SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ BAĞCILAR SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

ÜROLOJİ KLİNİĞİ

KASA İNVAZİV OLMAYAN MESANE KANSERİNDE İKİNCİL TRANSÜRETRAL REZEKSİYON İÇİN BLADDER EPİCHECK®'İN KLİNİK FAYDA VE KARAR VERME ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Serhat Süzan

(UZMANLIK TEZİ)

İstanbul 2021

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ BAĞCILAR SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

ÜROLOJİ KLİNİĞİ

KASA İNVAZİV OLMAYAN MESANE KANSERİNDE İKİNCİL TRANSÜRETRAL REZEKSİYON İÇİN BLADDER EPİCHECK®'İN KLİNİK FAYDA VE KARAR VERME ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Serhat Süzan

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Ahmet Yaser Müslümanoğlu

Yardımcı Tez Danışmanı:

Uzm. Dr. İsmail Ulus

(UZMANLIK TEZİ)

İstanbul 2021

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR ……ii

KISALTMALAR ……iii

TABLO LİSTESİ ……..v

ŞEKİL LİSTESİ ……...vi

ÖZET ……vii

ABSTRACT ……ix

1. GİRİŞ VE AMAÇ ……1

2. GENEL BİLGİLER ……..4

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER …….....17

4. BULGULAR ……....22

5. TARTIŞMA ……27

6. SONUÇLAR ……....30

7. KAYNAKLAR ……....31

Tezimin ve asistanlığımın her döneminde verdiği destek ve sağladığı imkanlarla mesleki eğitimime değerli katkılarda bulunan, vizyonumu geliştirmeme vesile olan, Prof. Dr. Ahmet Yaser Müslümanoğlu'na,

Başından sonuna tezimin her alanında yardımını esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren, emeğiyle, vaktiyle, sabrıyla destek olan Op. Dr. İsmail Ulus'a

Bilgi ve deneyimleriyle uzmanlık eğitimimin inşasında emeği geçen, Prof. Dr. Atilla Semercioöz'e, Prof. Dr. İsmail Engin Kandıralı'ya, Prof. Dr. Ege Can Şerefoğlu'na, Doç. Dr. Emrah Yürük'e, Doç. Dr. Muhammet Murat Dinçer'e, Doç. Dr. Ünsal Özkuvancı'ya, Doç. Dr. Serdar Aykan'a, Doç. Dr. Murat Tüken'e, Doç. Dr. Mustafa Zafer Temiz'e, Op. Dr. Ömer Onur Çakır'a, Op. Dr. Mehmet Yılmaz'a, Op. Dr. Yusuf Şahin'e, Op. Dr. Aykut Çolakerol'a, Op. Dr. Gökhan Çil'e, Op. Dr. Kasım Ertaş'a, Op. Dr. Serkan Gönültaş'a, Op. Dr. Süheyb Süleyman'a, Op. Dr. Mubarek Bargicho Adem'e ve Uzm. Dr. Şule Özsoy'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca aynı yolda yürüdüğüm, birlik, beraberlik ve dayanışma bilincini her koşulda koruduğumuz ve yine her koşulda birbirimize destek olduğumuz asistan arkadaşlarıma,

Eğitimimi tamamladığım süre boyunca Bağcılar Sağlık Uygulamaları ve Araştırma Merkezi'nde beraber çalıştığım, üzerimde herkes kadar emekleri olan tüm sağlık çalışanı arkadaşlarıma,

Maddi ve manevi varlığını refahım ve selametim için ortaya koyan, hayatımı sağlam bir temele oturtup istediğim gibi inşa etmeme olanak sağlayan anneme ve babama ve sevgisini her zaman hissettiğim kardeşime,

6 yıllık bu süreçte beni bir an olsun yalnız bırakmayan, koşulsuz desteği, fedakarlığı, sabrı ve sevgisiyle tüm zorlukların üstesinden beraber geldiğim hayat arkadaşım Halime'ye, en değerli varlıklarım Gunaala'ya ve Adgur'a

Teşekkür ederim.

KISALTMALAR

KİOMK: Kasa invaze olmayan mesane kanseri

ÜK: Ürotelyal karsinom

CIS: Karsinoma in situ

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

NPD: Negatif prediktif değer

BE: Bladder EpiCheck®

TUR: Transüretral rezeksiyon

UICC: Union International Contre le Cancer

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

ISUP: International Society of Urological Pathology

SR: "Systematic review"

PUNLMP: Düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazi

LG: Low grade

HG: High grade

BT: Bilgisayarlı tomografi

IVU: İntravenöz ürografi

US: Ultrason

PDD: Photodynamic diagnosis

NBI: Narrow band imaging

NMP22: Nükleer matriks proteini 22

FISH: Floresan in situ hibridizasyon

FGFR3: "Fibroblast growth factor receptor 3"

HER2: "Human epidermal growth factor receptor 2"

EGFR: "Epidermal growth factor receptor"

G: Gravite

PBS: Phosphate Buffered Saline

UC: Undigested control

NTC: No template control

USD: Amerikan doları

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: 2017 mesane kanseri TNM sınıflandırması

Tablo 2: 1973 ve 2004/2016 DSÖ histolojik sınıflandırması

Tablo 3: Birincil ve ikincil TUR değerlendirme sonuçlarına göre tümör evrelerinin dağılımı

Tablo 4: Birincil ve ikincil TUR değerlendirme sonuçlarına göre tümör derecelerinin dağılımı

Tablo 5: Birincil ve ikincil TUR değerlendirme sonuçlarına göre CIS varlığı değerlendirmesi

Tablo 6: Birincil TUR sonuçlarının dağılımı

Tablo 7: Primer tümör evresine göre ikincil TUR ve Epicheck® sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 8: Primer tümör evresine göre ikincil TUR ve Epicheck® sonuçlarının CIS varlığı açısından karşılaştırılması

Tablo 9: Primer tümör derecesine göre ikincil TUR ve Epicheck® sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 10: Primer tümör derecesine göre ikincil TUR ve Epicheck® sonuçlarının CIS varlığı açısından karşılaştırılması

Tablo 11: EpiCheck® sonuçlarına göre ikincil TUR'deki tümör evrelerinin dağılımı

Tablo 12: EpiCheck® sonuçlarına göre ikincil TUR'deki tümör derecelerinin dağılımı

Tablo 13: EpiCheck® sınıflama sonuçlarına göre ikincil TUR'deki CIS varlığı

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Tümörlerin DSÖ 1973 ve 2004 histolojik sınıflandırmalarına göre karşılaştırılması

Şekil 2: PZR öncesi analiz karışımlarının hazırlanma algoritması

Şekil 3: PZR analiz karışımlarının tüp numaraları rotor üzerinde yazan numaralar ile eşleşecek şekilde 72 kuyulu rotora yerleştirilme şeması

Şekil 4: Hazırlanmış NTC, UC ve 7 adet numunenin 72 kuyulu rotorun Rotor Gene Q cihazına yerleştirilme şeması

ÖZET

AMAÇ

Bu çalışma ile kasa invaziv olmayan mesane kanserinde Bladder EpiCheck®'in ikincil TUR gerekliliğini öngörmedeki performansı ve klinik karar verme üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmaya prospektif olarak ikincil TUR endikasyonu olan, kasa invaze olmayan mesane kanseri tanısı almış toplam 50 hasta dahil edildi. İkincil TUR operasyonunun bir gün öncesinde alınan idrar numunesi, Bladder EpiCheck® ile değerlendirildi ve çıkan sonuçlar ikincil TUR patolojileri ile karşılaştırıldı.

BULGULAR

Çalışmada yaş ortalaması 65,3±9,1 (32 – 80 aralığında) idi ve hastaların 45'i erkekti. Birincil TUR'de tümör evresi Ta olan 10 kişinin ikincil TUR'de 7'si (%70) benign, 3'ü (%30) ise Ta bulundu. Birincil TUR'de tümör evresi T1 olan 40 kişinin ikincil TUR'de 21'i (%52,5) benign, 6'sı (%15) Ta, 8'i (%20) T1, 4'ü (%10) CIS ve 1'i (%2,5) T2 bulundu. Birincil TUR'de tümör derecesi high grade olan 48 kişi tespit edildi ve ikincil TUR'de bunların 27'sinin benign, 1'inin low grade ve 20'sinin high grade olduğu saptandı. Birincil TUR'de eşlik eden CIS bulunan 13 kişinin 9'unun ikincil TUR patolojisinde CIS görülmezken 4'ünde izole CIS belirlendi. Primer tümör evresi Ta olanlarda Bladder EpiCheck®'in özgüllüğü ve negatif prediktif değeri sırasıyla %100 ve %87,5 idi. Primer tümör evresi T1 olanlarda Bladder EpiCheck®'in özgüllüğü ve negatif prediktif değeri sırasıyla %71,4 ve %68,2 idi. Primer tümör derecesi high grade olanlarda Bladder EpiCheck®'in özgüllüğü ve negatif prediktif değeri sırasıyla %77,8 ve %75 idi. Kasa invaze olmayan mesane kanserlerinin tümü değerlendirildiğinde Bladder EpiCheck®'in özgüllüğü ve negatif prediktif değeri sırasıyla %78,6 ve %73,3 olarak saptandı.

SONUÇ

Çalışmamız ile Bladder EpiCheck®'in ikincil TUR öncesi rezidüel tümör varlığını saptamada ve klinik karar vermede faydalı olabileceği öngörülmüştür. Diğer tümör belirteçleri ile kombinasyonu yüksek özgüllük ve negatif prediktif değerlere ulaşılmasını böylelikle maliyet ve hayat kalitesi yönünden iyileşmeyi sağlayabilir. Salgın, afet gibi olağanüstü durumlarda ikincil TUR endikasyonu olan hastalar için Bladder EpiCheck® temelinde oluşturulacak yeni bir algoritmayla operasyonlar ertelenebilir ya da tedavinin sonraki basamağına geçilerek zaman kaybı ve takipsizlik önlenebilir. Bu görüşlerin desteklenmesi ve Bladder EpiCheck®'in klinik işleyişe dahil olması için daha geniş hacimli, çok merkezli, prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Bladder Epicheck, ikincil TUR, mesane kanseri

ABSTRACT

AIM

The aim of this study was to evaluate the performance of Bladder EpiCheck® in predicting the need for second TUR in non-muscle invasive bladder cancer and its effects on clinical decision making.

MATERIALS AND METHODS

A total of 50 patients who were diagnosed with non-muscle invasive bladder cancer with a second TUR indication were included in the study prospectively. The urine sample taken the day before the second TUR operation was evaluated with Bladder EpiCheck® and the results were compared with second TUR pathologies.

RESULTS

In the study, the mean age was 65,3±9,1 (range 32 to 80), and 45 of the patients were male. Of 10 patients with tumor stage Ta in primary TUR, 7 (70%) were found to be benign in second TUR, and 3 (30%) were Ta. Of 40 patients with tumor stage T1 in primary TUR, 21 (52,5%) were benign in second TUR, 6 (15%) were Ta, 8 (20%) were T1, 4 (10%) CIS and 1 (2,5%) T2 were found. In primary TUR, 48 patients with high grade tumors were detected, and in second TUR, 27 of them were benign, 1 was low grade, and 20 were high grade. While 9 of 13 patients with concomitant CIS in primary TUR did not have CIS in second TUR pathology, isolated CIS was detected in 4 of them. Specificity and negative predictive value of Bladder EpiCheck® in primary tumor stage Ta were 100% and 87,5%, respectively. The specificity and negative predictive value of Bladder EpiCheck® in primary tumor stage T1 patients were 71,4% and 68,2%, respectively. The specificity and negative predictive value of Bladder EpiCheck® were 77,8% and 75%, respectively, in patients with high grade primary tumor grade. When all non-muscle-invasive bladder cancers were evaluated, the specificity and negative predictive value of Bladder EpiCheck® were found to be 78,6% and 73,3%, respectively.

CONCLUSION

With our study, it was predicted that Bladder EpiCheck® may be useful in detecting residual tumor before second TUR and in clinical decision making. Its combination with other tumor markers can provide high specificity and negative predictive values, thus improving cost and quality of life. For patients with secondary TUR indications in extraordinary situations such as epidemics or disasters, with a new algorithm to be created on the basis of Bladder EpiCheck®, operations can be postponed or time loss and non-follow-up can be prevented by moving to the next step of the treatment. Larger, multicenter, prospective studies are needed to support these views and to incorporate Bladder EpiCheck® into clinical practice.

Key words: Bladder Epicheck, second TUR, bladder cancer

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mesane kanserleri, gelişmiş ülkelerde sık görülen kanserler arasında 7. ve ürogenital sistem içerisinde prostat kanserinin ardından 2. sırada yer almaktadır[1].

Mesane malignitelerin büyük bir çoğunluğu üroepitelyal kaynaklıdır ve histolojik olarak ürotelyal karsinom (ÜK) olarak tanımlanmaktadır[2].

Mesane kanserleri sıklıkla (%75) tanı anında kasa invaziv değildir ve bu tümörlere genellikle iyi prognoz eşlik eder[3].

Günümüzde mesane kanseri tanısında altın standart sistoskopi ve biyopsidir. Sistoskopinin invaziv ve pahalı bir yöntem olması, kasa invaze olmayan mesane kanseri (KİOMK) hastalarının takibinde hasta ve hasta yakınları için psikososyal yük; sağlık sistemi için ise ekonomik yük olarak karşılığını bulmaktadır.

Mesane kanserinin ekonomik yükü üzerine yapılmış literatürde az sayıda çalışma bulunmasına rağmen, bu konu hakkındaki güncel çalışmalar giderek artmaktadır ve peroperatif komplikasyonlar, yüksek nüks oranı, yoğun ve sıkı takip protokolleri, pahalı intravezikal tedaviler ile her bir hasta için hesaplandığında mesane kanserinin diğer tüm kanserler arasında en yüksek maliyete sahip olduğunu göstermektedir[4,5]. KİOMK göz önünde bulundurulduğunda bu maliyetler içerisinde en yüksek payı endoskopik işlemler almaktadır.

Mesane kanserinin tanı ve takibinde sistoskopinin yerine kullanılabilecek birçok yöntem araştırılmakta olup tümör belirteçleri, üzerinde en çok çalışılan alanlardan biridir. Bunların içerisinde ise idrar belirteçleri, en dinamik çalışma sahalarından birisi konumundadır[6].

İyi bir tümör belirtecinin; basitçe uygulanabilmesi, sonuçlarındaki sapmaların tolere edilebilmesi ve doğruluk oranının yüksek seviyede olması gerekmektedir[7]. KİOMK'de ideal bir tümör belirtecinin en önemli özelliği özgüllük ve duyarlılığının yüksek dereceli tümörlerde yüksek olmasıdır. Bu özellikler göz önüne alındığında idrar sitolojisi klinik faydalanımda en çok kullanılan belirteç olarak öne çıkmıştır.

Uzman bir sitopatolog incelemesinde sitoloji; yüksek dereceli tümörlerin tespitinde oldukça özgül ve duyarlı olmasına rağmen, düşük dereceli hastalığı tespit etmede yeterli değildir[8,9]. Ayrıca, malignitelerin tespiti ve sınıflandırılması için tanımlanmış kriterlere rağmen bulguları yorumlayanlar arasında değişkenlik görülmektedir[10,11]. Sitolojinin hızlı ve ayaktan hastalarda kullanım kolaylığı olmasına rağmen, çoğu merkezde sitopatolog ve uygun teçhizat bulunmaması nedeniyle yerinde inceleme yapılamamaktadır. Yine bazı patologların, hücre döküntüsünü arttırmak amacıyla mesane yıkama sıvısı tercih etmesi, prosedürün invazivliği ve enstrümantasyon artefaktları açısından önerilmemektedir. Bu ve benzeri limitasyonlar nedeniyle idrar sitolojisi, başlı başına bir tümör belirteci olmaktan çok, sistoskopiye yardımcı bir tanı yöntemi olmaktan öteye geçememiştir[7,12].

Sistoskopi ve sitolojideki mevcut sınırlamalar sebebiyle mesane kanseri tanı ve takibinde kullanılması amaçlanan idrar testleri, düşük dereceli tümörlerde sitolojiden daha duyarlı iken özgüllükleri hala daha düşüktür. Öte yandan, bu testlerin büyük bir çoğunluğunun tek bir belirtece odaklanması ve mesane kanserinin genetik heterojenitesini dikkate almaması, idrar sitolojisi ve sistoskopi ile kıyaslandığında klinik iyileşme olmaksızın tanısal performansta sınırlı artışa ve maliyet artışına sebep olmaktadır[13-16]. Bu nedenler bahsi geçen testlerin sitolojiyi ekarte etmelerine imkan vermemiş, geliştirilen testlerin çoğu klinik uygulamaya geçememiştir[17-19].

Son zamanlarda yapılan araştırmalarda metilasyon tabanlı yeni belirteçler ön plana çıkmaktadır. ÜK'lerde DNA metilasyonunun, KİOMK'nin kasa invaziv mesane kanserine progresyonu ile ilişkisi gösterilmiş olup mesane kanserinde mutasyon potansiyeli ve heterojenitenin önemi tekrar ortaya konmuştur[20].

Bladder EpiCheck® (BE) (Nucleix, Rehovot, İsrail) testi, mesane kanseri tanı ve takibi için geliştirilmiş, invaziv olmayan bir testtir. Bu test mesane kanseri hücrelerindeki yüksek DNA metilasyonu ile ilişkili 15 genomik lokusun DNA metilasyon durumunun gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile analizine dayanmaktadır. Özel bir yazılım kullanılarak elde edilen sonuçlar EpiScore adı verilen sayısal bir değere dönüştürülür. EpiScore değeri 0–100 aralığındadır ve 60'ın üzeri mesane kanseri için pozitif kabul edilir. Düşük dereceli Ta tümörler hariç

BE'nin duyarlılığı %91,7, negatif prediktif değeri (NPD) %99,3 ve özgüllüğü %88 gibi yüksek oranlardadır[21].

Mesane kanserinde birincil rezeksiyon sonrası ikincil transüretral rezeksiyon (TUR) endikasyonu bulunan hastalar, invaziv endoskopik girişimin tüm olumsuz yönlerine maruz kalabilecek özellikli bir alt gruptur. Güncel literatürde ikincil TUR gerekliliğini öngörecek biyobelirteçler ile ilgili çalışmalar artmakta olup bu ihtiyacı karşılayacak bilgi birikimine ulaşılamamış ve klinik karar verme sürecine dahil olacak başarıyı gösteren bir test bulunamamıştır. Literatürde BE'nin yüksek riskli hastaların tanı ve takibinde başarısı gösterilmiş olmasına rağmen ikincil TUR gerekliliğini ön görmedeki performansını değerlendirecek bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada KİOMK'de BE'nin ikincil TUR gerekliliğini öngörmedeki performansı ile klinik fayda ve karar verme üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. MESANE ANATOMİSİ

Mesane, retroperitonda yer alan ve rezervuar görevi gören lümenli bir organ olup, neredeyse tamamı kas dokusundan oluşmaktadır. Mesanenin idrar depolama ve boşaltma olarak iki önemli fonksiyonu vardır.

Depolama aşamasında mesane gevşek durumdadır ve mesane iç basıncı düşüktür. İdrarın boşaltılması ise mesanenin koordineli bir şekilde kasılmasını, mesane içi basıncı arttırmasını ve üretranın da bu değişimlere uygun şekilde gevşemesini gerektirir[22]. Mesane bu işlevlerini otonomik sinir sistemi kontrolü altında istemli bir şekilde gerçekleştirmektedir.

Mesane fundus, apeks, korpus, boyun ve trigon kısımlarından oluşmaktadır. Mesane boşken erişkinlerde simfizis pubisin arkasında, yenidoğan ve çocuklarda pelvise inişi tamamlanana kadar abdomende bulunur. Dolu iken pubisin üstüne yükselir ve palpe edilebilir hale gelir. Apeks, simfizis pubisin hemen yukarısından karın ön duvarına uzanır ve allantois artığı olan urakus adlı fibröz bir bağ aracılığıyla umblikusa bağlanır.

Mesane posterioru erkeklerde rektum komşuluğundadır. Bu iki yapı arasında *fasia rektovezikalis* (Denonviller fasyası), veziküla seminalisler ve vaz deferensin ampullaları mevcuttur. Kadınlarda ise posterior komşuluk vajina ön duvarı ve uterus iledir. Yine kadınlarda mesane süperioru uterus ve ince bağırsaklarla komşu iken, erkeklerde peritonla kaplı olup sigmoid kolon ve ince bağırsaklarla komşudur. Peritonun rektum ve mesane arasında oluşturduğu boşluğa *Excavatio rectovesicalis* denir. Mesanenin peritonla örtülü olmayan inferolateral yüzeyleri internal obturator kaslar, levator ani ve simfizis pubis ile komşudur. Simfizis pubis ile mesane arasında yer alan boşluk "Retzius aralığı" olarak adlandırılır. Bu aralıkta "Santorini ven pleksusu" yer almaktadır.

Mesane boynu ve prostat tabanı bitişiktir ve üretranın başlangıcı olan internal orifis bu yapı içerisinde yer alır. Mesane boynu, mesanenin hareketsiz olan bölümüdür.

Trigon, mesanenin diğer bölümlerinden farklı bir yapıya sahiptir. Mesane dolumu ile yer değiştirmemekte, görece düz ve sabit kalmaktadır. Bu farklılıklar trigonun mesanenin diğer kısımlarından farklı bir embriyolojik kökenden gelmesiyle bağlantılıdır.

Mesane, internal iliak arterin dalları olan süperior, orta ve inferior vezikal arterlere ek olarak obturator ve gluteal arterlerden köken alan küçük dallardan kanlanır. Zengin anastomozlara sahip olması nedeniyle bol kanlanan bir organ olup, çevresinde ve adventisyasının altında zengin venöz pleksuslar bulunmaktadır. Mesane ve prostatın ön, yan ve arka yüzlerini çevreleyen vezikal ve prostatik venöz pleksuslar, penis dorsal veni ile beraber internal iliak vene açılırlar. Lenfatikleri sırasıyla vezikal, eksternal iliak, internal iliak ve ana iliak lenf nodlarına boşalırlar.

Otonom sinir sisteminin kontrolünde olan mesane hem sempatik hem de parasempatik sinirler ile innerve olmaktadır. Sempatik sinirler mesane duvarı adventisyasında bir sinir ağı meydana getirir iken parasempatik sinirler kas lifleri ve adventisya tabakasında sonlanırlar ve miksiyon refleksinde görevli eferent sinirleri teşkil ederler. Duyusal sinirler ise mesaneden omuriliğe uzanırlar ve miksiyon refleksinin aferent bölümünü oluştururlar.

2.2. MESANE HİSTOLOJİSİ

Mesane dokusu içten dışa sırasıyla, *tunika mukoza, tunika muskülaris ve tunika adventisya* tabakalarından oluşmaktadır.

2.2.1. Tunika Mukoza

Çok katlı değişici epitel (Ürotelyum) ve *lamina propria* tarafından teşkil edilir.

2.2.1.1. Çok katlı değişici epitel (Ürotelyum): Mesanenin iç yüzeyini örter. Yapının bu şekilde adlandırılmasının sebebi yassı epitel ile küboid epitel arasında bir forma sahip olmasıdır. Mesane boşken 5-6 sıra oval ve küboid yapıda olan hücreler, mesane dolunca basınç etkisiyle 3-4 sıra halinde görülen yassı epitele dönüşür. Bu değişiklikler ürotelyumun mesane hacmindeki değişikliklere gösterdiği uyumun bir örneğidir.

2.2.1.2. Lamina Propria (Submukoza): Gelişmiş bir bağ dokusu yapısındaki bu tabaka zengin damar ağı ve sinir sonlanımları içermektedir. Bağ dokusunun elastik liflerinin bileşimiyle oluşan elastin, mesanenin kasılma ve gevşemesinde görev almaktadır. *Lamina propria* içerisinde düzenli ve düzensiz şekilde düz kas demetleri mevcuttur. Bu demetler *muskularis mukoza* adı verilen bölgeyi oluştururlar. Tümörün evrelenmesinde bu bölgede görülen maligniteler kasa invazyon izlenimi vererek evrelemede yanlışlıklara sebep olabilmektedir.

2.2.2. Tunika Muskularis (Detrusor)

Belli bir düzende olmadan farklı yönlere uzanmış düz kas liflerinden oluşan detrusor adlı bu kas yapısı, mesane boynunda belirgin 3 tabaka şeklinde yer alır. Bunlar ortada sirküler, içte ve dışta ise longitudinal, yapıda demetlerden oluşur. Detrusor kası, sinir uçlarından salınan ya da lokal olarak var olan birçok transmitter için reseptörler bulundurur. Kasılma için gerekli en önemli reseptörler muskarinik ve pürinerjik reseptörlerdir. Mesanenin kasılmasında muskarinik reseptörlerin M3 alt tipi öncülük ederken, gevşeme mekanizması ise adrenerjik β3 reseptörleri tarafından aktive edilir.

2.2.3. Tunika Adventisya

Mesaneyi dıştan saran, kollajen ve elastik liflerden oluşan bağ dokusudur. Mesaneyi besleyen kan damarları ile innervasyonunu sağlayan sinir lifleri bu tabakadan geçerler.

2.3. EPİDEMİYOLOJİ

Mesane kanseri, cinsiyetten bağımsız en sık tanı konan on birinci, erkeklerde ise yedinci kanserdir[23]. Dünya çapında insidansı (100.000 kişi / yıl başına) erkeklerde 9.0 ve kadınlarda 2.2; Avrupa Birliği'nde ise erkeklerde 19.1 ve kadınlar için 4.0'dır[23]. Dünya çapında ölüm oranı ise (100.000 kişi / yıl başına) 2012'de erkekler için 3.2 iken kadınlar için 0,9 olarak belirlenmiştir[23].

Erkeklerde görülen yüksek oranın çevresel toksinlere maruziyet ve sigara kullanım oranlarının daha yüksek oluşundan kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı 2003 verilerine göre erkeklerde en sık görülen kanserler içerisinde mesane kanseri; akciğer ve mide kanserinden sonra 3. sırada yer almakta ve prostat kanserinden daha sık görülmektedir[24].

Mesane kanseri insidansı ve ölüm oranları; risk faktörleri, tanı yöntemleri, tedavilerin ulaşılabilirliği ve uygulamalarındaki farklılıklar sebebiyle coğrafya ve ülkeler arasında değişiklik göstermektedir. Avrupa, Orta Doğu ve Kuzey Amerika'da daha fazla görülürken, Asya ve Afrika'daki gelişmemiş bölgelerde daha az görülmektedir[25].

En yaygın tipi ürotelyal karsinomdur. Avrupa ve Kuzey Amerika'da %95-97 ürotelyal karsinom; Afrika'da %60-90 ürotelyal karsinom, %10-40 skuamöz hücreli karsinom görülmektedir. Mısır, endemik Schistosoma enfeksiyonu nedeniyle, en sık skuamöz hücreli mesane kanseri görülen ülkedir[26]. Skuamöz hücreli mesane kanserleri ürotelyal kanserlerden daha agresif seyreder.

2.4. ETİYOLOJİ

Tütün kullanımı, karsinojen etkene maruziyet, genetik faktörler, diyet ve spesifik enfeksiyonlar mesane kanserinde rol oynadığı bilinen faktörlerdir.

Tütün en önemli risk faktörüdür. Vakaların yaklaşık %50'sinden sorumlu tutulmaktadır. Sigara dumanına maruziyetin de mesane kanseri riskini artırdığı gösterilmiştir. Sigara dumanında böbrekten atılan ve kanserojen oldukları bilinen aromatik aminler ve polisiklik aromatik hidrokarbonların bulunduğu bilinmektedir.

Vakaların %10'undan aromatik aminler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve klorlanmış hidrokarbonlar sorumludurlar. Mesleki maruziyet yoluyla kansere yol açan bu maddelere en fazla boya, saç boyası, metal ve petrol ürünlerini işleyen endüstri tesislerinde maruz kalınmaktadır. İyonize radyasyon maruziyeti de artan riskle bağlantılı olduğu bilinen bir diğer faktördür.

Mesane kanseri gelişiminde herhangi bir genetik varyasyonun açık rolü gösterilmemiştir. Genetik eğilim, diğer risk faktörlerine yatkınlığa etkisi üzerinden mesane kanseri görülme sıklığını etkilemektedir. Yavaş N-asetil transferaz asetilasyon fenotipine sahip bireylerde saç boyası kullanımının mesane kanseri riskinde artışa neden olması bu etkiye örnektir.

İçme suyunun klorlanmasına bağlı oluşan yüksek trihalometan seviyeleri kanserojen potansiyele sahiptir. İçme suyu ile arsenik maruziyeti, riski arttırdığı gibi sigara içimi ile sinerjik etki oluşturmaktadır.

Parazitik bir trematod olan şiştozomiyazis, tekrarlayan enfeksiyonlara bağlı kronik endemik sistite ikincil mesane kanserine yol açmaktadır ve skuamöz hücreli mesane kanserlerinin en önemli sebebidir.

2.5. PATOLOJİ

Mesane tümörlerinin %90'ını teşkil eden ürotelyal kanserler çoğunlukla papiller yapıdadır. Kalan %10'luk payı skuamöz tümörler, glandüler tümörler, nöroendokrin tümörler, melanositik tümörler, mezenkimal tümörler, hematopoetik ve lenfoid tümörler ve metastaz ile gelen ikincil tümörler teşkil eder.

2009 yılında "Union International Contre le Cancer" (UICC) tarafından onaylanmış olan TNM sınıflaması, 2017 yılında güncellenmiş ancak mesane tümörleri ile ilgili değişiklik yapılmamıştır (Tablo 1).

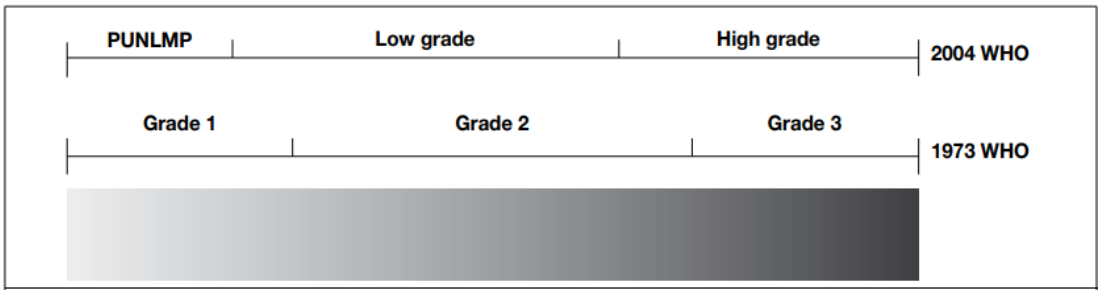
Tablo 1: 2017 mesane kanseri TNM sınıflandırması

T- Primer Tümör
Tx: Primer tümör değerlendirilemedi
T0: Primer tümör kanıtı yok
Ta: İnvaziv olmayan papiller karsinom
Tis: Karsinoma in situ: “flat tümör”
T1: Tümör subepitelyal bağ dokusunu invaze eder
T2: Tümör kası invaze eder T2a: Tümör yüzeyel kası (iç yarı) invaze eder T2b: Tümör derin kası (dış yarı) invaze eder
T3: Tümör perivezikal dokuyu invaze eder T3a: Mikroskopik invazyon T3b: Makroskopik invazyon (ekstravezikal kitle)
T4: Tümör sıradakilerden birini invaze eder: prostatik stroma, seminal vezikül, uterus, vajina, pelvik duvar, abdominal duvar T4a: Tümör prostatik stroma, seminal vezikül, uterus veya vajinayı invaze eder T4b: Tümör pelvik duvar veya abdominal duvarı invaze eder
N- Bölgesel Lenf Nodları
Nx: Lenf nodları değerlendirilemedi
N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1: Gerçek pelviste tek lenf nodu metastazı (hipogastrik, obturator, eksternal iliak veya presakral)
N2: Gerçek pelviste birden fazla lenf nodu metastazı (hipogastrik, obturator, eksternal iliak veya presakral)
N3: Ana iliak lenf nodu veya nodlarına metastaz
M- Uzak Metastaz
M0: Uzak metastaz yok M1a: Bölgesel olmayan lenf nodları M1b: Diğer uzak metastazlar

Mesanenin ürotelyal tümörlerinin sınıflandırılmasında 2016 yılında güncellenen, Dünya Sağlık Örgütünün (DSÖ), "International Society of Urological Pathology" (ISUP) ile beraber oluşturdukları 2004/2016 DSÖ sınıflandırması kullanılmaktadır. 1973 tarihli DSÖ sınıflandırmasına kıyasla farklı bir hasta profili sağlayan bu histolojik sınıflandırmayı değerlendiren bir sistematik "review"de (SR), 2004/2016 sınıflandırmasının rekürrens ve progresyon tahmininde 1973 sınıflandırmasından daha üstün olmadığı gösterilmiştir[27]. Günümüzde iki sınıflandırmanın da kullanımı önerilmektedir (Tablo 2, Şekil 1).

Tablo 2: 1973 ve 2004/2016 DSÖ histolojik sınıflandırması

1973 DSÖ SINIFLANDIRMASI
Grade 1: İyi diferansiye Grade 2: Orta diferansiye Grade 3: Kötü diferansiye
2004 DSÖ SINIFLANDIRMASI (papiller lezyonlar)
PUNLMP: Düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazi Low Grade (LG): Düşük dereceli papiller ürotelyal karsinom High Grade (HG): Yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinom
2004 DSÖ SINIFLANDIRMASI ("flat" lezyonlar)
Malign olmayan lezyonlar Belirsiz malignite potansiyeli olan ürotelyal proliferasyon (Atipi veya papiller görünüm yok) Reaktif atipi (atipi mevcut "flat" lezyon) Önemi bilinmeyen atipi Üretelyal displazi **Malign lezyon** Karsinoma in situ (CIS) (her zaman high grade)



Şekil 1: Tümörlerin DSÖ 1973 ve 2004 histolojik sınıflandırmalarına göre karşılaştırılması

2.5.1 Düşük Dereceli Papiller Ürotelyal Karsinom

Büyük bölümü 1973 DSÖ sınıflandırmasındaki grade 1 veya grade 2 karsinomlara karşılık gelir. "Fibroblast growth factor receptor 3" (FGFR3) mutasyonları PUNLMP ile aynı sıklıkta görülür. %5'inden fazlası yüksek dereceli komponent içerdiğinde yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinom olarak sınıflandırılmaktadır. Erkek/Kadın oranı 3 olup ortalama görülme yaşı 70'tir. Rekürrens oranı %50-70, progresyon oranı %10-13 ve tümöre bağlı mortalite oranı yaklaşık %5'tir[28].

2.5.2. Yüksek Dereceli Papiller Ürotelyal Karsinom

1973 DSÖ sınıflandırmasında bir kısım grade 2 ve grade 3 ürotelyal karsinomlara karşılık gelmektedir. Çekirdekleri pleomorfik, çekirdekçikleri belirgin, mitoz sıktır. Polarite kaybolmuştur. Genellikle komşu mukozal alanlarda CIS mevcuttur. "Human epidermal growth factor receptor 2" (HER2) veya "epidermal growth factor receptor" (EGFR) aşırı ekspresyonu görülür. Progresyon oranı %15-40, tümöre bağlı mortalite oranı yaklaşık %25'tir[28].

2.5.3. Karsinoma in Situ

Mikroskobik ve moleküler düzeyde karsinom özelliklerine sahip hücrelerin normal epitelin bir kısmının veya tamamının yerini almasıyla karakterize olan CIS, yüksek dereceli "flat" ürotelyal karsinomdur. Şiddetli sitolojik atipiyi görmek tanıyı kesinleştirir. Polarite kaybı ve mitozun üst tabakalara kadar uzanması spesifiktir. *Lamina propriada* ödem, vasküler ektazi ve kronik enflamasyon CIS'e eşlik eder. Bu sebeple sistoskopi sırasında gözden kaçabilir veya enflamatuar bir lezyon olarak yorumlanabilir. Sıklıkla multifokaldir, mesane ile eş zamanlı üst üriner traktta, prostatik duktuslarda ve prostatik üretrada da görülebilmektedir.

2.6. TANI

Mesane tümörü tanısında en çok karşılaşılan klinik bulgu ağrısız makroskopik hematüri iken mesane tümörü olan tüm hastalarda mikroskobik hematüri görülmektedir.

Görüntüleme yöntemi olarak bilgisayarlı tomografi (BT) ürografi, intravenöz ürografi (IVU) ve ultrason (US) kullanılabilmektedir. BT ürografi üst üriner sistem tümörleri, çevre dokular ve lenf nodları hakkında daha fazla bilgi vermekte olup üst sistem tümörü riski artmış veya ek patoloji düşünülen hastalarda kullanılmaktadır. IVU, BT ürografiye ulaşılmayan durumlarda bir alternatif olarak geçerliliğini korumaktadır. US, kolay ulaşılabilir ve uygulanabilir olması nedeniyle sıklıkla başvurulan bir görüntüleme yöntemidir. Hidronefrozu ortaya koymak ve mesane içerisindeki kitlelerin görüntülenmesi için kullanılmaktadır. Yine de hematürinin olası tüm nedenlerini ekarte edemediği gibi üst üriner sistem tümörlerinde güvenilir değildir ve BT ürografinin yerini alamaz.

Mesane tümörü tanısında altın standart sistoskopidir. Sistoskopik inceleme eşliğinde tespit edilen lezyonlardan "cold – cup" biyopsi ya da rezeksiyonla alınan numunelenin histolojik incelenmesiyle tanı konulmaktadır.

Mesane tümöründe TUR, doğru tanı ve mevcut lezyonu tamamen ortadan kaldırmak için kritik bir basamak olup hem tanı hem de tedavi olanağı sağlar. Başarılı

bir TUR'yi tanımlamak için belirli basamaklar tanımlanmıştır. Tümör varlığını hastalık riskini öngörecek şekilde tanımlamak, klinik evreleme yapmak, rezeksiyondaki yeterlilik ve var olan komplikasyonların belirtilmesi bu basamakları oluşturur. Rezeksiyon tümörün büyüklüğüne, konumuna ve cerrahın tecrübesine göre "en-bloc" veya birden çok parça şeklinde yapılabilir. Patoloji spesmeninde detrusor kası varlığı rezeksiyon kalitesinin en önemli belirtecidir. Cerrahın tecrübesi de TUR sonuçlarını iyileştiren bir diğer etmen olarak gösterilmektedir.

Standart prosedür olarak sistoskopi ve TUR beyaz ışık altında uygulanmaktadır. Beyaz ışık altında görülemeyen ve atlanabilen lezyonların varlığı yeni görüntüleme yöntemlerinin araştırılmasına neden olmuştur. "Photodynamic diagnosis" (PDD), intravezikal 5-aminolevulinik asit veya hegzaminolevulinik asit verilmesi sonrası menekşe rengi ışık ile yapılan bir sistoskopi uygulamasıdır. Floresan sistoskopi de denen bu yöntemin değerlendirildiği bir meta-analiz, PDD'nin hem endoskopik olarak (%92 vs. %71) hem de patoloji olarak (%93 vs. %65) beyaz ışık sistoskopiden daha yüksek duyarlılığa sahip olduğunu göstermiştir[29]. "Narrow-band imaging" (NBI), normal ürotelyal doku ve vaskülarizasyonu artmış kanser dokusu arasındaki kontrast farkını kullanarak tümör yakalama oranlarını arttırmaktadır.

2.6.1. İkincil Transüretral Rezeksiyon

KİOMK'de ilk TUR sonrası rezidüel tümör riski anlamlı olarak yüksektir. Ta ve T1 HG mesane kanseri olan 8.409 hastanın değerlendirildiği bir SR'de, T1 tümörlerde hastalığın %51 devam ettiği ve %8 düşük evreleme riski olduğu gösterilmiştir[30]. Bir diğer meta analizde ise bu oranlar %58 ve %11 olarak bulunmuştur[31]. İkincil TUR, rekürrenssiz sağkalımı (RFS) artırabilir, BCG tedavisinden sonraki onkolojik sonuçları iyileştirebilir ve ek prognostik bilgi sağlayabilir. Kılavuzlara ikincil TUR, ilk TUR sonrası 2-6 hafta içerisinde uygulanmalıdır. İlk rezeksiyondan 14-42 gün sonra yapılan ikinci bir rezeksiyonun, 43-90 gün sonra yapılan ikinci rezeksiyona kıyasla daha uzun RFS ve progresyonsuz sağ kalım (PFS) avantajı sağladığı gösterilmiştir[32].

2.6.2. Üriner Sitoloji ve Moleküler Belirteçler

Üriner sitoloji günümüzde yaygın olarak kullanılan bir üriner malignite tespit yöntemidir. Doğruluk oranları optimum düzeyde olmadığından, non invaziv malignite tespiti arayışıyla birçok farklı yönteme dayalı yeni üriner belirteçlerin araştırma ve geliştirilmesi devam etmektedir. Kanser hücrelerinde arttığı gösterilen çeşitli proteinlerin ve hücresel antijenlerin veya kanser hücrelerinde görülen genetik değişiklik/anormalliklerin saptanması bu yöntemlerden başlıcalarıdır.

Sitoloji: Üriner sitolojide amaç, idrar ya da mesane yıkama sıvısına dökülmüş tümöral hücrelerin mikroskop altında tespit edilmesidir. Mesane yıkama sıvısı ve diğer eksfolyatif yöntemler ile numune temini, üriner sitolojinin non invaziv olma özelliğini sınırlamaktadır. Yine sistoskopik inceleme ile birlikte yapıldığında mesane kanserinin ilk tanısındaki pratik değeri azalmaktadır. Malignitenin histolojik derecesi, numunenin alınmasındaki zamanlama, spesimen kalitesi ve numunenin elde edilme yöntemi idrar sitolojisinin tanısal değerini etkilemektedir. Üriner sitolojiyi değerlendiren bir SR'de genel duyarlılığı %44, yüksek dereceli tümörlerde ve CIS'de ise %69 ve %78 olarak saptanmıştır[33]. Kişi bağımlı olan bu yöntemde sonuçlar, öznel nitelikte olup, doğruluğu incelemede bulunan patoloğun tecrübesiyle önemli derecede koreledir[34].

2.6.2.1. Nükleer matriks proteini 22 (NMP22): NMP22, hücre çekirdeğinin yapısında bulunan bir protein ailesinin parçasıdır. Normal hücrelere kıyasla malign ürotelyal hücrelerde 20 kat daha fazla bulunur. Mesane kanseri takibinde kullanılmak üzere işenen idrardaki spesifik bir NMP'nin ölçülmesini temel alan iki adet test bulunmaktadır.

2.6.2.2. UroVysion/Floresan in situ hibridizasyon (FISH): Bu test 3., 7. ve 17. kromozomların anöploidisini ve 9p21 lokusundaki kromozom kaybını tespit etmek için tasarlanmış sentromerik problarla boyanan eksfoliye hücrelerin floresan mikroskobu ile incelenmesi esaslı bir testtir.

2.6.2.3. Mesane tümörü antijeni (BTA): BTA testi, monoklonal antikorları kullanarak iki temel membran antijeni olan "human complement factor H-related protein" ve "complement factor H"'yi saptar. BTA testinin mesane kanseri teşhis ve takibi için kullanılan iki formu mevcuttur. BTA STAT testi, dipstick temelli kalitatif

bir hasta başı testtir. BTA TRAK ise ELİSA tabanlı kantitatif bir test olarak geliştirilmiştir.

2.6.2.4. Immunocyt: Sitoloji ile immünofloresan yöntemin kombinasyonu olarak tanımlanabilen immünositokimya esaslı bir testidir. Bu testte idrarda bulunan eksfoliye hücreler izole edilerek floresanla işaretlenmiş 3 adet monoklonal antikor ile (karsinoembriyonik antijene ve müsinlere karşı oluşturulan monoklonal antikorlar) boyanır ve incelenir. İdrar sitolojisine benzer şekilde, test operatör bağımlıdır ve gözlemciler arası yüksek değişkenlik ve uyumsuzluk görülebilir.

2.6.2.5. CxBladder: Beş mRNA fragmanının analizi (HOXA13, CDC2, MDK, CXCR2, IGFBP5) esasına dayanan bir idrar testidir. İdrarda bulunan dökülmüş ürotelyal/malign hücrelerde, belirtilen mRNA fragmanlarının ekspresyon seviyelerini ölçerek işlev görür.

2.6.2.6. Bladder EpiCheck®: Mesane kanseri nüksünün takibi için geliştirilmiş, invaziv olmayan bir testtir. Analiz, mesane kanseri hücrelerindeki yüksek DNA metilasyonu ile ilişkili 15 genomik lokusun DNA metilasyon durumunun saptanmasına dayanmaktadır. Minimum 10 mililitre idrar ile, test güvenilir bir şekilde gerçekleştirilebilmektedir. Genomik DNA, idrar santrifüjü ile elde edilen hücrelerden ekstrakte edilir ve DNA'yı sadece metilasyon olmayan belirli bölgelerden parçalayan, metilasyona duyarlı bir kısıtlama enzimi kullanılarak sindirilir. 15 biyobelirtecin metilasyon durumu daha sonra gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile değerlendirilir ve özel bir yazılım kullanılarak analiz edilir. Sonuç olarak EpiScore adı verilen sayısal bir değer elde edilir. EpiScore değeri 0–100 aralığındadır ve 60'ın üzeri mesane kanseri için pozitif kabul edilir.

BE'nin, düşük dereceli Ta tümörler hariç tutulduğunda; duyarlılığı %91,7, negatif prediktif değeri (NPD) %99,3 ve özgüllüğü %88 gibi yüksek oranlarda bulunmuş, yüksek dereceli tümörlerde testin bir dışlama testi olarak KİOMK takibinde gereksiz sistoskopik girişimleri ve bu girişimlerin sağlık sistemi, hekimler ve hastalar üzerindeki yükü azaltabileceği öne sürülmüştür[21]. Yine BE'nin bir idrar belirteci olarak umut verici olduğunu ve KİOMK takibinde hastaların hayat kalitesini arttırmak;

invaziv girişimleri ve ilgili maliyetleri azaltmak için sitoloji ile kombinasyon halinde kullanılabileceği ile ilgili görüşler mevcuttur[19].

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bağcılar Sağlık Uygulamaları ve Araştırma Merkezi Yerel Etik Kurulundan 05.11.2019 tarih, 2019/10 toplantı no. ve 2019.10.2.01.074 karar no. ile etik kurul onayı alındıktan sonra çalışmaya başlandı. Bu çalışmaya, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bağcılar Sağlık Uygulamaları ve Araştırma Merkezi Üroloji Kliniği'nde Aralık 2019 – Nisan 2021 tarihleri arasında; idrar yolu enfeksiyonu, eş zamanlı ürolitiazis ve diğer maligniteleri olan hastalar çalışma dışı bırakıldıktan sonra, 18 yaş üstünde mesane tümörü nedeniyle takip ve tedavi edilen ve ikincil TUR endikasyonu bulunan 50 hasta dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilen hastalar çalışma hakkında sözlü olarak bilgilendirildikten sonra, yazılı onamları alındı. Hastalardan idrar örnekleri, ikincil TUR'dan bir gün önce, miksiyon ile 1 adet idrar kabına en az 10 mililitre olacak şekilde temin edildi. Alınan idrar numuneleri +4 °C derecede muhafaza edilecek şekilde Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik Laboratuvarı'na ulaştırıldı. Hücre pelletlerinin sağlanması işlemi, idrar temininden sonra azami 5 gün içerisinde gerçekleştirildi. Pelletler azami 14 gün içerisinde analiz edilmek üzere – 20 °C derecede muhafaza edildi ve yedili gruplar halinde analiz edildi.

Hastalar beyaz ışık sistoskopisiyle değerlendirildi. Sistoskopi esnasında saptanan tümör şüpheli alanlar rezeke edildi ve eski rezeksiyon alanlarından ikincil TUR yapıldı. Alınan dokular ayrı ayrı kategorize edilerek içerisinde formol bulunan kaplara konuldu. Tümör şüpheli oluşumların konumu, özellikleri veya şüpheli lezyon yoksa rezeksiyon yeri ve özellikleri belirtilerek patolojiye gönderildi. Patoloji spesimenleri merkezdeki yetkin bir üropatolog tarafından; tümör konumunu, tümör derecesini ve evresini, lenfovasküler invazyonu, olağandışı (varyant) histolojiyi, CIS ve detrusor kası varlığını belirtecek şekilde değerlendirildi ve raporlandı.

Çalışmaya alınan her hastanın demografik verileri, BE verileri ve patoloji sonuçları kaydedildi.

3.1. HÜCRE PELLETİ HAZIRLAMA

İşeme ile alınan idrar örneği laboratuvara geldikten sonra homojen olacak şekilde karıştırıldı. 50 ml'lik bir santrifüj tüpüne 10-50 ml idrar aktarıldıktan sonra oda sıcaklığında (15–25 °C) 1000 Gravite (G)'de 10 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra idrar tüpten uzaklaştırıldı. Ardından pelletin kaldığı tüpe 40ml Phosphate Buffered Saline (PBS) 0.01M pH 7.4 eklendikten sonra tekrar aynı koşullarda santrifüj edildi. Sonrasında PBS tüpten uzaklaştırıldı ve elde edilen pellet tüpleri hemen DNA ekstraksiyonu fazına geçilmeyecek ise soğutucu ünitesinde -20°C'de muhafaza edildi.

3.2. DNA EKSTRAKSİYONU

Protease stock solüsyonu, Buffer NL, Buffer NW1 ve Buffer NW2 preparatları önceden hazırlandı. Hücre pelleti oda sıcaklığında çözüldü ve kullanmadan önce kısa bir süre karıştırıldı. Hücre pellet yıkamasından kalan PBS içinde hücre pelleti tekrar süspansiyon haline getirildi. Ardından pelletin 400µl'si bir mikrosantrifüj tüpüne (1.5 ml veya 2 ml) transfer edildi ve numuneye 20µl protease stock solüsyonu eklendi. Sonrasında 400µl Buffer NL eklenmesini takiben 15 saniye vorteksleyerek karıştıldı. Oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildikten sonra kapağın içindeki damlaları gidermek için kısa süre santrifüj edildi ve numuneye 400µl etanol (96–100%) eklendikten sonra tekrar vorteksleyerek karıştırıldı. Kapağın içindeki damlaları gidermek için kısa süre santrifüj edilmesinin ardından mini spin kolonuna (2 ml'lik bir toplama tüpünde) elde edilen karışımdan 700µl eklendi ve 6000 G'de 1 dakika santrifüjl edildi. Mini spin kolonu 2 ml'lik temiz bir toplama tüpüne yerleştirildi ve filtratın bulunduğu tüp atıldı. Kalan karışıma aynı mini kolon işlemleri tekrar uygulandıktan sonra 500 µl Buffer NW1 eklenerek 1 dakika boyunca 6000 G'de santrifüj edildi. Sonrasında 500µl Buffer NW2 eklenerek 3 dakika boyunca son hızda (17000 G) santrifüj edildi. Her iki işlem sonunda da mini spin kolonu yeni bir 2 ml'lik toplama tüpüne yerleştirildi ve filtratın bulunduğu eski toplama tüpleri atıldı. Kalan karışım 1 dakika boyunca son hızda santrifüj edildikten sonra mini spin kolonu yeni bir 1.5 ml'lik güvenlik kilitli mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi ve filtrat içeren toplama tüpü atıldı. Karışıma 100µl Buffer NE eklendikten sonra 1 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi ve sonra 1 dakika boyunca 6000 G'de santrifüj edilerek

elde edilen filtrat ile elüte DNA elde edildi. DNA sindirme fazına geçilmeyecek numuneler soğutucu ünitesinde -20°C'de muhafaza edildi.

3.3. DNA SİNDİRME

DNA numuneleri (eğer dondurulmuş ise), digestion Buffer, digestion control template, Undigested control (UC) ve no template control (NTC) şişeleri oda sıcaklığında çözüldükten sonra hafifçe karıştırıldı ve kapağın içindeki damlaları gidermek için kısa süre santrifüj edildi. UC numunesinden 100 µl ve NTC numunesinden 100 µl iki ayrı tüpe aktarıldı. Sindirme enzimi buz içerisine yerleştirildi. Sonrasında daha önce belirlenmiş algoritmaya göre digestion buffer, digestion control template ve digestion enzyme kullanılarak sindirme reaksiyonu karışımı hazırlandı. Her DNA numunesine, NTC ve UC numune tüplerine sindirme reaksiyonu karışımından 20 µl eklendi. Tüpler önceden belirlenmiş termal koşullarda ve sürede kuru bir banyoya yerleştirildi ve süre sonunda hazırlanmış olan sindirilmiş DNA tüpleri, gerçek zamanlı PZR adımına geçilmeyecek ise soğutucu ünitesinde -20°C'de dondurularak muhafaza edildi.

3.4. GERÇEK ZAMANLI PZR

Sindirilmiş DNA örnekleri (eğer dondurulmuş ise), PZR karışımları ve Taq DNA polimeraz enzimi oda sıcaklığında tamamen çözüldükten sonra PZR karışımları (8 şişe) ve Taq DNA polimeraz enzimi, belirtilen talimatlara uygun hacim ve sayıda hazırlandı. Yine algoritmalarla belirtilen şekilde sekiz adet 1,5 ml mikrosantrifüj tüpünde A-H şeklinde adlandırılarak analiz karışımları hazırlandı.

Assay mix	Volume of PCR mix	Volume of Taq DNA Polymerase	Total Volume
A	14.5µl x (n+1)*	0.5µl x (n+1)*	15µl x (n+1)*
B	14.5µl x (n+1)*	0.5µl x (n+1)*	15µl x (n+1)*
C	14.5µl x (n+1)*	0.5µl x (n+1)*	15µl x (n+1)*
D	14.5µl x (n+1)*	0.5µl x (n+1)*	15µl x (n+1)*
E	14.5µl x (n+1)*	0.5µl x (n+1)*	15µl x (n+1)*
F	14.5µl x (n+1)*	0.5µl x (n+1)*	15µl x (n+1)*
G	14.5µl x (n+1)*	0.5µl x (n+1)*	15µl x (n+1)*
H	14.5µl x (n+1)*	0.5µl x (n+1)*	15µl x (n+1)*

Şekil 2: PZR öncesi analiz karışımlarının hazırlanma algoritması

0,1 ml strip tüplerine, A-H analiz karışımlarının her birinden 15 µl pipetlendi. Ardından her sindirilmiş DNA örneğinden ve kontrollerden 10 µl pipetlendi.

A	1	9	17	25	33	41	49	57	65
B	2	10	18	26	34	42	50	58	66
C	3	11	19	27	35	43	51	59	67
D	4	12	20	28	36	44	52	60	68
E	5	13	21	29	37	45	53	61	69
F	6	14	22	30	38	46	54	62	70
G	7	15	23	31	39	47	55	63	71
H	8	16	24	32	40	48	56	64	72

Şekil 3: PZR analiz karışımlarının tüp numaraları rotor üzerinde yazan numaralarla eşleşecek şekilde 72 kuyulu rotora yerleştirilme şeması

Strip tüpleri 0,1 ml strip kapakları kullanarak kapatıldıktan ve ilk kapak işaretlendikten sonra strip tüplerini, tüp numaraları rotor üzerinde yazan numaralarla eşleşecek şekilde 72 kuyulu rotora yerleştirildi ve kilitlendi.

NTC	***UC***	*Sample1*	*Sample2*	*Sample3*	*Sample4*	*Sample5*	*Sample6*	*Sample7*
1	9	17	25	33	41	49	57	65
2	10	18	26	34	42	50	58	66
3	11	19	27	35	43	51	59	67
4	12	20	28	36	44	52	60	68
5	13	21	29	37	45	53	61	69
6	14	22	30	38	46	54	62	70
7	15	23	31	39	47	55	63	71
8	16	24	32	40	48	56	64	72

Şekil 4: Hazırlanmış NTC, UC ve 7 adet numunenin 72 kuyulu rotorun Rotor Gene Q cihazına yerleştirilme şeması

Rotor Gene Q system yazılımı açıldıktan sonra, hazırlanan 72 kuyulu rotor Rotor Gene Q cihazına yerleştirildi. Yazılımdaki her bir basamağı tamamlayarak sistem çalıştırıldı ve örnekler için veri taslakları hazırlandı.

3.5. BLADDER EPİCHECK® YAZILIMI İLE ANALİZ

Yazılım cihaza kurulduktan sonra numuneleri temsil eden gerçek zamanlı PZR dosyası şeklindeki veri taslakları uygulama ile birlikte çalıştırıldı ve otomatik olarak analiz edildi.

Bladder EpiCheck® yazılımı, yüklenen gerçek zamanlı PZR dosyalarını otomatik olarak analiz eder. Analiz iki adımda gerçekleştirilir; EpiCheck® çalışma analizi ve numune analizi.

İlk olarak yazılım, EpiCheck® çalışma durumunun iyi olup olmadığını belirler. Çalışma durumu "OK" değilse, yazılım örnekleri analiz etmeye devam etmeyecek ve tümü geçersiz analiz sayılacaktır. EpiCheck® çalışma durumu "OK" ise, yazılım her bir numuneyi analiz etmeye devam edecektir.

Yazılım, her numune için önce örnek kontrollerinin tamam olup olmadığını test eder. Örnek kontrollerinden biri veya daha fazlası "OK" değilse, test geçersiz sayılacaktır. Tüm numune kontrolleri uygunsa, yazılım her bir numuneye bir EpiScore tanımlar. EpiScore'nin 60'a eşit veya üzerinde olması durumunda, hasta "pozitif" (mesane kanseri için yüksek riski belirtir), aksi takdirde "negatif" (mesane kanseri için düşük riski belirtir) olarak tanımlanır.

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Elde edilen verilere ait tanımlayıcı değerler ortalama, standart sapma, sayı ve % frekanslar olarak verildi. Primer ve sekonder girişimler sonucunda elde edilen bulguların EpiCheck® sonuçları ile ilişkisi ve uyumu incelendi. İkincil TUR sonuçları altın standart alınarak EpiCheck® sonuçlarının ikincil TUR sonuçlarında benign tanısı alanları ayırt etme başarıları spesifite ve NPV olarak hesaplandı. İstatistik anlamlılık düzeyi olarak $P < 0,05$ alındı ve hesaplamalarda Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) (versiyon 23.0) programı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. BİRİNCİL VE İKİNCİL TUR SONUÇLARININ İLİŞKİSİ

Çalışmada yaş ortalaması 65,3±9,1 (32 – 80 aralığında) ve 45'i erkek olan toplam 50 hastanın sonuçları incelendi.

Birincil TUR'de tümör evresi Ta olan 10 kişinin ikincil TUR'de 7'si (%70) benign, 3'ü (%30) ise Ta bulundu. Birincil TUR'de tümör evresi T1 olan 40 kişinin ikincil TUR'de 21'i (%52,5) benign, 6'sı (%15) Ta, 8'i (%20) T1, 4'ü (%10) CIS ve 1'i (%2,5) T2 bulundu (Tablo 3).

Tablo 3: Birincil ve ikincil TUR değerlendirme sonuçlarına göre tümör evrelerinin dağılımı

		Birincil Tümör Stage				
		Ta		T1		
		n	%	n	%	n
İkincil TUR Tümör Stage	Benign	7	70,0	21	52,5	28
	Ta	3	30,0	6	15,0	9
	T1	0	0,0	8	20,0	8
	CIS	0	0,0	4	10,0	4
	T2	0	0,0	1	2,5	1
Toplam		10	100,0	40	100,0	50

Birincil TUR sonucunda tümör derecesi low grade olan 2 hastanın ikincil TUR'de 1'i benign ve 1'i low grade bulundu. Ayrıca birincil TUR'de tümör derecesi high grade olan 48 hastanın ikincil TUR'de 27'si benign, 1'i low grade ve 20'si high grade bulundu (Tablo 4).

Tablo 4: Birincil ve ikincil TUR değerlendirme sonuçlarına göre tümör derecelerinin dağılımı

		Birincil tümör Grade				
		Low Grade		High Grade		
		n	%	n	%	n
İkincil TUR tümör Grade	Benign	1	50,0	27	56,3	28
	Low Grade	1	50,0	1	2,1	2
	High Grade	0	0,0	20	41,7	20
Toplam		2	100,0	48	100,0	50

Birincil TUR sonucunda CIS bulunmayan 37 hastada ikincil TUR'de 31 benign patoloji ve 6 CIS tespit edildi. Birincil TUR'de CIS bulunan 13 hastanın 9'unda ikincil TUR'de CIS görülmezken 4'ünde CIS saptandı (Tablo 5).

Tablo 5: Birincil ve ikincil TUR değerlendirme sonuçlarına göre CIS varlığı değerlendirmesi

		Birincil tümör CIS varlığı				
		Yok		Var		
		n	%	n	%	n
İkincil TUR tümör CIS varlığı	Yok	31	83,8	9	69,2	40
	Var	6	16,2	4	30,8	10
Toplam		37	100,0	13	100,0	50

4.2. BLADDER EPİCHECK® SONUÇLARI İLE BİRİNCİL TUR SONUÇLARININ UYUMUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Birincil TUR sonuçlarının dağılımı tablo 6'da belirtilmiştir.

Tablo 6: Birincil TUR sonuçlarının dağılımı

Primer sonuçları		N (n=50)	%
Tümör Evre	Ta	10	20,0
	T1	40	80,0
Tümör Grade	Low Grade	2	4,0
	High Grade	48	96,0
Tümör sayısı	Tek	19	38,0
	2-7	28	56,0
	8 ve üstü	3	6,0
Tümör Boyut	<3 cm	11	22,0
	3 cm ve üzeri	39	78,0
Tümör CIS varlığı	Yok	37	74,0
	Var	13	26,0

Primer tümör evresi Ta ve ikincil TUR patolojisi benign olan 7 vakanın tümünün EpiCheck® sonucu negatif bulundu (özgüllük: %100). Primer tümör evresi Ta ve EpiCheck® sonucu negatif olan 8 kişinin 7'sinin İkincil TUR patolojisi benign bulundu (NPD: %87,5) (Tablo 7).

Primer tümör evresi T1 ve ikincil TUR patolojisi benign olan 21 vakadan 15'inde EpiCheck® sonucu negatif bulundu (özgüllük: %71,4). Primer tümör evresi

T1 ve EpiCheck® sonucu negatif olan 22 vakanın 15'inin ikincil TUR patolojisi benign bulundu (NPD: %68,2) (Tablo 7).

Tablo 7: Primer tümör evresine göre ikincil TUR ve Epicheck® sonuçlarının karşılaştırılması

			Primer Tümör Evre					
			Ta			T1		
			İkincil TUR			İkincil TUR		
			Benign	Malign	Toplam	Benign	Malign	Toplam
EpiCheck® Result	Negatif	n	7	1	8	15	7	22
		Satır içindeki %	87,5	12,5	100,0	68,2	31,8	100,0
		Sütun içindeki %	100,0	33,3	80,0	71,4	36,8	55,0
	Pozitif	n	0	2	2	6	12	18
		Satır içindeki %	0,0	100,0	100,0	33,3	66,7	100,0
		Sütun içindeki %	0,0	66,7	20,0	28,6	63,2	45,0
Toplam		n	7	3	10	21	19	40

Primer tümör evresine göre ikincil TUR ve Epicheck® sonuçlarının CIS varlığı açısından karşılaştırılması tablo 8'de belirtilmiştir.

Tablo 8: Primer tümör evresine göre ikincil TUR ve Epicheck® sonuçlarının CIS varlığı açısından karşılaştırılması

			Primer Tümör Evre					
			Ta			T1		
			İkincil TUR CIS varlığı			İkincil TUR CIS varlığı		
			Yok	Var	Total	Yok	Var	Total
EpiCheck® Result	Negatif	n	8	0	8	21	1	22
		Satır içindeki %	100,0	0,0	100,0	95,5	4,5	100,0
		Sütun içindeki %	88,9	0,0	80,0	67,7	11,1	55,0
	Pozitif	n	1	1	2	10	8	18
		Satır içindeki %	50,0	50,0	100,0	55,6	44,4	100,0
		Sütun içindeki %	11,1	100,0	20,0	32,3	88,9	45,0
Total		n	9	1	10	31	9	40

Primer tümör derecesi high grade ve ikincil TUR patolojisi benign olan 27 vakanın 21'inde EpiCheck® sonucu da negatif bulundu (özgüllük: %77,8). Primer tümör derecesi high grade ve EpiCheck® sonucu negatif olan 28 vakanın 21'inde ikincil TUR patolojisi benign saptandı (NPD: %75) (Tablo 9).

Tablo 9: Primer tümör derecesine göre ikincil TUR ve Epicheck® sonuçlarının karşılaştırılması

			Primer Tümör Derece					
			Low Grade			High Grade		
			İkincil TUR			İkincil TUR		
			Benign	Malign	Toplam	Benign	Malign	Toplam
EpiCheck® Result	Negatif	n	1	1	2	21	7	28
		Satır içindeki %	50,0	50,0	100,0	75,0	25,0	100,0
		Sütun içindeki %	100,0	100,0	100,0	77,8	33,3	58,3
	Pozitif	n				6	14	20
		Satır içindeki %				30,0	70,0	100,0
		Sütun içindeki %				22,2	66,7	41,7
Toplam		n	1	1	2	27	21	48

Primer tümör derecesine göre ikincil TUR ve Epicheck® sonuçlarının CIS varlığı açısından karşılaştırılması tablo 10'da belirtilmiştir.

Tablo 10: Primer tümör derecesine göre ikincil TUR ve Epicheck® sonuçlarının CIS varlığı açısından karşılaştırılması

			Primer Tümör Grade				
			Low Grade		High Grade		
			İkincil TUR CIS varlığı		İkincil TUR CIS varlığı		
			Yok	Total	Yok	Var	Total
EpiCheck® Result	Negatif	n	2	2	27	1	28
		Satır içindeki %	100,0	100,0	96,4	3,6	100,0
		Sütun içindeki %	100,0	100,0	71,1	10,0	58,3
	Pozitif	n			11	9	20
		Satır içindeki %			55,0	45,0	100,0
		Sütun içindeki %			28,9	90,0	41,7
Total		n	2	2	38	10	48

4.3. BLADDER EPİCHECK® SONUÇLARI İLE İKİNCİL TUR SONUÇLARININ UYUMUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

İkincil TUR sonucu benign olan toplam 28 hastanın 22'sinin EpiCheck® sonucu da negatif bulundu (özgüllük: %78,6). EpiCheck® sonuçları negatif olan 30 hastanın 22'sinin ikincil TUR sonuçları benign saptandı (NPD: %73,3). Diğer değerlendirme sonuçları tablo 11 ve tablo 12'de yer almaktadır.

Tablo 11: EpiCheck® sonuçlarına göre ikincil TUR'deki tümör evrelerinin dağılımı

			İkincil TUR Tümör Evre					Toplam
			Benign	Ta	T1	CIS	T2	N
EpiCheck® Result	Negatif	n	22	7	0	1	0	30
		Satıra göre %	73,3	23,3	0,0	3,3	0,0	100,0
		Sütuna göre %	78,6	77,8	0,0	25,0	0,0	60,0
	Pozitif	n	6	2	8	3	1	20
		Satıra göre %	30,0	10,0	40,0	15,0	5,0	100,0
		Sütuna göre %	21,4	22,2	100,0	75,0	100,0	40,0
Toplam		N	28	9	8	4	1	50

Tablo 12: EpiCheck® sonuçlarına göre ikincil TUR'deki tümör derecelerinin dağılımı

			İkincil TUR Tümör Derece			
			Benign	Low Grade	High Grade	Toplam N
EpiCheck® Result	Negatif	n	22	2	6	30
		Satıra göre %	73,3	6,7	20,0	100,0
		Sütuna göre %	78,6	100,0	30,0	60,0
	Pozitif	n	6	0	14	20
		Satıra göre %	30,0	0,0	70,0	100,0
		Sütuna göre %	21,4	0,0	70,0	40,0
Toplam		N	28	2	20	50

İkincil TUR'de CIS saptanmayan toplam 40 hastadan 29'unun EpiCheck® sonucu da negatif bulundu (%72,5). EpiCheck® sonuçları negatif olan 30 hastanın 29'unda (%96,7) ikincil TUR patolojisinde CIS saptanmadı (Tablo 13).

Tablo 13: EpiCheck® sınıflama sonuçlarına göre ikincil TUR'deki CIS varlığı

			İkincil TUR CIS varlığı		
			Yok	Var	Toplam N
EpiCheck® Result	Negatif	n	29	1	30
		Satıra göre %	96,7	3,3	100,0
		Sütuna göre %	72,5	10,0	60,0
	Pozitif	n	11	9	20
		Satıra göre %	55,0	45,0	100,0
		Sütuna göre %	27,5	90,0	40,0
Toplam		N	40	10	50

5. TARTIŞMA

Mesane kanserleri gelişmiş ülkelerde, sık görülen kanserler arasında 7. ve ürogenital sistem kanserleri içerisinde prostat kanserinin ardından 2. sırada yer almaktadır[1]. Yüksek görülme oranı, genellikle tanı anında non-invaziv olması ve iyi prognoz göstermesi ile birlikte sıkı takip protokolü sağlık sistemine hasta yoğunluğu ve ekonomik yük olarak yansımakta ve diğer yandan hasta ve hasta yakınlarında psikososyal sonuçlarıyla olumsuz karşılığını bulmaktadır[4,5].

Günümüzde mesane kanseri tanı ve takibinde altın standart, sistoskopi ve biyopsidir. Sistoskopinin pahalı ve invaziv bir yöntem olmasına ek olarak sağlık sistemine başvuru ve hizmet sağlama açısından getirdiği yoğunluk tanı ve takipte yeni arayışları beraberinde getirmiştir[35]. Yine içinde bulunduğumuz pandemi süreci benzeri olağanüstü koşullarda hastane yatışlarının sınırlanması gibi durumlar, hastalık takibinin ciddi şekilde aksamasına neden olmuştur[36]. Bu da üriner biyobelirteçler gibi non-invaziv tanı ve takip yöntemlerinin klinik işleyişin korunmasında önemli katkılar sağlayabileceği öngörüsünü ortaya çıkarmaktadır. Çalışmamıza konu olan ikincil TUR hastalarının bahsi geçen olağanüstü durumlarda, sistoskopi ve üriner biyobelirteç temelinde oluşturulacak yeni bir algoritmayla operasyonu ertelenebilir ya da tedavinin sonraki basamağına geçilerek zaman kaybı önlenebilir[37,38].

Biyobelirteç araştırmaları, ilaç geliştirme çalışmalarına benzer şekilde kategorize edilir. Bu basamaklar; klinik öncesi keşif çalışmaları, klinik geliştirme ve doğrulama çalışmaları, küçük klinik retrospektif çalışmalar, daha büyük kohortlarda doğrulama çalışmaları (retrospektif veya prospektif, genellikle çok merkezli), prospektif klinik araştırmalar ve diğer klinik senaryolara ve hastalık evrelerini kapsayabilecek olası endikasyonları değerlendiren çalışmalar olarak sıralanabilir[39,40]. Literatürde Bladder EpiCheck® ile ilgili yapılmış çalışmalar, sayı ve çalışma kaliteleri göz önüne alındığında biyobelirteç araştırmalarının gereklilik kriterlerini karşılamış olarak görülmektedir[16,19,21,41,42]. Çalışmamız spesifik bir alt grup çalışması olarak, Bladder EpiCheck® üzerinden biyobelirteç araştırmalarının son basamak ereklerini karşılayabilecek ikincil TUR üzerindeki klinik karar verme gücünü değerlendirerek literatüre anlamlı bir katkı sağlamayı hedeflemiştir.

Belirteç çalışmalarının temel amacı, klinik karar vermeyi uygun maliyetli bir şekilde destekleyen, doğrulanmış bir test geliştirmektir[41]. Belirtecin sadece araştırılan sonuçla istatistiksel olarak anlamlı bağımsız ilişkisini göstermek yeterli değildir[35,39]. Halihazırda mevcut olan klinik kullanıma göre, prognostik veya prediktif doğruluğunun saptanması gereklidir. BCa çevresel ve epigenetik temelli, karmaşık bir alt yapıya sahip heterojen bir hastalıktır[41]. Bu nedenle güvenilir sonuçlar için bu hastalığın potansiyelini ve davranışsal özelliklerini yeterince karakterize edebilen tek bir belirtecin var olması olası değildir. Klinik ve patolojik değişkenlerin, anahtar yolakları içeren kombinasyonlarını bulunduran belirteç panelleri, BCa için doğru risk sınıflandırması ve klinik karar verme açısından umut verici bir yaklaşım olarak öne çıkmaktadır[35]. Bladder EpiCheck®, DNA metilasyonu ile ilişkili 15 genomik lokusun temel alındığı farklı biyobelirteçlerin kombinasyonu olan bir panel test olarak, hastalığın değişken ve birçok varyant içeren epigenetik yapısını kapsamlı şekilde değerlendirme olanağına sahiptir.

Bladder EpiCheck®'in istatistiksel başarısı güncel ve etkili çalışmalarla ortaya konulmuş ve güven verici bir izlenim uyandırmıştır. Wasserstrom ve arkadaşlarının yaptığı validasyon çalışmasında Bladder EpiCheck®, 151/182 kansersiz hastayı doğru teşhis etmiş ve genel özgüllük %83 ve NPD %97 bulunmuştur[43]. Witjes ve arkadaşlarının yaptığı çok merkezli, prospektif çalışmada genel özgüllük %88 (272/309), NPD tüm hasta grubu için %95 olarak saptanmış, Bladder EpiCheck®'in %99 NPD oranı ile yüksek dereceli KİOMK'lerin varlığını dışlayabileceği belirtilmiştir[21]. Trenti ve arkadaşları KİOMK tanılı 243 hasta ile yaptıkları çalışmada genel özgüllüğü %86 ve NPD'yi %83 olarak tespit etmişlerdir[19]. 2020 yılında yayınlanmış bir "review" çalışmasında yüksek dereceli KİOMK öyküsü olan hastalarda Bladder EpiCheck®'in, çok yüksek NPD'si ve yüksek duyarlılığı göz önüne alındığında, sistoskopiler arasındaki aralığı artırmakta yararlı olabileceği belirtilmiştir[41]. Yine Pierconti ve arkadaşları, sitoloji ve Bladder EpiCheck® kombinasyonunun, KİOMK takibinde yüksek dereceli ürotelyal karsinom için şüpheli patolojilerde sistoskopileri azaltma potansiyeline sahip olabileceğini belirtmiştir[44].

İkincil TUR gerekliliğini ve ikincil TUR öncesi tümör varlığını öngörmede moleküler belirteçlerin rolünü araştıran çalışmalar sınırlıdır. Bu konuda idrar

biyobelirteçleriyle yapılmış çalışmalar ise yok denecek kadar azdır. Wentao Liu ve arkadaşlarının birincil TUR spesmenlerinin immünohistokimyasal analizlerinde Ki67, p53, "vascular endothelial growth factor", E-cadherin, ve survivin ekspresyonlarını değerlendirdiği bir çalışmada, panelin rezidüel tümör riski artmış hastaları belirleyebileceği gösterilmiştir[45]. Güncel literatürde idrar biyobelirteçleriyle yapılmış tek çalışmada NMP22'nin ikincil TUR öncesi rezidüel tümör varlığını tespit etmedeki kullanımı değerlendirilmiş, NMP22'nin tek başına özgüllüğü ve negatif prediktif değeri sırasıyla %81 ve %80,2; NMP22 ve sitoloji kombinasyonunda, sırasıyla %79 ve %83,2 bulunmuştur[46].

Çalışmamızda primer tümör derecesi high grade olanlarda Bladder EpiCheck®'in özgüllüğü ve negatif prediktif değeri sırasıyla %77,8 ve %75; KİOMK'lerin tümü değerlendirildiğinde özgüllüğü ve negatif prediktif değeri sırasıyla %78,6 ve %73,3 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar Bladder EpiCheck®'in ikincil TUR öncesinde rezidüel tümör varlığını öngörebileceğini, diğer biyobelirteçler ile kombinasyonunun sistoskopi ve ikincil TUR sayılarını azaltmaya katkı sağlayabileceğini göstermektedir[44,47].

Maliyet çokça tartışılan bir konu olarak literatürde her zaman yerini korumaktadır. Bir prosedürün rutin girişim ve tedavilerde klinik işleyişte yer alabilmesi için "cost effective" olması birincil şartlardandır. Optimal bir tümör belirtecinin temel hedeflerinden biri de maliyettir. Bu hedef, maliyet açısından standart yöntemin üstüne çıkmaması ve karşılanabilir olması olarak tanımlanabilir. Mesane kanseri tanısı alan hastaların yaklaşık %80'i KİOMK'tir. Yüksek riskli vakaların takibi ve tedavisi mesane kanserini en masraflı kanserlerden biri haline getirmektedir[48,49]. Bu nedenle mesane kanserinde maliyeti ortaya koyan ve bu maliyeti düşürmeyi amaçlayan birçok araştırma mevcuttur[4,48-52]. Mesane kanserine bağlı yaşam boyu maliyetin yaklaşık %60'ı tümör takibiyle ilgilidir[48].

İkincil TUR, rezidüel tümör varlığı ya da düşük evreleme riskinden dolayı KİOMK tanısı almış belli bir grup hastaya 2-6 hafta sonra uygulanan ek bir girişim olarak tanımlanabilir[53]. Anestezi altında mesane gözlemi sonrası tümör veya şüpheli oluşum varsa bu oluşumlar, yoksa eski rezeksiyon alanından alınan örnekler patolojiye gönderilir. Merkezimizde 19.03.2020 ve 19.03.2021 arasında spinal anestezi altında

opere edilen, cerrahi prosedür olarak yalnızca <3 cm. TUR yapılan, yoğun bakım ihtiyacı olmayan, postoperatif 1. gününde taburcu edilen mesane tümörü tanılı 8 hastanın preoperatif anestezi hazırlığı dahil edilmeden yapılan maliyet analizinde, tek bir hasta için ortalama maliyetin güncel kur oranıyla yaklaşık 290 Amerikan doları (USD) olduğunu görülmüştür. Toplam maliyet yine güncel kur oranında hasta başına yaklaşık 140 USD olan Bladder EpiCheck® ile değerlendirildiğinde ikincil TUR hastalarının sağlık sistemine olan mali yükünde önemli ölçüde düşüş sağlanacağı öngörülebilir.

KİOMK, yüksek sağkalım oranlarına sahip olması yanında sıklıkla nüks etmesi ve yüksek progresyon riski sebebiyle yapılan sıkı takiplerin beraberinde getirdiği tekrarlayan hasta başvuruları, sistoskopik gözlem ve TUR prosedürleri ile hastaların hayat kalitelerini önemli ölçüde etkilemektedir[54,55]. KİOMK'lerde lokal rekürrensi, daha az invaziv ve yaşam kalitesini düşürmeden yönetmek için birçok seçenek üzerinde çalışılmaktadır[56]. Üriner biyobelirteçlerin işenen idrarda malignite tespiti önermesi üzerinden non-invaziv ve kolay bir yöntem ile hayat kalitesine büyük bir katkı sağlayabileceği öngörülebilir. Bladder EpiCheck®, işenen idrarda maligniteyi değerlendirerek ikincil TUR endikasyonu olan hastalarda bu invaziv basamağı ekarte etmesiyle, girişimin fizyolojik ve psikolojik olumsuz etkilerinin yanı sıra, operasyona ikincil gelişebilecek komplikasyonların da önüne geçerek hasta hayat kalitesini kayda değer ölçüde iyileştirebilir.

6. SONUÇLAR

Çalışmamız ile Bladder EpiCheck®'in ikincil TUR öncesi rezidüel tümör varlığını saptamada ve klinik karar vermede faydalı olabileceği öngörülmüştür. Diğer tümör belirteçleri ile kombinasyonu yüksek özgüllük ve negatif prediktif değerlere ulaşılmasını böylelikle maliyet ve hayat kalitesi yönünden iyileşmeyi sağlayabilir. Salgın, afet gibi olağanüstü durumlarda ikincil TUR endikasyonu olan hastalar için Bladder EpiCheck® temelinde oluşturulacak yeni bir algoritmayla operasyonlar ertelenebilir ya da tedavinin sonraki basamağına geçilerek zaman kaybı ve takipsizlik önlenebilir. Bu görüşlerin desteklenmesi ve Bladder EpiCheck®'in klinik işleyişe dahil olması için daha geniş hacimli, çok merkezli, prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Ploeg, M., Aben, K.K. & Kiemeney, L.A. The present and future burden of urinary bladder cancer in the world. *World journal of urology* **27**, 289-293 (2009).
2. Reuter, V.E. The pathology of bladder cancer. *Urology* **67**, 11-17; discussion 17-18 (2006).
3. Babjuk, M.*, et al.* European Association of Urology Guidelines on Non-muscle-invasive Bladder Cancer (TaT1 and Carcinoma In Situ) - 2019 Update. *Eur Urol* **76**, 639-657 (2019).
4. Svatek, R.S.*, et al.* The economics of bladder cancer: costs and considerations of caring for this disease. *Eur Urol* **66**, 253-262 (2014).
5. Jung, Y.L.*, et al.* The Economic Burden of Bladder Cancer Due to Occupational Exposure. *Journal of occupational and environmental medicine* **60**, 217-225 (2018).
6. Ecke, T.H. Focus on urinary bladder cancer markers: a review. *Minerva Urol Nefrol* **60**, 237-246 (2008).
7. Lokeshwar, V.B. & Soloway, M.S. Current bladder tumor tests: does their projected utility fulfill clinical necessity? *The Journal of urology* **165**, 1067-1077 (2001).
8. Malik, S.N. & Murphy, W.M. Monitoring patients for bladder neoplasms: what can be expected of urinary cytology consultations in clinical practice. *Urology* **54**, 62-66 (1999).
9. Wiener, H.G., Vooijs, G.P. & van't Hof-Grootenboer, B. Accuracy of urinary cytology in the diagnosis of primary and recurrent bladder cancer. *Acta cytologica* **37**, 163-169 (1993).
10. VandenBussche, C.J. A review of the Paris system for reporting urinary cytology. *Cytopathology : official journal of the British Society for Clinical Cytology* **27**, 153-156 (2016).
11. Barkan, G.A.*, et al.* Practice Patterns in Urinary Cytopathology Prior to the Paris System for Reporting Urinary Cytology. *Archives of pathology & laboratory medicine* **144**, 172-176 (2020).
12. van Rhijn, B.W., van der Poel, H.G. & van der Kwast, T.H. Urine markers for bladder cancer surveillance: a systematic review. *Eur Urol* **47**, 736-748 (2005).
13. de Bekker-Grob, E.W.*, et al.* Non-muscle-invasive bladder cancer surveillance for which cystoscopy is partly replaced by microsatellite analysis of urine: a cost-effective alternative? *BJU international* **104**, 41-47 (2009).
14. Lotan, Y.*, et al.* Considerations on implementing diagnostic markers into clinical decision making in bladder cancer. *Urologic oncology* **28**, 441-448 (2010).
15. Kamat, A.M.*, et al.* Prospective trial to identify optimal bladder cancer surveillance protocol: reducing costs while maximizing sensitivity. *BJU international* **108**, 1119-1123 (2011).
16. D'Andrea, D.*, et al.* Diagnostic accuracy, clinical utility and influence on decision-making of a methylation urine biomarker test in the surveillance of non-muscle-invasive bladder cancer. *BJU international* **123**, 959-967 (2019).
17. Chopin, D. & Laurent, J.-C. Monoclonal antibodies in bladder cancer cytology. *World journal of urology* **9**, 75-78 (1991).
18. Tilki, D.*, et al.* Urine markers for detection and surveillance of non-muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* **60**, 484-492 (2011).

19. Trenti, E.*, et al.* Diagnostic predictive value of the Bladder EpiCheck test in the follow-up of patients with non-muscle-invasive bladder cancer. *Cancer cytopathology* **127**, 465-469 (2019).
20. Beukers, W.*, et al.* Stratification based on methylation of TBX2 and TBX3 into three molecular grades predicts progression in patients with pTa-bladder cancer. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* **28**, 515-522 (2015).
21. Witjes, J.A.*, et al.* Performance of the Bladder EpiCheck™ Methylation Test for Patients Under Surveillance for Non-muscle-invasive Bladder Cancer: Results of a Multicenter, Prospective, Blinded Clinical Trial. *European urology oncology* **1**, 307-313 (2018).
22. Andersson, K.E. & Arner, A. Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology. *Physiological reviews* **84**, 935-986 (2004).
23. Ferlay, J.*, et al.* Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International journal of cancer* **136**, E359-386 (2015).
24. Hamzaoğlu, O. & Özcan, U. Turkey Health Statistics 2006. in *Turkish Medical Association Publications* 53-62 (Ankara, 2006).
25. Jemal, A., Siegel, R., Xu, J. & Ward, E. Cancer statistics, 2010. *CA: a cancer journal for clinicians* **60**, 277-300 (2010).
26. Parkin, D.M. The global burden of urinary bladder cancer. *Scandinavian journal of urology and nephrology. Supplementum*, 12-20 (2008).
27. Soukup, V.*, et al.* Prognostic Performance and Reproducibility of the 1973 and 2004/2016 World Health Organization Grading Classification Systems in Non-muscle-invasive Bladder Cancer: A European Association of Urology Non-muscle Invasive Bladder Cancer Guidelines Panel Systematic Review. *Eur Urol* **72**, 801-813 (2017).
28. Epstein, J.I. Diagnosis and classification of flat, papillary, and invasive urothelial carcinoma: the WHO/ISUP consensus. *International journal of surgical pathology* **18**, 106s-111s (2010).
29. Mowatt, G.*, et al.* Photodynamic diagnosis of bladder cancer compared with white light cystoscopy: Systematic review and meta-analysis. *International journal of technology assessment in health care* **27**, 3-10 (2011).
30. Cumberbatch, M.G.K.*, et al.* Repeat Transurethral Resection in Non-muscle-invasive Bladder Cancer: A Systematic Review. *Eur Urol* **73**, 925-933 (2018).
31. Naselli, A.*, et al.* Role of Restaging Transurethral Resection for T1 Non-muscle invasive Bladder Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *European urology focus* **4**, 558-567 (2018).
32. Baltacı, S.*, et al.* Significance of the interval between first and second transurethral resection on recurrence and progression rates in patients with high-risk non-muscle-invasive bladder cancer treated with maintenance intravesical Bacillus Calmette-Guérin. *BJU international* **116**, 721-726 (2015).
33. Mowatt, G.*, et al.* 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 technology assessment (Winchester, England)* **14**, 1-331, iii-iv (2010).
34. Pode, D.*, et al.* Noninvasive detection of bladder cancer with the BTA stat test. *The Journal of urology* **161**, 443-446 (1999).
35. Soria, F.*, et al.* Molecular markers in bladder cancer. *World journal of urology* **37**, 31-40 (2019).

36. Mazzucchi, E.*, et al.* The impact of COVID-19 in medical practice. A review focused on Urology. *International braz j urol : official journal of the Brazilian Society of Urology* **47**, 251-262 (2021).
37. Ribal, M.J.*, et al.* European Association of Urology Guidelines Office Rapid Reaction Group: An Organisation-wide Collaborative Effort to Adapt the European Association of Urology Guidelines Recommendations to the Coronavirus Disease 2019 Era. *Eur Urol* **78**, 21-28 (2020).
38. Heldwein, F.L.*, et al.* A Systematic Review on Guidelines and Recommendations for Urology Standard of Care During the COVID-19 Pandemic. *European urology focus* **6**, 1070-1085 (2020).
39. Bensalah, K., Montorsi, F. & Shariat, S.F. Challenges of cancer biomarker profiling. *Eur Urol* **52**, 1601-1609 (2007).
40. Shariat, S.F.*, et al.* Statistical consideration for clinical biomarker research in bladder cancer. *Urologic oncology* **28**, 389-400 (2010).
41. Mancini, M., Righetto, M., Zumerle, S., Montopoli, M. & Zattoni, F. The Bladder EpiCheck Test as a Non-Invasive Tool Based on the Identification of DNA Methylation in Bladder Cancer Cells in the Urine: A Review of Published Evidence. *International journal of molecular sciences* **21**(2020).
42. Pierconti, F.*, et al.* Methylation study of the Paris system for reporting urinary (TPS) categories. *Journal of clinical pathology* **74**, 102-105 (2021).
43. Wasserstrom, A.*, et al.* MP13-15 MOLECULAR URINE CYTOLOGY – BLADDER EPICHECK IS A NOVEL MOLECULAR DIAGNOSTIC TOOL FOR MONITORING OF BLADDER CANCER PATIENTS. *Journal of Urology* **195**, e140-e140 (2016).
44. Pierconti, F.*, et al.* The combination cytology/epichek test in non muscle invasive bladder carcinoma follow-up: Effective tool or useless expence? *Urologic oncology* **39**, 131.e117-131.e121 (2021).
45. Liu, W.*, et al.* A preoperative marker panel for the prediction of residual tumor and the decision making for repeat transurethral resection. *Urologic oncology* **33**, 165.e169-114 (2015).
46. Balci, M.*, et al.* Use of the nuclear matrix protein 22 Bladder Chek test™ in the diagnosis of residual urothelial cancer before a second transurethral resection of bladder cancer. *International urology and nephrology* **47**, 473-477 (2015).
47. Trenti, E.*, et al.* Comparison of 2 new real-time polymerase chain reaction-based urinary markers in the follow-up of patients with non-muscle-invasive bladder cancer. *Cancer cytopathology* **128**, 341-347 (2020).
48. Al Hussein Al Awamlh, B.*, et al.* A Cost-effectiveness Analysis of Management of Low-risk Non–muscle-invasive Bladder Cancer Using Office-based Fulguration. *Urology* **85**, 381-387 (2015).
49. Botteman, M.F., Pashos, C.L., Redaelli, A., Laskin, B. & Hauser, R. The health economics of bladder cancer: a comprehensive review of the published literature. *PharmacoEconomics* **21**, 1315-1330 (2003).
50. Lee, L.J.*, et al.* Humanistic and Economic Burden of Non-Muscle Invasive Bladder Cancer: Results of Two Systematic Literature Reviews. *ClinicoEconomics and outcomes research : CEOR* **12**, 693-709 (2020).
51. Gerace, C.*, et al.* Cost of illness of urothelial bladder cancer in Italy. *ClinicoEconomics and outcomes research : CEOR* **9**, 433-442 (2017).
52. Green, D.A.*, et al.* Cost-effective treatment of low-risk carcinoma not invading bladder muscle. *BJU international* **111**, E78-84 (2013).
53. Kim, L.H.C. & Patel, M.I. Transurethral resection of bladder tumour (TURBT). *Translational andrology and urology* **9**, 3056-3072 (2020).

54. Cox, E.*, et al.* Effects of Bladder Cancer on UK Healthcare Costs and Patient Health-Related Quality of Life: Evidence From the BOXIT Trial. *Clinical genitourinary cancer* **18**, e418-e442 (2020).
55. Malde, S.*, et al.* A Systematic Review of the Efficacy and Safety of Outpatient Bladder Tumour Ablation. *European urology focus* (2021).
56. Matulay, J.T.*, et al.* Risk-adapted management of low-grade bladder tumours: recommendations from the International Bladder Cancer Group (IBCG). *BJU international* **125**, 497-505 (2020).