

ОЦЕНКА СПЕКТРА МОЧЕВЫХ И СЫВОРОТОЧНЫХ БИОМАРКЕРОВ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ СТАДИИ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

В. М. Попков — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, ректор, заведующий кафедрой урологии, доктор медицинских наук; **А. Н. Понукалин** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, доцент кафедры урологии, кандидат медицинских наук; **Н. Б. Захарова** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, заведующая ЦНИЛ, профессор, доктор медицинских наук.

ASSESSMENT OF RANGE OF URIC AND SERUM BIOMARKERS IN DETERMINATION OF BLADDER CANCER SEVERITY

V. M. Popkov — Rector of Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Head of Department of Urology, Doctor of Medical Science; **A. N. Ponukalin** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Urology, Assistant Professor, Candidate of Medical Science; **N. B. Zakharova** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Head of Central Scientific Research Laboratory, Professor, Doctor of Medical Science.

Дата поступления — 01.10.2013 г.

Дата принятия в печать — 25.11.2013 г.

Попков В. М., Понукалин А. Н., Захарова Н. Б. Оценка спектра мочевых и сывороточных биомаркеров при определении стадии рака мочевого пузыря // Саратовский научно-медицинский журнал. 2013. Т. 9, № 4. С. 735–740.

Цель: установить эффективность спектра мочевых и сывороточных биомаркеров рака мочевого пузыря для диагностики и прогноза риска развития рецидива заболевания. **Материал и методы.** Проведено исследование уровня ТРА и TPS, VEGF в сыворотке крови, UBC в моче у 176 человек, среди которых 135 больных раком мочевого пузыря (РМП). Группу сравнения составили 16 пациентов (больные циститами). Контрольную группу составили 25 практически здоровых мужчин. У 75 пациентов был немышечно-инвазивный РМП (Ta-1N0M0), а у 60 мышечно-инвазивный РМП (T2-4N0-1M0-1). Пациентам с НМИРМП (n=75) выполнена ТУР стенки мочевого пузыря с опухолью, а больным с МИРМП (n=60): 57 выполнена цистэктомия, трем паллиативные операции. **Результаты.** Установлен статистически достоверный рост содержания ТРА, TPS в сыворотке крови и UBC в моче у больных немышечно-инвазивным РМП по сравнению с больными в группах контроля и сравнения. Отмечен подъем содержания UBC в моче больных данной группы с рецидивом опухолевого роста в течение года после ТУР. В сравнении с цитологическим исследованием осадка мочи молекулярные маркеры РМП (мочевой — UBC и сывороточные ТРА, TPS) обладают большей диагностической чувствительностью, позволяют подтвердить наличие заболевания, провести диагностику стадий внутриорганной и экстраорганной инвазии. Дополнительным прогностическим сывороточным маркером при РМП можно считать увеличение уровня VEGF в сыворотке крови. **Заключение.** Включенное в диагностический процесс в нашей клинике исследование онкомаркеров у всех больных РМП показало, что выявление НМИРМП повысилось с 18,1% в 2006 г. до 55,6% в 2011 г. Выбранный адекватный стадии объем комплексного лечения позволил снизить рецидивы и летальность у больных РМП в первые два года с 32 до 15,5%.

Ключевые слова: мышечно-инвазивный рак мочевого пузыря, онкомаркеры, цитокератины, фактор роста эндотелия сосудов.

Popkov V. M., Ponukalin A. N. Zakharova N. B. Assessment of range of uric and serum biomarkers in determination of bladder cancer severity // Saratov Journal of Medical Scientific Research. 2013. Vol. 9, № 4. P. 735–740.

Purpose: to establish efficiency of a range of uric and serum biomarkers of bladder cancer for diagnostics and the prognosis of risk of development of disease recurrence. **Material and methods:** TPA and TPS, VEGF level research in blood serum, UBC in urine in 176 people, among which 135 patients with bladder cancer (RMP) have been conducted. Group of comparison has included 16 patients (patients with cystitis). The control group has been made of 25 almost healthy men. 75 patients had non-muscle invasive RMP (Ta-1N0M0). **Results.** It has been statistically determined that reliable growth of TPA, TPS in blood serum and UBC in urine in patients with non-muscle invasive RMP in comparison with patients in groups of control and comparison has been established. The increase of UBC in urine of patients of this group with recurrence of tumoral growth within a year has been noted. In comparison with cytological research of urine sedimentation, molecular markers of RMP (the uric UBC and serum TPA, TPS) possess diagnostic sensitivity, allow to confirm the presence of disease, to carry out diagnostics of stages of organ and extra invasion. RMP is possible to consider as an additional prognostic serum marker increase in the VEGF level in blood serum. **Conclusion.** Inclusion in diagnostic process in the clinical research of biomarkers showed that identification of NMIRMP increased from 18,1% in 2006 to 55,6% in 2011. The chosen volume of complex treatment allowed to reduce recurrence and lethality in the first two years from 32 to 15,5%.

Key words: muscle invasive bladder cancer, oncomarker, cytokeratins, growth risk factor of endothelium of vessels.

Введение. Рак мочевого пузыря (РМП) относится к наиболее часто встречающимся злокачественным новообразованиям мочевыводящих путей. Характерной особенностью РМП является частое рецидиви-

рование и склонность к метастазированию при мышечно-инвазивных (МИРМП) стадиях заболевания [1, 2]. Показано, что в результате радикальной терапии поверхностного рака, в отличие от мышечно-инвазивного, часто удается сохранить мочевой пузырь, обеспечив больным более высокое качество жизни. Выживаемость пациентов с РМП напрямую зависит

Ответственный автор — Захарова Наталия Борисовна
Адрес: 410053, г. Саратов, ул. Рабочая, 40/60, кв. 159.
Тел.: +79093360261.
E-mail: lipidgormon@mail.ru

от стадии его выявления [3]. Поэтому своевременная ранняя диагностика опухолей мочевого пузыря, правильная оценка их распространенности и злокачественности имеют решающее значение как для выбора адекватного метода лечения, так и для прогноза развития данного заболевания. Однако клинические проявления ранних стадий РМП неспецифичны и часто совпадают с симптомами воспалительных заболеваний мочеполовой системы. Онкопатология мочевого пузыря в 80–90% случаев сопровождается макро- и микрогематурией, однако степень гематурии не коррелирует со стадией болезни, поэтому позволяет выявить РМП только на поздних стадиях развития [4, 5].

Ультразвуковое исследование и ряд других инструментальных методов, применяемых для выявления и мониторинга опухолей мочевого пузыря дают пока еще довольно высокий процент диагностических ошибок. Одним из основных методов диагностики РМП остается цистоскопия и цитологическое исследование осадка мочи, при котором опухолевые клетки обнаруживаются лишь у 54% обследуемых больных. Диагностическая чувствительность цитологических и гистологических исследований мазков и биоптатов опухолей мочевого пузыря не превышает 60% [6, 7].

Таким образом, разработка новых методов неинвазивной диагностики РМП, позволяющих выявлять его ранние стадии, осуществлять оценку злокачественности опухолей, проводить их мониторинг и прогнозировать дальнейшее развитие, является актуальной проблемой. Важным аспектом является также их применение в качестве дополнительных показателей при выборе тактики адекватной терапии и оценки ее эффективности.

В качестве биохимических маркеров злокачественных опухолей мочевого пузыря к настоящему времени исследованы онкоантигены, маркеры пролиферации и ангиогенеза, регуляторы клеточного цикла, рецепторы клеточной адгезии, протеазы внеклеточного матрикса и базальной мембраны, пептидные факторы роста и другие биомолекулы [3, 8, 9].

Показано, что в качестве маркера, свидетельствующего об активном развитии РМП, может быть успешно использован фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor — VEGF). Содержание VEGF в сыворотке крови больных коррелирует с плотностью микрососудов в опухолевой ткани и с клинико-морфологическими признаками данного заболевания [10]. При немышечно-инвазивной форме рака повышение концентрации VEGF связано с активацией процесса опухолевого роста. При инвазивном РМП высокий уровень этого фактора у больных в дооперационный период являлся предиктором рецидива заболевания после цистэктомии [11]. Однако интенсивная продукция VEGF, сопровождающая активный ангиогенез, характерна не только для развития РМП, но и других солидных опухолей, а также при ишемии сосудов, характерной для многих других заболеваний [11, 12].

В ряде исследований показано, что для диагностики ранних стадий опухолей мочевого пузыря могут быть использованы онкоассоциированные цитokerатины (ЦК) — структурные белки промежуточных филаментов цитоскелета эпителиальных клеток [13]. Группа ЦК включает 20 различных белков, которые при разрушении клеток и в результате протеолиза в виде растворимых полипептидных фрагментов поступают в кровяное русло, а также в просвет моче-

вого пузыря [5]. Показано, что состав цитокератинов в уротелии уникален: так, ЦК 7, 8 и 13 обнаруживаются только базальном слое, ЦК 20 в поверхностных зонтичных клетках, а ЦК 18 и 19 содержатся во всех клеточных слоях [14]. Увеличение количества злокачественных опухолевых клеток мочевого пузыря и их внедрение в более глубокие слои уротелия приводят к изменению спектра растворимых фрагментов цитокератинов у больного [7]. Это послужило основанием для использования данных полипептидов в качестве биомаркеров для ранней диагностики РМП [14].

В настоящее время выпускается ряд зарубежных коммерческих тестов для количественного анализа онкомаркеров данного типа в крови и моче. Тканевый полипептидный антиген (tissue polypeptide antigen — TPA), содержащий растворимые фрагменты цитокератинов 8 и 18, а также тканевый полипептид-специфический антиген (tissue polypeptide-specific antigen — TPS), представленный ЦК 18, определяют в сыворотке крови обследуемых лиц. Для исследования антигена опухоли мочевого пузыря (— UBC) смесь ЦК 8 и 18, а также фрагмента 21–1 цитокератина 19 (cytokeratin fragment — CYFRA 21–1) используют мочу больных. Несомненным достоинством диагностики РМП с помощью количественного определения этих онкомаркеров является более высокая чувствительность, чем при цитологическом исследовании мочевого осадка. Кроме того, анализ онкомаркера у одного и того же больного может быть проведен многократно для мониторинга развития опухоли, выявления ее прогрессии или рецидива с целью принятия адекватных клинических решений.

Основным недостатком использования цитокератинов для диагностики РМП пузыря является их недостаточная специфичность. Показано, например, что уровни TPA и TPS повышаются при раке молочной железы, опухолях желудочно-кишечного тракта, головы, шеи, а также воспалительных заболеваниях легких, печени и урогенитального тракта [4, 14]. Поэтому положительные результаты определения данных онкомаркеров у пациентов с подозрением на РМП требуют назначения уточняющих цистоскопических и гистологических исследований, что существенно ограничивает их применимость в клинике. Опубликованы данные, что UBC и CYFRA 21–1 обладают большей специфичностью [13], однако в целом на сегодняшний день биохимического маркера, позволяющего надежно выявлять опухоли мочевого пузыря на ранних стадиях и проводить мониторинг их развития, пока не найдено.

Одним из перспективных подходов к повышению эффективности диагностики рака может быть исследование комплекса различных онкомаркеров [1, 4, 10].

Цель: установить эффективность спектра мочевых и сывороточных биомаркеров рака мочевого пузыря для диагностики и прогноза риска развития рецидива заболевания.

Материал и методы. Материалом настоящей работы являются результаты исследований, проведенных в период с 2007 по 2011 г. в центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России.

В исследование было включено 176 человек, находившихся на обследовании и лечении в Саратовском НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России. Возраст

пациентов колебался от 44 до 79 лет (средний возраст 63 года). В числе обследованных пациентов 46 женщины и 130 мужчин. В аналитическую группу вошло 135 больных РМП. Группу сравнения составили 16 пациентов (больные циститами). Контрольную группу составили 25 практически здоровых мужчин. Данная группа состояла из лиц, проходивших медицинское обследование, в ходе которого не выявлено заболеваний мочеполовой системы и значимых хронических заболеваний.

При проведении клинико-инструментального обследования (УЗИ, ЯМРТ, КТ, ЭУ, цито- и гистологическое исследования биопсийного и операционного материала) у 135 больных установлен РМП. В 75 (55,6%) наблюдениях диагностирован немышечно-инвазивный РМП (НМИРМП) (T_a-T₁N₀M₀), у 60 (44,4%) установлен мышечно-инвазивный (МИ РМП). В пределах органа (T_{2a}N₀M₀ — T_{2b}N₀M₀) он был у 31 пациента, а у 29 больных опухоль проросла паравезикальную клетчатку и окружающие органы (T_{3a-b}N₀M₀-2; T_{3b}N₁M₀-2; T₄N₁M₀-4; T₄N₁M₁-1). При гистологическом исследовании у всех 135 больных верифицирован переходноклеточный рак. Опухоли имели следующие градации: G1–51; G2–45; G3–39.

Пациентам с НМИРМП (n=75) выполнена ТУР стенки мочевого пузыря с опухолью, а больным с МИРМП (n=60): 57 выполнена цистэктомия, троим паллиативные операции. При динамическом наблюдении за больными после органосохраняющего лечения выполнялся УЗИ мониторинг, цистоскопический контроль и исследование молекулярных онкомаркеров (мочевой UBC и сывороточные TPA, TPS, VEGF). После цистэктомии УЗИ контроль и сывороточные TPA, TPS, VEGF. При повышенных уровнях онкомаркеров выполнялась МРТ.

Отбор больных с РМП проведен в соответствии с клиническими критериями включения и исключения. Критерии включения:

- пациенты с первичным и рецидивным переходно-клеточным (уротелиальным) РМП: стадии T_a-T₄N_xM_x;

- отсутствие макрогематурии, острой задержки мочеиспускания, требующей установки уретральных катетеров, на момент забора биоматериала на исследование.

Критерии исключения:

- при гистологическом исследовании верифицирован тип опухоли — аденокарцинома, саркома, лейомиома и другие (не переходно-клеточный рак);

- наличие опухолей других локализаций (в т.ч. рак лоханки и мочеточника, рак простаты);

- неотложные состояния (острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения, тромбоэмболия легочной артерии);

- почечная и печеночная недостаточность;

- заболевания сердечно-сосудистой системы атеросклеротического генеза и артериальная гипертония 3–4 стадии.

Для получения сыворотки забиралась венозная кровь в утренние часы до приема пищи. После забора в течение часа кровь доставлялась в лабораторию для последующей обработки. При определении уровня TPA и TPS в исследуемой сыворотке крови использованы наборы реактивов «TPAcyc ELISA» и «TPS ELISA» фирмы IDL Biotech AB (Швеция) по прилагающимся к наборам методикам, содержание VEGF — наборы реактивов ЗАО «Вектор Бест», Новосибирск.

На преаналитическом этапе при сборе образцов мочи в мочевиные стаканчики по 100 мл в каждый нанесены на дно 20 мкл реактива «ProClin 300». При заполнении стакана происходило быстрое растворение стабилизатора в моче. Образцы мочи, содержащие 0,02% «ProClin 300» доставлялись в лабораторию в течение двух часов, где центрифугировались 10 минут при 1500g. Супернатант отбирался и замораживался в полипропиленовых пробирках «Эппендорф» при температуре –25°C и хранился до момента исследования. Перед проведением исследования образцы размораживались при комнатной температуре, перемешивались и центрифугировались 5 минут при 3000g. Определение уровня UBC в моче производилось методом твердофазного ИФА наборами реактивов «UBC II ELISA» фирмы IDL Biotech AB (Швеция) по прилагающейся к набору методике.

Для математического и статистического анализа полученных результатов использовались пакеты компьютерных программ Statistica v6.0 (StatSoft Inc.), SPSS 13.0 for Windows (SPSS Inc.), Microsoft Office Excel 2007. Для определения вида распределения данных в выборке использовались критерии Колмогорова — Смирнова и Шапиро — Уилка. В исследовании имело место распределение значений в выборках, которое отличалось от нормального. Поэтому в процессе статистической обработки использовались методы непараметрического анализа, который включал вычисление медианы, квартилей вариационного ряда, максимальных и минимальных значений. В качестве критерия достоверности отличия между двумя независимыми группами использовался непараметрический критерий (U) Манна — Уитни.

Чувствительность и специфичность представленных методик диагностики определялась с помощью построения характеристической кривой (ROC-анализ) при разных точках деления значений лабораторных показателей. ROC-кривые приведены для следующих показателей: TPA, TPS, ФРЭС, UBC. Для выявленных методом ROC-анализа эффективных диагностических показателей построены кривые зависимости чувствительности и специфичности от уровня точки отсечения. Также предложены точки отсечения (дискриминационный уровень, cut off), соответствующие максимально возможной чувствительности и специфичности применения эффективных диагностических показателей.

Результаты. Полученные результаты представлены в табл. 1, 2 и на рис. 1–3.

Как видно, при прорастании опухоли в мышечный слой отмечается значительный подъем уровня цитокератина в моче (табл. 1). В более поздних стадиях уровень онкомаркера не позволяет отличить инвазивный рак от рака с экстраорганный локализацией. Можно считать, на стадии инвазии при РМП в мочу попадают лишь цитокератины с поверхности слизистой оболочки мочевого пузыря. То есть UBC, как онкомаркер, имеет диагностическую ценность для раннего обнаружения рецидивов РМП и для уточнения вопроса перехода РМП в T₂ стадию. Также высокие значения уровня UBC отмечаются у РМП с высоким риском инвазивного роста и плохим прогнозом — низкодифференцированный РМП.

Анализ уровней онкомаркеров-цитокератинов показал статистически достоверный (p<0,05) рост содержания TPA, TPS в сыворотке крови больных НМИРМП по сравнению с больными в группах контроля и сравнения (табл. 1). Также отмечался достоверный рост содержания UBC в моче больных

Содержание цитокератинов и VEGF в сыворотке крови у больных РМП

Группа обследованных	UBC, мкг/мл	TPA, нг/мл	TPS, ед/л	VEGF, пг/мл
Контрольная группа	16,9;10,9;34,5	0,12;0,1;21	14,1;12,1;35,7	53,0; 13,7; 266,5
Группа сравнения: большие циститами	24,3;6,7;49,6*	0,97;0,6;3,2*	16,1;11,2;30,5	97,5;56,7;400,8*
Немышечноинвазивный РМП без рецидива	33,8; 26,8;108,5*	1,25;1;15,1	61,5;45,6;86,2*	123,9;28,7;195,0*
Немышечноинвазивный РМП с рецидивом	45,3;31,7;0;233,1*	2,48;0,27;5,5*	98,4;40,2;198,*	266,1;144,6;629,0*
Инвазивный РМП в пределах органа	86,5;46,6;408,5*	1,75;1,4;2,45*	146,9;101,1;188,8*	326,6;48,4;1208,0*
Инвазивный РМП с экстраорганной инвазией	143,5;16,6;375,5*	2,6;1,8;2,9*	194,3;181,1;248,8*	568,8;197,2;3215,0*

Примечание: *P≥0,05 (по критерию Манна — Уитни).

Диагностическая чувствительность и специфичность онкомаркеров и VEGF при определении стадии инвазии рака мочевого пузыря

Стадия инвазии	UBC мочи	TPA сыворотки крови	TPS сыворотки крови	VEGF сыворотки крови
Переход мышечно-неинвазивного рака (Ta-T1) в мышечно-инвазивный без экстраорганной инвазии (T2-T3a)	64,1 мкг/мл	1,89 нг/мл	106,93 Ед/л	192,2 нг/мл
	Чувств. 60%	Чувств.66,7%	Чувств. 80%	Чувств. 75%
	Специф. 83%	Специф. 50%	Специф. 70,8%	Специф. 82,8%
Переход мышечно-инвазивного рака (T2-T3a) в мышечно-инвазивный с экстраорганной инвазией (T3б-T4)	89,1 мкг/мл	2,38 нг/мл	181,29 Ед/л	266,05 нг/мл
	Чувств. 83,3%	Чувств. 66,7%	Чувств. 80%	Чувств. 73%
	Специф. 73%	Специф. 60%	Специф. 70,8%	Специф. 75,8%

НМИРМП с рецидивом опухолевого роста в течение года после ТУР. Уровни TPA и TPS в сыворотке крови пациентов групп сравнения значительно меньше, чем у пациентов с онкологическим процессом. Их содержание зависит от стадии онкологического процесса и в меньшей степени зависит от степени дифференцировки опухоли. Такие характеристики TPS и TPA позволяют рассматривать его как специфичный и чувствительный онкомаркер, уровень которого отражает стадию роста РМП. По-видимому, подъем экспрессии цитокератинов опухолью, распад клеток вследствие некроза и апоптоза приводят к их появлению в кровотоке.

Одновременно на фоне повышения уровня цитокератинов отмечалось статистически достоверное повышение уровня VEGF относительно группы сравнения и контрольной группы (табл. 1). Наиболее высокие значения VEGF отмечены у больных экстраорганным и низкодифференцированным РМП. То есть при РМП дополнительным прогностическим сывороточным маркером при РМП можно считать содержание VEGF. Высокие значения VEGF в группе с НМИРМП дают основание считать, что патогенетический механизм формирования поверхностным раком сети новообразованных сосудов запускается на ранней стадии РМП и прогрессирует по мере дальнейшего роста опухоли.

Таким образом, нарастание уровня UBC в моче характеризует начальные стадии РМП. Одновременный подъем содержания UBC в моче и TPA, TPS в сыворотке крови связан с прогрессией опухолевого роста и характеризует начальный этап инвазии РМП в мышечный слой. Уровни содержания факторов ангиогенеза, прежде всего VEGF, могут быть использованы для уточнения стадии РМП и степени диффе-

ренцировки опухоли. Высокий уровень VEGF связан с высокой активностью опухолевого роста и низкой степенью ее дифференцировки.

Данные ROC-анализа позволяют сделать предположение, что при комбинировании маркеров UBC и TPS можно повысить чувствительность и специфичность для дифференциальной диагностики между стадией внутриорганной инвазии и экстраорганной инвазией РМП (табл. 2). На рис. 1, 2 приведены ROC-кривые комбинированного использования онкомаркеров UBC, TPA и TPS, на рис. 3 — UBC и VEGF. ROC-анализ диагностической ценности цитокератинов показал, что все три онкомаркера могут быть признаны эффективными в качестве маркеров мышечно-инвазивного РМП. Построение характеристической кривой позволило выбрать диагностический порог (точку отсечения, cut off), который соответствует максимально возможной чувствительности и специфичности. Если за критерий разделения стадий внутриорганной и экстраорганной инвазии взять сочетания уровня UBC более 89,1 мкг/мл, и уровня TPS более 181,29 Ед/л, то чувствительность составит 93% при специфичности 83% (табл. 2).

В клинической практике основные характеристики опухолевого роста, имеющие значение в выборе тактики лечения, становятся известными: либо во время выполнения непосредственно цистоскопии и ТУР (количество и максимальный размер опухолевых фокусов), либо после получения результата гистологического исследования (стадия заболевания; степень дифференцировки уротелиального рака G), на которое необходимо от пяти до десяти суток. В ходе проводимой работы установлено, что еще до начала оперативного лечения и получения результата гистологического исследования удален-

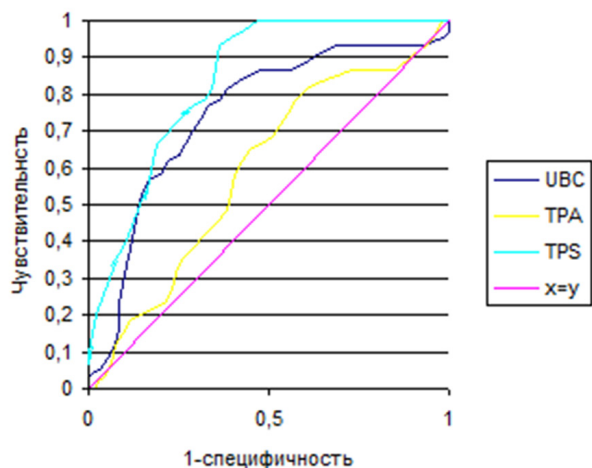


Рис. 1. ROC-анализ значимости онкомаркеров при диагностике между неинвазивно-мышечным и инвазивным РМП в пределах органа.

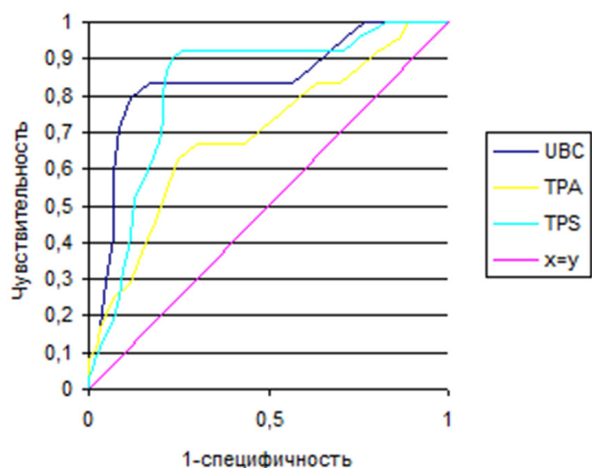


Рис. 2. ROC-анализ значимости онкомаркеров при диагностике между инвазивным РМП в пределах органа и экстраорганной инвазией

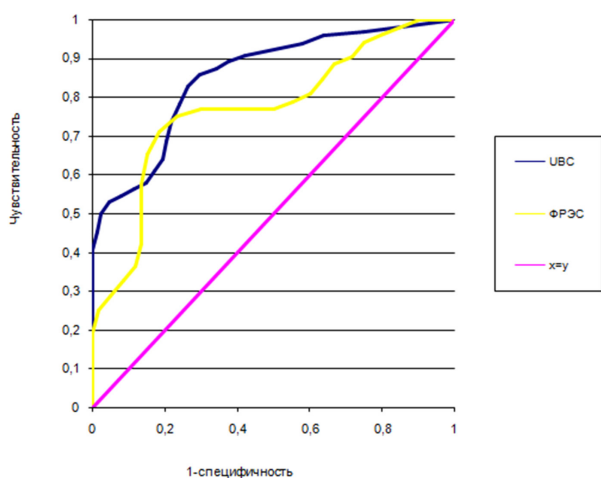


Рис. 3. ROC-анализ значимости содержания UBC мочи и VEGF сыворотки крови при диагностике между инвазивным РМП в пределах органа и экстраорганной инвазией

ной опухолевой ткани (то есть на этапе уточняющей диагностики) с высокой диагностической эффективностью можно узнать об основных характеристиках опухолевого роста с помощью определения уровня следующих биомаркеров: в моче — UBC, в сыворотке крови — TPS и VEGF.

Обсуждение. В сравнении с цитологическим исследованием осадка мочи молекулярные маркеры РМП (мочевой — UBC и сывороточные TPA, TPS) обладают большей диагностической чувствительностью. Кроме того, являясь количественным методом, определение уровня молекулярных маркеров РМП позволяет оценить вероятность наличия заболевания, а также провести диагностику стадий внутриорганной и экстраорганной инвазии.

На основании проведенного исследования можно предложить следующую последовательность диагностики поверхностного РМП с использованием молекулярных маркеров. У пациента с подозрением на РМП производится забор биоматериала для исследования уровня онкомаркеров TPA и TPS, VEGF в сыворотке, UBC в моче, цитологического исследования мочи. В случае, если уровень онкомаркеров не превышает следующих величин: TPS — 61,5 Ед/л; TPA — 1,05 нг/мл; UBC — 22,55 мкг/мл, VEGF — 198,2 нг/мл, с достаточной долей вероятности можно считать, что имеется доброкачественное заболевание мочевого пузыря. В случае, если результаты исследования содержания онкомаркеров в сыворотке и моче приходятся на так называемую «серую зону», требуется дополнительное обследование и динамическое исследование онкомаркеров. В случае превышения уровней онкомаркеров: TPS — 82,6 Ед/л; TPA — 1,52 нг/мл; UBC — 50,1 мкг/мл, VEGF — 266,05 нг/мл и/или обнаружения атипичных клеток в моче, с высокой долей вероятности констатируется диагноз РМП на стадии внутриорганной и экстраорганной инвазии, проводится установление стадии с помощью инструментальных методов, морфологически подтверждается и онкоконсилиумом принимается решение об характере и объеме лечения.

При динамическом наблюдении в течение $3,5 \pm 0,5$ года за пациентами НМИРМП после ТУР мочевого пузыря с опухолью из 75 больных у 27 (36%) в первый год диагностирован рецидив заболевания. Из них у 11 (14,6%) человек диагностирована прогрессия заболевания: у 4 (5,3%) пациентов — переход из стадии Ta в стадию T1, а у 3 (4%) — переход из НМИРМП в мышечно-инвазивный РМП.

Пациентам с МИРМП (n+60) у 57 выполнена цистэктомия, у трех паллиативные операции. Из всех 135 больных в течение двух лет умер 21 (15,5%) больной от прогрессии онкологического заболевания, 114 (84,5%) пациентов находятся под нашим наблюдением в течение $3,5 \pm 0,5$ года.

Заключение. Таким образом, проведенное исследование молекулярных маркеров позволяет осуществить персонализированную диагностику и лечение у больных РМП. Наши данные показывают, что наибольшую чувствительность и специфичность в стадировании РМП имеют три маркера — UBC, TPS и VEGF. Нарастание уровня UBC в моче характеризует начальные стадии РМП и возможный неинвазивный рецидив опухоли при органосохраняющем лечении. У больных с НМИРМП повышенный уровень VEGF может служить дополнительным критерием не только рецидива заболевания, но и его прогрессии. Одновременный подъем содержания UBC в моче и TPS, VEGF в сыворотке крови связан с прогрессией опухо-

левого роста и характеризует начальный этап инвазии РМП в мышечный слой. Высокий уровень VEGF характерен для выхода опухоли за пределы органа, а также с высокой активностью опухолевого роста и низкой степенью ее дифференцировки, что является плохим прогностическим фактором. Сывороточные опухолевые маркеры TPS и VEGF также могут быть использованы в диагностике рецидива онкологического заболевания после радикальной цистэктомии, так как мочевые маркеры в таких случаях неприемлемы. Включение в диагностический процесс в нашей клинике исследования онкомаркеров у всех больных РМП, показало, что выявление НМИРМП повысилось с 18,1% в 2006 г. до 55,6% в 2011 г. Выбранный адекватный стадии объем комплексного лечения позволил снизить рецидивы и летальность у больных РМП в первые 2 года с 32 до 15,5%.

Конфликт интересов. Коммерческой заинтересованности отдельных физических или юридических лиц в результатах работы нет. Наличия в рукописи описания объектов патентного или другого вида прав (кроме авторского) не имеется.

Библиографический список

- Bladder tumor markers: a review of the literature / A. Volpe [et al.] // *The International Journal of Biological Markers*. 2008. Vol. 23 (4). P. 249–261.
- Goebell P. J., Knowles M.A. Bladder cancer or bladder cancers? Genetically distinct malignant conditions on the urothelium // *Urol. Oncol.* 2010. № 28 (4). P. 409–428.
- Прогностические молекулярно-генетические маркеры рака мочевого пузыря (обзор литературы) / С. А. Аль-Шукри, В. Н. Ткачук, Н. М. Волков, М. В. Дубина / *Онкология*. 2009. № 2. С. 78–84.
- Кушлинский Н. Е., Герштейн Е. С. Биологические маркеры опухолей в клинике: достижения, проблемы, перспективы // *Молекулярная медицина*. 2008. № 3. С. 48–55.
- Shirodkar S. P., Lokeshwar V. B. Bladder tumor markers: from hematuria to molecular diagnostics where do we stand? // *Expert review of Anticancer Therapy*. 2008. Vol. 8 (7). P. 1111–1123.
- Jacobs L. B., Lee T. C., Montie J. E. Bladder cancer in 2010: how far have we come? // *CA Cancer J. Clin.* 2010. № 60. P. 244–272.
- Update of the Clinical Guidelines of the European Association of Urology on muscle-invasive and metastatic bladder carcinoma / A. Stenzl, N. C. Cowan, M. De Santis [et al.] / *Actas Urol. Esp.* 2010, Jan. Vol. 34 (1). P. 51–62.
- Значение маркеров опухолевого роста и ангиогенеза в диагностике рака мочевого пузыря / П. В. Глыбочко, А. Н. Понукалин, Н. Б. Захарова, Н. К. Шахапазян // *Онкоурология*. 2009. № 2. С. 56–60.
- Клиническое применение FISH-метода в ранней диагностике поверхностного рака мочевого пузыря / А. В. Севаньяев, Е. Ф. Лушников, О. Б. Карякин [и др.] / *Онкоурология*. 2008. № 4. С. 61–65.
- Молекулярно-генетические маркеры как факторы прогноза течения поверхностного рака мочевого пузыря / А. Ю. Бабаян, С. В. Башкатов, О. Б. Карякин [и др.] / *Онкоурология*. 2009. № 3. С. 19–24.
- Harper J., Moses M.A. Molecular regulation of tumor angiogenesis: mechanism and therapeutic implication // *EXS*. 2006. Vol. 96. P. 223–268.
- Konety B. R., Lotan Y. Urothelial bladder cancer: biomarkers for detection and screening // *BJU International*. 2008. Vol. 102 (9 PtB). P. 1234–1241.
- Erythrocyte and platelet phospholipid fatty acids as markers of advanced non-small cell lung cancer: comparison with serum levels of sialic acid, TPS and CYFRA 21–1 // J. de Castro [et al.] // *Cancer Invest.* 2008. Vol. 26 (4). P. 407–418.
- The value of combined use of surviving, cytokeratin 20 and mucin 7 mRNA for bladder cancer detection in voided urine / X. Y. Pu [et al.] // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2008. Vol. 134 (6). P. 659–665.

Translit

- Bladder tumor markers: a review of the literature / A. Volpe [et al.] // *The International Journal of Biological Markers*. 2008. Vol. 23 (4). P. 249–261.
- Goebell P. J., Knowles M.A. Bladder cancer or bladder cancers? Genetically distinct malignant conditions on the urothelium // *Urol. Oncol.* 2010. № 28 (4). R. 409–428.
- Прогностические молекулярно-генетические маркеры рака мочевого пузыря (обзор литературы) / С. А. Аль-Шукри, В. Н. Ткачук, Н. М. Волков, М. В. Дубина / *Онкология*. 2009. № 2. С. 78–84.
- Kushlinskij N. E., Gershtejn E. S. Biologicheskie markery opuholej v klinike: dostizhenija, problemy, perspektivy // *Molekuljarnaja medicina*. 2008. № 3. S. 48–55.
- Shirodkar S. P., Lokeshwar V. B. Bladder tumor markers: from hematuria to molecular diagnostics where do we stand? // *Expert review of Anticancer Therapy*. 2008. Vol. 8 (7). P. 1111–1123.
- Jacobs L. B., Lee T. C., Montie J. E. Bladder cancer in 2010: how far have we come? // *CA Cancer J. Clin.* 2010. № 60. R. 244–272.
- Update of the Clinical Guidelines of the European Association of Urology on muscle-invasive and metastatic bladder carcinoma / A. Stenzl, N. C. Cowan, M. De Santis [et al.] / *Actas Urol. Esp.* 2010, Jan. Vol. 34 (1). P. 51–62.
- Znachenie markerov opuholevogo rosta i angiogeneza v diagnostike raka mochevogo puzyrja / P. V. Glybochko, A. N. Ponuskalin, N. B. Zaharova, N. K. Shahapazjan // *Onkourologija*. 2009. № 2. S. 56–60.
- Klinicheskoe primenenie FISH-metoda v rannej diagnostike poverhnostnogo raka mochevogo puzyrja / A. V. Sevank'ae, E. F. Lushnikov, O. B. Karjakin [i dr.] / *Onkourologija*. 2008. № 4. S. 61–65.
- Molekuljarno-geneticheskie markery kak faktory prognoza techenija poverhnostnogo raka mochevogo puzyrja / A. Ju. Babajan, S. V. Bashkatov, O. B. Karjakin [i dr.] / *Onkourologija*. 2009. № 3. S. 19–24.
- Harper J., Moses M.A. Molecular regulation of tumor angiogenesis: mechanism and therapeutic implication // *EXS*. 2006. Vol. 96. P. 223–268.
- Konety B. R., Lotan Y. Urothelial bladder cancer: biomarkers for detection and screening // *BJU International*. 2008. Vol. 102 (9 PtB). P. 1234–1241.
- Erythrocyte and platelet phospholipid fatty acids as markers of advanced non-small cell lung cancer: comparison with serum levels of sialic acid, TPS and CYFRA 21–1 // J. de Castro [et al.] // *Cancer Invest.* 2008. Vol. 26 (4). P. 407–418.
- The value of combined use of surviving, cytokeratin 20 and mucin 7 mRNA for bladder cancer detection in voided urine / X. Y. Pu [et al.] // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2008. Vol. 134 (6). P. 659–665.