

# Yüzeyel mesane kanseri tedavisinde BCG tedavisinin etkinliğini öngörmek mümkün müdür? Belirteçler var mıdır?

## Is it possible to predict BCG effectivity in the treatment of superficial bladder cancer? Are there any markers?

Dr. Polat Türker<sup>1</sup>, Dr. Sinan Ekici<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Tekirdağ

<sup>2</sup>Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, İstanbul

### ÖZET

**Amaç:** Yüksek riskli kasa invaze olmamış mesane tümörü tedavisinde Bacillus Calmette-Guerin (BCG) tümör rekürrensini azaltan ve progresyonu geciktiren standart bir uygulamadır. Hangi hastaların bu tedaviye cevap verip vermeyeceğini öngörmek elimizdeki standart tetkik ve verilerle halen mümkün değilken umut verici araştırmalar mevcuttur.

**Yeni Bulgular:** BCG tedavisinin kasa invaze olmayan mesane kanserinde etkinliğini öngörmeye konak veya tümör özelliklerinden hiçbiri bağımsız bir öngörü belirteci olarak öne çıkamamıştır. BCG'nin mesane içerisine uygulanması ile oluşan lokal immün cevap ayrıntılı olarak incelenmiş ve bu cevap zincirinde görev alan çeşitli elemanların bu tedavi etkinliğini değerlendirmedeki öngörü etkinliği araştırılmıştır. Bu veriler içerisinde bir enflamasyon sitokini olan IL-2'nin idrar seviyeleri ve yine çeşitli sitokinlerin gen polimorfizmlerinin belirlenmesi BCG'ye cevabı önceden değerlendirmede umut verici belirteçler gibi gözükmemektedir.

**Sonuç:** BCG tedavisinin etkinliğini arttırmak ve hangi hastalarda başarılı sonuç alınabileceğini öngörebilmek için yeni biyomedikal tetkiklerin ışığında daha etkin testlere ihtiyaç vardır. BCG tedavisi ve enflamasyon sitokinlerini ilişkisinin aydınlığa çıkarılması daha etkin bir tedavi oranı yakalayabilmenin yanında yeni tedavi modalitelerinin geliştirilmesi için gereklidir.

**Anahtar kelimeler:** bacillus calmette-guerin, mesane kanseri, prognoz

İletişim (✉): ekicimiami@yahoo.com

### ABSTRACT

**Aim:** Bacillus Calmette-Guerin (BCG) is a standard treatment for reducing tumour recurrence and delaying progression of high-risk, non-muscle-invasive bladder tumours. However, it is not clear yet which patients are more likely to be responders to BCG.

**New Findings:** The host factors and the tumor characteristics failed to be an independent factor in the prediction of BCG affectivity in the treatment of non-muscle invasive bladder cancer. The local immune response after intravesical BCG installation was studied meticulously and the predictive value of the elements in this pathway was determined. Among these urine levels of IL-2 has most encouraging results and also the determination of nucleotide polymorphisms of different cytokines in the inflammatory pathway seem promising.

**Results:** Research continues to determine which patients would benefit from BCG treatment and also to establish a better outcome. New approaches are needed in the light of developments in biomedical technology. A very critical part of this therapy is to find out the correlation of different cytokines with BCG therapy, which will give a better insight not only the mechanism but also a better therapeutic options.

**Keywords:** bacillus calmette-guerin, bladder cancer, prognosis

**B**acillus Calmette Guérin (BCG), Fransız bir bakteriyolog olan Albert Calmette ve bir veteriner olan Camille Guérin tarafından tuberküloza karşı aşı olarak geliştirilmiştir. Bu aşı Mikobakter Tuberkülozisin yakın akrabası olan ve bovine hastalığına neden olan Mikobakter Bovisin, 1908'den 1921'e kadar olan 231 pasajlama işlemi sonrası elde edilen virulansını kaybetmiş fakat koruyucu etkisini ihtiva eden bakteri dizisinden oluşmaktadır. Bu tarihten sonra Tüberküloza karşı aşı olarak kullanılmıştır. Mesane kanserini tedavi etmek amacı ile BCG'nin intravezikal kullanımı ise ilk

*“Saint ve ark. tarafından yapılan bir derlemede, değişik gruplar tarafından yapılmış çalışmalar incelenmiş konak veya tümör özelliklerinden hiçbiri bağımsız bir öngörü belirteci olarak öne çıkamamıştır (62).”*

*“BCG tedavisi sonrası hastaların idrarlarında izlenen sitokin artışları çeşitli çalışmalarda incelenmiş, IL-1, -2, -6, -8 ve -12, TNF, INF- $\gamma$  ve GM-CSF seviyeleri diğerlerine oranla yüksek bulunmuştur (63, 67). Bu proinflatuar sitokin profili, özellikle IL-2, TNF ve INF- $\gamma$ , tip Th1 immün cevapta izlenen sitokinlerdir (85). BCG ile birçok sitokin seviyesinde değişim olurken masif nötrofil infiltrasyonu ve granülom oluşumu BCG instalasyonuna özgü iki olaydır (57). Ek olarak, BCG'nin farklı komponentleri ile uyarıldığında dahi bu Th1 immün cevabın oluştuğu gösterilmiştir (36).”*

ek 1976 yılında Morales ve ark. tarafından gerçekleştirilmiştir (49). Otuz beş yıldan fazla bir süredir mesane kanseri tedavisinde kullanılmasına rağmen, BCG'nin antitümör etki mekanizması halen tam olarak açıklanmamıştır. BCG'nin etkinliğinin masif, kompleks ve devam eden bir lokal immün aktivasyona bağlı olduğu ileri sürülmektedir. Mesane, bu tip immün uygulamalar için çok elverişli bir hedeftir çünkü kendi içinde sınırlı bir kompartman olması, immünoterapi ajanının yüksek lokal konsantrasyonlara ulaşabilmesi ve immün hücreler tarafından alınabilmesini sağlamaktadır (12).

Tüm başarısına rağmen, %30-50 hasta BCG tedavisine ya hiç cevap vermemekte, ya da ilk yıl içinde rekürrens geliştirmekte ve bu hastaların %15'i tümör progresyonu geliştirmektedir (35,49,65,71). Maalesef hangi hastaların rekürrens ve hangilerinin progresyon göstereceğini önceden bildiren sabit bir belirteç henüz bulunamamıştır.

Günümüzde BCG etkinliği, hastalığın ilk veya ikinci başlangıç tedavisi sonrası tekrar etmesi veya idame tedavisi sonrası rekürrens göstermesi ile değerlendirilebilmektedir. Ölüm cül bir kanser olan mesane kanseri tedavisinde BCG ile tedaviye devam etmek mi yoksa geç kalmadan sistektomi uygulamak mı kararını vermek için bu hastaların uygunluğunu değerlendirebileceğimiz birtakım belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. Elimizdeki göstergelerle ancak BCG başlangıç tedavisi sonrası tekrarlayan T1 veya CIS olan hastalara hemen sistektomi önerebilmektedir (34).

### **Klinik ve patolojik bulguların öngörü etkinliği**

Mesane tümörü olgularının incelendiği değişik çalışmaların, tümör evreleri, takip

süreleri, tedavi protokolleri açısından farklılıklar sergilemesi nedeni ile birbirleri ile karşılaştırılmaları genellikle zordur. Saint ve ark. tarafından yapılan bir derlemede, değişik gruplar tarafından yapılmış çalışmalar incelenmiş konak veya tümör özelliklerinden hiçbiri bağımsız bir öngörü belirteci olarak öne çıkamamıştır (62). Ayrıca yan etki profiline bağlı olarak hastaların BCG tedavisi protokolüne uyumu, tümörün patolojik evrelendirilmesinde patoloğlar arasındaki yorumlama farkı ve re-TUR uygulaması ile son dönemde daha doğru evreleme yapılması gibi faktörlerde BCG tedavisinin etkinlik sonuçlarını etkilemektedir (33,34).

Çeşitli çalışmalarda, yaş, cinsiyet ve BCG tedavisi ile oluşan yan etki şiddeti gibi konak faktörlerinin BCG etkinliği ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (3,44,46). Boorjian ve ark ve Herr, BCG uygulanan hastalarda tanı anındaki ileri yaşı; yüksek riskli tümörler, artmış rekürrens riski ve daha kısa hastalısız sağkalm ile ilişkili bulmuşlardır (13,32). İlginç olarak, başka bir çalışmada yüksek BCG etkinliği ile ilişkilendirilen Th 1 tip immün cevap (IL-2) 65 yaş üstü hastalarda daha güçlü bulunmuştur (61).

Lokal veya sistemik BCG toksisitesi gösteren hastalarda tedavi etkinliğinin daha fazla olacağı geçmişte düşünülse de Slyvester ve ark. tarafından yayınlanan 487 hastanın incelendiği EORTC çalışmasında sistemik veya lokal BCG toksisitesi varlığında böyle bir ilişki gösterilememiştir (72).

Bunun yanında yine BCG etkinliği açısından, geçmişte mesane kanseri öyküsü, beraberinde CIS olması, çok odaklı ve ileri evre tümörler, daha yüksek rekürrens ve progresyon ile ilişkili bulunmuştur (26,74). Gomez ve ark. kasa invazif olmayan transizyonel hücreli mesane kanserli hastalarda BCG tedavisi

sonrası rekürrens ve progresyon açısından 1062 hastayı incelemişler, rekürrens açısından bayan hastalar (HR=1.68), ileri yaş (60-70 ve >70) (HR=1,16), tekrarlayan tümörler (HR=2), 3'den fazla tümör odağı (HR=1.28) ve yüksek evre riskli bulunmuştur. Progresyon açısından ise ileri yaş (60-70 ve >70)(HR=1.29), tekrarlayan tümörler (HR=1.92), 3'den fazla tümör odağı (HR=1.12), T evresi (HR=2.35) ve yüksek grade (HR=2,9) riskli bulunmuştur. CIS varlığı rekürrens ve progresyon açısından etkili bulunmamıştır (26). Bunun aksine Takashi ve ark., BCG tedavisi uygulanan Ta, T1 evresindeki 146 mesane tümürlü hastayı değerlendirdikleri çalışmalarında çok değişkenli analizde sadece eşzamanlı CIS varlığını tedavi sonrası progresyonda anlamlı bir faktör olarak saptamışlardır (74).

Tedavi başlangıcı sonrası ilk sistoskopide tümör görülen hastalarda da rekürrens ve progresyon riski daha yüksek olduğu gösterilmiştir (4,5,26). Tümör çapı ise bazı çalışmalarda kötü prognozla ilgili bulunurken diğerleri bu bulguları desteklememektedir (26,43,74).

### **BCG sonucu oluşan immün cevap ve enflamasyon**

BCG mesane içerisine verildiğinde üreteryal hücrelere, BCG üzerinde bulunan fibronektin bağlanma proteini (FAP) aracılığı ile bağlanırlar (37,82). BCG hem üreteryal hücreler, hem nötrofiller gibi inflamatuvar hücreler tarafından hücre içine alınarak inflamatuvar kaskadı tetikler, sitokin salınımı ve immün hücre desteğini sağlarlar. Erken cevap veren hücreler öncelikle nötrofiller (%75) ve makrofajlardır (21). Nötrofiller doğuştan (innate) immünite için temel araçlardır ve bakteriyel antijenleri Toll-like reseptörlerin (TLRs) de içinde bulunduğu çeşitli mekanizmalarla tanımaktadırlar.

Mesaneye BCG instilasyonu sonrası idrarda ilk bulunan hücreler nötrofiller olup inflamatuvar kaskadın aktivatörleridir. İmmün cevabın daha sonraki evrelerinde CD4+ T hücreleri baskındır (55). Çeşitli inflamatuvar hücre alt gruplarının rolleri konusunda tartışmalar mevcuttur. Çoğu alt grup inflamasyon kaskadının çeşitli evrelerinde rol oynamaktadır. BCG tedavisi sonrası hastaların idrarlarında izlenen sitokin artışları çeşitli çalışmalarda incelenmiş, IL-1, -2, -6, -8 ve -12, TNF, INF- $\gamma$  ve GM-CSF seviyeleri diğerlerine oranla yüksek bulunmuştur (63,67). Bu proinflatuar sitokin profili, özellikle IL-2, TNF ve INF- $\gamma$ , tip Th1 immün cevapta izlenen sitokinlerdir (85). BCG ile birçok sitokin seviyesinde değişim olurken masif nötrofil infiltrasyonu ve granülom oluşumu BCG instalasyonuna

*“Kaempfer ve ark. yeterli BCG cevabı alınabilmesi için PBMC’lerde IL-2 gen ekspresyonunun gerekli olduğunu ileri sürmüşlerdir (23). BCG tedavisine cevap vermeyen olguların %95’i IL-2 mRNA ile uyarılamamakta, cevap veren olgular ise %70 oranında uyarılabilmektedirler. IL-2 ile uyarılabılme özelliği hastalarda artmış sağkalıma ek olarak BCG tedavisini etkinliğini öngörmede bağımsız prediktif bir faktör olarak da tespit edilmiştir.”*

özgü iki olaydır (57). Ek olarak, BCG’nin farklı komponentleri ile uyarıldığında dahi bu Th1 immün cevabın oluştuğu gösterilmiştir (36).

### Lökositüri

Bu immunolojik kaskad ile serbest kalan lökositler aynı zamanda hastaların idrarında da izlenebilmektedir. Saint ve ark. idrarda yüksek miktarda lökosit ile BCG tedavisine cevap arasında bir ilişki bulmuşlardır (60). Çok değişkenli analizde lökositüri rekürrensi ön-gören tek faktör olarak saptanmıştır. Bunun yanında lökositüri, idrar yolu enfeksiyonu, prostatit gibi birçok klinik durumda da karşımıza çıkabileceği için BCG tedavisinin etkinliğinin değerlendirilmesinde özgün bir bulgu değildir ve dikkatle yorumlanmalıdır.

### Dendritik hücreler ve tümör infiltrate edici makrofajlar

*Dendritik hücreler (DH);* monosit, makrofaj ailesi içerisinde ayrı bir lökosit popülasyonu oluştururlar. Bu hücreler, antijenleri histokompatibilite antijenleri olarak T lenfositlere sunmaktadırlar (70,78). DH’ler en önemli antijen sunan hücreler (APC) olarak kabul edilmekte olup profesyonel APC’ler olarak da isimlendirilirler. BCG tedavisi sonrası idrarda izlenen yüksek miktarda dendritik hücreler ve ayrıca diğer APC’lerin yüksek miktarda RNA ekspresyonu, artmış BCG etkinliği ile ilişkili bulunmuştur (10,79). Bunun yanında diğer tümörlerden farklı olarak, mesane tümörlerinde yüksek miktardaki tümör infiltrate edici makrofajların (TAM) varlığının BCG cevabı üzerinde negatif etkisi olduğu düşünülmektedir (8,75). Takayama ve ark., tümör bölgesinde izlenen yüksek miktardaki TAM’ların rekürrenssiz sağkalım oranlarını azalttığını belirtmişlerdir ( $p=0.0002$ ). Bu da mesane kanserinde, tümör mikro çevresinin önemini işaret etmektedir (11,54,64).

### Sitokinler

#### IL-2

İnterlökin-2 (IL-2) Th-1 tipteki immün cevapta yer alan sitokinlerden biri olup sitotoksik T lenfositlerinin büyümesi, diferansiyasyonunda görev almaktadır. BCG tedavisi sonrası idrarda yüksek miktarda IL-2 bulunması artmış nüksüz sağkalım ile ilişkili bulunmuştur (9, 66, 83). Watanabe ve ark., BCG’ye cevap veren olgularda tedavi sonrası hastalarda üriner IL-2, IL-6, IL-8, IL-10 ve TNF- $\beta$  seviyelerinde artış tespit etmişlerdir. İdrardaki IL-2 seviyesinin BCG tedavisi sonrası rekürrens açısından bağımsız bir faktör olduğunu belirtmişlerdir ( $p=0.003$ ). Bunun yanında Saint ve ark eğer artırılmış BCG başlangıç dozu uygulanırsa başta üriner IL-2 ölçümünde artış izlenirken daha sonra bunun daha az istenen IL-10 (Th2) profiline döndüğünü belirtmişlerdir (53). Sonuç olarak bazı hastalar artırılmış BCG başlangıç dozundan fayda görmediği ve bu yüzden artırılmış doz uygulanıp uygulanmayacağı kararının sitokin seviyelerine göre verilmesi önerilmiştir.

Periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) in vitro IL-2 ile uyarıldıklarında oluşan hücrelere lenfokin ile aktive olmuş killer hücreler (LAK) adı verilmektedir. Bu hücreler uyarılmamış NK hücrelere oranla daha fazla sitotoksik özellik göstermektedirler. Kaempfer ve ark. yeterli BCG cevabı alınabilmesi için PBMC’lerde IL-2 gen ekspresyonunun gerekli olduğunu ileri sürmüşlerdir (23). BCG tedavisine cevap vermeyen olguların %95’i IL-2 mRNA ile uyarılamamakta, cevap veren olgular ise %70 oranında uyarılabilmektedirler. IL-2 ile uyarılabılme özelliği hastalarda artmış sağkalıma ek olarak BCG tedavisini etkinliğini öngörmede bağımsız prediktif bir faktör olarak da tespit edilmiştir.

Bu bulgular eşliğinde IL-2’nin kan ve idrarda ölçümü BCG tedavisinin etkinliğini değerlendirmede umut verici bir parametere gibi durmaktadır.

Bunun yanında rekombinant IL-2 (rhIL-2) tedavisi Amerika Yiyecek ve İlaç Yönetimi (FDA) tarafından 10 yıl önce böbrek hücreli kanser ve malign melanom tedavisi için onaylanmıştır (7, 27). rhIL-2 tedavisi, BCG tedavisi uygulanan hastalarda BCG etkinliğini arttırmak ve daha düşük doz BCG kullanarak bu tedavinin yan etkisi seviyesini azaltmak için uygun bir ek tedavi gibi gözükmektedir.

#### IL-8, IL-18

Aktive olmuş makrofajlardan salgılanan interlökin-8 polimorfonükleer nötrofil granulositlerin bu bölgede toplanmasına yardımcı olmaktadır (50). Yine aynı hücrelerden salgılanan interlökin-18 natural killer hücreler ve sitotoksik T lenfositlerin aktive olmasını sağlamaktadır. BCG tedavisi sonrası 12 saat içerisinde bu sitokinlerin artışı hastalısız sağkalım ile ilişkili bulunmuştur (40,58,76,77). Sağnak ve ark ilk BCG tedavisi sonrası ölçülen üriner IL-8 değerlerinin rekürrensi öngördüğünü bildirmişlerdir ( $p=0.047$ ) (58). Bir başka çalışmada ise BCG instilasyonu öncesi ölçülen IL-8 düzeylerinin BCG tedavisine cevabı öngöremeyeceği öne sürülmüştür (21).

### TRAIL (Tumor necrosis factor apoptozis inducing ligand)

PMN granulositleri tarafından hücre yüzeyinde eksprese edilen ve aktif bir formda salgılanabilen TRAIL proteininin apoptozis başlatıcı etkisi yanında birçok işlevi mevcuttur (6). Simon ve ark., PMN granulositlerinin TRAIL salgılayarak antitümör özellik gösterdiklerini belirtmiştir (69). BCG tedavisine cevap veren hastaların idrarında yüksek seviyede TRAIL proteini bulunmuştur (22,38,45). Ludwig ve ark.’nın 18 hastalık çalışmasında 5. veya 6. indüksiyon BCG’si sonrası bakılan TRAIL değerleri tedaviye cevap verecek olgularda ( $n=11$ ) daha yüksek ( $p<0.05$ ) ve cevap vermeyeceklerde ( $n=11$ ) ise tüm indüksiyon seansları boyunca düşük olduğu belirtilmiştir (45). Bu sonuçlara dayanarak TRAIL, BCG tedavisinin başarısını öngörmede umut verici bir belirteç olarak ortaya çıkmaktadır.

### Hücre içi belirteçler

#### P53

Tümör baskılayıcı protein olarak görev yapan P53, DNA hasarı veya çeşitli hücresel stresler sonrası apoptozis veya hücre siklus arestinden sorumludur. Mesane kanserinde sık izlenen genetik anormalliklerden biri de P53 nükleer proteinin yarı ömrünün

uzatan ve fonksiyonunu kaybetmiş P53 birikimine sebep olan P53 mutasyonudur. P53 ekspresyonu ve BCG tedavi etkinliği arasındaki ilişki birçok çalışmada araştırılmıştır. Bunlardan bazıları BCG'ye cevap veren ve vermeyen olgular arasında fark bulamazken (25,41,52,84) diğerleri rekürrens ve progresyona kadar geçen süre, mesane kanserine bağlı ölüm ve progresyonsuz sağkalım açısından farklar bulmuşlardır (43,51,59).

Bu çalışmalarda hasta özellikleri ve TP53 sınır değeri gibi değişkenler benzer olsa da sonuçlar birbirleri ile çelişmektedir. Örneğin Saint ve ark., P53 üzerinde yaptıkları 102 hastalık çalışmalarında, P53 pozitif hastalarda erken rekürrens (p=0.01), hastalığa bağlı ölüm oranında yükselme (p=0.002) ve yüksek progresyon riski ile uyumlu olarak bulmuşlardır (59). Bunun yanında Esuvaranathan ve ark., hiçbir sağkalım parametresinde P53'ü etkili olarak bulmamışlardır.

Bu farklılıkların düşük hasta sayısından kaynaklanan istatistiksel hatalardan meydana geliyor olması muhtemeldir. Daha kantitatif tekniklerle yapılan çalışmalara ihtiyaç vardır.

#### Ki-67

Hüresel proliferasyon belirteci olan Ki-67,BCG tedavisine cevabı öngörmede anlamlı bulunurken tüm sağkalımı değerlendirmede etkin bulunmamıştır (42,51). Zlotta ve ark. ortalama 24.6 ay izledikleri 47 kişilik hasta gruplarında bu parametrenin çok değişkenli analizde prediktif olmadığını belirtmişlerdir (84). Bu bulgular eşliğinde Ki-67 ekspresyonu, BCG tedavisinin etkinliğini öngörmede uygun bir yöntem değildir.

#### Retinoblastom

Retinoblastom (RB) proteini hücre siklusu kontrolünde görev alan tümör baskılayıcı bir proteindir. Mesane transizyonel hücreli kanseri tanısı olan hastalarda retinoblastom proteinin ekspresyonundaki değişikliklerin prognostik bir belirteç olduğu ileri sürülmüştür (73). Retinoblastom geninin düşük ekspresyonu yüksek rekürrens oranı ile ilişkili bulunmuş (25), Cornio ve ark T1G3 tümörlü hastalarda RB geni ekspresyonundaki değişikliklerin (artma veya hiç olmama) progresyonsuz ve hastaliksiz sağkalımda azalma ile ilişkili bulmuşlardır (18).

*“IFN- $\gamma$  ve diğer Th1 sitokinlerinin (IL-2 ve TNF- $\alpha$ ) idrarda yüksek oranda bulunmaları daha uzun nüksüz sağkalımla ilişkili bulunurken, Th2 sitokinlerinin artışı (IL-10) BCG tedavisinin başarısızlığı ile ilişkilendirilmiştir (67). Bu yüzden Th1/Th2 dengesini etkileyebilecek bir polimorfizm BCG tedavi etkinliğinde büyük önem taşıyabilir.”*

#### Ezrin

Ezrin; membran proteinleri ve hücre iskeleti ile ilişkide olan bir protein olup hücre sağkalımı, hücre göçü, adhesyonu ve invazyonunda görev almaktadır (15, 19). Palou ve arkadaşlarının, BCG tedavisi alan 92 T1G3 mesane kanserli hastalarda yaptıkları çalışmada bu proteinin hücre membranındaki düşük ekspresyon seviyelerini (<20) çok değişkenli analizde progresyon ve hastaliksiz sağkalım açısından bağımsız prognostik faktör olarak tespit etmişlerdir (51).

#### Gen polimorfizmleri

Tek nükleotid polimorfizmlerini (varyasyonlarını) içeren genler toplumda %1'den fazla bulunan allel genler olarak tanımlanır ve insan genomunda en çok bulunan (ortalama her 1000 nükleotitte bir) DNA dizi değişimleridir (16,56).

#### Nükleotid eksizyon tamir gen polimorfizmi

Nükleotid eksizyon tamiri (NER) hüresel DNA tamir yollarından biridir. Bu genin varyant allelleri, wild tip allellere kıyasla daha yüksek DNA tamir kapasitesine sahip olup (81) daha kötü kanser tedavi sonucu ile ilişkili bulunmuştur (14,17). BCG tedavisi alan hastalardan varyant tip XPA, ERCC6, XRCC1, XPC ve ERCC2 alellerine sahip olanlarda nüksüz sağkalım oranlarında düşüş tespit edilmiştir (28-30,48). BCG tedavisinin etkinliğinin öngörüsü açısından umut verici gibi gözükse de valide edilmiş gruplarla yapılan çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

#### Sitokin gen polimorfizmleri

Sitokinler BCG etkisi için gereklidirler ve bu moleküllerin kişiden kişiye farklılık göstermesi BCG etkinliği açısından farklılık yaratabilir (2). Bu açıdan sitokin gen polimorfizmlerinin, BCG etkinliği ile ilişkisi ilgi çekmiştir. IFN- $\gamma$  ve diğer Th1 sitokinlerinin (IL-2 ve TNF- $\alpha$ ) idrarda yüksek oranda bulunmaları daha uzun nüksüz sağkalımla ilişkili bulunurken, Th2 sitokinlerinin artışı (IL-10) BCG tedavisinin başarısızlığı ile ilişkilendirilmiştir (67). Bu yüzden Th1/Th2 dengesini etkileyebilecek bir polimorfizm BCG tedavi etkinliğinde büyük önem taşıyabilir.

#### IFN- $\gamma$

IFN- $\gamma$  pro enfalmatuar bir sitokin olup, lenfosit fonksiyonlarının artışı, adhezyon moleküllerinin ekspresyonunun uyarılması ve MHC tip I ve tip II ekspresyonlarının artışına sebep olarak alloimmün cevabın oluşmasında görev almaktadır (31). IFN- $\gamma$  Th1 sitokin ekspresyonunu arttırıp, Th2 sitokinlerin ekspresyonu azaltarak BCG ile oluşturulan immün cevabın artmasına etkili bir biçimde yardımcı olmaktadır (47). IFN- $\gamma$  +874 A alleli taşıyıcısı olan mesane kanseri hastalarında BCG immünoterapisi sonrası artmış (HR=2.24) rekürrens oranı tespit edilmiştir (1).

#### TGF- $\beta$

TGF- $\beta$  epitel hücrelerinde proliferasyonu güçlü bir şekilde inhibe etmekte ve tümör baskılayıcı olarak görev yapmaktadır (68). Ayrıca tümör hücreleri tarafından sürekli ekspresyonu kanser progresyonuna sebep olmaktadır (20). Mesane kanseri olgularının bir kısmında immünelektron ve immünositokimyasal tekniklerle idrar incelemelerinde bu proteinin anlamlı artışı ve epitel hücreleri tarafından artmış ekspresyonu tespit edilmiştir (24, 80). Diğer bir çalışmada TGF- $\beta$  +869 polimorfizmi ile mesane kanseri arasında bir ilişki bulunmazken, başka bir çalışmada TGF- $\beta$  TT genotipi taşıyıcıları mesane kanseri immünoterapisi sonrası artmış (HR=2.24) rekürrens ile ilişkili bulunmuştur (1).

#### Gen ekspresyonu

Kim ve ark., BCG tedavisi alan primer T1 mesane tümörü olan 80 hastayı değerlendirdikleri çalışmada tüm hastalara mikroarray gen ekspresyon profili uygulamışlardır. Tedaviye cevap veren ve vermeyen grubun karşılaştırılmasında 24 gen (12 rekürrens için, 12 progresyon için) BCG immünoterapisinin

etkinliğini öngörmeye etkili bulunmuştur (39). Çok değişkenli analizde prediktif gen haritaları tek bağımsız faktör olarak tespit edilmiştir (HR= 3.38, p=0.048). Çalışmada idame BCG tedavisinin olmaması ise çalışmayı sınırlandırmaktadır.

## Sonuç

BCG tedavisine hangi hastaların cevap vereceğini öngörmek kasa invaziv olmamış yüzeysel mesane kanseri tedavisi için büyük

öneme sahip olup bu amaçla kullanılabilircek bir belirteç halen klinik kullanımda mevcut değildir. Hastaların demografik ve klinik özelliklerinin öngörü etkinliğinin büyük hasta gruplarında çeşitli çalışmalar yapılsa da çelişkili sonuçlar mevcuttur ve tedaviye cevabı öngörmeye kullanım için yetersizdirler. İmmünohistokimyasal belirteçler içerisinde ise en umut vaat edeni ürünler IL-2 ölçümü gibi gözükmektedir. Bu sitokinin BCG tedavisi sonrası idrarda yüksek miktarda görülmesi tedaviye daha iyi yanıt ile ilişkili bulunmuştur. Enflamasyonun şiddetini

değerlendirmede araştırılmış olan dentritik hücre, TAM seviyeleri ve ezrin proteini gelecek vaat eden belirteçler olup daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır. Sitokin gen polimorfizmlerinin araştırılması umut verici diğer bir belirteç gibi durmaktadır. Fakat farklı etnisiteye sahip gruplarda da araştırılmamıştır. Üriner IL-8, IL-18 ve TRAIL seviyeleri için eşik değerleri belirlenmeli ve standardize edilmelidir. TP53 ve Ki-67 ekspresyonları ile ilgili sonuçlar çelişkili olduğu için şu anda BCG tedavi etkinliğini değerlendirmede uygun değildirler.

## Kaynaklar

1. Ahirwar DK, Agrahari A, Mandhani A, et al. Cytokine gene polymorphisms are associated with risk of urinary bladder cancer and recurrence after BCG immunotherapy. *Biomarkers*. 2009;14:213-218.
2. Ahirwar DK, Manchanda PK, Mittal RD, et al. BCG response prediction with cytokine gene variants and bladder cancer: where we are? *J Cancer Res Clin Oncol*. 137:1729-1738.
3. Akaza H, Hinotsu S, Aso Y, et al. Bacillus Calmette-Guerin treatment of existing papillary bladder cancer and carcinoma in situ of the bladder. Four-year results. The Bladder Cancer BCG Study Group. *Cancer*. 1995;75:552-559.
4. Andius P, Damm O, Holmang S. Prognostic factors in patients with carcinoma in situ treated with intravesical bacille Calmette-Guerin. *Scand J Urol Nephrol*. 2004;38:285-290.
5. Andius P, Holmang S. Bacillus Calmette-Guerin therapy in stage Ta/T1 bladder cancer: prognostic factors for time to recurrence and progression. *BJU Int*. 2004;93:980-984.
6. Armitage RJ. Tumor necrosis factor receptor superfamily members and their ligands. *Curr Opin Immunol*. 1994;6:407-413.
7. Atkins MB, Lotze MT, Dutcher JP, et al. High-dose recombinant interleukin 2 therapy for patients with metastatic melanoma: analysis of 270 patients treated between 1985 and 1993. *J Clin Oncol*. 1999;17:2105-2116.
8. Ayari C, LaRue H, Hovington H, et al. Bladder tumor infiltrating mature dendritic cells and macrophages as predictors of response to bacillus Calmette-Guerin immunotherapy. *Eur Urol*. 2009;55:1386-1395.
9. Baniyash M. Chronic inflammation, immunosuppression and cancer: new insights and outlook. *Semin Cancer Biol*. 2006;16:80-88.
10. Beatty JD, Islam S, North ME, et al. Urine dendritic cells: a noninvasive probe for immune activity in bladder cancer? *BJU Int*. 2004;94:1377-1383.
11. Bingle L, Brown NJ, Lewis CE. The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J Pathol*. 2002;196:254-265.
12. Bohle A, Brandau S. Immune mechanisms in bacillus Calmette-Guerin immunotherapy for superficial bladder cancer. *J Urol*. 2003;170:964-969.
13. Boorjian SA, Zhu F, Herr HW. The effect of gender on response to bacillus Calmette-Guerin therapy for patients with non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder. *BJU Int*. 2006;106:357-361.
14. Bosken CH, Wei Q, Amos CI, et al. An analysis of DNA repair as a determinant of survival in patients with non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94:1091-1099.
15. Bretscher A, Edwards K, Fehon RG. ERM proteins and merlin: integrators at the cell cortex. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002;3:586-599.
16. Carlson CS, Eberle MA, Rieder MJ, et al. Additional SNPs and linkage-disequilibrium analyses are necessary for whole-genome association studies in humans. *Nat Genet*. 2003;33:518-521.
17. Catto JW, Xinarianos G, Burton JL, et al. Differential expression of hMLH1 and hMSH2 is related to bladder cancer grade, stage and prognosis but not microsatellite instability. *Int J Cancer*. 2003;105:484-490.
18. Cormio L, Tolve I, Annese P, et al. Altered p53 and pRb expression is predictive of response to BCG treatment in T1G3 bladder cancer. *Anticancer Res*. 2009;29:4201-4204.
19. Curto M, McClatchey AI. Ezrin...a metastatic determinant? *Cancer Cell*. 2004;5:113-114.
20. Davis BN, Hilyard AC, Lagna G, et al. SMAD proteins control DROSHA-mediated microRNA maturation. *Nature*. 2008;454:56-61.
21. de Boer EC, de Jong WH, van der Meijden AP, et al. Leukocytes in the urine after intravesical BCG treatment for superficial bladder cancer. A flow cytometric analysis. *Urol Res*. 1991;19:45-50.
22. De Boer EC, Rooijackers SJ, Schamhart DH, et al. Cytokine gene expression in a mouse model: the first instillations with viable bacillus Calmette-Guerin determine the succeeding Th1 response. *J Urol*. 2003;170:2004-2008.
23. de Visser KE, Eichten A, Coussens LM. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nat Rev Cancer*. 2006;6:24-37.
24. de Visser KE, Kast WM. Effects of TGF-beta on the immune system: implications for cancer immunotherapy. *Leukemia*. 1999;13:1188-1199.
25. Esuvaranathan K, Chiong E, Thamboo TP, et al. Predictive value of p53 and pRb expression in superficial bladder cancer patients treated with BCG and interferon-alpha. *Cancer*. 2007;109:1097-1105.
26. Fernandez-Gomez J, Madero R, Solsona E, et al. Predicting nonmuscle invasive bladder cancer recurrence and progression in patients treated with bacillus Calmette-Guerin: the CUETO scoring model. *J Urol*. 2009;182:2195-2203.
27. Fyfe G, Fisher RI, Rosenberg SA, et al. Results of treatment of 255 patients with metastatic renal cell carcinoma who received high-dose recombinant interleukin-2 therapy. *J Clin Oncol*. 1995;13:688-696.
28. Gangwar R, Ahirwar D, Mandhani A, et al. Impact of nucleotide excision repair ERCC2 and base excision repair APEX1 genes polymorphism and its association with recurrence after adjuvant BCG immunotherapy in bladder cancer patients of North India. *Med Oncol*. 27:159-166.
29. Gangwar R, Mandhani A, Mittal RD. XPC gene variants: a risk factor for recurrence of urothelial bladder carcinoma in patients on BCG immunotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol*. 136:779-786.
30. Gu J, Zhao H, Dinney CP, et al. Nucleotide excision repair gene polymorphisms and recurrence after treatment for superficial bladder cancer. *Clin Cancer Res*. 2005;11:1408-1415.
31. Harlan DM, Kirk AD. The future of organ and tissue transplantation: can T-cell costimulatory pathway modifiers revolutionize the prevention of graft rejection? *JAMA*. 1999;282:1076-1082.
32. Herr HW. Age and outcome of superficial bladder cancer treated with bacille Calmette-Guerin therapy. *Urology*. 2007;70:65-68.
33. Herr HW. Restaging transurethral resection of high risk superficial bladder cancer improves the initial response to bacillus Calmette-Guerin therapy. *J Urol*. 2005;174:2134-2137.
34. Herr HW, Donat SM, Dalbagni G. Can restaging transurethral resection of T1 bladder cancer select patients for immediate cystectomy? *J Urol*. 2007;177:75-79; discussion 79.
35. Herr HW, Morales A. History of bacillus Calmette-Guerin and bladder cancer: an immunotherapy success story. *J Urol*. 2008;179:53-56.
36. Kakiashvili DM, van Rhijn BW, Trottier G, et al. Long-term follow-up of T1 high-grade bladder cancer after intravesical bacille Calmette-Guerin treatment. *BJU Int*. 107:540-546.
37. Kavoussi LR, Brown EJ, Ritchey JK, et al. Fibronectin-mediated Calmette-Guerin bacillus attachment to murine bladder mucosa. Requirement for the expression of an antitumor response. *J Clin Invest*. 1990;85:62-67.
38. Kemp TJ, Ludwig AT, Earel JK, et al. Neutrophil stimulation with Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guerin (BCG) results in the release of functional soluble TRAIL/Apo-2L. *Blood*. 2005;106:3474-3482.

39. Kim YJ, Ha YS, Kim SK, et al. Gene signatures for the prediction of response to Bacillus Calmette-Guerin immunotherapy in primary pT1 bladder cancers. *Clin Cancer Res.* 16:2131-2137.
40. Kumar A, Dubey D, Bansal P, et al. Urinary interleukin-8 predicts the response of standard and low dose intravesical bacillus Calmette-Guerin (modified Danish 1331 strain) for superficial bladder cancer. *J Urol.* 2002;168:2232-2235.
41. Leuret T, Becette V, Barbagelatta M, et al. Correlation between p53 over expression and response to bacillus Calmette-Guerin therapy in a high risk select population of patients with T1G3 bladder cancer. *J Urol.* 1998;159:788-791.
42. Leuret T, Becette V, Herve JM, et al. Prognostic value of MIB-1 antibody labeling index to predict response to Bacillus Calmette-Guerin therapy in a high-risk selected population of patients with stage T1 grade G3 bladder cancer. *Eur Urol.* 2000;37:654-659.
43. Lopez-Beltran A, Luque RJ, Alvarez-Kindelan J, et al. Prognostic factors in stage T1 grade 3 bladder cancer survival: the role of G1-S modulators (p53, p21Waf1, p27kip1, Cyclin D1, and Cyclin D3) and proliferation index (ki67-MIB1). *Eur Urol.* 2004;45:606-612.
44. Losa A, Hurle R, Lembo A. Low dose bacillus Calmette-Guerin for carcinoma in situ of the bladder: long-term results. *J Urol.* 2000;163:68-71; discussion 71-62.
45. Ludwig AT, Moore JM, Luo Y, et al. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand: a novel mechanism for Bacillus Calmette-Guerin-induced antitumor activity. *Cancer Res.* 2004;64:3386-3390.
46. Luftenegger W, Ackermann DK, Futterlieb A, et al. Intravesical versus intravesical plus intradermal bacillus Calmette-Guerin: a prospective randomized study in patients with recurrent superficial bladder tumors. *J Urol.* 1996;155:483-487.
47. Luo Y, Chen X, Downs TM, et al. IFN-alpha 2B enhances Th1 cytokine responses in bladder cancer patients receiving Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guerin immunotherapy. *J Immunol.* 1999;162:2399-2405.
48. Mittal RD, Singh R, Manchanda PK, et al. XRCC1 codon 399 mutant allele: a risk factor for recurrence of urothelial bladder carcinoma in patients on BCG immunotherapy. *Cancer Biol Ther.* 2008;7:645-650.
49. Morales A, Eidinger D, Bruce AW. Intracavitary Bacillus Calmette-Guerin in the treatment of superficial bladder tumors. *J Urol.* 1976;116:180-183.
50. Morales A, Eidinger D, Bruce AW. Intracavitary Bacillus Calmette-Guerin in the treatment of superficial bladder tumors. 1976. *J Urol.* 2002;167:891-893; discussion 893-895.
51. Palou J, Algaba F, Vera I, et al. Protein expression patterns of ezrin are predictors of progression in T1G3 bladder tumours treated with nonmaintenance bacillus Calmette-Guerin. *Eur Urol.* 2009;56:829-836.
52. Peyromaure M, Weibing S, Sebe P, et al. Prognostic value of p53 overexpression in T1G3 bladder tumors treated with bacillus Calmette-Guerin therapy. *Urology.* 2002;59:409-413.
53. Pikarsky E, Porat RM, Stein I, et al. NF-kappaB functions as a tumour promoter in inflammation-associated cancer. *Nature.* 2004;431:461-466.
54. Pollard JW. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis. *Nat Rev Cancer.* 2004;4:71-78.
55. Ponticello A, Perna F, Maione S, et al. Analysis of local T lymphocyte subsets upon stimulation with intravesical BCG: a model to study tuberculosis immunity. *Respir Med.* 2004;98:509-514.
56. Risch NJ. Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature.* 2000;405:847-856.
57. Saban MR, Simpson C, Davis C, et al. Discriminators of mouse bladder response to intravesical Bacillus Calmette-Guerin (BCG). *BMC Immunol.* 2007;8:6.
58. Sagnak L, Ersoy H, Ozok U, et al. Predictive value of urinary interleukin-8 cutoff point for recurrences after transurethral resection plus induction bacillus Calmette-Guerin treatment in non-muscle-invasive bladder tumors. *Clin Genitourin Cancer.* 2009;7:E16-23.
59. Saint F, Le Frere Belda MA, Quintela R, et al. Pretreatment p53 nuclear overexpression as a prognostic marker in superficial bladder cancer treated with Bacillus Calmette-Guerin (BCG). *Eur Urol.* 2004;45:475-482.
60. Saint F, Patard JJ, Irani J, et al. Leukocyturia as a predictor of tolerance and efficacy of intravesical BCG maintenance therapy for superficial bladder cancer. *Urology.* 2001;57:617-621; discussion 621-612.
61. Saint F, Patard JJ, Maille P, et al. Prognostic value of a T helper 1 urinary cytokine response after intravesical bacillus Calmette-Guerin treatment for superficial bladder cancer. *J Urol.* 2002;167:364-367.
62. Saint F, Salomon L, Quintela R, et al. Do prognostic parameters of remission versus relapse after Bacillus Calmette-Guerin (BCG) immunotherapy exist? A analysis of a quarter century of literature. *Eur Urol.* 2003;43:351-360; discussion 360-351.
63. Schamhart DH, de Boer EC, de Reijke TM, et al. Urinary cytokines reflecting the immunological response in the urinary bladder to biological response modifiers: their practical use. *Eur Urol.* 2000;37 Suppl 3:16-23.
64. Schoppmann SF, Birner P, Stockl J, et al. Tumor-associated macrophages express lymphatic endothelial growth factors and are related to peritumoral lymphangiogenesis. *Am J Pathol.* 2002;161:947-956.
65. Shahin O, Thalmann GN, Rentsch C, et al. A retrospective analysis of 153 patients treated with or without intravesical bacillus Calmette-Guerin for primary stage T1 grade 3 bladder cancer: recurrence, progression and survival. *J Urol.* 2003;169:96-100; discussion 100.
66. Sheng H, Shao J, Morrow JD, et al. Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E2 in human colon cancer cells. *Cancer Res.* 1998;58:362-366.
67. Shintani Y, Sawada Y, Inagaki T, et al. Intravesical instillation therapy with bacillus Calmette-Guerin for superficial bladder cancer: study of the mechanism of bacillus Calmette-Guerin immunotherapy. *Int J Urol.* 2007;14:140-146.
68. Siegel PM, Massague J. Cytostatic and apoptotic actions of TGF-beta in homeostasis and cancer. *Nat Rev Cancer.* 2003;3:807-821.
69. Simons MP, O'Donnell MA, Griffith TS. Role of neutrophils in BCG immunotherapy for bladder cancer. *Urol Oncol.* 2008;26:341-345.
70. Steinman RM. The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu Rev Immunol.* 1991;9:271-296.
71. Sylvester RJ, van der MA, Lamm DL. Intravesical bacillus Calmette-Guerin reduces the risk of progression in patients with superficial bladder cancer: a meta-analysis of the published results of randomized clinical trials. *J Urol.* 2002;168:1964-1970.
72. Sylvester RJ, van der Meijden AP, Oosterlinck W, et al. The side effects of Bacillus Calmette-Guerin in the treatment of Ta T1 bladder cancer do not predict its efficacy: results from a European Organisation for Research and Treatment of Cancer Genito-Urinary Group Phase III Trial. *Eur Urol.* 2003;44:423-428.
73. Takahashi R, Hashimoto T, Xu HJ, et al. The retinoblastoma gene functions as a growth and tumor suppressor in human bladder carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88:5257-5261.
74. Takashi M, Wakai K, Hattori T, et al. Multivariate evaluation of factors affecting recurrence, progression, and survival in patients with superficial bladder cancer treated with intravesical bacillus Calmette-Guerin (Tokyo 172 strain) therapy: significance of concomitant carcinoma in situ. *Int Urol Nephrol.* 2002;33:41-47.
75. Takayama H, Nishimura K, Tsujimura A, et al. Increased infiltration of tumor associated macrophages is associated with poor prognosis of bladder carcinoma in situ after intravesical bacillus Calmette-Guerin instillation. *J Urol.* 2009;181:1894-1900.
76. Thalmann GN, Dewald B, Baggolini M, et al. Interleukin-8 expression in the urine after bacillus Calmette-Guerin therapy: a potential prognostic factor of tumor recurrence and progression. *J Urol.* 1997;158:1340-1344.
77. Thalmann GN, Sermier A, Rentsch C, et al. Urinary Interleukin-8 and 18 predict the response of superficial bladder cancer to intravesical therapy with bacillus Calmette-Guerin. *J Urol.* 2000;164:2129-2133.
78. Thorsby E. A short history of HLA. *Tissue Antigens.* 2009;74:101-116.
79. Videira PA, Calais FM, Correia M, et al. Efficacy of bacille Calmette-Guerin immunotherapy predicted by expression of antigen-presenting molecules and chemokines. *Urology.* 2009;74:944-950.
80. Wojtowicz-Praga S. Reversal of tumor-induced immunosuppression by TGF-beta inhibitors. *Invest New Drugs.* 2003;21:21-32.
81. Wu X, Zhao H, Wei Q, et al. XPA polymorphism associated with reduced lung cancer risk and a modulating effect on nucleotide excision repair capacity. *Carcinogenesis.* 2003;24:505-509.
82. Zhao W, Schorey JS, Groger R, et al. Characterization of the fibronectin binding motif for a unique mycobacterial fibronectin attachment protein, FAP. *J Biol Chem.* 1999;274:4521-4526.
83. Zhou BB, Zhang H, Damelin M, et al. Tumour-initiating cells: challenges and opportunities for anticancer drug discovery. *Nat Rev Drug Discov.* 2009;8:806-823.
84. Zlotta AR, Noel JC, Fayt I, et al. Correlation and prognostic significance of p53, p21WAF1/CIP1 and Ki-67 expression in patients with superficial bladder tumors treated with bacillus Calmette-Guerin intravesical therapy. *J Urol.* 1999;161:792-798.
85. Zlotta AR, Van Vooren JP, Denis O, et al. What are the immunologically active components of bacille Calmette-Guerin in therapy of superficial bladder cancer? *Int J Cancer.* 2000;87:844-852.