



Mesanenin Noninvaziv Papiller Ürotelyal Karsinomlarında İmmünohistokimyasal Panelin Prognostik Olarak Değerlendirilmesi

Prognostic Evaluation of an Immunohistochemical Panel in Non-Invasive Papillary Urothelial Carcinoma of the Bladder

Sumru ÇAĞAPTAY¹ , Muhammed Selçuk ÖZER² , Hülya ELLİDOKUZ³ , Volkan ŞEN² , Kutsal YÖRÜKOĞLU¹

¹Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

²Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

³Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Preventif Onkoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Bu çalışma 34th European Congress of Pathology (The Art of Next Generation Pathology), 3 – 7 September 2022, Congress Center Basel, Switzerland'da poster olarak sunulmuş ve özet kitapçığında yer almıştır (Virchows Archiv (European Journal of Pathology) 481(Suppl 1): E-PS-24-015, 2022).

ÖZET

Amaç: Mesane karsinomları, kas invaziv olmayan ve kas invaziv mesane karsinomları olarak ikiye ayrılır. Invaziv ürotelyal karsinomlar moleküler çalışmalar ile prognostik alt gruplara ayrılmıştır. Bu çalışmanın amacı; pTa evresindeki invaziv olmayan ürotelyal karsinomlarda immünohistokimyasal belirteçlere dayalı mevcut moleküler sınıflandırmanın uygulanabilirliğini değerlendirmek, bu tümörleri sınıflandırmak için pratik ve maliyet etkin bir immünohistokimya paneli oluşturmak için en iyi belirteçleri belirlemek ve bu belirteçlerin prognozu tahmin etmedeki kullanılabilirliğini değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada, 2017 ile 2022 yılları arasında pTa evresinde ürotelyal karsinom tanısı konmuş 184 hastanın preparatları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Yaş, cinsiyet, tümör derecesi, nüks durumu ve progresyon gibi parametreler, Ki-67 proliferatif aktivitesi, p53, sitokeratin 5/6, CD44, GATA3 ve sitokeratin 20 immünohistokimyasal belirteçleri ile boyama durumları karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Yüksek tümör derecesi ile sitokeratin 20 pozitifliği, yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi ve mutant tip p53 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon görüldü ($p<0,001$). Yüksek tümör derecesi ile luminal alt grup arasında ve düşük tümör derecesi ile null ve bazal alt gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlemlendi. ($p=0,002$). Ayrıca, null ve bazal alt gruplar ile düşük Ki-67 proliferasyon indeksi arasında ve luminal alt grup ile yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi arasında korelasyon vardı ($p<0,001$). Tümör nüksü ile yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi arasındaki ilişki, tek değişkenli analizde istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,013$). Çok değişkenli analizlere göre; yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi, nüks için, yüksek tümör derecesi ise progresyon için bağımsız kötü prognostik faktör olarak belirlendi. İmmünohistokimyasal panel ile oluşturulan bazal ve luminal grupların tümör derecesi ile ilişkisi dışında klinik, demografik ve histopatolojik özellikler ile başkaca bir ilişkisi saptanmadı. Ayrıca oluşturulan alt gruplar hastalısız sağkalım süresi bakımından da bir farklılık göstermedi.

Sonuç: pTa ürotelyal karsinomlarda, prognozu tahmin etmede immünohistokimya tabanlı moleküler sınıflandırmanın katkısının mevcut belirteç panelleriyle sınırlı ve yetersiz olabileceği ve bu konuyla ilgili daha büyük serilerle çok merkezli çalışmalara ihtiyaç duyulduğu düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Kas invaziv olmayan mesane neoplazmları, İmmünohistokimya, Moleküler tiplendirme, Prognoz

ABSTRACT

Objective: Bladder carcinomas are broadly categorized into non-muscle-invasive and muscle-invasive bladder carcinomas. Invasive urothelial carcinomas have been classified into prognostic subgroups based on molecular studies. The aim of this study was to evaluate the applicability of the current immunohistochemistry-based molecular classification in non-invasive urothelial carcinomas, to identify the optimal markers for establishing a practical and cost-effective panel for tumor subtyping, and to assess the utility of these markers in predicting prognosis.

(J Curr Pathol. 2026;10(2):86-95)

Geliş Tarihi : 02.07.2026 Kabul Tarihi : 10.08.2026

İletişim: Sumru Çağaptay

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı,
İzmir, Türkiye

E-posta: sumru.cagaptay@deu.edu.tr

Material and Methods: In this study, 184 patients diagnosed with pTa stage urothelial carcinoma between 2017 and 2022 were retrospectively re-evaluated. Clinicopathological parameters, including age, gender, histological grade, recurrence, and progression, were statistically analyzed in relation to the immunohistochemical expression of Ki-67 (proliferative activity), p53, cytokeratin 5/6, CD44, GATA3, and cytokeratin 20.

Results: A statistically significant correlation was observed between high tumor grade and cytokeratin 20 positivity, high Ki-67 proliferation index, and mutant-pattern p53 expression ($p<0.001$). A significant association was found between high tumor grade and the luminal subgroup, as well as between low tumor grade and the null/basal subgroups ($p=0.002$). Furthermore, a strong correlation was identified between the null/basal subgroups and a low Ki-67 proliferation index, and between the luminal subgroup and a high Ki-67 proliferation index ($p<0.001$). The relationship between tumor recurrence and a high Ki-67 proliferation index was statistically significant in univariate analysis ($p=0.013$). In multivariate analysis, a high Ki-67 proliferation index was identified as an independent poor prognostic factor for recurrence, while a high tumor grade served as an independent poor prognostic factor for progression.

Conclusion: The utility of immunohistochemistry-based molecular classification in predicting prognosis for pTa urothelial carcinomas may be limited with current marker panels; therefore, multicenter studies involving larger patient cohorts are warranted.

Keywords: Urothelial carcinoma, Immunohistochemistry, Molecular typing, Prognosis

GİRİŞ

Mesane kanseri, üriner sistemin en sık görülen malign tümörüdür ve dünyada her yıl 500.000'den fazla yeni olgu tanılmaktadır (1). Detrusor kası invazyonunun varlığı veya yokluğu prognozun en önemli belirleyicisidir. Bu nedenle mesane duvarı içindeki invazyon durumuna göre tümörler, kas invaziv olmayan mesane karsinomu (KIOMK) ve kas invaziv mesane karsinomu (KIMK) olarak ikiye ayrılır. Kas invaziv olmayan papiller ürotelyal karsinomlar; pTa evresi, karsinoma in situ (KIS) ve lamina propria ile sınırlı invaziv karsinomlar (T1) dahil olmak üzere, yeni tanı alan tüm mesane karsinomlarının yaklaşık %75'ini oluşturmaktadır (2). KIOMK'lerin %50-70'inde hastalık nüksü görülmekte ve %10-20'sinde ise hastalık progresyonu gelişmektedir. KIOMK'li hastalar uzun yıllar boyunca sistoskopi ile izlenmekte ve bu sık sistoskopi muayeneleri topluma ağır bir maliyet oluşturmaktadır. Bu durum, mesane karsinomlarını teşhisten ölüme kadar hasta başına en yüksek maliyete sebep olan malignitelerden biri hâline getirmektedir. KIOMK için standart tedavi genellikle transüretral rezeksiyon (TUR-M) şeklindedir. Intravezikal Bacillus Calmette-Guerin (BCG) tedavisi ise tümör yüksek dereceli histolojiye sahipse veya lamina propria invazyonu gibi yüksek riskli özellikler içeriyorsa uygulanır (2).

KIOMK ve KIMK'lerin klinik yönetimlerindeki farklılıkların yanı sıra; hastaların hayatta kalma süreleri, nüks oranları ve progresyon durumlarının hem iki grup arasında hem de grupların kendi içindeki değişkenliği sebebiyle, mesane karsinomu hastaların prognozlarını ve tümörün biyolojik davranışını öngörecektir moleküler sınıflandırma ihtiyacı ortaya çıkmıştır.

Transkriptomik çalışmalar, KIMK'leri genetik ve moleküler profillerine göre önce 5 kategoriye, ardından klinikopatolojik özelliklerine göre; luminal ve bazal olmak üzere 2 ana alt tipe ayırmıştır (3-7). KIMK'nin ana alt tiplerinden bazal formun, luminal forma kıyasla daha kötü prognoza sahip olduğu, ancak kemoterapiye daha iyi yanıt verdiği bilinmektedir (8,9). KIOMK'ler ile ilgili yapılan moleküler çalışmaların sayısı görece daha az olmasına rağmen, KIOMK'de de moleküler alt

tiplendirmenin prognoz ve tedavi yönetiminde önemli olduğu ortaya konmuştur; ancak kesin prediktif veriler henüz yeterli değildir. Dolayısıyla, hem KIMK'ler hem de KIOMK'ler için moleküler analizlerin ve sınıflandırmanın hedefe yönelik tedavi seçeneklerinin belirlenmesi, doğru tedavi planlaması ve hastaların prognoz öngörüsü için oldukça önemli olduğu anlaşılmaktadır.

Genomik sınıflandırmanın rutin pratikteki zorluğu ve yüksek maliyetleri nedeniyle, luminal (Sitokeratin 20 (SK20), GATA3, FOXA1) ve bazal (Sitokeratin 5/6 (SK5/6), p63, Sitokeratin 14 (SK14)) immünohistokimyasal (IHK) belirteçlerinin kullanımı gündeme gelmiştir (9). Gen ekspresyon profillerini yansıtmak amacıyla luminal (GATA3, SK20) ve bazal (SK5/6, SK14) belirteçleri kullanarak moleküler tabanlı sınıflandırma oluşturan ve prognozları farklı alt sınıflar elde etmeyi başaran pek çok çalışma yapılmıştır (8,10-13). Çoğu çalışma öncelikle kas invaziv mesane kanserlerine veya kas invaziv olan ve olmayan mesane kanserlerinin kombine analizine odaklanmıştır. Yapılan çalışmalarda, farklı IHK panelleri kullanılarak farklı sonuçlar elde edilmiştir; ancak sadece SK20 ve SK5/6'dan oluşan iki sitokeratinlik dar bir panelin bile ürotelyal karsinomda luminal/bazal fenotipleri başarıyla yansıtabildiği bildirilmektedir (9,12,13). Toplamda 937 olgudan oluşan dört kohortluk bir meta-analizde, sadece GATA3 (luminal) ve SK5/6 (bazal) ikili paneliyle %90'ın üzerinde bir doğrulukla alt tiplendirmenin yapılabileceği gösterilmiştir (11).

Literatürde KIOMK'ler ve özellikle invaziv olmayan papiller ürotelyal karsinomlar (pTa) ile ilişkili yapılan çalışmaların sayısı oldukça azdır. Çalışmamızın amaçları arasında; önerilen moleküler sınıflandırmanın, pTa evreli invaziv olmayan ürotelyal karsinomlardaki uygulanabilirliğinin değerlendirilmesi, bu lezyonları sınıflandırmak için pratik ve uygun maliyetli bir IHK panel oluşturmak üzere en iyi belirteçlerin belirlenmesi ve bu belirteçlerin prognoz tahmininde kullanılabilirliğinin denetlenmesi yer almaktadır. Bu amaçla, daha önce yapılan çalışmalarda en sık kullanılan SK5/6, SK20, CD44, GATA3, p53 ve Ki-67 IHK belirteçlerini içeren bir panel oluşturulmuş ve değerlendirilmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Çalışmaya, 2017-2022 yılları arasında kurumumuz tıbbi patoloji ana bilim dalında TUR-M materyalleri değerlendirilerek ürotelyal karsinom tanısı almış pTa evreli 184 hastanın tamamı seri olarak dahil edilmiştir. Hastalara ait klinik ve demografik veriler, tedavi detayları, takip süreleri, progresyon ve nüks verileri elektronik tıbbi kayıtlardan retrospektif olarak elde edilmiştir.

Histomorfolojik ve IHK verileri patoloji raporlarından ve arşiv kayıtlarından sağlanmıştır.

Hematoksilen ve Eozin (H-E) boyalı preparatların histomorfolojik değerlendirmesi Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 5. Baskısı ile uyumlu olarak; patolojik evreleme ise TNM ve Amerikan Kanser Ortak Komitesi (AJCC) kılavuzlarına uygun şekilde yapılmıştır (14,15).

İmmünohistokimyasal Değerlendirme

İmmünohistokimyasal analizler, Ventana BenchMark ULTRA (Ventana Medical Systems, Tucson, ABD) tam otomatik boyama cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm olgularda, GATA3 (klon L50-823, fare monoklonal antikoru, Roche Medical), SK5/6 (klon D5/16B4, fare monoklonal antikoru, Roche Medical), SK20 (klon SP33, tavşan monoklonal antikoru, Roche Medical), CD44 (klon MRQ-13, tavşan monoklonal antikoru, Roche Medical), p53 (klon DO-7, fare monoklonal primer antikoru, Roche Medical) ve Ki-67 (klon 30-9, tavşan monoklonal antikoru, Roche Medical) belirteçleri kullanılmıştır.

SK5/6 (sitoplazmik ve/veya membranöz boyanma), SK20 (sitoplazmik boyanma), CD44 (membranöz boyanma) ve GATA3 (nükleer boyanma) için pozitiflik eşiği, tümör hücrelerinde yüzde 10 ve üzerinde ($\geq$ %10) boyanma olarak kabul edilmiştir (11,16). Ki-67 proliferatif aktivitesi; $<$ %15 “düşük”, $\geq$ %15 ise “yüksek” olarak; p53 ekspresyon durumu ise wild tip veya mutant tip olarak kategorize edilmiştir. İmmünohistokimyasal inceleme yapılan dokulara örnekler Şekil 1’de yer almaktadır.

Tüm IHK belirteçlerinin pozitiflik durumlarının; klinik, demografik ve histopatolojik özellikler ile istatistiksel ilişkisi ayrı ayrı analiz edilmiştir. Ayrıca olgular, literatürdeki benzer çalışmalara paralel olarak; SK5/6 ve SK20 ekspresyon durumlarına göre dört gruba ayrılarak da değerlendirilmiştir: 1) Null: (SK20, SK5/6), 2) Karışık (Mikst): (SK20+, SK5/6+), 3) Bazal: (SK20, SK5/6+), 4) Lüminal: (SK20+, SK5/6) (12,13).

İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler, SPSS 29.0 istatistik paket programı (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında Ki-kare testi ve Fisher’in kesinlik (exact) testi kullanılmıştır. Normal dağılım gösteren sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında Bağımsız Örneklem t-testi (Independent Samples t-test), normal dağılıma uymayan değişkenler için ise Mann-Whitney U testi tercih edilmiştir.

Biyopsi (tanı) tarihi ile nüks gelişme tarihi arasındaki süre, hastalıksız sağkalım (DFS) süresi olarak hesaplanmıştır. Hastalıksız sağkalım oranlarının belirlenmesinde Kaplan-Meier yöntemi, sağkalım eğrileri arasındaki farkların değerlendirilmesinde ise Log-rank testi kullanılmıştır. Hastalıksız sağkalım ile prognostik parametreler arasındaki bağımsız ilişkileri incelemek amacıyla çok değişkenli (multivaryant) analizler yapılmıştır. Nüks, hastalıksız sağkalım süresi ve progresyon ile prediktif faktörler arasındaki ilişkileri incelemek üzere lojistik ve Cox orantılı risk regresyon analizleri uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Demografik ve Histopatolojik Özellikler

Çalışmaya dahil edilen 184 hastanın 164’ü (%89) erkek, 20’si (%11) kadındı. Hastaların ortalama yaşı 63,6 (aralık: 24-88) idi. Takip verileri olan hastaların 90’ında (%48,9) nüks, 14 hastada (%8) ise progresyon gözlemlendi. Progresyon gösteren hastaların 13’ü (%7) T1 evresine, 1’i (%1) ise T2 evresine ilerledi. Hastaların 65’i (%35) intravezikal BCG tedavisi aldı. Histopatolojik derecelendirmede tümör, 151 hastada (%82) düşük dereceli, 33 hastada (%18) yüksek dereceli olarak sınıflandırıldı. Tümörlerin histolojik büyüme paterni 179 olguda (%97) papiller, 5 olguda (%3) ise invert şeklindeydi.

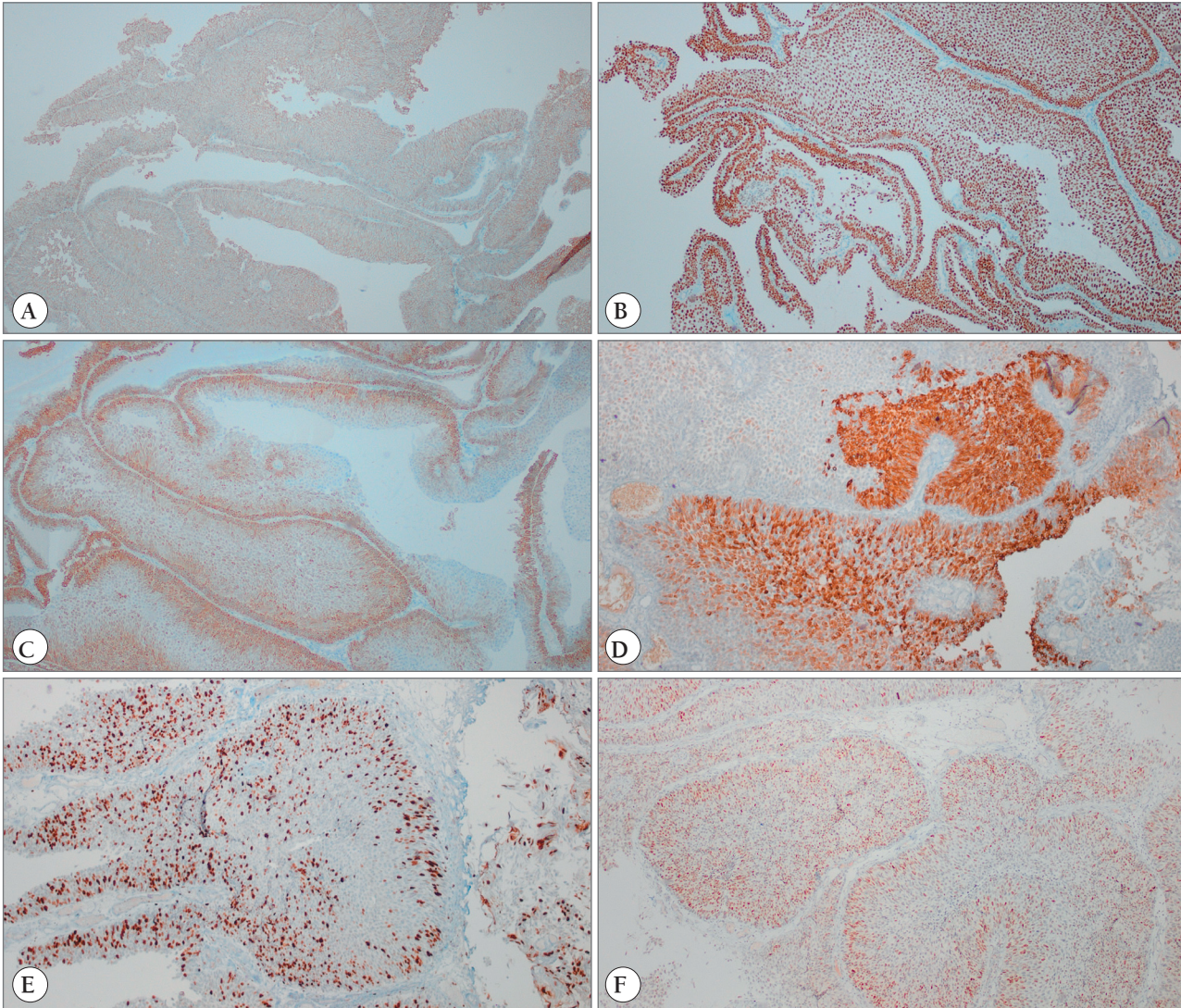
İmmünohistokimyasal Bulgular ve Moleküler Alt Gruplar

İmmünohistokimyasal incelemede; SK5/6 pozitifliği 41 (%22), CD44 pozitifliği 66 (%36), GATA3 pozitifliği 180 (%98) ve SK20 pozitifliği 100 (%54) olguda saptandı. Ki-67 proliferasyon indeksi 121 (%66) olguda düşük ($<$ %15) ve 63 (%34) olguda yüksek ($\geq$ %15) olarak değerlendirildi. p53 ile 38 (%21) olguda mutant tip boyama paterni gözlemlendi.

Olgular SK5/6 ve SK20 ekspresyon profillerine göre moleküler alt gruplara ayrıldığında dağılım şu şekildeydi: 84 (%45,7) luminal tip, 16 (%8,7) karışık tip, 25 (%13,6) bazal tip ve 59 (%32,1) null tip.

İmmünohistokimyasal Bulgular ile Klinik ve Histopatolojik Parametreler Arasındaki İlişkiler

Hastaların klinik, demografik ve histopatolojik parametreleri ile IHK belirteçleri ve moleküler alt gruplar arasındaki ilişkiler Tablo 1’de verilmiştir. Yüksek tümör derecesi ile SK20 pozitifliği, yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi ve mutant tip p53 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu ($p < 0,001$). IHK tabanlı moleküler alt gruplar ile tümör derecesi arasındaki ilişki de anlamlıydı; yüksek tümör dereceli olgu sayısı lüminal alt grupta anlamlı derecede daha yüksekken, düşük tümör dereceli olgu sayısı null ve bazal alt gruplarda anlamlı derecede daha yüksekti ($p = 0,002$). Null ve bazal alt gruplar ile düşük Ki-67 proliferasyon indeksi arasında ve luminal alt grup ile yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi arasında güçlü bir korelasyon saptandı ($p < 0,001$). Tümör nüksü ile yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi arasındaki ilişki istatis-

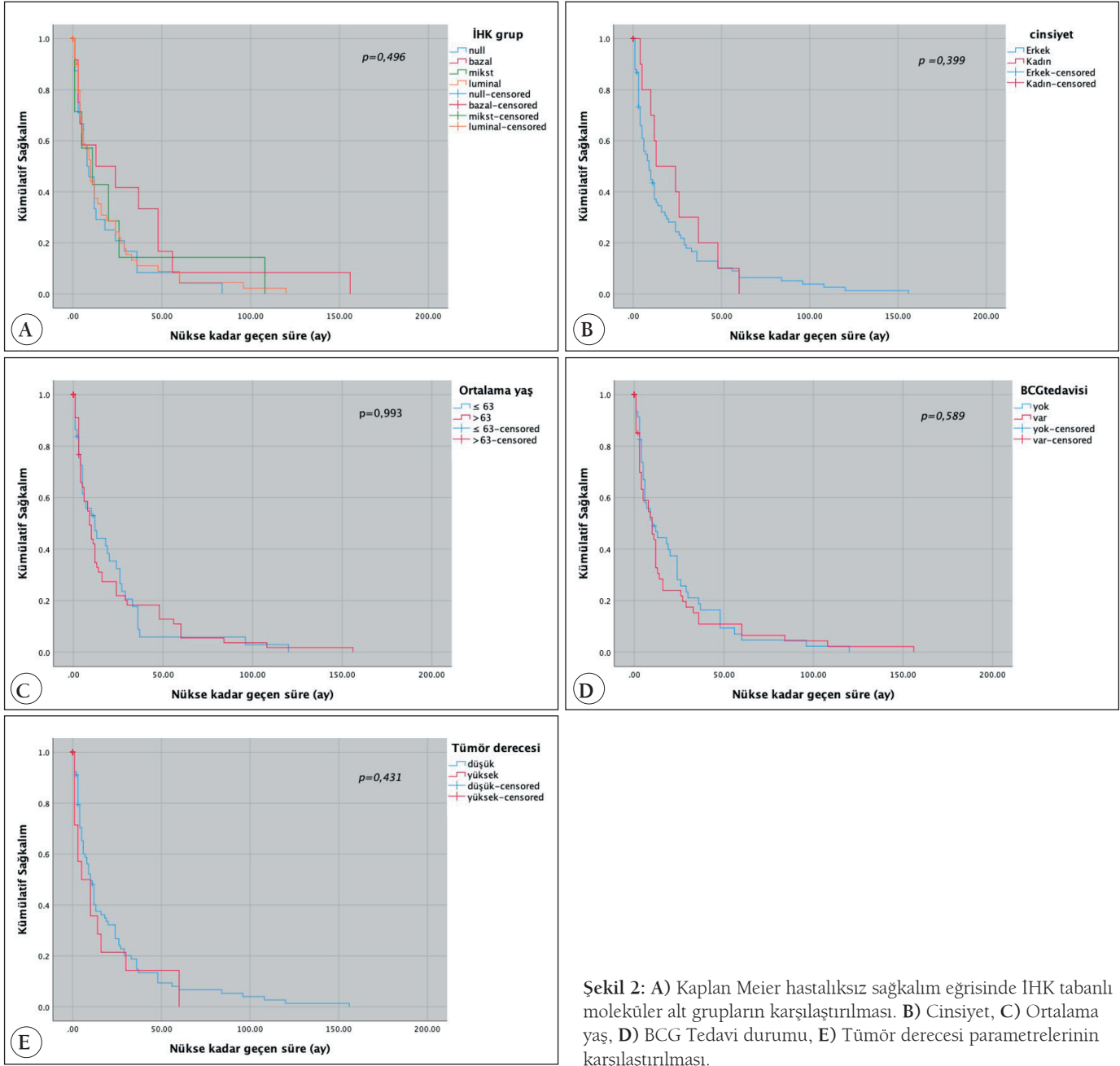


Şekil 1: IHK'sal boyanmaların değerlendirilmesi. **A)** CD44 Pozitifliği (10x), **B)** GATA3 Pozitifliği (10x), **C)** SK5/6 Pozitifliği (10x), **D)** SK20 Pozitifliği (10x), **E)** Yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi (20x), **F)** Mutant tip p53 boyanma paterni (20x).

Tablo I: IHK tabanlı moleküler alt grupların, klinik, demografik, histopatolojik ve immünohistokimyasal parametreler ile karşılaştırılması.

		Null n (%)	Bazal n (%)	Mikst n (%)	Luminal n (%)	p
Cinsiyet	Erkek (n=164)	52 (31,7)	21 (12,8)	13 (7,9)	78 (47,6)	0,396
	Kadın (n=20)	7 (35)	4 (20)	3 (15)	6 (30)	
Yaş	≤63 (n=85)	27 (31,8)	12 (14,1)	8 (9,4)	38 (44,7)	0,91
	>63 (n=99)	32 (32,3)	13 (13,1)	8 (8,1)	46 (46,5)	
Tümör derecesi	Düşük (n=151)	55 (36,4)	24 (15,9)	12 (7,9)	60 (39,7)	0,002
	Yüksek (n=33)	4 (12,1)	1 (3)	4 (12,1)	24 (72,7)	
Ki-67 indeksi	Düşük (n=121)	47 (38,8)	22 (18,2)	9 (7,4)	43 (35,5)	<0,001
	Yüksek (n=63)	12 (19)	3 (4,8)	7 (11,1)	41 (65,1)	
p53	Wild tip (n=146)	49 (33,6)	22 (15,1)	11 (7,5)	64 (43,8)	0,072
	Mutant tip (n=38)	10 (26,3)	3 (7,9)	5 (13,2)	20 (52,6)	

Null: SK5/6-, SK20-; Bazal: SK5/6+, SK20-; Mikst: SK5/6+, SK20+; Lüminal: SK5/6-, SK20+



Şekil 2: A) Kaplan Meier hastalıksız sağkalım eğrisinde IHK tabanlı moleküler alt grupların karşılaştırılması. B) Cinsiyet, C) Ortalama yaş, D) BCG Tedavi durumu, E) Tümör derecesi parametrelerinin karşılaştırılması.

tiksel olarak anlamlıydı ($p=0.013$). Progresyon ile mutant tip p53 boyaması ($p=0.002$), yüksek tümör derecesi ($p<0.001$) ve yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi ($p=0.006$) arasında anlamlı bir korelasyon gözlemlendi. Bununla birlikte, progresyon ile IHK tabanlı moleküler alt gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Sağkalım Analizleri (Kaplan-Meier)

Olguların ortalama nüks süresi $9,9 \pm 21,8$ ay idi. Ortalama nüks süresi ile IHK belirteçleri veya IHK tabanlı moleküler alt gruplar arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Kaplan-Meier

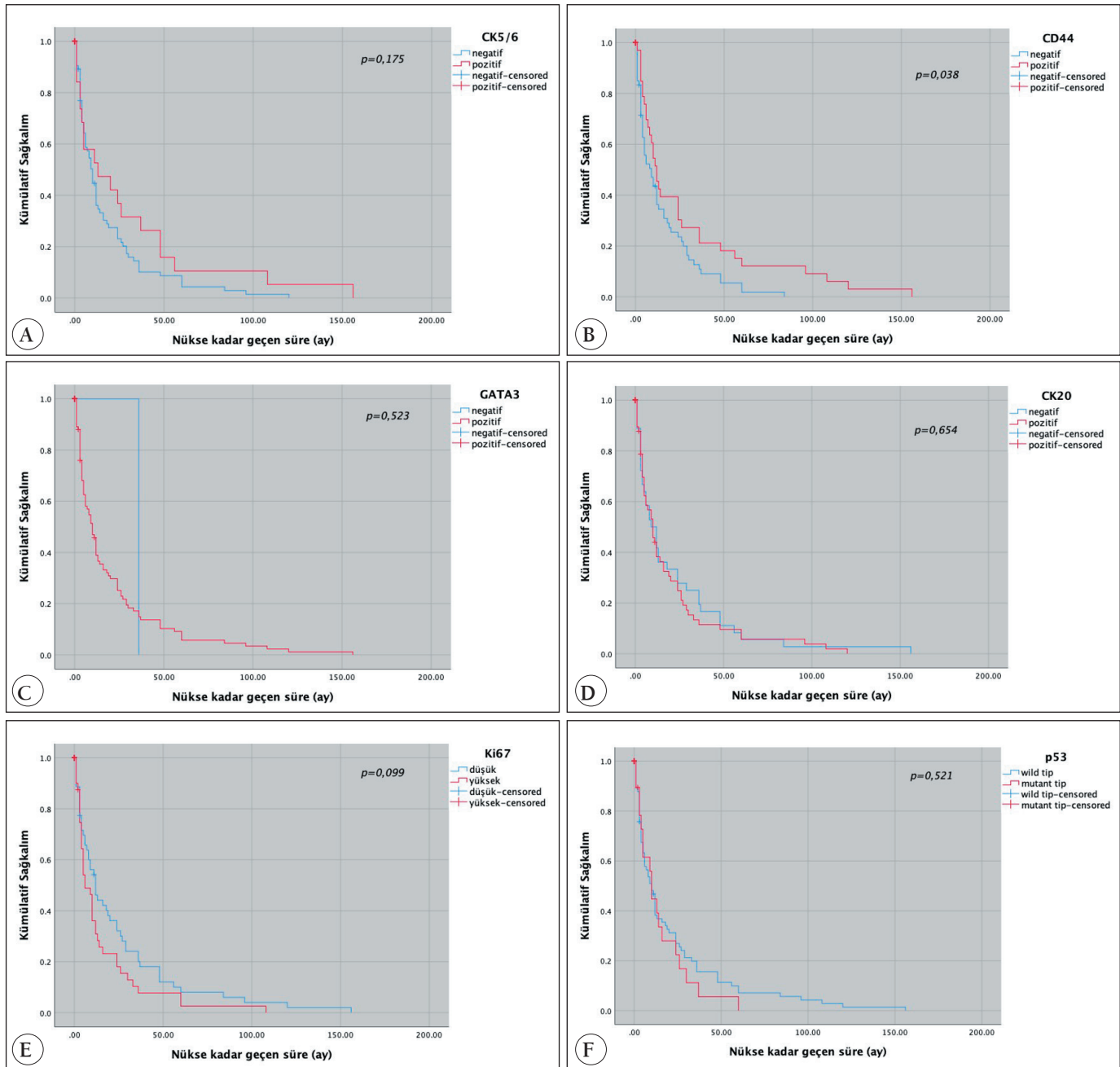
sağkalım analizlerinde, luminal, null, mikst ve bazal alt gruplar için ortalama hastalıksız sağkalım (DFS) süreleri sırasıyla 18,65 ay, 16,3 ay, 24,5 ay ve 33,1 ay olarak hesaplandı ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Log-rank, $p=0,496$) (Şekil 2). CD44 ekspresyonu pozitif ve negatif gruplar arasında ortalama hastalıksız sağkalım süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (sırasıyla 29,3 ay ve 15,3 ay) (Log-rank, $p=0,038$). BCG tedavisi alan grupta ortalama hastalıksız sağkalım süresi 19,4 ay, BCG tedavisi almayan grupta ise 21,3 ay idi ve iki grup arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi (Log-rank, $p=0,589$).

Ayrıca, BCG tedavisi alan ve almayan hasta grupları ayrı ayrı değerlendirildiğinde, nüks ile nüks kadar geçen süre arasındaki ilişki anlamsızdı. Klinik, demografik, histopatolojik ve İHK durumları ile İHK tabanlı moleküler alt gruplar için oluşturulan hastalıksız sağkalım eğrileri Şekil 2A-D ve Şekil 3A-F'te yer almaktadır.

Çok Değişkenli Analiz Sonuçları:

Yüksek tümör derecesini öngören bağımsız faktörleri belirlemek için iki ayrı çok değişkenli lojistik regresyon modeli oluşturuldu:

Model 1: Yaş, cinsiyet ve moleküler tabanlı İHK grupları içeren modelde; mutant tip p53 boyaması (OR=2,87, %95 CI: 1,1–7,4, $p=0,030$) ve luminal tip moleküler alt grup (OR=4,38, %95 CI: 1,3–14,2, $p=0,014$) yüksek tümör derecesi için bağımsız öngörücü faktörler olarak tanımlandı. Ki-67 proliferasyon indeksi tek değişkenli analizde anlamlı olmasına rağmen, bu modelde bağımsız anlamlılığını kaybetti (OR=2,5, %95 CI: 0,9–6,3, $p=0,052$). Model 2: Tek değişkenli analizlerde yüksek tümör derecesi ile SK20 pozitifliği arasında anlamlı ilişki görülmesi ve lüminal alt grubun SK20 İHK belirteci tabanlı bir sınıflandırma olması nedeni ile çoklu doğrusallık sorununu



Şekil 3: Kaplan-Meier hastalıksız sağkalım eğrileri: A) SK5/6, B) CD44, C) GATA3, D) SK20, E) Ki-67, F) p53 Ekspresyon durumlarının karşılaştırılması.

çözmek amacı ile SK20 durumu, Ki-67 proliferasyon indeksi ve p53 boyama durumunu içeren alternatif bir model oluşturuldu. Bu modelde, SK20 pozitifliği (OR=4,6, %95 CI: 1,6–13,3, p=0,004), yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi (OR=2,5, %95 CI: 1–6, p=0,048) ve mutant tip p53 boyaması (OR=2,8, %95 CI: 1–7, p=0,032), yüksek tümör derecesini tahmin etmede bağımsız öngörücü faktörler olarak tanımlandı.

Her iki modelin de yüksek dereceli tümörleri doğru sınıflandırmadaki genel doğruluk oranı %84,8 olarak bulundu. Ancak moleküler alt grupları kullanan Model 1’de yüksek tümör derecesine sahip olguları doğru tespit etme duyarlılığı %33,3 iken, SK20 parametresini ayrı içeren Model 2’de bu duyarlılık %39,4’e yükseldi. Model 2’nin yüksek tümör derecesini saptamadaki özgüllüğü ise %94,7 olarak belirlendi.

Nüks ve Progresyonu Öngören Faktörler İçin Regresyon Analiz Sonuçları

Yaş, İHK tabanlı moleküler alt gruplar, Ki-67 proliferasyon indeksi, p53 boyama durumu ve tümör derecesini içeren çok değişkenli lojistik regresyon analizinde, yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi, nüks için bağımsız bir kötü prognostik faktör olarak tanımlanırken (OR=2,96, %95 CI: 1,34–6,53, p=0,007). Yüksek tümör derecesinin progresyon için bağımsız bir kötü prognostik faktör olduğu bulundu (OR=4,1, %95 CI: 1–16,2, p=0,038). İHK tabanlı moleküler alt gruplar, Ki-67, p53, CD44 durumu ve tümör derecesini içeren çok değişkenli Cox regresyon analizinde, yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi, zamana bağlı nüks riskini tahmin etmede bağımsız bir kötü prognostik faktör olarak belirlendi (HR=1,7, %95 CI: 1,1–2,9, p=0,047).

TARTIŞMA

Mesane karsinomunun patogenezi şu anda moleküler-genetik ve histopatolojik verileri birleştiren bir “çift yol modeli” ile açıklanmaktadır. Bu modele göre düşük dereceli papiller yol moleküler olarak stabildir ve premalign bir lezyon olan ürotelyal hiperplaziden kaynaklanır (17–19). pTa evresindeki tümörlerin %70’inde ve invaziv (pT2–pT4) karsinomların %5–18’inde görülen FGFR3 mutasyonları, bu yolun en karakteristik özelliğidir. Öte yandan, yüksek dereceli yol moleküler olarak kararsızdır; ürotelyal displaziden gelişir ve karsinoma in situ (KIS) yoluyla invaziv tümörlere ilerler. Bu agresif yolun ayırt edici moleküler özelliği TP53 mutasyonlarıdır. Genomik çalışmalar, TP53 ve FGFR3 değişikliklerinin birbirini dışladığını göstermiştir. Ek olarak, PIK3CA mutasyonları, RB1, CDKN2A kaybı ve E2F3 amplifikasyonu gibi kromozomal değişiklikler bu yüksek dereceli yolda sıklıkla gözlenmektedir. Yeni nesil sekanslama (NGS) gibi kapsamlı genomik profillemeye yöntemleri, KIOMK ve KIMK öncelikle luminal ve bazal/skuamöz olmak üzere moleküler alt tiplere ayırmıştır (17,20).

Klinik çalışmalar, saptanan FGFR3 değişiklikleri olan tümörlerde hedeflenmiş FGFR inhibitörlerinin kullanımının hastaların yaklaşık %70’inde hastalık kontrolü sağladığını gös-

termiştir; bununla birlikte saptanan TP53 mutasyonları olan tümörlerde daha düşük ilerlemesiz sağkalım oranları bildirilmiştir (18,21). Bu nedenle, genomik ve transkriptomik profillemeye, mesane kanserlerinde hedeflenmiş tedavi yönetimini belirlemek ve hastaların prognozunu tahmin etmek için kritik öneme sahiptir. Klinik uygulamada moleküler analizlere kolay erişimin olmaması ve yüksek maliyetleri nedeniyle, moleküler sınıflandırmayı yansıtabilen vekil İHK belirteçleri tanımlamak için birçok çalışma yapılmış ve farklı paneller geliştirilmiştir (12,16,22,23). Buna göre luminal fenotip için GATA3, SK20, ER, Uroplakin II, HER2 ve FOXA1; ve bazal fenotip için SK5/6, CD44 ve SK14 gibi vekil İHK belirteçleri tanımlanmıştır.

KIOMK’de yaptığımız çalışmamızın sonuçları, KIMK’leri değerlendiren çalışmaların sonuçları ile çelişmektedir, ancak invaziv olan ve invaziv olmayan tümörlerin farklı patogenetik özellikleri, elde edilen farklı klinik sonuçları anlaşılır kılabilir.

KIOMK’ler ile yapılan bir çalışmada, GATA3, SK20, ER, Uroplakin II ve HER2 panelini luminal fenotipin belirteçleri, SK5/6 ve CD44’ü ise bazal fenotipin belirteçleri olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada, SK5/6 ekspresyonunun tümör evre progresyonunun bir öngörücüsü olabileceğini raporlamışlardır (23).

Bulgularımız İHK alt gruplar ve panelimizde yer alan İHK belirteçlerin progresyon için anlamlı olmadığını göstermektedir.

Çift negatif grup (null grup, SK20 ve SK5/6 -), bazı çalışmalarda daha yüksek ölüm riski ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiş olmasına rağmen diğer pek çok çalışmada ve bizim çalışmamızda da bu ilişki görülmemiştir. Çift pozitif (SK20+ ve SK5/6+) ve çift negatif (SK20- ve SK5/6-) grupların klinik ve prognostik önemi henüz belirsizliğini korumaktadır (16, 24, 25).

pTa tümörler yalnızca luminal özellikler gösterirken, invaziv tümörler, neredeyse eşit olarak luminal ve bazal özellikler gösterebilmektedirler. Luminal ekspresyon imzaları gösteren invaziv tümörlerin büyük olasılıkla önceden var olan yüzeyel papiller tümörlerin bir ilerlemesi sonucu oluştuğu düşünülmektedir (11). Gen ekspresyon çalışmaları, bazal alt tipteki tümörlerde, olumsuz prognozunu genellikle GATA3 kaybına bağlı olduğu, tümör baskılayıcı gen aşağı regülasyonunu ve epitelyal-mezenkimal transizyonu teşvik ederek tümörün invazivliğini ve yayılımını artırdığını öne sürmektedir (26). Mesane tümörlerinde öne sürülen bu gelişim ve ilerleme mekanizması göz önüne alındığında çalışmamıza dahil ettiğimiz invaziv olmayan papiller tümörlerin moleküler olarak daha homojen bir alt grubu temsil ediyor olabileceği düşünülmüştür. Kohortumuzda, GATA3 pozitifliği gösteren olgu sayısı ve yüzdesinin (180 ve %98) oldukça fazla olması nedeni ile çalışmamızda her ne kadar moleküler analiz gerçekleştirmemiş olsak da kohortun moleküler olarak daha homojen bir grubu temsil ettiği düşüncesini destekleyebilir. Bu durum, İHK belirteçler kullanılarak oluşturduğumuz alt grupların anlamlı prognostik alt gruplar oluşturulmamasının nedenini açıklayabilir gibi görünmektedir.

Papiller ürotelyal karsinomlarda düşük ve yüksek dereceli alanlar sıklıkla birlikte bulunabilir (14). Ayrımında morfoloji esaslı ve rutin İHK incelemenin gerekli olmadığı belirtilmektedir, ancak çalışmamızın sonuçları morfolojik olarak arada kalan durumlarda, SK20, Ki-67 ve p53 İHK belirteçlerini içeren bir panelin, nispeten düşük duyarlılığa rağmen %94,7 ile yüksek özgüllüğe sahip olması nedeni ile yüksek tümör derecesini tespit etmede, morfolojik değerlendirme ile birlikte karar vermeye fayda sağlayabileceğini göstermektedir. Ki-67 ve p53'ün bu paneldeki yeri yüksek dereceli tümörlerin patogenezi ve moleküler özellikleri düşünüldüğünde mantıklı bir zemine oturmaktadır. SK20 ise invaziv olmayan papiller ürotelyal mesane karsinomunun tanısında bir araç olarak kullanılabilir. SK20 normal ürotelyumda terminal farklılaşma gösteren şemsiye hücrelerinde ekprese edilmektedir. Mesane karsinomlarında ise epitelin her seviyesinde gözlemlenen düzensiz SK20 ekspresyonu tümör disgenезisinin ilk hücresel kanıtı kabul edilmektedir (27). SK20 ekspresyonunun ayrıca yüksek tümör derecesi ile ilişkili olduğu daha önceden yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (27,28).

Çalışmamızda CD44 ekspresyonu pozitif olan olgularda ortalama hastaliksız sağkalım süresi, negatif olgulara kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (29,3 ay vs 15,3 ay, Log-rank p=0,038). Hücre adhezyon molekülü olan CD44, literatürde sıklıkla kök hücre benzeri veya bazal fenotip belirteci olarak tanımlansa da invaziv olmayan papiller tümörlerde hücre-hücre tutunmasını koruyarak rezeksiyon sonrası nüks riskini azaltıcı bir rol oynuyor olabilir. İnvaziv olmayan pTa kohortumuzda CD44 pozitifliğinin daha iyi hastaliksız sağkalım ile ilişkili olması, bu belirtecin evreye ve tümör mikroçevresine bağlı olarak farklı prognostik roller üstlenebileceğini düşündürmektedir (28).

Çalışmamızın en büyük sınırlılığı retrospektif olması ve sınırlı sayıda hasta ile gerçekleştirilmiş olmasıdır. Ayrıca çalışmamızda İHK olarak oluşturduğumuz gruplara moleküler analiz yapılamamış ve oluşturulan grupların moleküler durumu doğrulanmamıştır.

Literatürde, farklı İHK paneller kullanan ve farklı grupları değerlendiren çalışmalarda, bazal ve luminal fenotip ile ilgili heterojen sonuçlar olduğu görülmektedir. Bu durumun ürotelyal karsinomlardaki tümör heterojenitesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Birçok ürotelyal karsinom, muhtemelen farklı klonlardan gelişmekte ve farklı histolojik ve klinik özellikler göstermektedir. Yapılan çalışmalar aynı mesanedeki birden fazla tümörün farklı moleküler profillere sahip olabileceğini ve bunların her zaman aynı moleküler aileye ait olmadığını göstermiştir (17). Tümör içi heterojenite, İHK belirteçlerin boyanma yaygınlığını/yoğunluğunu da etkilemektedir. Moleküler sınıflandırma için önerilen İHK belirteçler için uygun pozitiflik eşik değerlerinin belirlenmesi ve standartizasyonun sağlanması için de daha geniş kohortlarda validasyonun gerektiği düşünülmektedir.

SONUÇ

Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler doğrultusunda, pTa papiller ürotelyal karsinomlarda İHK tabanlı moleküler sınıflandırmanın prognozu öngörmedeki katkısının mevcut belirteç panelleriyle kısıtlı ve yetersiz olabileceği kanaatine varılmıştır. Bununla birlikte sonuçlarımız; morfolojik olarak düşük ve yüksek dereceli tümör ayrımı yapmakta güçlük çekilen, arada kalan olgularda SK20, p53 ve Ki-67'den oluşan dar bir İHK panelinin yüksek tümör derecesini belirlemede tanıya anlamlı katkı sağlayabileceğini göstermektedir. Ayrıca çok değişkenli analizlerimize göre; yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi tümör nüksü için, yüksek tümör derecesi ise evre progresyonu için bağımsız birer kötü prognostik faktör olarak saptanmıştır.

Bildirimler

Etik Kurul Onayı: Çalışmamız, kurumumuzun Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Komitesi tarafından onaylanmıştır (Onay No: 7739-GOA, 2023/02-14).

Araştırma Desteği: Bu çalışma ile ilgili herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu çalışma ile ilgili herhangi bir çıkar çatışmaları olmadığını beyan ederler.

YAZAR KATKILARI

Çalışmanın fikri veya tasarımı: KY

Veri toplama: SÇ, MSÖ

Veri analizi ve yorumlama: HE, SÇ, KY

Makale taslağının hazırlanması: SÇ

Makalenin kritik revizyonu: SÇ, MSÖ, VŞ, KY

Diğer (çalışma denetimi, fonlar, gereç, vb...): SÇ, KY

Tüm yazarlar sonuçları gözden geçirmiş ve makalenin son hâlini onaylamıştır.

KAYNAKLAR

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021;71(3):209–249. doi:10.3322/caac.21660 PMID: 33538338.
2. Babjuk M, Böhle A, Burger M, Capoun O, Cohen D, Compérat EM, Hernández V, Kaasinen E, Palou J, Roupřet M, van Rhijn BWG, Shariat SF, Soukup V, Sylvester RJ, Zigeuner R. EAU Guidelines on Non-Muscle-invasive Urothelial Carcinoma of the Bladder: Update 2016. Eur Urol. 2017;71(3):447–461. doi:10.1016/j.EURURO.2016.05.041 PMID: 27324428.
3. Sjö Dahl G, Lövgren K, Lauss M, Patschan O, Gudjonsson S, Chebil G, Aine M, Eriksson P, Månsson W, Lindgren D, Fernö M, Liedberg F, Höglund M. Toward a molecular pathologic classification of urothelial carcinoma. American Journal of Pathology. 2013;183(3):681–691. doi:10.1016/j.ajpath.2013.05.013 PMID: 23827819.

4. Hedegaard J, Lamy P, Nordentoft I, Algaba F, Høyer S, Ulhøi BP, Vang S, Reinert T, Hermann GG, Mogensen K, Thomsen MBH, Nielsen MM, Marquez M, Segersten U, Aine M, Höglund M, Birkenkamp-Demtröder K, Frstrup N, Borre M, Hartmann A, Stöhr R, Wach S, Keck B, Seitz AK, Nawroth R, Maurer T, Tulic C, Simic T, Junker K, Horstmann M, Harving N, Petersen AC, Calle ML, Steyerberg EW, Beukers W, van Kessel KEM, Jensen JB, Pedersen JS, Malmström PU, Malats N, Real FX, Zwarthoff EC, Ørntoft TF, Dyrskjot L. Comprehensive Transcriptional Analysis of Early-Stage Urothelial Carcinoma. *Cancer Cell*. 2016;30(1):27–42. doi:10.1016/j.ccell.2016.05.004 PMID: 27321955.
5. Dyrskjot L, Zieger K, Real FX, Malats N, Carrato A, Hurst C, Kotwal S, Knowles M, Malmström PU, de la Torre M, Wester K, Allory Y, Vordos D, Caillaud A, Radvanyi F, Hein AMK, Jensen JL, Jensen KME, Marcussen N, Ørntoft TF. Gene expression signatures predict outcome in non-muscle-invasive bladder carcinoma: a multicenter validation study. *Clin Cancer Res*. 2007;13(12):3545–3551. doi:10.1158/10780432.CCR-06-2940 PMID: 17575217.
6. Choi W, Czerniak B, Ochoa A, Su X, Siefker-Radtke A, Dinney C, McConkey DJ. Intrinsic basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer. *Nat Rev Urol*. 2014;11(7):400–410. doi:10.1038/NRUROL.2014.129 PMID: 24960601.
7. Choi W, Ochoa A, McConkey DJ, Aine M, Höglund M, Kim WY, Real FX, Kiltie AE, Milsom I, Dyrskjot L, Lerner SP. Genetic Alterations in the Molecular Subtypes of Bladder Cancer: Illustration in the Cancer Genome Atlas Dataset. *Eur Urol*. 2017;72(3):354–365. doi:10.1016/j.eururo.2017.03.010 PMID: 28365159.
8. Guo CC, Bondaruk J, Yao H, Wang Z, Zhang L, Lee S, Lee JG, Cogdell D, Zhang M, Yang G, Dadhania V, Choi W, Wei P, Gao J, Theodorescu D, Logothetis C, Dinney C, Kimmel M, Weinstein JN, McConkey DJ, Czerniak B. Assessment of luminal and basal phenotypes in bladder cancer. *Sci Rep*. 2020;10(1):9743. doi:10.1038/S41598-020-66747-7 PMID: 32546765.
9. Choi W, Porten S, Kim S, Willis D, Plimack ER, Hoffman-Censits J, Roth B, Cheng T, Tran M, Lee IL, Melquist J, Bondaruk J, Majewski T, Zhang S, Pretsch S, Baggerly K, Siefker-Radtke A, Czerniak B, Dinney CP, McConkey DJ. Identification of distinct basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer with different sensitivities to frontline chemotherapy. *Cancer Cell*. 2014;25(2):152–165. doi:10.1016/j.ccr.2014.01.009 PMID: 24525232.
10. Venkatakrisnan S, Jinkala SR, Sreerag KS, Kayal S. Basal subtype of invasive urothelial carcinoma of the bladder has aggressive behavior and poor prognosis: An immunohistochemistry-based study. *Indian J Pathol Microbiol*. 2025;68(4):736–743. doi:10.4103/ijpm.ijpm_290_25 PMID: 40824692.
11. Dadhania V, Zhang M, Zhang L, Bondaruk J, Majewski T, Siefker-Radtke A, Guo CC, Dinney C, Cogdell DE, Zhang S, Lee S, Lee JG, Weinstein JN, Baggerly K, McConkey D, Czerniak B. Meta-Analysis of the Luminal and Basal Subtypes of Bladder Cancer and the Identification of Signature Immunohistochemical Markers for Clinical Use. *EBioMedicine*. 2016;12:105–117. doi:10.1016/j.ebiom.2016.08.036 PMID: 27612592.
12. Sikic D, Keck B, Wach S, Taubert H, Wullich B, Goebell PJ, Kahlmeyer A, Olbert P, Isfort P, Nimphius W, Hartmann A, Giedl J; Bridge Consortium. Immunohistochemical subtyping using SK20 and CK5 can identify urothelial carcinomas of the upper urinary tract with a poor prognosis. *PLoS One*. 2017;12(6). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0179602 PMID: 28632777.
13. Muilwijk T, Akand M, Van der Aa F, De Coninck V, Claessens M, Hente R, Eckstein M, Allory Y, Libbrecht L, Joniau S, Gevaert T. Cytokeratin 5 and cytokeratin 20 inversely correlate with tumour grading in Ta nonmuscle-invasive bladder cancer. *J Cell Mol Med*. 2021;25(16):7890–7900. doi:10.1111/jcmm.16712 PMID: 34184816.
14. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Urinary and Male Genital Tumours, 5th ed.; Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2022; Volume 8, Available online: <https://publications.iarc.fr>. 2026.
15. National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Bladder Cancer. NCCN Clinical Guidelines in Oncology. Version 1.2020. Plymouth Meeting (PA): National Comprehensive Cancer Network; 2019. Available online: <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&rid=1417>
16. Bejrananda T, Kanjanapradit K, Saetang J, Sangkhathat S. Impact of immunohistochemistry-based subtyping of GATA3, SK20, SK5/6, and CK14 expression on survival after radical cystectomy for muscle-invasive bladder cancer. *Sci Rep*. 2021 Dec 1;11(1). doi:10.1038/S41598-021-00628-5 PMID: 34707176.
17. Lopez-Beltran A, Cimadamore A, Montironi R, Cheng L. Molecular pathology of urothelial carcinoma. *Hum Pathol*. 2021;113:67–83. doi:10.1016/J.HUMPATH.2021.04.001 PMID: 33887300.
18. Knowles MA, Hurst CD. Molecular biology of bladder cancer: new insights into pathogenesis and clinical diversity. *Nat Rev Cancer*. 2015;15(1):25–41. doi:10.1038/NRC3817 PMID: 25533674.
19. Warrick JI, Knowles MA, Yves A, Van Der Kwast T, Grignon DJ, Kristiansen G, Egevad L, Hartmann A, Cheng L. Report from the International Society of Urological Pathology (ISUP) Consultation Conference on molecular pathology of urogenital cancers. II. molecular pathology of bladder cancer: Progress and challenges. *Am J Surg Pathol*. 2020;44(7):E30–46. doi:10.1097/PAS.0000000000001453 PMID: 32091435.
20. Sjö Dahl G, Lauss M, Lövgren K, Chebil G, Gudjonsson S, Verla S, Patschan O, Aine M, Fernö M, Ringnér M, Månsson W, Liedberg F, Lindgren D, Höglund M. A molecular taxonomy for urothelial carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2012;18(12):3377–3386. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-0077-T PMID: 22553347.
21. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature*. 2014;507(7492):315. doi:10.1038/NATURE12965 PMID: 24476821.
22. Serag Eldien MM, Abdou AG, Elghrabawy GRA, Alhanafy AM, Mahmoud SF. Stratification of urothelial bladder carcinoma depending on immunohistochemical expression of GATA3 and SK5/6. *J Immunoassay Immunochem*. 2021;42(6):662–678. doi:10.1080/15321819.2021.1937212 PMID: 34106817.

23. Rodriguez Pena MDC, Chaux A, Eich ML, Tregnago AC, Taheri D, Borhan W, Sharma R, Rezaei MK, Netto GJ. Immunohistochemical assessment of basal and luminal markers in non-muscle invasive urothelial carcinoma of bladder. *Virchows Archiv* 2019;475:3. 2019;475(3):349–356. doi:10.1007/S00428-019-02618-5 PMID: 31300876.
24. Koll FJ, Schwarz A, Köllermann J, Banek S, Kluth L, Wittler C, Bankov K, Döring C, Becker N, Chun FKH, Wild PJ, Reis H. SK5/6 and GATA3 defined phenotypes of muscle-invasive bladder cancer: impact in adjuvant chemotherapy and molecular subtyping of negative cases. *Front Med (Lausanne)*. 2022;9. doi:10.3389/FMED.2022.875142/PDF
25. Rebola J, Aguiar P, Blanca A, Montironi R, Cimadamore A, Cheng L, Henriques V, Lobato-Faria P, Lopez-Beltran A. Predicting outcomes in non-muscle invasive (Ta/T1) bladder cancer: the role of molecular grade based on luminal/basal phenotype. *Virchows Archiv*. 2019;475(4):445–455. doi:10.1007/s00428-019-02593-x PMID: 31240474.
26. Li Y, Ishiguro H, Kawahara T, Miyamoto Y, Izumi K, Miyamoto H. GATA3 in the urinary bladder: suppression of neoplastic transformation and down-regulation by androgens. *Am J Cancer Res*. 2014;4(5):461. PMID: 25232488.
27. Warli SM, Kadar DD, Siregar GP, Husein A. The difference between cytokeratin 20 expression in high- and low-grade urothelial bladder carcinomas: A cross-sectional study. *Urol Ann*. 2023;15(4):383–387. doi:10.4103/UA.UA_138_22 PMID: 38074175.
28. Desai S, Dug Lim S, Jimenez RE, Chun T, Keane TE, McKenney JK, Zavala-Pompa A, Cohen C, Young RH, Amin MB. Relationship of Cytokeratin 20 and CD44 Protein Expression with WHO/ISUP Grade in pTa and pT1 Papillary Urothelial Neoplasia. *Modern Pathology*. 2000;13(12):1315–1323. doi:10.1038/MOD-PATHOL.3880241 PMID: 11144928.