

# MESANENİN DEĞİŞİCİ EPİTEL HÜCRELİ PAPİLLOM VE KARSİNOMLARINDA AgNOR VE MITOTİK İNDEKS YÖNTEMLERİNİN TÜMÖR GRADE'İ İLE İLİŞKİSİ

Dr. Şahande ELAĞÖZ\*, Dr. Handan AKER\*, Dr. Ender DÜZCAN\*\*, Dr. Ziyet ÇINAR\*\*\*

**ÖZET:** Bu çalışma mesanenin değişici epitel hücreli papillom ve karsinomu (DEHK) tanısı alan olgularda, proliferatif belirleyiciler olarak kabul edilen AgNOR ve mitotik indeks (MI) yöntemlerini karşılaştırmak, tümör grade'yi ile korelasyon ve regresyonlarını incelemek ve grade'in tespitini mümkün kılacak bir eşik değerin bulunup bulunmadığını incelemek amacı ile planlandı. Çalışmada 5 papillom, 99 değişici epitel hücreli kanser ve kontrol grubu olarak da 30 sistit olgusu kullanıldı. Değişici epitel hücreli kanserleri grade'lemek için WHO sistemi kullanıldı. AgNOR yöntemi için Crocker'in önerdiği boyama ve sayım metodu, mitotik indeks (MI) için ise Simpson ve arkadaşlarının önerdiği sistem uygulandı. Papillomdan başlayarak grade arttıkça ortalama AgNOR ve mitotik indeks değerlerinin arttığı görülmekle beraber, papillom ile grade I tümörlerinde ortalama AgNOR ve mitotik indeks değerlerinin birbirine çok yakın olduğu, hatta çakıştığı görüldü. Grade'in AgNOR ve mitotik indeks ile ilişkisi araştırıldığında, mitotik indeksin AgNOR'a nazaran istatistiksel olarak daha anlamlı sonuçlar verdiği görüldü. Sistit olgularında AgNOR ve mitotik indeks değerlerinin papillom ve değişici epitel hücreli kanser olgularından anlamlı derecede düşük olduğu görüldü ( $p < 0.001$ ). Bu veriler ışığında sadece AgNOR ve mitotik indeks değerleri göz önüne alınarak olgunun grade'lemesinin yapılamayacağı, ancak uzun süre takibi yapılabilen geniş serilerde çalışıldığında prognostik açıdan anlamlı AgNOR ve mitotik indeks değerlerinin bulunabileceği sonucuna varıldı.

**ANAHTAR KELİMELEER:** Mesane, papillom, değişici epitel hücreli kanser, grade, AgNOR, mitotik indeks

**SUMMARY:** THE RELATIONSHIP AMONG THE AgNOR AND MITOTIC INDEX WITH TUMOR GRADE IN BLADDER PAPILLOM AND THE TRANSITIONAL CELL CARCINOMA. We planned this study to search AgNOR and Mitotic Index (MI) values which are known as proliferating markers in the bladder papilloma and the transitional cell carcinoma (TCC). In the course of this research we have used five (5) papillomas, ninety-nine (99) TCC and as the control group thirty (30) cystitis cases. As far as the methods concerned, we have utilized WHO, Simpson and Crocker's methods for determining grade, MI and AgNOR, respectively. As expected, we have observed that as grade increased the averaged values of MI and AgNOR also increased beginning from the values of papilloma. However, for the cases of papilloma with grade I, we have observed that averaged AgNOR and MI values were very close, often overlapping with each other. When we examined the relationship between grade with AgNOR and MI in bladder TCC, we found that MI has a stronger relationship with grade and MI gives better results compared to AgNOR. We have found that AgNOR and MI values for cystitis cases were significantly lower than papilloma and TCC cases as expected ( $p < 0.001$ ). Under the light of this research, we conclude that using only AgNOR and MI values one can not determine the grade of a case. But, if we work with a long term follow-up and large series, we can find AgNOR and MI values that are meaningful prognostically.

**KEY WORDS:** Bladder, papilloma, transitional cell carcinoma, AgNOR, MI, grade

## GİRİŞ

Malign tümörlerin çoğunda prognozun belirlenmesinde tek başına kullanılacak hızlı, ucuz ve güvenilir bir histopatolojik parametre henüz her tümör için tanımlanamamıştır. Özellikle epitelyal tümörlerde gland oluşumu, nükleer grade, mitoz sayısı, papiller çatı gibi parametrelere dayanılarak yapılan histopatolojik grade'lemelerin başarı oranının %60-70 olduğu ve sonuçta grade'leme yapılan olguların üçte birinin yanlış grade'lendirildiği kabul edilmektedir (1). Bu histopatolojik parametrelerin sensitivitesindeki yetersizlik, başarısızlığı neden olacağından, günümüzde diğer tümörlerde olduğu gibi, mesane tümörlerinin diferansiyasyon derecesini, hastalığın nüksünü, progresyonunu ve tedaviye verdiği yanıtı saptamada güvenilir bir yöntemin arayışı içinde olan patoloji, histokantitatif yöntemler üzerinde yoğunlaşmaktadır. Bu histokantitatif yöntemler arasında proliferatif aktivitenin ölçülmesinde basit ve ekonomik bir yöntem olarak kabul edilen AgNOR indeksi ve MI yöntemi de yer alır.

Çalışmamızı, optimum koşullar sağlandığında fazla zaman almayan, ucuz, kolaylıkla standardize edilebilecek ve morfometrik bir ölçüm olarak karşımıza çıkan, Simpson ve arkadaşlarının önerdiği mitotik indeks (MI) yöntemi ile; bu yönteme göre daha az standardize edilmiş ve daha subjektif

kriterlere dayanan AgNOR indeksinin mesanenin değişici epitel hücreli karsinomlarında (DEHK) grade ile paralellik gösterip göstermediğini, grade'ler arasında keskin eşik değerlerin bulunup bulunmadığını araştırmak amacıyla planladık.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi (CUTF) Patoloji Anabilim Dalı'nda 1 Ocak 1987 ve 31 Aralık 1994 yılları arasında incelenerek mesanenin DEH papillomu ve karsinomu tanısı almış 161 olgu retrospektif olarak incelendi. Bu olgulardan 21'inde (%13.04) nüks tespit edildi.

Olguların grade'lendirilmesinde WHO (1993) esas alındı (2). AgNOR yöntemi için Crocker'in önerdiği boyama ve sayım sistemi (3), MI'in sayılması ve hesaplanması için ise Simpson ve arkadaşlarının önerdiği yöntem uygulandı (4).

Kontrol grubu amacıyla normal mukoza biyopsisi alma imkanımız olmadığından yüzeysel epitelinde reaktif ve proliferatif değişikliklerin izlenmediği sistit tanısı almış 30 olgu seçilerek çalışmaya dahil edildi. Bunlara da AgNOR indeksi ve MI yöntemi uygulandı.

## AgNOR YÖNTEMİ

Parafin bloklardan elde edilen 4µm kalınlığında ki kesitler deparafinize edildikten sonra 20 dakika süre ile %96'lık alkolde bekletilerek deiyonize su ile yıkandı ve taze olarak hazırlanmış AgNOR solüsyonu (1 kısım %1'lik formik asit ve %2'lik jelatin karışımı ile 2 kısım %50'lik gümüş nitrat) ile oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 60-90 dakika inkübe edildi.

\* Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

\*\* Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

\*\*\* Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı  
Bu çalışma XII. Ulusal Patoloji Kongresinde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

**TABLO 1: OLGULARIN GRADE'LERE GÖRE AgNOR I, AgNOR II ve MI ORT. DEĞ. DAĞILIMI**

| GRADE    | Olgu sayısı | AgNOR I             |                     | AgNOR II            |                     | MI |  |
|----------|-------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----|--|
|          |             | Ort. Değ. Std. Hata | Ort. Değ. Std. Hata | Ort. Değ. Std. Hata | Ort. Değ. Std. Hata |    |  |
| Papillom | 5           | 7.93±1.07           | 9.43±0.81           | 0.16±0.07           |                     |    |  |
| I        | 35          | 8.31±0.31           | 9.39±0.30           | 0.19±0.02           |                     |    |  |
| II       | 46          | 10.30±0.47          | 11.52±0.44          | 0.52±0.06           |                     |    |  |
| III      | 18          | 10.95±0.89          | 12.26±0.74          | 0.79±0.13           |                     |    |  |

r=0.349; p<0.05 r=0.374; p<0.05 r=0.527; p<0.05

Boyama işlemi sonrasında artefaktları azaltmak amacıyla deiyonize suda iyice çalkalanan kesitler 30 saniye %5'lik tiosülfattan geçirildi, tekrar deiyonize suda çalkalandı, dokular derecesi yükselen alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi ve ksilol ile temizlenip sentetik kapatma maddesi ile kapatıldı. Değerlendirme işlemi N.A değeri 1.25 olan Abbe tipi kondansörlü Nikon marka binoküler ışık mikroskopunda x1000 büyütmede yapıldı. Her olgu için farklı 100 hücrenin nükleusunda Crocker'in önerdiği sayım sistemi kullanıldı (3). Bunun için nükleolus içi AgNOR benekleri (AgNOR I), nükleoler+ekstranükleoler AgNOR benekleri (AgNOR II) sayıldı. Her olgu için ortalama AgNOR değerleri bulunarak, bu değerler AgNOR indeksi olarak kabul edildi.

#### MİTOTİK İNDEKS YÖNTEMİ

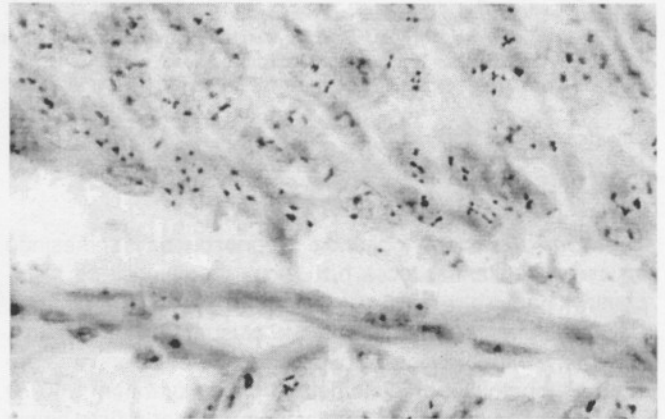
Mitotik indeks, 10 farklı alanda sayılan mitotik şekillerin toplamının tüm sahadaki tahmini hücre sayısına oranıdır ve bulunan oran payda 1000 olacak şekilde (MI=mitoz/1000 hücre) ifade edilir (4). Bu yöntemde küçük büyütmede bütün tümör dokusu taranarak hücreden ve mitozdan en zengin, nekroz, fibrozis ve iltihabın olmadığı alan seçildi. Mikroskop sahası lineer mikrometre ile ikiye bölünerek çap çizgisi şeklinde izlenen bu çizginin kesiştiği hücreler N.A değeri 1.25 olan Abbe tipi kondansörlü Nikon marka binoküler ışık mikroskopunda x40 objektif ile sayıldı (n). Dairenin alan formülünden yola çıkılarak mikroskop sahasındaki tahmini hücre sayısı ( $A=\pi(n/2)^2$ ) formülü ile hesaplandı. Tüm sahalardaki tahmini hücre sayısını bulmak için 1, 5, 10'uncu sahalardan hesaplanan tahmini hücre sayılarının ortalaması alınıp 10 ile çarpıldı. Daha sonra 10 farklı alandaki mitotik figürler sayıldı. Son olarak toplam mitoz sayısının tahmini hücre sayısına oranı hesaplanarak ve 1000 ile genişletilerek her olgu için MI hesaplandı. Bulunan oran payda 1000 olacak şekilde hesaplanarak MI=mitoz/1000 hücre cinsinden ifade edildi (1,3-6). AgNOR indeksi ve MI değerleri ile tümörün grade'i arasındaki ilişkiyi araştırmak için çoklu korelasyon-regresyon analizlerinden olan "step-wise regresyon" analizi, ilişki bulunan gruplar arasında ise ilişkinin kuvvetini incelemek için "korelasyon analizi", değişkenlerden birisindeki bir birimlik artışın diğer değişkende nasıl bir değişime neden olabileceğini incelemek için ise "regresyon analizi" uygulandı. Kontrol grubu ile çalışma grubunun AgNOR I, AgNOR II ve MI değerleri karşılaştırılırken de "iki ortalama farkının anlamlılık testi (student t testi)" uygulandı.

#### BULGULAR

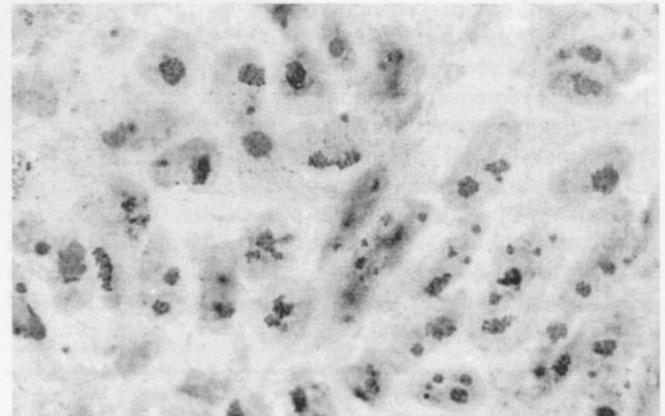
Çalışmaya dahil edilen 104 olgunun 6'sının yaşı kayıtlardan tespit edilememiş olup kalan 98 olgunun yaş ortalaması 59.5±1.23 idi. Yaş grupları göz önüne alındığında 30-49 yaş

arası 18 olgu (%18.4), 50-69 yaş arası 62 olgu (%69.2), 70 yaş ve üzerinde 18 olgu (%18.4) tespit edildi. Yaş ile AgNOR indeksi ve MI değerleri arasında istatistiksel olarak bir ilişki bulunamadı (p>0.05). Olguların cinslere göre dağılımı incelendiğinde ise 85'i erkek (%81.7), 19'u kadın (%18.3) olup, erkek/kadın oranı 4.3/1 idi.

DEH'li papillom ve karsinomlu olguların WHO'ya göre yeniden grade'lemesi sonucunda olguların 5'i papillom (%4.8), 35'i grade I (%33.7), 46'si grade II (%44.2), 18'i grade III (%17.3) DEHK olarak değerlendirildi. Toplam 15 olguda (%14.4) yassı epitel metaplazisi izlendi. Bunlardan 1'i grade I (%0.9), 8'i grade II (%7.7), 6'si grade III (%5.8) de olup bu olguların grade'lere göre dağılımı ile ortalama Ag NOR ve MI değerleri Tablo 1'de görülmektedir. Korelasyon ve regresyon analizlerinde grade ile AgNOR I değerleri arasında aynı yönlü ve istatistiksel olarak önemli bir ilişki bulundu (r:0.349; p<0.05). Ayrıca grade ile AgNOR II değerleri arasındaki korelasyon ve regresyonun daha kuvvetli olduğu sonucuna varıldı (r:0.374; p<0.05). Buna göre grade'deki bir birimlik artışın AgNOR II miktarında 0.108 birimlik artışa neden olduğu görüldü. Çalışmada grade I olgularda, AgNOR beneklerinin az sayıda olmalarının yanı sıra daha uniform çap ve şekilde (Resim 1) oldukları, grade III olgularda ise beneklerin birden

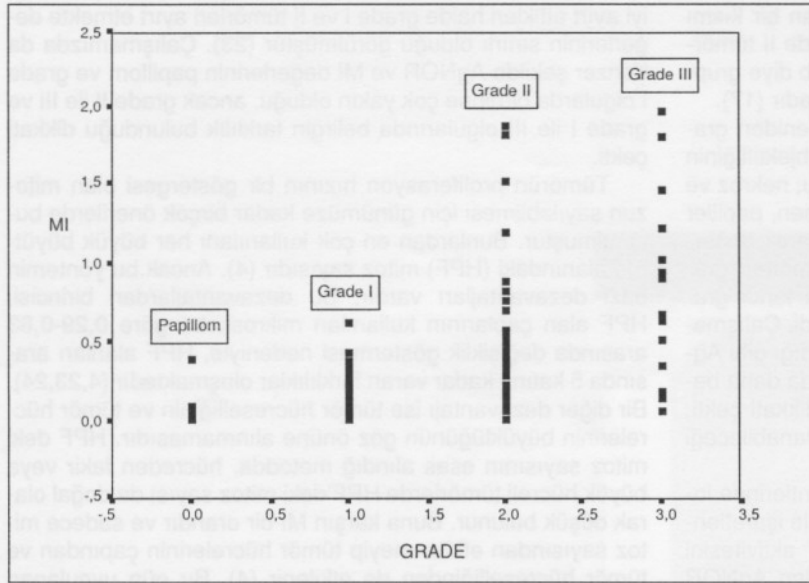


**Resim 1:** Papillom olgusunda bir kısmı prenokleoler cisimcik halini almış, diğerleri ise nükleus içinde dağılmış 4-5 adet AgNOR benekği (AgNOR; x875).

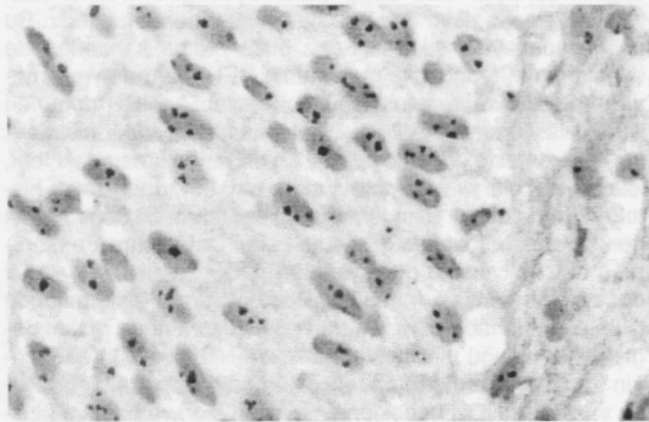


**Resim 2:** İki ya da üç adet iri nükleolusun ve bunların içerisinde çok sayıda küçük çaplı AgNOR beneklerinin izlendiği grade III DEHK (AgNOR; x875).





Şekil 1: Olguların grade'lere göre MI ort. değ. dağılımı.



Resim 3: Nükleuslar içinde seyrek olarak dağılmış, iri benekler (AgNOR; x875).

fazla nükleolus içinde sınırlı çok sayıda olmaları yanı sıra heterojen çap ve şekilde oldukları dikkati çekti (Resim 2). Ayrıca Grade ile MI ortalama değerleri arasındaki korelasyon ve regresyon, istatistiksel olarak önemli bulundu ( $r: 0.527$ ;  $p < 0.05$ ). Buna göre grade'deki bir birimlik değişimin, MI değerinde 0.925 birimlik artışa neden olduğu görüldü. Olguların MI değerlerinin grade'lere dağılımı Şekil 1'de görülmektedir.

MI ile AgNOR I ve AgNOR II değerleri arasında da aynı yönlü bir korelasyon ve doğrusal bir regresyon bulundu ve bu değer istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p < 0.05$ ). MI, AgNOR I ve

AgNOR II değerleri arasındaki doğrusal regresyon step-wise regresyon analizi ile araştırıldığında MI ile AgNOR II değerleri arasındaki ilişkinin daha kuvvetli olduğu görüldü ( $F=35.65$ ;  $p < 0.05$ ).

Çalışma grubu ile kontrol grubunun AgNOR I, AgNOR II ve MI değerleri arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). Kontrol grubuna ait olgularda AgNOR beneklerinin çalışma grubuna göre daha az sayıda, iri çaplı ve uniform şekilde oldukları görüldü (Resim 3). Çalışma ve kontrol gruplarının AgNOR I, AgNOR II ve MI ortalama değerleri Tablo 2'de görülmektedir.

## TARTIŞMA

DEHK lar, kadınlara oranla erkeklerde daha sık görülür ve %80'i 50 ile 80 yaş arasındadır (11,14). Mesane kanserlerinde yaş prognostik bir parametre olarak önemli olmamakla birlikte, genç olgularda tümörün düşük grade'li, yaşlı olgularda ise yüksek grade'li olarak ortaya çıktığı bilinmektedir (13,14). Çalışmamızda 5. dekadın altındaki olguların düşük grade'li (grade I) oldukları, 7. dekadın üzerindeki olguların ise yüksek grade'li (grade III) oldukları, ancak yaş ile AgNOR ve MI değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı görüldü ( $p > 0.05$ ). Mesane kanserleri erkeklerde kadınlara oranla 3-4 kat daha fazladır, fakat cinsiyetin prognostik önemi yoktur (7-12). Çalışmamızda erkek/kadın oranı 4.3/1 olup cinsiyet dağılımı ile AgNOR ve MI değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı görüldü ( $p > 0.05$ ). Mesane kanserli her olgunun tedavi protokolunun seçilmesi ve klinik gidişi hakkında fikir vermesi açısından, tümör grade'i, nekrozun varlığı, lezyonun multipl oluşu, mesanedeki lokalizasyonu, tümör çapı, lamina propria ve damar invazyonunun varlığı gibi histolojik bazı parametreler kullanılmıştır (6,9-12). Bunlardan grade'leme ile ilgili çalışmalar yol gösterici ayrıntıların yokluğu nedeniyle patoloğları yıllarca çok iyi diferansiyel lezyonları düşük grade, çok anaplastik lezyonları ise yüksek grade'li olarak sınıflandırmaya yönlendirmiştir (6). Mesane kanserli 1922 yılından beri farklı araştırmacılar tarafından üç veya dört grade'e ayrılarak farklı şekillerde sınıflandırılmışlardır (6). Bu sınıflamalar arasında en çok benimsenen ve anaplastik derecesini esas alan WHO sınıflamasıdır. WHO sistemine göre ayrı bir grup olarak kabul edilen papillomların gerçek bir tümör mü, yoksa hiperplastik bir durum mu oldukları bugün hala tartışmalıdır (6,10-13). Bazı yazarlar malign potansiyeli hakkında kesin bir görüş birliği olmadığı için papillomu grade I DEHK olarak kabul ederken (6,13), başka bir grup araştırmacı ise papillomu tamamen benign bir tümör olarak kabul edip, grade I DEHK'lardan zor olmakla birlikte ayırıcı tanısının yapılması gerektiğini vurgulamışlardır (14). 1983 yılında Ooms ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 57 mesane kanserli olgu yedi patoloğ tarafından birbirlerinden habersiz olarak ve aynı olgu farklı zaman periyodlarında aynı patoloğ tarafından değerlendirilmiştir (15,16). Bu çalışmanın sonunda patoloğlar arası uyumun %30-50, patoloğun kendi içindeki uyumunun ise %50 olduğu bildirilmiştir (15). Son yıllarda WHO grade'leme sistemi modifiye edilerek yeni bir sınıflama önerilmiştir ki buna göre

TABLO 2: ÇALIŞMA VE KONTROL GRUPLARININ AgNOR I, AgNOR II ve MI ORT. DEĞ. KARŞILAŞTIRILMASI

|   | Olgu sayısı | AgNOR I    |           | AgNOR II    |           | MI          |           |
|---|-------------|------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|
|   |             | Ort Değ.   | Std. Hata | Ort Değ.    | Std. Hata | Ort Değ.    | Std. Hata |
| Kontrol   | 30          | 5.568±0.49 |           | 6.785±0.46  |           | 0.019±0.010 |           |
| Çalışma   | 104         | 9.687±0.29 |           | 10.837±0.28 |           | 0.440±0.004 |           |
| $t=7.44$ ; $p < 0.05$ $t=7.83$ ; $p < 0.05$ $t=9.72$ ; $p < 0.05$ |             |            |           |             |           |             |           |

özellikle WHO sisteminde heterojen bir grup olan bir kısmı grade I, bir kısmı ise grade III gibi davranan grade II tümörlerin nükleer atipi ve mitoz esas alınarak IIa ve IIb diye gruplandırılmasının daha doğru olacağı savunulmaktadır (17).

Çalışmamızda 194 olgunun WHO'ya göre yeniden gradelendirilmesi sırasında kullanılan kriterlerin subjektifliğinin olumsuzlukları yaşandı ve iki adet grade II olgusu; nekroz ve minimal hücresele pleomorfizm görülmesine rağmen, papiller yapı korunduğu için, grade III yerine grade II olarak değerlendirildi. Çalışmanın amaçlarından birisi de tümörleri grade'lemekteki bu subjektifliği ortadan kaldıracak farklı grade'lere bir eşik değerin bulunup bulunmayacağı idi. Çalışmamızın sonucunda böyle bir eşik değeri bulunmadığı gibi AgNOR ve MI değerlerinin özellikle grade II olgularda daha belirgin olmak üzere geniş bir dağılım gösterdiği dikkati çekti; bunun da bu grubun heterojenliğinden kaynaklanabileceği sonucuna varıldı.

rRNA'yı kodlayan intranükleoler DNA segmentlerinde lokalize nonhiston yapısındaki proteinlerin gümüş ile işaretlenmesi esasına dayanan ve dokunun proliferatif aktivitesini yansıtan ölçülebilir bir belirteç olarak kabul edilen AgNOR yöntemi 1980'li yıllardan itibaren tümör patolojisinde kullanılmaya başlanmıştır. (18-20). Bu yöntem, fiksatiflerin cinsi, fiksasyon süresi, dokunun büyüklüğü, kapsüllü oluşu ve dokunun hücresele yoğunluğu gibi birçok faktörden etkilenir (21). Ruschoff ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda da sistektomi materyallerinde gümüşle boyalı NOR'ların sayısının az olduğu veya tamamen ortadan kalktığı halde, TUR materyallerinde boyanın kalitesi ve verimliliğinin iyi olduğu ileri sürülmüştür (22). Çalışmamızda da benzer şekilde üç sistektomi olgusunda AgNOR değerlerinin kendi grup ortalamalarından düşük olduğu görüldü. Bunun doku kalınlığına bağlı olarak ürotelyumun yetersiz fiksasyonu nedeni ile boya kalitesinin kötü oluşu ve dolayısıyla sağlıklı sayımın yapılamamasından kaynaklanabileceği düşünüldü.

Sayım işlemi konusundaki tartışma bugün için iki ayrı sayım sisteminin kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Crocker'in önerdiği sayım sistemi gerçek AgNOR sayısını belirlemek amacı ile nükleusun içindeki tüm beneklerin sayılmasının gerekliliğini vurgularken (3), diğer araştırmacıların önerdiği sistem nükleoler ve prenükleoler yapıların sayımına yöneliktir (3,20). Aynı çalışmada iki sayım sisteminin birlikte kullanılmalarının da önemli bir uygulama olacağı iddia edilmiştir (3). Bu sayım sistemlerinin gözlemciler arasında ve gözlemcinin kendi içinde yaratmış olduğu uyumsuzluklar incelenmiş ve bunun sonucunda uyumsuzluğun nükleol içindeki küçük benekler sayıldığında %12, benekler ve kümeler sayıldığında ise %4 olduğu ifade edilmiştir (20). Çalışmamızda her olgu için nükleolus içi (AgNOR I) ve nükleolus+ekstranükleolus (AgNOR II) toplam AgNOR beneklerini saydık ve bu iki sayım sisteminden hangisinin grade ile daha iyi korelasyon göstereceğini araştırdık. Bunun sonucunda da AgNOR II sayım sisteminin grade ile korelasyonunun, AgNOR I sayım sistemine nazaran belirgin ve kuvvetli olduğunu gördük.

Ruschoff ve arkadaşları yapmış oldukları bir çalışmada, malignitede küçük çok sayıda benekler olduğu halde, kanser olmayan olgularda büyük ve bir iki tane AgNOR beneği gördüklerini bildirmişlerdir (22). Çalışmamızda da benzer şekilde tümör hücrelerinde ve yassı epitel metaplazi alanlarında küçük ve çok sayıda AgNOR beneği görüldüğü halde kontrol grubu amacıyla alınan sistit olgularında büyük ve bir iki adet benek görüldü.

Grade ile AgNOR ve PCNA arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada her iki parametrenin grade III tümörleri çok

iyi ayırt ettikleri halde grade I ve II tümörleri ayırt etmekte değerlerinin sınırlı olduğu görülmüştür (23). Çalışmamızda da benzer şekilde AgNOR ve MI değerlerinin papillom ve grade I olgularda birbirine çok yakın olduğu, ancak grade II ile III ve grade I ile III olgularında belirgin farklılık bulunduğu dikkati çekti.

Tümörün proliferasyon hızının bir göstergesi olan mitozun sayılabilmesi için günümüze kadar birçok önerilerde bulunulmuştur. Bunlardan en çok kullanılanı her büyük büyütme alanındaki (HPF) mitoz sayısıdır (4). Ancak bu yöntemin bazı dezavantajları vardır. Bu dezavantajlardan birincisi, HPF alan çaplarının kullanılan mikroskopa göre 0,29-0,63 arasında değişiklik göstermesi nedeniyle, HPF alanları arasında 5 katına kadar varan farklılıklar oluşmaktadır (4,23,24). Bir diğer dezavantajı ise tümör hücreseleliğinin ve tümör hücrelerinin büyüklüğünün göz önüne alınmamasıdır. HPF deki mitoz sayısının esas alındığı metotta, hücreden fakir veya büyük hücreli tümörlerde HPF'deki mitoz sayısı da doğal olarak düşük bulunur. Buna karşın MI bir orandır ve sadece mitoz sayısından etkilenmeyip tümör hücrelerinin çapından ve tümör hücreseleliğinden de etkilenir (4). Bu gün uygulanan pek çok yöntemden birisi olan Simpson ve arkadaşlarının önerdiği MI hesaplama yönteminin yeni olması nedeniyle, sağlıklı sonuçlar elde edilip edilemeyeceğinin belirlenmesi için çok sayıda solid tümörde çalışılması gerekmektedir. Bu düşünceden yola çıkarak daha önce meme kanserlerinde uygulanan MI yöntemini mesanenin DEHK'larına uygulamayı amaçladık ve elde ettiğimiz sonuçları AgNOR değerleri ile korelasyonunu araştırdık. Çalışmamızda, farklı histolojik grade'lerde elde edilen ortalama MI değerleri arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ), ancak aynı histolojik grade'de yer alan tümörlerde saptanan MI değerlerinin geniş bir aralığa yayıldığı dikkati çekti. Çalışmamızda, kontrol grubu ile çalışma grubuna ait AgNOR I, AgNOR II ve MI değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.001$ ). İltihabi olaylarda da epitel hücrelerinde reaktif değişiklikler olduğu bilinmekle birlikte AgNOR ve MI değerlerinin tümör olgularından önemli ölçüde düşük olduğu sonucuna varıldı. AgNOR beneklerinin büyüklükleri ve dağılım özelliklerinin teknik şartlardan etkilenmesi nedeniyle her ne kadar çalışma kapsamına dahil edilmemişse de, anaplazi derecesi yüksek olan tümörlerde ve yassı epitel metaplazi odaklarında bütün nükleus içine dağılmış küçük boyutlu ve çok sayıda benekler, yangısal olaylarda ise büyük çaplı ve bir iki adet AgNOR beneği görüldü.

Mesane DEHK olgularında her iki yöntemi karşılaştırmak ve grade ile korelasyonunu incelemek amacıyla yapılan bu çalışmada her iki yöntemin de gerek teknik, gerekse değerlendirme açısından birçok faktörlerden etkilenmesi nedeniyle DEHK olgularını grade'lemekte tek başlarına yetersiz oldukları ve daha çok morfometrik teknikler ile korele edilme-leri gerektiği sonucuna varıldı.

## KAYNAKLAR

1. Lipponen PK, Eskelinen MJ, Jauhainen K. Grading of superficial bladder cancer by quantitative mitotic frequency analysis. *J Urol* 1993;149: 36-41.
2. Mostofi FK, Sabin LH, Torloni H. Histological typing of urinary bladder tumors: international classification of tumors. Geneva: WHO, 1973.
3. Crocker J, Boldy DAR, Egan MJ. How should we count AgNORs? Proposals for a standardized approach. *J Pathol* 1989;158:185-188.
4. Simpson WF, Dutt PL and Page DL. Expression of mitosis per thousand cell and cell density in breast carcinomas. *Hum Pathol* 1992; 23: 608-611.
5. Hilsenbeck SG, Allred DC. University of Texas Health Science Center at San Antonio. Improved methods of estimating mitotic activity in solid tumors. *Editorial. Hum Pathol* 1992; (23):601-602.
6. Van Diest PJ, Baak JAP, Matzecek P, Wisse-Breklemans BSC. Reprodu-

cubility of mitosis counting in 2469 breast cancer specimens: Results from multicenter morphometric mammary carcinoma project. *Hum Pathol* 1992; 23: 603-607.

- Johnson DE, Swanson DA, Von Eschenbach AC. Tumors of genitourinary tract. In: Tanagho EA, Mc Aninch JW, ed. *Smith's General Urology*. 12th ed. Apleton & Lange, Lebanon 1988; 330-334.
- Someran A. Kidney and urinary passages. In: Karcioglu ZA. *Practical surgical pathology*. Lexington, Massachusetts/Toronto: DC. Heath and Company 1985; 395-413.
- Lucien E, Nochomovitz and Nabila E, Metwalli: The renal pelvis, ureter, urinary bladder and urethra. In: Silverberg SG, ed. *Principles and Practice of Surgical Pathology*. New York: Churchill Livingstone 1990; 1485-1512.
- Rosai J. *Ackerman's surgical pathology: Urinary tract*. 7th ed. St. Louis: The C.V. Mosby Company 1989; 898-917.
- Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. *Pathologic Basis of Disease: The lower urinary tract*. 5th ed. Philadelphia: W.B Saunders Company 1994; 991-1005.
- Witjes JA, Kiemeny LA, Ooster GO, Debruyne FM. Prognostic factors in superficial bladder cancer. *Eur Urol* 1992; 21:89-97.
- Reuter VE and Melamed MR. The lower urinary tract. In: Stephan S. Sternberg ed. *Diagnostic surgical pathology*. New York: Raven Press 1994; 1778-785.
- Peterson RO. *Urologic pathology. Urinary bladder*. 2th ed. Philadelphia: JB. Lippincott Company 1998; 1853-1893.
- Ooms ECM, Kurver PHJ, Veldhuizen RW. Morphometric grading of bladder tumors in comparison with histologic grading by pathologists. *Hum Pathol* 1983;14:144-150.

- Ooms ECM, Anderson WAD, Boom ME and Veldhuizen RW. Analysis of the performance of pathologists in the grading of bladder tumors. *Hum Pathol* 1983; 14:140-143.
- Carbin BE, Ekamna P, Gustafson H, Christensen NJ, Sandsted B and Silfversward C. Grading of human urothelial carcinoma based on nuclear atypia and mitotic frequency. I. Histological description *J Urol* 1991; 145: 968-971.
- Ruschoff J, Plate K, Bittinger A, Thomas C. Nucleolar organizer regions (AgNOR). Basic concepts and practical application in tumour pathology. *Path Res Pract* 1989; 185: 878-885.
- Russel DL, Malcolm R, Alison and Catherine E. Variations in the occurrence of silver staining nucleolar organizer regions (AgNORs) in non-proliferating tissues. *J Pathol* 1991; (165): 43-51.
- Delahunt B, Avollone FA, Ribas JL, Mostofi FK. Gold toning improves the visualization of nucleolar organizer regions in paraffin embedded tissues. *Biotechnic&Histochemistry* 1991;5:316-320.
- Griffiths AP, Butler CW, Roberts P. Silver stained structures (AgNORs). Their dependence on tissue fixation and absence of prognostic relevance in rectal adenocarcinoma. *J Pathol* 1989; 159:121-127.
- Ruschoff J, Zimmermann R, Ulshofer B and Thomas C. Silver-stained nucleolar organizer proteins in urothelial bladder lesions. *Path Res Pract* 1992; (188): 593-598.
- Kapeliou A, Korkolopoulou P, Papanicolou A et. al. Comparative assessment of proliferating cell nuclear antigen immunostaining and of nucleolar organizer region staining in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Eur Urol* 1992;22:235-240.
- O'leary TJ, Steffes MW. Can you count on the mitotic index? *Hum Pathol* 1996; 27(2):147-151.

Kas invazyonu gösterenler stage B ve sonraki evrelerde invazyonu olanlar stage C olarak değerlendirildi.

Her ölçüm için en az üç alan seçildi. Ölçümler için yapılan ölçümler için her alan için en az üç alan seçildi. Ölçümler için yapılan ölçümler için her alan için en az üç alan seçildi.

**AgNOR YÖNTEMİ**

Her alan için en az üç alan seçildi. Ölçümler için yapılan ölçümler için her alan için en az üç alan seçildi. Ölçümler için yapılan ölçümler için her alan için en az üç alan seçildi.

Her alan için en az üç alan seçildi. Ölçümler için yapılan ölçümler için her alan için en az üç alan seçildi. Ölçümler için yapılan ölçümler için her alan için en az üç alan seçildi.

**MİTOTİK İNDEKS YÖNTEMİ**

Her alan için en az üç alan seçildi. Ölçümler için yapılan ölçümler için her alan için en az üç alan seçildi. Ölçümler için yapılan ölçümler için her alan için en az üç alan seçildi.

Her alan için en az üç alan seçildi. Ölçümler için yapılan ölçümler için her alan için en az üç alan seçildi. Ölçümler için yapılan ölçümler için her alan için en az üç alan seçildi.

Her alan için en az üç alan seçildi. Ölçümler için yapılan ölçümler için her alan için en az üç alan seçildi. Ölçümler için yapılan ölçümler için her alan için en az üç alan seçildi.

Her alan için en az üç alan seçildi. Ölçümler için yapılan ölçümler için her alan için en az üç alan seçildi. Ölçümler için yapılan ölçümler için her alan için en az üç alan seçildi.

**GEREÇ VE YÖNTEM**

Her alan için en az üç alan seçildi. Ölçümler için yapılan ölçümler için her alan için en az üç alan seçildi. Ölçümler için yapılan ölçümler için her alan için en az üç alan seçildi.

Her alan için en az üç alan seçildi. Ölçümler için yapılan ölçümler için her alan için en az üç alan seçildi. Ölçümler için yapılan ölçümler için her alan için en az üç alan seçildi.

\* Önceki çalışmada T1 evreli invazyonlu mesane karsinomlarında AgNOR ve mitotik indeks yöntemlerinin prognostik değeri araştırılmıştır.

\*\* Önceki çalışmada T2 evreli invazyonlu mesane karsinomlarında AgNOR ve mitotik indeks yöntemlerinin prognostik değeri araştırılmıştır.

\*\*\* Önceki çalışmada T3 evreli invazyonlu mesane karsinomlarında AgNOR ve mitotik indeks yöntemlerinin prognostik değeri araştırılmıştır.