 yılına geldiğimizde de B7 analoğu olan ve benzer işlevi bulunan PD-L2 keşfedilmiştir.[5]

Düşük seviyeli PD-L1, istirahat halindeki lenfositlerde, APC'lerde, korneada, sinsityotrofoblastlarda (Resim 2.10) ve Langerhans adacık hücrelerinde bulunur. İnflamasyon durumunda PD-L1, hematopoetik, endotelyal ve epitelyal hücreler üzerinde baskılayıcı bir sinyal olarak indüklenir.[50]



Resim 2. 10. Plasental dokuda PD-L1(+) ve (-) hücreler (PD-L1 x200).

PD-L1 ekspresyonu öncelikle, APC'lerde yüksek oranda eksprese edilen ve patojenle ilişkili moleküler paternler tarafından aktive edilen, katalitik olmayan reseptörlerin bir alt tipi olan TLR'ler etkilenir (Şekil 2.3). PD-L1'in TLR aracılı regülasyonu, NF-κB yoluyla PD-L1 mRNA transkripsiyonunu artıran MEK/ERK kinazlarının aktivasyonuna dayanır. İnterferon-y (IFN-y) reseptörleri PD-L1 ifadesinin düzenlenmesinde, büyük ölçüde IRF-1'in Jak/STAT aracılı aktivasyonu yoluyla yer alır. Jak/STAT'ın interferon aracılı aktivasyonu ayrıca MEK/ERK ve fosfatidil-inositol 3 kinaz (PI3K)/ AKT yolu aracılığıyla PD-L1 ekspresyonunu yukarı regüle edebilir. Böylelikle inflamasyonun düzenlenmesi ve doku hasarının minimalize edilmesi sağlanmış olur.[5]



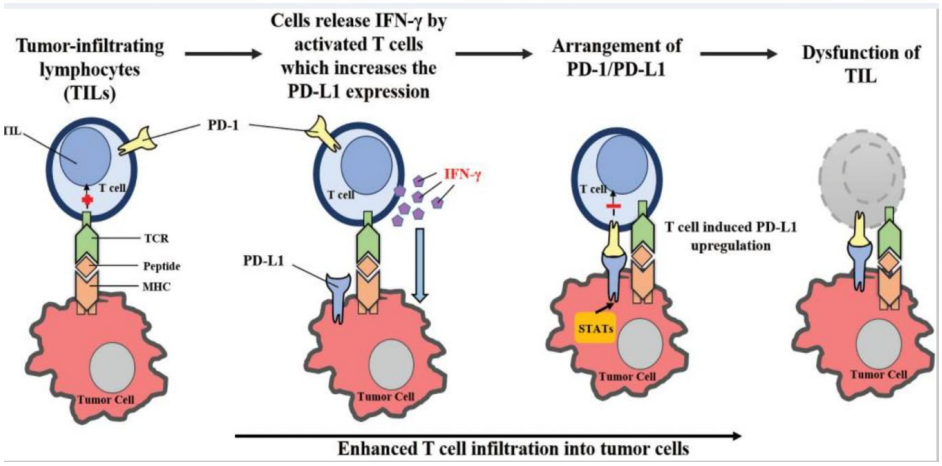
Şekil 2. 3. T hücresi aktivasyonunun baskılanmasında programlanmış hücre ölümü (PD) ve Sitotoksik T lenfosit antijen-4 (CTLA-4) yolu[5].

B7-1/2-CD28 etkileşimi ile MHC-TCR etkileşimi, T-hücre aktivasyonunu uyarır. Aksine, CTLA-4, B7-1/2'ye bağlanır ve T hücresi aktivasyonunu önlemek için inhibitör sinyale aracılık eder (Şekil 2.3). PD yolunda en az beş etkileşimli molekül vardır: PD-1, PD-L1, PD-L2, B7-1 (CD80) ve RGM-2. PD-L1 ve PD-L2, PD-1'in ligandlarıdır ve PD-L1/PD-L2'nin PD-1 ile bağlanması, T-hücresi aktivasyonunun baskılanmasına yol açar. PD-L1, ayrıca T hücre aktivitesini inhibe etmek için aktive edilmiş T hücreleri üzerindeki

B7-1 (CD80) ile etkileşime girer. PD-L2, ikinci reseptörü RGM-2'ye sahiptir. PD-L2-RGM-2 etkileşimi, solunum toleransına aracılık eder.[5]

PD-1/PD-L1 yolunun görevlerinden biri birincil (merkezi tolerans) ve ikincil lenfoid organlarda (periferik tolerans) yer alan otoreaktif lenfositlerin negatif seçim süreci olan immün toleransın gelişimidir. Yüksek PD-L1 ekspresyonu aslında timus içinde ve dendritik hücreler üzerinde gösterilmiştir, burada PD-L1/PD-1 etkileşimi, saf T hücrelerinin proliferasyonunu ve farklılaşmasını önler. PD-1/PD-L1'in devre dışı bırakılması, lupus benzeri artrit, glomerülonefrit, diyabet, kolit ve dermatit gibi otoimmün hastalıklara yol açar. Bu yolağın bir diğer görevi de immün sistem hücrelerinin aşırı aktive olarak çevre dokulara zarar vermesini önlemektir.[51] Farklı bir işlev olarak PD-L2, akciğer makrofajlarında bulunan RGM-2 aracılığı ile solunum toleransını düzenlememektedir.[5]

Malignite durumunda tümör hücreleri immün sistemden kaçabilmek için birtakım değişikliklere uğrarlar. Bu değişikliklerde biri de PD-L1 yolağıdır. T hücreleri, PD-1 yoluyla tümör hücrelerinin yüzeyindeki PD-L1'e bağlanır ve ikisinin kombinasyonu, T hücrelerinin hücreyi normal bir hücre olarak kabul etmesini ve böylece tümör hücrelerini öldürmekten kaçınmasını sağlar.[37] Karsinogeneziste, sürücü onkojenik mutasyonlar sonucu PD-L1 ifadesinde artış görülebilir. PD-L1 ifadesi tümör mikroçevresinde salınan IFN-γ ve TNF-α tarafından da arttırılabilir (Şekil 2. 4). Tümör hücrelerinde veya tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-L1 ifadesinde artış, T lenfosit yanıtının tükenmesine yol açar.[52] Bunun sonucunda da tümör spesifik immün yanıtın zayıflaması sonucunda hastalık progresyonu gerçekleşir. Bu bilgiler ışığında geliştirilen immün kontrol noktası inhibitörleri, PD-1 ve PD-L1 etkileşimini inhibe ederek tümöre karşı gelişen T hücre yanıtının yeniden aktifleşmesini sağlayarak yeni tedavi seçenekleri olarak karşımıza çıkmaktadır.[53]



Şekil 2. 4. PD-1/PD-L1'in aracılık ettiği tümör bağışıklığına karşı uyarlanabilir direnç.[5]

Lenfoid organlarda aktivasyonun ardından, tümöre özgü Teff'ler, tümörü infiltre eden lenfositleri (TIL) geliştirmek için tümör bölgesine girer. Tümör antijenlerinin tanınması üzerine, TIL'ler, tümör mikro-ortamında PD-L1 ekspresyonunu uyaran IFN-y gibi sitokinleri serbest bırakır. PD-1'e bağlanarak, PD-L1, T hücrelerine baskılayıcı bir sinyal ve tümör hücrelerine anti-apoptotik bir sinyal sağlayarak T hücresi işlev bozukluğuna ve tümörün hayatta kalmasına yol açar.[5] (Şekil 2.4.)

Bugüne kadar standartlaştırılmış dört PD-L1 immünohistokimya testi mevcuttur: Dako platformlarında 22C3, 28-8 pharmDx testleri, Ventana platformlarında SP142 ve SP263. Her klon, klinik çalışmalarda hastaların test edilmesi için belirli bir anti-PD-1 veya anti-PD-L1 ilacı (sırasıyla pembrolizumab, nivolumab, atezolizumab ve durvalumab) ile kombine halinde geliştirilmiştir. Bu testler, birincil monoklonal antikorların özellikleri, immünohistokimya platform tipi, kullanılan saptama sistemi, boyamanın yorumlanması ve klinik çalışmalarda tanımlanan ilgili pozitiflik eşikleri ve değerlendirme yöntemleri açısından farklılık gösterir.[54] Son zamanlarda yapılan birkaç çalışma, küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında, tümör hücrelerinin boyanmasıyla ilgili olarak 22C3, 28-8 ve SP263 testlerinin yakın bir analitik performansını gösterdiğini, SP142 testlerinin ise daha düşük bir yüzdede boyandığını ortaya koymuştur.[55] Bu dört testin önemli dezavantajı fiyatlarıdır. Bu nedenle, çalışmalarda sıklıkla kullanılan E1L3N gibi daha uygun maliyetli testler gündeme gelmiştir. Yukarıda sayılan, ilaç karşılığı bulunan ve değerlendirme

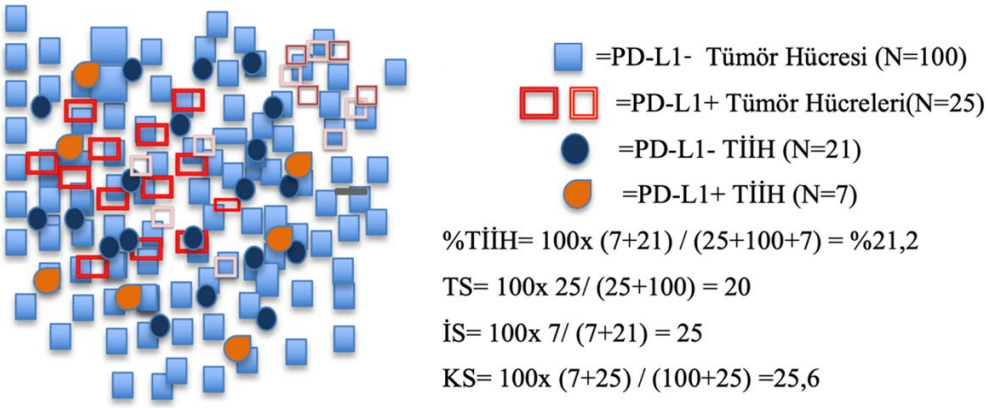
yöntemleri ayrıntılı olarak belirlenen klonların aksine E1L3N için standart bir değerlendirme yöntemi yoktur. Bu nedenle bu klonun PD-L1 durumunu belirlemede kullanılıp kullanılamayacağına ilişkin birtakım çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda E1L3N klonunun Dako 28-8, Dako 22C3 veya Ventana SP263 PD-L1 tahlilleri ile yüksek uyum sağlayabildiğini göstermiştir.[54]

Farklı klonlar için kullanılan skorlama sistemleri Tablo 2.7'de, skorlama yöntemlerine ait örnekler ise şekil 2.5'te özetlenmiştir.

Tablo 2.7. Ürotelyal karsinom için klonlara göre skorlama sistemleri ve kesme değerleri[56]

Klon	Boyama paterni	Skorlama sistemi
sp142	Noktasal boyama Tümör hücrelerinde düşük boyanma TİİH de yüksek boyanma	%5'in üzerinde İS
SP263	Homojen boyama paterni Çoğunlukla güçlü boyanma	%25'in üzerinde TS ve İS
22c3	Homojen boyama paterni Çoğunlukla güçlü boyanma	%10'un üzerinde KS
28-8	Homojen boyama paterni Çoğunlukla güçlü boyanma	%5'in üzerinde TPS

(İS: İmmün skor, TS: Tümör skoru, KS: Kombine skor, TPS: Tümör orantı skoru)



Şekil 2. 5. PD-L1 için kullanılan farklı skorlama örnekleri.

(TİİH: Tümörü infiltre eden inflamatuar hücreler, İS: İmmün skor, TS: Tümör skoru, KS: Kombine skor, TPS: Tümör orantı puanı)

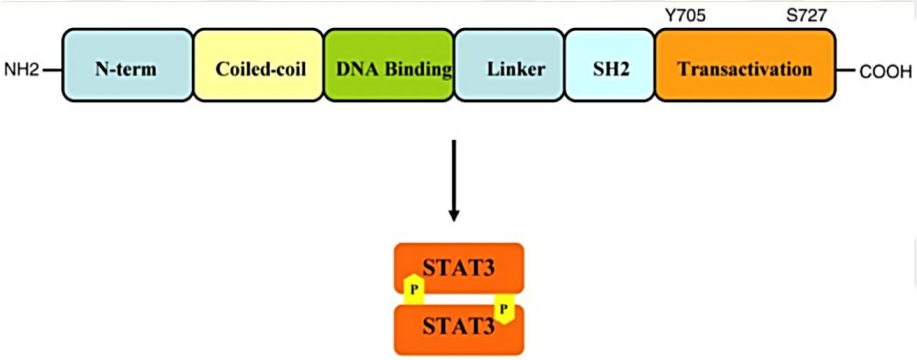
Yukarıda bahsedilen klonların aksine bizim de kullandığımız E1L3N ilaç kullanımı için FDA onayı almamış ve bu nedenle standartize değerlendirme yöntemi oluşturulamamıştır. Klinik araştırmalarda sıklıkla kullanılan bu klonun en önemli avantajı fiyatıdır.

2.6. STAT3

Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) proteinleri, sitokinler, büyüme faktörleri ve diğer peptit ligandları tarafından aktive edilen bir transkripsiyon faktörü sınıfıdır. STAT'lar, sitoplazmada çeşitli sitokin sinyallerine yanıt olarak tirozin fosforilasyonu ile aktive edilir. Aktivasyonu takiben, STAT proteinleri çekirdeğe girer, spesifik hedeflerine bağlanır ve transkripsiyon faktörleri olarak hizmet ederler.[57] STAT'lar, hücre proliferasyonu, apoptoz, bölünme ve farklılaşma dahil olmak üzere çok sayıda fizyolojik süreci etkiler. Sağlıklı hücrelerde, kontrolsüz gen ekspresyonunu önlemek için STAT'ların aktivasyonu sıkı bir şekilde düzenlenir. Bununla birlikte, kanser hücrelerinde STAT'ların uzun süreli aktivasyonu, ilaç direnci ve kötü prognoz gibi önemli istenmeyen sonuçlarla ilişkilendirilmiştir. İnsanlarda STAT ailesi, STAT-1, −2, −3, −4, −5A, −5B ve −6 olmak üzere yedi proteinden oluşur ve STAT ailesini kodlayan genler, kromozom 2 (STAT-1 ve 4), 12 (STAT-2 ve 6) ve 17 (STAT3, 5A ve 5B) olmak üzere farklı kromozomlarda yerleşim gösterir. Yedi üye arasında, STAT3 ve 5, tümör ilerlemesi ile en güçlü ilişkili olanlardır. STAT3 veya STAT-5'in (özellikle STAT3) kalıcı aktivasyonu,

çoğalma, hücre döngüsü ilerlemesi, apoptoz, anjiyogenez ve bağışıklıktan kaçınma gibi çeşitli işlevleri düzenler. Sonuç olarak, STAT3, tümör büyümesini teşvik etmek için tümör mikro-ortamında bağışıklık hücreleri alımı da dahil olmak üzere, stromal hücrelerdeki rolü nedeniyle temel olarak tümör proliferasyonu ve hayatta kalmasına katkıda bulunur.[58]

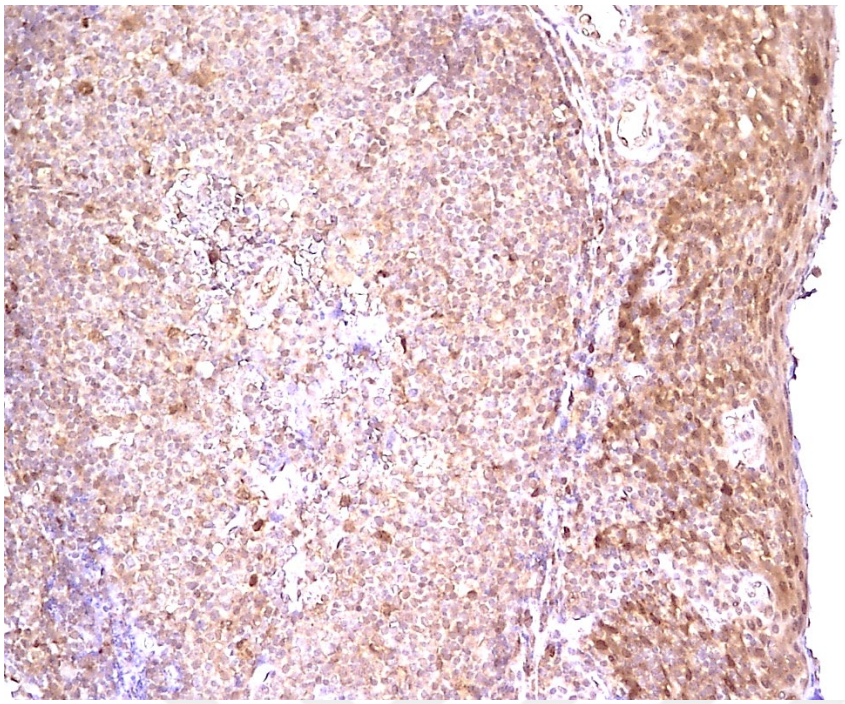
Yapısına bakıldığında STAT3 altı ana bölümden oluşmaktadır (Şekil 2. 6). N-terminal alanı, promotör bağlanması ve transkripsiyonel makinelerin montajı arasındaki etkileşime aracılık eder. Sarmal-sarmal alanı, düzenleyici proteinler ve transkripsiyon faktörleri ile etkileşimleri destekler. DNA bağlama alanı, STAT3 tarafından düzenlenen gen promotörü ile doğrudan temas halindedir. SH-2 alanı, farklı bir STAT3 monomerinin fosforile edilmiş Tyr705 bölgesi ile etkileşim yoluyla dimerizasyona aracılık eder. Transaktivasyon alanı, hedef genin transkripsiyonel aktivasyonundan sorumludur.[58]



Şekil 2. 6. STAT3'ün moleküler yapısı[58]

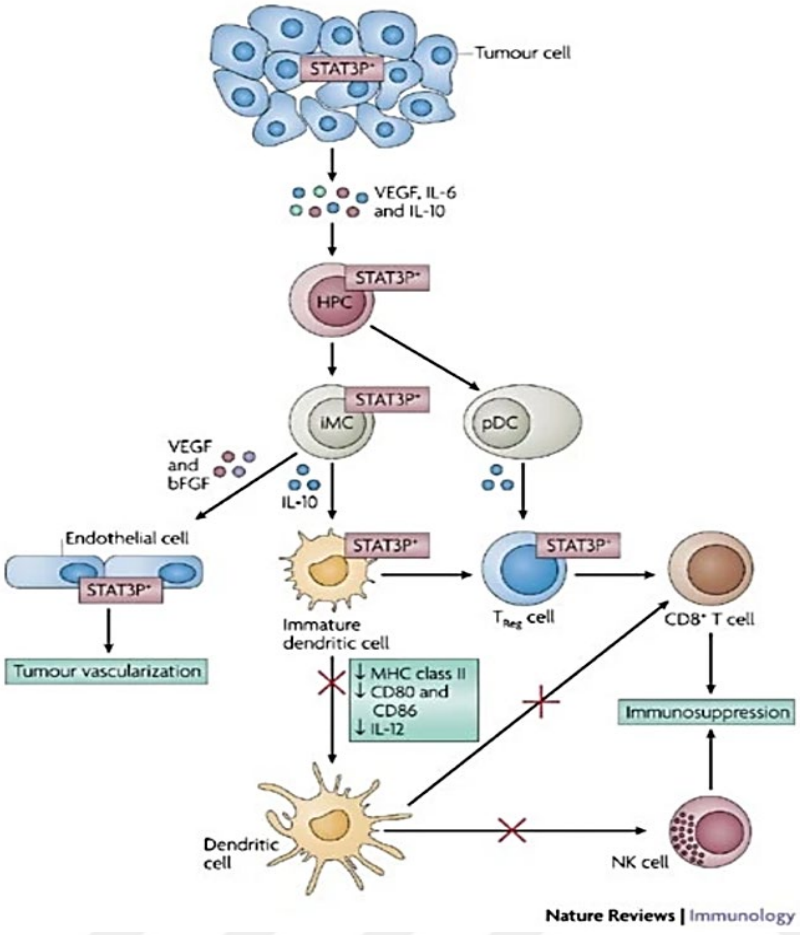
Genellikle büyüme faktörleri ve interlökinlerin kullandığı JAK/STAT3 yolu, tipik olarak STAT3'ün aktivasyonunda en önemli sinyal yolu olarak kabul edilir. Özellikle interlökin (IL)-6, JAK/STAT3 yolundaki membrana bağlı reseptörlere spesifik olarak bağlanan en iyi karakterize edilen sitokindir.

IL-6, hücre yüzeyinde IL-6 reseptörüne bağlayarak konformasyonel değişiklikleri indükler ve bir homodimer ve heterodimer oluşumuna neden olur. Bu, JAK aktivasyonunu başlatır. Ardından sitozolik STAT3'ün alınması ve aktivasyonu meydana gelir. Sonuç olarak, aktive edilmiş STAT3 çekirdeğe yer değiştirir ve hedef genine bağlanarak transkripsiyonu başlatır (Resim 2.11). PIAS ve SOCS3, STAT3'ün hücre içi düzenlenmesini sağlayan moleküllerdir.[58]



Resim 2. 11. İmmünohistokimyasal olarak çoğu sitoplazmik STAT3 boyanması, seyrek hücrede güçlü nükleer boyanma (STAT3 x200).

Kanserde STAT3 ile interlökin 6 (IL-6) ve interlökin 10 (IL-10), EGF, HGF, Her2/Neu, VEGF gibi büyüme faktörleri sıkı ilişki içerisindedir (Şekil 2. 7). Sitoplazmada inaktif olarak bulunan STAT3 bu büyüme faktörleri ile aktive olarak mitojenik bir görev üstlenir. Buna ek olarak, genellikle çeşitli insan kanseri türlerinde aktif olan Src gibi onkoproteinler de STAT3 aktivatörleridir. STAT3 tümör bağışıklığını baskılamadaki rolünün çok önemli bir yönü, STAT3'ün çeşitli immünosupresif faktörlerin ekspresyonunu yukarı regüle etmesidir. Bunlardan biri Th-1 üzerine negatif etkisi olduğu bilinen IL-10, bir diğeri de dentritik hücreler üzerinde baskılayıcı etkisi olduğu bilinen VEGF'dir. Bununla birlikte tümör hücreleriyle etkileşime giren myoid hücrelerde STAT3 aktivitesinin arttığı ve böylelikle anti-tümör immün yanıtında baskılamaya sebep oldukları saptanmıştır. Bu nedenle STAT3 sayesinde tümör hücreleri hem immünsupresyona sebep olarak immüniteden kaçmış olurlar hem de anjiyogenezisi indükleyerek beslenmesini artırarak hastalık progresyonuna sebep olmaktadırlar.[59]



Şekil 2. 5. STAT3'ün IL-6, IL10 ve VEGF ile tümör mikroçevresi düzenlemesi[59]

STAT3'ün tümör immünolojisindeki bir başka etkisi de düzenleyici T lenfositler (T_{reg}) üzerinden gerçekleşmektedir. Bu hücreler genellikle tümörü infiltre eden lenfositler olup lokal bağışıklık üzerine negatif bir etkisi vardır. Tümörle ilişkili T_{reg}'ler, antijene özgü CD8+ T hücrelerinin proliferasyonunu ve IFNy üretimini baskılayarak, önceden aktive edilmiş CD8+ T hücrelerinin aracılık ettiği bağışıklık tepkilerini etkili bir şekilde inhibe eder. T_{reg} lenfositler etkilerini IL-10 ve TGF-B üzerinden gerçekleştirmektedir. STAT3 bu iki sitokinin üretildiği promotor bölgeye bağlanarak bu sitokinlerin üretimini artırabilir.[59] Bunun yanında STAT3'ün PD-L1 gen bölgesine bağlanarak PD-L1 ifadesini artırdığı ve böylece tümör hücrelerinin immün sistemden kaçmasına yardımcı olduğuna dair bazı çalışmalarda mevcuttur.[60]

STAT3 ün bir diğer fonksiyonu da IL-6 aracılığıyla epitelyal-mezenkimal geçiş (EMG) yoluyla hücre göçünü sağlamasıdır. EMG normal embriyonik gelişimde merkezi rol alan,

hareketsiz epitel hücrelerinin hareketli hale geçmesini sağlayan bir süreçtir. Bu dönüşüm yalnıza embriyonik gelişim sürecinde değil, kanser ilerlemesinde ve kronik inflamasyonda da izlenmektedir. EMG hücrelerin epitelyal özelliklerini kaybedip mezenkimal özellikler kazanmasıdır. Bunun yanında tümör mikroçevresi ve çeşitli sinyaller ile hücreler bazı epitelyal özelliklerini kaybedip hem epitelyal hem de mezenkimal özellikler içerebilir hale gelebilmektedir ve bu durum parsiyel EMG olarak tanımlanır. Bu dönüşümün ilk basamağı hücreler arası bağlantılar ile apikal-bazal polarite kaybıdır.[61] Bu basamakta E-kaderin ve β-Kateninin görev almakta olup EMG saptanmasında bu ve benzeri belirteçler faydalı olabilmektedir. EMG temel olarak 3 gruba ayrılır. Embriyonik dönemde gerçekleşen Tip-1, Fibrozis ve yara iyileşmesinde gerçekleşen Tip-2 EMG fizyolojik durumlardır. Tip-3 EMG ise kanser progresyonu ve metastaz ile ilişkilendirilmiştir. EMG sayesinde metastaz ve invazyon yeteneği kazanan tümör hücreleri metastatik bölgelerde bu sürecin tersi olarak tanımlanan mezenkimal epitelyal dönüşüm ile tekrar epitelyal özellikler kazanabilirler.[61] Bu bilgiler ışığında epitelyal-mezenkimal geçiş yapan tümörlerin, daha kötü seyirli olması ve metastaz riskinin artması sürpriz olmayacaktır. Bu nedenle kas invaziv olmayan mesane kanserleri gibi radikal cerrahi işlemler yerine sıkı takip edilmesi gereken tümörlerde bu sürecin saptanabilmesi olası nüks ve prognoz açısından oldukça önemlidir.[62]

EMG ile STAT3 ilişkisi, daha önce de bahsedildiği gibi IL-6 üzerindendir. Yakın zamanlarda, anormal IL-6 ekspresyonu ve bunun STAT3 aktivasyonu, insanlarda karsinomların gelişimi ve ilerlemesi ile, özellikle metastatik yükteki artışlar ve azalan genel hayatta kalma ile pozitif olarak ilişkilendirilmiştir.[64] Yukarı regüle edilmiş IL-6 sinyali, Twist ve Snail ekspresyonunu önemli ölçüde indükleyerek, EMT programlarının başlatılmasına ve meme ile baş ve boyun kanserlerinde mezenkimal belirteçlerin ekspresyonuna yol açar. Twist ve Snail EMG de oldukça önemli rolleri olan düzenleyici moleküllerdir.[65] Twist, IL-6'nın üretimini artırarak, STAT3'ün otokrin aktivasyonuna yol açar. Birlikte ele alındığında, bu bulgular kanserlerde EMT programlarına bağlı bir IL-6 → STAT3 → Twist sinyalleme ekseninin aktivasyonunu içeren bir otokrin, pozitif geri besleme döngüsünün varlığına işaret eder.[66]

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışmanın Evreni ve Olgu Seçimi

Çalışmanın evrenini Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Üroloji Anabilim Dalı'nda 2017-2022 yılları arasında 5 yıllık dönem boyunca, muskularis propria invazyonu göstermeyen (Ta, T1), Avrupa Üroloji Derneğinin 2018 tedavi rehberine göre intravezikal BCG tedavisi uygulanmış hastalar oluşturmaktadır.

Çalışma protokolü, Kocaeli Üniversitesi İnsan Araştırmaları Etik Kurulu tarafından onaylandı. (Etik Kurulu Karar No: KÜ GOKAEK-2022/01.07, Proje No: 2022/03)

3.2. Çalışmanın Tipi/Türü

Araştırma retrospektif vaka kontrollü bir çalışmadır.

3.3. Araştırmaya Alınma ve Dışlanma Kriterleri

Tüm hastaların BCG tedavisi öncesi sistoskopik değerlendirme yapılarak rezidü tümör bulunmamasına dikkat edildikten sonra BCG insilasyon tedavisi uygulanan hastalardan oluşmasına dikkat edildi. Bu kriterlere uyan 87 hasta belirlendi.

Bu hastaların 26'sında ilk tanı dış merkezde konulmuş olup ilgili preparatlara ulaşılamadı. Bunlar dışında 1 hasta tedavi sırasında kaybedildiği için nüks durumu saptanamamış olup çalışma dışı bırakıldı. 1 hastada da devam eden süreçte üreter tümör tanısı aldığından çalışma listesine alınamadı.

Takip ve tedavi sonucu nüks bulgusuna rastlanmayan hastalarda yalnızca tedavi öncesi preparatları çalışma için kullanıldı. Nüks saptanan hastalarda nüks zamanı kaydedilerek ilk saptanan nüks tümör dokusuna ait parafin bloklar immünohistokimyasal çalışmalar için seçildi.

Hastalara ait uygun biyopsi camlarının tümü tekrar değerlendirildi. Birden fazla bloğa sahip hastalarda varsa invaziv tümör komponenti içeren bloklar seçildi. Isıl artefakt içeren blokların seçilmemesine dikkat edildi.

3.4. Veri Toplama Araçları ve Yöntemi

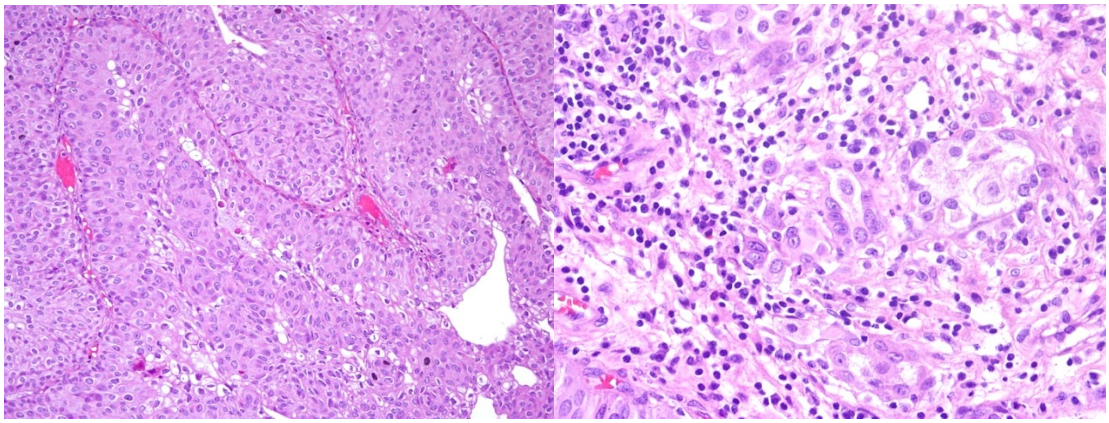
Veri toplamak için Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde kullanılan NUCLEUS v9.37 yönetim bilgi sistemi kullanıldı. Bu sistem üzerinden hasta yaşı, cinsiyeti, klinik öyküsü, TUR-M ameliyat raporları, nüks, metastaz durumu, BCG tedavi dozları, tedaviye

başlama zamanları kaydedildi. Ayrıca bu sistem vasıtasıyla hastalara ait patoloji raporları belgelenerek patolojik tanıları, makroskopik ve mikroskopik bulguları, materyal alınma zamanları saptandı.

3.5. Hematoksilen & Eozin Değerlendirme

Seçilen olgular, gerekli arşiv çalışması sonrasında tekrar değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmede lezyon tanısı, karsinoma in-situ varlığı, örneklerin muskularis propria içerip içermediği, lenfovasküler invazyon varlığı, nekroz içerip içermediği belirlendi. Ayrıca örneklerde invaziv olgularda invazyon derinliği yüzeyel ve derin olarak, invazyon paterni solid noduler, trabeküler ve infiltratif patern olarak, invaziv odağın sayısı tek ve birden fazla olarak, sınıflandırıldı ve bu olgularda desmoplazi derecesi yok, hafif, orta, şiddetli olarak belirlendi.[67] Yüksek dereceli invaziv veya non-invaziv olgularda şiddetli nükleer atipi ayrıca değerlendirildi.

İmmünohistokimya boyalı kesitler değerlendirilmeden önce H&E boyalı kesitler taranarak tümör alanları ve tümör ilişkili inflamatuar hücre (TİİH) oranı (%0, %1, %5, %10, %20, %25, %30, %40, %50, %60, %70, %75, %80, %90, %100 şeklinde) belirlendi. TİİH oranını belirlemek için infiltratif tümörlerde tümörü infiltre eden ve tümöre komşu dar stromadaki inflamatuar hücreler; papiller ürotelyal karsinom olgularında ise fibrovasküler kor içindeki, tümör tabanına bitişik ve tümörü infiltre eden inflamatuar hücreler değerlendirmeye alındı (Resim 3.1). Tümöre komşu olmayan, lamina propra yerleşimli inflamatuar hücreler değerlendirmeye alınmadı. TİİH yüzdeleri belirlendikten sonra yüzdelerine göre (Grup 1: ≤%5, Grup 2: %5-20, Grup 3: ≥%20) gruplandırıldı.



Resim 3. 1. Düşük evreli tümörü infiltre eden inflamatuar hücre yüzdesi (sol, 1.Grup, H&Ex200); yüksek evreli tümörü infiltre eden inflamatuar hücre yüzdesi (sağ, 3.Grup, H&Ex400)

3.6. İmmünohistokimyasal Boyama

Belirlenen parafin bloklardan 4 µm kalınlığında kesitlerde PD-L1, PD-L2 ve STAT3 antikorları kullanılarak boyamalar gerçekleştirildi(Tablo 3.1). Boyamalar Ventana otomatik boyama cihazında (RocheVentana), Ventana Optiview ve Ultraview DAB kitleri kullanılarak yapıldı. Pozitif dış kontrol olarak her üç belirteç için de tonsil dokusu kullanıldı. İmmünohistokimyasal çalışmada kullanılan antikorların bazı özellikleri tablo 3.1. de özetlenmiştir.

Tablo 3. 1. İmmünohistokimyasal çalışmada kullanılan antikorların özellikleri

Antikor	Antijen açığa çıkarma yöntemi/süre	Kullanılan Kit	Klon	Dış Kontrol	Tedarikçi
PD-L1	EDTA/60’	Optiview DAB	E1L3N	Tonsil ve plasenta	Cell Signaling
PD-L2	EDTA/60’	Optiview DAB	D7U8C	Tonsil ve plasenta	Cell Signaling
STAT3	EDTA/60’	Optiview DAB	D1B2J	Tonsil	Cell Signaling

3.7. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

3.7.1. PD-L1

İmmünohistokimya boyalı preparatlar OLYMPOS BX50F4 model çift başlı, binokuler mikroskop ile iki patolog tarafından aynı anda değerlendirildi. 100x büyütme alanında immünohistokimyasal olarak boyanan tümör hücresi sayısının tümör hücresine oranlanarak tümör PD-L1 skoru belirlendi.(Resim 3.2) Benzer şekilde tümör infiltre eden inflamatuar hücrelerde de boyanma yüzdeleri belirlendi.(Resim 3.3) Bunların dışında bu alanda

boyanan toplam hücre sayısının (tümör hücresi ve TİİH) toplam tümör hücresine göre yüzdesi belirlenerek kombine skor ayrıca kaydedildi.

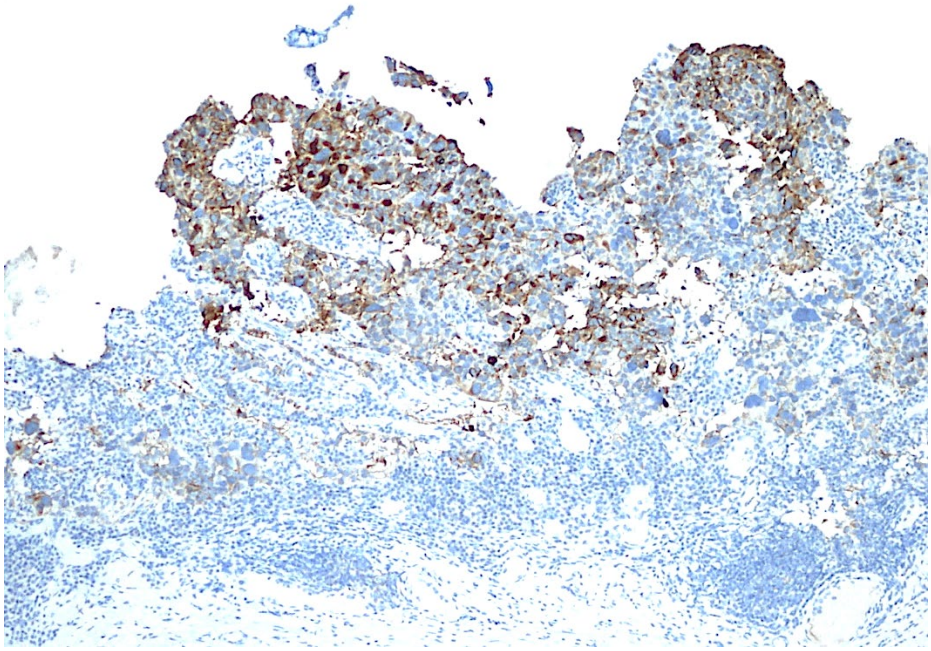
Belirlenen tümör hücresi boyanma yüzdeleri farklı skorlama sistemlerine göre şu şekilde yeniden gruplandırıldı:

1. Gruplandırma[68]: %0-24=1, %25-49= 2, %50< =3
2. Gruplandırma[69]: <%1 =0, %1-4=1, %5-49=2, %50< =3

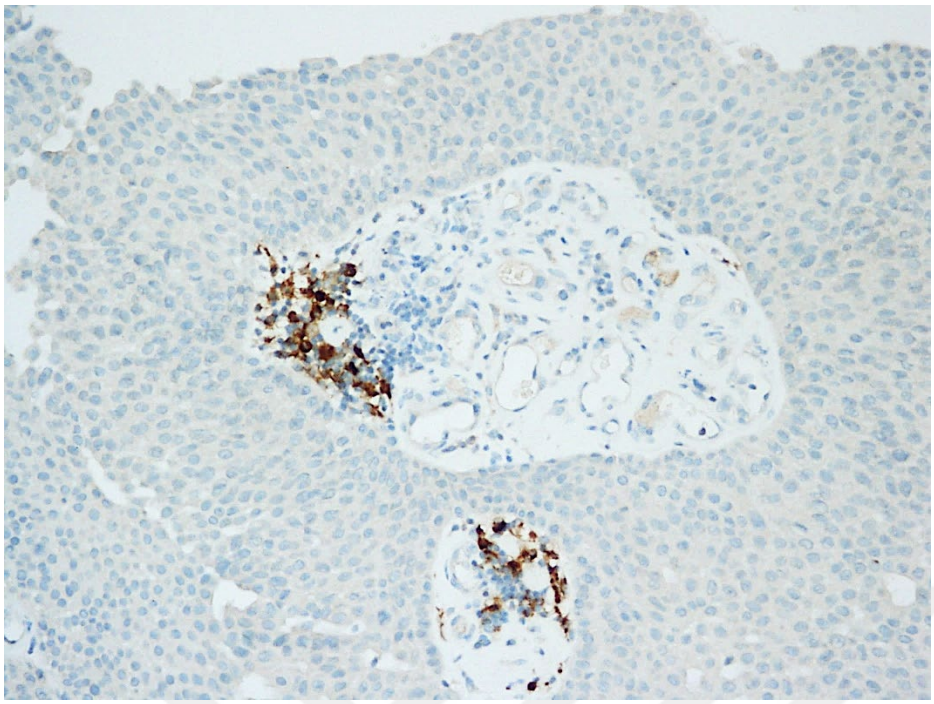
Belirlenen immün hücre boyanma yüzdeleri farklı skorlama sistemlerine göre şu şekilde yeniden gruplandırıldı:

1. Gruplandırma[68]: %0-24=1, %25-49= 2, %50< =3
2. Gruplandırma[69]: <%1 =0, %1-4=1, %5-10=2, %10< =3

Belirlenen kombine skor, <%1: grup1, %1-10: grup 2, %10-49: grup2, %50< : grup 3 olarak gruplandırıldı. [70]



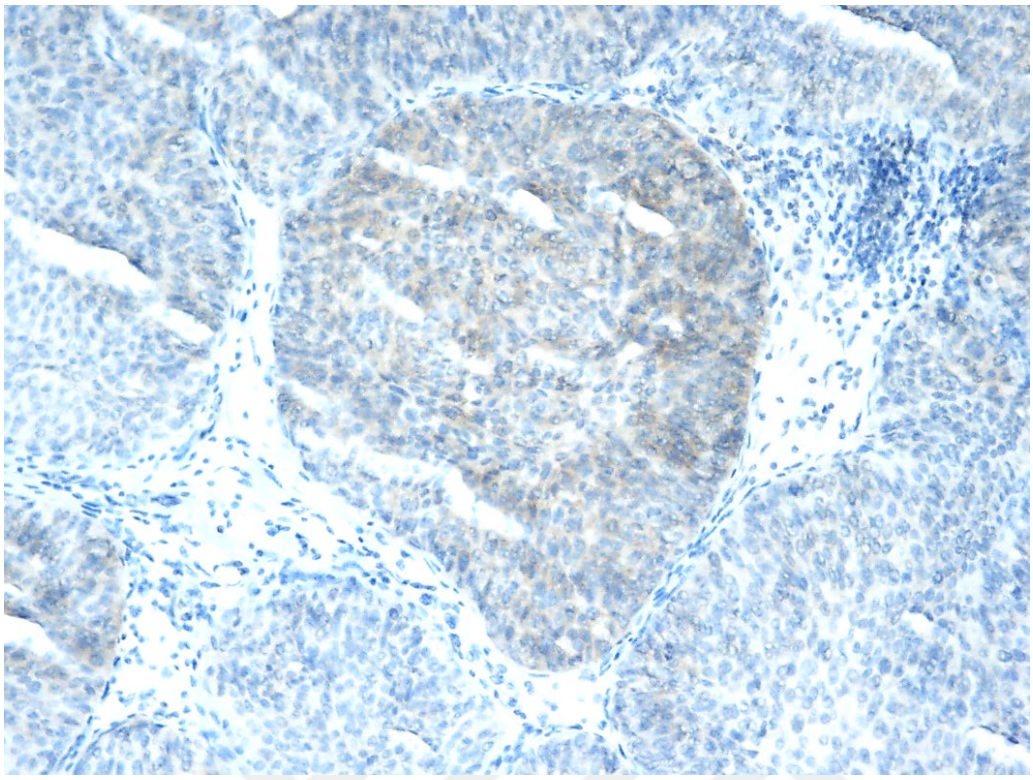
Resim 3. 2. PD-L1 ile Tümör hücrelerinin %80'inde, TİİH'de %0'ında boyanma (PD-L1, x200).



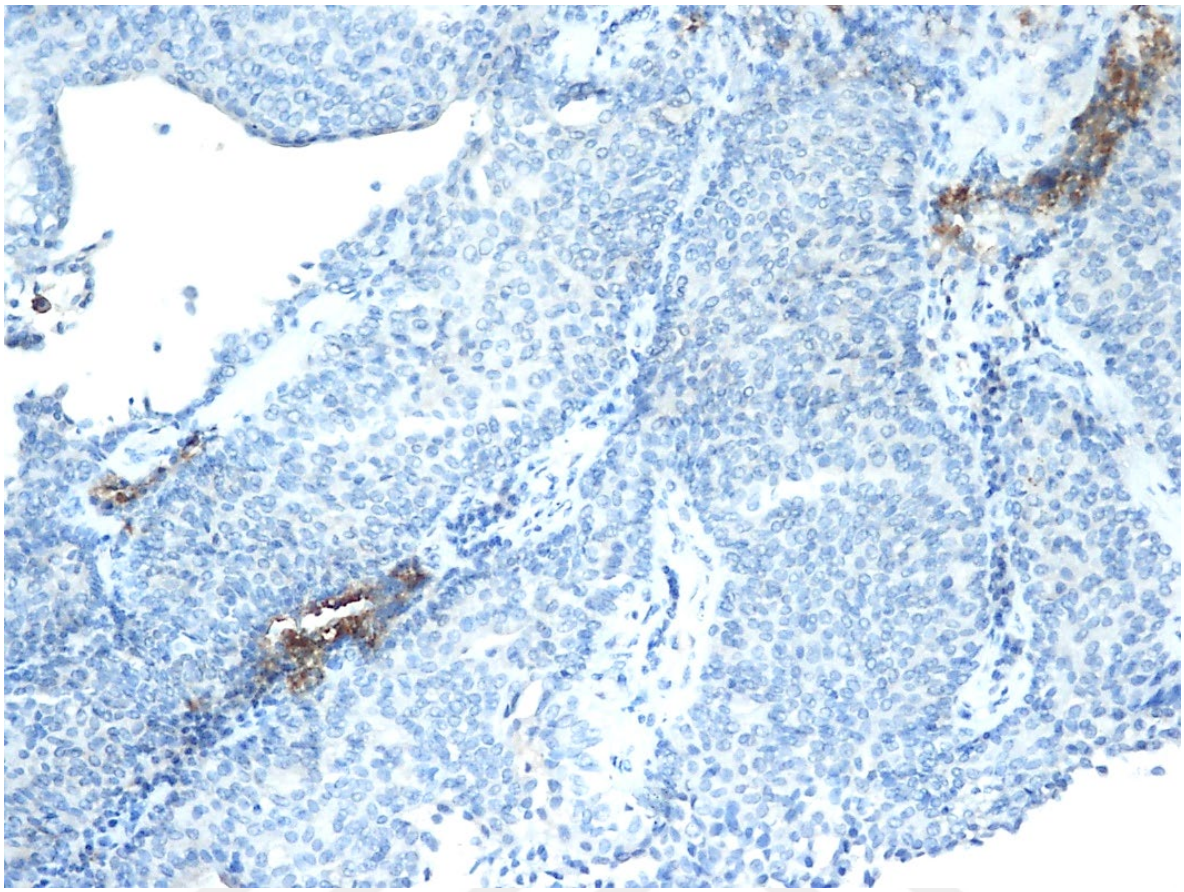
Resim 3. 3. PD-L1 ile Tümör hücrelerinin %0'ında, TİİH'de %30'unda boyanma (PD-L1, x200)

3.7.2. PD-L2

İmmünohistokimya boyalı preparatlar OLYMPOS BX50F4 model çift başlı, binokuler mikroskop ile iki patolog tarafından aynı anda değerlendirildi. Tümör hücrelerinde(Resim 3.4), tümörü infiltre eden hücrelerde boyanma(Resmim 3.5) oranları 100x büyütmede ayrı ayrı kaydedildi. Bunun dışında, boyanan tümör hücreleri ve tümörü infiltre eden immün hücrelerin toplamının toplam hücre sayısına göre yüzdesi belirlenerek PD-L2 kombine skoru belirlendi. Tümör skoru ve immün skor belirlendikten sonra boyanma yüzdelerine göre gruplandırıldı[71]. (Grup 0: <%1, Grup 1: %1-25, Grup 2: 25-50, Grup 3 : ≥%50)



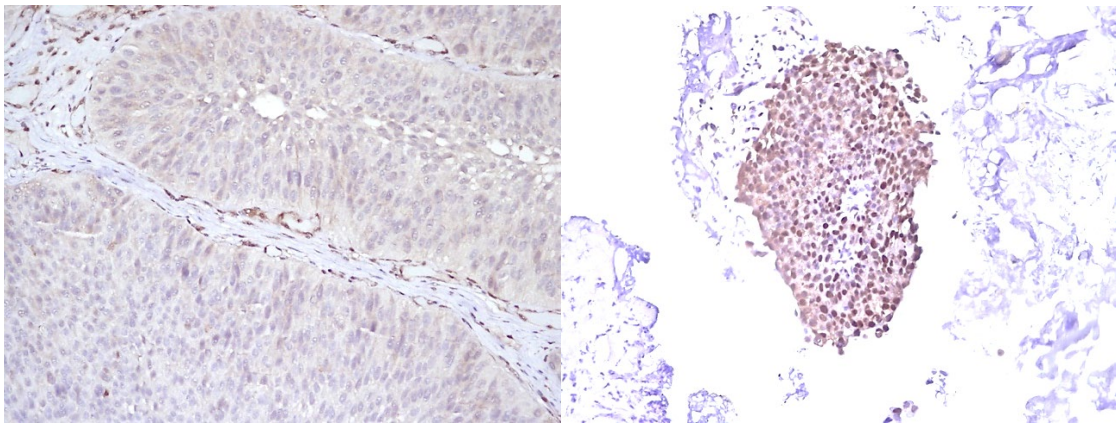
Resim 3. 4. PD-L2 ile Tümör hücrelerinin %70'ide, TİİH'de %0'ında boyanma (PD-L2, x200).



Resim 3. 5. PD-L2 ile Tümör hücrelerinin %0'ında, TİİH'de %10'unda boyanma (PD-L2, x200).

3.7.3. STAT3

İmmünohistokimya boyalı preparatlar OLYMPOS BX50F4 model çift başlı, binokuler mikroskop ile iki patolog tarafından aynı anda değerlendirilmiştir. STAT3 sitoplazmik boyanması fizyolojik olarak kabul edilip nükleer boyama şiddetine göre 1, 2, 3 olmak üzere 3 skor verilmiştir. (Resim 3.6) Tüm tümörde nükleer boyanma oranı yüzdesel olarak belirlendikten sonra bulunan iki değer çarpılarak H skoru elde edilmiştir.[72]



Resim 3. 6. STAT3 ile düşük ve yüksek nükleer boyanma (STAT3, x200 ve x100)

3.8. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler Graph Pad Instat programı kullanılarak istatistiksel açıdan değerlendirildi. Tanımsal istatistikler ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değerler olarak belirlendi. Değişken dağılımının normalliğini ve varyansın homojenliğini test etmek için Kolmogorov Smirnov test kullanıldı. Varsayım karşılandığında gruplar parametrik varyans analiz testiyle (bağımsız örneklem tek yönlü ANOVA testi ve post hoc Tukey) analiz edildi. Parametrik testlere ait ön koşullar sağlanmadığında veriler, parametrik olmayan testler kullanılarak analiz edildi. Bunun için çoklu karşılaştırma amacıyla Kruskal Wallis testi (Nonparametric ANOVA), post hoc analiz için Bonferroni düzeltmesi yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi ile yapıldı. Gerektiğinde ikili karşılaştırma için bağımsız örneklem t-testi kullanıldı. Spearman Rank Correlation test ile korelasyon analizleri yapıldı. %95'lik güven aralığında çalışıldı ve $P<0,05$, $P<0,01$ ve $P<0,001$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda mesanesinde muskularis propria invazyonu göstermeyen (Ta veya T1 evresinde) tümör saptanan, intravezikal BCG tedavisi uygulanmış toplam 59 hastanın klinik, histopatolojik, immünohistokimyasal boyanma bulguları retrospektif olarak araştırıldı. Herhangi bir hastada mortalite veya komplikasyon saptanmadı.

4.1. Tüm Hastaların Demografik ve Klinikopatolojik Verileri

Hastaların demografik ve klinik özellikleri Tablo 4.1'de özetlenmiştir. Hastaların yaş ortalamaları 66,5±7,7 idi ve çoğunluğu erkek hastalar oluşturdu (%83,9). Sistoskopik olarak çok odaklı tümörler, tek odaklı tümörlere göre yüksek oranda bulundu (sırasıyla %56,0; %44,0). İlk BCG tedavisi sonrası 20 olguda nüks, ikinci BCG tedavisi sonrası 13 olguda tekrar nüks saptandı. Bu 13 olgunun ikisinin akciğerlerinde uzak metastaz saptandı (Tablo 4.1).

Tablo 4. 1. Hastaların demografik ve klinik verileri

Parametre	**N = 59**
Yaş	
X ± SS	66,5±7,7
<65 yaş, N (%)	19 (%32,2)
≥65 yaş, N (%)	40 (%67,8)
Cinsiyet, N (%)	
Erkek	49 (%83,0)
Kadın	10 (%17,0)
Sistoskopi, N(%)	
Tek odak	26 (%44,0)
Multifokal	33 (%56,0)
Boyut (cm)	3,1±2,4
BCG kür sayısı, N(%)	
6	24 (%47,0)
>6	35 (%59,3)

Rekürrens, N (%)	
1. BCG	20 (%33,9)
2. BCG	13 (%22,0)
Uzak metastaz varlığı	2 (%3,4)

BCG: Bacillus Calmette-Guerin

Hastaların patolojik verileri Tablo 4.2'de özetlenmiştir. Hastaların %45,8'inin (n=27) yüksek dereceli ve invaziv ürotelyal karsinom evresinde olduğu patolojik olarak belirlendi. 17 olguda eşlik eden karsinoma in situ saptanırken, 3 olgunun tümöründe skuamöz diferansiyasyon görüldü. İnvaziv tümörler izlendiğinde invaziv odak sayısı genellikle birden fazla olduğu (%33,9), invaziv odak çaplarının çoğunlukla 2 mm'nin üzerinde olduğu tespit edildi. 40 olgunun patoloji materyallerinde muskularis propriaya ait bulgu izlenmedi. İnvaziv tümörlerde en sık görülen invazyon paterni infiltratif patern (%28,8) olarak değerlendirildi. Tüm tümörlerin 9'unda tümör nekrozu izlendi. Yüksek dereceli olarak değerlendirilen tümörlerin 8'inde yüksek derecede nükleer atipi dikkati çekti. Desmoplazi saptanan invaziv karsinom olgularında en sık hafif şiddette desmoplazi varlığı saptandı (Tablo 4.2).

Tablo 4. 2. Hastaların patolojik verileri

Parametre	**N (%)**
Tümör Evre, N (%)	
Ta-düşük dereceli	11 (%18,6)
Ta-yüksek dereceli	20 (%33,9)
T1-düşük dereceli	1 (%1,7)
T1-yüksek dereceli	27 (%45,8)
Lenfovasküler invazyon, N (%)	0 (%0)
LP İnvazyon Derinliği	
Yok	31 (%52,5)
Yüzeyel LP	25 (%42,4)
Derin LP	3 (%5,1)

Eşlik eden KİS	17 (%28,8)
Skuamöz diferansiyasyon, N (%)	3 (%5,1)
İnvazyon yaygınlığı	
Yok	31 (%52,5)
1 odak	8 (%13,6)
>1 odak	20 (%33,9)
İnvazyon odak çapı (mm)	
Yok	31 (%52,5)
<2 mm	13 (%22,0)
≥2 mm	15 (%25,5)
Muskularis propria	
Örneklenebilen	19 (%32,2)
Örneklenemeyen	40 (%67,8)
İnvazyon paterni	
Yok	31 (%52,5)
Solid	10 (%17,0)
Trabeküler	1 (%1,7)
İnfiltratif	17 (%28,8)
Nekroz	9 (%15,2)
Pleomorfizm	8 (%13,6)
Desmoplazi	
Yok	40 (%67,8)
Hafif	12 (%20,3)
Orta	7 (%11,9)
Ağır	0 (%0)

LP: Lamina propria, KİS: Karsinoma in situ

Hastaların demografik ve klinik verilerinin tümör evresine göre karşılaştırması Tablo 4.3'te özetlenmiştir. Ta evresindeki hastaların %64,5'i, T1 evresindekilerin ise %71,4'ü 65 yaş ve üzerindeydi. Her iki evre tümörde erkek cinsiyet baskınlığı dikkati çekti. Ancak hastalar yaş ve cinsiyet açısından anlamlı bir fark göstermedi (sırasıyla p=0,574 ve 0,734).

Sistoskopik değerlendirmede Ta evresindeki tümörlerin 14'ü (%48,4), T1 evresindeki tümörlerin ise 18'i (%64,2) multifokal dağılım göstermekteydi. Her iki evre tümörde de BCG insilasyon sayıları 6'nın üzerindeydi ve oransal olarak yakın değerde saptandı. Ta evre tümörlerde 1. BCG tedavisinde %41,9, T1 evre tümörlerde ise %25 oranında nüks saptandı. T1 evresindeki olguların ikisinin takiplerinde muskularis propria invazyonu ve ilerleyen zamanda akciğer metastazı saptandı. Ta evre tümörlerde nüks ve hastalık ilerlemesi saptanmadı (Tablo 4.3).

Tablo 4. 3. Hastaların demografik ve klinik verilerinin tümör evresine göre karşılaştırması

Parametre	**Ta (N=31)**	**T1 (N=28)**	**P değeri**
Yaş			
X ± SS	67,1±8,1	65,9±7,2	0,574
<65 yaş, N (%)	11 (%35,5)	8 (%28,6)	0,591
≥65 yaş, N (%)	20 (%64,5)	20 (%71,4)	
Cinsiyet, N (%)			
Erkek	25 (%80,6)	24 (%85,7)	0,734
Kadın	6 (%19,4)	4 (%14,3)	
Sistoskopi, N (%)			
Tek odak	16 (%51,6)	10 (%35,8)	0,295
Multifokal	15 (%48,4)	18 (%64,2)	0,136
Boyut (cm)	2,6±1,0	3,7±2,8	
BCG kür sayısı, N (%)			
6	13 (%41,9)	11 (%39,3)	0,836
>6	18 (%58,1)	17 (%60,7)	
Rekürrens, N (%)			
1. BCG	13 (%41,9)	7 (%25)	0,801
2. BCG	9 (%29,0)	4 (%14,3)	
Uzak metastaz varlığı	0 (%0)	2 (%7,1)	0,221

BCG: Bacillus Calmette-Guerin

Hastaların patolojik verilerinin tümör evresine göre karşılaştırılması Tablo 4.4'te özetlenmiştir. Her iki evre tümörde lenfovasküler invazyon saptanmadı. T1 evre tümörler invazyon derinliği açısından sınıflandırıldığında %28,6'sının derin, %71,4'ünün yüzeyel invazyon gösterdiği ve dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (p<0,0001). Karsinoma in-situ eşlik etme yüzdeleri değerlendirildiğinde Ta evre tümörlerin %25,8 inde, T1 evre tümörlerin ise %32,1'inde bu bulgu saptandı. Ta evre tümörlerin 2'sinde (%6,5), T1 evre tümörlerin ise 1'inde (%3,6) skuamoz diferansiyasyon saptandı. İnvazyon yaygınlığına göre T1 evre tümörlerin %71,4'ünün birden fazla odakta invazyon göstermekteydi (p<0,0001). En büyük invaziv odak çapına göre 2mm'den büyük olan 15 (%53,6) olgu saptandı (p<0,0001). Nekroz ve pleomorfik çekirdek bulundurma oranının T1 tümörlerde daha fazla olduğu saptandı. Tümör infiltre eden inflamatuar hücre (TİİH) oranı gruplara göre karşılaştırıldığında, Ta evre tümörlerde grup 1'in (%67,7) çoğunlukta olduğu, buna karşın T1 evre tümörlerde bu çoğunluğu grup 3'ün (%46,4) oluşturduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlendi (p=0,0014).

Tablo 4. 4. Hastaların patolojik verilerinin tümör evresine göre karşılaştırılması

Parametre	**Ta (N=31)**	**T1 (N=28)**	**P değeri**
Lenfovasküler invazyon, N (%)	0 (%0)	0 (%0)	-
LP İnvazyon Derinliği, N (%)			
Yok	31 (100)	0 (%0)	**<0,0001**
Yüzeyel LP	0 (%0)	8 (%28,6)	
Derin LP	0 (%0)	20 (%71,4)	
Eşlik eden KİS, N (%)	8 (%25,8)	9 (%32,1)	0,774
Skuamöz diferansiyasyon, N (%)	2 (%6,5)	1 (%3,6)	0,615
İnvazyon yaygınlığı, N (%)			
Yok	31 (%100)	0 (%0)	
1 odak	0 (%0)	8 (%28,6)	**<0,0001**
>1 odak	0 (%0)	20 (%71,4)	
İnvazyon odak çapı (mm), N (%)			**<0,0001**

Yok	31 (%100)	0 (%0)	
<2 mm	0 (%0)	13 (%46,4)	
≥2 mm	0 (%0)	15 (%53,6)	
İnvazyon paterni			
Solid	0 (%0)	10 (%35,7)	-
Trabeküler	0 (%0)	1 (%3,6)	
İnfiltratif	0 (%0)	17 (%60,7)	
Nekroz, N (%)	2 (%6,5)	7 (%25,0)	0,071
Pleomorfizm, N (%)	3 (%9,7)	5 (%17,9)	0,458
Desmoplazi			
Yok	0 (%0)	9 (%32,1)	
Hafif	0 (%0)	12 (%42,9)	-
Orta	0 (%0)	7 (%25,0)	
Ağır	0 (%0)	0 (%0)	
TİİH oranı, N (%)			
Grup 1: ≤%5	21 (%67,7)	7 (%25,0)	**0,0014**
Grup 2: %10	7 (%22,6)	8 (%28,6)	
Grup 3: ≥%20	3 (%9,7)	13 (%46,4)	

KİS: Karsinoma in situ, TİİH: Tümör ilişkili inflamatuar hücre

Hastaların immunohistokimyasal verilerinin tümör evresine göre karşılaştırılması, Tablo 4.5'te özetlenmektedir. PD-L1 tümör skoru için iki farklı gruplandırma kullanıldı. Yapılan ilk gruplandırmada hastaların 41'inde (%69,5) PD-L1 ekspresyonu %1'in altında saptandı. Bunun ardından en büyük yüzdeyi oluşturan kısmın ise grup 1 ve grup 2 olduğu, (her ikisi için de %11,9) tespit edildi. En düşük orana (%6,7), %50'nin üzerinde PD-L1 boyanması olarak tanımlanan grup 3'te rastlandı. Tümörler evrelerine göre karşılaştırıldığında da olguların en büyük kısmı, her iki evre için de %1'in altında PD-L1 ekspresyonu gösteren grup 0 oluşturdu. %50'nin üzerinde ekspresyon gösteren tümörlerin tümünün T1 evre olması dikkati çekti. Yapılan ikinci gruplandırmada da tümörlerin büyük kısmı düşük PD-L1 ekspresyonu gösteren grup 1'de kaldı. Ta evreli olguların tümü, T1 evreli tümörlerin ise %82,1'i, %25'in altında PD-L1 ekspresyonu göstermekteydi ve bunlar

grup 1 çatısı altında toplandı. Diğer gruplar ile ortaya çıkan fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0,0486) (Tablo 4.5).

Tümör infiltre eden inflamatuar hücrelerin PD-L1 boyanma yüzdesi ile oluşturulan immün hücre skorları da tümör hücre skoru gibi, iki farklı grupta incelendi. Birinci sınıflandırmada olguların %52,5'i, ikinci sınıflamada ise %89'u ilk grupta yer alarak düşük PD-L1 ekspresyonu olarak yorumlandı. Kombine skora bakıldığında da tümör hücre skoru, immün hücre skoru ile benzer şekilde en yüksek oranlara, düşük PD-L1 ekspresyonu olan gruplarda rastlandı (Tablo 4.5).

PD-L2 için yapılan gruplandırmada tüm tümör hücre skorları ve immün hücre skorları sırasıyla %86,4'lük ve %98,3'lük oranla ilk grupta yer aldı. STAT3 için H skoru kullanılarak yapılan değerlendirmede olguların %64,4'ünün grup 1'de yer aldığı tespit edildi. Bu grubun %60,5'ini Ta evre olguları, %39,5'ini ise T1 evre olguların oluşturduğu belirlendi. T1 evre olgularda yüksek STAT3 ekspresyon oranı daha yüksek olarak saptandı (Tablo 4.5).

Tablo 4. 5. Hastaların immunohistokimyasal verilerinin tümör evresine göre karşılaştırılması

Parametre	**Total (N=59)**	**Ta (N=31)**	**T1 (N=28)**	**P değeri**
PD-L1				
Tümör hücre (%)				
Grup 0: <%1	41 (%69,5)	23 (%74,2)	18 (%64,3)	
Grup 1: %1-4	7 (%11,9)	5 (%16,1)	2 (%7,1)	0,117
Grup 2: %5-49	7 (%11,9)	3 (%9,7)	4 (%14,3)	
Grup 3: ≥%50	4 (%6,7)	0 (%0)	4 (%14,3)	

Grup 1: %0-24	54 (%91,6)	31 (%100)	23 (%82,1)	
Grup 2: %25-49	1 (%1,7)	0 (%0)	1 (%3,6)	**0,0486**
Grup 3: ≥%50	4 (%6,7)	0 (%0)	4 (%14,3)	
İmmün hücre (%)				
Grup 0: <%1	31 (%52,5)	21 (%67,7)	10 (%35,7)	
Grup 1: %1-4	7 (%11,9)	2 (%6,5)	5 (%17,9)	0,073
Grup 2: %5-9	8 (%13,6)	4 (%12,9)	4 (%14,3)	
Grup 3: ≥%10	13 (%22,0)	4 (%12,9)	9 (%32,1)	

Grup 1: %0-24	53 (%89,9)	30 (%96,8)	23 (%82,2)	

Grup 2: %25-49	4 (%6,7)	1 (%3,2)	3 (%10,7)	0,151
Grup 3: ≥%50	2 (%3,4)	0 (%0)	2 (%7,1)	
KS (%)				
Grup 0: <%1	32 (%54,3)	20 (%64,5)	12 (%42,8)	
Grup 1: %1-9	15 (%25,4)	8 (%25,8)	7 (%25,0)	0,093
Grup 2: %10-49	8 (%13,6)	3 (%9,7)	5 (%17,9)	
Grup 3: ≥%50	4 (%6,7)	0 (%0)	4 (%14,3)	
PD-L2				
Tümör hücre (%)				
Grup 0: <%1	51 (%86,4)	26 (%83,9)	25 (%89,3)	
Grup 1: %1-19	6 (%10,2)	4 (%12,9)	2 (%7,1)	0,765
Grup 2: %20-49	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	
Grup 3: ≥%50	2 (%3,4)	1 (%3,2)	1 (%3,6)	
İmmün hücre (%)				
Grup 0: <%1	58 (%98,3)	30 (%96,8)	28 (%100)	
Grup 1: %1-19	1 (%1,7)	1 (%3,2)	0 (%0)	0,919
Grup 2: %20-49	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	
Grup 3: ≥%50	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	
KS (%)				
Grup 0: <%1	49 (%83,2)	26 (%83,9)	23 (%82,2)	
Grup 1: %1-9	4 (%6,7)	1 (%3,2)	3 (%10,7)	0,565
Grup 2: %10-49	4 (%6,7)	3 (%9,7)	1 (%3,6)	
Grup 3: ≥%50	2 (%3,4)	1 (%3,2)	1 (%3,6)	
STAT3/ H-SCORE				
Grup 1: >0, ≤100	38 (%64,4)	23 (%74,2)	15 (%53,6)	0,244
Grup 2: >100, ≤200	14 (%23,7)	5 (%16,1)	9 (%32,1)	
Grup 3: >200, ≤300	7 (%11,9)	3 (%9,7)	4 (%14,3)	

KS: Kombine skor

4.2. BCG Tedavisi Yanıtına Göre Hastaların Demografik ve Klinikopatolojik Verileri

Hastaların demografik ve klinik verilerinin BCG tedavi yanıtına göre karşılaştırması Tablo 4.6'da sunulmuştur. BCG tedavisine yanıt veren 39 hastanın yaş ortalaması 67,5±6,0 iken BCG refrakter hasta grubundaki 20 hastanın yaş ortalaması 64,7±10,3 idi. Bu iki grupta yaş ve cinsiyet dağılımı açısından anlamlı fark izlenmemiştir (sırasıyla p=0,277 ve p=0,390). Sistoskopik değerlendirmede tam yanıt veren hastaların %56,4'ünde ve refraktör olguların %55'inde multifokal dağılım izlendi. Her iki yanıt grubunda hastaların çoğunda BCG insilasyon sayıları 6'nın üzerindeydi ve istatistiksel fark saptanmadı (p=0,585). BCG

refrakter olguların ikisinin takiplerinde uzak metastaz saptandı ancak fark anlamlı bulunmadı (p=0,212) (Tablo 4.6).

Tablo 4. 6. Hastaların demografik ve klinik verilerinin BCG tedavi yanıtına göre karşılaştırması

Parametre	**Total (N=59)**	**Tam yanıt veren olgular (N=39)**	**BCG refrakter olgular (N=20)**	**P değeri**
Yaş				
X ± SS	66,5±7,7	67,5±6,0	64,7±10,3	0,277
<65 yaş, N (%)	19 (32,2)	11 (%28,2)	8 (%40,0)	0,390
≥65 yaş, N (%)	40 (%67,8)	28 (%71,8)	12 (%60,0)	
Cinsiyet, N (%)				
Erkek	49 (%83,1)	33 (%84,6)	16 (%80,0)	0,721
Kadın	10 (%16,9)	6 (%15,4)	4 (%20,0)	
Sistoskopi, N (%)				
Tek odak	26 (%44,1)	17 (%43,6)	9 (%45,0)	0,918
Multifokal	33 (%55,9)	22 (%56,4)	11 (%55,0)	0,374
Boyut (cm)	3,1±2,4	3,3±2,5	2,7±2,1	
BCG kür sayısı, N (%)				
6	24 (%40,7)	17 (%43,6)	7 (%35,5)	0,585
>6	35 (%59,3)	22 (%56,4)	13 (%65,5)	
Uzak metastaz varlığı	2 (%3,4)	0 (%)	2 (%10,0)	0,212

BCG: Bacillus Calmette-Guerin

Hastaların patolojik verilerinin BCG tedavi yanıtına göre karşılaştırılmasının sonuçları Tablo 4.7'de sunulmuştur. Tüm olguların %28,8'inde eşlik eden karsinoma in-situ saptandı. BCG tedavisine tam yanıt veren olguların %30,8'inde, BCG refrakter görülen olguların ise %25'inde karsinoma in-situ saptandı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,766). Tedavi başarısızlığı bulunan 2 (%10) olguda nekroz, 2 (%10) olguda

şiddetli pleomorfizm ve 3 olguda (%15) orta dereceli dezmoplazi saptandı. TİİH gruplandırmasına göre her iki grupta da en büyük dilimi grup 1 oluşturmaktaydı ve gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,325).

Tablo 4. 7. Hastaların patolojik verilerinin BCG tedavi yanıtına göre karşılaştırılması

Parametre	**Total (N=59)**	**Tam yanıt veren olgular (N=39)**	**BCG refrakter olgular (N=20)**	**P değeri**
Lenfovasküler invazyon, N (%)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	-
Eşlik eden KİS, N (%)	17 (%28,8)	12 (%30,8)	5 (%25,0)	0,766
Skuamöz diferansiyasyon, N (%)	3 (%5,1)	2 (%5,1)	1 (%5,0)	0,983
Nekroz, N (%)	9 (%15,2)	7 (%17,9)	2 (%10,0)	0,674
Pleomorfizm, N (%)	8 (%13,6)	6 (%15,4)	2 (%10,0)	0,704
Desmoplazi				0,355
Yok	40 (%67,8)	25 (%64,1)	15 (%75,0)	
Hafif	12 (%20,3)	10 (%25,6)	2 (%10,0)	
Orta	7 (%11,9)	4 (%10,3)	3 (%15,0)	
Ağır	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	
TİİH oranı, N (%)				0,325
Grup 1: ≤%5	28 (%47,5)	17 (%43,6)	11 (%55,0)	
Grup 2: %10	15 (%25,4)	9 (%23,1)	6 (%30,0)	
Grup 3: ≥%20	16 (%27,1)	13 (%33,3)	3 (%15,0)	

BCG: Bacillus Calmette-Guerin, KİS: Karsinoma in situ, TİİH: Tümör ilişkili inflamatuar hücre

Hastaların immunohistokimyasal verilerinin BCG tedavi yanıtına göre karşılaştırılması Tablo 4.8'de özetlenmiştir. PD-L1 tümör hücre skoru ve immün hücre skoru iki farklı gruplandırmaya tabi tutulup her iki gruplandırmada PD-L1 ekspresyonları, BCG tedavi

başarısına göre karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan farklar anlamlı bulunmadı (p>0,05). PD-L1 ekspresyonunun kombine skorlarında da benzer şekilde nüks eden grup ile tedaviye tam yanıt veren gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,319). PD-L2 için BCG tedavi yanıtına göre boyanma farkları incelendiğinde tümör hücre skoru, immün hücre skor ve kombine skorlar da istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05) (Tablo 4.8).

Tablo 4. 8. Hastaların immunohistokimyasal verilerinin BCG tedavi yanıtına göre karşılaştırılması

Parametre	**Total (N=59)**	**Tam yanıt veren olgular (N=39)**	**BCG refrakter olgular (N=20)**	**P değeri**
PD-L1				
Tümör hücre (%)				
Grup 0: <%1	41 (%64,5)	24 (%61,5)	17 (%85,0)	
Grup 1: %1-4	7 (%11,9)	6 (%15,4)	1 (%5,0)	0,309
Grup 2: %5-49	7 (%11,9)	6 (%15,4)	1 (%5,0)	
Grup 3: ≥%50	4 (%6,7)	3 (%7,7)	1 (%5,0)	

Grup 1: %0-24	54 (%91,5)	35(%89,7)	19 (%95,0)	
Grup 2: %25-49	1 (%1,7)	1 (%2,6)	0 (%0)	0,707
Grup 3: ≥%50	4 (%6,8)	3 (%7,7)	1 (%5,0)	
İmmün hücre (%)				
Grup 0: <%1	31 (%52,5)	18 (%46,2)	13 (%65,0)	
Grup 1: %1-4	7 (%11,9)	6 (%15,4)	1 (%5,0)	0,420
Grup 2: %5-9	8 (%13,6)	5 (%12,8)	3 (%155,0)	
Grup 3: ≥%10	13 (%22,0)	10 (%25,6)	3 (%15,0)	

Grup 1: %0-24	53 (%89,8)	34 (%87,2)	19 (%95,0)	
Grup 2: %25-49	4 (%6,8)	3 (%7,7)	1 (%5,0)	0,533

Grup 3: ≥%50	2 (%3,4)	2 (%5,1)	0 (%0)	
KS (%)				
Grup 0: <%1	32 (%54,2)	18 (%46,2)	14 (%70,0)	
Grup 1: %1-9	15 (%24,4)	11 (%28,2)	4 (%20,0)	0,319
Grup 2: %10-49	8 (%13,6)	7 (%17,9)	1 (%5,0)	
Grup 3: ≥%50	4 (%6,8)	3 (%7,7)	1 (%5,0)	
PD-L2				
Tümör hücre (%)				
Grup 0: <%1	51 (%86,4)	34 (%87,2)	17 (%85,0)	
Grup 1: %1-19	6 (%10,2)	5 (%12,8)	1(%5,0)	0,095
Grup 2: %20-49	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	
Grup 3: ≥%50	2 (%3,4)	0 (%0)	2 (%10,0)	
İmmün hücre (%)				
Grup 0: <%1	58 (%98,3)	38 (%97,4)	20 (%100,0)	0,470
Grup 1: %1-19	1 (%1,7)	1 (%2,6)	0 (%0)	
Grup 2: %20-49	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	
Grup 3: ≥%50	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	
KS (%)				
Grup 0: <%1	49 (%83,0)	33 (%84,6)	16 (%80,0)	
Grup 1: %1-9	4 (%6,8)	3 (%7,7)	1 (%5,0)	0,239
Grup 2: %10-49	4 (%6,8)	3 (%7,7)	1 (%5,0)	
Grup 3: ≥%50	2 (%3,4)	0 (%0)	2 (%10,0)	
STAT3/ H-SCORE				
Grup 1: >0, ≤100	38 (%64,4)	26 (%66,7)	12 (%60,0)	0,711
Grup 2: >100, ≤200	14 (%23,7)	8 (%20,5)	6 (%30,0)	
Grup 3: >200, ≤300	7 (%11,9)	5 (%12,8)	2 (%10,0)	

BCG: Bacillus Calmette-Guerin, KS: Kombine skor

4.3. BCG Refrakter Olguların Demografik ve Klinikopatolojik Verileri

BCG refrakter olguların demografik ve klinik verilerinin tümör evresine göre karşılaştırması Tablo 4.9'da özetlenmiştir. BCG refrakter 20 olgunun 13'ünün (%65,0) Ta

evresinde, 7'sinin (%35,0) ise T1 evresinde olduğu tespit edildi. Olguların %80'inin erkek cinsiyet oluşturması ve %60'ının 65 yaş üzeri olması dikkati çekti fakat patolojik evrelere göre karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırasıyla p=0,671 ve 0,639). BCG refrakter olguların 9'unda (%45,0) sistoskopik olarak tek odak 11'inde multifokal tümör mevcuttu. BCG refkratör olguların kür sayıları ve uzak metastaz varlığı tümör evrelerine göre anlamlı bir farklılık göstermedi (sırasıyla p=0,658 ve 0,111) (Tablo 4.9).

Tablo 4. 9. BCG refrakter olguların demografik ve klinik verilerinin tümör evresine göre karşılaştırması

Parametre	**Total (N=20)**	**Ta (N=13)**	**T1 (N=7)**	**P değeri**
Yaş				
X ± SS	64,7 ± 10,3	65,5 ± 10,3	63,3 ± 10,8	
<65 yaş, N (%)	8 (%40,0)	5 (%38,5)	3 (%42,9)	0,671
≥65 yaş, N (%)	12 (%60,0)	8 (%61,5)	4 (%57,1)	0,848
Cinsiyet, N (%)				
Erkek	16 (%80,0)	10 (%76,9)	6 (%85,7)	0,639
Kadın	4 (%20,0)	3 (%23,1)	1 (%14,3)	
Sistoskopi, N (%)				
Tek odak	9 (%45,0)	7 (%53,8)	2 (%28,6)	0,540
Multifokal	11 (%55,0)	6 (%46,2)	5 (%71,4)	0,375
Boyut (cm)	2,7 ± 2,1	2,7 ± 2,4	2,6 ± 1,4	
BCG kür sayısı, N (%)				
6	7 (%35,0)	5 (%38,5)	2 (%28,6)	0,658
>6	13 (%65,0)	8 (%61,5)	5 (%71,4)	
Uzak metastaz varlığı	2 (%10,0)	0 (%0)	2 (%28,6)	0,111

BCG: Bacillus Calmette-Guerin

BCG refrakter olguların patolojik verilerinin tümör evresine göre karşılaştırılması Tablo 4.10'da özetlenmiştir .BCG refrakter olguların %25'inde eşlik eden karsinoma in-situ, %90'ında nekroz, %25'inde desmoplazi, %5'inde skuamoz metaplazi saptanmakla birlikte

olguların hiçbirinde lenfovaskuler invazyon saptanmadı. T1 evresindeki BCG refraktör olguların %28,6'sında hafif ve %42,9'unda orta dereceli desmoplazi izlendi (p=0,002). TİİH oranı Ta evresindeki BCG refrakter olguların %69,2'inde grup 1'de iken T1 evresindeki olguların %28,6'sında grup 1 olduğu belirlendi. TİİH oranı ≥%20 olan üç hastanın tamamının tümör evresi T1 olduğu tespit edildi (p=0,031) (Tablo 4.10).

Tablo 4. 10. BCG refrakter olguların patolojik verilerinin tümör evresine göre karşılaştırılması

Parametre	**Total (N=20)**	**Ta (N=13)**	**T1 (N=7)**	**P değeri**
Lenfovasküler invazyon, N (%)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	-
Eşlik eden KİS, N (%)	5 (%25,0)	2 (%15,4)	3 (%42,9)	0,290
Skuamöz diferansiyasyon, N (%)	1 (%5,0)	1 (%7,7)	0 (%0)	0,452
Nekroz, N (%)	18 (%90,0)	13 (%100)	5 (%71,4)	0,111
Pleomorfizm, N (%)	2 (%10,0)	1 (%7,7)	1 (%14,3)	0,639
Desmoplazi				
Yok	15 (%75,0)	13 (%100)	2 (%28,6)	
Hafif	2 (%10,0)	0 (%0)	2 (%28,6)	**0,002**
Orta	3 (%15,0)	0 (%0)	3 (%42,9)	
Ağır	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	
TİİH oranı, N (%)				
Grup 1: ≤%5	11 (%55,0)	9 (%69,2)	2 (%28,6)	**0,031**
Grup 2: %10	6 (%30,0)	4 (%30,8)	2 (%28,6)	
Grup 3: ≥%20	3 (%15,0)	0 (%0)	3 (%42,9)	

BCG: Bacillus Calmette-Guerin, KİS: Karsinoma in situ, TİİH: Tümör ilişkili inflamatuar hücre

BCG refrakter olguların immunohistokimyasal verilerinin tümör evresine göre karşılaştırılması Tablo 4.11'de özetlenmiştir. BCG refrakter olguların PD-L1 tümör hücre skoru her iki gruplama sisteminde, en büyük yüzdeleri ilk gruplar oluşturacak şekilde dağılım gösterdi. PD-L1 immün hücre skoru ve kombine skor da benzer dağılımdaydı. Bu

dağılımlar istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05). BCG refrakter olguların PD-L2 tümör hücre skoru her iki gruplama sisteminde, en büyük yüzdeleri ilk gruplar oluşturacak şekilde dağılım gösterdi. PD-L2 immün hücre skoru ve kombine skor da benzer dağılımdaydı. Bu dağılımlar da istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05). STAT3 ekspresyon skoru Ta evresindeki refrakter olguların çoğunda (%76,9) 100'ün altında iken T1 evresindeki refrakter olguların çoğunda (%71,4) 100'ün üzerinde bulundu fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,099) (Tablo 4.11).

Tablo 4. 11. BCG refrakter olguların immunohistokimyasal verilerinin tümör evresine göre karşılaştırılması

Parametre	**Total (N=20)**	**Ta (N=13)**	**T1 (N=7)**	**P değeri**
PD-L1				
Tümör hücre (%)				
Grup 0: <%1	17 (%85,0)	11 (%84,6)	6 (%85,7)	
Grup 1: %1-4	1(%5,0)	1 (%7,7)	0 (%0)	0,402
Grup 2: %5-49	1 (%5,0)	1 (%7,7)	0 (%0)	
Grup 3: ≥%50	1 (%5,0)	0 (%0)	1 (%14,3)	

Grup 1: %0-19	19 (%95,0)	13 (%100)	6 (%85,7)	
Grup 2: %20-49	0 (%0,0)	0(%0)	0 (%0)	0,162
Grup 3: ≥%50	1 (%5,0)	0 (%0)	1 (%14,3)	
İmmün hücre (%)				
Grup 0: <%1	13(%65,0)	10(%76,9)	3 (%42,9)	
Grup 1: %1-4	1 (%5,0)	0(%0)	1 (%14,3)	0,262
Grup 2: %5-9	3 (%15,0)	2(%15,4)	1 (%14,3)	
Grup 3: ≥%10	3 (%15,0)	1(%7,7)	2 (%28,6)	

Grup 1: %0-24	19 (%95,0)	13 (%100)	6 (%85,7)	
Grup 2: %25-49	1 (%55,0)	0 (%0)	1 (%14,3)	0,162
Grup 3: ≥%50	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	
KS (%)				

Grup 0: <%1	14 (%0)	10 (%76,9)	4 (%57,1)	
Grup 1: %1-9	4 (%0)	3 (%23,1)	1 (%14,3)	0,246
Grup 2: %10-49	1 (%5,0)	0 (%0)	1 (%14,3)	
Grup 3: ≥%50	1 (%5,0)	0 (%0)	1 (%14,3)	
PD-L2				
Tümör hücre (%)				
Grup 0: <%1	17 (%65,0)	11 (%84,6)	6 (%85,7)	
Grup 1: %1-19	1 (%5,0)	1 (%7,7)	0 (%0)	0,692
Grup 2: %20-49	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	
Grup 3: ≥%50	2 (%10,0)	1 (%7,7)	1 (%14,3)	
İmmün hücre (%)				
Grup 0: <%1	13 (%65,0)	13 (%100)	0 (%0)	
Grup 1: %1-19	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	-
Grup 2: %20-49	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	
Grup 3: ≥%50	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	
KS (%)				
Grup 0: <%1	16 (%80,0)	11 (%84,6)	5 (%71,4)	
Grup 1: %1-9	1 (%5,0)	0 (%0)	1 (%14,3)	0,442
Grup 2: %10-49	1 (%5,0)	1 (%7,7)	0 (%0)	
Grup 3: ≥%50	2 (%10,0)	1 (%7,7)	1 (%14,3)	
STAT3/ H-SCORE				
Grup 1: >0, ≤100	12 (%60,0)	10 (%76,9)	2 (%28,6)	0,099
Grup 2: >100, ≤200	6 (%30,0)	2 (%5,1)	4 (%57,1)	
Grup 3: >200, ≤300	2 (%10,0)	1 (%7,7)	1 (%14,3)	

BCG: Bacillus Calmette-Guerin, KS: Kombine skor

Hastaların BCG tedavisi yanıtına ve PD-L1 ifadesine göre dağılımları Tablo 4.12'de özetlenmektedir. Tümör hücrelerinin büyük kısmının (%91,5) düşük PD-L1 ifadesi gösterdiği, bu oranın BCG tedavisine tam yanıt veren olgularda %89,7, başarısız olan olgularda ise %95 olduğu tespit edildi fakat fark anlamlı değildi (p=0,653). İmmün skora bakıldığında da benzer sonuçlar karşımıza çıktı (p=0,627). Ancak her iki skorun kombine

edildiği total skorda toplam yüksek PD-L1 oranı %18,6 olarak saptandı. Bu oran tam yanıt veren olgularda %23,6, tedavi başarısız olgularda ise %10 olarak belirlendi fakat fark anlamlı değildi (p=0,302).

Tablo 4. 12. Hastaların BCG tedavisi yanıtına ve PD-L1 ifadesine göre dağılımları

Lokasyon	PD-L1 ifadesi	Total (N=59)	Tam yanıt veren olgular (N=39)	BCG refrakter olgular (N=20)	P değeri
Tümör hücreleri	Düşük Yüksek	54 (91,5) 5 (8,5)	35 (89,7) 4 (10,3)	19 (95) 1 (5)	0,653
TİİH	Düşük Yüksek	53 (89,8) 6 (10,2)	34 (87,2) 5 (12,8)	19 (95) 1 (5)	0,627
Total	Düşük Yüksek	48 (81,4) 11 (18,6)	30 (76,9) 9 (23,1)	18 (90) 2 (10)	0,302

Tüm veriler N (%) şeklinde sunulmuştur. TİİH: tümör ilişkili inflamatuar hücre

BCG tedavisi başarısız olan olguların tedavi öncesi ve sonrası PD-L1 ifadesine göre dağılımları Tablo 4.13'te özetlenmektedir. BCG tedavi başarısızlığı yaşayan 20 olgunun 16'sında tedavi öncesi ve sonrası tümör hücrelerinde PD-L1 ifadesinde değişiklik saptanmadı. 3 olguda ise ilk biyopsilerinde düşük PD-L1 tümör skoru saptanmasına rağmen tedavi sonrası yüksek PD-L1 ifadesi saptandı (Tablo 4.13).

Tablo 4. 13. BCG tedavisi başarısız olan olguların tedavi öncesi ve sonrası PD-L1 ifadesine göre dağılımları

Parametre	Tümör hücreleri	TİİH	Total
Tedavi Öncesi Yüksek, Tedavi Sonrası Düşük	0	1	1

Tedavi Öncesi Düşük, Tedavi Sonrası Yüksek	3	1	3
Her İki Biyopside Düşük	16	18	15
Her İki Biyopside Yüksek	1	0	1

TİİH: tümör ilişkili inflamatuar hücre

4.4. Tüm Hastaların İmmunohistokimyasal Bulgularının Korelasyon Analizleri

Tüm hastaların PD-L ekspresyon durumları ile tümör histolojik evrelerinin ilişkisi incelendiğinde (Tablo 4.14) Ta evresindeki olguların PD-L1 tümör skoruna göre hem negatif hem de pozitif olanları arasında yüksek dereceli olan tümörlerin oranları (sırasıyla %60,9 ve %75), düşük dereceli olanlara kıyasla (sırasıyla %39,1 ve %25) yüksek bulundu fakat fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,676). Benzer şekilde T1 evresindeki olgular arasında da yüksek dereceli olan tümörlerin oranları (sırasıyla %94,1 ve %100), düşük dereceli olanlara kıyasla (sırasıyla %5,9 ve %0) yüksek bulundu fakat PD-L1 tümör skoruna göre bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,436). PD-L1 immün skoru negatif olan hastalar arasında düşük dereceli Ta evresindeki tümör oranı (%66,7), yüksek dereceli tümör oranından (%33,3) az bulundu, buna karşın PD-L1 immün skoru pozitif olan hastalar arasında yüksek dereceli Ta evresindeki tümör oranı (%66,7), düşük dereceli tümör oranından (%33,3) çok bulundu fakat fark anlamlı değildi (p=0,198). T1 evresindeki olgular arasında ise yüksek dereceli olan tümörlerin oranları (sırasıyla %100 ve %94,1), düşük dereceli olanlara kıyasla (sırasıyla %0 ve %5,9) yüksek bulundu fakat PD-L1 immün skoruna göre bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,436).

Tablo 4. 14. Tüm hastalarda PD-L1 ekspresyon durumları ile tümör histolojik evrelerinin ilişkisi

Ta	**PD-L1 (TS) negatif (N=23)**	**PD-L1 (TS) pozitif (N=8)**	**P Değeri**	**PD-L1 (İS) negatif (N=12)**	**PD-L1 (İS) pozitif (N=9)**	**P Değeri**
LG	9 (%39,1)	2 (%25)	0,676	8 (%66,7)	3 (%33,3)	0,198
HG	14 (%60,9)	6 (%75)		4 (%33,3)	6 (%66,7)	

T1	PD-L1 (TS) negatif (N=17)	PD-L1 (TS) pozitif (N=10)	P Değeri	PD-L1 (İS) negatif (N=10)	PD-L1 (İS) pozitif (N=17)	P Değeri
LG	1 (%5,9)	0 (%0)	0,436	0 (%0)	1 (%5,9)	0,436
HG	16 (%94,1)	10 (%100)		10 (%100)	16 (%94,1)	

TS: Tümör skoru, İS: İmmün skoru, LG: Low grade, HG: High grade

Tüm hastalarda PD-L1 tümör skorunun %1 eşik değerine göre TİİH oranları ve STAT3 boyanmaları incelendiğinde (Tablo 4.15), PD-L1 tümör skoru negatif olan 41 hastanın çoğunluğunda (%53,7), TİİH oranı %0-9 arasında iken pozitif olan 18 hastanın çoğunluğunda (%66,7), TİİH oranı %10-100 arasında bulundu ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,17). PD-L1 tümör skoru negatif olan hastalar arasında STAT3 pozitif boyanma oranı %46,3 iken PD-L1 tümör skoru pozitif olan hastalar arasında bu oranın anlamlı derecede daha düşük (%11,1) olduğu tespit edildi (p=0,021).

Tablo 4. 15. Tüm hastalarda PD-L1 tümör skorunun %1 eşik değerine göre TİİH ve STAT3 ile ilişkisi

Parametre	PD-L1 (TS) negatif (N=41)	PD-L1 (TS) pozitif (N=18)	P Değeri
TİİH (%0-9)	22 (%53,7)	6 (%33,3)	0,170
TİİH (%10-100)	19 (%46,3)	12 (%66,7)	
STAT3 -	22 (%53,7)	16 (%88,9)	**0,021**
STAT3 +	19 (%46,3)	2 (%11,1)	

TS: Tümör skoru, TİİH: tümör ilişkili inflamatuar hücre

Tüm hastalarda PD-L1 immün skorunun %1 eşik değerine göre TİİH oranları incelendiğinde (Tablo 4.16), PD-L1 immün skoru negatif olan 31 hastanın çoğunluğunda (%67,7), TİİH oranı %0-9 arasında iken pozitif olan 28 hastanın çoğunluğunda (%78,6), TİİH oranı %10-100 arasında bulundu ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0,001).

Tablo 4. 16. Tüm hastalarda PD-L1 immün skorunun %1 eşik değerine göre TİİH ile ilişkisi

Parametre	PD-L1 negatif (N=31)	PD-L1 pozitif (N=28)	P Değeri
TİİH (%0-9)	21 (%67,7)	6 (%21,4)	**0,001**
TİİH (%10-100)	10 (%32,3)	22 (%78,6)	

TİİH: tümör ilişkili inflamatuar hücre

Tüm hastalarda PD-L1 skorunun diğer immünohistokimyasal boyamalar ve TİİH oranları ile ilişkisine dair korelasyon analizleri bulguları Tablo 4.17'de sunulmuştur. PD-L1 tümör hücre skoru ile PD-L2 tümör hücre skoru arasında anlamlı bir ilişki belirlenmez iken (r:0,076; GA: -0,191-0,333; p=0,567), STAT3 H-skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif yönlü bir ilişki görüldü (r:0,283; GA: 0,021-0,508; p=0,0302). Ancak PD-L1 tümör hücre skoru ile TİİH (%) arasında anlamlı bir ilişki görülmedi (r: 0,242; GA: -0,023-0,475; p=0,0645). PD-L1 immün hücre skoru ile PD-L2 tümör hücre skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir ilişki görülür iken (r:0,359; GA: 0,106-0,589; p=0,0053), STAT3 H-skoru arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (r:0,041; GA: -0,225-0,301, p=0,761). Ancak PD-L1 immün hücre skoru ile TİİH (%) arasında anlamlı pozitif bir ilişkiye rastlandı (r: 0,514; GA: -0,280-0,685; p<0,0001).

Tablo 4. 17. Tüm hastalarda PD-L1 skorunun korelasyon analizleri

	PD-L1 tümör hücre skoru		PD-L1 immün hücre skoru	
Parametre	**Spearman r [GA]**	**P değeri**	**Spearman r [GA]**	**P değeri**
PD-L2 Tümör hücre	0,076 [-0,191-0,333]	0,567	0,359 [0,106-0,589]	**0,0053**
STAT3 H-SCORE	0,283 [0,021-0,508]	**0,0302**	0,041 [-0,225-0,301]	0,761
TİİH (%)	0,242 [-0,023-0,475]	0,0645	0,514 [0,280-0,685]	**<0,0001**

TİİH: tümör ilişkili inflamatuar hücre, GA: Güven aralığı

Tüm hastalarda PD-L2 skorunun STAT3 ekspresyonu ve TİİH oranları ile ilişkisine dair korelasyon analizleri bulguları Tablo 4.18'de sunulmuştur. PD-L2 tümör hücre skoru ile STAT3 H-skoru arasında (r:-0,035; GA:-0,295-0,232; p=0,799) ve TİİH (%) arasında (r:

0,202; GA: -0,064-0,442; p=0,124) istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmedi. Benzer şekilde PD-L2 immün hücre skoru ile STAT3 H-skoru arasında (r:-0,085; GA:-0,341-0,182, p=0,521) ve TİİH (%) (r:-0,034; GA: -0,294-0,232; p=0,801) arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı.

Tablo 4. 18. Tüm hastalarda PD-L2 skorunun korelasyon analizleri

	PD-L2 tümör hücre skoru		**PD-L2 immün hücre skoru**	
Parametre	**Spearman r [GA]**	**P değeri**	**Spearman r [GA]**	**P değeri**
STAT3 H-SCORE	-0,035 [-0,295-0,232]	0,799	-0,085 [-0,341-0,182]	0,521
TİİH (%)	0,202 [-0,064-0,442]	0,124	-0,034 [-0,294-0,232]	0,801

TİİH: tümör ilişkili inflamatuar hücre, GA: Güven aralığı

4.5. BCG Refraktör Olguların İmmunohistokimyasal Bulgularının Korelasyon Analizleri

BCG refrakter olguların tedavi öncesi ve sonrası PD-L1 boyanma skorlarının kendi içinde ve diğer immunohistokimyasal boyanma skorları ile korelasyon analizleri sonuçları Tablo 4.19'da verilmiştir. Tedavi öncesi PD-L1 tümör hücre skoru ile tedavi sonrası PD-L1 tümör ve immün hücre skorları, PD-L2 tümör hücre skoru, STAT3 H-skoru ve TİİH oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı (p>0,05). Benzer şekilde tedavi öncesi PD-L1 immün hücre skoru ile tedavi sonrası PD-L1 tümör ve immün hücre skorları, PD-L2 tümör hücre skoru, STAT3 H-skoru ve TİİH oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı (p>0,05).

Tablo 4. 19. BCG refrakter olguların PD-L1 skorunun korelasyon analizleri

		Tedavi Öncesi			
		PD-L1 tümör hücre skoru		**PD-L1 immün hücre skoru**	
		Spearman r [GA]	**P değeri**	**Spearman r [GA]**	**P değeri**
Teda	**PD-L1 tümör hücre skoru**	0,203 [-0,28-0,602]	0,390	0,107 [-0,37-0,535]	0,655
	PD-L1 immün hücre skoru	0,061 [-0,41-0,501]	0,800	0,14 [-0,335-0,558]	0,556

	PD-L2 tümör hücre skoru	0,235 [-0,25-0,622]	0,319	0,042 [-0,42-0,486]	0,861
	STAT3 H-SCORE	-0,144 [-0,56-0,332]	0,546	-0,422 [-0,74-0,040]	0,064
	TİİH (%)	-0,328 [-0,68-0,148]	0,158	0,109 [-0,36-0,537]	0,646

TİİH: tümör ilişkili inflamatuar hücre, GA: Güven aralığı

BCG refrakter olguların tedavi öncesi ve sonrası PD-L2 tümör hücre skorlarının kendi içinde ve diğer immunohistokimyasal boyanma skorları ile korelasyon analizleri sonuçları Tablo 4.20'de verilmiştir. Tedavi öncesi PD-L2 tümör hücre skoru ile tedavi sonrası PD-L2 tümör skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif yönlü bir ilişki bulundu (r:0,471; GA: 0,022-0,762; p=0,0361). Ancak tedavi öncesi PD-L2 tümör hücre skoru ile STAT3 H-skoru ve TİİH oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı (p>0,05).

Tablo 4. 20. BCG refrakter olguların PD-L2 skorunun korelasyon analizleri

		Tedavi Öncesi PD-L2 tümör hücre skoru	
		Spearman r [GA]	**P değeri**
Tedavi sonrası	**PD-L2 tümör hücre skoru**	0,471 [0,022-0,762]	**0,0361**
	STAT3 H-SCORE	-0,109 [-0,54-0,363]	0,647
	TİİH (%)	-0,168 [-0,58-0,309]	0,479

TİİH: tümör ilişkili inflamatuar hücre, GA: Güven aralığı

BCG refrakter olguların tedavi öncesi ve sonrası STAT3 H-skorlarının kendi içinde ve TİİH oranı ile korelasyon analizleri sonuçları Tablo 4.21'de verilmiştir. Tedavi öncesi STAT3 H-skoru ile tedavi sonrası STAT3 H-skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif yönlü bir ilişki bulundu (r:0,645; GA: 0,269-0,849; p=0,0021). Ancak tedavi öncesi STAT3 H-skoru ile TİİH oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı (r:0,361; GA: -0,126-0,708; p=0,129).

Tablo 4. 21. BCG refrakter olguların STAT3 skorunun korelasyon analizleri

		Tedavi Öncesi	
		STAT3 HSCORE	
		Spearman r [GA]	P değeri
Tedavi sonrası	STAT3 H-SCORE	0,645 [0,269-0,849]	**0,0021**
	TİİH (%)	0,361 [-0,126-0,708]	0,129

TİİH: tümör ilişkili inflamatuar hücre, GA: Güven aralığı

5. TARTIŞMA

Mesane kanserli hastaların patolojik özelliklerine göre, klinisyenler kanserin farklı evreleri için cerrahi tedavi, radyoterapi, kemoterapi, immünoterapi, mesane perfüzyon tedavisi ve kapsamlı tedaviyi seçmektedir. Bununla birlikte, her kanser türü kendine özgü problemler sergiler: kasa invaze olmayan mesane kanseri için, yüksek postoperatif nüks oranı ana klinik problemdir.[73,74] Mesane kanserinin yetersiz terapötik kontrolünün ana nedenlerinden biri, mesane kanserinin moleküler biyolojik mekanizmasının karmaşık olmasıdır. Bu nedenle, mesane kanserinin öngörücü faktörlerini ve ajanlarını belirlemek, kanserin yeni terapötik hedeflerini bulmak için etki mekanizmasını anlamak büyük önem taşımaktadır. Çalışmamız kas invaziv olmayan mesane kanserlerinin BCG tedavisine yanıtta PD-L1 ve PD-L2 aracılı immün kaçış mekanizmalarının rolünü birlikte araştıran bir çalışmadır. Bunların yanında immün mekanizmalar ile yakın ilişkili olan STAT3'ün bu belirteçlerle ve nüks ile ilişkisini değerlendiren tek çalışma olma özelliğini göstermektedir. BCG tedavi başarısının PD-L1, PD-L2 ve STAT3 ekspresyon durumuyla ilişkisi olmadığını fakat kas invaziv olmayan tümörlerde ileri evrenin PD-L1 ekspresyon durumunu ve TİİH'leri arttırdığını gösterdik.

Mesane kanserleri dünya genelinde kanser sıralamasında 7. sırada gelmekte olup erkeklerde 3-4 kat daha sık karşımıza çıkmaktadır.[75] Ülkemizde ise ortalama olarak bu oran 7 kat olarak belirlenmiştir.[16] Bizim çalışmamızda bu oran yaklaşık 5 kat olarak tespit edilmiş olup bu oran Türkiye ile dünya ortalaması arasında yer almaktadır.

Mesane kanserinin ortalama tanı yaşı 73'tür.[76] Bizim çalışmamızda 59 hastanın ortalama tanı yaşı 66,5 yıl olup literatür verilerine göre daha erken yaşta görüldüğü saptanmıştır. En genç hastalarımız sırasıyla 41, 44 ve 53 yaşındadır. Literatür verilerine göre genç yaş hasta grubu 0-40 yaş grubu olarak tanımlanmış olup[77], bu hasta grubunda olgumuz bulunmamıştır.

Kasa invaziv olmayan mesane tümörlerinin tanı ve tedavisinde ilk basamak transüretal rezeksiyondur. Uygun klinik risk sınıflandırması yapıldıktan sonra BCG insilasyonu uygulanır. Ivonne[78] ve ark.'larının kasa invaziv olmayan mesane tümörleri ile ilgili yaptıkları çalışmada Ta ve T1 evre tüm tümörler için nüks oranı %48 olarak belirlenmiştir. Sylvester[79] ve ark.'larının 2596 hastalık olgu serilerinde de bu oran %52 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmaya dahil edilen olguların %55,9'u Ta, %42,7 si T1

evreydi. Slovacek[80] ve ark. düşük dereceli Ta tümörü olan olgularda nüks oranı %50'dir. Buna karşın yüksek dereceli T1 tümörleri olan hastalarda nüks oranı %45 olarak belirlenmiştir.[80] Aydın[81] ve ark. kasa invaze olmayan yüksek dereceli mesane kanserlerinde yaptıkları benzer çalışmada ise nüks oranı %50 olarak saptandı. Çalışmamızda Ta ve T1 evre tüm tümörler için nüks oranı %33,9 olup literatüre göre düşüktür. Ta evreli tümörlerde nüks oranı %41,9, T1 evreli tümörlerde ise bu oran %25 olarak saptanmıştır. Literatür verilerine göre daha düşük rekürrens saptamamızın başlıca sebebi hasta seçimimiz ve dışlama kriterlerimiz olabilir. Hastalarımızın bir kısmı dış merkez tanılı olmakta ve patoloji preparatlarına da erişimimiz sağlanamamaktaydı. Aslında nüks ile ilişkili, evre dışında tümör boyutu, eşlik eden KİS gibi birçok değişkenin de varlığı akılda tutulması gereklidir. Bunun yanında kliniğimizde güncel tanı ve tedavi yaklaşımları sıkı takip edilmekte, hastalar bu kılavuzlara göre tedavi edilmektedir. Bu farkın oluşmasına neden olabilecek bir diğer etken de kliniğimizin başarısı olarak görülebilir.

Tüm kanser türleri için immün kontrol noktası blokajının klinik başarısında TİİH'ler önem kazanmıştır.[82] Bu hücreler genel olarak T lenfositler, B lenfositler, plazma hücreleri ve NK hücrelerini ifade etmektedir. Bu hücre tiplerinin ve alt tiplerini oranının prognozu belirlemede asıl faktör olduğunu bildiren bir dizi çalışma vardır.[82] Örneğin mesane kanserlerinde FOXP+ T lenfosit oranının prognoza olumlu etki ettiğini söyleyen Winerdal[83] ve ark. aksine Eich[84] ve ark. prognoza etkisinin olmadığını savunmaktadır. Mesane tümörlerinde lenfositlerdeki lncRNA oranının prognozla ilişkili olduğunun altını çizen Zhou[85] ve ark. bu parametrenin PD-L1 tedavi yanıtıyla da yakın ilişkide bulunduğunu ortaya koymuştur. Bunun aksine Zhenyu[86] ve arkadaşları ise in vitro deneylerinde mesane kanseri hücrelerinin, lenfositler üzerindeki etkisinin normal mesane mukozasına göre daha etkili olduğunu ortaya koymuş, göç eden lenfositlerin ise kanser hücrelerinin invazyon yeteneklerini artıracak yönde katkı sağladığını öne sürmüştür. Bizim çalışmamızda TİİH ile nüks arasında, olgu sayımızın azlığı nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı sonuç çıkmamıştır. Ancak bu parametrenin rutin patoloji raporlarında belirtilmesinin, olası progresyon açısından klinisyene yol gösterici olabileceği akılda tutulmalıdır. Bunun yanında bir başka bulgu olarak, nüks olgularında Ta evre tümörlerde, T1 evre tümörlerine kıyasla daha düşük TİİH oranı saptadık ve bu fark istatistiksel olarak

anlamlıydı. Bu durum, bu biyopsilerin BCG tedavisi sonrası alınması ve BCG'nin özellikle invaziv odaklarda TİİH oranını artırmasıdır.

PD-1 / PD-L1 sinyal yolu tümör hücrelerinin immün sistemden kaçmasında önemli olan yolaklardan biridir. Ancak, klinik prognoz üzerindeki PD-L1 ekspresyonu, ürotelyal karsinomda zayıf şekilde tanımlanmıştır. Bazı çalışmalar, PD-L1'in fazla ekspresyonunun mesane kanserinde kötü prognoz ile ilişkili olduğunu öne sürmüştür.[87] Öte yandan, bazı çalışmalar PD-L1 ekspresyonunun ürotelyal karsinomda klinik sonuçla ilişkisi olmadığını bildirmiştir.[88] PD-L1 ifadesinin prediktif bir biyobelirteç olarak rolü de dikkate alınması gereken bir konudur. PD-L1 ekspresyonu ve PD-1/PD-L1 blokajlarının yanıt oranlarının yeterince ilişkili olmadığını gösteren klinik çalışma sonuçları vardır.[89] Bununla birlikte şu anda, PD-L1 ekspresyonunun, PD-1/PD-L1 blokajına eşlik eden veya komplimenter bir tanı testi ve potansiyel bir prediktif biyobelirteç olduğu açıktır. Ve genel olarak, PD-1/PD-L1 blokajlarının, immün hücreleri PD-L1 eksprese eden hastalarda daha yüksek bir etkinliğe sahip olduğu bilinmektedir. Ürotelyal karisnomlarda pozitif PD-L1 ekspresyon oranı, bir tedavi stratejisinin belirlenmesine yardımcı olabilir.[90] Çalışmamızda kasa invaze olmayan ürotelyal karsinom varlığı saptanmış ve ardından BCG tedavisi uygulanan 59 olguda tedavi öncesi ve sonrası PD-L1 ekspresyonlarındaki değişimleri incelediğimizde Ta evreli olguların tümü ve T1 evreli tümörlerin ise %82,1'i, %25'in altında PD-L1 ekspresyonu göstermekteydi ve aralarındaki farkın anlamlıydı. Ancak PD-L1 ekspresyonunun BCG tedavisi yanıtına göre farklılık göstermemesi PD-L1'in tek başına tedavi başarısı ve prognoz için değerlendirilmesi için uygun olmadığını fakat tümör evresine göre ekspresyonunun artacağını öngörebileceğini düşündürmüştür.

Son zamanlarda, immün kontrol noktası moleküllerinin monoklonal antikorlarla bloke edilmesi, birçok malignitede umut verici bir yöntemdir. Bu nedenle bu noktaların blokajı ile tümörün immün sistemden kaçışının engellenmesi, tümör ilerlemesinin durdurulmasına sebep olur. Bu yolağın blokajını hedefleyen, FDA onaylı ilaçlar farklı klonlar kullanılarak değerlendirilmekte ve hedefe yönelik tedavilerin temelini oluşturur. İmmünohistokimyasal olarak farklı klonlar için farklı eşik değerlerindeki skorlamalar ve bunlara uygun ilaç tedavileri kullanılmaktadır.[85] Tümör hücre skoru, immün hücre skoru ve kombine skor önemlidir. Tümör hücre skoru için, tümör hücrelerinde %25 üzeri boyanma pozitif kabul edilerek tedaviye başlanabilir. İmmün skora bakıldığında ise iki kesme değer vardır. TİİH

oranı %1'in altında olan tümörlerde %100, %1'in üzerinde olan tümörler için ise tümör skorunda olduğu gibi %25 eşik değeri kullanılır. İmmün skor değerlendirilirken önemli noktalardan biri plazma hücrelerinin bu skorun dışında bırakılmasıdır, granulositer seri dahil edilebilir.[91] Kombine skor, pozitif boyanan tümör hücreleri ve inflamatuar hücreler sayısal olarak toplanır ve tümör hücreleri toplamına bölünür, 100 ile çarpılarak hesaplanır. Bu skor %10'un üzerinde bulunursa tedaviye elverişli olduğuna karar verilir.[56] Bu nedenle çalışmamızda tümör skorunun yanı sıra immün skoru ve kombine skoru birlikte PD-L1 ve PD-L2 için değerlendirdik. STAT3 için ise yalnızca H-skoru kullanılmıştır.

Literatürde farklı tipte karsinomlarda PD-L1 ekspresyonlarını farklı klonları için değerlendirilmiştir. FDA onaysız klonlardan biri olan E1L3N genellikle araştırmalar için kullanılmaktadır. Munari[92] ve ark. küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında E1L3N klonunun, SP263 ile korele olduğu sonucuna varmış ancak boyama kuvvetinin daha az olması nedeniyle değerlendirmenin daha zor olduğunun altı çizilmiştir. Adam[54] ve ark. E1L3N klonu ile 28-8 ve 22C3 klonları ilişkisini araştıran, küçük hücreli akciğer karsinomu vakalarında da %1'lik ve %5'lik kesme değerlerin her ikisi için de %90'lık tutarlılık saptamıştır. Bu sonuçlar da bize E1L3N klonunun klinik çalışmalarda güvenle kullanılabileceğini ancak daha düşük boyanma şiddetiyle dikkatle değerlendirilmesi gerektiği sonucunu ortaya çıkarmıştır. Bunun yanında FDA onaylı SP263 klonu ile en fazla korelasyon gösteren E1L3N için bu %1'lik kesme değer dışında, SP263 için ilaç endikasyonu olan %25'lik tümör skoru ve immün skoru da çalışmamıza ekledik. Ancak karşılaştırabilecek farklı klonlarımız mevcut olmadığından mesane kanserlerinde klonlar arası uyumu araştıran bir çalışma yapamadık ve bu çalışmamızın limitasyonudur.

Bazı ürotelyal karsinomlu hastalarda BCG tedavisine rağmen nüks görülebilmektedir. Bu nedenle nüksü önceden öngörebilecek çalışmalar dikkat çekmektedir. Eich[84] ve ark. tümör hücrelerinde >%1 ve >%5 PD-L1 ekspresyonu olan tümörlerin nüks olasılığının daha düşük olacağı sonucuna varmıştır. Adam[54] ve ark. kasa invaziv olmayan mesane tümörlerinde yaptıkları çalışmada %1'lik kesme değerde PD-L1 tümör skoru ile BCG tedavisi sonrası nüks arasındaki ilişkiyi istatistiksel olarak anlamlı bulmuş ancak BCG tedavisi sonrası nüks olgularında PD-L1 skorunun artmadığı sonucuna varmıştır. Kates[93] ve ark. yaptıkları çalışmada ise nüks ile tümör skoru arasında anlamlı bir sonuç bulmamış ancak PD-L1 kombine skoru ile nüks arasında istatistiksel olarak anlamlılık göstermiştir.

Martinez[94] ve ark. da PD-L1 immün skoru ile nüks arasında ilişki saptayamamıştır Aydın[81]a ve ark. ise tedavi sonrası, immün skorun azaldığını tespit etmiştir.Buna karşı olarak Hashizume[95] ve Delcourt[69] ise BCG tedavisinin PD-L1 ekspresyonunu arttırdığını saptamıştır. Bu gibi çelişkili sonuçlar geniş katılımcılı daha fazla çalışmalar yapılmasını gerekli kılmaktadır. Çalışmamızda %1, %5 ve %25 kesme değerler kullanılarak yapılan istatistiksel analizde BCG tedavisi sonrası PD-L1 tümör skoru, immün skor ve kombine skor ile nüks arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bunun başlıca nedenleri BCG tedavisi sonrası nüks eden olgu oranımızın literatür verilerine göre daha düşük olması, nüks eden ve etmeyen olgu sayımızın eşit olmamasından kaynaklı olabilir.

Huang[96] ve ark. mesane tümörlerinde PD-L1 ile prognoz ilişkisini araştırdıkları çalışmada PD-L1 ekspresyon oranını %1'in üzerinde olan olgularda yaşam süresini daha kısa olduğu sonucuna varmıştır. Nakanishi[97] ve ark. da benzer şekilde PD-L1 ile sağ kalım ilişkisini anlamlı bulmuşlardır. Bu sonuçların aksine Aydın[81] ve ark. kasa invaziv olmayan mesane tümörlerinde yaptıkları çalışmada ise olguların %11'inde uzak metastaz saptanmış ve bu oran PD-L1 düzeyleri ile anlamlı bulunmamıştır. Benzer olarak olgularımızın yalnızca 2'si (%3,3) takipte kasa invaziv hale gelmiş ve akciğere metastaz yaparak ileri derecede progresyon göstermiştir. Bu iki olgunun PD-L1 ekspresyon yüzdelerine baktığımızda ilk olguda %50 ikincisinde ise %0 oranlarını saptadık. İki senelik hasta takibinde ölüm görülmemiştir.

PD-L1, ürotelyal karsinomda tümör hücre zarında ve TİİH'lerde yaygın olarak eksprese edilir. Ek olarak TİİH'lerde PD-L1 ekspresyonunun, metastaz görülen ürotelyal karsinomlu hastalarda genel sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.[88] Mesane kanserli olgularda TİİH oranı ile %1 kesme değerle PD-L1 pozitivitesi ilişkisi anlamlı bulunmuştur.[81] RNA bazlı çalışmalarda ise TİİH ile PD-L1 ekspresyonunun yakın ilişkide olduğu ortaya atılmıştır.[98] Kas invaziv olmayan ürotelyal karsinomlarda TİİH'ler PD-L1 ekspresyonu konusundaki az sayıda çalışmalarda, boyanma oranı %34,3-%57,6 arasında tespit edilmiştir.[99] Bizim çalışmamızda da literatür ile benzer şekilde PD-L1 ifadesi ile TİİH yüzdesi ilişkisi istatistiksel olarak anlamlıydı. PD-L1 tümör skoru pozitif olan hastaların %66,7'inin TİİH'leri %10-%100 arasında iken negatif olan hastaların %46,3'ünün TİİH'leri bu aralıkta bulunmuştur. PD-L1 immün skoru pozitif olan hastaların %78,6'sının TİİH'leri %10-%100 arasında iken negatif olan hastaların %32,3'ünün

TİİH'leri bu aralıkta bulunmuştur. Ayrıca PD-L1 tümör skorunun %1 eşik değerine göre değerlendirdiğimizde TİİH oranından ziyade STAT3 ekspresyonu ile ilişkili olduğunu, buna karşın PD-L1 immün skorunun %1 eşik değerine göre TİİH oranı ile ilişkili olduğunu tespit ettik. Bu durum kasa invaziv olmayan ürotelyal karsinomların patolojik değerlendirilmelerinde PD-L1'in yanı sıra STAT3'ün de incelenebileceğini ve beklendiği üzere immün skorlarının inflamatuar süreçlerle ilişkili olduğunu göstermiştir.

PD-1 ligandları, PD-L1 ve PD-L2, normal fizyolojik koşullar altında kendi kendine toleransı sürdürmede, periferik dokularda T hücre aktivasyonunu ve proliferasyonunu sınırlamada önemli bir role sahiptir.[100] PD-L2'nin şimdiye kadar önerilen kısıtlı ekspresyon modeli göz önüne alındığında, araştırmaların çoğu anlaşılır bir şekilde tümör hücreleri tarafından PD-L1 ekspresyonuna odaklanmıştır. Ancak PD-1'in tek ligandı PD-L1 olmadığı için bazı durumlarda immünoterapiler işe yaramamış ve PD-L2'nin klinik önemi gündeme gelmiştir. PD-L2'nin bir dizi solid organ tümörü tarafından eksprese edildiği tanımlanmıştır.[101] Bunun yanında Wang[102] ve ark. kolorektal kanserlerde PD-L2'nin yaklaşık %40 oranında pozitifliğini bildirmiş ve bu durumun klinik olarak kötü prognoz ile ilişkilendirmiştir. Rosenbaum[103] ve ark. ise PD-L1 pozitifliğinin yalnızca %10 civarı olduğunu saptamıştır. Bu durum da organ bazlı olarak farklı tümörlerde PD-L1'in yanında PD-L2'nin de araştırılması gerektiğini ve bu bağlamda farklı çalışmaların yapılmasının zorunlu olduğu sonucunu ortaya koymuştur. Yang[104] ve ark.'nın en az T1 evre hastaların transüretral rezeksiyon ve radikal sistektomi materyallerinde yaptıkları çalışmada PD-L2 ekspresyonunun tümör evresi ve kötü prognozla ilişkilerini anlamlı bulmuştur. Bunun yanında bu çalışmada %73'lük bir PD-L2 boyanmasından bahsedilmiştir. Ariafar[105] ve ark. ise radikal sistektomili mesane kanseri olgularında tümörü infiltre eden inflamatuar hücrelerde ve tümörün drene olduğu lenf nodunda PD-L2 ekspresyonunun kötü prognoz ile ilişkili olduğunu saptamıştır. Biz de Ta ve T1 evre tümörlerin transüretral rezeksiyonları ile yapılan çalışmamızda PD-L1'in yanı sıra PD-L2 ekspresyonlarını da değerlendirdik ve BCG tedavi başarısı ve tümör evresine göre anlamlı fark saptamadık. PD-L2'nin tümör hücreleri ve TİİH'de ekspresyonunun nüks ile ilişkini değerlendirdiğimizde de anlamlı sonuca ulaşamadık. Literatür ile uyumsuz görünen bu sonucun farklı olmasının sebepleri, tümör evrelerinin Ta ve T1 olması, transüretral rezeksiyon materyallerini kullanarak tümörün bir kısmını değerlendirmemiz olabilir. Çalışmamızda %1 eşik değerine göre PD-

L2 boyanma oranı tümör hücrelerinde %13,6, TİİH'de ise %1,7 olarak değerlendirilmiştir. Bu farkın oluşmasındaki temel etmenini klon farkı olabileceğini düşünmekteyiz.

Hashizume[95] ve arkadaşları tedavi öncesi ve sonrası PD-L2 düzeylerini araştırdığı çalışmada bu verilerin korele olmadığı sonucuna varmıştır. Wang L.[106] ve ark. üst üriner sistem ürotelyal karsinomlarında PD-L2 ekspresyonu ile tümör derecesini ilişkili, tümör evresini ilişkisiz bulmuştur. Yang[104] ve ark. T1, T2, T3 evre mesane ürotelyal karsinomlarında TUR ve sistektomi materyallerinde PD-L2 ekspresyonunu, tümör evresi ile ilişkili tespit etmiştir. Ariafar[105] ve ark. T2 ve T3 evre mesane ürotelyal karsinomlarında, sistektomi materyallerinde TİİH ve sentinel lenf nodunda PD-L2 ekspresyonunu, kötü prognoz ile ilişkilendirmişlerdir. Çalışmamızda Ta ve T1 mesane ürotelyal karsinomları arasında tedavi öncesi ve sonrası TUR materyallerinde PD-L2 ekspresyon düzeyleri arasında korelasyon saptamadık. Ancak benzer şekilde BCG refrakter olguların tedavi öncesi ve sonrası PD-L2 ekspresyon durumlarının istatistiksel olarak anlamlı olduğunu saptadık. Literatürde bu alanda yeterli veri olmamakla birlikte BCG refrakter olgularda yeni tedavi basamaklarının eklenmesini gündeme getirebilir. Bu nedenle bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

STAT proteinlerinin kanser hücrelerinde uzun süreli aktivasyonu, ilaç direnci ve kötü prognoza neden olabilir.[107] Tümör ilerlemesi ile en güçlü ilişkiyi sergileyen STAT3'ün kalıcı aktivasyonu, çoğalma, hücre döngüsü ilerlemesi, apoptoz, anjiyogenez ve bağışıklıktan kaçınma gibi çeşitli işlevleri düzenler.[108] Bu nedenle STAT3 birçok farklı tümörde araştırma konusu olmuş, ilaç hedefi olarak kullanımı gündeme gelmiştir. Tümör çoğalmasını artırmasının yanı-sıra STAT3 immün sistemden kaçışı da destekler. Jennifer ve ark. STAT3 inhibisyonu ile tümör hücrelerinin immün sistemde kaçışını engellemiş ve olumlu prognostik sonuçlar almışlardır. İmmün sistemden kaçışta önemli bir diğer molekülü olan PD-L1 ile STAT3 ilişkisi bu bağlamda oldukça önemlidir. Tong[109] ve ark. neoplazilerde STAT3 inhibe edildiğinde, PD-L1 ekspresyonunun da azaldığını ortaya koymuştur. PD-L1 ve STAT 3 ilişkisi moleküler temellere dayanmaktadır. PD-L1 promotor bölgesi STAT3 kontrolü altındadır.[110] Bizim çalışmamızda da PD-L1 ekspresyonu, STAT3 ile güçlü ilişki içindedir ve bu ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır. Ancak bu ilişki PD-L2 ile sağlanamamıştır. Bunun nedeni PD-L2 boyayan hücre sayımızın

azlığı olabileceği gibi PD-L1 ve PD-L2'nin farklı moleküler yolaklar üzerinden düzenlenmesi de olabilir.

STAT3'ün mesane karsinomlarındaki prognostik önemi ile ilgili çalışmalarda STAT3'ün kronik inflamasyon zemininde sitokinler yardımıyla tümörün invazyon yeteneği kazanmasında önemli yeri olduğunu belirlenmiştir.[111] Ancak çalışmamızda Ta ve T1 evre tümörlerinde ve prognozda STAT3 ekspresyonu açısından anlamlı sonuç elde edememiz STAT3'ün nüks için tek başına prediktif bir değer olmayabileceğini akla getirmiştir. Bunun önemli bir nedeni, yapılan birçok çalışmanın immünohistokimyasal inceleme yerine daha spesifik sonuç veren analizler ve özel yazılımlar kullanılmış olmasıdır. Çalışmamızda nüks eden vakalara baktığımızda, STAT3 ekspresyonlarının BCG tedavisi öncesi ve sonrasında da yüksek olduğunu ve bunun istatistiksel olarak anlamlılığını saptadık. Bunun nedeni STAT3'ün kalıcı aktivasyonuna yol açan CDC91L1 gibi onkogenlerdeki mutasyonlar sonucu onkogenlerin aşırı ekspresyonu olabilir.

Kısıtlılıklarımızın başında örneklem sayımızın az olmasıdır. Bunun nedeni ilgili klinikçe takibi ve tedavisi yapılan mesane kanserli olguların dış merkez preparatlarına ulaşamamamızdır. Ürotelyal karsinomlar için PD-L1, PD-L2 ve STAT3 skorlamalarında diğer tümörlerdeki kadar bilinen standardizasyonunun olmaması literatürle uyumsuz verilere yol açmıştır. Diğer kısıtlıklarımız farklı PD-L1, PD-L2 ve STAT3 klonlarını ve T hücre belirteçleri kullanmamızdır. Bir diğer kısıtlayıcı basamağımız özellikle PD-L1 değerlendirmesinde kullanılan otomasyon sistemlerinin merkezimizde bulunmamasıdır. Bunun yanında STAT3 gibi sitoplazmik boyanan bir belirtecin nükleer boyanma kuvvetini ve yaygınlığını optik mikroskopta değerlendirmek oldukça zorlayıcıdır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

- Çalışmamız kasa invaze olmayan ürotelyal karsinomlarda BCG tedavisine yanıtta PD-L1 ve PD-L2 aracılı immün kaçış mekanizmalarının rolünü, immün mekanizmalar ile yakın ilişkili olan STAT3 ile birlikte araştıran ilk çalışmadır.
- Kasa invaze olmayan mesane kanserleri genellikle ileri yaşlarda ve erkeklerde daha sık görülen tümörlerdir.
- Transüretral rezeksiyon tanı ve tedavide bu tümörlerin ilk basamağını oluşturmaktadır.
- BCG tedavisine dirençli olgularda tedavi seçenekleri olarak immünoterapiyi gündeme getirmiştir.
- İmmunoterapilerin başarısını arttırabilecek standardize edilmiş spesifik immunohistokimyasal belirteçleri skorlama sistemlerine ve bu skorlamalarda deneyimli patologlara ihtiyaç vardır.
- PD-L1 ve invazyon durumu ile ilişkili saptanan TİİH oranı patoloji raporlarında belirtilebilir. Böylelikle ileride değişebilecek klinik skorlamalar ve retrospektif çalışmalar için yeterli veri oluşturulabilir.
- Çalışmamızda PD-L1, PD-L2 ve STAT3'ün nüksü öngörmede yetersiz olduğu sonucu çıksa da bu konuda geniş katılımlı çalışmalarla veriler desteklenmelidir.
- PD-L1'in BCG tedavisi öncesi ve sonrasında ekspresyonları arasında anlamlı bir ilişkinin olmaması PD-L1'in tek başına prognozu tahmin etmede yeterli olmadığını akla getirmiştir. Bu kapsamda geniş katılımcılı çalışmalar yapılarak bu konu hakkında daha fazla veri oluşturulmalıdır.
- PD-L2 ile kasa invaze olmayan mesane kanserlerinin tümör evresi ve nüks arasında ilişki yoktur. Ancak PD-L2 ekspresyonu, PD-L1 immün skoru ile anlamlı düzeyde ilişkilidir.
- PD-L1 ile STAT3 ekspresyonları koreledir. Dolayısıyla PD-L1'e kıyasla değerlendirmesi daha kolay ve daha az maliyetli olan STAT3 prognozu öngörmede kullanılabilecek bir parametre olabilir. Ancak moleküler alt yapıları açısından birlikte değerlendirilmesi gerekir.
- PD-L1 tümör hücre skoru yüksekliği ile STAT3 H-skoru yüksekliği arasında bulunan anlamlı pozitif ilişki saptadık. PD-L1 immün hücre skoru yüksekliği ile

PD-L2 tümör hücre skoru ve TİİH yüzde oranı artışı arasında pozitif ilişkiler tespit ettik. Yani PD-L1 ekspresyonu yüksek ise STAT3 ve TİİH'lerin artmış olmasını bekleriz ancak bu PD-L2 için geçerli değildir. Bu ilişkiler PD-L1 için BCG tedavi başarısız olgularda kaybolmuştur. Ancak bu olgularda PD-L2 ve STAT3 için tedavi öncesi tümör hücre skoru yüksek olanların, tedavi sonrası skorlarının da yüksek olması beklenir.

- PD-L1, PD-L2 ve STAT3 profillerindeki farklılıkların, kasa invaze olmayan ürotelyal karsinomlu hastalarda blokaj tedavilerini belirlemek için kullanılabileceğini gösterecek geniş örneklemli ileri moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. ÖZET

Ürotelyal Karsinom Varlığı Saptanmış ve Ardından Bacillus-Calmette-Guerin Tedavisi Uygulanan Olgularda Tedavi Öncesi ve Sonrası STAT3, PD-L1 ve PD-L2'nin Ekspresyonlarındaki Değişimlerin Prognostik Değeri

Amaç: Kasa invaze olmayan mesane kanserleri genellikle ileri yaşlarda ve erkeklerde daha sık görülen tümörlerdir. Transüretral rezeksiyon tanı ve tedavide bu tümörlerin ilk basamağını oluşturmaktadır. Bacillus-Calmette-Guerin (BCG) tedavisine dirençli olgularda tedavi seçeneği olarak immünoterapiyi gündeme gelmiştir. Bu tez çalışmamızda kas invaziv olmayan mesane kanserlerinin BCG tedavisine yanıtta Programmed-Cell-Death Ligand-1 (PD-L1) ve Programmed-Cell-Death-Ligand-2 (PD-L2) aracılı immün kaçış mekanizmalarının rolünü ve immün mekanizmalar ile yakın ilişkili olan sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3 (STAT3)'ü değerlendirmek amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2017-2022 yılları arasında 5 yıllık dönem boyunca, muskularis propria invazyonu göstermeyen (Ta, T1), intravezikal BCG tedavisi uygulanmış hastalar seçildi ve histopatoloji kayıtlarından elde edilen verilerle retrospektif analizler yapıldı. İmmunohistokimyasal olarak PD-L1, PD-L2 ve STAT3 boyanmaları transüretral rezeksiyon materyallerine uygulandı.

Bulgular: Yaşa ortalaması 66,5±7,7 olan 59 hastanın çoğunluğu erkekti (%83,9). İlk BCG tedavisi sonrası 20 olguda nüks, ikinci BCG tedavisi sonrası 13 olguda tekrar nüks saptandı. Bu 13 olgunun ikisinin akciğerlerinde uzak metastaz saptandı. 17 olguda (%28,8) eşlik eden karsinoma in situ saptandı. Hastaların demografik ve klinik verileri tümör evresine ve BCG tedavi yanıtına göre anlamlı farklılık göstermedi ($p>0,05$). Ta evre tümörlerde %5'in altındaki tümör infiltre eden inflamatuar hücre (TİİH) oranı çoğunlukta (%67,7) iken, T1 tümörlerde %20'inin üzerindeki TİİH oranı çoğunlukta idi (%46,4) ($p=0,0014$). PD-L1 tümör skorunun %25 eşik değere göre Ta evreli tümörlerin tamamında %25'in altında olduğu, T1 evreleri tümörlerin ise %82,1'inde %25'in altında olduğu ve %14,3'ünde %50'nin üzerinde olduğu belirlendi ($p=0,0486$). PD-L1'in immün skoru, kombine skoru, PD-L2'nin tüm skorları ve STAT3 H-skoru tümör evresi açısından anlamlı farklılık göstermedi ($p>0,05$). Tüm hastaların PD-L1, PD-L2 ve STAT3 skorlarının hiçbirinde BCG tedavi yanıtına göre anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$). TİİH oranı

Ta evresindeki BCG refrakter olguların %69,2'sinde %5'in altında iken, T1 evresindeki olguların %28,6'sında %5'in altında idi ve TİİH oranı ≥ %20 olan üç hastanın tamamının tümör evresi T1 olduğu tespit edildi (p=0,031). PD-L1 tümör hücre skoru yüksekliği ile STAT3 H-skoru yüksekliği arasında anlamlı pozitif ilişki saptandı (p=0,021). PD-L1 immün hücre skoru yüksekliği ile PD-L2 tümör hücre skoru ve TİİH yüzde oranı artışı arasında pozitif ilişkiler tespit edildi (sırasıyla p=0,0053 ve p=0,001). Bu ilişkiler PD-L2 skorları için ve BCG tedavi başarısız olgulardaki PD-L1 skorları için saptanmadı (p>0,05). Ancak BCG refraktör olgularda PD-L2 ve STAT3 için tedavi öncesi tümör hücre skoru yüksek olanların, tedavi sonrası skorlarının da yüksek olduğu belirlendi (p=0,0361).
Sonuç: Çalışmamız BCG tedavisine yanıtta PD-L1 ve PD-L2 aracılı immün kaçış mekanizmalarının rolünü, immün mekanizmalar ile yakın ilişkili olan STAT3 ile birlikte nüks ile ilişkilerini araştıran ilk çalışmadır. Kas invaziv olmayan tümörlerde BCG tedavi başarısının PD-L1, PD-L2 ve STAT3 ekspresyon durumuyla ilişkisi olmadığını fakat ileri evrenin PD-L1 ekspresyon durumunu ve TİİH'leri arttırdığını gösterdik. İmmunoterapilerin başarısını arttırabilecek standardize edilmiş spesifik immunohistokimyasal belirteçleri skorlama sistemlerine ve bu skorlamalarda deneyimli patologlara ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: Ürotelyal karsinom, PD-L1, PD-L2, STAT3, nüks, BCG

8. SUMMARY

The Prognostic Value of Changes in the Expressions of STAT3, PD-L1 and PD-L2 Before and After Treatment in Cases with Presence of Urothelial Carcinoma and Subsequent Bacillus Calmette-Guerin Treatment

Objective: Non-muscle invasive bladder cancers (NMIBC) are common tumors detected in older ages and in men. Transurethral resection is the first step in the diagnosis and treatment of these tumors. Immunotherapy has come to the current issue as treatment options in the cases resistant to the Bacillus-Calmette-Guerin (BCG) therapy. In this thesis, we aimed to evaluate the role of Programmed-Cell-Death Ligand-1 (PD-L1) and Programmed-Cell-Death-Ligand-2 (PD-L2) mediated immune escape mechanisms and signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), which is closely related to the immune mechanisms, in the response to BCG treatment of NMIBC.

Materials and Methods: Patients without a muscularis propria invasion (Ta, T1), who were treated with intravesical BCG during the 5-year period between 2017 and 2022 in Kocaeli University Faculty of Medicine, Department of Pathology were selected and their retrospective analyzes were performed with data obtained from histopathology records. Immunohistochemically, PD-L1, PD-L2 and STAT3 staining were applied to transurethral resection materials.

Results: The majority of 59 patients with a mean age of 66.5±7.7 were male (83.9%). Recurrence was detected in 20 cases after the first BCG treatment, and recurrence was found in 13 cases after the second BCG treatment. Distant metastases were detected in the lungs of two of 13 cases. Accompanying carcinoma in situ was detected in 17 cases (28.8%). Demographic and clinical data of the patients did not differ significantly according to the tumor stage and BCG treatment response ($p>0.05$). The rate of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) below 5% were the majority among Ta-stage tumors (67.7%), while this rate over 20% was the majority among T1-stage tumors (46.4%) ($p=0.0014$). The PD-L1 tumor score was below 25% in all Ta-stage tumors according to the 25% threshold, while it was below 25% in 82.1% of T1-stage tumors and above 50% in 14.3% of these tumors ($p=0.0486$). The immune score and combined score of PD-L1, all scores of PD-L2 and H-score of STAT3 did not differ significantly in terms of tumor stage

(p>0.05). There was no significant difference in PD-L1, PD-L2 and STAT3 scores of all patients according to the BCG treatment response (p>0.05). While the rate of TILs was less than 5% in 69.2% of BCG refractory cases in the Ta stage, it was less than 5% in 28.6% of the T1 patients, and all three patients with a TILs rate ≥ 20% were found to be at T1 stage (p=0.031). A significant positive correlation was found between high PD-L1 tumor cell score and high STAT3 H-score (p=0.021). Positive correlations were found between increased PD-L1 immune cell score, increased PD-L2 tumor cell score and percentile ratio of TILs (p=0.0053 and p=0.001, respectively). These associations were not found for PD-L2 scores and PD-L1 scores among BCG refractory cases (p>0.05). However, those with high pre-treatment tumor cell scores for PD-L2 and STAT3 were also found to have high post-treatment scores among BCG refractory cases (p=0.0361).

Conclusion: Our study is the first to investigate the role of PD-L1 and PD-L2 mediated immune escape mechanisms in response to BCG therapy and their relationship with STAT3, which is closely related to immune mechanisms, and recurrence. We showed that the success of BCG treatment in NMIBC was not related to PD-L1, PD-L2 and STAT3 expression status, but the advanced tumor stage increases PD-L1 expression status and rate of TILs. There is a need for standardized scoring systems for specific immunohistochemical markers that can increase the success of immunotherapies and need for pathologists experienced in these scoring systems.

Key words: Urothelial carcinoma, PD-L1, PD-L2, STAT3, recurrence, BCG

9. KAYNAKLAR

1. Holger Moch. Tumors of Urinary Tact. In: WHO Classification of Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs. 4th ed. IARC; 2016:77-135.
2. Petrylak DP. Immunotherapy: The Wave of the Future in Bladder Cancer? Clinical Genitourinary Cancer. 2017;15(3):S3-S17. doi:10.1016/j.clgc.2017.05.025
3. Kamat AM, Hahn NM, Efstathiou JA, et al. Bladder cancer. The Lancet. 2016;388(10061):2796-2810. doi:10.1016/S0140-6736(16)30512-8
4. Babjuk M, Burger M, Capoun O, et al. European Association of Urology Guidelines on Non-muscle-invasive Bladder Cancer (Ta, T1, and Carcinoma in Situ). Eur Urol. 2022;81(1). doi:10.1016/j.eururo.2021.08.010
5. Ghosh C, Luong G, Sun Y. A snapshot of the PD-1/PD-L1 pathway. J Cancer. 2021;12(9):2735-2746. doi:10.7150/jca.57334
6. Loh CY, Arya A, Naema AF, Wong WF, Sethi G, Looi CY. Signal Transducer and Activator of Transcription (STATs) Proteins in Cancer and Inflammation: Functions and Therapeutic Implication. Front Oncol. 2019;9:48. doi:10.3389/fonc.2019.00048
7. Kano A, Wolfgang MJ, Gao Q, et al. Endothelial cells require STAT3 for protection against endotoxin-induced inflammation. J Exp Med. 2003;198(10):1517-1525. doi:10.1084/jem.20030077
8. Xu YH, Lu S. A meta-analysis of STAT3 and phospho-STAT3 expression and survival of patients with non-small-cell lung cancer. Eur J Surg Oncol. 2014;40(3):311-317. doi:10.1016/j.ejso.2013.11.012
9. Rehman S, Ahmed D. Embryology, Kidney, Bladder, and Ureter. In: StatPearls. StatPearls Publishing; 2020. Accessed October 25, 2020. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547747/
10. HICKLING DR, SUN TT, WU XR. Anatomy and Physiology of the Urinary Tract: Relation to Host Defense and Microbial Infection. Microbiol Spectr. 2015;3(4). doi:10.1128/microbiolspec.UTI-0016-2012
11. urinary bladder | human anatomy | Britannica. Accessed June 23, 2022. https://www.britannica.com/science/urinary-bladder
12. Bolla SR, Odeluga N, Jetti R. Histology, Bladder. In: StatPearls. StatPearls Publishing; 2020. Accessed October 23, 2020.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK540963/
13. Sellers D, Chess-Williams R, Michel MC. Modulation of lower urinary tract smooth muscle contraction and relaxation by the urothelium. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. 2018;391(7):675-694. doi:10.1007/s00210-018-1510-8
14. Aydin A, Uçak R, Karakök M, Güldür ME, Koçer NE. Vascular plexus is a differentation criterion for muscularis mucosa from muscularis propria in small biopsies and transurethral resection materials of urinary bladder? Int Urol Nephrol. 2002;34(3):315-319. doi:10.1023/a:1024493518202
15. Elkady N, Abdou AG, Kandil M, Ghanem N. Diagnostic Value of Smoothelin and Vimentin in Differentiating Muscularis Propria from Muscularis Mucosa of Bladder Carcinoma. Int J Biol Markers. 2017;32(3):305-312. doi:10.5301/jbm.5000252
16. WHO. The Global Cancer Observatory. 2021. https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/792-turkey-fact-sheets.pdf. Erişim tarihi: 10.09.2022.
17. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021;71(3):209-249. doi:10.3322/caac.21660
18. sağlık bakanlığı veri. https://sbsgm.saglik.gov.tr/Eklenti/40564/0/saglik-istatistikleri-yilligi-2019pdf.pdf
19. WHO. https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/792-turkey-fact-sheets.pdf
20. Moch H, Amin MB, Berney DM, et al. The 2022 World Health Organization Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs—Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours. European Urology. Published online July 16, 2022. doi:10.1016/j.eururo.2022.06.016
21. Zeegers MPA, Goldbohm RA, van den Brandt PA. A prospective study on active and environmental tobacco smoking and bladder cancer risk (The Netherlands). Cancer Causes Control. 2002;13(1):83-90. doi:10.1023/a:1013954932343
22. Dematei A, Fernandes R, Soares R, Alves H, Richter J, Botelho MC. Angiogenesis in Schistosoma haematobium-associated urinary bladder cancer. APMIS. 2017;125(12):1056-1062. doi:10.1111/apm.12756

23. S. E. Mills. Üriner Kanal ve Erkek Genital Sistemi. In: Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology, 6. Basım. Vol 2. İzmir. O'Tıp Kitabevi ve Yayıncılık; 2016:2065-2113.
24. Zhou M, Magi-Galluzzi C. Genitourinary Pathology E-Book: A Volume in the Series: Foundations in Diagnostic Pathology. Elsevier Health Sciences; 2014.
25. Xylinas E, Rink M, Robinson BD, et al. Impact of histological variants on oncological outcomes of patients with urothelial carcinoma of the bladder treated with radical cystectomy. Eur J Cancer. 2013;49(8):1889-1897. doi:10.1016/j.ejca.2013.02.001
26. Mitra AP, Bartsch CC, Bartsch G, Miranda G, Skinner EC, Daneshmand S. Does presence of squamous and glandular differentiation in urothelial carcinoma of the bladder at cystectomy portend poor prognosis? An intensive case-control analysis. Urol Oncol. 2014;32(2):117-127. doi:10.1016/j.urolonc.2012.08.017
27. Kinoshita Y, Takasu K, Yuri T, et al. Cytological findings in urothelial carcinoma of the bladder with trophoblastic differentiation. Cytopathology. 2013;24(6):405-408. doi:10.1111/j.1365-2303.2012.00993.x
28. Magi-Galluzzi C, Przybycin CG. Editors. Genitourinary Pathology. Springer; 2015. DOI: 10.1007%2F978-1-4939-2044-0.
29. Natasha Rekhtman. Cerrahi Patologlar için Hızlı Başvuru El Kitabı.; 2020.
30. Yörükoğlu K, Tuna B. Üropatoloji. Vol 1. 1st ed. Kongre Kitabevi; 2016.
31. John M. S. Barlett. Erkek Ürogenital Sistem Tümörleri. In: Molecular Pathology Türkçe, 1. Basım. İzmir: O'TIP Kitabevi ve Yayıncılık; 2017:167-176.
32. Inamura K. Bladder Cancer: New Insights into Its Molecular Pathology. Cancers (Basel). 2018;10(4):100. doi:10.3390/cancers10040100
33. AJCC. Bladder Cancer Staging | Bladder Cancer Stages. Accessed September 11, 2022. https://www.cancer.org/cancer/bladder-cancer/detection-diagnosis-staging/staging.html
34. Strope SA, Montie JE. The causal role of cigarette smoking in bladder cancer initiation and progression, and the role of urologists in smoking cessation. J Urol. 2008;180(1):31-37; discussion 37. doi:10.1016/j.juro.2008.03.045
35. J. R. Goldblum. Bölüm 17. In: Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. Nobel Tıp Kitabevleri; 2015:1101-1286.

36. Malmström PU, Sylvester RJ, Crawford DE, et al. An Individual Patient Data Meta-Analysis of the Long-Term Outcome of Randomised Studies Comparing Intravesical Mitomycin C versus Bacillus Calmette-Guérin for Non–Muscle-Invasive Bladder Cancer. European Urology. 2009;56(2):247-256. doi:10.1016/j.eururo.2009.04.038
37. Han J, Gu X, Li Y, Wu Q. Mechanisms of BCG in the treatment of bladder cancer-current understanding and the prospect. Biomed Pharmacother. 2020;129:110393. doi:10.1016/j.biopha.2020.110393
38. Brandau S, Suttmann H. Thirty years of BCG immunotherapy for non-muscle invasive bladder cancer: A success story with room for improvement. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2007;61(6):299-305. doi:10.1016/j.biopha.2007.05.004
39. Yu DS, Wu CL, Ping SY, Keng C, Shen KH. Bacille Calmette-Guerin can induce cellular apoptosis of urothelial cancer directly through toll-like receptor 7 activation. The Kaohsiung Journal of Medical Sciences. 2015;31(8):391-397. doi:10.1016/j.kjms.2015.05.005
40. Shah G, Zhang G, Chen F, Cao Y, Kalyanaraman B, See WA. iNOS expression and NO production contribute to the direct effects of BCG on urothelial carcinoma cell biology. Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations. 2014;32(1):45.e1-45.e9. doi:10.1016/j.urolonc.2013.06.005
41. Kumar P, John V, Gupta A, Bhaskar S. Enhanced survival of BCG-stimulated dendritic cells: involvement of anti-apoptotic proteins and NF-κB. Biol Open. 2018;7(6):bio032045. doi:10.1242/bio.032045
42. Oddens JR, de Reijke TM. The Current State of Predicting Response on Bacillus Calmette-Guérin Treatment for Nonmuscle Invasive Bladder Cancer is Not Yet Useful for Patients but Attributes to Understanding Its Mechanisms of Action. Eur Urol. 2018;73(5):749-750. doi:10.1016/j.eururo.2017.11.021
43. Pichler R, Gruenbacher G, Culig Z, et al. Intratumoral Th2 predisposition combines with an increased Th1 functional phenotype in clinical response to intravesical BCG in bladder cancer. Cancer Immunol Immunother. 2017;66(4):427-440. doi:10.1007/s00262-016-1945-z
44. Umemura M, Kawabe T, Shudo K, et al. Involvement of IL-17 in Fas ligand-induced inflammation. Int Immunol. 2004;16(8):1099-1108. doi:10.1093/intimm/dxh111

45. Wu Y, Enting D, Rudman S, Chowdhury S. Immunotherapy for urothelial cancer: from BCG to checkpoint inhibitors and beyond. Expert Rev Anticancer Ther. 2015;15(5):509-523. doi:10.1586/14737140.2015.1015419
46. Bally APR, Austin JW, Boss JM. Genetic and epigenetic regulation of PD-1 expression. J Immunol. 2016;196(6):2431-2437. doi:10.4049/jimmunol.1502643
47. Boussiotis VA. Molecular and Biochemical Aspects of the PD-1 Checkpoint Pathway. N Engl J Med. 2016;375(18):1767-1778. doi:10.1056/NEJMra1514296
48. Zhang X, Schwartz JCD, Guo X, et al. Structural and functional analysis of the costimulatory receptor programmed death-1. Immunity. 2004;20(3):337-347. doi:10.1016/s1074-7613(04)00051-2
49. Dong H, Zhu G, Tamada K, Chen L. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. Nat Med. 1999;5(12):1365-1369. doi:10.1038/70932
50. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. Annu Rev Immunol. 2008;26:677-704. doi:10.1146/annurev.immunol.26.021607.090331
51. Kythreotou A, Siddique A, Mauri FA, Bower M, Pinato DJ. PD-L1. J Clin Pathol. 2018;71(3):189-194. doi:10.1136/jclinpath-2017-204853
52. Yi M, Jiao D, Xu H, et al. Biomarkers for predicting efficacy of PD-1/PD-L1 inhibitors. Mol Cancer. 2018;17(1):129. doi:10.1186/s12943-018-0864-3
53. Xia L, Liu Y, Wang Y. PD-1/PD-L1 Blockade Therapy in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: Current Status and Future Directions. Oncologist. 2019;24(Suppl 1):S31-S41. doi:10.1634/theoncologist.2019-IO-S1-s05
54. Adam J, Le Stang N, Rouquette I, et al. Multicenter harmonization study for PD-L1 IHC testing in non-small-cell lung cancer. Annals of Oncology. 2018;29(4):953-958. doi:10.1093/annonc/mdy014
55. Hirsch FR, McElhinny A, Stanforth D, et al. PD-L1 Immunohistochemistry Assays for Lung Cancer: Results from Phase 1 of the Blueprint PD-L1 IHC Assay Comparison Project. Journal of Thoracic Oncology. 2017;12(2):208-222. doi:10.1016/j.jtho.2016.11.2228
56. Eckstein M, Cimadamore A, Hartmann A, et al. PD-L1 assessment in urothelial

carcinoma: a practical approach. Annals of Translational Medicine. 2019;7(22):690-690. doi:10.21037/atm.2019.10.24

57. Levy DE, Darnell JE. Stats: transcriptional control and biological impact. Nat Rev Mol Cell Biol. 2002;3(9):651-662. doi:10.1038/nrm909

58. Gu Y, Mohammad IS, Liu Z. Overview of the STAT-3 signaling pathway in cancer and the development of specific inhibitors. Oncol Lett. 2020;19(4):2585-2594. doi:10.3892/ol.2020.11394

59. Yu H, Kortylewski M, Pardoll D. Crosstalk between cancer and immune cells: role of STAT3 in the tumour microenvironment. Nat Rev Immunol. 2007;7(1):41-51. doi:10.1038/nri1995

60. Wölfle SJ, Strebovsky J, Bartz H, et al. PD-L1 expression on tolerogenic APCs is controlled by STAT-3. European Journal of Immunology. 2011;41(2):413-424. doi:10.1002/eji.201040979

61. Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. J Clin Invest. 2009;119(6):1420-1428. doi:10.1172/JCI39104

62. Cao R, Yuan L, Ma B, Wang G, Qiu W, Tian Y. An EMT-related gene signature for the prognosis of human bladder cancer. J Cell Mol Med. 2020;24(1):605-617. doi:10.1111/jcmm.14767

63. Savagner P. Chapter Eight - Epithelial–Mesenchymal Transitions: From Cell Plasticity to Concept Elasticity. In: Yap AS, ed. Current Topics in Developmental Biology. Vol 112. Cellular Adhesion in Development and Disease. Academic Press; 2015:273-300. doi:10.1016/bs.ctdb.2014.11.021

64. Xie G, Yao Q, Liu Y, et al. IL-6-induced epithelial-mesenchymal transition promotes the generation of breast cancer stem-like cells analogous to mammosphere cultures. Int J Oncol. 2012;40(4):1171-1179. doi:10.3892/ijo.2011.1275

65. Yang J, Mani SA, Donaher JL, et al. Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis. Cell. 2004;117(7):927-939. doi:10.1016/j.cell.2004.06.006

66. Wendt MK, Balanis N, Carlin CR, Schiemann WP. STAT3 and epithelial-mesenchymal transitions in carcinomas. JAKSTAT. 2014;3(1):e28975. doi:10.4161/jkst.28975

67. Langner C, Hutterer G, Chromecki T, Rehak P, Zigeuner R. Patterns of invasion and histological growth as prognostic indicators in urothelial carcinoma of the upper urinary tract. Virchows Arch. 2006;448(5):604-611. doi:10.1007/s00428-006-0150-4
68. Rebelatto MC, Midha A, Mistry A, et al. Development of a programmed cell death ligand-1 immunohistochemical assay validated for analysis of non-small cell lung cancer and head and neck squamous cell carcinoma. Diagn Pathol. 2016;11(1):95. doi:10.1186/s13000-016-0545-8
69. Delcourt C, Gemival P, Nouhaud FX, et al. Clinical interest of PD-L1 immuno-histochemistry expression as a predictive factor of Bacillus Calmette Guerin (BCG) efficacy in refractory high-risk non-muscle-invasive bladder cancer (NMIBC). World J Urol. 2020;38(6):1517-1524. doi:10.1007/s00345-019-02896-3
70. Park Y, Koh J, Na HY, et al. PD-L1 Testing in Gastric Cancer by the Combined Positive Score of the 22C3 PharmDx and SP263 Assay with Clinically Relevant Cut-offs. Cancer Res Treat. 2020;52(3):661-670. doi:10.4143/crt.2019.718
71. Jomrich G, Kollmann D, Wilfing L, et al. Programmed death ligand 2 expression plays a limited role in adenocarcinomas of the gastroesophageal junction after preoperative chemotherapy. Eur Surg. 2021;53(6):287-293. doi:10.1007/s10353-021-00700-4
72. Levidou G, Sachanas S, Pangalis GA, et al. Immunohistochemical analysis of IL-6, IL-8/CXCR2 axis, Tyr p-STAT-3, and SOCS-3 in lymph nodes from patients with chronic lymphocytic leukemia: correlation between microvascular characteristics and prognostic significance. Biomed Res Int. 2014;2014:251479. doi:10.1155/2014/251479
73. Chou R, Selph SS, Buckley DI, et al. Treatment of muscle-invasive bladder cancer: A systematic review. Cancer. 2016;122(6):842-851. doi:10.1002/cncr.29843
74. Ghandour R, Singla N, Lotan Y. Treatment Options and Outcomes in Nonmetastatic Muscle Invasive Bladder Cancer. Trends Cancer. 2019;5(7):426-439. doi:10.1016/j.trecan.2019.05.011
75. International Association of Cancer Registries. Cancer Today. https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-table?v=2020&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=2&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&group_cancer=1&include_nms

c=0&include_nmsc_other=1 Erişim tarihi: 10.09.2022.
76. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı. https://sbsgm.saglik.gov.tr/Eklenti/40564/0/saglik-istatistikleri-yilligi-2019pdf.pdf. Erişim tarihi: 28.06.2022
77. Eren AE, Taş S. Bladder cancer and genetic backround in young patients. Endourology Bulletin. 2021;13(1):29-31.
78. Montes-Mojarro IA, Hassas S, Staehle S, et al. Multiparametric Classification of Non-Muscle Invasive Papillary Urothelial Neoplasms: Combining Morphological, Phenotypical, and Molecular Features for Improved Risk Stratification. International Journal of Molecular Sciences. 2022;23(15):8133. doi:10.3390/ijms23158133
79. Sylvester RJ, van der Meijden APM, Oosterlinck W, et al. Predicting Recurrence and Progression in Individual Patients with Stage Ta T1 Bladder Cancer Using EORTC Risk Tables: A Combined Analysis of 2596 Patients from Seven EORTC Trials. European Urology. 2006;49(3):466-477. doi:10.1016/j.eururo.2005.12.031
80. Slovacek H, Zhuo J, Taylor JM. Approaches to Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer. Curr Oncol Rep. 2021;23(9):105. doi:10.1007/s11912-021-01091-1
81. Aydin AM, Baydar DE, Hazir B, Babaoglu B, Bilen CY. Prognostic significance of pre- and post-treatment PD-L1 expression in patients with primary high-grade non-muscle-invasive bladder cancer treated with BCG immunotherapy. World J Urol. 2020;38(10):2537-2545. doi:10.1007/s00345-019-03065-2
82. Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. Nat Rev Cancer. 2012;12(4):298-306. doi:10.1038/nrc3245
83. Winerdal ME, Marits P, Winerdal M, et al. FOXP3 and survival in urinary bladder cancer. BJU International. 2011;108(10):1672-1678. doi:10.1111/j.1464-410X.2010.10020.x
84. Eich ML, Chaux A, Guner G, et al. Tumor immune microenvironment in non–muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder. Human Pathology. 2019;89:24-32. doi:10.1016/j.humpath.2019.04.003
85. Zhou TC, Sankin AI, Porcelli SA, Perlin DS, Schoenberg MP, Zang X. A review of the PD-1/PD-L1 checkpoint in bladder cancer: From mediator of immune escape to target

for treatment. Urol Oncol. 2017;35(1):14-20. doi:10.1016/j.urolonc.2016.10.004
86. Ou Z, Wang Y, Liu L, et al. Tumor microenvironment B cells increase bladder cancer metastasis via modulation of the IL-8/androgen receptor (AR)/MMPs signals. Oncotarget. 2015;6(28):26065-26078. doi:10.18632/oncotarget.4569
87. Wang B, Pan W, Yang M, et al. Programmed death ligand-1 is associated with tumor infiltrating lymphocytes and poorer survival in urothelial cell carcinoma of the bladder. Cancer Sci. 2019;110(2):489-498. doi:10.1111/cas.13887
88. Bellmunt J, Mullane SA, Werner L, et al. Association of PD-L1 expression on tumor-infiltrating mononuclear cells and overall survival in patients with urothelial carcinoma. Ann Oncol. 2015;26(4):812-817. doi:10.1093/annonc/mdv009
89. Aggen DH, Drake CG. Biomarkers for immunotherapy in bladder cancer: a moving target. J Immunother Cancer. 2017;5(1):94. doi:10.1186/s40425-017-0299-1
90. Kim B, Lee C, Kim YA, Moon KC. PD-L1 Expression in Muscle-Invasive Urinary Bladder Urothelial Carcinoma According to Basal/Squamous-Like Phenotype. Front Oncol. 2020;10:527385. doi:10.3389/fonc.2020.527385
91. Kulangara K, Zhang N, Corigliano E, et al. Clinical Utility of the Combined Positive Score for Programmed Death Ligand-1 Expression and the Approval of Pembrolizumab for Treatment of Gastric Cancer. Arch Pathol Lab Med. 2019;143(3):330-337. doi:10.5858/arpa.2018-0043-OA
92. Munari E, Zamboni G, Lunardi G, et al. PD-L1 expression in non–small cell lung cancer: evaluation of the diagnostic accuracy of a laboratory-developed test using clone E1L3N in comparison with 22C3 and SP263 assays. Human Pathology. 2019;90:54-59. doi:10.1016/j.humpath.2019.05.003
93. Kates M, Matoso A, Choi W, et al. Adaptive Immune Resistance to Intravesical BCG in Non-Muscle Invasive Bladder Cancer: Implications for Prospective BCG-Unresponsive Trials. Clin Cancer Res. 2020;26(4):882-891. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-1920
94. Martínez R, Tapia G, De Muga S, et al. Combined assessment of peritumoral Th1/Th2 polarization and peripheral immunity as a new biomarker in the prediction of BCG response in patients with high-risk NMIBC. Oncoimmunology. 2019;8(8):1602460. doi:10.1080/2162402X.2019.1602460

95. Hashizume A, Umemoto S, Yokose T, et al. Enhanced expression of PD-L1 in non-muscle-invasive bladder cancer after treatment with Bacillus Calmette-Guerin. Oncotarget. 2018;9(75):34066-34078. doi:10.18632/oncotarget.26122
96. Huang TH, Cheng W, Wang YH. Interpretation According to Clone-Specific PD-L1 Cutoffs Reveals Better Concordance in Muscle-Invasive Urothelial Carcinoma. Diagnostics. 2021;11(3):448. doi:10.3390/diagnostics11030448
97. Nakanishi J, Wada Y, Matsumoto K, Azuma M, Kikuchi K, Ueda S. Overexpression of B7-H1 (PD-L1) significantly associates with tumor grade and postoperative prognosis in human urothelial cancers. Cancer Immunol Immunother. 2007;56(8):1173-1182. doi:10.1007/s00262-006-0266-z
98. Schalper KA. PD-L1 expression and tumor-infiltrating lymphocytes: Revisiting the antitumor immune response potential in breast cancer. Oncoimmunology. 2014;3:e29288. doi:10.4161/onci.29288
99. Fadime Gül SALMAN. Kas invaziv olmayan BCG refrakter mesane karsinomlarında mikrosatellit instabilitesi ve PD-l1 ekspresyonunun araştırılması, Tez no:616575. https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezSorguSonucYeni.jsp
100. Nurieva RI, Liu X, Dong C. Molecular mechanisms of T-cell tolerance. Immunol Rev. 2011;241(1):133-144. doi:10.1111/j.1600-065X.2011.01012.x
101. Zhang Y, Wang L, Li Y, et al. Protein expression of programmed death 1 ligand 1 and ligand 2 independently predict poor prognosis in surgically resected lung adenocarcinoma. Onco Targets Ther. 2014;7:567-573. doi:10.2147/OTT.S59959
102. Wang H, Yao H, Li C, et al. PD-L2 expression in colorectal cancer: Independent prognostic effect and targetability by deglycosylation. OncoImmunology. 2017;6(7):e1327494. doi:10.1080/2162402X.2017.1327494
103. Rosenbaum MW, Bledsoe JR, Morales-Oyarvide V, Huynh TG, Mino-Kenudson M. PD-L1 expression in colorectal cancer is associated with microsatellite instability, BRAF mutation, medullary morphology and cytotoxic tumor-infiltrating lymphocytes. Mod Pathol. 2016;29(9):1104-1112. doi:10.1038/modpathol.2016.95
104. Yang Y, Wang X, Bai Y, et al. Programmed death-ligand 2 (PD-L2) expression in bladder cancer. Urol Oncol. 2020;38(6):603.e9-603.e15. doi:10.1016/j.urolonc.2020.01.001

105. Ariafar A, Ghaedi M, Rezaeifard S, et al. Clinical relevance and prognostic significance of PD-1/PD-Ls in non-metastatic bladder cancer: A role for PD-L2. Mol Immunol. 2020;124:35-41. doi:10.1016/j.molimm.2020.05.010
106. Wang L ang, Yang B, Rao W, Xiao H, Wang D, Jiang J. The correlation of BER protein, IRF3 with CD8+ T cell and their prognostic significance in upper tract urothelial carcinoma. Onco Targets Ther. 2019;12:7725-7735. doi:10.2147/OTT.S222422
107. Bromberg J, Darnell JE. The role of STATs in transcriptional control and their impact on cellular function. Oncogene. 2000;19(21):2468-2473. doi:10.1038/sj.onc.1203476
108. Haura EB, Turkson J, Jove R. Mechanisms of disease: Insights into the emerging role of signal transducers and activators of transcription in cancer. Nat Clin Pract Oncol. 2005;2(6):315-324. doi:10.1038/ncponc0195
109. Tong L, Li J, Li Q, et al. ACT001 reduces the expression of PD-L1 by inhibiting the phosphorylation of STAT3 in glioblastoma. Theranostics. 2020;10(13):5943-5956. doi:10.7150/thno.41498
110. Marzec M, Zhang Q, Goradia A, et al. Oncogenic kinase NPM/ALK induces through STAT3 expression of immunosuppressive protein CD274 (PD-L1, B7-H1). Proceedings of the National Academy of Sciences. 2008;105(52):20852-20857. doi:10.1073/pnas.0810958105
111. Ho PL, Lay EJ, Jian W, Parra D, Chan KS. Stat3 activation in urothelial stem cells leads to direct progression to invasive bladder cancer. Cancer Res. 2012;72(13):3135-3142. doi:10.1158/0008-5472.CAN-11-3195