

# Ürotelyal Karsinogenezin Anlaşılmasında p53 Anahtarı

## P53 AS A KEY IN THE UNDERSTANDING OF UROTHELIAL CARCINOGENESIS

Enver ÖZDEMİR\*

\* Yrd.Doç.Dr.,Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji AD, DİYARBAKIR

### Özet

Kanser araştırma sonuçları hastalığın erken teşhisi, tedavisi ve prognoz tayininde yeni ufuklar açmıştır. Onkogen aktivasyonu ve fonksiyonel tümör supresör gen kaybı, malign transformasyonun önemli basamaklarıdır. İnsan kanserlerinin %50 sinden fazlasından sorumlu tutulan p53 tümör supresör geni, diğer genlerin promotor bölgelerine bağlanarak onların transaktivasyonu fonksiyonunu gören nükleer bir fosfoproteini kodlar. DNA hasarı durumunda p53 proteini aşırı ekspresyon olarak, hücre siklusunu G1-S kontrol noktasında durdurarak, hücrenin DNA tamiri veya apoptozis yönünde bir tercih yapmasına imkan sağlar. Fonksiyonel p53 kaybında ise, genomik instabilite sonucu malign transformasyon veya hücre ölümü gerçekleşir.

Bu makalede konu üzerine yaptığımız moleküler genetik, immunohistokimyasal ve immunositikimyasal araştırmaları literatür bilgileri ışığında değerlendirdik. p53 inaktivasyonu ve onunla birlikte aşırı ekspresyonuyla normal p53 proteinine bağlanarak onun inaktivasyonuna neden olan mdm2 ürotelyal kanserlerin %65'e yakınından sorumlu tutulmaktadır. Bizim çalışmalarımız, fonksiyonel p53 kaybı sonucu genomik instabilite geliştiğini ve büyük bölümünü metalloproteinazların oluşturduğu doku yıkım enzimleri üretiminde artışa bağlı olarak, ürotelyal tümör yayılımında ilk strüktürel bariyeri oluşturan bazal membran yıkımına neden olarak invazyonla anlamlı ilişkili olduğunu gösterdi. İlave olarak, ürotelyal kanserli hastalarda idrara dökülen hücre primer kültürlerinde p53 ve mdm2 immunositikimyasal boyamanın hastaların yoğun takibi ve efektif tedavisinde kullanılabileceğini önerdik.

**Anahtar Kelimeler:** P53, MDM2, Tip IV kollajen, Metalloproteinazlar, Ürotelyal kanserler

T Klin Tıp Bilimleri 1998, 18:277-284

### Summary

The cumulated results of researches on cancer have led to new dimensions in the early diagnosis, effective treatment and determination of prognosis of the disease. Oncogene activation and functional tumor suppressor gene loss are important steps in malignant transformation. Inactivation of p53 tumor suppressor gene is responsible from more than 50% of human neoplasms. P53 gene encodes a nuclear phosphoprotein which binds to the promotor regions of the other genes and transactivates them. DNA damage leads to the overexpression of p53 which arrests cell cycle at G1-S check point, and gives a chance to them for a selection between DNA repairment and apoptosis. Genomic instability caused by functional p53 loss results in neoplastic transformation or cell death.

In this article, we have summarized our studies on p53 in urothelial carcinomas in the light of the literature. Inactivation of P53 and continuous overexpression of MDM2 which also seemingly results in the inactivation of p53 without gene alteration were responsible from 65% of the urothelial carcinomas. Our results suggested that the genomic instability produced by functional p53 loss up-regulated metalloproteinases and resulted in degradation of basement membranes underlying urothelial carcinomas, which forms first structural barrier to tumor invasion and metastasis. Moreover, we suggested that immunocytochemical analyses of p53 and mdm2 of primary cultures of exfoliated cells in the urine from patients with urothelial carcinomas is useful for intensive follow-up and effective treatment of the disease.

**Key Words:** P53, MDM2, Type IV collagen, Metalloproteinases, Urothelial Carcinomas

T Klin J Med Sci 1998, 18:277-284

**Geliş Tarihi:** 02.03.1998

**Yazışma Adresi:** Dr.Enver ÖZDEMİR  
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Üroloji Kliniği,  
DİYARBAKIR

T Klin J Med Sci 1998, 18

Kanser genetik değişikliklerin aşamalı olarak geliştiği, kontrolsüz hücre proliferasyonu ve klonal ekspansiyonu, hücre mobilitesi ve epitelyal yapışma kapasitesinde artma, yeni anjiogenetik aktivite, hastanın immun sisteminin aktivitesi, bazal mem-

277

bran ve ekstraselluler matris yıkımı gibi olayları kapsayan çok basamaklı bir hadisedir. Brenbulum ve Subik 1947 yılında kanser gelişiminde inisiasyon ve promosyon basamakları görüşünü geliştirdiler (1). İnisiyasyon, hücre DNA sında kalıcı ve geriye dönüşsüz değişiklikleri ifade ederken; promosyon, maligniteyi destekleyen geri dönüşümlü değişiklikleri tanımlar (2).

Kanser insidansının ileri yaşlarda yoğunlaşması, kanser inisiyasyonu ve progresyonu için çok sayıda genetik aberrasyonların kümelenmesinin gerekliliğini göstermektedir. Kanserojen ajanların ve kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötikler veya x-ışınının genomik hasarlanma yaptığı bilinmektedir. Bunun yanı sıra mutasyon tiplerinin kanser malignite potansiyeli veya klinik seyir ve prognozu ile ilişkili olduğu çok sayıda çalışmada bildirilmiştir (3).

Onkogenlerin aktive olması veya tümör baskılayıcı genlerin fonksiyonlarını yitirmeleri gibi genetik hadiselerin yanı sıra, genlerin ekspresyonlarını kontrol eden metilasyon gibi epigenetik değişiklikler, posttranslasyonel olaylar, uyarı iletim ağındaki düzensizlikler malign transformasyona yol açarlar.

Günümüze kadar 80'e yakın onkogen ve 8 adet tümör baskılayıcı gen (RB1, WT1, VHL, APC,

p16, TP53, NF1 ve NF2) tanımlanmıştır (Tablo 1). Öte yandan yedi tane daha tümör baskılayıcı aday gen üzerinde çalışmalar devam etmektedir (BR-CA1, RCC, MLM, MEN1, MCNS, DCC ve LC1). Kanserlerin çoğunda en sık mutasyona uğrayan genlerin tümör baskılayıcı genler olduğu bilinmektedir (2-4).

Kanserle ilgili günümüz kanısı, bütün kanserlerde mutasyona uğrayan tek bir gen olamayacağı yönündedir. Eğer böyle bir gen tahayyül edilecekse, bu insan kanserlerinin hemen hemen yarısında mutasyona uğrayan P53 geni olmalıdır. Kromozom 17p üzerinde lokalize olan P53 geni, çok değişik insan kanserleriyle ilişkilendirilmiş tümör baskılayıcı gendir (Tablo 2). Nadir bir otozomal dominant sendrom olan Li-Fraumeni sendromunda herediter olarak kodon 245 ile 258 arasında P53 gen mutasyonu olduğu ve bu kişilerin farklı vücut bölgelerinde değişik türde neoplazmalar geliştiği bildirilmektedir (2,5).

Bu gen, transkripsiyon faktör gibi görev yapan nükleer bir fosfoproteini kodlar (Şekil 1). Yani p53 proteini diğer genlerin promotor bölgelerine bağlanarak onların ekspresyonunu kontrol eder. Diğer bir ifade ile genomun gardiyanı görevini üstlenir (6). Yani herhangi bir hasarlanma algılandığı takdirde p53 proteininde artışa neden olur. Bu durumda hücre siklusu G1-S fazında durdurularak DNA

**Tablo 1.** İnsan kanserleriyle ilgili bazı tümör baskılayıcı genler

Tümör Baskılayıcı Gen	Kromozomal lokus	Lokalizasyon	Fonksiyonu	İlgili Kanserler	Sendrom
p53	17p13.1	Nükleus	Transkripsiyon faktör	Tablo 1'dekiler (insan kanserlerinin %50 si)	Li-Fraumeni
RB1	13q14	Nükleus	Transkripsiyon modifikasyonu	Retinoblastoma, meme osteosarkom, mesane, prostat, akciğer	Retinoblastoma
APC	5q21	Sitoplazma	Bilinmiyor	Kolon, mide ve pankreas kanserleri	Familiyal adenomatöz polipozis Wilms tümörü
WT1	11p13	Nükleus	Transkripsiyon faktör	Wilms tümörü	
NF1	17q11	Sitoplazma	GTPase aktive edici protein	Schwannomalar	Nörofibromatozis tip 1
NF2	22q	Sitoplazma	Bilinmiyor	Schwannoma ve meningiomalar	Nörofibromatozis tip 2
p16	9q21	Nükleus	Cyclin dependent Kinaz inhibitörü	mezotelyoma, melanoma, pankreas, mesane, glioblastoma	Familiyal melanoma
VHL	3p25	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Böbrek	von Hippel-Lindau

**Tablo 2.** Değişik tümörlerde bildirilen p53 pozitifliği

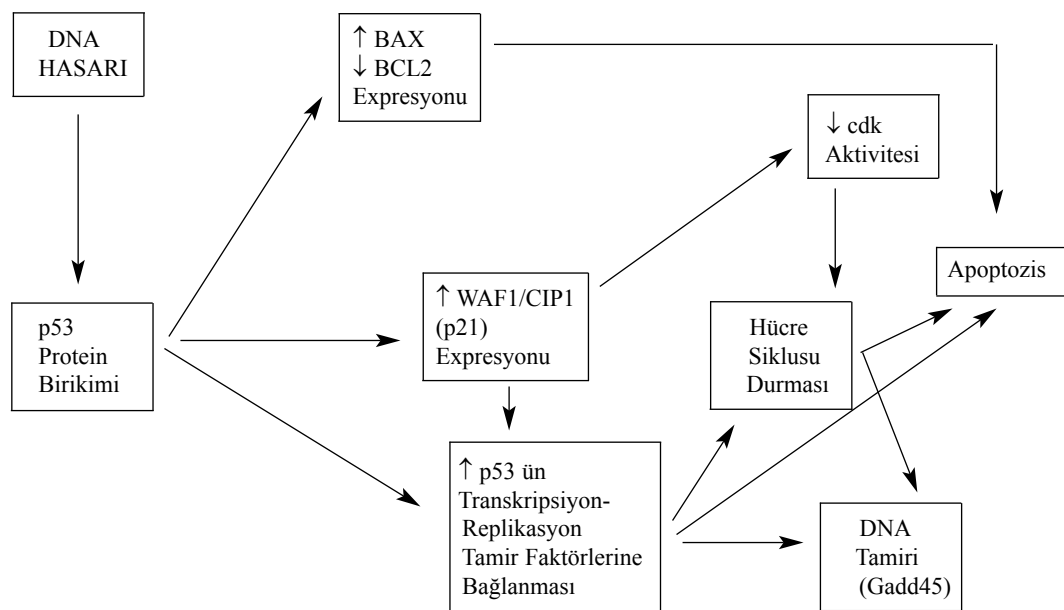
Tümör Tipi	p53 pozitifliği
Mesane	%50
Prostat	%30
Böbrek	%19
Testis	yok
Wilms'	yok
Akciğer	%56
Kolon	%50
Özofagus	%45
Over	%44
Pankreas	%44
Deri	%44
Mide	%41
Baş, Boyun	%37
Karaciğer	%29
Beyin	%25
Sürenal	%23
Meme	%22
Endometrium	%22
Tiroid	%13
Hematolojik	%12
Melanoma	%9
Paratiroid	%8
Cervix	%7

tamiri veya apoptozis (programlı hücre ölümü) yönünde bir seçim yapılır. Böyle bir seçim yapılamaması durumunda hasarlı hücre bölünmeye devam eder ve ilave mutasyonlar gelişerek kanser-

leşmeye yol açar. p53 proteini WAF1/CIP1 geninin promotor bölgesine bağlanarak p21 proteini olarak adlandırılan protein sentezini artırır. p21 proteini ise "cyclin dependent kinazlara" (cdk) bağlanarak onların aktivitesini durdurur (7). Bu olay hücre bölünmesini başından durdurarak hücrenin kendi DNA'sını tamir etmesine zaman ayırmasına fırsat verir ve hasarlı DNA'nın replikasyonu önlenir. DNA tamiri olayı ise yine p53 tarafından stimule edilen Gadd45 adı verilen bir diğer gen tarafından sağlanır. Gadd45 proteini "proliferating cell nuclear antijen" (PCNA) adı verilen proteinle kompleks oluşturarak DNA tamirini gerçekleştirir (2,8).

Normal p53 proteini yarılanma ömrü dakikalarla (6-20) ifade edilebilecek kadar kısadır. Bu nedenle bu protein, standart immunohistokimyasal yöntemlerle tesbit edilemez. Ancak mutant p53 proteini yıkımının zorlaşması nedeniyle uzun yarılanma ömrüne sahiptir. P53 mutasyonu tayininde immunohistokimyasal nükleer overekspresyon araştırmaları, mutant p53 artışının çok sayıda tümörlerle klinikopatolojik korelasyon gösterdiği bildirilmektedir (2).

P53 geninin bu kadar şöhret kazanmasının öteki nedenleri ise; p53 biyolojik mekanizma araştırmalarının, malign transformasyon, tümör baskılayıcı genler, viral onkogenler, apoptozis,



**Şekil 1.** DNA hasarı p53 birikimine neden olur, p53 birikimi diğer genlerin ekspresyonlarını etkileyerek protein-protein interaksyonları takip eder.

hücre siklusu regülasyonu, radyorezistans, moleküler epidemiyoloji ve hatta gen tedavisinde önemli buluşlara yol açmasıdır. Normal-p53 proteininin hangi biyolojik mekanizmalar ile tümör gelişimini engellediği daha henüz tam olarak aydınlatılamamakla birlikte; özet olarak bu proteinin, genomu DNA hasarına karşı koruduğu, genomik hasarlanma durumunda apoptozisi sağladığı, hücre siklusunu G1-S check-point noktasında kontrol ettiği kabul edilmektedir. Normal-p53 proteini fonksiyonu kaybı, genomik instabiliteye neden olarak tümör gelişimi için gerekli ilave mutasyonlara yatkınlığa yol açar. Nokta mutasyonlar, delesyon gibi genetik alterasyonlar, p53 proteininin beş bağlanma noktasından birine bağlanarak inaktivasyonuna yol açan mdm2 proteininin aşırı ekspresyonu veya Human Papilloma Virusun E6 proteinine bağlanması (penis, serviks ve prostat kanserleri gibi) p53 fonksiyon kaybına yol açar.

Ürotelyal kanser tedavisi planlamasında yüzeyel veya intraepitelyal tümörlerin kas invazyonuna progresyonu çok önemli bir açmazdır. Daha önceki çalışmalarda mutant p53 protein ekspresyonunun tümör grade ve hastalık evresi, lamina propria invazyonu ve sağ kalım azalması ile korelasyonu bulunduğu bildirilmektedir (2,9-10). Ancak p53 fonksiyon kaybının hangi mekanizma ile invazyona neden olduğu yeteri kadar çalışılmamıştır. Ürotelyal bazal membran lamina propria infiltrasyonuna önemli bir yapısal engel teşkil eder. Tip IV kollajen bazal membranın ana iskeletini oluşturur. Laminin epitelyal hücrelere yapışmayı, tip VII kollajen ise bağdokusuna yapışmayı sağlar. Bazal membran komponentleri komşu hücreler tarafından üretilir ve interstisyel enzimlerin çoğuna dirençlidir. Komşu hücreler tarafından tip IV kollagenazlar gibi bazı proteazların aşırı üretimi, bazal membran yıkımında önemli rol oynar (11-16).

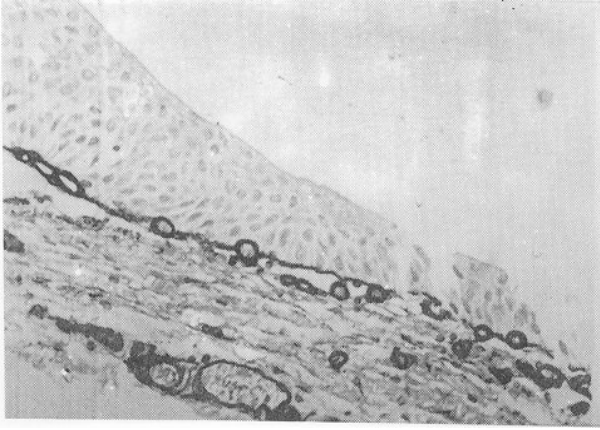
İntraepitelyal neoplazi olarak adlandırılan karsinoma in situ (CIS), yüzeyel papiller kanserlerden daha sıklıkla invaziv progresyon gösterir (17). Ürotelyal kanserlerin bu iki farklı tipindeki invazyon sıklığındaki farklılaşma genetik hadiselerin farklılığından kaynaklanabilir. En az iki adet tümör baskılayıcı gen ihtiva ettiği tahmin edilen dokuzuncu kromozomun uzun kolunda delesyonun, hem papiller hem de non-papiller ürotelyal kanserlerde erken ve sık gelişen bir olay olduğu bildirilmektedir (5). Halbuki p53 fonksiyon kaybı, özgün olarak

tümörlerin invazyon potansiyelleri ile ilişkilidir. CIS, genetik değişiklikler açısından p53 aberasyonunun erken ve sık geliştiği ve kromozom 9q delesyonunun nadir görüldüğü özgün bir tabludur (5,18). Ürotelyal kanser invazif potansiyelleri ile fonksiyonel p53 kaybının ilişkisi bilinmekle birlikte, p53 aberrasyonunun CIS' i de kapsayan yüzeyel mesane kanserlerinin altını döşeyen bazal membran degradasyonu ile ilişkisi çok az araştırmacının ilgisini çekmiştir.

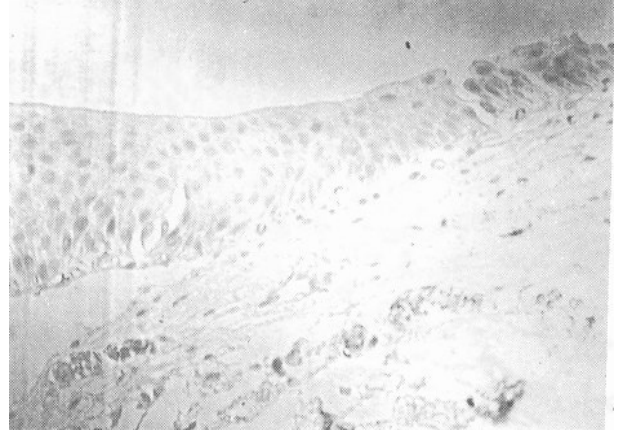
Fare embriyo hücrelerinde bir dakikada hücrenin ikiye bölünmesini sağlayan gene, Murine Double Minute-2 (MDM2) geni adı verilir. Bu genin insandaki karşılığının yumuşak doku sarkomlarında sıklıkla amplifiye olduğu ve malign davranışla ilişkili olduğu bildirilmiştir (19,20). MDM2 onkogen ekspresyonu p53 proteini tarafından indüklenir ve mdm2 proteini normal p53 proteininin negatif regülatörü olarak işlev görür. MDM2 geninin devamlı overekspresyonu, gen aberasyonu olmadan p53 inaktivasyonuna yol açar. Bizim gurubumuz daha önce 50 ürotelyal karsinomalı hastadan ikisinde p53 mutasyonu olmadan MDM2 gen aktivasyonu olduğunu bildirmişti (21). Bu bulgumuz, ürotelyal kanserlerde kötü prognozu tayinde mdm2 ekspresyonunun da p53 ile birlikte dikkate alınması gereğini öneriyordu. Bu veriler ışığında nükleer p53 ve mdm2 overekspresyonunun metalloproteinaz up regülasyonu ve bazal membran tip IV kollajeni yıkımı ile ilişkisini araştırdık.

Düşük gradeli non-invaziv papiller kanserlerde nükleer p53 ve mdm2 overekspresyonu hiç görülmezken bazal membran tip IV kollajeni intacttı (Resim 1A,1B). Aksine CIS vakalarında bazal membran tip IV kollajeni degradasyonu, hemen hemen kas invazyonu olanlara eşitti. Yine CIS vakalarında fonksiyonel p53 kaybı p53 ve/veya mdm2 overekspresyonu olarak ele alındığında bazal membran degradasyonu ile ilişkisi anlamlıydı (Resim 2A,2B,2C,3A,3B,3C). Bizim sonuçlarımız ürotelyal kanserlerde p53'ün invazyon kriteri olarak değerlendirildiğinde mdm2 nunda mutlaka hesaba katılması gerektiğini göstermektedir (22).

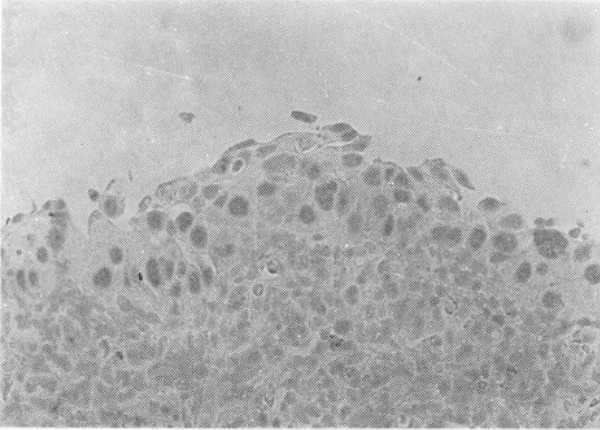
Bazal membran komşuluğundaki epitel hücrelerinde proteaz üretiminin artması, bazal membran yıkımında önemli rol oynar. Wirl ve Frick mesane tümörü ekstraktlarında kollajenaz aktivitesinin tümörün penetrasyon derinliğinin artmasıyla paralel olarak arttığını göstermektedir (23).



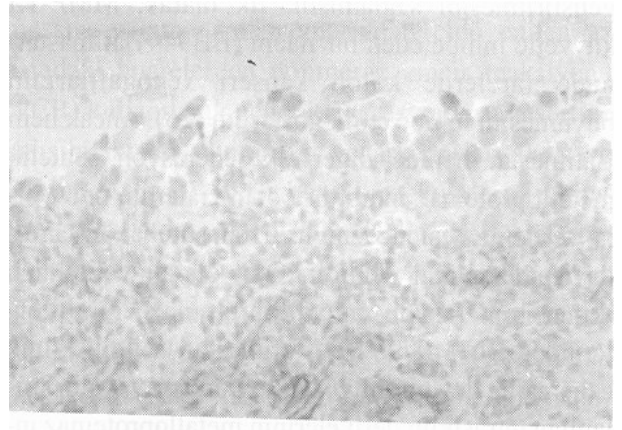
**Resim 1A.** düşük gradeli bir ürotelyal tümörde tip IV kollajen ekspresyonu. Subepitelyal ve damar duvarı bazal membranı eşit oranda tip IV kollajen eksprese etti.



**Resim 1B.** Bu tümörde p53 boyaması negatif. Ayrıca mdm2 boyaması da negatif. Hematoksilenle hafifçe boyandı. (X100).

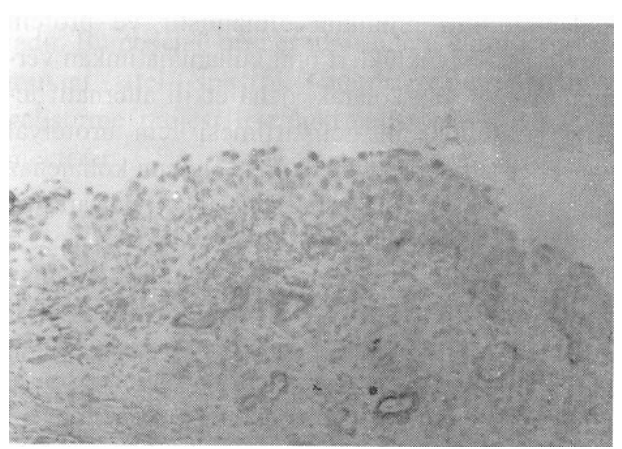


**Resim 2A.** Karsinoma insitu tanısı alan bir tümörde nükleer p53 birikimi (X200).

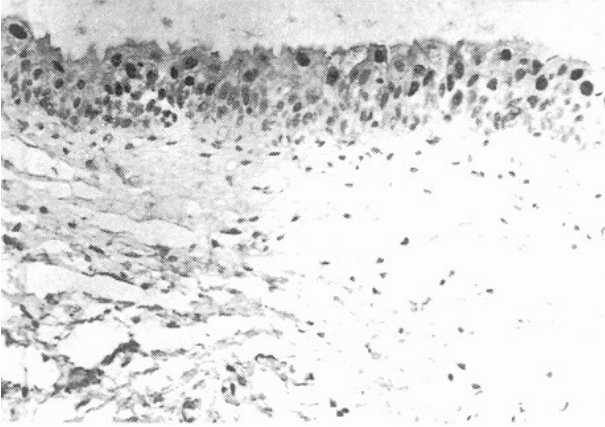


**Resim 2B.** Bu tümörde mdm2 boyaması negatif (X200).

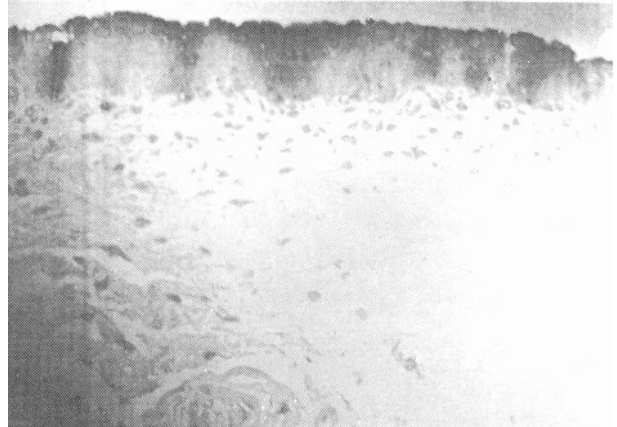
Margulies ve arkadaşları ise mesane kanserli hastaların idrarında tip IV kollajenaz konsantrasyonunun arttığını gösterdiler (24). Diğer araştırmacılar bilinen MMP genlerinin ekspresyonlarının bazı proto-onkogenler (jun, fos, ets, myb) tarafından upregüle edildiğini bildirdiler (25). Bizim çalışmamızda fonksiyonel p53 kaybının MMP-1, MMP-2 veya MMP-9 dan en az birinin upregülasyonu ile anlamlı ilişkisi, bazal membran degradasyonunun fonksiyonel p53 kaybı ile anlamlı ilişkisi ile desteklendi. Bizim sonuçlarımız fonksiyonel p53 kaybı sonucu gelişen transkripsiyonel karmaşa diğer bilinmeyen moleküler genetik alterasyonlarla birlikte bazal membranın enzimatik yıkımını upregüle ettiğini gösteriyor (22). Bu çalışmalar kanser invaz-



**Resim 2C.** subepitelyal bazal membran tip IV kollajeni yıkılmışken damar duvarı bazal membran tip IV kollajeni sağlamdı. Hematoksilenle hafifçe boyandı. (X100).



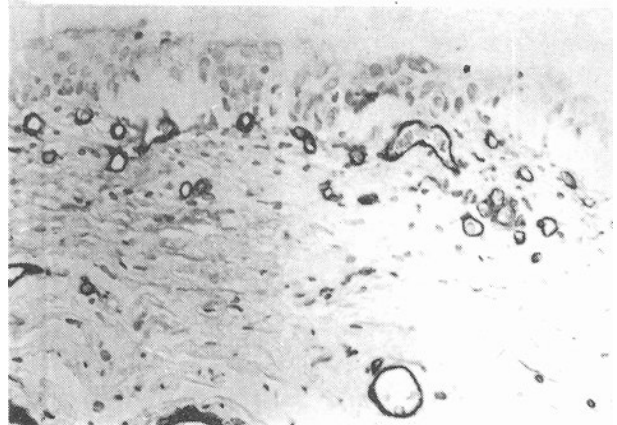
**Resim 3A.** karsinoma insitu tanısı alan bir diğer tümörde ise nükleer mdm2 birikimi görüldü.



**Resim 3B.** Nükleer p53 birikimi izlenmedi.

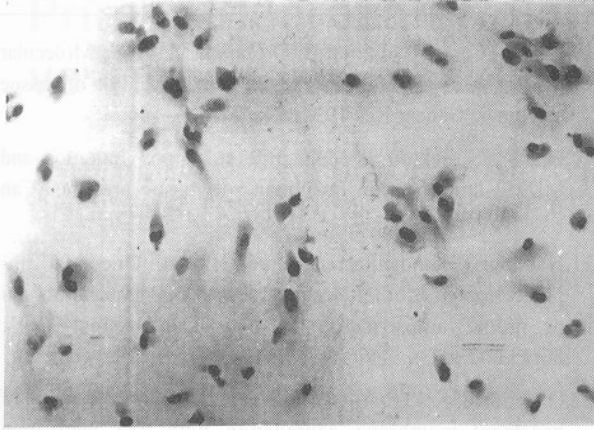
yonunu önlemede metalloproteinaz inhibitörlerinin geliştirilmesini sağlamıştır. İlk olarak, MMP-1'i kuvvetle inhibe eden bir ilacın (BB94- Batimastat) nude farelerde kolon kanseri xenograftlarının büyümesini inhibe ettiği gösterildi (26). Ancak hem Batimastat hemde diğer ilk jenerasyon sentetik metalloproteinaz inhibitörü olan Galardin oral yolla verilememesi nedeniyle uzun süreli kanser tedavisinde uygun değildir. Oral olarak verilebilen ikinci jenerasyon metalloproteinaz inhibitörlerinden Ro31-9790 ve Marimastat la ilgili klinik çalışmalar devam ediyor. Öte yandan yaygın kullanılan tetrasiklin derivelerinin metalloproteinaz inhibisyon aktivitelerinin zayıf olduğu bildiriliyor. Normalde insan hücreleri tarafından sentezlenen metalloproteinaz doku inhibitörleri adı verilen TIMP-1 ve TIMP-2'nin ise günümüzde yeteri kadar üretimi mümkün olmamıştır ve protein yapıları ve büyüklükleri oral kullanıma imkan vermemektedir. Özet olarak, daha etkili alternatif tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için ürotelyal kanserlerde onkoprotein ekspresyonunun kollajenaz aktivitesi ile ilişkisi üzerine daha çok sayıda araştırmaya ihtiyaç vardır (27).

p53 tümör supresör gen kaybı veya inaktivasyonunda apoptotik hücre ölümünün başlatılmaması nedeniyle kanser hücrelerinde kemorezistansa yol açar. Biz ürotelyal karsinomalarda kombine p53 ve mdm2 statüsü ile kemosenitivite arasındaki ilişkiyi kemoterapi alan ürotelyal kanserli 54 hastada (MVAC:13, MEC/MVEC:28, CISCA:12, EP:1) analiz ettik (Jpn. J. Cancer Res, 1998, Basımda).

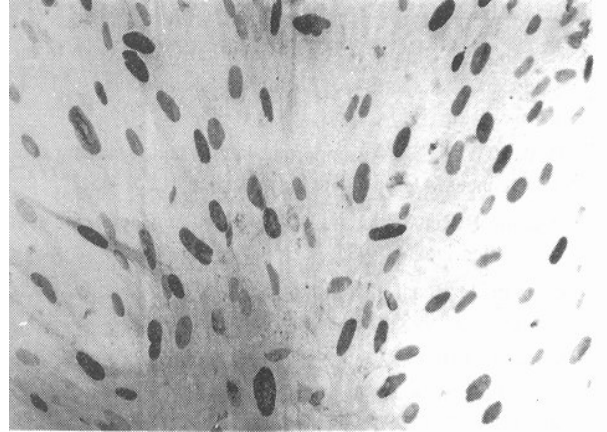


**Resim 3C.** Subepitelyal bazal membran tip IV kollajeni yıkılmışken damar duvarı bazal membran tip IV kollajeni sağlamdı. Hematoksilenle hafifçe boyandı. (X100).

p53 nükleer boyanması %50 vakada ve mdm2 ise %24.1 de pozitif. p53 negatif grupta komplet cevabın (CR), p53 pozitif guruba oranla daha yüksek olmasına rağmen (29.6% vs 7.4), cevap oranı p53 nükleer boyanması ile ilişkili değildi. Aksine CR oranı mdm2 negatif hastalarda mdm2 pozitif olanlardan daha yüksekti (22.0 vs 7.7), ve kemoterapiye cevap mdm2 pozitifliği ile ters korelasyonlu idi (P=0.036). Hastaların survisi açısından tümörün p53 ve/veya mdm2 nükleer pozitifliği veya negatifliği arasında fark yoktu. Neoadjuvan kemoterapi alan 28 hastadan, p53 ve mdm2 negatif olan 11 hastanın tamamı yaşıyor ve nüks göstermedi (takip süresi:13-17 ay). Aksine p53, mdm2 veya her ikisi pozitif olan 17 hastadan 6 sı hastalıktan öldü ve bir hasta ise metastazlı olarak yaşıyor (takip süresi: 8-



**Resim 4.** Resim 2 deki hastadan alınan idrara dökülen hücrelerin primer kültürlerinin immunositokimyasal p53 ekspresyonu. Hematoksilenle hafifçe boyandı. (X100).



**Resim 5.** Resim 3 deki hastadan alınan idrara dökülen hücrelerin primer kültürlerinin immunositokimyasal mdm2 ekspresyonu. Hematoksilenle hafifçe boyandı. (X200).

75 ay). Bizim sonuçlarımız p53 ve mdm2 kombinasyonunun neoadjuvan kemoterapi ve cerrahi rezeksiyonla tümör eradikasyonunu göstermede iyi bir prediktif belirteç olduğunu gösteriyor.

Ürotelyal kanserlerin teşhisinde invazif olmayan bir teşhis metodu geliştirilmesinde idrara dökülen hücreler çok önemli bir kaynaktır. İdrar sitolojisinin pozitifliği hemen hemen daima üriner yolların bir seviyesinde, belki de aylar sonra fark edilecek bir kanser olduğunu gösterir. Bununla birlikte idrar sitolojisinin sensitivitesi çok sınırlıdır, yani %30 civarındadır. Bu nedenle sensitivitesi daha yüksek teşhis metodlarının geliştirilmesi zorunludur. Daha önceki çalışmamızda ürotelyal kanserlerin %65'inde p53 ve/veya mdm2 pozitifliği bildirmiştik (22). İdrar yaymasının direkt olarak p53 immunositokimyasal boyama girişimimiz antikorların sedimente nonspesifik bağlanması nedeniyle başarılı olmadı. Herz ve arkadaşları idrarın canlı hücreler içerdiğini ve bunların in vitro üretilmiş olduğunu ve bu hücrelerin ürotelyal orjinli olduğunu bildirmişti (28). Biz aynı tekniği kullanarak idrara dökülen hücrelerin primer kültürlerinden sonra immunositokimyasal p53 (Resim 4) ve mdm2 (Resim 5) boyaması yaptık ve aynı zamanda immunohistokimyasal analiz de yaparak mukayese ettik. IMC ve IMH sonuçları p53 için %92.1 identik iken, mdm2 için %80 identikti (29). Bu sonuçlarımız p53 ve mdm2 pozitif olguların tümör rekürrensi takibinde IMC boyamanın kullanılabileceğini gösteriyor.

Yakın zamanlarda balgam, idrar, gaita ve mesane yıkama solüsyonlarından elde edilen az sayıdaki hücrelerden polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak genetik alterasyonların tesbitine çalışılmaktadır. Sidransky ve arkadaşları PCR ve oligomer-spesifik hibridizasyon tekniklerini kullanarak mesane kanserli 3 hastanın idrara dökülen hücrelerinin %1 ila %3'ünde p53 mutasyonu olduğunu gösterdiler (30). Mao ve arkadaşları mikrostellit marker analiz tekniğini kullanarak mesane kanserli 20 hastanın 19'unun idrar sedimentlerinde heterozigosite kaybı ve genetik instabilite olduğunu gösterdiler (31). Bu sekresyonlarda hücrelerin çok az olması ve nükleazların varlığı bu metodlarla genetik alterasyonların tesbit edilmesi için optimal koşulların oluşmasını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle primer idrar hücre kültürlerinden mutant alel spesifik amplifikasyon tekniği geliştirme projesi üzerinde çalışmalar devam etmektedir.

p53 ile ilgili çalışmalar kanser tedavisinde de yeni yaklaşımlara yol açtı. Rekombinan adenovirüsler kullanılarak defektli olan P53 geni yerine normal P53'ün aktarılmasıyla cisplatine maruz kalan transforme hücrelerin apoptozise gittiği gösterildi (32). Sonuç olarak yapılan çalışmalar p53'ün malign transformasyonda önemli bir anahtar olduğunu göstermekte ancak kanser efsanesinin çözülmesi daha çok araştırma beklemektedir.



## KAYNAKLAR

1. Berenblum I, Shubik P. A new quantitative approach to the study of the stages of chemical carcinogenesis in the mouse's skin. *Br J Cancer* 1947; 1:383-91.
2. DeWolf WC. p53: An important key to understanding urologic cancer. *AUA Update Series* 1995; 14:258-63.
3. Özdemir E. Renal hücreli kanser moleküler genetiğinde yeni gelişmeler. *Doktor* 1996; 4:115-20.
4. Özdemir E. Renal hücreli kanser moleküler genetiği. *Dicle Tıp Dergisi* 1995; 22:181-200.
5. Spruck CH III, Ohneseit PF, Zulueta MG, Esrig D et al. Two molecular pathways to transitional cell carcinoma of bladder. *Cancer Res* 1994; 54:784-8.
6. Lane DP. p53, guardian of genome. *Nature* 1992; 358:15.
7. Xiong Y, Hannon G, Zhang H, et al. p21 is a universal inhibitor of cyclin kinases. *Nature* 1993; 366:701-4.
8. Smith ML, Chen I, Zhan Q, et al. Interaction of the p53-regulated protein Gadd45 with proliferating cell nuclear antigen. *Science* 1994; 266:1376-9.
9. Tekin I, Özen H, Toklu C, Kendi S, Ayhan A. Expression of p53 in superficial transitional cell bladder cancer. *Rinsho biyorigakkai zashi* 1996; 44:203.
10. Çalışkan M, Türkeri LN, Mansuroğlu B, Toktaş G, Aksoy B, Ünlüer E, Aktaş A. Nuclear accumulation of mutant p53 protein: a possible predictor of failure of intravesical therapy in bladder cancer. *Br J Urol* 1997; 79:373-7.
11. Schapers RF, Pauwels RP, Havenith MG, et al. Prognostic significance of type IV collagen and laminin immunoreactivity in urothelial carcinomas of the bladder. *Cancer* 1990; 66:2583-8.
12. Daher N, Abourachid H, Bove N, Petit J, Burtin P. Collagen IV staining pattern in bladder carcinomas: relationship to prognosis. *Br J Cancer* 1987; 55:665-71.
13. Wetzels RH, Robben HCM, Leigh IM, et al. Distribution patterns of type VII collagen in normal and malignant human tissues. *Am J Pathol* 1991; 139:451-9.
14. Conn IG, Crocker J, Wallace DMA, et al. Basement membranes in urothelial carcinoma. *Br J Urol* 1987; 60:536-42.
15. Liotta LA, Tryggvason K, Barbisa AS, et al. Metastatic potential correlated with enzymatic degradation of basement membrane collagen. *Nature* 1980; 284:67-71.
16. Woolley DE, Glanville RW, Roberts DR, Evanson JM. Purification, characterization and inhibition of human skin collagenase. *Biochem J* 1978; 169:265-71.
17. Althausen AF, Prout GR Jr, Daly JJ. Noninvasive papillary carcinoma of the bladder associated with carcinoma in situ. *J Urol* 1976; 116:575-80.
18. Sarkis AS, Dalbagni G, Cordon-Cardo C, et al. Association of p53 nuclear overexpression and tumor regression in carcinoma in situ of the bladder. *J Urol* 1994; 152:388-92.
19. Cordon-Cardo C, Latres E, Drobnjak M, et al. Molecular abnormalities of mdm2 and p53 genes in adult soft tissue sarcomas. *Cancer Res* 1994; 54:794-9.
20. Leach FS, Takino T, Meltzer P, et al. p53 mutation and MDM2 amplification in human soft tissue sarcomas. *Cancer Res* 1993; 53:2231-34.
21. Habuchi T, Kinoshita H, Yamada H, et al. Oncogene amplification in urothelial cancers with p53 gene mutation or mdm2 amplification. *J Natl Cancer Inst* 1993; 86:1331-5.
22. Özdemir E, Kakehi Y, Okuno H, et al. Strong correlation of basement membrane degradation with p53 inactivation and/or mdm2 overexpression in superficial urothelial carcinomas. *J Urol* 1997; 158:206-11.
23. Wirl G, Frick J. Collagenase: a marker enzyme in human bladder cancer?. *Urol Res* 1979; 7:103-6.
24. Margulies IM, Hoyhtya M, Evans C, et al. Urinary type IV collagenase: evaluated levels are associated with bladder transitional cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1992; 1:467-74.
25. Grant GM, Cobb JK, Castillo B, Klebe R J. Regulation of matrix metalloproteinases following cellular transformation. *J Cell Physiol* 1996; 167:177-82.
26. Wang X, Fu X, Brown PD, et al. Matrix metalloproteinase inhibitor BB-94 (Batimastat) inhibited human colon tumor growth and spread in a patient-like orthotopic model in nude mice. *Cancer Res* 1994; 54:4726-8.
27. Parsons SL, Watson SA, Brown PD, Collins HM, and Steele RJC. Matrix metalloproteinases. *Br J Surg* 1997; 84:160-6.
28. Herz F, Deitch D, Adler SA, Brijlall D. Short term culture of exfoliated cell from the urine of patients with bladder tumors. *Urol Res* 1993; 21:23-6.
29. Okuno H, Kakehi Y, Ogawa O, Yamada H, Özdemir E, Okada Y, Yoshida O. Immunocytochemical detection of p53 in cultures of exfoliated cells from urine of patients with urothelial cancers. *Jpn J Cancer Res* 1996; 87:718-23.
30. Sidransky D, Eschenbach AV, Tsai YC, et al. Identification of p53 gene mutation in bladder cancers and urine samples. *Science* 1991; 252:706-9.
31. Mao L, Schoenberg MP, Scicchitano M, et al. Molecular detection of primary bladder cancer by microsatellite analysis. *Science* 1996; 271:659-62.
32. Fujiwara T, Grimm E, Mukhopathyay T, et al. Induction of chemosensitivity in human lung cancer cells in vitro by adenovirus-mediated transfer of the wild-type p53 gene. *Cancer Res* 1994; 54:2287-91.