

Mesane kanserinde idrar belirteçlerinin son durumu nedir?

What is the current status of bladder tumor markers?

Dr. İbrahim Dönmez¹, Dr. N. Aydın Mungan²

¹Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği, Kırşehir

²Karalmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Zonguldak

ÖZET

Mesane tümörü günümüzdeki tüm gelişmelere karşın halen ciddi bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir. Tanı ve takipte vaz geçilemeyen basamak, invazif bir işlem olan sistoskopidir. İdrar sitolojisi tanıda yardımcı olarak kullanılmakla beraber kullanım alanı sınırlıdır. İdrar sitolojisi yüksek dereceli tümörlerde makul sensitiviteye ve spesifiteye sahiptir ancak düşük dereceli tümörlerde sensitivitesi %4 ile 31 arasındadır. Geçmiş yıllarda, mesane tümörlerinin tanı ve takibinde kullanılmak üzere çok sayıda idrar belirteçi tespit edilmiştir. Bu belirteçlerin geliştirilmesinde amaç mesane tümörü tanı ve takibinde invazif bir işlem olan sistoskopi kullanımını azaltmak ve sitolojinin yetersizliğini giderebilmek ve hatta yerini alabilmektir.

Mesane tümörlerinin tanısında nihai amaç, yüksek sensitivite ve spesifiteden daha önemli olan yüksek negatif ve pozitif prediktiviteye (PPD ve NPD) sahip idrar belirteçleri geliştirmektir. Ancak, literatürdeki pek çok çalışmada belirteçler PPD ve NPD ele alınmadan değerlendirilmiştir. Bu durum binlerce belirteçin çalışılmasına ve ümit verici sonuçlarına rağmen neden günlük kullanımda yer almadığını da açıklamaktadır. İdeal bir mesane tümörü idrar belirteçi güvenilir olarak tümörü tespit etmelidir aynı zamanda kas invazif olmayan mesane tümörü takibinde sistoskopi sayısını da azaltmalıdır. Bu amaç ile kullanıma sunulan NMP22, FISH, BTA, İmmünosit gibi belirteçlerin yanı sıra çok sayıda deneysel idrar belirteçi mevcuttur. Geliştirilmekte olan idrar belirteçlerinin idrar sitolojisine göre daha yüksek sensitiviteye sahip olduğu birçok çalışma ile gösterilmiş olmakla beraber bu testler ideal olmaktan uzaktır ve yakın zamanda sistokopinin yerini alacak gibi gözükmemektedir.

Bu derleme, mesane tümörü tanısı için kullanılan güncel idrar belirteçlerinin yanı sıra deneysel testleri de gözden geçirmeyi amaçlamaktadır.

Anahtar kelimeler: İdrar sitolojisi, idrar belirteçleri, FISH, Telomeraz, Mikrosatellit analizleri

ABSTRACT

Bladder cancer continues to be a major health problem despite all advances in the field. As an invasive procedure, cystoscopy, is an indispensable step for diagnosis and surveillance of bladder cancer. Urinary cytology has been used to aid in diagnosis, but its use is limited. Urine cytology has reasonable sensitivity and specificity for the detection of high-derece bladder cancer, but sensitivity for detection of low-derece tumors ranges only from 4% to 31%. In recent years, numerous urinary markers detected for diagnosis and surveillance for bladder cancer. The aim of these markers to reduce the number of invasive cystoscopies for diagnosis and surveillance for bladder cancer and to overcome insufficiency or even supersede cytology.

The ultimate goal is the development of urinary markers that have high negative and positive predictive values (NPV and PPV) which are better determinant than high sensitivity and specificity for bladder cancer. However, many studies in the literature evaluated urinary markers without taking into consideration of their NPV and PPV's. As a result of that, thousands of urinary markers have been evaluated and, although some promising results, none of them currently have been used in daily practise. An ideal urine marker for bladder cancer should reliably detect bladder cancer and it might also reduce the number of cystoscopies in surveillance of non-muscle-invasive bladder cancer. For this purpose, there are commercially available markers such as NMP22, FISH, BTA and Immunocyt as well as experimental markers. Although, developed urinary markers have been shown to have higher sensitivity than cytology by many studies, these markers are far from being ideal and they cannot safely replace cystoscopy in this setting in near future.

This review is aimed to review the currently available urinary bladder cancer markers as well as investigational urinary markers for future clinical use.

Key words: urinary cytology, urinary markers, FISH, telomerase, microsatellite analysis

İletişim (✉): idonmez@aol.com

Sadece 2010 yılında, yaklaşık olarak 70530 yeni mesane tümörü olgusu tespit edilmiş ve mesane tümörü nedeni ile 14680 ölüm gerçekleşmiştir (1). Mesane tümörü, en sık görülen 5 kanserden biridir ve tümör ilişkili ölüm sıralamasında

ilk 10'da yer alır. Trans-üretal rezeksiyon (TUR) sonrası 1. yılda, düşük ve orta risk hastalık grubunda rekürrens oranı sırasıyla %20 ve %40'lara varmaktadır. Yüksek risk grubunda ise, rekürrens oranı çok daha yüksek olup TUR sonrası 1 ile 2. yıllarda %90'a varmaktadır (2).

“Sitolojinin doğruluğu patoloğa bağıdır. Tanısal bir test olarak kullanıldığında gözlemciler arası (inter ve intra-observer) yüksek varyasyon göstermektedir ve öğrenme eğrisi uzundur.”

Bu nedenle, bu hastalığın yakın ve doğru takibi tedavi ve ilerlemeyi engellemek açısından “sine qua non” (olmazsa olmaz)’dır. Mesane tümörü tanısı uzun yıllardır sistoskopi ile konulmaktadır. İdrar sitolojisi yardımcı olmakla beraber özellikle düşük dereceli tümörlerdeki düşük sensitivitesi kullanımını sınırlandırmaktadır. Non-invazif testler olan Florasan in situ hibridizasyon (FISH), nükleer matriks protein 22 (NMP22), mesane tümör antijeni (BTA), immunosit gibi idrar tabanlı belirteçlerin geliştirilmesi tanıda doğruluğu arttırmıştır.

İdrar sitolojisi

İdrar sitolojisi, mesane tümörü tanısında standart olarak kullanılan bir non-invazif idrar belirteçidir. İdrar sitolojisinin kullanılabilirliği, idrara dökülen kanser hücresi ve bu hücrelerin patoloğ tarafından doğru tanımlanmasına bağlıdır. İdrar sitolojisinin yüksek dereceli tümörlerde daha yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olduğu, buna karşın düşük dereceli tümörlerde sensitivite ve spesifitesinin kötü olduğu birçok çalışma ile ortaya konmuştur (3). Düşük dereceli tümörlerde idrar sitoloji sensitivitesi %13 ila %75 arasındayken yüksek dereceli tümörlerde %80’in üzerindedir. Overall sensitivitenin %25 ila %70 arasında olduğu bilinmektedir (4,5). 14260 hastayı kapsayan 36 çalışmanın meta analizi %44 sensitivite ve %96 spesifite bildirmiştir (6). Mungan ve arkadaşları, işeme idrarı sitolojisi ile mesane tümörü tespit etme sensitivitesini arttırmak için işeme idrarını başlangıç, orta ve terminal bölümlere ayırmışlar ve genel sensitivitenin sırasıyla %34,6, %38,5 ve %38,5 olduğunu ve en yüksek sensitivitenin derece 3 tümörlerde terminal idrarda görüldüğünü rapor etmiştir (7).

Sitolojinin doğruluğu patoloğa bağıdır. Tanısal bir test olarak kullanıldığında gözlemciler arası (inter ve intra-observer) yüksek varyasyon göstermektedir ve öğrenme eğrisi uzundur (5). Bu kısıtlılığına rağmen, yüksek spesifite ve nispeten maliyetinin

düşük olması nedeni ile idrar sitolojisi idrar tabanlı mesane tümör belirteçlerinin belkemiği olarak kabul edilmektedir.

Mesane tümörü tespitinde kullanılan idrar belirteçlerini iki alt grupta toplamak mümkündür.

A. Ticari olarak kullanıma sunulan idrar belirteçleri

Mesane tümör antijen testleri (BTA)

BTA Stat ve BTA-TRAK, idrarda mesane tümör antijenini tespit etmek için geliştirilmişlerdir. Bu antijen, insan komplement faktör H’ye benzeyen bir insan komplement faktör-H ilişkili proteindir. BTA, komplement döngüsünü bozan komplement faktör C3b ile etkileşir. Hücre kültürlerinde, normal hücreler H-ilişkili protein ekspres etmezler (8). BTA Stat immünokromagrafik, kalitatif, NMP22’ye benzer bir test olup Birleşik Devletler Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından tarama veya tanı için değil takip amaçlı kullanımı onaylanmıştır. BTA-TRAK standart, kantitatif, ELISA yöntemiyle faktör-H ilişkili proteini ölçmektedir (4).

BTA Stat testinin overall sensitivite ve spesifitesi sırasıyla %57-83 ve %60-92 olarak rapor edilmiştir (9,10). Histolojik derece arttıkça BTA Stat sensitivitesi artar. Kas invazif olmayan ve düşük dereceli tümörlerde sensitivitesi sitolojiye göre daha yüksektir ancak daha düşük spesifitesi vardır (8). Enfeksiyon, taş hastalığı, barsak kullanılarak yapılan üriner diversiyonlar veya BCG tedavisi mesane tümörü dışındaki sebeplerden kaynaklanan hematüri sonrasında yalancı pozitiflik görülebilmektedir (11,12). Yakın zamanlarda yapılan ve 501 hastayı içeren çok merkezli bir prospektif çalışmada mesane tümörü rekürrensini tespit edilmesinde BTA Stat sensitivitesinin özellikle derece 1 lezyonlarda sitolojiye üstün olduğu gösterilmiştir (%48’e karşın %13) (13). Mungan ve arkadaşları, mesane tümörü tanısı olan 117 hasta, benign genitoüriner hastalığı olan 94 hasta ve 21 sağlıklı gönüllüyü içeren bir çalışmada idrar sitolojisi ve BTA Stat testlerinin tanısal değerlerini karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada, mesane tümörü olan hastalarda BTA Stat testi ve idrar sitolojisi için overall sensitivite sırasıyla %80,3 ve %28,2 olarak tespit edilmiştir. Derece I ve II tümörlerde, BTA Stat testi ve idrar sitolojisi için sensitivite ise sırasıyla, %52, %88 ve %6, %24, Derece III tümörlerde bu değerler %93 ve %49 olarak rapor edilmiştir. Spesifite ise idrar sitolojisi için %100 ve BTA Stat testi için %72,3 olarak bildirilmiştir. BTA Stat testi sensitivitesinin, derece

dikkate alınmadan tüm mesane tümörleri için idrar sitolojisine oranla çok daha iyi olduğu ve bu test ile düşük dereceli tümörlerin de tespit edilebildiği sonucuna varılmıştır. İdrar sitolojisinin sensitivitesinin BTA Stat testine göre yetersiz olduğu ancak, idrar sitolojisi BTA Stat testi ile kıyaslandığında çok daha yüksek spesifiteye sahip olduğu rapor edilmiştir (14).

BTA TRAK testi kantitatif bir immünoassaydir. Mesane tümörünün tespit edilmesi için insan komplement faktör H-ilişkili protein eşik değeri (cut-off) 14 U/ml’dir (15). Bu eşik değerini kullanılmasıyla rapor edilen overall sensitivite %62-91’dir (15-19). Bununla beraber spesifitesi sadece %25’tir (14). BTA Stat testinde olduğu gibi benign genitoüriner problemler yalancı pozitifliğe neden olabirler (15,17,18).

Her iki test FDA tarafından sadece sistoskopi ile kombinasyon için onaylanmıştır. Yüksek yalancı pozitiflik oranları nedeniyle sistoskopsiz kullanımı önerilmemektedir.

İmmünosit

İmmünosit, sitoloji ile bir immünoflorasan testi kombine etmektedir (20). İki mesane tümör hücre ilişkili müsin ve karsinoembriyonik antijenin yüksek molekül ağırlıklı bir formuna karşı gelişen florasan monoklonal antikorlar kullanılarak idrara dökülen ürotelyal hücrelerin içerisinde mesane tümörü hücre sel biomarkerlarını tespit eder. Üç monoklonal antikor, mesane tümörü için spesifik olan M344, LDQ10 ve 19A211 antijenlerini hedef alır. Kırmızı veya yeşil bir florasan hücrenin varlığı pozitif test anlamına gelir. Test eğitilmiş personel gerektirir, pahalıdır ve doğru bir test için çok sayıda hücreye ihtiyaç vardır (21,22).

Birçok çalışma, immünosit’in yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olduğunu göstermiştir. Prospektif bir çalışma, derece 1 tümörlerde %79,3, derece 2 tümörlerde (%84,1) ve derece 3 tümörlerde %92,1 sensitivite ortaya koymuştur (23). 2896 hastayı kapsayan 8 çalışmanın verileri overall sensitivitenin %84, spesifitenin 75 olduğunu rapor etmiştir (6). Sitoloji ile kombine edildiğinde, immünosit sensitivitesi ortalama %78’den %88’e yükselmekte ancak spesifitede belirgin değişiklik olmamaktadır. Bu bulgu, hem düşük hem de yüksek dereceli tümörler için geçerlidir.

Benign prostat hiperplazisi veya sistiti olan hastalarda daha fazla olmakla beraber yanlış pozitif sonuç vardır ve %69-70 spesifite

rapor edilmiştir (24). Sitolojiye göre özellikle düşük dereceli tümörlerde daha yüksek sensitivitesi vardır (25). Bu test sistoskopiye ek olarak kullanıldığında faydalı olabilir ancak sadece mesane tümörü olan hastaların takibinde kullanılmalıdır.

Nükleer matriks protein (NMP22)

NMP, hücre çekirdek iskeletinin önemli bir parçasıdır. Bu proteinler, DNA replikasyonu, transkripsiyonu ve gen ekspresyon regülasyonlarında önemli rol oynarlar. NMP22, nükleer bir mitotik proteindir ve hücre replikasyonu sırasında kromatinin yeni oluşmuş hücrelere doğru biçimde dağıtılmasında rol oynar. Mesane tümör hücre dizisinde, normal mesane ürotelyumuna göre 25 kat fazla NMP22 seviyesi olduğu gösterilmiştir (26). Aktif mesane tümörü olan hastaların idrarlarında tespit edilen ortalama NMP22 seviyesi mesane tümörü olmayanlara göre 5 kat fazladır (27). Piyüri, üriner sistem taş hastalığı, sistit, yabancı cisim varlığında da yükseklenmektedir (4).

İdrardaki nükleer mitotik protein 22'yi tespit etmek için kullanılan iki farklı NMP22 testi vardır. Orijinal NMP22 mesane kanser testi bir laboratuvar tabanlı, kantitatif, sandviç tip bir enzim immünoassaydır. İkinci test ise NMP22 bladderçek olup bu test kalitatif, NMP22 tespit eden antikor içerir. Her iki testte FDA tarafından mesane tümörü takibinde kullanımı onaylanmıştır. Ayrıca NMP22 bladderçek testi mesane tümörü açısından risk grubunda olan hastaların taraması içinde kullanılabilir.

Orijinal NMP22 immünoassayın sensitivitesi %47 ile %100, spesifitesi %60 ile %90 aralığındadır. Bununla beraber yüksek yalancı pozitiflik oranı nedeniyle kullanımı çok kabul görmemiştir. Pozitif prediktif değeri %34-76, negatif prediktif değeri ise %77-98 aralığındadır.

Grossman ve ark. mesane tümörü için risk grubunda olan 1331 olguda tümör tespiti için NMP22 ile idrar sitolojisini karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada, mesane tümörü tespitinde NMP22 sensitivitesi %55.7 ve spesifite %85.7 iken idrar sitolojisi için sensitivite %15.8, spesifite %99.2 olarak rapor edilmiştir (28). Takip eden bir başka çalışma, mesane tümörü rekürrens tanısında NMP22'nin başarısını değerlendirmiştir. NMP22 ile sistoskopi kombinasyonu malignitelerin %99'unu tespit etmiştir (29). Non-invazif tümör tespitinde de invazif tümörlere göre daha yüksek sensitiviteye sahiptir (sırasıyla %81.8 ve %57.1) (30).

Florasın in situ hibridizasyon (FISH)

FISH moleküler bir test olup, ürotelial karsinomlarda en yaygın görülen kromozomal değişiklikleri idrara dökülen hücrelerde tespit etme esasına dayanır. Urovysion, p16 tümör süpresör geninin 9p21 lokus kaybı ile birlikte 3,7 ve 17. kromozomlarda ki anoploidiyi tespit eden çok hedefli florasın in situ hibridizasyon (FISH) testidir (31). Bu testin hem mesane tümürlü hastaların takibinde hem de hematürisi olan hastalarda mesane tümörünün tespitinde kullanımı FDA tarafından onaylanmıştır.

FISH testi konvansiyonel sitolojideki morfolojik değişiklikler ve moleküler DNA değişikliklerini kombine eden bir testtir. Bu teste en az 25 morfolojik olarak anormal hücre değerlendirilir. Eğer 4 veya fazla hücrede polizomi 3, 7 veya 17 veyahut 12 veya daha fazla hücrede 9p21 kaybı varsa tümör için pozitif kabul edilir. Bununla beraber günümüzde henüz pozitif test için uniform kriter yoktur.

Sokolova ve ark. tarafından yapılan ilk çalışmalar %84 sensitivite ve %92 spesifite ortaya koymuştur (32). Takip eden bir çok çalışma %69-85 sensitivite ve %78-92 spesifite bildirmiştir (4,6,32-34). FISH ile sitoloji ve NMP22 arasında yapılan bir karşılaştırmada düşük dereceli tümörlerde FISH sensitivitesinin daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. FISH ve sitolojinin kombine edilmesi ile kanserlerin %97.4'ü tespit edilebilmişken sitoloji ile NMP22 kombinasyonunda bu oran %92.1 olmuştur (35).

Sistoskopisi normal olmakla beraber FISH testi pozitif olan hastaların bazılarında bir süre sonra ürotelial kanser gelişeceği öne sürülmüştür. Birçok çalışma FISH testi pozitif gelen hastaların %85 ile %89'unda 12 ay içerisinde pozitif mesane biyopsisi görüldüğünü rapor etmiştir (36,37). Buna karşın diğer bazı çalışmalar pozitif FISH testi ve negatif sistoskopi sonrası rekürrens oranının <%50 olduğunu ortaya koymuştur (38). BCG tedavisi sonrasında FISH pozitif hastalarda FISH negatif olanlara göre daha erken rekürrens ve 9.4 kat fazla kas invazif hastalık görüldüğü bildirilmiştir (39). Günümüzde halen pozitif FISH testinin gerçek önemi netlik kazanmamıştır.

B. Deneysel idrar belirteçleri

LEWIS X

İdrara dökülen ürotelial hücrelerde Lewis X antijenini tespit etmek için de monoklonal antikorlar kullanılmıştır. Lewis X, yetişkin

ürotelial hücrelerde normalde bulunmayan bir kan grubu antijenidir ancak evre veya dereceden bağımsız olarak transizyonel hücreli tümörlerde eksprese edilir (40).

260 hastada tek bir işeme idrarını değerlendiren bir prospektif çalışmada sensitivite %79.8, spesifite %86.4 olarak bulunmuş ve tüm karsinoma in situ (CIS) olguları %100 tespit edilmiştir. 89 hastada ardışık 2 idrar örneği incelenmiş ve Lewis X antijen sensitivitesinin %95.1'e yükseldiği rapor edilmiştir (40). Planz ve ark. 50 hastalık serilerinde benzer sonuçlar elde etmiş ve %84 sensitivite, %80 spesifite bildirmişlerdir (41). Golijanin ve ark. iki farklı idrar örneğinin değerlendirilmesi ile Lewis X antijen testi sensitivitesinin %81.2'den %97'ye, spesifitesinin %85.5'e yükseldiğini ortaya koymuşlardır (42).

AURKA

Aurora kinaz A (AURKA) geni anoploidi ve kromozom instabilitesi ile ilişkili serin/treonin kinazı kodlar. Bu gen idrar sedimentinde FISH tarafından ortaya çıkartılır. 100 mesane tümörü, 92 sağlıklı ve benign ürolojik hastalığı olan 56 hastadan oluşan bir çalışmada bu testin sensitivitesi %87 spesifitesi %97 olarak rapor edilmiştir (43). Artan hastalık derecesi ile orantılı olarak artan gen amplifikasyonu tespit edilmiştir. Bu öncül çalışmaların başka çalışmalarla desteklenmesine gereksinim vardır.

BLCA-1 VE BLCA-4

BLCA-1 ve BLCA-4 mesane tümöründe ortaya çıkan nükleer transkripsiyon faktörleridir. BLCA-1 non-malign ürotelyumdan salınmaz. BLCA-4 ise hem tümör hem de tümöre komşu benign alanlardan salınan ancak non-malign mesaneden salgılanmayan bir faktördür (44,45). BLCA-4, ELİSA ile idrarda ölçülür sensitivitesinin %89-96 spesifitesinin %100'e ulaştığı rapor edilmiştir (46,47). Bu protein IL-1 α, trombomodülin ve IL-8 seviyelerini arttırarak mesane tümörü patogenezini etkilemektedir (48).

Van Le ve arkadaşları prospektif olarak BLCA-4'ü değerlendirmiş ve mesane tümör tespitinde %89 sensitivite ve %95 spesifite elde etmişlerdir (46). Üriner sistem enfeksiyon hikayesi, sigara kullanımı, kateterizasyon veya sistit ile BLCA-4 seviye etkileşiminin olmaması nedeniyle üriner bir tümör belirteci olarak BLCA-4'ün potansiyeli daha da önem kazanmıştır (49).

“Rekürrensleri tespit etmede bu testin sensitivitesi %58 ile idrar sitolojisinden daha yüksek olmuştur.”

Benzer şekilde BLCA-1’de %80 sensitivite %87 spesifiteye sahiptir (44). Her iki belirteç de tümör derecesinden etkilenmemektedir. Bununla beraber spinal kord hasarı olan hastaların %19’unda BLCA-4 seviyesinin yükseldiği tespit edilmiştir. Bu belirteçler için validasyona ihtiyaç vardır.

CEACAM1

Mesane tümörü büyüme ve progresyonu anjiogeneze bağlıdır. İnsan karsinoembriyjenik antijen ilişkili hücre adhezyon molekülü 1 (CEACAM1) proanjiogenetik aktivitesi olan bir hücre adhezyon molekülüdür. Normal mesane ürotelyumu luminal yüzeyinden ekprese edilen CEACAM1 mesane tümörü hücrelerinde downregüle edilir ve eş zamanlı olarak komşu kan damarlarının endotelinde upregüle edilir (50). CEACAM1 ekspresyonundaki bu değişikliğe proanjiogenik ve prolenfanjiogenik faktör upregülasyonu eşlik eder. Bu bulgular ışığında CEACAM1’in idrarda tespit edilip edilemeyeceği ve CEACAM1 seviyesinin mesane tümürlü hastalar ile sağlıklı bireyleri birbirinden ayırt etmekte faydalı olup olmayacağı değerlendirilmiştir. Tilki ve arkadaşları CEACAM1 için bir ELİSA testi oluşturmuşlar ve mesane tümörü olan, sağlıklı bireyler, non-malign ürolojik patolojisi olan bireylerde CEACAM1 seviyelerini ölçmüşlerdir (50). Çalışmanın sonunda CEACAM1’in idrarda tespit edilebildiği ve mesane tümörü varlığı ve ileri evre ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır. Eşik değeri 110nm/ml olarak alındığında %74 sensitivite %95 spesifite rapor edilmiştir.

Epigenetik idrar belirteçleri

İdrarda gen metilasyon analizi yapılabileceği gösterilmiştir (51,52). Friedrich ve arkadaşları, mesane tümörü olan hastaların idrar örneklerinde birçok farklı belirteçin metilasyon durumunu analiz etmişler ve örneklerin çoğunda (%78) idrar sedimentinde DAPK, BCL2 ve TERT metilasyonu tespit etmişlerdir. Buna karşın aynı yaş grubunda olan sağlıklı bireylerde metilasyon tespit edilmemiştir (52). DAPK, RARbeta, E-Cadherin

hipermetilasyonunun mesane tümörü tespitinde iyi bir sensitivite ve spesifiteye sahip olduğu gösterilmiştir (53). Renard ve arkadaşları mesane tümörü olan hastaların idrar örneklerinde TWIST1 ve NID2’nin sıklıkla metile olduğunu ve her ikisinin %90’dan fazla sensitivite ve spesifiteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir (54).

FGFR3 mutasyonu

Primer mesane tümörlerinin %50’sinde fibroblast büyüme faktör reseptör (FGFR) 3 mutasyonu olur ve kötü prognoz ile ilişkili olabilir (55). FGFR3 mutasyonları özellikle düşük dereceli/evreli tümörlerde yaygındır ve vakaların %85’inde mutasyon pTa tümörlerdedir. Van Oers ve arkadaşları mesane kanseri ve idrarda 9 farklı FGFR3 mutasyonunu eş zamanlı olarak tespit eden basit bir test geliştirmişlerdir. Tümörü olan hastaların idrar örneklerinde mutasyon tespit sensitivitesi %62 olmuştur (55). Kiemeney ve arkadaşlarının Nature Genetics’teki yazısında, Türkiye dâhil olmak üzere birçok Avrupa ülkesini içeren ve 4739 mesane tümörü ve 45549 kontrol olgusunda FGFR3 mutasyonu ile özellikle düşük dereceli kas invazif olmayan mesane tümörleri arasında ilişki olduğu, düşük dereceli pTa tümörlerde artmış rekürrens riski ile bağlantı olduğunu ortaya koymuşlardır (56). Zuiverloon ve arkadaşları da, FGFR3 mutant non-invazif düşük dereceli mesane tümörü olan hastaların takibi sırasında rekürrensleri tespit etmek için idrarda FGFR3 mutasyonunu değerlendirmişlerdir. Rekürrensleri tespit etmede bu testin sensitivitesi %58 ile idrar sitolojisinden daha yüksek olmuştur (57).

Hyalüronik asit ve hyalüronidaz (HA ve HAase)

Hyaluronik asit, tümör hücresi adhezyonu ve migrasyonunu destekleyen ve tümör dokularında immün sistem kontrolünden bir miktar koruma sağlayan bir hücre dışı glikozaminoglikandır. HA’nın küçük parçacıkları anjiogenezi tetikler ve hyalüronidaz (HAase) tarafından üretilir. Mesane tümürlü hastaların idrarında küçük HA parçacıkları tespit edilmiştir (58). Hyaluronoglukozaminidaz-1 (HYAL-1) spesifik bir hyaluronidazdır ve kanser tespiti için bir belirteç olarak belirlenmiştir. Tümör büyümesi, invazyon ve anjiogeneze için moleküler bir prediktördür. HYAL-1 mRNA seviyeleri mesane tümöründe 10 ila 30 kat yükselmektedir (59).

Lokeshwar ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada HA sensitivitesi %83.1, spesifitesi %90.1 ve tümörün derecesinden bağımsız

olarak mesane tümörünü tespit etmedeki doğruluğu %86.5 olarak rapor edilmiştir. Hyaluronidaz yüksek dereceli tümörlerde %81.5 sensitivite ve %83.8 spesifite göstermiştir. Hem HA hem de hyaluronidaz testlerinin beraber kullanılması daha iyi sonuçlar vermiştir. Bu testlerin kombinasyonu ile sensitivite %91.2’ye spesifite %84.4’e ve doğruluk %88.3’e yükselmiştir (60). Takip eden prospektif bir çalışma HA-HAase testi BTA Stat testi ile karşılaştırmıştır. Tümör rekürrensini tahmin edilmesi ve tespit edilmesinde HA-hyaluronidaz testinin BTA Stat’a göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (58). Bilinen mesane tümörü olan 70 hastadan alınan 225 idrar örneğini analiz eden bir başka çalışmada HA-HAase testi BTA Stat testine göre daha iyi bir başarı göstermiş ve tüm tümör derecelerinde %90’dan fazla sensitivite rapor edilmiştir (61). Bununla beraber düşük dereceli tümörlerin tespitinde HA-HAase testinin doğruluğu daha az olmuş ve sitolojiden daha düşük başarı göstermiştir (62).

Mikrosatellit analizleri

Mikrosatellit analizleri, FISH’den farklı bir yöntem ile tümör spesifik genomik değişiklikleri değerlendirir. Mikrosatellit analizleri oldukça polimorfik, kısa tandem tekrarları hedef alır. Bu teknik, tümör hücre transformasyonundan kaynaklanan genomik değişikliklerde oluşan iki allel arasındaki normal oran kaymalarını değerlendirir. Bu heterozigosite kaybı (LOH) şüphelenilen neoplastik sürecin biomarkeri olarak kullanılabilir.

Mesane tümöründe en sık görülen genetik değişikliklerden birisi kromozom 9’da heterozigosite kaybıdır (63). Bunun yanı sıra, sıklıkla kromozom 4p, 8p, 9p, 11p ve 17p heterozigosite kaybı da gözlenir (64,65). Birçok çalışma idrarda 17-20 mikrosatellit belirteçini analiz etmiştir (63,66). Bu çalışmalarda overall sensitivite %72 ile %97 aralığında, overall spesifite %80 ile %100 aralığında rapor edilmiştir. Düşük evre, düşük dereceli tümörlerde mikrosatellit belirteçleri idrar sitolojisine göre daha başarılı sonuçlar vermektedir. Prospektif kör bir çalışmada, derece 1 ve 2 tümörlerde LOH analiz sensitivitesi sırasıyla %60 ve %51.8 iken sitoloji için bu oranlar sırasıyla %10 ve %18.5 olmuştur. Sitoloji ile kombine edildiğinde sensitivite artmış ve derece 1 ve 2 tümörler için %72, derece 3 tümörler için %96’ya ulaşmıştır (67). Wild ve arkadaşları da LOH analizi ile idrar sitolojisi kombinasyonunun avantajlarını ortaya koymuş ve %88.2 sensitivite %97.1 spesifite rapor etmişlerdir (68).

“Mesane tümörü dâhil malign neoplazmların telomeraz ürettikleri, böylelikle, telomer oluşturarak hücre ölümünü engelledikleri gösterilmiştir.”

Mikrosatellit belirteçleri, düşük dereceli tümörlerde rekürrensleri %80'e varan oranlarda tahmin edebilirler ancak sensitiviteyi yetersizdir (69).

MikroRNA belirtgeçleri

MikroRNA'lar (miRNAs), transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunu regüle eden kodlayıcı olmayan RNA'lardır (70). İdrarda stabil olmaları ve küçük boyutlarına bağlı nükleaz degradasyonuna karşı daha da stabil olmaları nedeni ile ideal bir mesane belirteçi olarak kullanılabilirler (71). İdrarda birçok nükleaz vardır ve mRNA ekspresyonunu analiz eden birçok test hedef degradasyonu nedeniyle başarılı olmamaktadır. Yakın zamanda, üriner miRNA ekspresyonu rapor edilmiş ve miRs-126/182/199a upregülasyonunun sağlıklı ve mesane tümürlü hastaları birbirinden ayırt ettiği tespit edilmiştir (72). Normal ve malign üroteliumda bu miRNAs'ların ekspresyonunu ayırt etmede yetersizlik olmasına rağmen mi-126 ve 182 kombinasyonu mesane tümörü vakalarının %77'ye kadarında tespit edilmiştir (73). Bu belirteçler hakkında daha fazla çalışmaya gereksinim vardır.

Survivin

Survivin, birçok kanser türünde re-eksprese edilen bir apopitoz gen inhibitörüdür. Survivin haberci ribonükleik asidi (mRNA) insan kanserlerinde aşırı eksprese edilir ve taşınan poliklonal antisurvivin antikoru ile geliştirilmiş bir bio-dot immunoassay ile idrarda tespit edilebilir (74). Survivin gen aktivasyonunun idrar seviyesi, mesane tümörü varlığı, daha yüksek derece ve ileri patolojik evre ile ilişkilidir (75-78). Mesane tümöründe survivin'in tanısallık potansiyelini değerlendiren ilk çalışmada, mesane tümörü olan 47 hastanın tamamında, negatif sistoskopi olan 35 hastanın sadece 3 tanesinde survivin proteini ve mRNA tespit edilmiştir (77). Yakın zamanda Horstmann ve ark. 50 mesane tümürlü hastadan alınan idrar örneklerinde survivin mRNA ölçümü yapmış ve survivin'in yüksek dereceli tümörlerin

tespitinde güvenilir olduğu (%83 sensitivite) ancak düşük dereceli tümörlerde yeterince güvenilir olmadığı (%35 sensitivite) sonucuna varmışlardır (79).

Telomeraz

Son yıllarda mesane tümörü patogeneğinde telomerazın rolü araştırılmıştır. Telomerler, kromozomların sonunda yer alan “TTAGGG” tandem tekrarların oluşurlar. Her hücre siklusunda bu tekrarların aşamalı kaybının hücre ölümünde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Telomeraz, bu tandem tekrarlarının sentezinde yer alır ve matür somatik hücrelerde tipik olarak inaktiftir. Bu enzimde değişiklikler mesane tümörü gibi bazı malignitelere hücre dizilerinin ölümsüzleşmesine neden olabilir (80).

Mesane tümörü dâhil malign neoplazmların telomeraz ürettikleri, böylelikle, telomer oluşturarak hücre ölümünü engelledikleri gösterilmiştir (81,82). Telomerik tekrar amplifikasyon protokolü (TRAP) kullanan bir polimeraz zincir reaksiyon (PCR) testi ile telomeraz aktivitesi değerlendirilmiştir. TRAP testi ile karşılaştırıldığında, insan telomeraz revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu daha yüksek sensitiviteye sahiptir ve bu sensitivite %75 ile %100 aralığındadır (83,84). hTERT sensitivitesinin sitolojiye olan üstünlüğü özellikle düşük dereceli mesane tümörlerini tespitinde ön plana çıkmaktadır (85). Mesane tümörü tespitinde telomeraz testinin overall sensitivitesi %7 ile %100, genellikle %70-86, overall spesifitesi ise %24 ile %90, genellikle %60-70 aralığındadır (86-89). TRAP eşik aralığını belirlemek için 2005'te yapılan bir çalışma, eşik değeri 50 enzim ünitesi olarak alındığında sensitivitenin %90, spesifitenin %88 olduğunu rapor etmiştir (90).

ACCU-DX

Üriner fibrin/fibrinojen yıkım ürünlerinin (FDP) mesane malignite varlığında arttığı bilinmektedir. FDP, plazminin fibrin veya fibrinojen üzerine etkisi ile oluşturulur ve tümör mikrovasküleritesinden sızar. ACCU-DX testi, FDP için spesifik mürin monoklonal antikorlarını kullanan bir kantitatif testtir. Bununla beraber bu antikorlarının insan serumunda tipik olarak bulunan intakt fibrinojen ile de etkileşime girmesi nedeniyle hematüri varlığında bu testin kullanılabilirliği düşüktür (91).

192 mesane tümürlü hastayı değerlendiren çok merkezli bir çalışmada sensitivitenin %64,

“UBC testinin overall performansı sitoloji veya diğer mevcut idrar belirteçlerine üstün değildir.”

spesifitenin %79.6 olduğunu bildirmiştir. Yakın zamanda Ramakumar ve arkadaşları tarafından yapılan 196 hasta içeren bir başka çalışma ise sensitivitenin %52, spesifitenin %91 olduğunu rapor etmiştir (92).

üriner UBC testi

IDL Biotech AB (Bromma, İsveç), idrarda sitokeratin 8 ve 18'i ölçen kantitatif UBC ve kantitatif UBC ELISA testlerini geliştirmiştir (93,94). İdrarda UBC Rapid'i 180 hastada ölçen bir çalışmada overall sensitivite %66, spesifite %90 olarak rapor edilmiştir (94). Bununla beraber, karşılaştırma yapılan bir çalışmada BTA Stat ve BTA TRAK testleri, özellikle sensitivite göz önüne alındığında UBC Rapid'ten daha üstün sonuçlar vermiştir (95). Benzer şekilde, idrar sitolojisi de hem UBC hem de UBC II ELISA'den daha üstün sensitivite ve spesifite göstermiştir (96). Mungan ve arkadaşları, kas invazif olmayan mesane tümörü olan 100 hastada UBC testinin tanısallık değerini değerlendirmişler ve sensitivite, spesifite, pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla %20.7, %79.2, %28.6 ve %71.3 olarak rapor etmişlerdir. Bu sonuçlarla, mesane tümürlü hastaların takibinde UBC testinin yetersiz olduğu sonucuna varmışlardır (97). UBC testinin overall performansı sitoloji veya diğer mevcut idrar belirteçlerine üstün değildir.

Sonuç

Mesane kanserleri kanser ölümleri açısından değerlendirildiğinde ilk 10'da yer almaya devam etmektedir. Mesane tümöründe yüksek rekürrens riski nedeni ile takip için ömür boyu invazif, pahalı bir işlem olan sistoskopi ve düşük dereceli rekürrensleri saptamada düşük sensitivite ve spesifiteye sahip sitolojiye gereksinim vardır. İdeal bir non-invazif üriner tümör belirteçi oldukça sensitif ve spesifik olacağından sistoskopi gereksinimini azaltacaktır. Sitoloji özellikle düşük dereceli tümörlerdeki kötü sensitivitesine rağmen dekatlar boyu kullanılan standart non-invazif üriner tümör belirteçi olmuştur. Mesane tümör tespitinde kullanılmak üzere araştırılan idrar belirteçlerinin

büyük çoğunluğunun idrar sitolojisine eşit veya daha iyi sensitiviteye sahip oldukları rapor edilmiştir. Bununla beraber, bu belitgeçlerin hiçbirisi ideal idrar belirteci kriterlerini karşılayamamakta, bu nedenle de, mesane tümör tespitinde yeterince yardımcı olamamaktadırlar.

FDA tarafından onaylanan mesane tümörü idrar belirteçlerinden bazıları erken tespit edilmiş düşük dereceli mesane tümörü olan ve sistoskopi sıklığı azaltılmış seçilmiş hastaların takibine uyarlanmıştır (98,99).

Bununla beraber, bu hastalarda sistoskopi sayısının azaltılmasının güvenli olup olmadığı sorusu halen yanıt bulmamıştır. Çok sayıda deneysel idrar belirteci geliştirilmiştir. Bunlardan bazıları sadece bir grup tarafından tanımlanmış ve daha fazla test edilmemiş veya bir grubun ortaya koyduğu ümit verici sonuçlar diğer gruplarca gösterilememiştir.

Urovysion FISH testinin gelmesi, hangi hastanın daha fazla değerlendirilmesi gerektiğini belirlemede fayda sağlamıştır. NMP22

ve BTA Stat hem hasta hem de klinisyenlere yardımcı olan ve daha hızlı tanı koymayı sağlayan testler olarak geliştirilmiştir. Geliştirilmekte olan ek testler bir gün tek başlarına veya kombine olarak kullanılacak ve mesane tümörünün tanı veya rekürrenslerin tespitinde invazif test gereksinimini azaltacaktır. Bununla beraber, güvenilir bir idrar belirteci bulununcaya kadar mesane tümörü tespitinde günümüzde altın standart sistoskopi, takipte ise, EAU kılavuzlarında belirtildiği gibi, sistoskopi ve idrar sitolojisi (100).

Kaynaklar

1. Jemal, A., Siegel, R., Xu, J., and Ward, E. (2010) Cancer statistics. *CA Cancer J. Clin.* 2010, 60, 277–300.
2. Shelley, M.D., Mason, M.D., and Kynaston, H. Intravesical therapy for superficial bladder cancer: a systematic review of randomized trials and meta-analyses. *Cancer Treat. Rev.* 2010, 36, 195–205.
3. Parker J, Spiess P. Current and Emerging Bladder Cancer Urinary Biomarkers. *TheScientificWorldJOURNAL* (2011) 11, 1103–1112.
4. Villicana, P., Whiting, B., Goodison, S., and Rosser, C.J. Urine-based assays for the detection of bladder cancer. *Biomark. Med.* 2009, 3, 265.
5. Tritschler, S., Sommer, M.L., Straub, J., Hocaoglu, Y., Tilki, D., Strittmatter, F., Zaak, D., Stief, C., and Karl, A. Urinary cytology in era of fluorescence endoscopy: redefining the role of an established method with a new reference standard. *Urology.* 2010, 76, 677–681.
6. Mowatt, G., Zhu, S., Kilonzo, M., Boachie, C., Fraser, C., Griffiths, T.R.L., N'Dow, J., Nabi, G., Cook, J., and Vale, L. Systematic review of the clinical effectiveness and cost effectiveness of photodynamic diagnosis and urine biomarkers (FISH, ImmunoCyt, NMP22) and cytology for the detection and follow-up of bladder cancer. *Health Technol. Assess.* 2010, 14, 1–331.
7. Mungan NA, Kulacoglu S, Basar M, Sahin M, Witjes JA. Can sensitivity of voided urinary cytology or bladder wash cytology be improved by the use of different urinary portions? *Urol Int* 1999;62:209-212.
8. Poulakis, V., Witzsch, U., De Vries, R., Altmannsberger, H.M., Manyak, M.J., and Becht, E. A comparison of urinary nuclear matrix protein-22 and bladder tumour antigen tests with voided urinary cytology in detecting and following bladder cancer: the prognostic value of false-positive results. *BJU Int.* 2001, 88, 692–701.
9. Leyh H, Marberger M, Conort P, et al. Comparison of the BTA stat test with voided urine cytology and bladder wash cytology in the diagnosis and monitoring of bladder cancer. *Eur Urol* 1999;35:52-6
10. Leyh H, Mazeman E. Bard BTA test compared with voided urine cytology in the diagnosis of recurrent bladder cancer. *Eur Urol* 1997;32:425-8.
11. Nasuti JF, Gomella LG, Ismail M, Bibbo M. Utility of the BTA stat test kit for bladder cancer screening. *Diagn Cytopathol* 1999;21:27-9
12. Oge O, Kozaci D, Gemalmaz H. The BTA stat test is nonspecific for hematuria: an experimental hematuria model. *J Urol* 2002;167: 1318–9, discussion 1319–2
13. Raitanen MP. The role of BTA stat test in follow-up of patients with bladder cancer: results from FinnBladder studies. *World J Urol* 2008;26:45–50.
14. Mungan NA, Atan A, Tekdoğan ÜY, Gürbüz Y, Kiemeny LA, Witjes JA. Mesane kanserinin tanılma değerinin karşılaştırılması. *Türk Üroloji Dergisi:* 2002, 28 (3): 276-280.
15. Thomas L, Leyh H, Marberger M, et al. Multicenter trial of the quantitative BTA TRAK assay in the detection of bladder cancer. *Clin Chem* 1999;45:472–7.
16. Babjuk M, Soukup V, Pesl M, et al. Urinary cytology and quantitative BTA and UBC tests in surveillance of patients with pT1 bladder urothelial carcinoma. *Urology* 2008;71:718–22.
17. Heicappell R, Wettig IC, Schostak M, et al. Quantitative detection of human complement factor H-related protein in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Eur Urol* 1999;35:81–7.
18. Mahnert B, Tauber S, Kriegmair M, et al. Measurements of complement factor H-related protein (BTA-TRAK assay) and nuclear matrix protein (NMP22 assay)—useful diagnostic tools in the diagnosis of urinary bladder cancer? *Clin Chem Lab Med* 2003;41: 104–10.
19. Tsui KH, Chen SM, Wang TM, et al. Comparisons of voided urine cytology, nuclear matrix protein-22 and bladder tumor associated antigen tests for bladder cancer of geriatric male patients in Taiwan, China. *Asian J Androl* 2007;9:711–5.
20. Fradet Y, Lockhard C. Performance characteristics of a new monoclonal antibody test for bladder cancer: ImmunoCyt trade mark. *Can J Urol* 1997;4:400–5.
21. Greene KL, Berry A, Konety BR. Diagnostic utility of the ImmunoCyt/uCyt+ test in bladder cancer. *Rev Urol* 2006;8:190–7.
22. Li HX, Li M, Li CL, et al. ImmunoCyt and cytokeratin 20 immunocytochemistry as adjunct markers for urine cytologic detection of bladder cancer: a prospective study. *Anal Quant Cytol Histol* 2010; 32:45–52.
23. Mian, C., Maier, K., Comploj, E., Lodde, M., Berner, L., Lusuardi, L., Palermo, S., Vittadello, F., and Pycha, A. uCyt+/ImmunoCyt in the detection of recurrent urothelial carcinoma. *Cancer Cytopathol.* 2006, 108, 60–65.
24. Olsson H, Zackrisson B. ImmunoCyt a useful method in the follow-up protocol for patients with urinary bladder carcinoma. *Scand J Urol Nephrol* 2001;35:280–2.
25. Pfister C, Chautard D, Devonec M, et al. ImmunoCyt test improves the diagnostic accuracy of urinary cytology: results of a French multicenter study. *J Urol* 2003;169:921–4.
26. Carpinto, G.A., Stadler, W.M., Briggman, J.V., Chodak, G.W., Church, P.A., Lamm, D.L., Lange, P.H., Messing, E.M., Pasciak, R.M., Reservitz, G.B., Ross, R.B., Rukstalis, D.B., Sarosdy, M.F., Soloway, M.K., Thiel, R.P., Vogelzang, N., and Hayen, C.L. Urinary nuclear matrix protein as a marker for transitional cell carcinoma of the urinary tract. *J. Urol.* 1996, 156, 1280–1285.
27. Jamshidian, H., Kor, K., and Djalali, M. Urine concentration of nuclear matrix protein 22 for diagnosis of transitional cell carcinoma of bladder. *Urol. J.* 2008, 5, 243–247.
28. Grossman, H.B., Messing, E., Soloway, M., Tomera, K., Katz, G., Berger, Y., and Shen, Y. Detection of bladder cancer using a point of care proteomic assay. *JAMA* 2005, 293, 810–816.
29. Grossman, H.B., Soloway, M., Messing, E., Katz, G., Stein, B., Kassabian, V., and Shen, Y. Surveillance for recurrent bladder cancer using a point of care proteomic assay. *JAMA* 2006, 295, 299–305.
30. Choi, H.S., Lee, S.I., Kim, D.J., and Jeong, T.Y. Usefulness of the NMP22BladderChek test for screening and follow-up of bladder cancer. *Korean J. Urol.* 2010, 51, 88–93.
31. Junker K, Boerner D, Schulze W, Utting M, Schubert J, Werner W. Analysis of genetic alterations in normal bladder urothelium. *Urology* 2003;62:1134–8.
32. Sokolova, I.A., Halling, K.C., Jenkins, R.B., Burkhardt, H.M., Meyer, R.G., Seeilg, S.A., and King, W. The development of a multitarget, multicolor fluorescence in situ hybridization assay for the detection of urothelial carcinoma in urine. *J. Mol. Diagn.* 2000, 2, 116–123.
33. Friedrich, M.G., Toma, M.I., Hellstern, A., Pantel, K., Weisenberger, D.J., Noldus, J., and Huland, H. Comparison of multitarget fluorescence in situ hybridization in urine with other noninvasive tests for detecting bladder cancer. *BJU Int.* 2003, 92, 911–914.

34. Sarsody M.F., Schellhammer P., Bokinsky G., Kahn P., Chao R., Yore L., Zadra J., Burzon D., Osher G., Bridge J.A., Anderson S., Johansson S.L., Lieber M., Soloway M., and Flom K. Clinical evaluation of a multi-target fluorescent in situ hybridization assay for detection of bladder cancer. *J. Urol.* 2002, 168, 1950–1954.
35. Yoo J.H., Suh B., Park T.S., Shin M.G., Choi Y., Lee C.H., and Choi J.R. Analysis of fluorescence in situ hybridization, mtDNA quantification, and mtDNA sequence for the detection of early bladder cancer. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2010, 198, 107–117.
36. Skacel M, Fahmy M, Brainard JA, et al. Multitarget fluorescence in situ hybridization assay detects transitional cell carcinoma in the majority of patients with bladder cancer and atypical or negative urine cytology. *J Urol* 2003;169:2101–5.
37. Gofrit ON, Zorn KC, Silvestre J, et al. The predictive value of multitargeted fluorescent in-situ hybridization in patients with history of bladder cancer. *Urol Oncol* 2008;26:246–9.
38. Sarosdy MF, Schellhammer P, Bokinsky G, et al. Clinical evaluation of a multi-target fluorescent in situ hybridization assay for detection of bladder cancer. *J Urol* 2002;168:1950–4.
39. Kipp B.R., Karnes R.J., Brankley S.M., Harwood A.R., Pankratz V.S., Sebo T.J., Blute M.M., Lieber M.M., Zincke H., and Halling K.C. Monitoring intravesical therapy for superficial bladder cancer using fluorescence in situ hybridization. *J. Urol.* 2005, 173, 401–404.
40. Pode D., Golijanin D., Sherman Y., Lebensart P., and Shapiro A. Immunostaining of Lewis X in cells from voided urine, cytopathology, and ultrasound for noninvasive detection of bladder tumors. *J. Urol* 1998, 159, 389–393.
41. Planz B., Striepecke E., Jakse G., and Bocking A. Use of Lewis X antigen and deoxyribonucleic acid image cytometry to increase sensitivity of urinary cytology in transitional cell carcinoma of the bladder. *J. Urol* 1998, 159, 384–388.
42. Golijanin D., Sherman Y., Shapiro A., and Pode D. Detection of bladder tumors by immunostaining of the Lewis X antigen in cells from voided urine. *Urology* 1995, 46, 179–177.
43. Park HS, Park WS, Bondaruk J, et al. Quantitation of Aurora kinase A gene copy number in urine sediments and bladder cancer detection. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:1401–11.
44. Myers-Irvin JM, Landsittel D, Getzenberg RH. Use of the novel marker BLCA-1 for the detection of bladder cancer. *J Urol* 2005; 174:64–8.
45. Konety BR, Nguyen TS, Dhir R, et al. Detection of bladder cancer using a novel nuclear matrix protein, BLCA-4. *Clin Cancer Res* 2000;6:2618–25.
46. Van Le TS, Miller R, Barder T, Babjuk M, Potter DM, Getzenberg RH. Highly specific urine-based marker of bladder cancer. *Urology* 2005;66:1256–60.
47. Van Le TS, Myers J, Konety BR, Barder T, Getzenberg RH. Functional characterization of the bladder cancer marker, BLCA-4. *Clin Cancer Res* 2004;10:1384–91.
48. Myers-Irvin J.M., Van Le T.S., and Getzenberg R.H. Mechanistic analysis of the role of BLCA-4 in bladder cancer pathobiology. *Cancer Res.* 2005, 65, 7145–7150.
49. Konety B.R., Nguyen T.S., Brenes G., Sholder A., Lewis N., Bastacky S., Potter D.M., and Getzenberg R.H. Clinical usefulness of the novel marker BLCA-4 for the detection of bladder cancer. *J. Urol.* 2000, 164, 634–639.
50. Tilki D, Singer BB, Shariat SF, et al. CEACAM1: a novel urinary marker for bladder cancer detection. *Eur Urol* 2010;57:648–54.
51. Yu J, Zhu T, Wang Z, et al. A novel set of DNA methylation markers in urine sediments for sensitive/specific detection of bladder cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13:7296–304.
52. Friedrich MG, Weisenberger DJ, Cheng JC, et al. Detection of methylated apoptosis-associated genes in urine sediments of bladder cancer patients. *Clin Cancer Res* 2004;10:7457–65.
53. Phe V, Cussenot O, Roupert M. Interest of methylated genes as biomarkers in urothelial cell carcinomas of the urinary tract. *BJU Int* 2009;104:896–901.
54. Renard I, Joniau S, van Cleynenbreugel B, et al. Identification and validation of the methylated TWIST1 and NID2 genes through real-time methylation-specific polymerase chain reaction assays for the noninvasive detection of primary bladder cancer in urine samples. *Eur Urol* 2010;58:96–104.
55. Van Oers JM, Lurkin I, van Exsel AJ, et al. A simple and fast method for the simultaneous detection of nine fibroblast growth factor receptor 3 mutations in bladder cancer and voided urine. *Clin Cancer Res* 2005;11:7743–8.
56. Kiemeny LA, Sulem P, Besenbacher S et al. A sequence variant at 4p16.3 confers susceptibility to urinary bladder cancer. *Nat Genet.* 2010 May ; 42(5): 415-419.
57. Zuiverloon TC, van der Aa MN, van der Kwast TH, et al. Fibroblast growth factor receptor 3 mutation analysis on voided urine for surveillance of patients with low-derece non-muscle-invasive bladder cancer. *Clin Cancer Res* 2010;16:3011–8.
58. Lokeshwar V.B., Schroeder G.L., Selzer M.G., Hautmann S.H., Posey J.T., Watson R., Rose L., Markowitz S., and Soloway M.S. Bladder tumor markers for monitoring recurrence and screening comparison of hyaluronic acid-hyaluronidase and BTA-stat tests. *Cancer* 2002, 95, 61–72.
59. Ramakumar S., Bhuiyan J., Besse J.A., Roberts S.G., Wollan P.C., Blute M.L., and Okane D.J. Comparison of screening methods in the detection of bladder cancer. *J. Urol.* 1999, 161, 388–394.
60. Lokeshwar V.B., Obek C., Pham H.T., Wei D., Young M.J., Duncan R.C., Soloway M.S., and Block N.L. Urinary hyaluronic acid and hyaluronidase: markers for bladder cancer detection and evaluation of derece. *J. Urol.* 2000, 163, 348–356.
61. Hautmann SH, Lokeshwar VB, Schroeder GL, et al. Elevated tissue expression of hyaluronic acid and hyaluronidase validates the HAHAase urine test for bladder cancer. *J Urol* 2001;165:2068–74.
62. Hautmann S, Toma M, Lorenzo Gomez MF, et al. Immunocyt and the HA-HAase urine tests for the detection of bladder cancer: a side-by-side comparison. *Eur Urol* 2004;46:466–71.
63. van Rhijn BW, Lurkin I, Kirkels WJ, van der Kwast TH, Zwarthoff EC. Microsatellite analysis—DNA test in urine competes with cystoscopy in follow-up of superficial bladder carcinoma: a phase II trial. *Cancer* 2001;92:768–75.
64. Czerniak B, Chaturvedi V, Li L, et al. Superimposed histologic and genetic mapping of chromosome 9 in progression of human urinary bladder neoplasia: implications for a genetic model of multistep urothelial carcinogenesis and early detection of urinary bladder cancer. *Oncogene* 1999;18:1185–96
65. Knowles MA, Elder PA, Williamson M, Cairns JP, Shaw ME, Law MG. Allelotype of human bladder cancer. *Cancer Res* 1994;54:531–8.
66. von Knobloch R, Hegele A, Brandt H, Olbert P, Heidenreich A, Hofmann R. Serum DNA and urine DNA alterations of urinary transitional cell bladder carcinoma detected by fluorescent microsatellite analysis. *Int J Cancer* 2001;94:67–72.
67. Frigerio S, Padberg B.C., Strelbel R.T., Lenggenhager D.M., Messthaler A., Abdou M.T., Moch H., and Zimmermann D.R. Improved detection of bladder carcinoma cells in voided urine by standardized microsatellite analysis. *Int. J. Cancer* 2007, 121, 329–338.
68. Wild P.J., Fuchs T., Stoehr R., Zimmermann D., Frigerio S., Padberg B., Steiner I., Zwarthoff E.C., Burger M., Denzinger S., Hofstaedter F., Kristiansen G., Hermanns T., Seifert H.H., Provenzano M., Sulser T., Roth V., Buhmann J.M., Moch H., and Hartmann A. Detection of urothelial bladder cancer cells in voided urine can be improved by a combination of cytology and standardized microsatellite analysis. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2009, 18, 1798–1806.
69. Roupert M, Hupertan V, Yates DR, et al. A comparison of the performance of microsatellite and methylation urine analysis for predicting the recurrence of urothelial cell carcinoma, and definition of a set of markers by Bayesian network analysis. *BJU Int* 2008;101:1448–53.
70. Catto JW, Alcaraz A, Bjartell AS, et al. MicroRNA in prostate, bladder, and kidney cancer: a systematic review. *Eur Urol* 2011;59:671–81.
71. Valadi H, Ekstrom K, Bossios A, Sjostrand M, Lee JJ, Lotvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol* 2007;9:654–9.
72. Hanke M, Hoefig K, Merz H, et al. A robust methodology to study urine microRNA as tumor marker: microRNA-126 and microRNA-182 are related to urinary bladder cancer. *Urol Oncol* 2010; 28:655–61.
73. Catto JW, Miah S, Owen HC, et al. Distinct microRNA alterations characterize high- and low-derece bladder cancer. *Cancer Res* 2009;69:8472–81.
74. Margulis V, Lotan Y, Shariat SF. Survivin: a promising biomarker for detection and prognosis of bladder cancer. *World J Urol* 2008;26:59–65.
75. Schultz IJ, Kiemeny LA, Karthaus HF, et al. Survivin mRNA copy number in bladder washings predicts tumor recurrence in patients with superficial urothelial cell carcinomas. *Clin Chem* 2004;50: 1425–8.
76. Shariat SF, Casella R, Khoddami SM, et al. Urine detection of survivin is a sensitive marker for the noninvasive diagnosis of bladder cancer. *J Urol* 2004;171:626–30.
77. Smith SD, Wheeler MA, Plescia J, Colberg JW, Weiss RM, Altieri DC. Urine detection of survivin and diagnosis of bladder cancer. *JAMA* 2001;285:324–8.
78. Weikert S, Christoph F, Schrader M, Krause H, Miller K, Muller M. Quantitative analysis of survivin mRNA expression in urine and tumor tissue of bladder cancer patients and its potential relevance for disease detection and prognosis. *Int J Cancer* 2005;116: 100–4.
79. Horstmann M, Bontrup H, Hennenlotter J, et al. Clinical experience with survivin as a biomarker for urothelial bladder cancer. *World J Urol* 2010;28:399–404.
80. Bavaccini S., Casadio V., Amadori D., Calistri D., and Silvestrini R. The current role of telomerase in the diagnosis of bladder cancer. *Indian J. Urol* 2005, 25, 40–46.

81. Ito H, Kyo S, Kanaya T, Takakura M, Inoue M, Namiki M. Expression of human telomerase subunits and correlation with telomerase activity in urothelial cancer. *Clin Cancer Res* 1998;4:1603–8.
82. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 1994;266:2011–5.
83. De Kok JB, Schalken JA, Aalders TW, Ruers TJ, Willems HL, Swinkels DW. Quantitative measurement of telomerase reverse transcriptase (hTERT) mRNA in urothelial cell carcinomas. *Int J Cancer* 2000;87:217–20.
84. Melissourgos N, Kastrinakis NG, Davilas I, Foukas P, Farmakis A, Lykourinas M. Detection of human telomerase reverse transcriptase mRNA in urine of patients with bladder cancer: evaluation of an emerging tumor marker. *Urology* 2003;62:362–7.
85. Quek, M.L., Sanderson, K., Daneshmand, S., and Stein, J.P. New molecular markers for bladder cancer detection. *Curr. Opin. Urol.* 2004, 14, 259–264.
86. Wu XX, Kakehi Y, Takahashi T, Habuchi T, Ogawa O. Telomerase activity in urine after transurethral resection of superficial bladder cancer and early recurrence. *Int J Urol* 2000;7:210–7.
87. Yokota K, Kanda K, Inoue Y, Kanayama H, Kagawa S. Semi-quantitative analysis of telomerase activity in exfoliated human urothelial cells and bladder transitional cell carcinoma. *Br J Urol* 1998;82: 727–32.
88. Lee MY, Tsou MH, Cheng MH, Chang DS, Yang AL, Ko JS. Clinical application of NMP22 and urinary cytology in patients with hematuria or a history of urothelial carcinoma. *World J Urol* 2000;18:401–5.
89. Weikert S, Krause H, Wolff I, et al. Quantitative evaluation of telomerase subunits in urine as biomarkers for noninvasive detection of bladder cancer. *Int J Cancer* 2005;117:274–80.
90. Sanchini MA, Gunelli R, Nanni O, et al. Relevance of urine telomerase in the diagnosis of bladder cancer. *JAMA* 2005;294:2052–6.
91. Lokeshwar, V.B. and Soloway, M.S. Current bladder tumor tests: does their projected utility fulfill clinical necessity? *J. Urol* 2001, 165, 1067–1077.
92. Ramakumar, S., Bhuiyan, J., Besse, J.A., Roberts, S.G., Wollan, P.C., Blute, M.L., and Okane, D.J. Comparison of screening methods in the detection of bladder cancer. *J. Urol* 1999, 161, 388–394.
93. Heicappell R, Schostak M, Muller M, Miller K. Evaluation of urinary bladder cancer antigen as a marker for diagnosis of transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Scand J Clin Lab Invest* 2000;60: 275–82.
94. Mian C, Lodde M, Haitel A, Egarter Vigl E, Marberger M, Pycha A. Comparison of two qualitative assays, the UBC rapid test and the BTA stat test, in the diagnosis of urothelial cell carcinoma of the bladder. *Urology* 2000;56:228–31.
95. Babjuk M, Kostirova M, Mudra K, et al. Qualitative and quantitative detection of urinary human complement factor H-related protein (BTA stat and BTA TRAK) and fragments of cytokeratins 8, 18 (UBC rapid and UBC IRMA) as markers for transitional cell carcinoma of the bladder. *Eur Urol* 2002;41:34–9.
96. Hakenberg OW, Fuessel S, Richter K, et al. Qualitative and quantitative assessment of urinary cytokeratin 8 and 18 fragments compared with voided urine cytology in diagnosis of bladder carcinoma. *Urology* 2004;64:1121–6.
97. Mungan NA, Vriesema JLJ, Thomas CMG, Kiemeny LALM, Witjes JA. Urinary bladder cancer test: A new urinary tumor marker in the follow-up of superficial bladder cancer. *UROLOGY* 2000,56 (5).
98. Lotan Y, Shariat SF, Schmitz-Drager BJ, et al. Considerations on implementing diagnostic markers into clinical decision making in bladder cancer. *Urol Oncol* 2010;28:441–8.
99. Roobol MJ, Bangma CH, el Bouazzaoui S, Franken-Raab CG, Zwarthoff EC. Feasibility study of screening for bladder cancer with urinary molecular markers (the BLU-P project). *Urol Oncol* 2010;28:686–90.
100. Babjuk M, Oosterlinck W, Sylvester R, et al. EAU guidelines on non– muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder, the 2011 update. *Eur Urol* 2011;59:997–1008.