

84 İntravezikal Bacillus Calmette-Guerin Uygulaması ile Mesanede Oluşan Ultrastrüktürel Değişiklikler

Gökhan Sönmez, Abdullah Demirtaş

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

Özet

Kas invazyonu göstermeyen mesane kanserlerinin tedavi ve profilaksisinde yaygın olarak kullanılan ve etkinliği gösterilmiş olan intravezikal Bacillus Calmette-Guerin (BCG), mesane duvarında makroskopik ve mikroskopik birçok değişiklik meydana getirmektedir. Bu derlemede etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmamış intravezikal immünoterapinin mesanede oluşturduğu ultrastrüktürel değişikliklerin incelenmesi ve literatür hakkında genel bilgiler verilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: İmmünoterapi, BCG, intravezikal, ultrastrüktürel

Giriş

Mesanenin kas invaziv olmayan ürotelyal kanserleri mukozada sınırlı veya submukozayı tutmuş tümörlerdir. Tanı konulduğu anda mesane tümörlerinin %75'ini kas invaziv olmayan tümörler oluşturmaktadır (1).

İlk olarak 1908 ve 1921 yılları arasında Calmette ve Guerin tarafından geliştirilen ve zayıflatılmış canlı Mycobacterium bovis suşu olan BCG, tüberküloza ve intradermal tedavi ile melanoma karşı aşı olarak kullanılmaya başlanmıştır. BCG, yaklaşık 40 yıldır mesane kanserlerinin intravezikal immünoterapisinde kullanılmaktadır. İlk kez 1976 yılında Morales ve ark. (2) tarafından nüks eden yüzeysel mesane kanserlerinde intravezikal olarak uygulanmış olup kanser nüks oranlarını azalttığı rapor edilmiştir. Sonraki yıllarda bu sonuçlar birçok çalışma ile desteklenerek mesaneye transüretal rezeksiyon (TUR) sonrası uygulanan intrakaviter BCG tedavilerinin yalnız TUR uygulananlara göre bariz olarak, rekürrensi ve progresyonu azalttığı tespit edilmiş (3,4) ve günümüzde intravezikal BCG uygulaması, yaygın olarak kullanılan ve etkinliği gösterilmiş bir tedavi yöntemi haline gelmiştir.

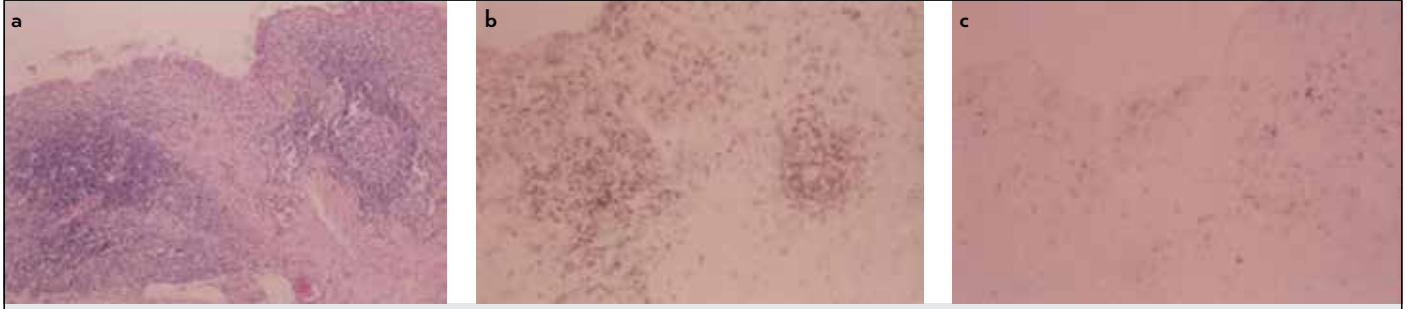
Güncel Avrupa Üroloji Derneği (EAU) kılavuzlarına göre kas invazyonu olmayan mesane kanseri tespit edilen ve orta risk grubunda bulunan hastalara 1 yıllık intravezikal

BCG veya 1 yıllık intravezikal kemoterapi önerilirken yüksek risk grubunda bulunan yüzeysel mesane kanserli hastalara ise 1-3 yıl boyunca intravezikal BCG önerilmektedir (5).

İntravezikal BCG uygulaması, konakta oluşturduğu lokal ve sistemik immün yanıt ile mesane duvarında makroskopik ve mikroskopik birçok değişiklik meydana getirebilmektedir. Bu derlemede mesane kanseri pratiğinde çok önemli bir yer tutan BCG uygulamasının mesane duvarında meydana getirdiği ultrastrüktürel değişiklikler ana hatları ile incelenecektir.

BCG'ye Genel Bakış

Kas invaziv olmayan mesane kanserinde (KİOMK) BCG uygulaması çok yaygın ve etkinliği kabul edilmiş bir yöntem olmakla birlikte etki mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Yapılan hayvan çalışmalarında, BCG'nin immün sistemi aktive ederek etkisini gösterdiği, dolayısıyla terapötik etki için öncelikle aktif bir immün sistem varlığının gerekli olduğu ortaya çıkmıştır (6,7). Kavoussi ve ark. (8) antitümör aktivitenin başlamasında BCG'nin mesane duvarına fibronektin aracılığıyla bağlandığını göstermişlerdir. Mikobakterium bovisde bulunan ve protein antijeni olan "antijen 85 kompleksi", fibronektin'in kollajen bağlanan bölgesine tutunur. Bu antijen; tüberkülozda koruyucu T hücreleriyle ilişkili immün aktif bir protein kompleksi olup



Resim 1. a-c. Hematoksilen-eozin (HE) boyama ile mesanedeki granülom yapıları (X25) ve avidin-biotin-peroksidaz kompleks-glukozoksidaz boyanma ile gösterilmiş (x25) anti-CD4 ile anti-CD8 infiltrasyonu (Shintani et al. 2007)

IL-2 ve IFN-gamayı indükler (9). BCG aktivitesinin temelinde bu mekanizma olup 1970'li yıllardan sonra BCG'nin intravezikal kullanımının başlaması ile birlikte bu konu ilgi odağı haline gelmiş ve konu ile alakalı birçok çalışma yapılmıştır.

Mesane Duvarında Meydana Gelen Değişiklikler

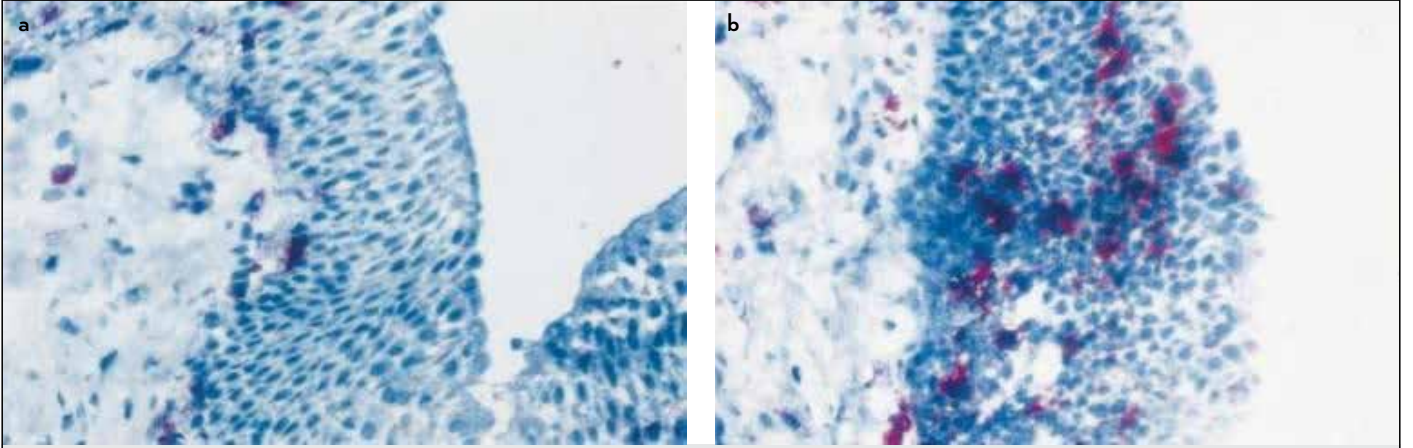
Konak hücrede oluşan immün yanıt mesane duvarında makroskopik ve mikroskopik düzeyde birçok değişiklik meydana getirmektedir. BCG'nin intravezikal uygulanması ile idrarda ve mesane dokusunda sitokin ekspresyonu artar ve mononükleer hücreler ile granüositlerin mesane duvarına infiltrasyonu başlar. Uygulamanın ilk 24 saatinde IL-1, IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, TNF-alfa, INF-gama gibi sitokinlerin düzeyleri artmaya başlar. Bu sitokinlerin düzeylerinin artışı T hücreleri, makrofajları ve diğer immün sistem elemanlarını uyarak BCG'ye karşı oluşan immün yanıtın temelini oluşturmaktadır (10,11).

Honda ve ark. (12) 8 haftalık BCG uygulaması öncesi ve sonrasında 16 hastanın mesane mukozalarından soğuk biyopsi alarak yaptıkları çalışmalarında, mesane duvarında CD3, CD4, CD8, CD19 miktarının tedavi öncesine göre anlamlı oranda arttıklarını ve BCG'nin lenfositleri uyarak hücrel immün yanıtı neden olduklarını göstermişlerdir. Shintani ve ark. (13) da yaptıkları çalışmada 6 haftalık BCG tedavisi sonrası mesane mukozasında granülom yapıları ve CD4 ve CD8 T hücre infiltrasyonu göstermişlerdir (Resim 1).

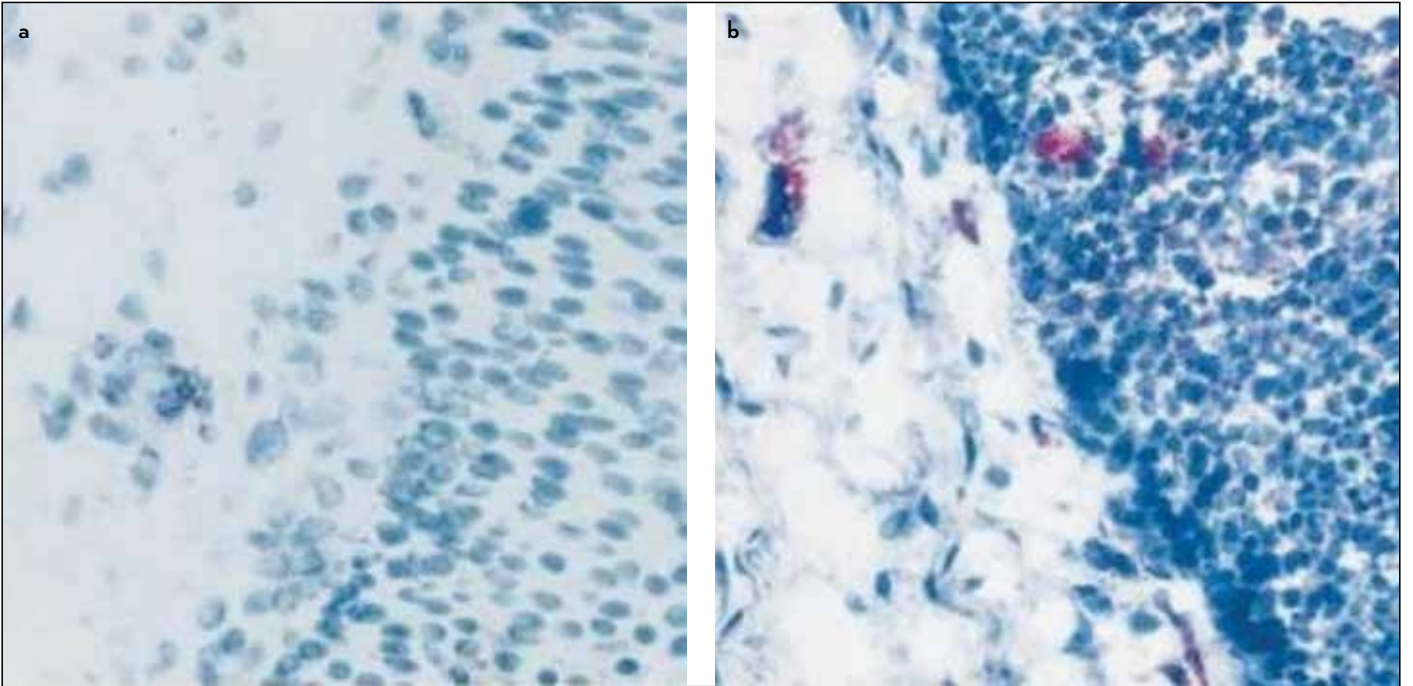
Patard ve ark. (14) ise 1996 yılında yaptıkları çalışmada 6 hafta boyunca 7 hastaya BCG uygulamışlardır. Tedavi öncesi ve tedavi tamamlandıktan 3 hafta sonra bu hastalardan mesane biyopsisi almışlar ve örneklerde CD3, CD4 ve CD8 T hücre infiltrasyonunda önemli artışlar olduğunu göstermişlerdir. Daha önce yapılmış benzer çalışmalarda (15,16) infiltrasyonda CD4 hücre yönünde baskınlık olmasına rağmen bu çalışmada söz konusu T hücreler arasında predominansi

tespit edilmemiştir. Yine aynı çalışmada söz konusu T hücrelerin granülom yapıları oluşturarak özellikle lamina propria tabakası, bazal membran ve ürotelyumda toplandıkları, tedavi öncesi sadece bazal membran komşuluğunda az miktarda MHC-II ekspresyonu izlenirken tedavi sonrası 6 hastanın ürotelyum ve bazal membranları komşuluğunda yüksek düzeyde MHC-II salgılandığı görülmüştür (Resim 2). TAAs (Tumor association antigens) adı verilen ve tümör hücrelerinden salgılan ve konakta bir tür immün sistem uyarıcı madde olan E7, T138, 19A211 gibi küçük moleküllerinde tedavi sonrasında ürotelyumda ortaya çıkabileceği gösterilmiştir (Resim 3-5).

6-8 haftalık fareler ile yapılan bir çalışmada (17) sağlıklı 30 deneklik BCG grubuna 4 hafta intravezikal BCG uygulanmış, sağlıklı 30 deneklik kontrol grubuna ise 4 hafta boyunca haftalık intravezikal salin uygulanarak sistektomi materyalleri karşılaştırılmıştır. Ayrıca 50 faredede mesane tümörü oluşturularak bu deneklerde BCG uygulanmış ve mesaneleri sakrefiye edilerek incelenmiştir. Normal salin verilen grupta mukozada ve özellikle lamina propriada baskılayıcı T hücrelerde (Ts), yardımcı T hücrelerde (Th), makrofajlarda ve NK hücrelerde artış izlenirken, BCG verilen grupta ise Ts hücre artışı izlenmemiştir. Tedavi öncesi normal hücrelerde Th/Ts oranının tedavi süresince arttığı görülmüştür. Böhle ve ark. (15) yaptığı çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiş olup tedavi öncesi Th/Ts oranının 0,5 iken 6 haftalık tedavi sonrası yapılan biyopsilerde bu oranın 2'ye yükseldiğini göstermişlerdir. Ayrıca ürotelyumda epitel benzeri hücrelere transforme olmuş makrofajların kronik enflamasyon sahasına agregasyonu olarak tanımlanan (18) ve granülom adı verilen yapılarının oluştuğunu ve bu değişikliklerin BCG başarısının göstergesi olabileceği fikrini ortaya atmışlardır. Jallad ve ark. (19) bu fikirden yola çıkarak yaptıkları çalışmalarında BCG uyguladıkları 203 hastanın biyopsi materyallerini incelemişler; 60 hastada granülom oluşumu, 125 hastada inflamasyon izlenirken 18 hastada her iki değişikliğinde izlenmediğini



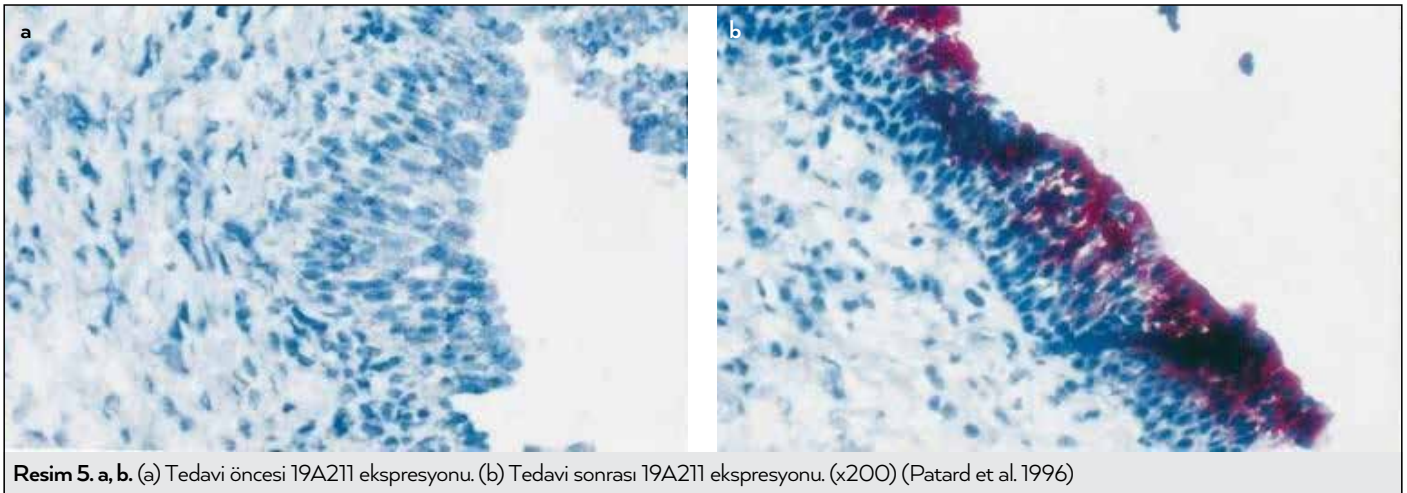
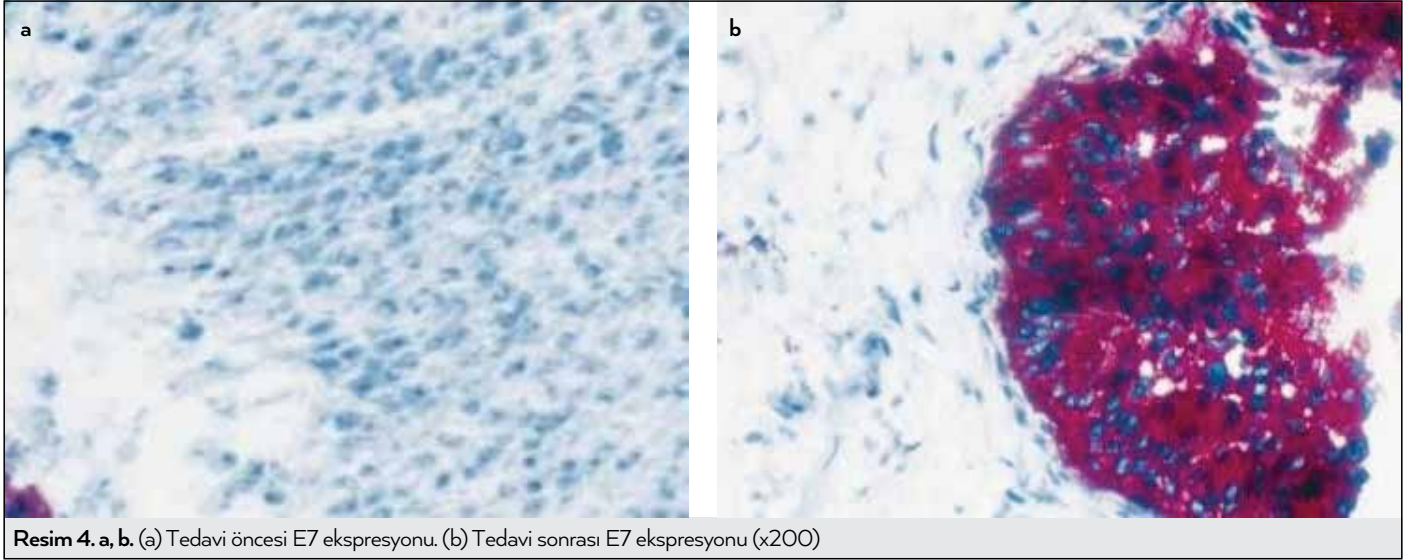
Resim 2. a, b. (a) Tedavi öncesi MHC-II ekspresyonu. (b) Tedavi sonrası MHC-II ekspresyonu (x200). (Patard et al. 1996)



Resim 3. a, b. (a) Tedavi öncesi T138 ekspresyonu. (b) Tedavi sonrası T138 ekspresyonu (x200)

görmüşlerdir. Rekürrens oranları değerlendirildiğinde ise yalnız granülom ve yalnız enflamasyon izlenen gruplarda nüks oranları sırası ile %17 ve %38 izlenirken, değişiklik izlenmeyen grupta nüks oranı %71 tespit edilmiş ($p < 0,001$), progresyon oranlarında granülom oluşan grupta anlamlı olarak düşük olduğu ve BCG sonrası granülom ile enflamasyon gelişiminin tümör rekürrensini ve progresyonunu azalttığını göstermişlerdir. Granülom oluşumunun rekürrens ve progresyonla ilişkili olmadığını gösteren çalışmalarda mevcuttur. Bassi ve ark. (20) BCG verilen 105 hastayı incelemişler ve hastaların %23'ünde granülom formları tespit etmişlerdir. Ancak bu granülom formlarının rekürrens üzerine etkisinin olmadığını savunmuşlardır.

Bacillus Calmette-Guerin tedavisi ile mesane duvarında meydana gelen immün hücre infiltrasyonlarının yanı sıra mesane duvarı tabakalarında da bir takım yapısal değişiklikler meydana gelmektedir. 1992 yılında Erden ve ark. (21) yayınladıkları çalışmada 20 nüks yüzeysel mesane kanserli ve BCG uygulanmış olgu incelenmiştir. Epitel dokuları incelendiğinde 20 olgunun 12'sinde epitelde yer yer dökülmeler, 4 olguda epitel metaplazisi izlenmiştir. Submukozal doku incelemesinde ise tüm vakalarda iltihabi hücrelerin submukozayı infiltre ettiği, bu iltihabi hücrelerin mononükleer özellikle olmakla birlikte lökositlerinde izlendiği, 12 vakada ise submukozal dokuda granülom olduğu görülmüştür. Muskuler tabakanında yine tamamen



iltihabi hücrelerle infiltre olduğu tespit edilmiştir. Bassi ve ark. (20) çalışmasında ise hastaların %38'inde ürotelyal displazi tespit edilmiş ve ürotelyal displazi izlenmeyen hastalarda nüks oranlarının daha yüksek olduğu sonucuna varılmış ($p < 0,005$) ve displazinin BCG başarısında kullanılabilir bir belirteç olabileceği raporlanmıştır ancak bu konudaki çalışmalar oldukça sınırlıdır ve BCG tedavisi ile ürotelyal displazi izlenemeyebileceğini rapor eden çalışmalarda mevcuttur (22).

Sonuç

Kas invazyonu göstermeyen mesane kanseri tedavisinde etkinliği ve önemi kabul edilmiş bir tedavi ve profilaksi yöntemi olan BCG, mesane duvarı ve üriner sistemde kalıcı veya geçici birçok değişiklik meydana getirmektedir. Ancak bu değişiklikler ve mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. BCG'nin bilinmeyen yönlerine ışık tutabilecek daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

1. Donat SM. Evaluation and follow-up strategies for superficial bladder cancer. *Urol Clin N Am* 2003; 307: 65-76.
2. Morales A, Eidinger D, Bruce AW. Intracavitary Bacillus Calmette-Guerin in the treatment of superficial bladder tumors. *J Urol* 1976; 116: 180-3.
3. Peyromaure M, Zerbib M. T1G3 transitional cell carcinoma of the bladder: recurrence, progression and survival. *BJU Int* 2004; 93: 60-3.
4. Iori F, Di Seri M, De Nunzio C, Leonardo C, Franco G, Spalletta B, et al. Long-term maintenance bacille Calmette-Guérin therapy in high-grade superficial bladder cancer. *Urology* 2002; 59: 414-8.
5. Babjuk M, Burger M, Zigeuner R, Shariat SF, van Rhijn BW, Compérat E, et al. EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: update 2013. *Eur Urol*. 2013; 64: 639-53.
6. Davies M, Sabbadini E. Mechanisms of BCG action. I. The induction of nonspecific helper cells during the potentiation of alloimmune cell-mediated cytotoxic responses. *Cancer Immunol Immunother*. 1982; 14: 46-53.
7. Ratliff TL, Gillen DP, Catalona WJ. Requirement of thymus dependent immune response for BCG mediated antitumor activity. *J Urol* 1987; 137: 155-9.

8. Kavoussi LR, Brown EJ, Ritchey JK and Ratliff TL: Fibronectin mediated bacillus Calmette-Guerin attachment to murine bladder mucosa: requirement for expression of an antitumor response. *J Clin Invest* 1990; 85: 62-7.
9. Wiker HG, Harboe M. The antigen 85 complex: a major secretion product of *Mycobacterium tuberculosis*. *Microbiol Rev* 1992; 56: 648-53.
10. Ratliff TL, Haaff EO, Catalona WJ. Interleukin-2 production during intravesical bacilli Calmette-Guerin therapy for bladder cancer. *Clin Immunol Immunopathol* 1986; 40: 375-79.
11. Haaff EO, Catalona WJ, Ratliff TL. Detection of interleukin-2 in the urine of patients with superficial bladder tumors after treatment with intravesical BCG. *J Urol* 1986; 136: 970-74.
12. Honda S, Sakamoto Y, Fujime M, Kitagawa R. Immunohistochemical Study of Tumor-Infiltrating Lymphocytes Before and After Intravesical Bacillus Calmette-Gubrin Treatment for Superficial Bladder Cancer. *Int J Urol* 1997; 4: 68-73.
13. Shintani Y, Sawada Y, Inagaki T, Kohjimoto Y, Uekado Y, Shinka T. 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: 140-6.
14. Patard J, Muscatelli B, Saint F, Popov Z, Maille P, Abbou C, et al. Evaluation of local immune response after intravesical bacille Calmette-Guerin treatment for superficial bladder cancer. *Br J Urol* 1996; 78: 709-14.
15. Bohle A, Gerdes A, Ulmer AJ, Hofstetter AG, Flad HD. Effects of local Bacillus Calmette Guerin therapy in patients with bladder carcinoma on immunocompetent cells of the bladder wall. *J Urol* 1990; 144: 53-8.
16. El-Demery MIM, Smith G, Ritchie AWS, James K, Cumming JA, Hargreave TB, et al. Local immune response after intravesical BCG treatment for carcinoma in situ. *Br J Urol* 1987; 60: 543-8.
17. Chung JY, Lee ES, Lee WJ, Kim HH, Min KJ, Lee CW. Analysis of the immunologic mechanism of intravesical bacillus Calmette-Guerin therapy for superficial bladder tumors: distribution and function of immune cells. *J Korean Med Sci* 1993; 8: 135-44.
18. Kumar V, Abbas A, Fausto N eds. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, 8th edn. 70-4. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2010.
19. Jallad S, Goubet S, Symes A, Larner T, Thomas P. Prognostic value of inflammation or granuloma after intravesical BCG in non-muscle-invasive bladder cancer. *BJU international* 2014; 113: 22-7.
20. Bassi P, Milani C, Meneghini A, Garbeglio A, Aragona F, Zattoni F, et al. Clinical value of pathologic changes after intravesical BCG therapy of superficial bladder cancer. *Urology* 1992; 40: 175-9.
21. Erden E, Sertcelik A, Özgüler Z, Sak SD, Demir M. Nüks yüzeysel mesane karsinomlarında intravezikal BCG uygulaması. *Türk Patoloji Derg.* 1992; 9: 23-5.
22. Polat Ö, Gündoğdu C, Demirel A, Bayraktar Y, Gül O, Özbilge M. The effects of thiotepa, mitomycin C, BCG and interferon instillation on urothelium. *Int Urol Nephrol* 1996; 28: 43-8.