

Nükleer matriks protein 22'nin mesane kanserli hastalarda rekürrensleri belirleyebilme yeterliliği

Adequacy of nucleer matrix protein 22 to determine recurrences in patients with bladder cancer

Emin Savaş Kılavuz ¹, Mehmet Tosun ², Ahmet Rıza Uras ³

¹ Nazilli Devlet Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı, es_kilavuz@hotmail.com

² Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

³ Haydarpaşa Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Bölümü Şefi

Özet

Amaç: Transüretal mesane tümörü rezeksiyonu (TUR-M) uygulanan hastalarda Nükleer Matriks Protein 22 (NMP22)'nin rekürrens belirleyebilme yeteneğinin araştırılması.

Gereç ve Yöntem: TUR-M tedavisi uygulanmış 148 hastanın idrarında NMP22 ölçümü yapıldı. Sistoskopi sonuçlarına göre ve mesane kanseri rekürrensi şüphelenilip patolojiye gönderilen vakaların sonuçlarına göre NMP22 testinin duyarlılığı, özgüllüğü, pozitif ve negatif kestirim değeri belirlendi. Ayrıca idrardaki eritrosit ve lökosit düzeylerinin NMP22 testine etkisi araştırıldı.

Bulgular: Duyarlılığı %36,8, özgüllüğü %88, negatif kestirim değeri %90, pozitif kestirim değeri %32 olarak hesapladık. İdrarda lökosit miktarı ile NMP22 değerleri arasında istatistikî bakımdan ilişki tespit ettik ($r=0,237$, $p<0,04$). Eritrosit miktarı ile NMP22 değerleri arasında böyle bir ilişki yoktu ($r=0,04$, $p=0,958$).

Sonuç: TUR-M geçirmiş hastaların takibinde NMP22'nin rekürrensleri belirlemeye katkısı olabilecektir.

Anahtar kelimeler: NMP22, mesane kanseri, TUR-M, sistoskopi

Abstract

Aim: To investigate the ability of nuclear matrix protein 22 (NMP22) to determine recurrence in patients underwent transurethral resection of bladder tumor (TUR-M)

Material and methods: NMP22 measured in urine of 148 patients applied TUR-M. According to cystoscopy and pathology results, the sensitivity, specificity, positive and negative predictive value of NMP22 test was determined in patients suspected bladder cancer recurrency. Furthermore, the effects of urine erythrocyte and leukocyte levels on NMP22 test were investigated.

Results: We calculated the sensitivity %36,8, specificity %88, positive predictive value %32 and negative predictive value %90. There was statically significant relation between urine leukocyte amount and NMP22 ($r=0,237$, $p<0,04$). There was no statically significant relation between urine erythrocyte amount and NMP22 ($r=0,04$, $p=0,958$).

Conclusion: NMP22 may contribute to determine recurrences in follow-up of the patients underwent TUR-M.

Key words: NMP22, bladder cancer, TUR-M, cystoscopy.

Giriş

Mesane kanseri dünyada yaygın olarak görülen ürolojik bir kanserdir. ABD'de erkekler arasında en sık rastlanan dördüncü kanser türü olan mesane kanseri kadınlarda en sık rastlanan sekizinci kanser türüdür. Mesane kanseri erkeklerde kadınlara göre üç kat fazla daha fazla görülür (1). Mesane kanseri görülme sıklığı yaşın ilerlemesi ile birlikte artar ve en sık teşhis edildiği yaş ortalaması 68-69 yaşlarıdır (2). Mesane kanserinin etiolojisinde sigara, anilin, naftilamin, arsenik gibi kimyasal maddeler, bir nematot olan şistozoma suçlanmaktadır (3-7).

Mesane kanserinin tanısında sistoskopi altın standart olarak kabul edilir. Ama invaziv bir yöntemdir. Bu nedenle noninvazive yöntem arayışlarına neden olmuştur. Çeşitli görüntüleme yöntemleri (ultrason, MR, IVP, BT), hematürinin tespit edilmesi, sitoloji erken teşhis ve rekürrenslerin tespiti için kullanılmaktadır. FDA den 1996 yılında onay almış olan nükleer matriks protein 22 (NMP22) testi de bu amaçla kullanılan bir testtir.

NMP22'nin bir parçası olduğu nükleer matriks proteini nükleus çatısını oluşturan, fibrillerden meydana gelmiş, nükleusun içinde nükleusu baştanbaşa saran ağısı bir protein yapısıdır (8, 9). Nükleer matriks proteini doku tiplerine göre farklılık gösterir (10). Nükleer matriks proteini programlı hücre ölümü olan apoptoza giden hücrelerden kana bol miktarda salgılanır. NMP'nin kanserli hasta serumlarında, normal insanların serumundan daha yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir (11). Nükleer matriks proteininin bir üyesi olan nükleer mitotik spindle apparatus protein (NuMa) proteini kanserli dokularda normal dokulara göre on kat fazla bulunur. Bu özelliğine dayanarak NuMa proteininin fraksiyonu olan NMP22 mesane kanserli hastaların teşhisinde tarama testi olarak ve mesane kanserli hastaları izlemede tümör belirteci olarak kullanıma sürülmüştür (12).

Gereç ve Yöntem

17.12.2002-24.03.2003 tarihleri arasında SSK İstanbul Eğitim Hastanesinde kontrol sistoskopiesine alınmış 148 hasta çalışmaya dahil edildi. Ameliyat oldukları tarih ve izlem aralıklarına bakılmaksızın, daha önce patolojik olarak mesane kanseri teşhisi konulmuş,

TUR-M tedavisi olmuş, kontrol protokolüne alınmış hastalar ile idrar yolu enfeksiyonu olan, idrarında eritrosit olan hastalar da çalışmaya grubuna alındı. Hastalara son üç ay içinde kemoterapi uygulanmamış olmasına dikkat edildi.

Dışlama kriterleri olarak; daha önce açık tümör rezeksiyonu uygulanmış olanlar, daha önce üst üriner sistem malignensi tespit edilenler, üriner sistem taşı olanlar, mesane tümörü dışında herhangi bir malignensi olanlar olarak belirlendi. İdrar örnekleri NMP22 stabilizatörü (Matritech, Newton, USA) ile hemen muamele edilerek 3000 devirde 5 dakika santrifüj edildi ve ölçüm süpernatandan yapıldı. NMP22 ölçümleri Immulite 2000 hormon analizör cihazı (DPC, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, USA) ile yapıldı. NMP22 düzeylerinin ölçülmesinde kemilüminsens yöntem kullanıldı.

Kemilüminsens ışınım veren adamantyl dioxetane fosfat esterinin alkali fosfatazla reaksiyona girmesi sonucu ölçülen kemilüminsens ışınım miktarı NMP22 düzeyleri ile orantılıydı. İdrardaki lökosit ve eritrosit düzeyleri Iris 900 UDx (IRIS diagnostics, CA USA) tam otomatik idrar cihazı ile sayıldı.

Bulgular

Hastaların 119 tanesi erkek (%80.4), 29 tanesi kadındı (%19.6). Hastaların arasında en büyük yaş 83, en küçük yaş 24 olarak tespit edildi ve hastaların yaş ortalaması 59,2 olarak ölçüldü. Ortalama yaş cinsiyetler göz önüne alınarak ölçüldüğünde, kadınlarda ortalama yaş 56.07, erkeklerde ortalama yaş 59.82 olarak bulundu.

Hastalara yapılan sistoskopiden sonra bu hastaların 23 ünde sistoskopik olarak mesane tümörü olabileceği düşünüldü ve tümör şüphelenilen bu hastalara TUR-M uygulandı, rezeke edilen örnekler patolojiye gönderildi. Patolojiye gönderilen örneklerden 19'unun patolojik olarak mesane tümörü olduğu tespit edildi. Sistoskopik olarak tümör pozitif olarak değerlendirilip patolojiye gönderilen örneklerden 4 tanesinin patolojik olarak kronik sistit olduğu tespit edildi.

Sistoskopi yapılan bütün hastalardan işlem öncesi idrar örnekleri alındı ve bu idrar örneklerinin içerdikleri NMP22 düzeyleri ölçüldü. Kesim değeri olarak firmanın önerdiği 10U/ml değeri alındı. 148 idrarın 23'ü bu kesim değerinin üzerindedir. Bunların 7 tanesi patolojik ve sistoskopik olarak tümör pozitif olarak değerlendirilen hastalardı. 15 tanesi tümör negatif olarak bulunmuş hastaydı (Tablo 1-2).

Tablo 1. NMP22 değerine göre hastalar (Kesim değeri 10 U/ml)

	Sayı	%
Mesane Tümörü Pozitif	23	15,5
Mesane Tümörü Negatif	125	84,5

Tablo 2. Patoloji ve sistoskopiye göre NMP22

	Sayı	%
Gerçek Pozitif	7	4,7
Gerçek Negatif	114	77
Yanlış Pozitif	15	10
Yanlış Negatif	12	8,1

Sistoskopik olarak tümör pozitif olarak düşünülen ama patolojik olarak kronik sistit bulunan 4 hastanın bir tanesinde NMP22 düzeyi kesim değerinin üzerindedir, 3 tanesi kesim değerinin altındadır. Buna göre NMP22 testinin duyarlılığı:%36.8, özgüllüğü:%88, pozitif prediktiv değeri:%32, negatif prediktiv değeri:%90 olarak hesaplandı.

148 hastadaki NMP22 testinin ortalama değeri 6.3 U/ml olarak bulundu. En büyük NMP22 değeri 76.5 U/ml en küçük NMP22 değeri 0.194 U/ml olarak bulundu. Sistoskopik ve patolojik olarak pozitif bulunmuş 19 hastada NMP22 ortalama değeri 13.7 U/ml olarak bulundu. Bu hastalarda en büyük NMP22 değeri 76.5 U/ml, en düşük NMP22 değeri 0.274 U/ml olarak bulundu.

Sistoskopik olarak tümör negatif olan hastaların ortalama NMP22 değeri 5.21 U/ml bulundu. En büyük NMP22 değeri 45.9 U/ml, en düşük NMP22 değeri 0.194 U/ml olarak ölçüldü. Daha önce yapılan çeşitli çalışmalarda idrarda lökosit ve eritrosit mevcudiyetinin NMP22 düzeylerini artırabileceği ve yanlış pozitif sonuçlara neden olabileceği yönünde bulgular vardı. Bizim uyguladığımız metodu idrardaki lökosit ve eritrositin NMP22 düzeyleri üzerinde anlamlı sayılabilecek bir artışa neden olup, olamayacağını değerlendirdik. Kolaylık olması açısından hastaları büyük büyütmede idrarında lökosit olmayan, 1-5 lökosit olan, 6-10 lökosit olan, 11-20 lökosit olan, 21-100 lökosit olan ve 100ün üzerinde lökosit olan şekilde altı gruba ayırdık (Tablo 3). İdrarda bulunan lökosit miktarının NMP22 düzeylerini etkileyip etkilemediğini araştırdık.

Tablo 3. İdrardaki lökosit sayısına göre hastaların dağılımı ve ortalama NMP22 değerleri

Lökosit sayısı	Hasta sayısı (148)	%	NMP22 DEĞERLERİ
Normal	67	45	3,44
1-5 lökosit	45	30	6,62
6-10 lökosit	11	7	6,24
11-20 lökosit	12	8	11,11
21-100	10	7	16,94
100ün üzeri	3	2	14,31

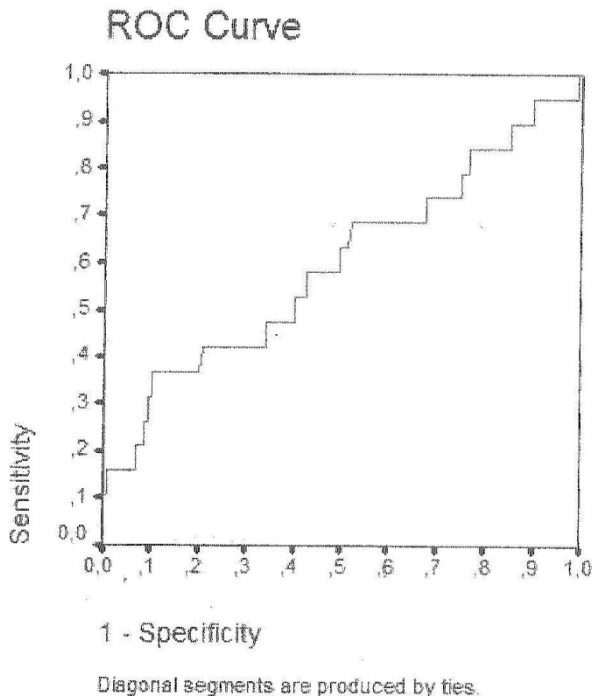
İdrarında büyük büyütmede eritrosit tespit ettiğimiz hastaları da aynı şekilde gruplandırdık (Tablo 4) ve idrardaki eritrosit miktarının NMP22 düzeyleri üzerine etkisini araştırdık. İdrardaki lökosit miktarının artmasının NMP22 düzeylerine olan etkisi Spearman korelasyon testi ile değerlendirildi ve istatistiksel olarak görüldü ki idrarda lökosit miktarının artması

NMP22 düzeylerinde artışa neden oluyordu. ($r=0,237$; $p<0,004$).

Tablo 4. İdrardaki eritrosit sayısına göre hastaların dağılımı ve ortalama NMP22 değerleri

Eritrosit sayısı	Hasta sayısı (148)	%	NMP22 DEĞERLERİ
0 eritrosit	72	48	4,45
1-5 eritrosit	42	28	5,92
6-10 eritrosit	12	8	11,72
11-20 eritrosit	10	7	4,27
21-100 eritrosit	8	5	17,83
>100 eritrosit	4	3	4,80

Bizim yaptığımız çalışmada, idrarda eritrosit miktarı ile NMP22 düzeyleri arasındaki ilişki Spearman korelasyon testi ile değerlendirildi ve istatistiki olarak anlamlı herhangi bir ilişki kurulamadı ($r=0,04$; $p=0,958$). Bu çalışma için hazırlanan ROC eğrisinden kesim değeri hesaplandığında, 3.16 U/ml kesim değeri hesaplandı. Bu kesim değerine göre bulunan duyarlılık ve özgüllük oranları sırasıyla %58 ve %51 şeklindeydi (Şekil 1).



Şekil 1. NMP22 değerlerine göre oluşturulan ROC eğrisi (kesim değeri 3.16 U/ml)

Tartışma

Mesane kanserinde sistoskopinin invaziv bir yöntem olması ve hastalar tarafından zor tolere edilebilen bir işlem olması, araştırmacıları sistoskopinin yerini tutabilecek, bunu başaramasa bile sistoskopi protokolüne alınmış olan hastaların izlem aralıklarını genişletebilecek tümör belirteçleri aramaya yöneltmiştir. Bu amaçla ortaya çıkan birçok yeni tümör belirteci ara-

tırmacıların ilgisini çekmiştir. Bu tümör belirteçlerinden biri de NMP22 adı verilen, nükleer matriksin NuMa fraksiyonunu idrarda tespit eden testtir. NMP22 testinin klinik kullanılabilirliği ile ilgili şu ana kadar birçok çalışma yapılmıştır.

Bizim yaptığımız bu çalışmada da mesane kanseri rekürrenslerinin belirlenmesi amacı ile takip protokolüne alınmış olan olgularda bu testin rekürrensleri belirleyebilme gücünü araştırdık. Bu test için %36.8 duyarlılık %88 özgüllük, %32 pozitif prediktiv değer, %90 negatif prediktiv değer tespit ettik.

Craig Zippe ve arkadaşlarının 1999 yılında yaptıkları mesane kanseri olma riski taşıyan 360 kişide yaptıkları çalışmada NMP22 testinin mesane kanserini tespit edebilmedeki yeterliliğini araştırmışlar ve sonucu sitolojinin bu tür kanser vakalarındaki yeterliliği ile kıyaslamışlardır. NMP22 testinin duyarlılığını %100, özgüllüğünü %85 bulmuşlardır. Bu çalışmanın özgüllüğü bizim bulduğumuz %88 değerinden düşük kalırken, bizim duyarlılığımız tümör pozitif olguları tespit edebilme başarısı yönünden bu çalışmanın ancak üçte bir oranında başarı gösterebilmiştir (13).

Sana Eissa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise NMP22, fibronektin, UBC test ve idrar sitolojisi mesane kanserli olgulardaki teşhis başarısı bakımından birbirleriyle kıyaslanmışlardır (14). Bu çalışmada, bu testlerin idrar değerleri idrardaki kreatinin değerine oranlanarak, idrarların konsantrasyon farklılıklarından doğabilecek yanlışlıkların ortadan kaldırılması amaçlanmıştır. Böylece NMP22 kesim değeri 29 U/mg kreatinin olarak belirlenmiştir. Bu kesim değerine göre duyarlılığı %85, özgüllüğü ise %91.5 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada idrardaki WBC ve RBC sayısı ile NMP22 değerleri arasında bir ilişki tespit edilememiştir. Bizim çalışmamızda idrarda WBC sayısı ile NMP22 değerleri arasında pozitif bir korelasyon kurulurken ($r=0,237$; $p<0,004$) idrarda RBC sayısı ile ilişki tespit edilememiştir ($r=0,04$; $p=0,958$).

Lee E. Ponsky ve arkadaşları yaptıkları çalışmaya 608 hasta dahil etmişler (608 hastanın 79'u daha önce mesane kanseri teşhisi konulup, izlenen hasta); makroskopik, mikroskopik hematurisi ve üriner sistem irritatif semptomları olan bu hasta grupları üzerinde yaptıkları araştırmada duyarlılığı %88,5, özgüllüğü %83,9 olarak bulmuşlardır (15). 52 mesane kanserli hasta teşhis edilmişti ve bunların 46 tanesini NMP22 testi doğru olarak tespit etmişti. Mesane kanseri olmayan 556 hastanın 89'unda NMP22 yanlış pozitif sonuç vermişti. Yanlış pozitif sonuç aldıkları hastalarda, bu duruma neden olabileceğini düşündükleri inflamatuvar hastalıklar, üriner sistem taşıını, yabancı cisim varlığını, diğer genitoüriner sistem kanserlerini ve kullanılan enstrümanları dışladıklarında özgüllük oranı %99,2'ye çıkıyordu. Bizim çalışmamızı oluşturan hasta popülasyonu rekürrens için takip edilen mesane kanserli hastalardı. Biz de inflamatuvar durumlar hariç diğer klinik durumları dışlama kriterlerimiz içine dahil etmiştik. Biz hassasiyeti %36 bulduk ki, bizim

bu duyarlılık değerimiz, daha önce tartıştığımız çalışmalarda olduğu gibi, bu çalışmanın duyarlılık değerleri ile fark gösteriyordu, daha düşüktü. Bu oranın içinde bizim dışlama kriterleri içinde tuttuğumuz klinik olaylar da bulunuyordu. Yanlış pozitif sonuç verebileceğini tespit ettikleri altı klinik durumu dışladıklarında ise özgüllüğü %99,2 buluyorlardı ama bu oranı bulurlarken bizim dışlama kriterleri içerisine almadığımız inflamatuvar olgularda (28 vaka) vardı.

Hans Boman ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmayla 159 mesane kanserli hastayı değerlendirmişlerdi (16). Bunlardan 66 yeni mesane kanseri konulan hasta, kalanı tümör nüks etmiş hastaydı. Kıyaslanan bir başka test olan BTA stat testin özgüllüğüne en yakın özgüllük olması için NMP22 testinin özgüllüğünü yeni tespit edilen mesane kanserli vakalarda %74'te tutmuşlardı. Bunu sağlayabilmek için NMP22'nin kesim değerini 4 olarak almışlar. Yaptıkları çalışmada nükseden tümörle, yeni teşhis edilen mesane tümörlerinin NMP22'nin duyarlılığı bakımından farklılık gösterdiğini tespit etmişler. Yeni tümörlerde duyarlılığı %65 bulurlarken, nükseden tümörlerde 4 U/ml kesim değeriyle %64 özgüllüğe karşılık, %45 duyarlılık tespit edilmişti.

Bu çalışma bizim yaptığımız çalışmaya en benzeyen çalışma idi. Biz de testin çalışma protokolünde önerilen kesim değerini, ROC eğrisi kullanarak uygun olan yeni bir kesim değeri tespit ettik. Bu kesim değerine göre %58'lik bir duyarlılığa karşılık %51'lik bir özgüllük bulduk. Bu durum şekil-1'de gösterilmiştir. İki çalışmanın ortak sonucu bu testin nükseden tümörlerde başarı düzeyinin düşük olduğunu gösteriyordu. Mahnert ve arkadaşlarının yaptıkları 651 vakayı kapsayan çalışmalarında vakaları önce yedi gruba ayırmışlardır (17). Bu grupların 30'unu sağlıklı kişiler, 24 ünü idrar yolu enfeksiyonu geçiren hastalar, 233'nü benign ürolojik hatalıklara sahip hastalar, 36'sını ilk defa mesane kanseri teşhis edilen hastalar, 134'nü tümör rekürrens hastalar, 98'ni mesane kanserli ama tümör negatif hastalar, 150'sini diğer üriner sistem malignensilerine sahip hastalar tarafından oluşturmuştur. İlk defa teşhis edilen mesane tümörlü hastalarla, rekürrensli hastaların duyarlılığını birlikte hesapladıklarında duyarlılığı %41 olarak bulmuşlardır. Özgüllüğü ise %72 olarak bulmuşlardır. Özgüllüğü European Group on Tumor Markers'in tümör belirteçleri için önerdiği %95 düzeye çekmek için benign ürolojik hastalığa sahip olan ve üriner sistem enfeksiyonu olan hastaları referans grup olarak alarak, kesim değerini 75 U/ml olarak uyguladıklarında duyarlılığı %31 olarak bulmuşlardır. Bizim yaptığımız çalışma ile bu çalışmaya kıyasladığımızda, bizim bulduğumuz duyarlılık oranları ile bu çalışmanın bulunduğu duyarlılık oranları arasında önemli bir fark bulunmamakta idi. Bizim bulduğumuz özgüllük oranı ise bu çalışmanın bulunduğu özgüllük oranından yüksekti. Fakat iki çalışma arasında özgüllüğü kıyaslarken bizim benign ürolojik hastalıkları ve diğer ürolojik malignensileri dışladığımız göz önüne alınmalıdır.

Hematuri ve piyürünün NMP22 değerleri üzerinde yanlış pozitif sonuçlara neden olabilecek şekilde etki yaptığını dair çalışmalar mevcuttur. Necmettin Atsu ve arkadaşları yaptıkları çalışma ile idrarda lökosit varlığı ve eritrosit varlığının NMP22 değerleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır (18). Bu çalışmayı 202 idrar materyali ile yapmışlardır. Bu çalışmadaki idrarlardan 30 tanesi sağlıklı kişilerden, 20 tanesi idrar yolu enfeksiyonu geçirmekte olan hastalardan, 32 tanesini mesane kanserli hastalardan toplanmış. Sağlıklı grubun idrarına 0, 10, 100, 1000, 5000 eritrosit olacak şekilde kendilerinden alınan venöz kan ilave edilmiştir. Böylelikle sağlıklı gruptan 150 örnek oluşturulmuştur. Birinci sağlıklı grubun ortalama değeri 4 U/ml iken, bu idrarlara eritrosit eklenmesiyle beraber NMP22 değerlerinde artış gözlenmiştir. Venöz kan eklenen sağlıklı grupla, mesane kanserli grubun NMP22 değerleri kıyaslandığında 0,02 µl, 0,2 µl, ve 2 µl venöz kan eklenen idrarlarda NMP22 değeri istatistiki olarak mesane kanserli grubun NMP22 değerinden daha küçük bulunmuştur. 2 µl daha fazla miktarda idrarlara venöz kan eklendiğinde NMP22 değerlerinin mesane kanserli hastaları geçtiği tespit edilmiştir. Bu sınır ortalama 135 eritrosit sayısına denk gelmektedir. İYE olan, idrarlarında bol miktarda WBC tespit edilen hastalar mesane kanserli hastalarla kıyaslandıklarında, bunların mesane kanserli hastalara benzer şekilde ve hatta mesane kanserli hastalardan daha fazla NMP22 değerlerine sahip oldukları görülmüştür. Biz yaptığımız çalışmada eritrositlerin NMP22 değerleri üzerine anlamlı bir artış yapmadığını bulduk (r=0,04; p=0,958). Oysa lökosit miktarının artması ile NMP22 değerlerinin yüksekliği arasında istatistiki bakımdan anlamlı bir ilişki vardı (r=0,237; p<0,004).

Sonuç olarak çalışmamızda bulduğumuz yüksek yanlış negatif oranlarından ötürü NMP22 testinin takip protokolüne alınarak, düzenli olarak sistoskopi ile takip edilen mesane kanserli hastalardaki rekürrens varlığının değerlendirilmesinde klinik olarak bir yarar sağlayamadığı görüldü. Çünkü çoğu nükseden tümörü tespit edemiyordu. Semptomatik şikayetlerle hastanelere ilk defa başvuran ve mesane kanseri olarak düşünülen vakalarda tarama testi olarak kullanılan NMP22 testinin performansı ile bizim çalışmamız arasında fark bulunmaktadır ve bu durum bizim çalışmanın sonuçlarından ayrı olarak değerlendirilmelidir. Çalışmamızda ayrıca idrardaki lökosit varlığının NMP22 düzeylerine etki ettiğini, ama eritrosit varlığının böyle bir etkisinin olmadığını bulduk.

Kaynaklar

1. American Cancer Society. Cancer facts and figures 2001. Atalanta: American Cancer Society, inc.
2. American Cancer Society. Cancer facts and figures 2000. Atalanta: American Cancer Society, inc.
3. Case RAM, Hosker ME, McDonald DB, et al. Tumors of the urinary bladder in workmen engaged in the manufacture and use of certain dyestuff intermediates in the British chemical industry. I. The role of aniline, benzidine, alphanaphthylamine and beta-naphthylamine. Br J Ind Med 1954; 11: 75-104.

4. Silverman DT, Hartge P, Morrison AS, Devesa SS. Epidemiology of bladder cancer. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1992; 6:1-30.
5. Johansson SL, Cohen SM. Epidemiology and etiology of bladder cancer. *Semin Surg Oncol* 1997; 13: 291-298
6. Smith AH, Goycolea M, Haque R, et al. Marked increase in bladder and lung cancer mortality in a region of Northern Chile due to arsenic in drinking water. *Am J Epidemiol* 1998; 147: 660-669.
7. Tawfik HN. Carcinoma of the urinary bladder associated with schistosomiasis in Egypt. The possible causal relationship. *International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund.* 1987; 18: 197-199.
8. Berezney R, Coffey DS. Identification of a nuclear protein matrix. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1974; 60: 1410-1417.
9. Fey, E. G., Krochmalnik, G. and Penman, S. The non-chromatin substructures of the nucleus: the ribonucleoprotein (RNP)-containing and RNP-depleted matrices analyzed by sequential fractionation and resinless section electron microscopy. *J. Cell Biol.* 1986; 102: 1654-1665.
10. Fey, E. G. and Penman, S. Nuclear matrix proteins reflect cell type of origin in cultured human cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1988; 85: 121-125.
11. Miller TE, Beausang LA, Winchell LF, Lidgard GP. Detection of nuclear matrix proteins in serum from cancer patients. *Cancer Res* 1992; 52:422 .
12. Mc Kenna M, Lei J-D, Whitters E, et al. Specific immunoassay for nuclear matrix apparatus protein22 (NMP22) , using the immulite analyser, poster A-64; American Association for Clinical Chemistry, 54th Annual Meeting and Clinical Lab Exposition, Orlando, FL, US; 2002.
13. Zippe C, Pandrangi L, Agarwal A: NMP22 is a sensitive, cost effective test in patients at risk for bladder cancer. *J Urol.* 1999; 161: 62-65.
14. Eissa S, Swellam M, Sadek M, Mourad MS, Ahmady OE, Khalifa A. Comparative evaluation of the nuclear matrix protein, fibronectin, urinary bladder cancer antigen and voided urine cytology in the detection of bladder tumors. *J Urol* 2002; 168: 465-469
15. Ponsky L, Sharma S, Pandrangi L, Kedia S, et al. Screening and monitoring for bladder cancer: refining use of NMP22. *J Urol* 2001; 162: 75-80
16. Boman H, Hedelin H, Holmang S. Four bladder tumor markers have a disappointingly low sensitivity for small size and low grade recurrence. *J Urol* 2002; 167: 80-3.
17. Mahnert B, Tauber S, Kriegmair M, Nagel D, Holdenrieder S, Hofmann K, Reiter W, Schmeller N and Stieber P: Measurements of complement factor H-related protein (BTATRAK assay) and nuclear matrix protein (NMP22 assay)-useful diagnostic tools in the diagnosis of urinary bladder cancer? *Clin Chem Lab Med* 2003; 41: 104-10
18. Atsu N, Ekici S, Oge OO, Ergen A, Hascelik G and Ozen H: False-positive results of the NMP22 test due to hematuria. *J Urol* 2002; 167: 555-8