

# Mesaneenin değişici epitel hücreli karsinomlarında AgNOR ve mitotik indeks yöntemlerinin tümör grade'ı ile ilişkisi

Serra KAYAÇETİN, Lema TAVLI

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, KONYA

## ÖZET

*Bu çalışma mesaneenin Değişici Epitel Hücreli Karsinom (DEHK) tanısı alan olgularında proliferatif belirleyiciler olan AgNOR ve Mitotik İndeks (MI) yöntemlerini karşılaştırmayı, grade ile korelasyon ve regresyonunu incelemeyi, grade'in tespitinde ve prognoz hakkında kesin yorumda bulunmayı mümkün kılacak bir eşik değerin bulunup bulunamayacağına araştırmak amacı ile planlandı. Bu amaçla Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 01 Ocak 2000 ve 31 Ocak 2003 tarihleri arasında mesaneenin DEHK tanısı alan 102 olgu çalışmada kullanıldı. Ayrıca kontrol grubu amacıyla, yüzey epiteli normal görünümdeki, sistit tanısı almış olan 30 olgu çalışmaya dahil edildi. DEHK tanısı almış olguların yeniden grade'lenmesi için Ash'in önerdiği sistem esas alındı ve eski tanılarından bağımsız olarak yeniden değerlendirildi. AgNOR yöntemi için Crocker'in önerdiği boyama ve sayım sistemi kullanıldı. AgNOR beneklerini sayarken 100 hücrede gümüş ile siyah boyanmış nükleolus içindeki AgNOR benekleri (AgNOR I) ile nükleolus içi + nükleus içi AgNOR benekleri (AgNOR II) sayıldı. Simpson'un önerdiği MI yöntemini uygularken MI: mitoz/ tahmini hücre sayısı sonucu elde edilen değer payda 1000 olacak şekilde ifade edildi. Mesaneenin DEHK'larında grade arttıkça ortalama AgNOR ve MI değerlerinin arttığı, fakat MI ile arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı görüldü.*

**Anahtar Kelimeler :** AgNOR, MI, grade, mesane, DEHK.

Selçuk Tıp Derg 2004;20:66-73.

## SUMMARY

**To compare of AgNOR and MI methods in transitional cell carcinoma of urinary bladder and to study correlation between tumor grade**

*This study was designed to compare AgNOR and MI methods which are known as proliferation indexes in transitional cell carcinoma of urinary bladder (TCC) and to study correlation and regression between grade and AgNOR and MI methods. At the same time we aimed to identify any threshold value which could help determine grade and prognosis. In this study, 102 cases of TCC were involved which were diagnosed between 2000 and 2003 in the Pathology Department of Meram Medical Faculty, Selçuk University. As control group, thirty cystitis cases whose epithelia were normal in the surface appearance were chosen. Microscopic features of the cases were retrospectively re-evaluated in the light of latest literature. To grade TCC cases we chose the system proposed by Ash. Cases were re-evaluated independently of their previous diagnoses. Staining and counting systems proposed for AgNOR by Crocker were used when counting AgNOR spots, spots stained black with silver in the nucleolus (AgNOR I) and those both in nucleus and nucleolus (AgNOR II) were counted, for each case, in 100 cells without noticing size and distribution. When performing MI method proposed by Simpson, we calculated possible cell and mitosis counts in ten different microscopic areas. The number obtained by a ratio of total mitosis count to possible cell count was accepted as MI and denominator was expressed as 1000. We have found that AgNOR and MI values increased associating grade of the tumor. We could demonstrate a correlation between MI and grade though there was not such a correlation.*

**Key Words:** AgNOR, MI, grade, urinary bladder, TCC.

Mesaneenin DEHK'i insanlarda vücuttaki tüm kanserlerin %2'sini teşkil eder ve endüstrileşmiş ülkelerde insidansı daha yüksektir (1). Erkeklerde beşinci ve altıncı dekatta, ürogenital sistemin prostattan sonra ikinci sıklıkta görülen tümörüdür. Erkeklerde kadınlara oranla 3-4 kat daha fazla görülür (2-4). Bu kadar sıklıkla karşımıza çıkan mesane kanserlerinin tedavisinin planlanması ve

prognozunun tayin edilmesinde esas alınan histolojik gradeleme çok farklı şekillerde yapılmıştır (5,6). Günümüzde, diğer tümörlerde olduğu gibi, mesane tümörlerinin klinik evresi ve diferansiyasyon derecesini, hastalığın nüksünü, progresyonunu ve tedaviye verdiği yanıtı saptamada fikir verecek güvenilir bir yöntemin arayışı içinde olan patoloji, histokantitatif yöntemler üzerinde yoğunlaşmak-

Haberleşme Adresi: Dr. Serra KAYAÇETİN, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, KONYA  
Geliş Tarihi : 07.01.2004 Yayına Kabul Tarihi : 26.022004 e-mail: ekayaçetin@mynet.com

tadır. Bunlardan birisi proliferatif aktivitenin ölçülmesinde basit ve ekonomik bir yöntem olan AgNOR yöntemidir. Bir diğer histokantitatif yöntem ise, morfometrik bir ölçüm olarak kabul edilen, Simpson ve arkadaşlarının önerdiği on farklı alanda sayılan mitotik şekillerin toplamının tüm alandaki tahmini hücre sayısına oranı olarak kabul edilen mitotik indekstir (MI). Bu çalışmada mesanenin Değişici Epitel Hücreli Kanser'lerinin gradelendirilmesi ve prognozu hakkında kesin yorumda bulunmayı mümkün kılacak bir eşik değerin bulunup bulunamayacağını tesbit edilebilmesi amacıyla AgNOR ve MI değerleri ile tümör grade'i arasındaki ilişki araştırılmıştır.

### GEREÇ VE YÖNTEM

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 1 Ocak 2000 ve 31 Ocak 2003 yılları arasında incelenerek mesanenin DEHK tanısı almış 102 olgu çalışmaya alındı. Formaldehit solüsyonu (%10'luk) ile tesbit edilmiş ve rutin yöntemlerle hazırlanmış preparatlar önceki tanılarına bakılmaksızın retrospektif olarak yeniden değerlendirilip, gerekli olgularda parafin bloklardan yeni kesitler yapıldı. Olguların yaşları, cinsleri, materyallerin alınma şekli (TUR, biyopsi, sistektomi) gibi klinik bilgiler patoloji raporlarından temin edildi. Olguların grade'lendirilmesinde Ash'in sistemi alınıp, olgular dört ayrı grade içerisinde değerlendirildi. Parafin bloklardan AgNOR yöntemi için yeniden kesit hazırlandı, bunlara Crocker'in önerdiği boyama ve sayım sistemi uygulandı. 4 cm kalınlığında parafin kesitleri AgNOR çalışma çözeltisi ile homojen dağılmasını sağlamak amacıyla boyama işlemi 100 ml'lik şaleler içerisinde, karanlık ortamda ve oda sıcaklığında yapıldı. Değerlendirme işlemi x1000 büyütme ile ışık mikroskopunda yapıldı. Her olgu için tesadüfen seçilmiş 100 hücrenin nükleusunda Crocker'in önerdiği sayım sistemi kullanıldı (7). Bunun için nükleolus içi toplam AgNOR (AgNOR I), nükleolus + nükleus içi toplam AgNOR (AgNOR II) sayıları belirlendi.

Buna göre, merkezinde gevşek fibrovasküler stromanın izlendiği, yapısal ve sitolojik özellikleri normal ürotelyuma benzeyen beş ile yedi sıralı değişici epitel ile örtülü, invazyon göstermeyen papiller lezyonlar grade I (Şekil 1); buna karşın çok iyi diferansiye olmuş normal değişici epitel hücrelerine benzeyen, hafif polarite kaybı

gösteren ve yedi ile on sıralı değişici epitel ile örtülü papiller lezyonlar grade II (Şekil 3); boyut, şekil ve kromatin içeriğinde büyük farklılıklar gösteren ve fazla miktarda mitoz içeren nükleuslara sahip, belirgin polarite kaybı gösteren, on sıradan fazla değişici epitel ile döşeli papiller lezyonlar ve dar ya da geniş koagülasyon nekrozu içeren alanların izlendiği tümörler grade III (Şekil 5); büyük, hiperkromatik, pleomorfik ve düzensiz şekilli, fazla miktarda atipik mitotik figürler içeren nükleuslara sahip değişici epitel hücrelerinin oluşturduğu kordonlar, solid tümöral adacıklar ve geniş koagülasyon nekrozu alanlarının izlendiği tümörler grade IV (Şekil 9) olarak değerlendirildi (2,3,5,8).

Mitotik indeks 10 farklı alanda sayılan mitotik şekillerin toplamının tüm sahadaki tahmini hücre sayısına oranıdır. Bulunan oran payda 1000 olacak şekilde hesaplanarak  $MI = \text{mitoz}/1000$  hücre cinsinden ifade edilir. Bu işlem yapılırken:

Küçük büyütme ile bütün tümör dokusu taranarak hücreden ve mitozdan en zengin, nekroz, fibrozis ve iltihabın olmadığı ya da minimal olduğu alan seçildi. Mikroskop sahası lineer mikrometre ile (eyepiece micrometer) ikiye bölünerek çap çizgisi şeklinde izlenen bu çizginin kestiği hücreler, x40 objektifle mitoz içeren hücreler belirlenerek n sayısı tespit edildi. Dairenin alan formülünden yola çıkılarak mikroskop sahasındaki sayılan hücrelerden tahmini hücre sayısı  $A = n:(n/2)^2$  formülü ile hesaplandı. Aynı işlemler her bir olgu için 10 farklı sahada tekrarlandı. Taranan tüm sahalardaki tahmini hücre sayısını bulmak için 1., 5. ve 10. sahalarda hesaplanan tahmini hücre sayıları toplanıp üçe bölünerek ortalamaları alındı ve olguya ait tahmini hücre sayısını hesaplamak için 10 ile çarpıldı. Son olarak toplam mitoz sayısının toplam tahmini hücre sayısına oranı bulunarak ve 1000 ile genişletilerek her olgu için MI hesaplandı. Bulunan oran payda 1000 olacak şekilde hesaplanarak  $MI = \text{mitoz}/1000$  hücre cinsinden ifade edildi (9,10-12). Mitotik indeksin hesaplanması Şekil 1'de örneklenmiştir.

Elde edilen AgNOR ve MI değerleri ile tümörün grade'i varyans analizleri testi ile araştırılarak aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunup bulunmadığı incelendi. Aralarında anlamlı fark olan gruplarda farka neden olan grubu bulmak amacıyla "Tukey testi" ile grup orta-

lamaları karşılaştırıldı. Değişkenler arasında ilişki olup olmadığını, 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. Çoklu değişkenler (MI ile AgNOR I ve AgNOR II ya da grade ile AgNOR I ve AgNOR II) arasındaki ilişkiyi incelemek için de çoklu korelasyon regresyon analizlerinden olan "Stepwise regresyon analizi" uygulandı. Kontrol grubu ile çalışma grubunun AgNOR I, AgNOR II ve MI değerleri karşılaştırılırken de "iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi (student'in t testi)" uygulandı.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan 102 olgunun en genci 30 yaşında (1 olgu), en yaşlısı 93 yaşında (1 olgu) olup ortalaması  $62.3 \pm 11.8$  idi. Yaş ile AgNOR I ve AgNOR II değerleri arasında doğrusal bir bağlantı bulunamadı ( $p > 0.05$ ). Yaş ile AgNOR I ve AgNOR II arasındaki ilişki regresyon analizi ile araştırıldı ve buna göre yaş ile AgNOR I ( $r = 0.070$ ) ve yaş ile AgNOR II ( $r = 0.075$ ) arasında pozitif yönlü bir korelasyon olduğu görüldü. Fakat her iki korelasyon da istatistiksel olarak önemsiz bulundu ( $p > 0.05$ ). Olguların cinslere göre dağılımı incelendiğinde ise 90'ı (%88.2) erkek, 12'si (%11.7) kadın olup, erkek/kadın oranı 7.5/1 idi.

Ash'a göre yeniden grade'lemesi sonucunda olguların 9'u (%8.82) grade I, 64'ü (%62.7) grade II, 24'ü (%23.5) grade III, 5'i (%4.90) grade IV DEHK olarak değerlendirildi. Grade I tanısı alan 9 olgunun (Şekil 1) AgNOR I, AgNOR II (Şekil 2) ve MI ortalama değerleri sırasıyla  $6.95 \pm 1.74$ ,  $8.38 \pm 1.750$ ,  $0.17 \pm 0.08$  idi. Grade II tanısı alan 64 olgunun (Şekil 3) AgNOR I, AgNOR II (Şekil 4) ve MI ortalama değerleri sırasıyla  $9.22 \pm 2.78$ ,  $10.32 \pm 2.75$ ,  $0.24 \pm 0.20$  idi. Grade III olarak değerlendirilen 24 olgunun (Şekil 5) AgNOR I, AgNOR II (Şekil 6) ve MI ortalama değerleri (Şekil 7) sırasıyla  $10.35 \pm 3.06$ ,  $11.96 \pm 2.28$ ,  $0.30 \pm 0.23$  idi. Grade III DEHK olgusunda kalın düz kas lifleri arasında tümör infiltrasyonu görülmektedir (Şekil 8). Grade IV olarak değerlendirilen 5 olgunun (Şekil 9) AgNOR I, AgNOR II (Şekil 10) ve MI ortalama değerleri sırasıyla  $9.64 \pm 1.10$ ,  $10.97 \pm 0.80$ ,  $0.34 \pm 0.45$  idi. Olguların grade'lere göre AgNOR I, AgNOR II ve MI değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Grade ile AgNOR değerleri arasında korelasyon ve

regresyon araştırıldığında grade ile AgNOR I değerleri arasında aynı yönlü bir regresyon bulunmuştur. Bu regresyon  $y = 0.813 + 0.096x$  şeklindedir. Buna göre grade'deki bir birimlik değişim AgNOR I değerinde 0.096 birimlik artışa neden olmuştur. Grade ile AgNOR I arasında aynı yönlü bir korelasyon vardır ve bu korelasyonun miktarı  $r = 0.336$  dir. Bu korelasyon istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0.001$ ). Buna göre grade arttıkça AgNOR I değeri de artar. Yapılan varyans analizinde (Şekil 14) grade ile AgNOR I değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ )

Grade ile AgNOR II değerleri arasındaki korelasyon ve regresyon araştırıldığında grade ile AgNOR II değerleri arasında aynı yönlü bir regresyon bulunmuştur ve bu regresyon  $y = 0.569 + 0.108x$  şeklindedir. Grade'deki bir birimlik değişim AgNOR II miktarında 0.108 birimlik bir artışa neden olmuştur. Bu iki değişken arasında aynı yönlü bir korelasyon vardır ve bu korelasyon değeri  $r = 0.387$  dir. Bu sonuç istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0.001$ ). Buna göre grade arttığında AgNOR II değeri de artar. Yapılan varyans analizinde grade ile AgNOR II değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 14) ( $p < 0.001$ ).

Grade ile MI arasındaki korelasyon ( $r = 0.167$ ) istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p = 0.095$ ). Aynı şekilde ANOVA ile gradeler arasında MI yönünden farklılık tespit edilmedi ( $p = 0.406$ ). Olguların grade'lere göre MI ortalama değerlerinin dağılımı Tablo 1' de gösterilmiştir.

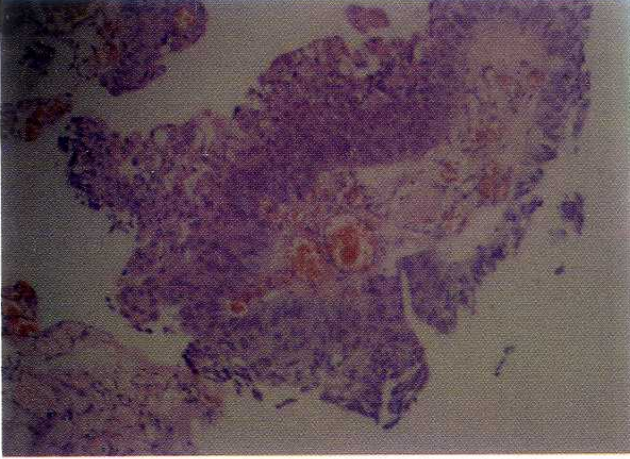
MI ile AgNOR I ve AgNOR II ortalama değerleri regresyon analizi ile karşılaştırıldığında anlamlı bir

**Tablo 1.** Olguların grade'lere göre AgNOR I, AgNOR II ve MI ort. değ. dağılımı.

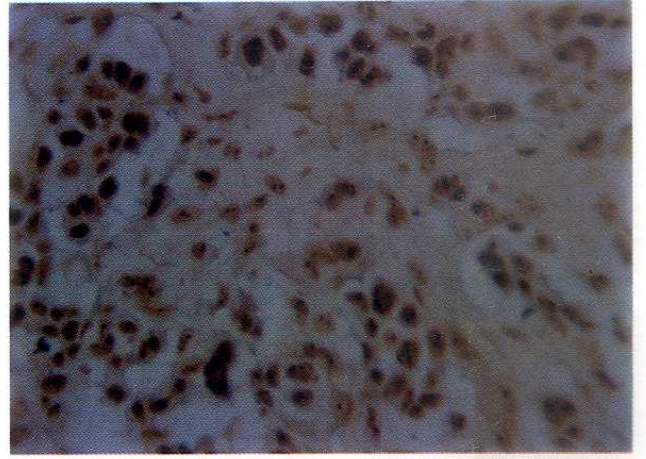
GRADE	Olgu	AgNOR I	AgNOR II	MI
I	9	$6.95 \pm 1.75$	$8.39 \pm 1.76$	$0.17 \pm 0.08$
II	64	$9.22 \pm 2.78$	$10.32 \pm 2.75$	$0.24 \pm 0.30$
III	24	$10.35 \pm 3.06$	$11.97 \pm 2.28$	$0.30 \pm 0.23$
IV	5	$9.65 \pm 1.10$	$10.97 \pm 0.80$	$0.34 \pm 0.48$
		$r = 0.336$	$r = 0.387$	$r = 0.167$
		$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p > 0.05$

**Tablo 2.** Çalışma ve kontrol gruplarının AgNOR I, AgNOR II ve MI ortalama değerlerinin karşılaştırılması.

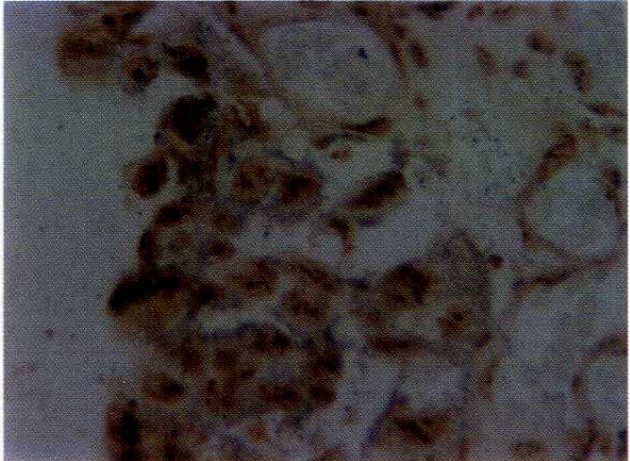
	Olgu Sayısı	AgNOR I		AgNOR II		MI	
		Ort.Deg.	Std.Hata	Ort.Deg.	Std.Hata	Ort.Deg.	Std.Hata
Kontrol	30	$5.568 \pm 0.49$		$6.785 \pm 0.46$		$0.019 \pm 0.010$	
Çalışması	102	$9.310 \pm 2.83$		$10.570 \pm 2.66$		$0.250 \pm 0.20$	
P değerleri		$p < 0.05$		$p < 0.05$		$p < 0.05$	



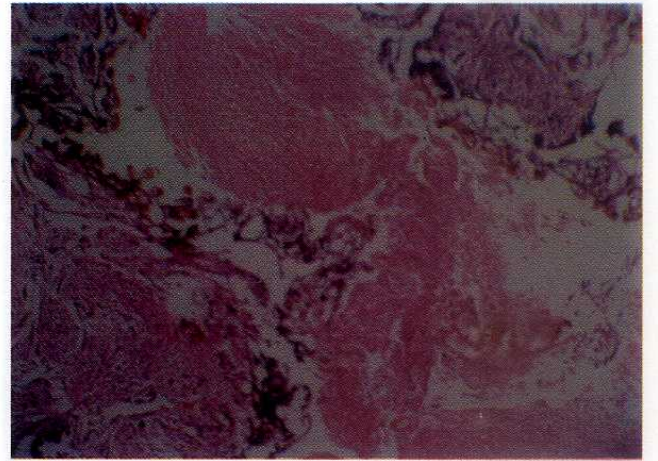
şekil 1. Grade I DEHK (HEx10)



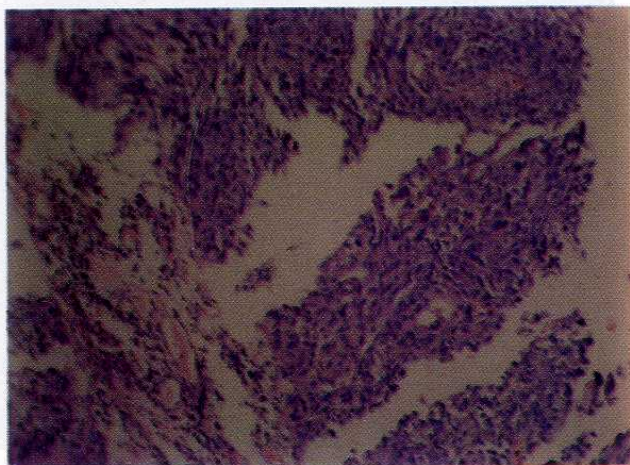
şekil 4. Çoğu intranükleoler görünümde orta çaplı 5-6 adet AgNOR beneği içeren (→) Grade II DEHK hücreleri



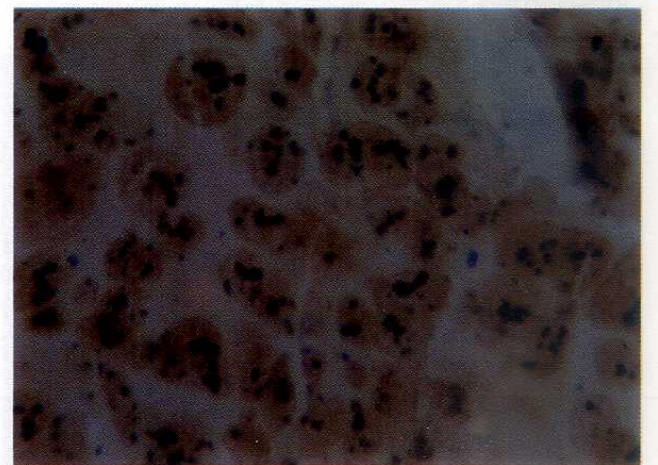
şekil 2. Bir kısmı prenükleoler cisimcik halini almış (→), diğerleri ise nükleus içinde dağılmış 4-5 adet AgNOR beneğinin izlendiği (→) Grade I DEHK hücreleri (AgNOR, x40).



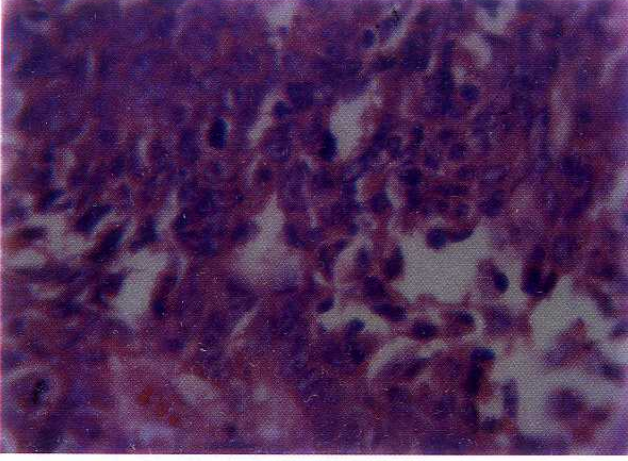
şekil 5. Grade III DEHK (HE, x20)



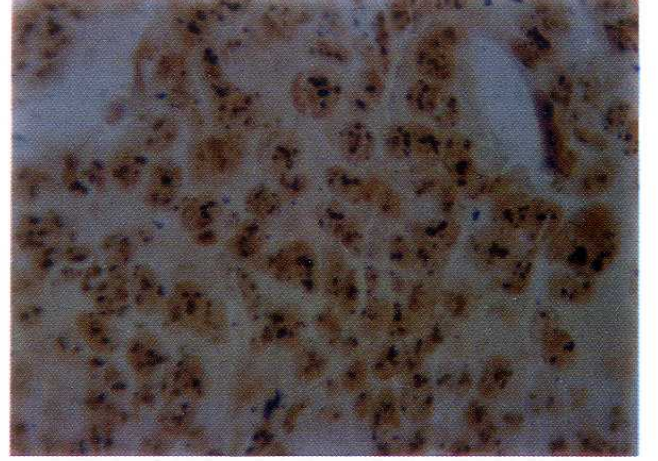
şekil 3. Grade II DEHK (HE, x10)



şekil 6. Grade III DEHK hücrelerinde oğu intranükleoler görünümde ok sayıda AgNOR beneği (AgNOR, x40)



Şekil 7. Grade III DEHK olgusunda iri pleomorfik nükleuslardan bazılarında izlenen mitotik figürler (HE, x40)



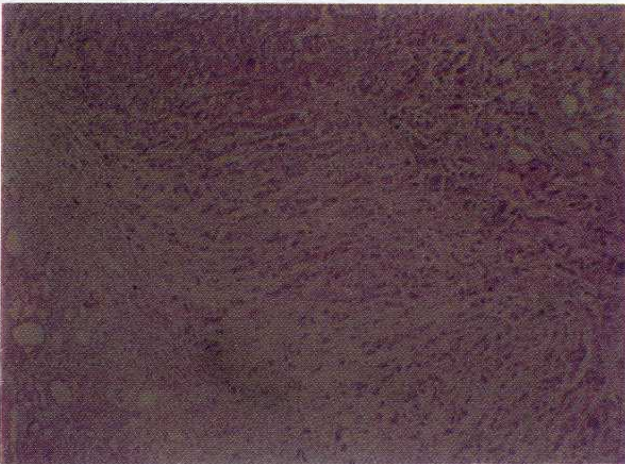
Şekil 10. Grade IV DEHK olgusunda iki ya da üç adet iri nükleolusun ve bunların içerisinde çok sayıda küçük çaplı AgNOR beneklerinin (→) izlendiği hücreler (AgNOR, x40).



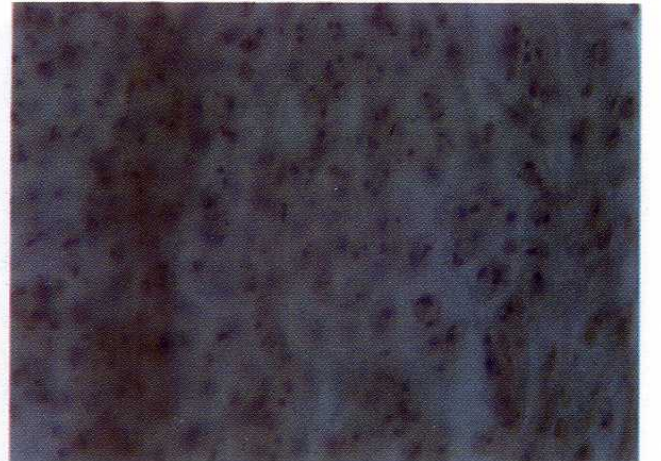
Şekil 8. Grade II DEHK olgusunda kalın düz kas lifleri arasında tümör infiltrasyonu (HE, x10)



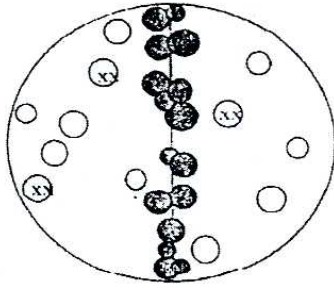
Şekil 11. Kronik sistit olgusu (HE, x10)



Şekil 9. Grade IV DEHK (HE, x10)



Şekil 12. Kronik sistit olgusunda gevşek stromada 1-2 adet AgNOR beneksi içeren stromal hücreler (AgNOR, x40).



n=16 A=3.14x64=200.96 MI=3/200.96

Şekil 13. Mitotik indeksin hesaplanması sırasında mikroskop sahasının şematik görünümü (x40'lık büyüme).

korelasyon saptanmamıştır. Sırasıyla AgNOR I için ( $r=0.063$   $p=0.535$ ), AgNOR II için ( $r=0.102$   $p=0.310$ ) bulunmuştur.

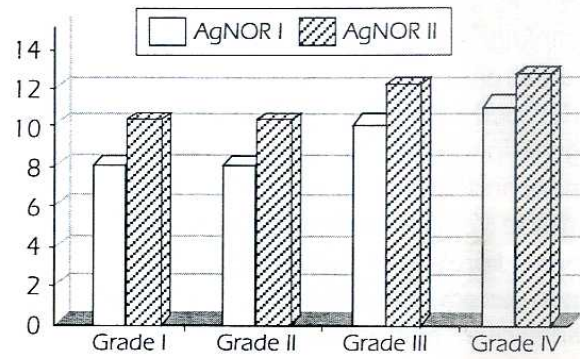
Çalışma grubumuzda ortalama AgNOR I değeri  $9.310 \pm 2.83$  ortalama AgNOR II değeri  $10.570 \pm 2.66$  ortalama MI değeri  $0.250 \pm 0.20$  idi. Kontrol grubunun (Şekil 11) ortalama AgNOR I değeri  $5.568 \pm 0.49$ , AgNOR II (Şekil 12) değeri  $6.785 \pm 0.46$ , MI değeri  $0.019 \pm 0.01$  olarak bulunmuştur. Her iki grubun Student'in t testi ile kıyaslaması tablo 2'de sunulmuş ve buna göre  $p<0.001$  olduğu için istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

## TARTIŞMA

Yakın zamana kadar, mesane tümörlerinin proliferasyon potansiyeli histolojik bulgulara uygun olarak değerlendirilmiş ve bunu yaparken de en sık olarak epitelin tipi, gelişim paterni, tümörün grade'i, stage'i ve komşu mukozadaki değişiklikler esas alınmıştır (2,4,6,13,14).

Histopatolojide hücre proliferasyon potansiyelini belirlemek amacıyla kullanılmakta olan teknikleri değerlendiren bazı çalışmalarda PCNA, Ki-67, P53, Cathepsin-B, Brd-Urd, E-cadherin gibi immünohistokimyasal metodlar ve mitoz sayısı gibi yöntemlerin yanı sıra AgNOR yöntemine de yer verilmektedir (15-23).

Çalışmada boya süresini tesbit etmek amacıyla kriter olarak intranükleoler AgNOR benekçiklerinin tek tek sayılabildiği süre hedef alındı. Fakat AgNOR benekçiklerinin büyüklükleri ve dağılım özellikleri boyama süresi kadar fiksasyonun süresinden de etkilendiğinden ve retrospektif bir çalışma olması nedeniyle materyallerin fiksasyon sürelerini tesbit etmemiz mümkün olmadığı için çalışmalarda benekçiklerin dağılım özellikleri ve büyüklükleri hakkında yorum yapılmadı, sadece nükleolus içi



Şekil 14. Olguların grade'lere göre AgNOR I ve AgNOR II ortalama değer dağılımı

(AgNOR I) ve nükleolus + nükleus içi (AgNOR II) toplam AgNOR sayıları tesbit edildi. Crocker'ın önerdiği sayım sistemi (24) gerçek AgNOR sayısını belirlemek amacıyla nükleusun içindeki tüm beneklerin sayılmasının gerekliliğini vurgularken diğer araştırmacıların önerdiği sistem nükleoler ve prenükleoler yapıların sayımına yöneliktir (24-26.)

Griffiths ve arkadaşlarının 100 rektal adenokanserli olguda yaptıkları çalışmada Howat ve Crocker'ın önerdiği sayım sistemleri uygulanmıştır. 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 (26). Ruschoff ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada AgNOR beneklerinin çapları morfometrik olarak ölçülmüş, displazinin derecesi ve malignitenin grade'i ile AgNOR değerleri arasında kuvvetli korelasyon bulunmuş ve malignitelerde küçük, çok sayıda benekler olduğu halde kanser olmayan olgularda büyük ve bir iki tane AgNOR beneki gördüklerini bildirmişlerdir (27). Korneyev ve arkadaşlarının 2000 yılında 62 vakada yaptıkları çalışmada süperfisyal ve invaziv tümörleri ayırtetmede AgNOR yönteminin sınırlı olduğunu belirtmişlerdir (28).

Çalışmada da özellikle tümör hücrelerinde küçük ve çok sayıda AgNOR benekleri görüldüğü halde kontrol grubu amacı ile alınan sistit olgularında ise büyük ve bir iki tane benek görülmüştür (Şekil 12).

Bozlu ve arkadaşlarının 2002 yılında 77 mesane DEHK olgusunda yaptıkları bir çalışmada PCNA, Ki-67 ve AgNOR sayımı çalışılmış. Bu üç belirleyicinin tümör grade ve stage'i ile ve her birinin diğeri ile de korele olduğunu belirtmişlerdir (16).

Grade ile AgNOR ve PCNA arasındaki ilişkinin araştırıldığı 50 DEHK olgulu bir çalışmada her iki parametrenin grade II ve III tümörleri çok iyi ayırttıkları halde, grade I ve II yi ayırtetmekte değerlerinin sınırlı olduğu görülmüştür. Mesane tümörlerinde PCNA ve AgNOR yönteminin patolojik grade ve indirekt olarak da patolojik stage ile kuvvetli korelasyon gösterdiği tespit edilmiş ve üriner sistem tümörlerinde önemli prognostik belirleyiciler olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır (29).

Grade ile AgNOR II değerleri arasındaki korelasyonun daha kuvvetli olduğu dikkatimizi çekmiş olup Crocker'in önerdiği şekilde nükleus içindeki toplam AgNOR beneklerinin sayılmasının daha iyi yaklaşımlar sağlayacağı sonucuna varılmıştır.

Martin ve arkadaşları, hatayı minimuma indirmek amacıyla, mikroskopik image analiz sistemi ile 52 vakada yapılan AgNOR sayımının gradelemede efektif olarak prognostik bilgi sağladığını göstermişlerdir (30).

Birçok malign tümörün grade'ini tesbit etmede ve iyi diferansiye tümörlerin malign mi, benign mi olduğunu ayırtetmede önemli bir parametre olan mitoz sayısı, tümörün proliferasyon hızının bir göstergesidir ve pek çok tümörde prognozla ilişkilidir (31-33). Mitoz sayısı ancak dokunun fiksasyonundan takibine kadar olan kademelerde şartlar standardize edildiğinde bazı tümörlerin tanısında (malign lenfoma, melanom, düz kas tümörleri v.b) ve bazı tümörlerin grade'lemesinde (meme tümörleri gibi) önemli bir kriter olabilir (34-36).

Çalışmada farklı histolojik grade'lerde elde edilen ortalama MI değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Aynı histolojik grade'deki tümörlerde saptanan MI değerlerinin geniş bir aralığa yayıldığı dikkati çekmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Johnson DE, Swanson DA, Von Eschenbach AC. Tumors of genitourinary tract. In: Tanagho EA, Mc Aninch JW, ed. Smith's general urology. 12th ed. Appleton 8: Lange, Lebanon, 1988; 33.
2. Catron RS, Kumar V, Robbins SL. Pathologic basis of disease The lower urinary tract. 5 th ed. Philadelphia: W.B Saunders Company. 1994; 991-1005.
3. Nochomovitz LE. Bladder biopsy interpretation. First Edition. New York: Raven Proj 1992; 73 -126.
4. Witjes JA, Kiemeny LA, Ooester GO, Debruyne FM. Prognostic factors in superficial Bladder cancer. Eur Urol 1992; 21:89-97.
5. Victor ER, Mayron RM. The lower urinary tract. In: Stephan S. Sternberg ed. Diagnostic surgical pathology. New York: Raven Proj, 1994; 1778-85.
6. Rosai J. Ackerman's surgical pathology: Urinary tract. 7th ed. St. Louis: The C.V. Mosby Company, 1989; 898-917.
7. Crocker J, Boldy DAR, Egan MJ. How should we count AgNORs: Proposals for astandardized approach. J Pathol 1989;158:185-8.
8. Peterson RO. Urologic pathology. Urinary bladder. 2th ed. Philadelphia: JB. Lippincott Company, 1992; 260-395.
9. Simpson JF, Dutt PL, Page DL. Expression of mitosis per thousand celi and celi density in breast carcinomas. Hum Pathol 1992, 23 608-11.

Lipponen ve arkadaşları 222 mesane DEHK olgusunda nükleer alan ortalaması, nükleer alanın standart sapması, en büyük 10 nükleusun nükleer alanlarının ortalamaları, M/V indexi, DNA indeksi ve S-faz fraksiyonu'nu karşılaştırmışlardır. Bunlardan S faz fraksiyonu ve M/V indeksinin anlamlı korelasyon gösterdiği ve malignitenin ve mesane tümörlerinin proliferatif aktivitesiyle sıkı ilişkili parametreler olduğu sonucuna varmışlardır (37).

Lipponen ve arkadaşları, 1990 yılında, 136 yüzeysel mesane kanserli olguda yaptıkları bir çalışmada interaktif morfometre, nükleer alan ortalaması, nükleer alanın standart deviasyonu, en büyük 10 nükleusun nükleer alanlarının ortalamaları ve M/V'i karşılaştırmış ve bunlardan M/V'nin tümör progresyonu hakkında önceden haber verebilen en güvenilir yöntem olduğu sonucuna varmışlardır (38).

## SONUÇ

Mesane DEHK olgularında her iki yöntemi karşılaştırmak, grade ile korelasyonunu ve regresyonunu incelemek amacıyla yapılan çalışmada her iki yöntemin de gerek teknik, gerek değerlendirme açısından bir çok faktörlerden etkilenmesi nedeniyle prognoz hakkında kesin yorumda bulunmayı mümkün kılacak bir eşik değeri saptanamamakla birlikte, AgNOR ve MI ortalama değerleri göz önüne alındığında anlamlı bir parametre oldukları, ancak yine de yöntemlerin daha iyi standardize edilmesi ve daha geniş serilerde klinikopatolojik parametrelerle birlikte çalışılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

10. Lipponen PK, Eskelinen MJ, Jauhiamen K. Grading of superficial bladder cancer by quantitative mitotic frequency analysis. *J Urol* 1993; 149: 36-41.
11. Hilsenbeck SG, Allred DC. University of Texas Health Science Center at San Antonia. Improved methods of estimating mitotic activity in solid tumors. Editorial. *Hum Pathol*. 38. Van Diest PJ, Baak JAP, Matzecok P, Wisse-Brekelmans BSC. Reproducibility of mitosis counting in 2469 breast cancer specimens: Results from the multicenter Morphometric mammary carcinoma project. *Hum Pathol* 1992; (23): 601-2.
12. Van Diest PJ, Baak JAP, Matzecok P, Wisse-Brekelmans BSC. Reproducibility of mitosis counting in 2469 breast cancer specimens: Results from the multicenter Morphometric mammary carcinoma project. *HumPathol* 1992; 23: 603-7.
13. Catalona WJ. Bladder cancer. In: Gillenwater JY, Grayhack JT, Howards SS, Duckets JYV (Editors). *Adult and pediatric urology*. 2th ed. Mosby- Year book, Inc; 1994;1135-83.
14. Lucien EN, Nabila EM. The renal pelvis, ureter, urinary Bladder and urethra. In: Silverberg SG, ed. *Principles and practica of surgical pathology*. New York: Churchill Livingstone, 1990; 1485-1512.
15. Cohen MB, Waldman FM, Carrol PR, Kerschmann R. Comparison of five histopathologic methods to assess cellular proliferation in transitional celi carcinoma of the urinary bladder. *Hum Pathol* 1993;24:772-8.
16. Bozlu M, Orhan D, Baltacı S, Yaman O, Elhan AH, Tulunay O, Müftüoğlu YZ. The prognostic value of proliferating celi antigen, Ki-67 and nucleolar organizer region in transitional celi carcinoma of the bladder. *Int Urol Nephrol* 2002;33(1);59-66.
17. Johnson GC, Miller MA, Ramos-Vara JA. Comparison of argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs) and mitotic index in distinguishing benign from malignant canine smooth muscle tümör and in separating inflammatory hyperplasia from neoplastic lesions of the urinary bladder mucosa. *J Vet Diagn Invest* 1995;7(1);127-36.
18. Tomobe M, Shimazui T, Uchida K, Akaza H. AgNOR count in resting cells (resting NOR) is a new prognostic marker in invasive bladder tumor. *Anal Cell Pathol* 2001;22(4);193-9.
19. Menon MM, Simha M. Celi adhesion molecule E-cadherin and cellular proliferation marker AgNOR in bladder lesions-usefulness and limitations. *Indian J Cancer*. 1998;35(4);142-6.
20. Akpolat I, Barış YS, Yılmaz AF, Bakırtaş M, Saylık A, Karagöz F, Kandemir B. Cathepsin B, p53 expression and AgNORs in transitional celi carcinoma. *Neoplasma* 1998;45(6)365-8.
21. Skopelidou A, Korkolopoulou P, Papanicolaou A, Christodoulou P, Thomas-Tsagli E, Pavlakis K. Comparative assessment of proliferating celi nuclear antigen immunostaining and of nucleolar organizer region staining in transitional celi carcinomas of the urinary bladder. Correlation with other conventional prognostic pathologic parameters. *Eur Urol* 1992;22(3);235-40.
22. Zambelli S, Zanin A, Gaglio A, Zai G, Bosco E, Andron A, Magnani C. Ki-67 scores and AgNOR counts in transitional celi carcinoma of the bladder: apparent lack of prognostic value. *Arch Ital Urol Androl* 1993;65(6);665-70.
23. Koyuncuoğlu M, Kargı A, Cingöz S, Kirkalı Z. Investigation of p53, c-erbB-2, PCNA immunoreactivity, DNA content, AgNOR and apoptosis in bladder carcinoma as prognostic parameters. *Cancer Lett*. 1998;24;126(2);143-8
24. Crocker J, Boldy DAR, Egan MJ. How should we count AgNORs Proposals for astandardized approach. *J Pathol* 1989;158:185-8.
25. Heney NM, Ahmed S, F MJ, Frable W, Corder MP, Haferman MD. Superficial bladder cancer: Progression and recurrences. *J Urol* 1983; 130: 1083-6.
26. Griffiths AP, Butler CW, Roberts P. Silver stained structures (AgNORs). Their dependence on tissue fixation and abs of prognostic relevanc in rectal adenocarcinoma. *J. Pathol* 1989;159:121-7.
27. Ruschoff J, Zimmermann R, Ulshofer B, Thomas C. Silver-stained nucleolar organizer proteins in urethelial bladder lesions. *Path Res Pract* 1992;(188):593-8.
28. Korneyev IA, Mamaev NN, Kozlov W, Rybakova, MG, al-Shukri SH. Interphase argyrophilic nucleolar organiser regions and nucleolar counts in transitional celi bladder tumours. *Mol Pathol* 2000; 54(3):200.
29. Skopelidou A, Korkolopoulou P, Papanicolaou A. Comparative assessment of proliferating celi nuclear antigen immunostaining and of nucleolar organizer region staining in transitional celi carcinomas of the urinary bladder. *Eur Urol* 1992; 22: 235-40.
30. Martin H, Hufnagl P, Wenzelides K, Beil M. AgNORs in cell of urothelial carcinoma of the bladder. A quantitative study using automatic microscopic image analysis. *Zentralbl Pathol*. 1991;137(6);505-9.
31. Simpson JF, Dutt PL and Page DL. Expression of mitosis per thousand celi and celi density inbreast carcinomas. *Hum Pathol* 1992, 23 608-11.
32. Lipponen PK, Eskelinen MJ, Jauhiamen K. Grading of superficial bladder cancer by quantitative mitotic frequency analysis. *J Urol* 1993; 149: 36-41.
33. Donhuijsen K, Schimidt U, Hirehe H. Changes in mitotic rate and celi cycle fractions caused by delayed fixation. *Hum Pathol* 1990;21:709-14.
34. Hail PA, Levison DA. Review: Assessment of celi proliferation in histological material. *J. Clin Pathol* 1990;43:184-92.
35. Qinn CM, Wrihy NA. Review article. The clinical assessment of proliferation and growth in human tumours: Evaluation of methods and applications as prognostic variables. *J Pathol* 1990;160:93-102.
36. Avunduk MC, Tekin Ş, Tavlı Ş. Memenin infiltratif duktal karsinomlarında P53, östrojen reseptör proteini, PCNA ve Ki-67 ekspresyonu ile AgNOR indeksi özelliklerinin araştırılması. *S. Ü. Tıp Fak Derg* 1999;15:53-7.
37. Lipponen PK, Eskelinen MJ, Nordling S. Relationship between DNA flow cytometric data, nuclear morfometric variables and volume-corrected mitotic index in transitional celi bladder tumors. *Eur Urol* 1991;19:327-31.
38. Lipponen PK., Eskelinen MJ. and Sotarauta M. Prediction of superficial bladder cancer by histoquantitative methods. *Eur J Cancer* 1990;26:1060-3.