

## Znaczenie ekspresji transporterów glukozy GLUT1 i GLUT3 na poziomie mRNA w diagnostyce raka pęcherza moczowego u kobiet w wieku pomenopauzalnym

### *Diagnostic value of glucose transporter 1 and 3 (GLUT1 and GLUT3) mRNA level in postmenopausal women with urinary bladder cancer*

Anna Krześlak<sup>1</sup>, Paweł Józwiak<sup>1</sup>, Ewa Forma<sup>1</sup>, Magdalena Bryś<sup>1</sup>, Paweł Woźniak<sup>2</sup>, Jacek Wikosz<sup>2</sup>, Marek Lipiński<sup>2</sup>, Waldemar Różański<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Katedra Cytobiochemii Uniwersytetu Łódzkiego;  
kierownik Katedry: prof. dr hab. Wanda Małgorzata Krajewska

<sup>2</sup>II Klinika Urologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi;  
kierownik Kliniki: dr hab. n. med. Waldemar Różański, prof. Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Przeгляд Menopauzalny 2012; 3: 178–182

### Streszczenie

**Cel pracy:** Ocena przydatności oznaczania ekspresji transporterów glukozy GLUT1 i GLUT3 na poziomie mRNA w diagnostyce raka pęcherza moczowego u kobiet w wieku pomenopauzalnym oraz w prognozowaniu przebiegu choroby.

**Materiał i metody:** W próbach moczu pobranych od 46 kobiet ze zdiagnozowanym rakiem pęcherza moczowego oznaczono ekspresję GLUT1 i GLUT3 na poziomie mRNA metodą łańcuchowej reakcji polimeryzacji w czasie rzeczywistym (*real-time polymerase chain reaction – real-time PCR*). Jako materiału kontrolnego użyto moczu pozyskanego od 37 kobiet, u których w badaniu ultrasonograficznym nie stwierdzono zmian nowotworowych.

**Wyniki:** Ekspresję GLUT1 stwierdzono w 37/46 (82%) preparatach moczu pobranego od kobiet chorych oraz w 27/37 (74%) preparatach moczu pozyskanego od kobiet zdrowych. W przeciwieństwie do GLUT1, ekspresji GLUT3 nie stwierdzono w moczu osób zdrowych, natomiast ekspresję tego genu wykazano w 28/46 (62%) próbach moczu pobranego od kobiet chorych. Ekspresja obu badanych genów była znamienne wyższa ( $p < 0,05$ ) w moczu pozyskanym od kobiet, u których rozpoznano raka w stadium G2 i G3 oraz T2–T4, w porównaniu ze stadium G1 oraz Ta–T1.

**Wnioski:** Oznaczanie ekspresji transporterów glukozy na poziomie mRNA w moczu kobiet w wieku pomenopauzalnym, chorych na nowotwory pęcherza moczowego wydaje się użytecznym wskaźnikiem diagnostycznym w przebiegu choroby.

**Słowa kluczowe:** transportery glukozy, GLUT1, GLUT3, rak pęcherza moczowego u kobiet.

### Summary

**Purpose:** The aim of the study was to evaluate the usefulness of glucose transporters (GLUT1 and GLUT3) mRNA level for bladder cancer diagnosis in postmenopausal women.

**Material and methods:** Glucose transporters expression was measured by a real-time polymerase chain reaction (*real-time PCR*) assay in urine obtained from 46 postmenopausal women with bladder cancer and 37 healthy women.

**Results:** GLUT1 expression was found in urine of both healthy women (74%) and bladder cancer patients (82%). GLUT3 expression was not detected in urine of healthy persons but it was found in 62% of bladder cancer samples. A positive expression of poorly differentiated bladder cancers (G2, G3) showed a significantly higher GLUT1 expression than G1 tumors. Similarly, GLUT 3 transcript level was significantly higher in G2 and G3 in

Adres do korespondencji:

Marek Lipiński, II Klinika Urologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Pabianicka 62, 93-513 Łódź, tel. +48 42 698 52 11, faks +48 42 689 52 12, e-mail: miklipa@poczta.onet.pl

comparison to G1 bladder cancers. Analogous results were obtained for both genes in relation to the clinical stage (Ta-T1 vs. T2-T4). There was no relationship between the expression of studied genes and recurrence.

**Conclusions:** Analysis of the glucose transporters expression in the urine of postmenopausal women with bladder cancer appears to be a useful diagnostic indicator of the disease.

**Key words:** glucose transporters, GLUT1, GLUT3, bladder cancer.

## Wstęp

Rak pęcherza moczowego w Polsce jest 8. pod względem częstości zachorowań nowotworem u kobiet i stanowi jedno z poważniejszych wyzwań dla urologów oraz onkologów. Nowotwór ten występuje w postaci nienaciekającej mięśniówkę właściwą w ok. 70% przypadków i inwazyjnej w ok. 30%. Raki nieinwazyjne cechuje tendencja do dawania wznowy w ok. 60% przypadków. Od 10% do 30% wśród guzów nawrotowych wykazuje istotną progresję w zakresie utraty różnicowania komórkowego i stopnia zaawansowania klinicznego [1]. Zgodnie z danymi eksperymentalnymi, w molekularne podłoże transformacji nowotworowej tego narządu zaangażowane mogą być także czynniki białkowe uczestniczące w transmisji sygnału komórkowego, stymulowane przez estrogeny [2, 3]. U kobiet w wieku przedmenopauzalnym estrogeny syntetyzowane są głównie przez jajniki, natomiast u kobiet w wieku pomenopauzalnym miejsce syntezy tych hormonów przejmuje tkanka tłuszczowa, mózg, śródbłonek naczyń krwionośnych i mięśnie gładkie [4]. Z uwagi na to, że nowotwory pęcherza moczowego występują głównie u kobiet w podeszłym wieku, celowa wydaje się analiza molekularnych podstaw transformacji nowotworowej tego narządu w tej właśnie grupie kobiet.

Cechą charakterystyczną metabolizmu komórek nowotworowych jest nasilenie procesu glikolizy, które możliwe jest m.in. dzięki zwiększonemu transportowi glukozy do komórki [5]. Różnice w szybkości i ilości wychwytywania glukozy pomiędzy komórkami normalnymi i nowotworowymi stały się podstawą opracowania metody diagnozowania nowotworów przez zastosowanie pozytonowej tomografii emisyjnej wykorzystującej fluorodeoksyglukozę zawierającą promieniotwórczy izotop  $^{18}\text{F}$  jako znacznik [6]. Przechodzenie glukozy przez błonę komórkową odbywa się z udziałem białek należących do rodziny transporterów glukozy określanych jako GLUT. Do chwili obecnej zidentyfikowano 14 białek (GLUT1–GLUT14) należących do tej rodziny i zaangażowanych w transport glukozy oraz innych heksoz [7]. Poszczególne transportery wykazują różne powinowactwo do transportowanych monosacharydów oraz różnią się ekspresją tkankową [5]. GLUT1 i GLUT3 należą do transporterów o dużym powinowactwie do glukozy, umożliwiającymi bardzo szybki transport glukozy do komórek. GLUT1 ulega ekspresji na zróżnicowanym poziomie w wielu typach komórek i uważa się, że odpowiada on za podstawowy transport glukozy [5]. Występowanie GLUT3 jest bardziej ograniczone. Stanowi on główny

transporter glukozy w neuronach, ale był również zidentyfikowany w spermie i krwinkach białych [8].

Stwierdzono, że w komórkach nowotworowych, w następstwie zwiększonego zapotrzebowania na glukozę, dochodzi do nasilenia ekspresji niektórych transporterów glukozy. GLUT1 jest transporterem glukozy, którego nadekspresję obserwuje się w przypadku prawie wszystkich nowotworów złośliwych. Zwiększoną ekspresję GLUT1 w stosunku do tkanek prawidłowych stwierdzono w przypadku raka wątroby [9], trzustki [9], nerek [10], płuc [11], piersi [12], żołądka [13], nowotworów głowy i szyi [14] oraz tarczycy [15]. GLUT3 ulega nadekspresji w rakach płuc, jajnika i żołądka [16].

## Cel pracy

Celem badań była ocena ekspresji transporterów glukozy GLUT1 i GLUT3, na poziomie mRNA, metodą łańcuchowej reakcji polimeryzacji w czasie rzeczywistym (*real-time polymerase chain reaction – real-time PCR*) oraz ocena przydatności diagnostycznej badanych genów jako markerów transformacji nowotworowej pęcherza moczowego kobiet w wieku pomenopauzalnym.

## Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły preparaty moczu pobranego od 46 kobiet ze zdiagnozowanym rakiem pęcherza moczowego. Średnia wieku w tej grupie wynosiła

**Tab. I.** Charakterystyka kliniczno-patologiczna pacjentek i badanych preparatów

Charakterystyka	Pacjentki	
	n = 46	(%)
wiek przedział	51–88 lat	
średnia ± SD	56,7 ± 12,4 roku	
typ nowotworu <i>carcinoma urotheliale</i>	46	(100,0)
stopień zróżnicowania histologicznego		
G1	22	(43,5)
G2	11	(15,2)
G3	13	(19,6)
stopień zaawansowania klinicznego		
Ta–T1	31	(67,4)
T2–T4	15	(32,6)

56,7 ±12,4 roku. Charakterystyka kliniczno-patologiczna preparatów zamieszczona została w tabeli I. Materiał kontrolny stanowiły preparaty moczu pobranego od 37 kobiet, u których w badaniu ultrasonograficznym nie zdiagnozowano zmian nowotworowych. U żadnej z kobiet, zarówno w grupie chorych, jak i kontrolnej, nie stwierdzono cukrzycy. Złuszczone komórki nabłonkowe izolowano z 30–50 ml moczu. Bezpośrednio po pobraniu próby moczu przechowywano w temperaturze 4°C do chwili wykonywania oznaczeń, a następnie wirowano przy 2000 rpm przez 15 min. Otrzymany osad przemywano dwukrotnie zbuforowanym roztworem soli fizjologicznej (pH 7,6) i przechowywano w temperaturze –80°C do dalszych oznaczeń.

### Izolowanie RNA i synteza cDNA

Całkowite RNA izolowano przy użyciu odczynnika TRI Reagent (Sigma-Aldrich Corp, St. Louis, MO, USA) zgodnie z zaleceniami producenta. Przyjętym kryterium czystości DNA była wartość  $A_{260}/A_{280}$  mieszcząca się w granicach 1,8–2,0. Reakcję odwrotnej transkrypcji przeprowadzano przy użyciu zestawu PCR Kit ver. 3.0 (Takara Bio Inc., Japonia) zgodnie z zaleceniami producenta. cDNA przechowywano w temperaturze –20°C.

### Analiza ilościowa produktu amplifikacji w czasie rzeczywistym – reakcja real-time PCR

Otrzymany RNA stanowił matrycę w reakcji *real-time* PCR dla oznaczenia liczby kopii mRNA dla genu GLUT1 i GLUT3. Użyta mieszanina reakcyjna zawierała: 0,5 µl cDNA, 5 µl TaqMan® Universal PCR MasterMix, 0,5 µl 20×

TaqMan® Gene Expression Assays i 4 µl H<sub>2</sub>O. Reakcję *real-time* PCR prowadzono w urządzeniu Mastercycler®ep realplex (Eppendorf). Początkowa ilość matrycy wyznaczana była na podstawie parametru Ct (teoretyczny numer cyklu, przy którym wartość fluorescencji jest wyższa niż przyjęta arbitralnie wartość graniczna). Pomiar wartości Ct wykonano w dwóch powtórzeniach, jako gen referencyjny wykorzystano GAPDH. Do badań zastosowano następujące sondy TaqMan® Gene Expression Assays (Applied Biosystems, USA): GLUT1 – Hs00892681\_m1; GLUT3 – Hs00359840\_m1, GAPDH – Hs00266705\_g1.

### Analiza statystyczna

Analizy statystycznej wyników dokonano przy użyciu programu komputerowego STATISTICA wersja 9.0 (StatSoft, Poland). Do oceny rozkładów wykorzystano test Kołmogorowa-Smirnowa i po stwierdzeniu rozkładów odmiennych od normalnych do dalszych obliczeń stosowano testy nieparametryczne – U Manna-Whitneya i Kruskala-Wallisa.

### Wyniki

Ekspresję genu GLUT1 stwierdzono w 37/46 (82%) preparatach moczu pobranego od kobiet chorych oraz w 27/37 (74%) preparatach moczu pozyskanego od kobiet zdrowych. Ekspresji GLUT3 nie stwierdzono w moczu osób zdrowych, natomiast ekspresję tego genu wykazano w 28/46 (62%) próbach moczu pobranego od kobiet chorych. Zestawienie poziomu ekspresji genów GLUT1 i GLUT3 z cechami kliniczno-patologicznymi zawarto w tabeli II.

**Tab. II.** Ekspresja genów GLUT1 i GLUT3 wyrażona jako liczba kopii badanego genu w przeliczeniu na 1000 kopii genu GAPDH, w odniesieniu do parametrów kliniczno-patologicznych

GLUT1 (liczba kopii mRNA dla GLUT1/1000 kopii GAPDH)		GLUT3 (liczba kopii mRNA dla GLUT3/1000 kopii GAPDH)	
mocz prawidłowy (P) vs mocz pozyskany od kobiet chorych (BC)			
P	BC	P	BC
97,08 ±35,67	371,63 ±128,04	–	201,67 ±95,6
$p < 0,05$		–	
mocz pozyskany od kobiet chorych – wznowa			
brak	występuje	brak	występuje
297,81 ±194,87	367,26 ±118,77	181,78 ±101,34	169,67 ±106,82
$p = 0,84$		$p = 0,62$	
mocz pozyskany od kobiet chorych – stopień zaawansowania klinicznego			
Ta–T1	T2–T4	Ta–T1	T2–T4
236,7 ±83,6	417,6 ±145,2	116,3 ±68,4	281,2 ±92,4
$p < 0,05$		$p < 0,05$	
mocz pozyskany od kobiet chorych – stopień zróżnicowania histologicznego			
G1	G2	G3	G1
224,8 ±108,2	452,8 ±117,8	403,4 ±182,7	125,7 ±59,2
			G2 216,3 ±97,4
			G3 228,5 ±106,3
$G1 \text{ vs } G2 \text{ } p < 0,05; G1 \text{ vs } G3 \text{ } p < 0,05$			$G1 \text{ vs } G2 \text{ } p < 0,05; G1 \text{ vs } G3 \text{ } p < 0,05$

Wykazano, że ekspresja zarówno GLUT1, jak i GLUT3 była znamienne statystycznie wyższa w preparatach moczu pozyskanych od chorych na raka wykazującego wyższy stopień zaawansowania klinicznego oraz niższy stopień zróżnicowania histologicznego, odpowiednio T2–T4 oraz G2 i G3, w porównaniu ze stadium Ta–T1 i G1. Nie wykazano natomiast znamiennej różnicy w ekspresji badanych genów w odniesieniu do występowania wznowy u pacjentek.

## Dyskusja

Komórki nowotworowe charakteryzują się zwiększonym zapotrzebowaniem na glukozę. Wynika to głównie z faktu, że pozyskują one energię prawie wyłącznie w procesie mało efektywnej glikolizy beztlenowej, która jest sposobem adaptacji tych komórek do warunków hipoksji towarzyszącej rosnącym guzom. Ważnym regulatorem procesów związanych z hipoksją jest czynnik HIF-1 $\alpha$  (*hypoxia inducible factor 1 $\alpha$* ). Czynnik ten wpływa na regulację ekspresji wielu genów, m.in. tych zaangażowanych w angiogenezę, transport glukozy i wewnątrzkomórkowy metabolizm [17]. Ekspresja GLUT1 i GLUT3 jest stymulowana przez HIF-1 $\alpha$  w warunkach niedoboru tlenu. Z kolei na ekspresję i aktywność HIF-1 $\alpha$  wpływa szereg czynników, np. estrogeny. W komórkach raka jajnika estrogeny i progesteron regulują ekspresję HIF-1 $\alpha$  poprzez szlak sygnałowy z udziałem kinazy Akt, wpływając na potencjał metastatyczny komórek [18]. Hipoksja związana jest z agresywnym zachowaniem guzów i dlatego wydaje się, że nadekspresja GLUT1 i GLUT3 może odgrywać rolę w progresji nowotworów. W przypadku kilku nowotworów, np. głowy i szyi, raka płuc, pęcherzyka żółciowego, jelita grubego, nerki, piersi i jajników, stwierdzono zależność pomiędzy ekspresją GLUT1 a stopniem zaawansowania oraz złymi rokowaniami dla pacjenta [17–22]. Ekspresja GLUT3 wzrasta także w komórkach raków w odpowiedzi na hipoksję, ale badania kliniczne dają niejednoznaczne wyniki.

Istnieje kilka doniesień dotyczących ekspresji GLUT1 w raku pęcherza moczowego [23–26]. Nie ma natomiast danych dotyczących ekspresji GLUT3. Wyniki badań immunohistochemicznych różnych preparatów nowotworów pęcherza moczowego wskazują na korelację pomiędzy wysoką ekspresją transportera GLUT1 a agresywnym potencjałem komórek nowotworowych, stopniem zaawansowania nowotworu, złymi rokowaniami i niskim wskaźnikiem przeżywalności [23–24].

W prezentowanej pracy analizowano ekspresję GLUT1 i GLUT3 w komórkach pochodzących z osadu moczu kobiet w wieku pomenopauzalnym ze zdiagnozowanymi nowotworami pęcherza moczowego oraz kobiet, u których nie stwierdzono choroby nowotworowej, stanowiących grupę kontrolną. W przeciwieństwie do wcześniejszych immunohistochemicznych badań Chang i wsp. [23], które sugerowały brak ekspresji GLUT1

w normalnej śluzówce pęcherza, przeprowadzona przez autorów niniejszej pracy analiza wykazała ekspresję mRNA GLUT1 w większości przypadków, zarówno w grupie kobiet chorych, jak i w grupie kontrolnej. Stwierdzono jednak, że ekspresja GLUT1 w moczu kobiet chorych była prawie 4-krotnie wyższa niż w grupie kontrolnej. Ekspresję GLUT3 obserwowano w 62% przypadków chorych na raka pęcherza moczowego. Nie stwierdzono natomiast ekspresji tego transportera w osadzie komórek pochodzących z moczu kobiet z grupy kontrolnej. GLUT3 może być zatem dobrym markerem transformacji nowotworowej w przypadku pęcherza moczowego u kobiet w wieku pomenopauzalnym.

Stwierdzono istotne statystycznie różnice w ekspresji obu transporterów glukozy pomiędzy rakami nieinwazyjnymi (Ta–T1) a rakami inwazyjnymi (T2–T4). Ekspresja GLUT1 i GLUT3 koreluje również z uznanym markerem agresywności guzów, tj. stopniem złośliwości histologicznej. Większa ekspresja transporterów obserwowana była w moczu pacjentek z rakami średnio i słabo zróżnicowanymi (G2 i G3) niż u kobiet z nowotworami dobrze zróżnicowanymi o niskim stopniu złośliwości histologicznej (G1).

Uzyskane wyniki sugerują, że ekspresja GLUT1 i GLUT3 oznaczana w osadzie moczu może być ważnym czynnikiem diagnostycznym w przypadku raka pęcherza moczowego u kobiet. Sugerujemy, że wysoka ekspresja GLUT1 i GLUT3 w rakach pęcherza wskazuje na zwiększony transport i zużycie glukozy, co jest skorelowane z agresywnym charakterem nowotworu. Niezależnie od ich znaczenia w diagnostyce wydaje się, że GLUT1 i 3 mogą być również brane pod uwagę jako cel terapii raka pęcherza moczowego, ponieważ zmniejszenie transportu glukozy może ograniczać potencjał proliferacyjny i zdolność do inwazji komórek nowotworowych.

*Praca wykonana z funduszy działalności statutowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr 503/O-157-01/503-01.*

*Praca wykonana z funduszy działalności statutowej Uniwersytetu Łódzkiego.*

## Piśmiennictwo

1. Kompier LC, van Tilborg AA, Zwarthoff EC. Bladder cancer: novel molecular characteristics, diagnostic, and therapeutic implications. *Urol Oncol* 2010; 28: 91-6.
2. Teng J, Wang ZY, Jarrard DF, Bjorling DE. Roles of estrogen receptor alpha and beta in modulating urothelial cell proliferation. *Endocr Relat Cancer* 2008; 15: 351-64.
3. Shen SS, Smith CL, Hsieh JT, et al. Expression of estrogen receptors-alpha and -beta in bladder cancer cell lines and human bladder tumor tissue. *Cancer* 2006; 106: 2610-6.
4. Davis SR, Burger HG. The role of androgen therapy. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2003; 17: 165-75.
5. Macheda ML, Rogers S, Best JD. Molecular and cellular regulation of glucose transporter (GLUT) proteins in cancer. *J Cell Physiol* 2005; 202: 654-62.
6. Kresnik E, Gallowitsch HJ, Mikosch P, et al. Fluorine-18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in the preoperative assessment of thyroid nodules in an endemic goiter area. *Surgery* 2003; 133: 294-9.

7. Thorens B, Mueckler M. Glucose transporters in the 21st Century. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 298: E141-5.
8. Simpson IA, Dwyer D, Malide D, et al. The facilitative glucose transporter GLUT3: 20 years of distinction. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 295: E242-53.
9. Yamamoto T, Seino Y, Fukumoto H, et al. Over-expression of facilitative glucose transporter genes in human cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 170: 223-30.
10. Nagase Y, Takata K, Moriyama N, et al. Immunohistochemical localization of glucose transporters in human renal cell carcinoma. *J Urol* 1995; 153: 798-801.
11. Ito T, Noguchi Y, Satoh S, et al. Expression of facilitative glucose transporter isoforms in lung carcinomas: its relation to histologic type, differentiation grade, and tumor stage. *Mod Pathol* 1998; 11: 437-43.
12. Brown RS, Wahl RL. Overexpression of Glut-1 glucose transporter in human breast cancer. An immunohistochemical study. *Cancer* 1993; 72: 2979-85.
13. Noguchi Y, Marat D, Saito A, et al. Expression of facilitative glucose transporters in gastric tumors. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 2683-9.
14. Mellanen P, Minn H, Grénman R, Härkönen P. Expression of glucose transporters in head-and-neck tumors. *Int J Cancer* 1994; 56: 622-9.
15. Matsuzo K, Segade F, Matsuzo U, et al. Differential expression of glucose transporters in normal and pathologic thyroid tissue. *Thyroid* 2004; 14: 806-12.
16. Younes M, Lechago LV, Somoano JR, et al. Immunohistochemical detection of Glut3 in human tumors and normal tissues. *Anticancer Res* 1997; 17: 2747-50.
17. Airley RE, Mobasheri A. Hypoxic regulation of glucose transport, anaerobic metabolism and angiogenesis in cancer: novel pathways and targets for anticancer therapeutics. *Chemotherapy* 2007; 53: 233-56.
18. Hua K, Din J, Cao Q, et al. Estrogen and progestin regulate HIF-1alpha expression in ovarian cancer cell lines via the activation of Akt signaling transduction pathway. *Oncol Rep* 2009; 21: 893-8.
19. Younes M, Brown RW, Stephenson M, et al. Overexpression of Glut1 and Glut3 in stage I nonsmall cell lung carcinoma is associated with poor survival. *Cancer* 1997; 80: 1046-51.
20. Reisser C, Eichhorn K, Herold-Mende C, et al. Expression of facilitative glucose transport proteins during development of squamous cell carcinomas of the head and neck. *Int J Cancer* 1999; 80: 194-8.
21. Haber RS, Rathana A, Weiser KR, et al. GLUT1 glucose transporter expression in colorectal carcinoma: a marker for poor prognosis. *Cancer* 1998; 83: 34-40.
22. Lidgren A, Bergh A, Grankvist K, et al. Glucose transporter-1 expression in renal cell carcinoma and its correlation with hypoxia inducible factor-1 alpha. *BJU Int* 2008; 101: 480-4.
23. Ozbudak IH, Shilo K, Tavora F, et al. Glucose transporter-1 in pulmonary neuroendocrine carcinomas: expression and survival analysis. *Mod Pathol* 2009; 22: 633-8.
24. Chang S, Lee S, Lee C, Kim JI, Kim Y. Expression of the human erythrocyte glucose transporter in transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology* 2000; 55: 448-52.
25. Younes M, Juarez D, Lechago LV, Lerner SP. Glut 1 expression in transitional cell carcinoma of the urinary bladder is associated with poor patient survival. *Anticancer Res* 2001; 21: 575-8.
26. Lee JH, Kim YW, Chang SG. Glucose transporter-1 expression in urothelial papilloma of the bladder. *Urol Int* 2005; 74: 268-71.
27. Palit V, Phillips RM, Puri R, et al. Expression of HIF-1alpha and Glut-1 in human bladder cancer. *Oncol Rep* 2005; 14: 909-13.