

MESANE KANSERİ TANI VE İZLEMİNDE YENİ BİR TÜMÖR BELİRTECİ “MESANE KANSERİ FİBRONEKTİN” (BTF)’İN ANALİTİK VE KLİNİK DEĞERLENDİRİLMESİ

ANALYTICAL AND CLINICAL EVALUATION OF A NEW URINARY TUMOR MARKER “BLADDER TUMOR FIBRONECTIN” (BTF) IN DIAGNOSIS AND FOLLOW-UP OF BLADDER CANCER

MUTLU N.*, TÜRKERİ L.**, EMERK K.*

* Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, İSTANBUL

** Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

ÖZET

Mesane kanseri erkeklerde dördüncü, kadınlarda onuncu en sık görülen “malinite” olma özelliğine sahiptir. Mesane kanserinde sistoskopi, tanı ve takibi için en değerli araçtır, ancak invazif, pahalı ve sık tekrar gerektiren bir tekniktir. Bu zorluklardan dolayı, mesane kanserinin tarama ve tanısını kolaylaştıran, prognozu belirlemede yardımcı olabilen biyolojik belirteçlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur. “Mesane Tümör Fibronektini” (BTF) yeni geliştirilmiş idrar belirteçlerinden birisidir. Bu çalışmanın amacı, idrarda BTF’nin, mesane kanseri tanı ve takibinde olası rolü ve klinik değerini tespit etmektir.

Bu çalışmaya 1996-2000 yılları arasında, mesane kanseri teşhisi konulmuş 58’i erkek, 17’si kadın 75 hasta alınmıştır. Ayrıca Benign Prostat Hiperplazisi (BPH) tanısı almış 20 hasta, Prostat kanseri tanısı almış 7 hasta ve hiçbir sağlık sorunu olmayan 28 kişi de çalışmaya dahil edilmiştir. BTF(ng/mL), Diagnostic Products Corporation (Los Angeles, CA) tarafından İmmulite Otomatize İmmünoasay Sistemi için geliştirilen, solid faz kemilüminesan immünometre tekniği ile değerlendirilmiştir.

103 idrar örneğinde volümetrik (ng/mL) BTF verileri ve 50 idrar örneğinde düzeltilmiş (ng/mg) BTF/CREA verileri “Receiver-Operating Characteristics” (ROC) analizleri ile değerlendirilmiştir. Volümetrik optimal “cutoff” değeri 57 ng/mL, düzeltilmiş “cutoff” değeri 47 ng/mg olarak belirlenmiştir. Bu değere göre BTF’nin sensitivitesi %71.8 (%90 CI: %63.6-%79) ve spesifitesi %96.4 (%90 CI: %83.4-%99.8), BTF/CREA’nin sensitivitesi %72 (%90 CI: %59.6-%82.1) ve spesifitesi %100 (%90 CI: %85.4-%100) olarak saptanmıştır. İki ölçüm arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Yüzeysel mesane kanserli hastalarda BTF testinin sensitivitesi volümetrik ölçümlerde %56.8 ve düzeltilmiş ölçümlerde %69.2 olarak saptanmıştır. Testin spesifitesi iki ölçümde sırasıyla %83.3 ve %66.7 olarak bulunmuştur. BTF testinin invazif mesane kanserini volümetrik ölçümlerde %91 sensitivite ve %100 spesifite ile tespit ettiği hesaplanmıştır. BTF testinin nüks tespit etme sensitivite ve spesifitesi yüzeysel mesane kanserli hastalarda sırasıyla %59.4 ve %53.3 olarak tespit edilmiştir. Aynı hasta grubunda progresyon tespit etme sensitivite ve spesifite sırasıyla %63.6 ve %53.6 olarak tespit edilmiştir. İnvazif mesane kanserli hasta grubunda BTF testinin %100 sensitivite ve %25 spesifite ile nüks olan olguları tespit ettiği hesaplanmıştır.

Sonuç olarak, BTF testinin analitik değerlendirilmesi neticesinde ve testin tekrarlanabilirliği, duyarlılığı ve özgüllüğü sistoskopi ve diğer mesane kanseri belirteçleri ile karşılaştırıldığında, mesane kanserinin tanısında klinik uygulamada kullanılmasının uygun olabileceği kanısına varılmıştır. Ayrıca mesane kanserinin klinik değerlendirilmesinde en önemli parametrelerden biri olan evreleme ile BTF testinin istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gösterdiği saptanmıştır. “Nüks” ve “Progresyon”ların saptanması açısından BTF testinin istatistiksel olarak yeterli olmadığı saptanmıştır. BTF testinin en önemli faydası hastalığın evrelendirilmesinde kendini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Mesane Kanser Fibronektini (BTF), Mesane Kanseri, ROC

ABSTRACT

Bladder cancer is the fourth most common malignant neoplasm in men and the tenth most common in women. Cystoscopy presents the highest valuable standard for detection and monitoring of the bladder cancer but this is an invasive and expensive procedure. Therefore, development of biomarkers for the purposes of screening, diagnosis and prediction of the prognosis in bladder cancer is required. “Bladder tumor fibronectin” (BTF) is one of such new urinary tumor markers. The aim of this study is to evaluate the diagnostic value of urinary BTF in detecting and monitoring the bladder cancer.

A total of 75 patients with the diagnosis of bladder cancer between the years 1996-2000 were included in the study. The study also comprised 20 patients with histological diagnosis of Benign Prostatic Hyperplasia (BPH), 7 patients with Prostate cancer and 28 age matched healthy individuals.

BTF (ng/ml) was determined by solid phase, two-site chemiluminescent immunometric commercial diagnostic assay in an IMMULITE Automated Immunoassay System provided by Diagnostic Products Corporation (Los Angeles, CA).

Volumetric BTF (ng/ml) and normalized by urinary creatinine (CREA), BTF/CREA(ng/mg) data obtained from 103 and 50 urinary samples respectively, were evaluated by Receiver-Operating Characteristics (ROC) curve analysis. Optimal volumetric and normalized cutoffs were established as 57ng/ml and 47ng/mg, respectively. These cutoffs rendered overall sensitivities of 71.8% (90% CI: 63.6%-79%) for BTF and 72% (90% CI: 59.6%-82.1%) for BTF/CREA. The specificities were 96.4% (90% CI: 83.4%-99.8%) for BTF and 100% (90% CI: 85.4%-100%) for BTF/CREA. No statistical difference was found between normalized and volumetric ROC curves. In superficial bladder cancer patient group the BTF test detected the cancer with 56.8% sensitivity and 83.3% specificity in volumetric samples, and 69.2% and 66.7% respectively in normalized samples. Invasive bladder cancers were detected by volumetric BTF measures with a sensitivity of 91% and specificity of 100%. The sensitivity and specificity of BTF in detecting recurrences were 59.4% and 53.3% respectively in superficial cancer group. In the same patient group the sensitivity and specificity of detecting the progression of the cancer was found to be 63.6% and 53.6%, respectively. In invasive cancer patients prediction of the recurrent cases was observed with a sensitivity of 100% and specificity of 25% for volumetric measurements.

The analytical evaluation of the BTF test displayed promising results in terms of a noninvasive in vivo test in diagnosis of bladder cancer. Although, it was not satisfactory in prediction of recurrence or progression of the disease, it correlated well with the stage, one of the most reliable prognostic factors. In conclusion, urinary BTF test warrants further clinical evaluation.

Key Words: Bladder Tumor Fibronectin, Bladder Cancers, ROC

GİRİŞ

Mesane kanseri erkeklerde dördüncü, kadınlarda onuncu en sık görülen "malinite" olma özelliğine sahiptir. Son araştırmalara göre 1984 ve 1993 yılları arasında mesane kanseri sıklığında %36 artış gözlemlenmiştir¹. Mesane kanseri, yapılan otopsilerde, rastlantısal olarak nadiren tespit edilmektedir. Bu gözlem, hastalığın doğal seyrinin genel olarak hızlı olduğunu ve hastaların büyük bölümünde tümörün klinik belirtiler verdiğini göstermektedir². Tanı konulan mesane kanserlerinin %90'ından fazlası değişici epitel kökenlidir. Mesane kanserli hastaların %70-75'inde yüzeysel (Ta, T1), %25-30'unda invazif (>T1) hastalık tespit edilmektedir ve invazif tümörlerin yaklaşık yarısı ilk tanı anında metastatiktir. Yüzeysel tümörlerin %70'i "nüks" gösterir ve 10 yıl içerisinde daha yüksek evre ve grade'le ilerleme olasılığı %30'dur³.

Mesane kanserinde sistoskopi, tanı ve monitorizasyon için en değerli araçtır ve tümör için karakteristik bilgiler vererek kanserin sınıflandırılmasında yardımcı olur⁴. Evre ve Grade, tümör "Nüks"ü ve "Progresyon"u açısından, şu ana kadar bilinen en önemli prognostik değere sahip değişkenlerdir. Ancak sistoskopi invazif ve paha-

lı bir tekniktir ve özellikle hastalığın takibi için pek çok defa tekrarlanması gerektirir bir dezavantajdır⁵. Tanı ve izlemedeki bu zorluklardan dolayı, mesane kanserinin tarama ve tanısını kolaylaştıran, prognozu belirlemede yardımcı olabilen biyolojik belirteçlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur. Bu tümör belirteç testlerinin invaziv girişim gerektirmeyen, kolay ve çabuk uygulanabilen, sonuç veren ve değerlendirilen, ucuz ve en önemlisi yüksek duyarlılığa ve özgüllüğe sahip olmaları beklenmektedir. Son yıllarda birçok biyokimyasal belirteç geliştirilmiştir. Bunlardan "Nükleer Matriks Proteini 22" (NMP 22), "Fibrin/Fibrinojen Yıkım Ürünleri" (FDP) ve "Mesane Tümör Antijeni" (BTA), Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından mesane kanserli hastaların monitorizasyonu için uygun bulunmuştur⁵.

"Mesane Tümör Fibronektini" (BTF) yeni geliştirilmiş idrar belirteçlerinden birisidir. Fibronektin, antijenik özellik gösteren, proteolize dirençli, birçok fonksiyonel bölgeden oluşan, 440 kDa ağırlığında, büyük dimerik bir glikoproteindir. Karaciğerde sentezlenip dolaşıma katılan plazma izoformunun yanı sıra tüm dokuların ekstraselüler matrikslerinde bulunan hücresel izoform-

mu da tespit edilmiştir^{6,14}. Fibronektin molekülü, üç boyutlu organizasyonu sonucunda ortaya çıkan fonksiyonel birimler sayesinde, değişik moleküllere (kollajen, heparin, fibrin, DNA) ve hücrelere bağlanır. Fibronektinin en önemli fonksiyonu ekstraselüler matriks ve hücreler arasındaki ilişkiyi sağlamaktır. Bu ilişkinin sonucunda hücre-substrat "adhezyon"u, hücre migrasyonu ve hücre morfolojisinin düzenlenmesi gibi etkiler ortaya çıkmaktadır^{7,8}.

İdrarda fibronektin, genellikle hücre bağlayan bölgelerden oluşan fragmanlar şeklinde bulunmaktadır^{10,11}. Bu fragmanların ürogenital sistemin, özellikle de mesane ve prostat dokusunda bulunan ekstraselüler matriksin proteolitik yıkımı sonucunda ortaya çıktıkları düşünülmektedir^{9,12}. Yaklaşık 20 yıldır fibronektinin değişik bağlayıcı birimlerine karşı poliklonal ve monoklonal antikorlar geliştirilmekte ve fibronektinin kantitatif ve kalitatif ölçümleri için kullanılmaktadır. Bu çalışmada kullanılan idrarda kantitatif fibronektin ölçümü, fibronektinin hücre bağlayan bölgesine karşı geliştirilmiş olan monoklonal antikorlar aracılığı ile gerçekleştirilmiştir¹³.

Bu çalışmanın amacı, idrarda BTF'nin, mesane kanseri tanı ve takibinde olası rolü ve klinik değerini tespit etmektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hastalar ve Örnekler: Bu çalışmaya 1996-2000 yılları arasında, mesane kanseri teşhisi konulmuş 58'i erkek, 17'si kadın 75 hasta alınmıştır. Hastalardan sistoskopi öncesi ve izlemleri sırasında toplam 103 adet idrar örneği toplanmıştır. Benin Prostat Hiperplazisi tanısı almış 20 hasta, Prostat kanseri tanısı almış 7 hasta ve hiçbir sağlık sorunu olmayan 28 kişiden alınmış idrar örnekleri de ayrıca toplanmıştır. Toplanan idrar örnekleri analiz edilinceye kadar -70°C'de saklanmıştır. Örnekler oda sıcaklığında çözülüp, 1500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra ölçüme alınmıştır.

İdrar örnekleri alınan hastalar 5 gruba ayrılarak incelenmiştir:

1. Histopatolojik değerlendirme sonucu yüksek mesane kanseri saptanan 51 hasta ve invazif mesane kanseri saptanan 24 hasta (n=75);

2. Alt üriner sistem yakınmaları nedeniyle başvuran ve cerrahi girişim sonrası patolojik olarak Benin Prostat Hiperplazisi (BPH) saptanan hastalar (n=20);

3. Histopatolojik olarak Prostat kanseri tanısı almış olan hastalar (n=7);

4. Kontrol grubu; herhangi bir ürolojik yakınması ve bulgusu olmayan 16'sı kadın, 12'si erkek olan 28 sağlıklı kişiden oluşturulmuştur (n=28);

Kontrol grubunda idrar örnekleri bekletilmeden çalışmaya alınmıştır. Evreleme, AJCC-UICC TNM 1997 sistemi kriterlerine göre yapılmıştır.

Analitik Metodlar: BTF(ng/mL), Diagnostic Product Corporation (Los Angeles, CA) tarafından İmmülitte Otomatize İmmünoasay Sistemi için geliştirilen, solid faz kemilüminesan immünometre prensibi ile çalışan diyagnostik bir testtir. Solid faz, BTF'ye spesifik fare monoklonal antikorlarıyla kaplı "polystyrene" boncuklar içeren test birimlerinden oluşmuştur. Alkalen fosfataz ile konjuge edilmiş tavşan poliklonal BTF spesifik antikorlar ve idrar örneği otomatik olarak aralıklı çalkalanarak 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiş, bu şekilde idrar örneğindeki BTF bu antikora bağlanarak antikor -BTF- antikor "sandwich" kompleksleri oluşturulmuştur. Bağlanmayan konjugat yıkanarak ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra test birimine substrat eklenmiş ve 10 dakika daha inkübe edilmiştir. Alkalen fosfataz varlığında "adamantyl dioxetane"nın fosfat esteri olan stabil kemilüminesan substrat hidrolize olmakta ve stabil olmayan ara ürüne dönüşmektedir. Bu ürünün oluşması sürekli bir ışık emisyonuna neden olmaktadır. Bağlanmış kompleksten saçılan foton miktarı sıcaklık kontrollü lüminometre tarafından ölçülebilmektedir. Bu yöntem kullanılarak tespit edilen foton miktarı ölçümlerinden, idrar örneğindeki BTF miktarı lineer bağlantı gösteren kalibrasyon eğrisinden hesaplanmıştır.

BTF testinin tekrarlanabilirliği "intraassay" ve "interassay" çalışmaları ile değerlendirilmiştir. İdrar kreatinin seviyeleri (mg/dL) Hitachi 917 Otoanalizör (Roche Diagnostics) ile ölçülmüştür.

Verilerin işlenmesi ve istatistiksel analiz: Ölçülen BTF değerleri volümetrik ve düzeltilmiş

BTF olarak ifade edilmiştir. Volümetrik BTF, idrarda BTF konsantrasyonu (ng/ml), düzeltilmiş BTF, idrarda ölçülen BTF'nin idrar kreatinin (CREA) düzeyine oranı BTF/CREA (ng/mg) şeklinde hesaplanmıştır. Volümetrik BTF ölçümlerinde idrar volümünün olumsuz etkilerini minimize etmek üzere, mesane kanserli hastalardan alınan 103 idrar örneğinin 50'sinde ve 28 kontrol idrar örneğinin 19'unda, BTF ölçümleri ile aynı zamanda idrarda kreatinin ölçümleri yapılarak, düzeltilmiş BTF/CREA (ng/mg) oranları hesaplanmıştır.

Elde edilen BTF değerleri "Receiver-Operating Characteristics" (ROC) grafik analizi ile değerlendirilmiş ve "cutoff" değeri hesaplanmıştır¹⁵. Grupların karşılaştırılması için "unpaired t-test" ve ANOVA testi kullanılmıştır.

SONUÇLAR

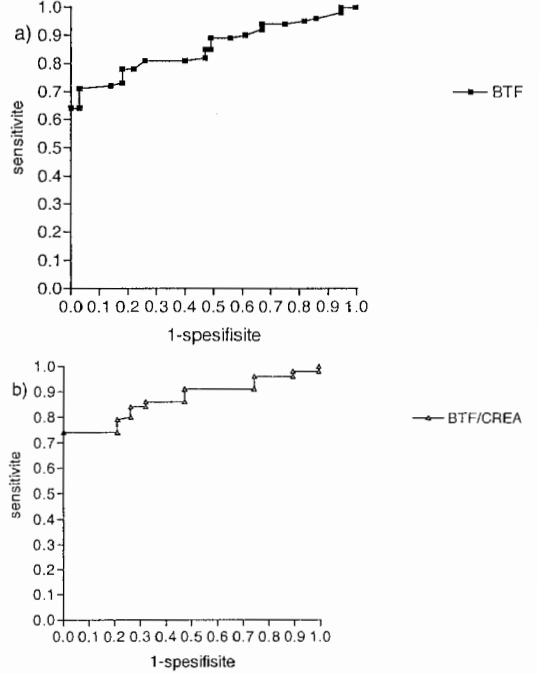
BTF'nin analitik değerlendirilmesi: BTF testi 0-400 ng/ml seviyeleri arasında kalibre edilmiştir. İdrarda ölçülebilir en düşük seviye 0 ng/ml standartta göre 0.2 ng/ml olarak belirlenmiştir. Testin tekrarlanabilirliği "intraassay" (mean=13 ng/ml; SD=1.32; CV=%0.1) ve "interassay" (mean=32.9 ng/ml; SD=1.17; CV=%0.04) çalışmaları ile tespit edilmiştir.

BTF'nin diagnostik profilinin belirlenmesi: 103 idrar örneğinde volümetrik (ng/ml) BTF verileri ROC analizleri ile değerlendirilmiştir ve optimal "cutoff" değeri 57 ng/ml olarak belirlenmiştir. Bu değere göre BTF'nin sensitivitesi %71.8 (%90 CI: %63.6-%79) ve spesifitesi %96.4 (%90 CI: %83.4-%99.8) olarak saptanmıştır.

İdrar örneklerinin 50 tanesinde aynı zamanda idrar kreatinin seviyeleri ölçülmüş ve düzeltilmiş BTF/CREA (ng/mg) değerleri hesaplanmıştır. Bu verilerle yapılan ROC analizi neticesinde optimal "cutoff" değeri 47 ng/mg olarak tespit edilmiştir. Bu "cutoff" değerine göre testin sensitivitesi ve spesifitesi, sırasıyla %72 (%90 CI: %59.6-%82.1) ve %100 (%90 CI: %85.4-%100) olarak saptanmıştır (Şekil 1).

Volümetrik ve idrar kreatinine göre düzeltilmiş BTF değerlerinden elde edilen ROC grafipleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($P>0.05$). Belirlenen "cutoff" değerlerine göre volümetrik ve idrar kreatinine göre düzeltilmiş örneklerde kontrol grubunun hasta

grubundan belirgin olarak ayrıldığı tespit edilmiştir ($P<0.0001$).



Şekil 1. a) BTF (ng/ml), b) BTF/ CREA (ng/mg) verilerin ROC grafi analizleri, $p>0.05$.

Sistoskopi öncesi alınan idrar örneklerinde ölçülen BTF değerlerinin ortalaması 146.2 ng/ml (8.4-400) ng/ml; BTF/CREA değerlerinin ortalaması 91.9 ng/mg (2.7-273)ng/mg olarak tespit edilmiştir. Bu idrar örneklerinde doğru-pozitiflik oranı volümetrik ve idrar kreatinine göre düzeltilmiş ölçümlerde farklılık göstermemiştir ve her iki grup için %60 olarak hesaplanmıştır.

Yüzeyel mesane kanseri tespit edilen hasta grubunda ölçülen BTF değerlerinin ortalaması 128.9 ng/ml (8.4-400 ng/ml); BTF/CREA değerlerinin ortalaması 130.2 ng/mg (2.7-1123.1 ng/mg) olduğu bulunmuştur. Bu grupta BTF testinin sensitivitesi volümetrik ölçümlerde %56.8 ve düzeltilmiş ölçümlerde %69.2 olarak saptanmıştır. Testin spesifitesi her iki grupta sırasıyla %83.3 ve %66.7 olarak bulunmuştur.

İnvazif mesane kanseri olan hasta grubundan elde edilen verilerin ortalaması volümetrik ölçümlerde 272.1 ng/ml (10.9-400 ng/ml), idrar kreatinine göre düzeltilmiş ölçümlerde 241.5 ng/

mg (22.4-1041.7 ng/ml) olarak tespit edilmiştir. Belirlenen "cutoff" değerine göre BTF testinin invazif mesane kanserini volumetrik ölçümlerde %91 sensitivite ve %100 spesifisite ile tespit ettiği hesaplanmıştır. Yüzeysel ve invazif mesane kanserli hastaların ortalama değerleri kendi aralarında ve kontrol grubu ortalama değeri ile karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur (sırası ile $p<0.0001$ ve $p<0.0001$) (Tablo1).

Yüzeysel ve invazif mesane kanserli hastaların bir kısmı klinik takipleri sırasında "nüks" ve "progresyon" açısından BTF testi ile değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme neticesinde "nüks" gösteren ve göstermeyen hastalar arasında anlamlı fark bulunamamıştır (yüzeysel mesane kanser grubunda $p=0.849$; invazif mesane kanser grubunda $p=0.343$). "Progresyon" olguları invazif mesane kanser grubunda istatistiksel olarak az sayıda olduklarından bu durum sadece yüzeysel mesane kanser grubunda değerlendirilebilmiştir ve "progresyon" gösteren ve göstermeyen hastalar arasında anlamlı fark bulunamamıştır ($p=0.355$).

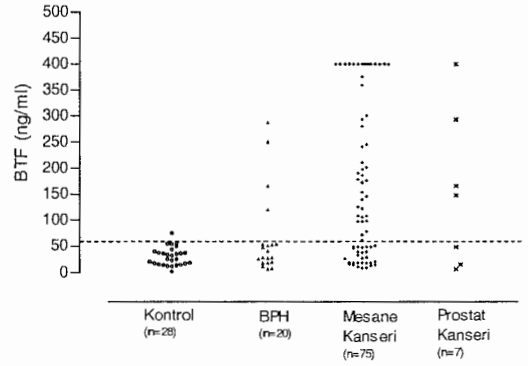
BTF testinin "nüks" tespit etme sensitivite ve spesifisitesi yüzeysel mesane kanserli hastalarda sırasıyla %59.4 ve %53.3 olarak tespit edilmiştir. Aynı hasta grubunda progresyon tespit etme sensitivite ve spesifisitesi sırasıyla %63.6 ve %53.6 olarak bulunmuştur. İnvazif mesane kanserli hasta grubunda BTF testinin %100 sensitivite ve %25 spesifisite ile "nüks" olan olguları tespit ettiği hesaplanmıştır (Tablo 2).

Mesane kanseri şüphesi ile sistoskopi uygulanan ve daha sonra histopatolojik olarak "malignite" tespit edilemeyen üç hastanın BTF seviyelerinin belirlenen "cutoff" değerinden daha düşük olduğu saptanmıştır (37, 43.4 ve 2.2 ng/ml).

BPH saptanan 20 hastada yapılan BTF ölçümlerinin ortalaması 109.1 ng/ml (6.6-400 ng/

ml) olarak tespit edilmiştir. Bu hasta grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olmadıkları hesaplanmıştır ($p>0.05$). Mesane kanserli hastalar ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak farklı oldukları görülmüştür ($p<0.05$). BTF testi bu grupta 20 hastanın 4'ünde yanlış olarak pozitif sonuç vermiştir (%20).

Prostat kanserli 7 hastada BTF ölçümlerinin ortalaması 154 ng/ml (7.4-400 ng/ml) olarak hesaplanmıştır. Prostat kanseri olan hastaların BTF değerlerinin mesane kanserli hastalardan anlamlı fark göstermedikleri saptanmıştır ($p>0.05$). BTF test sonuçları belirlenen "cutoff" değerinin üzerinde olan 4 prostat kanserli hasta saptanmıştır (%57) (Şekil 2).



Şekil 2. Kontrol ve farklı hasta gruplarında ölçülen "Bladder Tumor Fibronectin" (BTF) düzeylerinin, belirlenen "cutoff"= 57 ng/ml" değerine göre dağılımı.

TARTIŞMA

Tümör patogenezi son yıllarda yoğun araştırmalara konu olmuştur. Bu patogeneze özellikle ekstraselüler matriksin (ECM) ve onu oluşturan hücre bağlayıcı proteinlerin önemli bir role sahip oldukları anlaşılmıştır¹⁶. Vücudun herhangi bir dokusundan orijin alan ve genellikle invazif ve metastatik tümörlerin yüzeyinde bulunan proteolitik enzimlerin o dokunun ECM yıkımına ne-

BTF (ng/ml)	Mean±SD	SEM	Medyan	Aralık	Sn (%)*	Sp (%)*	PPV (%)*	NPV (%)*
Yüzeysel Mesane Kanseri Grubu (n=51)	128,9±133	18,7	71,6	8,4-400	69,2	83,3	96,1	20,8
İnvazif Mesane Kanseri Grubu (n=24)	272,1±147	29,9	337,5	10,9-400	91	100	100	50

Tablo1. Yüzeysel ve invazif mesane kanserli hastalarda BTF'nin karakteristik ve diyagnostik özellikleri (*Sn, sensitivite; Sp, spesifisite; PPV, pozitif prediktif değer; NPV, negatif prediktif değer, $p<0.0001$)

		“Rekürrens” [*]		“Progresyon” ^{**}	
		(+) n=34	(-) n=13	(+) n=11	(-) n=28
Yüzeyel mesane kanser grubu (n=51)	Mean ± SD (ng/ml)	133±139.1	116±112.4	168±157.6	102±109.5
	SEM	23.9	31.2	47.5	20.7
	Sensitivite (%)	59.4		63.6	
	Spesifisite (%)	83.3		53.6	
		(+) n=7	(-) ^{***} n=5	dy ^{***}	
İnvazif mesane kanser grubu (n=24)	Mean ± SD (ng/ml)	319±102	199±187		
	SEM	38.6	83.6		
	Sensitivite (%)	100			
	Spesifisite (%)	25			

Tablo 2. Yüzeyel ve invazif mesane kanserli gruplarda BTF testinin "rekürrens" ve "progresyon" tespit etme özellikleri (*p=0.849, **p=0.355, ***p=0.343, ****dy, değerlendirme yapılmadı.)

den oldukları bilinmektedir. Fibronektin, ekstrasellüler matriksin yapısal glikoproteinlerinden biridir. Proteolitik yıkım neticesinde fibronektinin belirli fragmanlara parçalandığı gösterilmiştir¹⁰. Bu fragmanların çoğunlukla hücre-bağlayan ve tüm moleküler ağırlığın 1/5'ini oluşturan birimler oldukları gösterilmiştir¹¹. Normal fibronektine göre düşük moleküler ağırlıklı fragmanlar böbreklerden süzülüp idrara karışabilirler. Mesane yüzeyinin bütünlüğünü bozan her durumda ve özellikle mesane kanserinde idrarda fibronektin fragmanlarının artışı görülebilir. İdrarda fibronektin fragmanları spesifik antikolar sayesinde tespit edilebilir ve bu yüzden fibronektin tümör varlığını saptayabilen belirteç olarak kullanılabilir. Mesane kanser teşhisi için potansiyel role sahip olabilecek moleküller arasında mesane duvarında bulunduğu ve idrarda ölçülebildiğinden idrar fibronektini uygun bir alternatif olabilir. Bu çalışmada idrarda ölçülen fibronektin değerlerinin normal sağlıklı insanlara kıyasla mesane kanserli hastalarda daha yüksek olduğu görülmüştür.

Yapılan çalışmanın güvenilirliği açısından örneklerin doğru bir şekilde toplanmasına ve saklanmasına, doğru örnekleme zamanlarına ve testin analitik değerlendirilmesine öncelikle dikkat edilmiştir. Fibronektin molekülü proteolize çok hassas olduğu için 24 saatlik idrar toplamak yerine tek idrar örneğinde çalışılmasının daha doğru ve pratik olduğu düşünülmüştür. İdrarda bakılan herhangi bir madde hastanın böbrek fonksiyonları ile direkt olarak ilgili olduğundan, hastaların bir kısmında aynı zamanda idrar kreatinin ölçüm-

leri de yapılmıştır. Testin duyarlılığı ve özgüllüğü açısından BTF ve BTF/CREA ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

Her ne kadar kontrol grubu ve BPH saptanan hastalar birbirinden istatistiksel olarak farklı görünmese de, BTF testinin ikinci grupta daha yüksek sonuçlar verdiği görülmüştür. Gruplardaki hasta sayısı artırıldığında bu farklılık daha da belirgin hale gelebilir. Mesane kanseri tespitinde yanlış-pozitifliğin en önemli sorunlardan biri olduğu görülmüştür. Bunu önlemek amacı ile benin ürolojik hastalıkların (Benin Prostat Hiperplazisi, Kronik prostatit ile bu çalışmada değerlendirilmeyen Üriner sistem taş hastalığı ve enfeksiyon) varlığı daha önceden tespit edilmelidir. Mesane taşı, mesane içi enfeksiyon ve "malignite"ye bağlı olmayan hematürisi olan hastalar bu çalışmada değerlendirilmemiştir. Teorik bilgiler ışığında, BTF ölçümü yapılmadan önce sözkonusu durumların tespit edilmesi ve sonuçların buna göre değerlendirilmesi sensitivite ve spesifisiteyi arttıracaktır.

Bu çalışmada değerlendirilen hastaların bir bölümü yaklaşık 4 yıl izlenmiştir. Bu hastalarda hastalığın tedavi ve takibi sırasında da idrar örnekleri toplanmış ve BTF testinin hastalığın seyri ile ilişkisi sorgulanabilmiştir. Ancak testin performansı hastalık "rekürrens"i ve "progresyon"unu öngörmeye yeterince başarılı bulunmamıştır (p>0.05). Hasta sayısının nispeten az olması, uygulanan farklı tedavi protokolleri ve hasta takibindeki zorluklar gibi faktörlerin, BTF so-

nuçlarını etkileyerek bu sonuca yol açtığı düşünülebilir. Buna karşın, mesane kanserinin klinik değerlendirilmesinde en önemli parametrelerden biri olan evreleme ile BTF testinin istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Bu da invazif kanserlerde daha fazla doku harabiyeti ve daha fazla fibronektin fragmantasyonu olması ile açıklanabilir.

Prostat kanserli hastalar sayısal olarak az olmalarına rağmen çoğunda BTF testinin yüksek değerler gösterdiği saptanmıştır. Buna dayanarak prostat kanseri varlığının BTF testinin mesane tümörleri açısından diyagnostik değerini azaltabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, BTF testinin analitik değerlendirilmesi neticesinde testin tekrarlanabilirliği, duyarlılığı ile özgüllüğü sistoskopi ve diğer mesane kanseri belirteçleri ile karşılaştırıldığında, mesane kanseri tanısında yeri olabileceği görülmektedir (Tablo3). Ancak test performansı diğer tüm moleküler idrar testlerinde olduğu gibi sistoskopinin yerini almasını sağlayacak düzeyde değildir. BTF testinin en önemli faydası hastalığın evrelendirilmesinde kendisini göstermektedir. İlk tanı için uygulanan sistoskopi ve TUR öncesi BTF'nin değerlendirilmesi, tümörün invazyon derecesi hakkında bilgi sağlayarak endoskopik girişim ve bunu izleyen tedavi yöntemlerini planlama konusunda yol gösterici olabilir.

	Sensitivite (%)	Spesifisite (%)
BTF*	71.8	96.4
NMP-22	68-100	61-85
FDP	82.1	86-96
BTA	54-83	72-95
BTA TRAK	54-78	95-97
BTA STAT	80-90	72-95

Tablo 3. Diğer FDA onaylı idrar belirteçlerine göre BTF testinin sensitivite ve spesifisite analizi⁵ (*mevcut çalışma)

KAYNAKLAR

- 1- **Johansson SL, Cohen SM:** Epidemiology and etiology of bladder cancer. *Semin Surg Oncol.* 13: 291-298, 1997
- 2- **Herr Hw, Lamm DL:** Management of Superficial Bladder Cancer. Principles and Practice of Genitourinary Oncology. Edited by D.Raghovan, H. I.Scher, SA Liebel and PH Lange. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia pp:273-280, 1997

- 3- **Messing EM, Young TB, Hunt VB, et al:** Comparison of bladder cancer outcome in men undergoing hematuria home screening versus those with standard clinical presentations. *Urology* 45: 387-396, 1995
- 4- **Halachmi S, Linn JF, Amiel GE, et al:** Urine cytology, tumour markers and bladder cancer. *British Journal of Urology* 82: 647-654, 1998
- 5- **Burchardt M, Burchardt T, Shabsigh A, et al:** Current concepts in biomarker technology for bladder cancers. *Clin Chem.* 46:595-605, 2000
- 6- **Hynes RO and Yamada KM:** Fibronectins: Multifunctional modular glycoproteins. *J Cell Biol.* 95: 369-377, 1982
- 7- **Schwarzbauer JE and Sechler JL:** Fibronectin fibrillogenesis: A paradigm for extracellular matrix assembly. *Curr Opin Cell Biol.* 11: 622-627, 1999
- 8- **Sottile J and Wiley S:** Assembly of aminoterminal fibronectin dimers into the extracellular matrix. *J Biol Chem.* 269:17192-17198, 1994
- 9- **Malmström PU, Larsson A and Johansson S:** Urinary fibronectin in diagnosis and follow-up of patients with urinary bladder cancer. *British Journal of Urology* 72:307-310, 1993
- 10- **Katayama M, Hino F, Kamihagi K, et al:** Urinary fibronectin fragments (a potential tumor marker) measured by immunoenzymometric assay with domain-specific monoclonal antibodies. *Clin Chem.* 37/3: 466-471, 1991
- 11- **Katayama M, Kamihagi K, Nakagawa K, et al:** Increased fragmentation of urinary fibronectin in cancer patients detected by immunoenzymometric assay using domain-specific monoclonal antibodies. *Clin Chem Acta.* 217:115-128, 1993
- 12- **Webb KS and Lin GH:** Urinary fibronectin potential as a biomarker in prostatic cancer. *Inv Urol.* 17: 401-404, 1980
- 13- **Nagai T, Yamakawa N, Aota S, et al:** Monoclonal antibody characterization of two distant sites required for function of the central cell-binding domain of fibronectin in cell adhesion, cell migration, and matrix assembly. *J Cell Biol.* 114: 1295-1305, 1991
- 14- **Kosmehl H, Berndt A, Katenkamp D:** Molecular variants of fibronectin and laminin: Structure, physiological occurrence and histopathological aspects. *Virchows Arch.* 429: 311-322, 1996
- 15- **Zweig MH and Campbell G:** Receiver-Operating Characteristic (ROC) plots: A fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin Chem.* 39/4:561-577, 1993
- 16- **Rouslahti Er:** Fibronectin and its Integrin Receptors in Cancer. *Advances in Cancer Research.* 0065-230X, 1999