
REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

Rolul investigațiilor genetice în stabilirea
protocolului terapeutic și a
prognosticului la pacienții cu cancer
vezical

Doctorand Prunduș Paul

Conducător de doctorat Coman Ioan



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	13
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Epidemiologie și factori de risc ale tumorilor vezicale	17
2. Clasificarea tumorilor vezicale	21
3. Elemente de diagnostic și stadializare în neoplazmele vezicale	22
4. Tratamentul tumorilor vezicale	29
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	
Studiul 1 - Evaluarea rezultatelor oncologice și funcționale obținute prin tratamentul modern al pacienților diagnosticați cu tumori vezicale	47
Studiul 2 - Rolul modificărilor genetice în managementul tumorilor vezicale	66
Studiul 3 - Utilizarea ecografiei cu substanță de contrast în evaluarea cancerului vezicii urinare	81

Cuvinte cheie: tumoră vezicală, recurență, mutațiile FGFR3 și P53, protocol terapeutic și prognostic, ecografie cu substanță de contrast

INTRODUCERE

Tumorile vezicale constituie o problemă majoră de sănătate, cu o incidență în creștere, fiind cea mai frecventă malignitate a tractului urinar.

Scopul prezentei lucrări este: a evalua rezultatele oncologice și funcționale obținute prin tratamentul modern al pacienților diagnosticați cu tumori vezicale; studierea valorii prognostice privind caracterul evolutiv al tumorilor vezicale pe care o au alterațiile genetice care stau la originea proceselor tumorale, mai ales mutațiile p53 și FGFR3; identificarea unor nivele de expresie genică cu valoare de predicție în evoluția tumorală, aprecierea rolului utilizării ecografiei cu substanță de contrast în evaluarea pacientului cu tumoră vezicală.

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Cancerul vezical este cea mai frecventă malignitate a tractului urinar, situându-se pe locul 4 în rândul bărbaților și pe locul 8 în rândul femeilor din punct de vedere al frecvenței de apariție, iar incidența sa este în creștere.

Simptomele și semnele în cazul carcinomului vezical sunt variate și uneori inconstante. Simptomul clasic și cel mai frecvent îl constituie hematuria.

Bilanțul imagistic reprezentat de: Urografia intravenoasă, examenul computer tomografic, ecografia, examenul citologic urinar este util în diagnosticul tumorilor vezicale.

Cistoscopia reprezintă metoda investigațională esențială și obligatorie în diagnosticului tumorilor vezicale.

O perspectivă cu inedită și foarte promițătoare este oferită de evaluarea substratului genetic al tumorilor vezicale.

Tumorile superficiale sunt tratate prin rezecție endoscopică urmată de una sau mai multe instilații endovezicale de chimioterapice sau BCG. 30% dintre pacienți nu vor prezenta recurențe tumorale, însă 70% vor avea cel puțin o recidivă tumorală; 10-20% dintre cazuri vor prezenta progresie la boala infiltrativă.

Tumorile infiltrative necesită gesturi terapeutice mai agresive - cistectomie radicală cu o modalitate de derivație urinară sau radio-chimioterapie adjuvantă.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Studiu 1. Evaluarea rezultatelor oncologice și funcționale obținute prin tratamentul modern al pacienților diagnosticați cu tumori vezicale

Introducere

Cancerul vezical infiltrativ și metastatic rămâne o provocare clinică și științifică pentru urologi și oncologi. Comportamentul său clinic capricios, natura ascunsă a progresiei sale, insuficiența tehnicilor de stadializare clinică, multitudinea intervențiilor terapeutice utilizate pot atrag atenția asupra acestei probleme clinice complexe.

Ipoteza de lucru

Acest studiu își propune să evalueze pacienții după primul TURV efectuat în scop hemostatic, bioptic și reducțional, apreciind eficacitatea tratamentului chirurgical în abordarea terapeutică a cancerului vezical.

Material și metodă

Acest studiu este unul prospectiv efectuat din ianuarie 2010 până în decembrie 2013, pe Secția de Urologie a Spitalului Clinic Municipal Cluj-Napoca. Stadializarea și monitorizarea ulterioară a pacienților după primul TURV au fost efectuate conform Ghidurilor Asociației Europene de Urologie.

Criteriul unic de includere în studiu a fost: prima rezecția endoscopică a formațiunilor tumorale vezicale efectuată în serviciul nostru. Instrumentarul utilizat este reprezentat de turnul de endoscopie și rezectoscopul 24-Fr Karl Storz, Germany.

Criteriile de excludere din studiu au fost: pacienți care nu au urmat protocoalele de supraveghere postoperatorii, pacienții care au refuzat intervenția chirurgicală, precum și cei cu boală metastatică.

Rezultate

156 pacienți au îndeplinit criteriile de includere în studiu și au fost investigați pentru a testa ipoteza prezentului studiu. Un procent semnificativ mai mare de pacienți au fost de sex masculin (statistica $Z = -24.8458$, $p < 0.0001$) proporția F:M fiind aproximativ egală cu 1:6. Pacienții incluși în studiu au avut vârsta cuprinsă între 29 și 89 ani, cu o medie și o deviație standard de 65.56 ± 10.34 . Majoritatea pacienților incluși în studiu erau fumători (69.87% [62.18-76.92]) fără a se evidenția o diferență semnificativă statistic între procentul de fumători de gen feminin și respectiv masculin (statistica $Z = -0.0347$, $p = 0.9723$). Hematuria clinică macroscopică a fost identificată la 68.59% din pacienții incluși în studiu [60.90-75.64] fără a se identifica o diferență semnificativă statistic a prezenței acestui simptom la pacienții de sex masculin comparativ cu cei de sex feminin. Majoritatea pacienților incluși în studiu au prezentat tumori unice (F = 78.26% [56.71-91.12], M = 75.94% [67.67-82.70]). Relația dintre gradul tumoral și gradul de diferențiere tumorală a fost investigată prin aplicarea testului Fisher exact. Ipoteza nulă testată a fost: H_0 Gradul de tumoral și gradul de diferențiere sunt independente. În majoritatea cazurilor, pacienții cu Ta și T1 au avut grad de diferențiere G1, în timp ce pacienții cu T2 au avut cel mai frecvent grad de diferențiere G2. Probabilitatea rezultată la aplicarea testului Fisher exact a identificat așa cum era de așteptat o dependență înalt semnificativă statistic între gradul tumoral

și gradul de diferențiere ($p < 0.0001$). Rebiopsierea vezicală a fost efectuată la 69 pacienți (44.23%, 39.13% din pacienții de sex feminin și 45.11% din pacienții de sex masculin). Intervalul de re-TURV a varia de la 1 la 18 luni, cu o medie de 4.82 ± 4.16 luni. Nu a existat o diferență semnificativă statistic între media de re-TURV la pacienții de sex feminin comparativ cu cei de sex masculin (statistica $t = -0.5432$, $p = 0.5888$). Clasificarea histopatologică re-TURV cea mai frecventă a fost TaG1 la pacienții de gen feminin (44.44%) și respectiv absentă la pacienții de sex masculin (40.00%). La 22 de pacienți, 14.10% (F:M = 2:20) s-a realizat cistectomie radicală cu ureterostomie cutanată. Această intervenție a fost realizată la 2.84 ± 2.22 luni (minim = 1 lună, maxim = 9 luni) de la TUR-V. Neovezica ileala STUDER a fost utilizată la 2 pacienți (0.44%) și intervenția s-a realizat la 1 lună de la TUR-V. La șapte cazuri au fost identificate următoarele grupe de ganglioni afectați. Progresia bolii a fost identificată la 4 cazuri (2.56%) în toate cazurile fiind vorba de pacienți de sex masculin.

Recidiva a fost identificată la 46 de pacienți (~30%), fără a exista diferențe semnificative statistic între genuri.

Nu a existat diferență semnificativă statistic în ceea ce privește spitalizarea sau supravegherea între pacienții de gen feminin și cei de gen masculin. Decesul a fost observat la 2 pacienți (1.28% [0.004-4.48]) de gen masculin, pacienți care au fost urmăriți 14 și respectiv 16 luni

Studiu 2. Rolul modificărilor genetice în managementul tumorilor vezicale

Introducere

Se încearcă optimizarea prognosticului pacienților cu cancer vezical și prin studierea unor markeri tumorali care să permită diagnosticul recidivelor tumorale în fază cât mai precoce, chiar infraclinică.

Ipoteza de lucru

Studiul de cercetare a urmărit evaluarea nivelului de expresie a unui set de gene (TP53, CLU, FGFR3, BCL2) implicate în modularea apoptozei cu rol în protocolul terapeutic și prognostic, în cancerul vezical

Material și metodă

Studiul a fost propus pentru aprobare Comisiei de Etică a Universității și un consimțământ informat a fost obținut din partea tuturor participanților la studiu.

Studiul efectuat a fost prospectiv, derulat în perioada ianuarie - iunie 2011, pe Secția de Urologie a Spitalului Clinic Municipal Cluj-Napoca.

Criteriile de includere în studiu au fost:

- Pacienți noi diagnosticați cu tumoră vezicală, cu prelevarea de material bioptic tumoral în timpul rezecției endoscopice vezicale.
- Extragerea ARN-ului prin metoda clasică (fenol-cloroform) folosind TriReagent® și evaluarea cantitativa spectrofotometrică a ARN-ului.
- Analiza de evaluarea a expresiei genice prin reacția de PCR cantitativ.

Criteriile de excludere din studiu au fost:

- Pacienții care au refuzat semnarea consimțământului de participare la studiu.
Au fost înrolați 14 de pacienți operați în Secția de Urologie a spitalului nostru pentru tumoră vezicală nou diagnosticată și care au semnat consimțământul de participare la studiu. De la fiecare pacient s-au recoltat două fragmente, unul de țesut tumoral respectiv unul de țesut normal din vecinătatea zonei tumorale. În studiul nostru a fost aleasă metoda de recoltare a probelor în soluție de ARN lăcher, acestea fiind ulterior stocate în azot lichid.
Anterior procesării, probelor biologice au fost supuse unui control histologic pentru confirmarea zonelor tumorale respectiv a țesutului normal în cele două eșantioane recoltate.

Rezultate

Media de vârstă a pacienților e 69.2 ani. Din 14 cazuri studiate, 7 pacienți au vârsta cuprinsă între 71-80 de ani, 4 pacienți au vârsta între 61-70 de ani, 2 pacienți au vârsta între 51-60 de ani și un pacient are vârsta între 40-50 de ani. Din cele 14 cazuri studiate, 3 pacienți sunt femei și 11 sunt bărbați, respectiv 21% femei și 79% bărbați. Din 14 cazuri studiate, 12 pacienți sunt cu stadiu tumoral pTa și 2 pacienți cu pT2, respectiv 86% cu pTa și 14% cu pT2. În cadrul studiului, 8 pacienți sunt cu grad tumoral G1(57%), 4 pacienți cu grad tumoral G2 (29%) și 2 pacienți cu grad tumoral G3(14%). Recurența tumorală a fost identificată la 8 pacienți (~57%), fără a exista diferențe semnificative statistic între genuri. Din totalul celor pacienților, 10 dintre aceștia (71%) nu au prezentat pe parcursul supravegherii progresie tumorală. Durata medie de urmărire a pacienților este de 19 luni. Durata variază de la perioada cea mai scurtă de 3 luni la perioada cea mai lungă de 36 de luni. Media dimensiunilor formațiunilor tumorale e de 3.71 cm. Cele 14 cazuri de formațiuni tumorale vezicale urmărite variază ca dimensiune de la 1 cm cea mai mică, la 12 cm la cea mai mare dimensiune. Cele mai multe cazuri (5) au dimensiuni de 2 cm. Majoritatea pacienților incluși în studiu au prezentat o formațiune tumorală vezicală, avem în schimb și un caz cu 12 formațiuni tumorale.

Studiul 3 : Utilizarea ecografiei cu substanță de contrast în evaluarea cancerului vezicii urinare

Introducere: Există mai multe tehnici de investigare care permit detectarea tumorilor vezicale la pacienții cu hematurie. Pe lângă rolul diagnostic, aceste tehnici pot aprecia și extensia loco-regională și prezența bolii metastatice. "Standardul de aur" în diagnosticul tumorilor vezicale este reprezentat de cistoscopie.

Ultrasonografia convențională (US) este cea mai frecvent utilizată metodă imagistică pentru diagnosticul tumorilor vezicale. Diagnosticul ecografic de tumoră vezicală este bazat pe evidențierea unei zone focale de îngroșare a peretelui vezical sau de prezența unei leziuni focale ce protruzionează la nivelul lumenului vezicii.

Ultrasonografia armonică cu substanță de contrast (CEUS) constă din administrarea intravenoasă de agenți de contrast de generația a II – a (Sonovue,

Sonazoid etc). Explorarea CEUS permite urmărirea continuă și în “timp real” a modificărilor de intensitate ale semnalului de la nivelul coloanei sanguine care traversează regiunea de interes, permițând cuantificarea cineticii circulatorii cu reprezentarea grafică sub formă de curbe timp intensitate.

Ipoteză de lucru

Scopul nostru a fost efectuarea unui studiu prospectiv care să stabilească dacă utilizarea CEUS îmbunătățește identificarea cancerului vezical față de US, utilizând ca standard rezultatul histopatologic obținut în urma cistoscopiei.

Material și metodă

Studiul a fost propus pentru aprobare Comisiei de Etică a Universității și un consimțământ informat a fost obținut din partea tuturor participanților la studiu.

Studiul s-a desfășurat din ianuarie 2013 până în iunie 2013. Au fost considerați potențiali participanți la studiu, pacienții internați în serviciul nostru, cărora urma să li se efectueze examinare cistoscopică pentru suspiciunea de tumoră vezicală. În această perioadă în serviciul de urologie al spitalului nostru au fost efectuate un număr de 116 cistoscopii pentru suspiciunea de tumoră vezicală. Dintre acești pacienți, în funcție de disponibilitatea medicilor din departamentul de imagistică și de acordul pacienților la participarea la studiu, s-a selectat un grup de pacienți cărora li s-a efectuat CEAU. Lotul a fost format dintr-un număr de 40 de pacienți.

Explorarea US a fost efectuată de către un examinator experimentat, respectând regulile EFSUMB. S-a utilizat echipamentul General Electric Logiq 7 având un transductor convex, cu frecvențe de 2-5,5 MHz. Examinarea US inițială a constat din evaluarea în modul B, Doppler Color și Power a vezicii urinare, centrată apoi pe formațiunea tumorală.

Statistica versiunea 8 a fost utilizată pentru analiza statistică a datelor.

Reprezentările grafice au fost realizate cu Microsoft Excel.

Caracteristicile pacienților și ale formațiunilor vezicale au fost exprimate ca medii și deviații standard ($m \pm stdev$) pentru variabilele cantitative normal distribuite, mediane și intervalul dintre cvartial 1 și 3 pentru variabilele cantitative care s-au dovedit a nu fi normal distribuite și respectiv ca procente și intervale de confidență de 95% pentru variabilele calitative. Analiza existenței diferențelor semnificative între grupuri s-a realizat cu testul Student pentru variabilele cantitative normal distribuite și respectiv cu testul Z pentru variabilele calitative.

Rezultate: Patruzeci de pacienți ne-consecutivi au fost incluși în studiu (9 femei și 31 bărbați), cu vârste cuprinse între 37 și 84 ani. Cea mai frecventă indicație pentru cistoscopie a fost re-evaluarea pentru tumoră vezicală (18 cazuri, pacienți de gen masculin) urmată de hematurie.

Diagnosticul de cancer de vezică a fost confirmat cistoscopic la 28 pacienți (70% [52.56-82.44]).

La cei 28 pacienți cu tumori vezicale diagnosticate cistoscopic numărul leziunilor a variat între 0 și 8, cel mai frecvent pacienții prezentând 1 leziune.

Dimensiunea maximă a leziunilor identificate a variat între 0.4 cm și 5 cm, cu o medie de 2.38 ± 1.50 cm.

Histopatologic, tumora vezicală a fost identificată în 17 cazuri (42.50% [27.56-59.94]). Majoritatea tumorilor identificate au fost clasificate ca fiind carcinom papilar non invaziv (Ta) respectiv tumoră ce invadează lamina proprie (T1). Cel mai frecvent întâlnit a fost carcinomul slab diferențiat (G3).

Evaluarea cistoscopică a fost efectuată la toți pacienții incluși în studiu. Cistoscopia s-a dovedit a avea sensibilitatea și valoarea predictivă pozitivă maximă, fără a avea nici un rezultat fals negativ.

Ultrasonografia standard(US) și cea cu substanță de contrast (CEUS) au fost efectuate la toți pacienții. Atunci când rezultatele incerte au fost considerate negative, US a avut sensibilitatea 70,79%, specificitatea de 47,83%, valoarea predictivă pozitivă 50%, valoarea predictivă negativă 68,75%, în timp ce CEUS a avut sensibilitate 76,47%, specificitate 82,61%, valoare predictivă pozitivă 76,47%, valoare predictivă negativă 82,61%. În cazul în care rezultatele incerte au fost considerate pozitive, valorile indicilor au fost, pentru US sensibilitate 82,35%, specificitate 39,13%, valoare predictivă pozitivă 50%, valoare predictivă negativă 75%, în timp ce pentru CEUS sensibilitate 100%, specificitate 65,22%, valoare predictivă pozitivă 68%, valoare predictivă negativă 100%.

Un număr de 63 de formațiuni tumorale au fost identificate la cistoscopie.

Dimensiunile acestora au fost cuprinse între 0,4-5cm. Din totalul acestor formațiuni, US nu a evidențiat un număr de 13 formațiuni, toate acestea având dimensiuni sub 1cm. Din cele 13 formațiuni care nu au fost identificate de US, 6 au fost identificate prin CEUS. Cele 7 formațiuni care nu au fost identificate de niciuna din metodele de investigare ecografice, 2 au avut dimensiuni sub 0,5mm, iar celelalte 5 dimensiuni sub 1cm.

Majoritatea formațiunilor tumorale evidențiate endoscopic au fost situate la nivelul pereților vezicali laterali (stâng sau drept). Un număr mai mic de pacienți au prezentat tumori la nivelul colului, domului vezical și a peretelui posterior. Niciunul dintre pacienți nu a prezentat tumoră la nivelul peretelui anterior vezical.

Dintre cele 7 formațiuni tumorale care nu au fost evidențiate ecografic, 2 au fost localizate la nivelul domului, 1 la nivelul peretelui lateral drept și 4 la nivelul peretelui lateral stâng.

Concluzii generale

- necesitatea descoperirii unor noi criterii diagnostice, care să permită identificarea precoce a cancerelor vezicale agresive
- cistectomia efectuată doar când tumora devine infiltrativă duce la scăderea ratei de supraviețuire
- strategiile de conservare a vezicii urinare la pacienții cu cancer vezical local avansat pot avea valoare terapeutică doar în cazuri atent selecționate, monitorizate în

centre de specialitate, cu posibilitatea reevaluării terapeutice și a schimbării strategiei înainte de apariția stadiului metastatic

- ar trebui identificați noi markeri moleculari prognostici pe baza cărora să se încerce stratificarea pacienților cu cancer vezical în diferite grupe în vederea individualizării deciziei terapeutice (intervenție conservativă versus radicală)

- datelor genetice curente dovedesc că subdiviziunea „tumorilor vezicale superficiale” care include pTa, pT1 și CIS, este nepotrivită întrucât substratul lor genetic este diferit, fapt ce duce la capacitate de invazie și metastazare diferite

- CEUS reprezintă o explorare mai sensibilă pentru diagnosticul tumorilor vezicale, comparativ cu US.

- rezultatele obținute prin US depind de mai mulți parametri, printre care se numără: gradul de distensie a vezicii urinare, localizarea, dimensiunea și caracterele morfologice ale leziunii

- sunt necesare studii ulterioare, pe loturi mai mari de pacienți și care să includă și pacienți sănătoși, pentru o mai bună precizare a rolului CEUS în diagnosticul, stadializarea și eventual supravegherea pacienților cu tumori vezicale

- este necesară o abordare multidisciplinară pentru managementul tumorilor vezicale, în vederea îmbunătățirii ratei de supraviețuire.

Originalitatea lucrării

- utilizarea determinării markerilor genetici, FGFR și P53, pentru evaluarea agresivității tumorilor vezicale, la pacienți în România

- stabilirea rolului CEUS în evaluarea pacienților cu tumori vezicale, pentru prima oară în România și printre primele studii în Europa de Est

- posibilitatea continuării cercetărilor începute în această lucrare, în vederea obținerii a noi rezultate, care să permită o abordare superioară a diagnosticului și tratamentului tumorilor vezicale.

PhD THESIS SUMMARY

The contribution of genetic investigation
in establishing the therapeutic protocol
and the prognosis of patients with
bladder cancer

PhD Student Prunduș Paul

Thesis Advisor Coman Ioan



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

PHD THESIS TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	13
LITERATURE	
1. Epidemiology and risk factors of bladder tumours	17
2. Classification of bladder tumours	21
3. Diagnosis and staging elements of bladder neoplasm	22
4. Treatment of bladder tumours	29
PERSONAL CONTRIBUTION	
Survey 1 – Assessment of oncological and functional results obtained by modern treatment of patients diagnosed with bladder cancer	47
Survey 2 – The role of genetic modifications in bladder tumours management	66
Survey 3 – The use of contrast enhanced ultrasound in assessing bladder cancer	81

Key words: bladder tumour, recurrence, FGFR3 and P53 mutations, treatment protocol and prognosis, contrast enhanced ultrasound

INTRODUCTION

Bladder cancer is a major health problem with an increasing incidence, being the most common malignancy of the urinary tract.

The purpose of this paper is the following: to assess the oncological and functional results obtained by modern treatment of patients diagnosed with bladder cancer; to study the prognostic value of the progressive nature of bladder tumours figured by genetic alterations underlying the tumour processes, especially P53 and FGFR3 mutations; to identify certain gene expression levels of predictive value in tumour development, to determine the role of contrast enhanced ultrasound in assessing the patient with bladder cancer.

LITERATURE

Bladder cancer is the most common malignancy of the urinary tract, ranked 4th among men and 8th among women in terms of frequency of occurrence, while its incidence is increasing.

Symptoms and signs of bladder carcinoma are varied and sometimes inconsistent. The classic and the most common symptom is haematuria.

Imaging represented by: Intravenous urography, CT scanning, ultrasound, urinary cytology is useful in diagnosing bladder tumours.

Cystoscopy is the essential and mandatory investigational method in diagnosing bladder tumours.

A novel and very promising perspective is the assessment of the genetic substrate of bladder tumours.

Superficial tumours are treated by endoscopic resection followed by one or more endocervical instillations of chemotherapeutics or BCG. 30% of patients will not present tumour recurrence, but 70% will have at least one tumour recurrence; 10-20% of cases will present infiltrative disease progression.

Infiltrative tumours require more aggressive therapeutic actions - radical cystectomy with urinary derivation or adjuvant chemotherapy.

PERSONAL CONTRIBUTION

Survey 1. Assessment of oncological and functional results obtained by modern treatment of patients diagnosed with bladder cancer

Introduction

Infiltrative and metastatic bladder cancer remains a clinical and scientific challenge for urologists and oncologists. Its capricious clinical behaviour, the hidden nature of its progression, the lack of clinical staging techniques and the multitude of therapeutic intervention used may draw attention to this complex clinical issue.

Working hypothesis

This survey aims to evaluate patients after the first TURV performed for haemostatic, biopsy and reduction purposes, assessing the efficacy of surgery in the therapeutic management of bladder cancer.

Materials and methods

This is a prospective survey conducted from January 2010 to December 2013 within the Urology Department of the Clinical Municipal Hospital from Cluj-Napoca. Patients staging and monitoring subsequent to the first TURV were performed according to guidelines of the European Association of Urology.

The sole criterion included in the study was the first endoscopic resection of bladder tumour formations performed within our service. The instrumentation used is the endoscopic tower and the 24-Fr resectoscope Karl Storz, Germany.

Exclusion criteria from the study were the patients who did not follow postoperative surveillance protocols, patients who refused surgery and those with metastatic disease.

Results

156 patients accomplished the study inclusion criteria and were investigated in order to test the hypothesis of this survey. A significantly higher percentage of patients were male (Z statistics = -24.8458, $p < 0.0001$), while F: M ratio being approximately 1:6. Patients included in the study were aged between 29 and 89 years, with a mean and a standard deviation of 65.56 ± 10.34 . Most patients included in the study were smokers (69.87% [62.18-76.92]) without a statistically significant difference between the percentage of female, respectively male smokers (Z statistics = -0.0347, $p = 0.9723$). The macroscopic clinic haematuria was identified in 68.59% of patients included in the study [60.90-75.64], without identifying a statistically significant difference of the presence of this symptom at male patients compared to female patients. Most patients included in the study had single tumour (F = 78.26% [56.71-91.12], M = 75.94% [67.67-82.70]). The relationship between the tumour degree and the degree of tumour differentiation was investigated by applying the precise Fisher test. The null hypothesis tested was: H_0 tumour degree and differentiation degree are independent. In most cases, the patients with Ta and T1 presented a differentiation degree G1, whereas patients with T2 presented the most common differentiation degree G2. The probability resulting by applying the precise Fisher test identified, as expected, statistically high significant dependence between the tumour degree and the differentiation degree ($p < 0.0001$). The bladder rebiopsy was performed at 69 patients (44.23%, 39.13% of female patients and 45.11% of male patients). The re-TURV period

varied from 1 to 18 months, with a mean of 4.82 ± 4.16 months. There was no statistically significant difference between the re-TURV mean at female patients compared to male patients (t-statistics = -0.5432, $p = 0.5888$). The most frequent histopathological re-TURV classification was TaG1at female patients (44.44%), respectively absent at male patients (40.00%). In case of 22 patients, 14.10% (F: M = 2:20) radical cystectomy was performed with cutaneous ureterostomy. This intervention was performed 2.84 ± 2.22 months (at least = 1 month, up to = 9 months) after the TUR-V. The STUDER ileal neobladder was used at 2 patients (0.44%) and the intervention was performed 1 month after the TUR-V. Seven cases were identified with the following groups of affected lymph nodes affected. The disease progression was identified in 4 cases (2.56%), all involving male patients.

Recurrence was identified at 46 patients (~ 30%) with no statistically significant differences between sexes.

There was no statistically significant difference regarding the hospitalization or monitoring of female or male patients. Death occurred in case of 2 male patients (1.28% [0.004-4.48]) who have been monitored 14, respectively 16 months.

Survey 2. The role of genetic modifications in bladder tumours management

Introduction

The optimisation of bladder cancer prognosis is also taken into account, by studying certain tumour markers allowing the tumour recurrence diagnosis in early, even lab stage.

Working hypothesis

The research survey aimed to assess the expression level of a genes set (TP53, CLU, FGFR3, BCL2) involved in modulating apoptosis related treatment and prognosis protocol in bladder cancer.

Materials and methods

The study was proposed for approval of the Ethics Committee University and an informed consent was obtained from all study participants.

The study was prospective, performed from January to June 2011 within the Urology Department of the Clinical Municipal Hospital from Cluj-Napoca.

The criteria included in the study were the following:

- New patients diagnosed with bladder tumour, the biopsy material removal during bladder endoscopic resection.
 - RNA extraction by the classical method (phenol-chloroform) using TriReagent[®] and spectrophotometric quantitative assessment of RNA.
 - Analysis of gene expression evaluation of by quantitative PCR reaction.
- Exclusion criteria from the study were the following:
- Patients who refused to sign the consent to participate in the study.

14 patients operated within the Urology Department of our hospital for newly diagnosed bladder tumour were enrolled and signed the consent to participate in the study. Two fragments were collected from each patient, one of tumour tissue and one of normal tissue adjacent to tumour area. In our study, the sampling in RNA later solution was chosen, the samples being subsequently stored in liquid nitrogen.

Prior to processing, biological samples were histologically checked to confirm the tumour areas of normal tissue in the two samples collected.

Results

The average age of patients is 69.2 years. Out of 14 cases studied, 7 patients are aged between 71-80 years, 4 patients between 61-70 years, two patients between 51-60 years, and one patient is aged between 40-50 years. Of the 14 cases studied, three patients are women and 11 are men, respectively 21% women and 79% men. Out of 14 cases studied, 12 patients present tumour stage pTa and 2 patients pT2, respectively 86% pTa and 14%, pT2. In this survey, 8 patients present tumour grade G1 (57%), 4 patients tumour grade G2 (29%) and 2 patients tumour grade G3 (14%). Tumour recurrence was identified at 8 patients (~ 57%) with no statistically significant differences between sexes. Out of the patients, 10 of them (71%) showed no tumour progress during monitoring. The mean duration of patients monitoring is 19 months. The duration ranges from the shorter 3-month period to the longest 36 months period. The average size of tumour formation is 3.71 cm. The 14 cases of bladder tumour formation monitored range in size from 1 cm - the lowest to 12 cm - the greatest dimension. Most of the cases (5) have a size of 2 cm. Most patients in the study had a bladder tumour, we have instead a case of 12 tumour formations.

Survey 3 : The use of contrast enhanced ultrasound in assessing bladder cancer

Introduction

There are several investigative techniques that allow the detection of bladder tumours at patients with haematuria. The "Gold standard" in the diagnosis of bladder tumours is the cystoscopy.

Contrast enhanced ultrasound with contrast dye (CEUS) consists in applying intravenous contrast agents of 2nd generation (Sonovue, Sonazoid). CEUS scan allows continuous and in "real time" monitoring of signal intensity changes of the blood column crossing the region of interest.

Working hypothesis

Our aim was to perform a prospective study to determine whether the use of CEUS improves the identification of bladder cancer compared to the US, by using the standard histopathological result of the cystoscopy.

Materials and methods

The study was proposed for approval of the Ethics Committee University and an informed consent was obtained from all study participants.

The study was performed from January to June 2013. Patients hospitalized in our service, who were to perform cystoscopy examination for the suspicion of bladder tumour were considered possible study participants. During this period, 116 cystoscopies for the suspicion of bladder tumour were performed within the urology service of our hospital. Among these patients, depending on the availability of physicians of the imaging department and on the patients' agreement to participate in the study, a group of patients was selected in order to perform CEAU. The group consisted of 40 patients.

The US scan was performed by one experienced examiners, observing the EFSUMB rules. They used General Electric Logiq 7 equipment with a convex transducer with frequencies from 2 to 5.5 MHz. The US initial scan consisted in bladder evaluation in B mode, Doppler Color and Power, subsequently focused on tumour.

Statistics Version 8 was used for statistical analysis

The graphical representations were performed in Microsoft Excel.

The characteristics of patients and of formations of interest were expressed as means and standard deviations ($m \pm stdev$) for normally distributed quantitative variables, median and range between 1 and 3 quartile for quantitative variables that did not show to be normally distributed and respectively as percentages and 95% confidence intervals for qualitative variables. The analysis of significant differences between groups was performed with Student test for normally distributed quantitative variables and respectively with Z test for qualitative variables.

Results

Forty non-consecutive patients were included in our study (9 women and 31 men), aged between 37 and 84 years. The most common indication for cystoscopy was the re-assessment for bladder tumour (18 cases, male patients), followed by haematuria.

The bladder cancer diagnosis was confirmed by cystoscopy in case of 28 patients (70%) [52.56-82.44].

In case of these 28 patients with bladder cancer diagnosed by cystoscopy, the number of lesions ranged from 0 to 8, most commonly in case of patients presenting one lesion. The maximum size of lesions identified varied between 0.4 cm and 5 cm, with an average of 2.38 ± 1.50 cm.

Histopathologically, the bladder tumour was identified in 17 cases (42.50% [27.56-59.94]). Most tumours identified were classified as non-invasive papillary carcinoma (Ta), respectively tumour invading lamina propria (T1). The most frequent was the lower-grade differentiated carcinoma (G3).

Cystoscopy evaluation was performed to all patients included in the study. Cystoscopy was shown to have the highest sensitivity and positive predictive value, without any negative false result.

Standard ultrasonography (US) and the sonography with contrast dye (CEUS) was performed to all patients. When uncertain results were considered negative, the US was 70.79% sensitive, 47.83% specific, presented 50% positive predictive value, and 68.75% negative predictive value, while CEUS was 76.47% sensitive, specificity 82.61% specific, presented 76.47% positive predictive value and 82.61% negative predictive value.

In case uncertain results were considered positive, the index values were the following: for US, 82,35% sensitivity, 39,13% specificity, 50% positive predictive value and 75% negative predictive value, while for CEUS, 100% sensitivity, 65,22% specificity, 68% positive predictive value and 100% negative predictive value

The cytосcopy found 63 tumour formations.

Their size was between 0.4 - 5 cm. Out of these formations, the US did not reveal a number of 13 parties, all below 1 cm size. Out of these 13 formations that have been not been identified by US, 6 were identified by CEUS. From those 7 formations not identified by any of the ultrasound investigation methods, 2 were less than 0.5 mm in size, while the other five dimensions were less than 1 cm.

Most of tumour formations endoscopically highlighted were located in the lateral bladder wall (left or right). A smaller number of patients had tumours in the cervix, bladder dome and posterior wall. None of the patients had tumours in the anterior wall of bladder.

Among the seven tumour formations not identified by ultrasound, 2 were located in the dome, 1 in the right lateral wall and 4 in the left lateral wall.

Conclusions

- is necessary to discover new diagnostic criteria to asses the bladder cancer aggressivity
- to perform cystectomy when the tumour becomes infiltrative, has a derogatory impact on survival
- bladder preservation strategies at patients with locally advanced bladder cancer may have therapeutic value only in carefully selected cases, in specialized centres, with the possibility of therapeutic reassessment and strategy modification before the metastasis advent
- new prognostic molecular markers based on which to try to stratify patients with bladder cancer in different groups in view of individualization of therapeutic decision (conservative versus radical intervention) are needed
- actual genetic data prove, that the subdivision "superficial bladder tumours" including pTa, pT1 and CIS is inappropriate, as their genetic substrate is different; this dictates their different behaviour regarding the ability of invasion and metastasis
- CEUS represents a more sensitive exploration (76.47%) for the diagnosis of bladder tumours that US

- the US results depend on several parameters, among which: the distension degree of the bladder, the location, size and morphology of the lesion
- further studies performed on larger groups of patients, including healthy patients, are needed to further clarify the role of CEUS in the diagnosis, staging and eventually the management of patients with bladder tumours.

Thesis originality

- use of genetic markers, FGFR and P53, for evaluation of bladder tumour agresivity, in romanian patients
- to establish CEUS roll in bladder tumours evaluation, for the first time in Romania, and one of the first in Estern Europe
- the posibility to continue the work started in this thesis, in order to provide a better way for the diagnostic and treatment of bladder tumours.