

BCG, MITOMYCIN-C VE THIOTEPA'NIN TAVŞANLARDA MESANE EPİTELİNE ETKİLERİ

Dr. Azam DEMİREL (x)
Dr. Özkan POLAT (x)
Dr. Cemal GÜNDOĞDU (xx)
Dr. Yılmaz BAYRAKTAR (xxx)
Dr. Mustafa ÖZBİLGE (xxxx)
Dr. Osman GÜL (xxxxx)

ÖZET :

Yüzeyel mesane tümörlerinin tedavisinde kullanılan BCG, mitomycin-C (MMC) ve thiotepanın (TTPA) tavşanlarda normal mesane epiteline olan etkilerini araştırmak amacıyla bu çalışma düzenlendi. Epitelyal hiperplazi ve subepitelyal mononükleer hücre infiltrasyonu bütün gruplarda ortak bulguları. MMC grubunda % 40 oranında epitelyal displazi görülürken, TTPA grubunda % 20 oranında fibroplastik atipi (displazi) gözlemlendi. BCG grubunda ise ne ürotelyal ne de fibroplastik displazi gözlemlendi.

Bu sonuçlar ve diğer çalışmalar intravezikal kemoterapi yapılan hastalarda yakın takibin ve belli periyotlarla random mesane biyopsilerinin gerekli olacağını göstermektedir.

GİRİŞ :

Batı dünyasında tüm mesane malignansilerinin yaklaşık % 95'ini değişici epitel hücreli karsinomlar oluşturmaktadır (1). Değişici epitel hücreli karsinomlarının yükselen insidansı ve prevalansı yaş ortalamasındaki artışa ve toplumun endüstriyel ve çevresel karsinojenlere daha fazla oranda maruz kalmasına bağlıdır (2,3). Yüzeyel tanımı tümörün kas invazyonu göstermeden mukoza ve mukoza altında sınırlı olmasıdır (TNM tasnifine göre C_{1s}, T_a, T₁, Jevette- Strong- Marshall tasnifine göre O ve A evreleri yüzeyel mesane kanseridir) (5).

(x) Atatürk Üni. Tıp Fak. Üroloji Anabilim Dalı Yardımcı Doçenti.

(xx) Atatürk Üni. Tıp Fak. Patoloji Anabilim Dalı Yardımcı Doçenti.

(xxx) Atatürk Üni. Tıp Fak. Üroloji Anabilim Dalı Profesörü

(xxxx) Atatürk Üni. Tıp Fak. Üroloji Anabilim Dalı Uzmanı

(xxxxx) Atatürk Üni. Tıp Fak. Üroloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi

Yüzeyel mesane tümörlerinin ilk tedavi seçeneği tüm görünen lezyonların transüretal rezeksiyonu (TUR) tümör kenarından ve tabanından biyopsi alınmasıdır (6). Yüzeyel mesane tümöründe en sık rastlanan problem TUR ve fulgürasyondan sonra yüksek rekürrens insidansıdır. Bu yüksek rekürrens oranı tümörün çok odaklı oluşu yada harap olmuş ürotelyum üzerine saçılan tümör hücrelerinin implantasyonu ile izah edilmektedir (7). Yüksek rekürrens ve ilerlemenin diğer bir açıklaması da ürotelyum karsinomlarının polikronotopik karakteridir (8). Komplet TUR'dan sonra bile tümör rekürrensi % 50- 80'dir (9-12). Yüzeyel mesane kanserlerindeki bu yüksek rekürrens azaltmak ve rekürrensten arınmış periyodu uzatmak amacıyla son 40 yıldır bir çok ajan TUR sonrasında mesane içine uygulanmıştır. Alkilleyici, antibiyotik, antimetabolik, ve antimikotik gruptan bir çok ilaç yararları yönünden incelenmiştir. Ancak bunların bir kısmı zararlı etkileri nedeniyle terk edilmiştir. Bunlardan fenol şiddetli mesane kontraktürüne ve podofillin mesane irritasyonuna yol açtığı için kullanılmamaktadır. (7). Bir çok ilaç arasından yararlı etki ve toksisitesinin az oluşu bakımından en çok kullanılan intravezikal kemoterapotikler; adriamisin, epodyl, mitomycine (MMC), thiotepa (TTPA), epi-doxorubisin, cis platinum, ve BCG dir (5).

Intravezikal kemoterapotik ajanların normal ürotelyum üzerine olan direk etkilerini araştırıcı çalışmalar oldukça sınırlıdır (7). Kliniğimizde yüzeyel mesane tümörlerinde en çok kullanılan BCG, MMC, ve TTPA'nın tavşan mesanesinde oluşturduğu mikroskopik değişiklikleri incelemek amacıyla bu çalışma düzenlendi. Intravezikal ajanların mesaneye uygulanış şekli başlangıçta haftada bir olmak üzere 6 defa, daha sonra ayda bir olmak üzere 6 defa ve toplam 12'dir. Bizim çalışmamızda uygulama ise haftada bir olmak üzere 4 defadır. Dolayısıyla bu çalışmanın sonuçları bir ön rapor olarak kabul edilmelidir.

MATERYAL VE METOD:

Bu çalışmada 20 adet Yeni Zelanda ırkı beyaz tavşan denek olarak kullanıldı. Hayvanlar Erzurum Hayvan Araştırma Merkezin'den temin edildi. Denek olarak kullanılan bu tavşanlar bir yaşında ve 2000-2500 gm ağırlığındaydı. Hayvanlar 4 deney grubuna ayrıldı. Kontrol grubunda mesane içine hiç bir ajan verilmedi. 5 tavşanın mesanesine 3'er ml yaklaşık 8 mg Connaugh tipi BCG verildi (Connaugh Laboratories Limited A Pasteur Merieux Company, Canada). 5 tavşanın mesanesine bir mg MMC ve 5 tavşanın mesanesini de 3'er mg TTPA verildi İnstillasyon için 5 G beslenme sondası kullanıldı. Üretra civarı ve meası % 0.1'lik zefirol solüsyonu ile steril edildi. Kateter koyma ve instillasyon işlemleri mümkün olduğu kadar steril şartlarda yapıldı.

Hayvanların anestezisi için 50 mg/kg ketamin (Ketalar) kullanıldı. Mesane içine ilaç verildikten sonra beslenme sondası klemplendi ve böylece verilen ajanların mesane içinde kalması sağlandı. Verilen ajanların tüm mesane yüzeyine etkisini temin için tavşanlar sırtüstü, yüzükoyun, sağ yan ve sol yan pozisyonlarda 15 dakika süreyle tutuldu. Böylece verilen ajanın bir saat süreyle mesane mukozası ile teması sağlandı ve daha sonra kateter çekildi. Bu işlemler bir hafta süreyle 4 kez tekrarlandı. 4 hafta sonra tavşanların mesanesi çıkarılarak histopatolojik

incelemeye alındı. BCG grubunda 2 tavşan, 4 haftalık süre tamam olmadan öldü. Çıkarılan mesaneler açıldıktan sonra formalin solüsyonunda tespit edildi. 6 mikron kalınlığındaki kesitler BCG grubunda PAS boyası ile kontrol, MMC ve TTPA grubundakiler ise Hematoxilen-Eosin boyası ile boyandı. ve ışık mikroskopunda incelendi.

BULGULAR :

Çıkarılan tavşan mesaneleri iltihabi bulgular, epitelyal hiperplazi, intramural fibröz plak teşekkülü, ve ürotelyal displazi yönünden incelendi. Kontrol grubunda yukarıda belirtilen patolojiler yoktu. Ancak subepitelyal fibröz doku teşekkülü insan mesanesiyle mukayese edildiğinde biraz fazlalık arz ediyordu (Resim-1).

BCG grubunda bütün mesanelerin mikroskopik bulguları benzerdi. Değişici epitelde hafif hiperplazi görüldü. Yapılan PAS boyasında müsin tabakasının incelmesi, epitel altında lenfositlerin çoğunlukta olduğu mononükleer hücre infiltrasyonu ve fibröz dokuda artış gözlemlendi. BCG grubunda diğer bir bulgu da bütün epitel yüzeyinde bol miktarda bakterilerin bulunmasıydı (Resim-2).

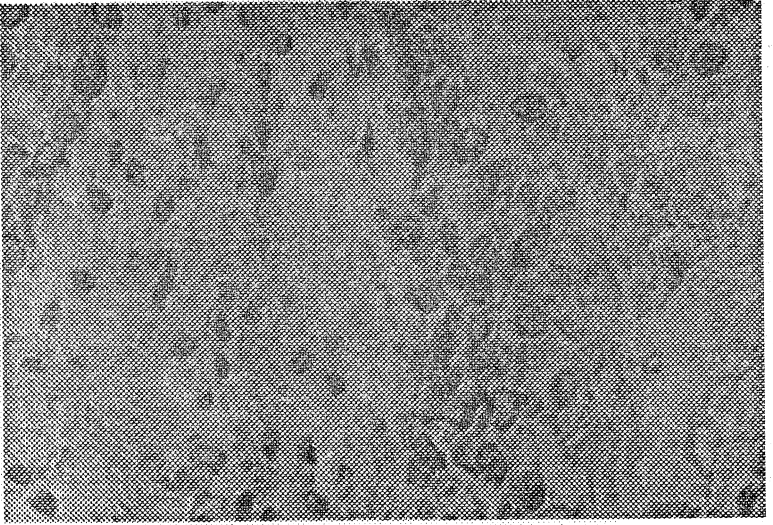
TTPA grubunda mikroskopik bulgular tavşanlara göre değişiklik gösterdi. 2 mesanede (% 40) şiddetli (Resim - 37, 1 mesanede (% 20) hafif olmak üzere % 60'ında hiperplazi gözlemlendi. 2 tavşanda ise (% 40) hafif derecede displazi gözlemlendi. Yine TTPA grubunda bir mesanede (% 20) displazik değişiklik gösteren ileri ölçüde artmış fibröz doku gözlemlendi (Resim-4). TTPA grubunda 2 mesanede (% 40) ise displazik değişiklik göstermeyen intramural fibröz doku artışı gözlemlendi. TTPA grubundaki bütün mesanelerde subepitelyal az sayıda mononükleer hücre infiltrasyonu diğer bir bulguydu.

MMC grubunda bütün mesanelerde (% 100) orta şiddetli bir hiperplazi, 1 mesanede (% 20) şiddetli (Resim -5) ve 1 mesanede (% 20) hafif displazi (atipi) gözlemlendi. MMC grubunda bütün mesanelerde hafif derecede mononükleer hücre infiltrasyonu ve intramural fibröz doku artışı gözlemlendi. Bir tavşanda (% 20) fibröz doku artışı hafif displazi ile birlikteydi.

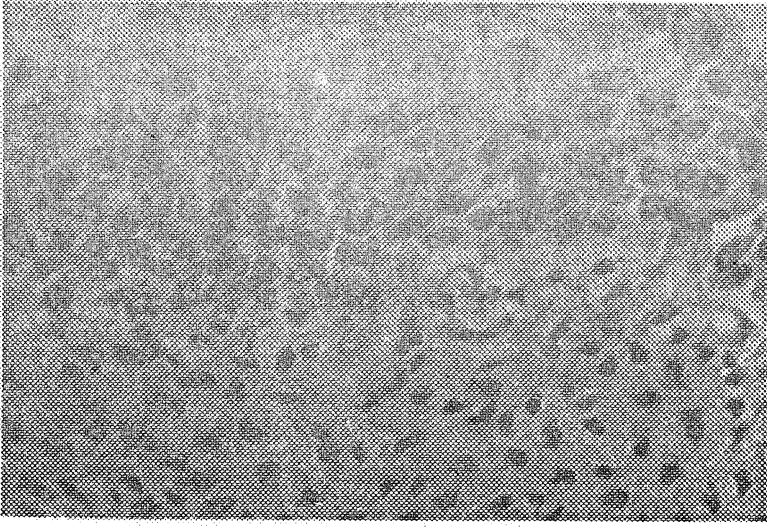
BCG, TTPA ve MMC gruplarında ortak mikroskopik özellik; değişik derecelerde olmak üzere epitelyal hiperplazinin ve epitel altında mononükleer hücre infiltrasyonunun görülmesiydi. MMC grubundaki bir mesanede şiddetli ürotelyal displazi (atipi) ve TTPA grubundaki bir mesanede displazik değişiklik gösteren fibröz doku bulunması bu çalışmada dikkat çeken en önemli bulgulardır.



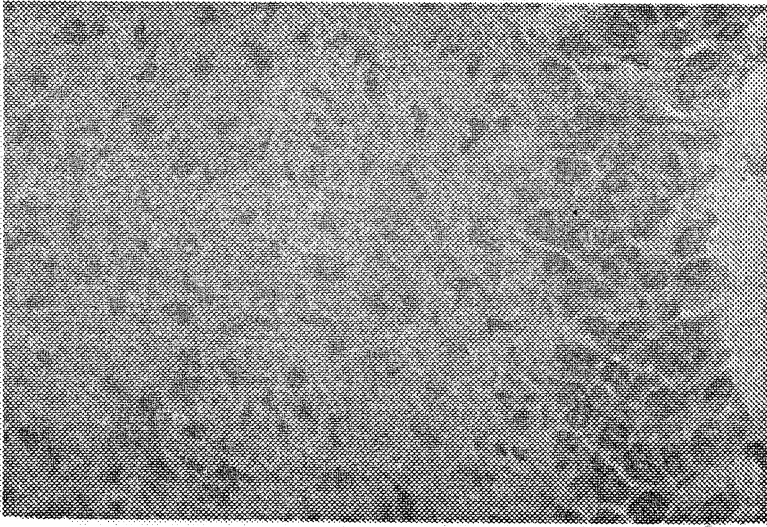
Resim-1: Kontrol grubundaki normal mesane epiteli (HE X 100).



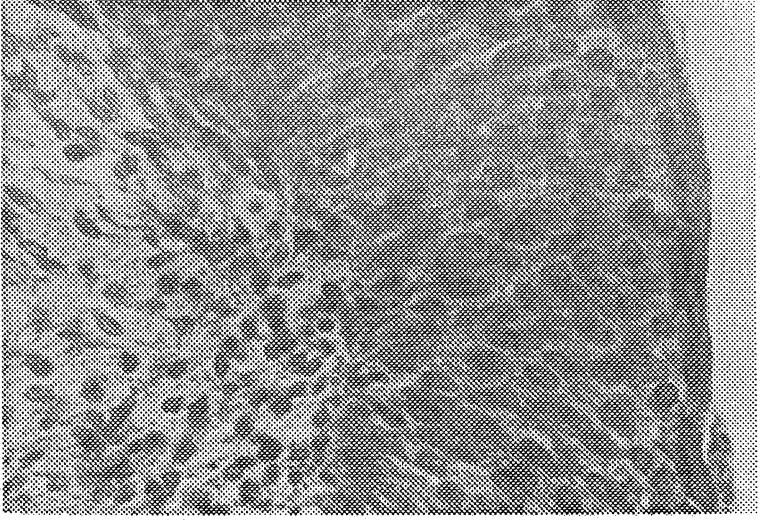
Resim-2: BCG grubundaki mesane epiteli ve bakteri kümeleri görülmektedir (HE X 400).



Resim-3: TTPA grubunda şiddetli hiperplazi görünümü (HE X 400)



Resim-4: TTPA grubunda displazik değişiklik gösteren artmış fibröz doku görülmektedir (HE X 400)



Resim-5: MMC grubunda şiddetli ürotelyal displazi görülmektedir (HE X 400)

TARTIŞMA :

Intravezikal kemoterapi son 40 yıldan beri lokal rezeksiyona adjuvant olarak kullanılmaktadır. Verilen sitotoksik ajanın neoplastik doku tarafından yüksek bir oranda tutulması ve aynı zamanda sistemik toksisitesinin ve lokal semptomatik reaksiyonların minimal olması beklenen optimum durumdur.

Burada akla gelen soru yüzeysel mesane tümörlerinin tedavisinde kullanılan bu ajanların bizzat kendilerinin normal epitelyumda meydana getirdikleri değişikliğin ne olduğudur.

Fairchild ve arkadaşları (13) çeşitli malignansilerin tedavisinde kullanılan Cytoxan'ın mesane kanserlerine yol açtığını belirtmişlerdir. Soloway (14,15) ve Rubben (16,17) yaptıkları deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılan intravezikal ajanların karsinojenik etki gösterebileceğini ortaya koymuşlardır. Yine Soloway ve Hardeman (18) Formamide maddesinin mesane kanserine yol açtığını rapor etmişlerdir.

Friedman ve arkadaşları (7) intravezikal kemoterapotik ajanların (MMC, TTPA, adriamisin) sıçanlarda normal ürotelyum üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla 107 sıçanı kapsayan ve bu konudaki çalışmalara ışık tutabilecek çok geniş çaplı bir araştırma yapmışlardır. Bu çalışmada MMC, TTPA ve adriamycin haftada bir kez olmak üzere 8 hafta süreyle sıçan mesaneleri içine verilmiş ve bu ajanların mesanede meydana getirdiği değişiklikler 12 ay süreyle takip edilmiştir.

Friedman ve arkadaşlarının bu çalışmaların sonucunda; bütün gruplarda belli derecelerde olmak üzere kronik enflamasyon ve ürotelyal hiperplazi bulguları; MMC grubunda % 46 oranında ürotelyal atipi ve % 46 oranında ise fibroplastik atipi tespit etmişlerdir TTPA grubunda % 8 ürotelyal atipi görülürken, adriamycin grubunda ürotelyal ve fibroplastik atipiye rastlamamışlardır.

Biz çalışmamızda MMC ve TTPA'ya ilaveten BCG'nin normal ürotelyumdaki etkilerini araştırdık. İntrakaviter BCG uygulamasından sonra mesane mokozasının patolojik incelemesinde subürotelyal dokuda mononükleer hücre infiltrasyonu, follikül benzeri granülatöz yapı oluşumu ve yardımcı T/Baskılayıcı T hücre oranında tedavi öncesine göre 4 kat artış olduğu gösterilmiştir (19,20). İnsanlarda intrakaviter BCG kullanımı sırasında ateş, granülatöz prostatit, sepsis, deri döküntüleri, kontrakte mesane ve sitopeni gibi komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir. Brosman ve arkadaşları intravezikal BCG uygulaması sırasında ölümle sonuçlanan 7 sepsis olgusu bildirilmişlerdir (21). BCG grubundaki iki tavşanın ölmesi muhtemelen sepsisle ilişkilidir. BCG grubundaki diğer 3 mesanenin incelenmesinde böl miktarda bakteri görülmesi de bunu teyit etmektedir. BCG grubunda subepitelyal dokuda lenfosit ağırlıklı mononükleer hücre infiltrasyonunun görülmesi beklenen bir sonuçtur. Tipik tüberküloz granülomlarının teşekkül etmemesi sistektomilerin bir ay gibi kısa bir zamanda yapılmasıyla izah edilebilir. BCG grubumuzda en önemli bulgu, MMC ve TTPA grubunun aksine hiçbir displazik değişikliğin olmamasıdır. Literatürde de intrakaviter BCG'nin displazik değişikliklere yol açtığını bildiren herhangi bir bilgiye rastlamadık.

MMC grubundaki mesanelerden birinde şiddetli, birinde hafif olmak üzere % 40 oranında ürotelyal displazinin gözlenmesi oldukça önemlidir. Bu displazik değişikliklerin bir ay gib i kısa zamanda meydana gelmesi verilen 1 mg lık dozun tavşan mesanesinde yüksek kanserojen etki gösterdiğini düşündürmektedir. Friedman ve arkadaşlarının (7) MMC grubunda % 46 ürotelyal ve % 46 fibroplastik displazi tespit etmiş olmaları ve % 4 olguda ürotelyal displazinin carcinoma in situ (Cis) şekline dönüşmesi bu görüşümüzü desteklemektedir. TTPA grubundaki bir mesanede (% 20) fibroplastik displazi görülmesi Friedman ve arkadaşlarının bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda denek olarak kullanılan tavşanların sayısının oldukça az olması ve intravezikal ajanların uygulanışının kısa bir süreyi kapsamaması, ayrıca takip süresinin yetersiz oluşu nedeniyle elde ettiğimiz bu sonuçlar bir ön rapor niteliği taşımaktadır. Bu konuda daha kapsamlı klinik ve eksperimental çalışmalara ihtiyaç vardır.

Elde ettiğimiz bu sonuçlar ve literatür bilgileri intravezikal kemoterapi sırasında özellikle MMC ve TTPA uygulananlarda hastaların yakın takibinin ve mesaneden belli aralıklara biyopsi alınmasının gerekli olduğunu ortaya koymaktadır.

SUMMARY :

THE EFFECT OF INTRAVESICAL INSTILLATION OF BCG, MITOMYCIN-C AND THIOTEPA ON BLADDER EPITELIUM IN RABBITS

The effects of intravesical instillation of BCG, mitomycin-C (MMC) and thiotepa (TTPA) on the normal bladder epithelium were studied in rabbits. Epithelial hyperplasia and subepithelial mononuclear cell infiltration were the common microscopic changes in all groups.

In 40 % of MMC treated animals there was epithelial dysplasia whereas in the group of TTPA 20 % of bladders showed fibroblastic dysplasia. None of the rabbits treated with BCG showed epithelial or fibroblastic dysplasia.

These results and the several other studies suggest that the patients having been treated with intravesical chemotherapy should be monitored closely and random bladder biopsies should be employed during the follow-up period.

KAYNAKLAR :

1. Heikkinen A. Epithelial tumours of the urinary bladder. A clinical study. Thesis. Helsinki. University of Helsinki 1984.
2. Hakulinen T, Andersen AA, Malker B, Pukkala E, Schou G, Tulinius H. Trends in cancer incidence in the nordic countries. A collaborative study of the five nordic cancer registres. Acta Pathol Scand 1986; 94: 75-77, 136-137.
3. Silverberg E, Statistical and epidemiologic data on urologic cancer. Cancer 1987; 60: 692-718.
4. Carbin B- E. Prognostic factors in urinary bladder cancer. Thesis. Stochalm, Kongl, Karolinska Medico Chirurgiska Institutet 1990.
5. Boiffioux Ch. Intravesical adjuvant treatment in superficial bladder cancer. Scand J Urol Nephrol Suppl 1991; 138: 167-177.
6. Flamm J, Bucher A. Adjuvant topical chemotherapy versus immunotherapy in primary superficial transitional cell carcinoma of the bladder. British Journal of Urology 1991; 67: 70-73.
7. Friedman D, Mooppan Unni MM, Rosen Y, Kim H. The effect of intravesical instillations of thiotepa, mitomycin C, and adriamycin on normal urothelium: An experimental study in rats. The Journal of Urology 1991; 145: 1060-1063.
8. kondas J, Szentgyörgyi E, Szecsö L, Konder Gy. Local BCG therapy of Superficial bladder tumours. International Urology and Nephrology 1991; 23 (5): 441-447.

9. Cutler S, Heney N m, Friedell G H (1982). Longitudinal study of patients with bladder cancer: factors associated with disease recurrence and progression. In AUA Monograph, Bladder Cencer, ed. Bonney W. W. and Prout, G.r., Chapter 4, pp. 35-41. Baltimore: William and Wilkins.
10. Heney N M, Nocks B N, Daly J J, et al. (1982). Ta and T₁ bladder cancer: location, recurrence and progression. Br. J. Urol., 54: 152-157.
11. Lutzeyer W, Rübben H, Dahm H. (1982). Prognostic parameters in superficial bladder cancer: an analysis of 315 cases. J. Urol., 127: 250-252.
12. dalesio O, Schulman C C, Silvester R et al. (1983). Prognostic factors in superficial bladder tumors. A study of the European Organisation for Research on Treatment of Cancer: Cenitourinary Tract Cancer Cooperative Group. J. Urol., 1290 730- 733.
13. Fairchild W V et al: The incidence of bladder cancer after cyclophosphamide therapy. J. Urol 1979; 122-163.
14. Saloway M S, Matheny R B, Murphy W M.: Is mitomycin C (MMC) a urothelial carcinogen? Abstract 352, AUA annual meetign, 1983.
15. Saloway M S, Murpy W M, DeFuria M D, Croke S T and Finebaum P.: The effect of mitomycin on superficial bladder cancer. J. Urol., 125: 646, 1981.
16. Rubben H, Hannapel J, Lutzeyer W: Bladder tumor introduction by cytotoxic agents- experimental data. Abstract 353, AUA annual meeting, 1983.
17. Rubben H, Hannapel J, Lutzeyer W: Bladder tumor introduction by intravesically applied cytotoxic agents- long term results. Abstract 658, AUA anual meeting, 1984.
18. Saloway M S, Hardeman S W: Animal models in bladder cancer research. In: Scientific Foundations of Urology, 2 nd ed. Chisolm GD, Fair WR (editors) Heinemann Medical Book, 1990.
19. Böhle A, Gerdes J, Ulmer A J, et al. Effects of local Bacillus Calmette Guerin therapy in patients with bladder carcinoma on immunocompetent cells of the bladder wall. J. Urol, 144: 53, 1990.
20. Peuchmaur M, Benoit G, Viellefond A, Chevalier A, Lemaigre G, Martin E D, Jardin A. Analysis of mocosal bladder leucocyte subpopulations in patients treated with intravesical Bacillus Calmetté Guerin. Urol Res 1989; 17: 299-303.
21. Brosman S A, Lamm D L. The preparation, handling and use of intravesical Bacillus Calmette Guerin for the management of stage Ta, T₁, Carcinoma insitu and transitional cell cancer, The Journal of Urology, 1990; 144: 313-315.