

Диагностика и прогнозирование рецидива немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря при помощи клинических методов и FISH-анализа (обзор литературы)

А.В. Троянов
МРНЦ МЗ РФ, Обнинск

Контакты: Алексей Владимирович Троянов alex_troy@mail.ru

Обзорная статья посвящена современному состоянию проблемы диагностики и прогнозирования немышечно-инвазивного (НМИ) рака мочевого пузыря (РМП). Приведены данные о выявленных хромосомных нарушениях в клетках уротелиального рака по результатам исследований. Отмечена обоснованность разработки методики FISH-диагностики РМП, приведен алгоритм интерпретации результата FISH-анализа.

Описано использование данных о хромосомных нарушениях в качестве дополнительных факторов прогноза течения НМИ РМП. Также описано использование FISH-метода в оценке результатов адъювантного лечения больных НМИ РМП. В заключении указаны основные проблемы в существующих алгоритмах диагностики и прогнозирования с использованием FISH-метода.

Ключевые слова: немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря, хромосомные нарушения, флуоресцентная *in situ* гибридизация, рецидив

The diagnosis and prediction of non-muscle invasive bladder cancer recurrence,
by applying clinical methods and FISH analysis (a review of literature)

A. V. Troyanov

Medical Radiology Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk

The review deals with the-state-of-the-art of diagnosis and prediction of non-muscle invasive bladder cancer (BC). It gives data on the chromosomal abnormalities identified in urothelial cancer cells according to the results of trials. The development of a procedure for FISH diagnosis of BC is noted to be warranted. An algorithm for interpreting the result of the FISH analysis is given.

The use of data on chromosomal abnormalities as additional predictors of the course of non-muscle invasive BC is described. The application of the FISH technique in assessing the results of adjuvant treatment in patients with non-muscle invasive BC is also depicted. In summary, the main problems in the existing algorithms for its diagnosis and prediction, by employing the FISH technique, are indicated.

Key words: non-muscle invasive bladder cancer, chromosomal abnormalities, fluorescence *in situ* hybridization, recurrence

Рак мочевого пузыря (РМП) является довольно распространенным заболеванием. В структуре онкологической заболеваемости населения России на 2010 г. РМП занимает 13-е место. Среди всех онкологических больных на его долю приходится 2,7 %. Заболеваемость РМП постепенно увеличивается. Если в 2000 г. в России впервые в жизни установлен диагноз 9479 мужчинам, то в 2010 г. — 10 731. В 2000 г. было выявлено 2479 женщин, больных РМП, а в 2010 г. — 3047. При анализе динамики заболевания населения России РМП отмечается стабильное увеличение заболеваемости. У мужчин прирост заболеваемости за 10 лет (с 2000 по 2010 г.) составил 15,14 %, у женщин — 22,23 %. Особый интерес представляет распределение вновь выявленных больных по стадиям заболевания. За период с 2000 по 2010 г. локализованный процесс (I–II стадии) стал встречаться на 20 % чаще (в 2000 г. — 41,40 %, в 2010 г. — 61,30 %) [1, 2].

С учетом возрастающей заболеваемости и преобладания начальных стадий РМП в структуре заболева-

емости диагностика РМП в этой стадии представляет наибольший интерес.

НМИ РМП не является гомогенной группой злокачественных новообразований, а включает [3]:

- папиллярные новообразования, ограниченные слизистой оболочкой мочевого пузыря (МП) (Ta);
- опухоли, прорастающие в подслизистый слой или собственную пластинку слизистой оболочки (T1);
- интраэпителиальные новообразования с низкой степенью дифференцировки (CIS).

Из всех поверхностных опухолей МП в 70 % случаев встречаются уротелиальные карциномы стадии Ta и в 30 % в стадии T1 [4]. Общая 5-летняя выживаемость больных немышечно-инвазивным (НМИ) РМП варьирует в пределах 69–78 % [5].

С учетом неоднородности развития и различного течения заболеваний, составляющих группу НМИ РМП, появилась необходимость оценки факторов

риска и распределения больных по группам риска с целью определения прогноза заболевания.

В 2006 г. R.J. Sylvester и соавт. [6] представили систему балльной оценки для расчета вероятности развития рецидива и прогрессирования заболевания в сроки от 1 до 5 лет. Система учитывает как клинические (размер, количество, частоту возникновения рецидивов), так и морфологические факторы (гистологическая градация ВОЗ 1973 г.).

Группу низкого риска развития рецидива составляют больные с суммарным баллом 0, промежуточного риска — от 1 до 9, высокого риска — от 10 до 17. Особый интерес вызывает группа промежуточного риска, составляющая около 1/3 от общего числа больных. К ней относятся, как правило, больные с опухолью Ta-T1, G₁₋₂, в диаметре > 3 см и мультифокальной локализацией. На основании данных расчета рисков EORTC риск развития рецидива для пациентов этой группы составляет 24–38 и 46–62% в течение 1 года и 5 лет соответственно.

Однако оценка клинических факторов (например, размер опухоли) является достаточно субъективной, что может выразиться в искажении итогового значения. Кроме того, дифференцировка опухоли (высоко-, средне- или низкодифференцированная) не всегда полностью отражает биологическую агрессивность конкретной опухоли. В настоящее время доказано, что при одинаковой гистологической градации изменение молекулярных или хромосомных признаков может кардинальным образом сказываться на течении болезни. Исходя из этого в настоящее время происходит активное изучение множества дополнительных факторов прогноза, объединенных термином «биологические». К ним относят структурные и числовые нарушения хромосом, генные мутации, метилирование промоторных генов, определение экспрессии различных белковых продуктов в злокачественной клетке.

Принципиальным в оценке риска считается то, что на основании итоговой оценки производится выбор метода и объема лечения заболевания.

Хромосомные нарушения в клетках уротелиального рака. Современные морфологические и генетические исследования РМП позволили выявить специфические генетические нарушения, присущие данной опухоли.

Переходно-клеточный рак характеризуется наличием в опухолевых клетках различных как структурных, так и количественных хромосомных нарушений. В табл. 1 суммированы данные о том, в каких хромосомах зарегистрированы нарушения при РМП.

Флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH) — направление молекулярно-цитогенетической диагностики, в основе которой лежит реакция гибридизации между специфичным ДНК-зондом, который представляет собой нуклеотидную последовательность ограниченного размера, и комплементарным ему участком

Таблица 1. Хромосомные нарушения в клетках уротелия при РМП

Автор, год	Хромосома
J. Reeder и соавт., 1998 [7]	9
T. Inoue и соавт., 2000 [8]	7 и 9
S. Ishiwata и соавт., 2001 [9]	9 и 17
A. Pycha и соавт., 1997 [10]	7, 9 и 17
A. Marano и соавт., 2000 [11]	7, 8, 9 и 11
F. F. Zhang и соавт., 1997 [12]	1, 7, 8, 9 и Y
S. Awata и соавт., 2000 [13]	8 и 11
R. Cajulis и соавт., 1995 [14]	8 и 12
F. Jiang и соавт., 2003 [15]	4 и 9
M.R. Wang и соавт., 1994 [16]	10
M.I. Stamouli и соавт., 2004 [17]	5, 8, 9, 11, 13, 15, 17, X и Y
A. Erbersdobler и соавт., 1998 [18]	9, 13 и 17

ДНК цитогенетического образца, нанесенного на предметное стекло. ДНК-зонд несет «метку», т. е. содержит нуклеотиды, напрямую связанные с флуорохромами или гаптенем для дальнейшей визуализации антителами, несущими флуорохром. С помощью флуоресцентного микроскопа определяют место связывания ДНК-зонда в геноме. Метод имеет существенное ограничение — любое хромосомное нарушение может быть выявлено только в том случае, если в распоряжении исследователя имеется соответствующий задаче ДНК-зонд:

- ДНК-зонды к центромерным участкам хромосом — предназначены для идентификации центромерных регионов хромосом и выявления количественных нарушений кариотипа;

- ДНК-зонды к теломерным участкам хромосом — предназначены для выявления делеций и перестроек, затрагивающих концевые участки хромосом. Они специфичны для коротких и длинных плеч хромосом, окрашены разным цветом, что позволяет изучать 2 участка хромосом на 1 цитогенетическом препарате. В интерфазных клетках отсутствие сигнала может свидетельствовать как о делеции концевой участка, так и о потере целой хромосомы;

- локус-специфические ДНК-зонды — применяются для обнаружения транслокаций, делеций, инверсий.

В 2000 г. I. Sokolova и соавт. [19] провели исследование, целью которого было определение хромосомных нарушений, наиболее часто встречающихся при РМП. Было установлено, что числовые наруше-

ния хромосом 3, 7, 17 и 9p21 (локуса, содержащего ген опухолевой супрессии *p16*) чаще других обнаруживаются при РМП. Данное исследование послужило основой для разработки многоцветного FISH-набора фирмы UroVysion. Набор содержит центромерные ДНК-зонды к 3, 7, 17-й паре хромосом и локус-специфическим ДНК-зондом к 9p21 хромосоме. ДНК-зонды окрашены в красный, зеленый, голубой и золотой цвет флюорохрома соответственно.

В 2004 г. Управление по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами США одобрило применение в клинической практике FISH-методики фирмы UroVysion.

Для нормальной клетки характерен диплоидный набор хромосом, что будет выражаться в наличии 2 сигналов каждого цвета. Опухолевая клетка больше нормальной уротелиальной клетки по размерам. Количество флуоресцентных сигналов в ней может отличаться от 2.

Отбор клеток для анализа. Согласно протоколу фирмы Vysis, в исследовании I. Sokolova и соавт. анализировали только морфологически аномальные клетки (с подозрением на злокачественность), для отбора которых использовали следующие критерии: большой размер ядра; неправильная форма ядра; «пятнистость» DAPI-окраски; клеточные кластеры (клетки в кластере, наложенные друг на друга, не учитываются при подсчете).

Микроскопический анализ прекращали при обнаружении 4 морфологически аномальных клеток с увеличенным числом копий 2 или 3 промеченных 3, 7, 17-й хромосом или 12 клеток с гомозиготной потерей локуса 9p21. При выполнении этих критериев данный образец считался FISH-положительным, т. е. изменения в клетках расценивались как злокачественные; перечисленные критерии рекомендованы для использования в практике.

B.R. Kipp, R.J. Karnes, S.M. Brankley и соавт. добавили к критериям Соколовой еще 1: 10% или более клеток должны иметь трисомию (3 сигнала) по 3-й, или 7-й, или 17-й хромосоме. Как правило, это относится только к хромосоме 3 [20].

В настоящее время FISH-метод (наравне с цитологическим исследованием мочи) достаточно широко применяется как метод ранней неинвазивной диагностики РМП, однако совершенно особый интерес представляет использование выявленных при помощи FISH-метода хромосомных нарушений в качестве дополнительных факторов прогноза развития заболевания.

Проводятся исследования по изучению возможности использования FISH-метода для определения групп пациентов, которые нуждаются в расширенном или дополнительном обследовании (на основании данных о генетических и числовых нарушениях хро-

мосом в клетках уротелия); изучается возможность FISH-метода в определении необходимости в проведении дополнительного адъювантного лечения.

На основании данных, полученных с использованием FISH-метода, возможно изменить систему прогнозирования возникновения рецидива, дополнив ее не только клиническими и морфологическими элементами, но также с учетом структурных и числовых нарушений хромосом, генных мутаций в клетках уротелия.

Хромосомные нарушения в качестве дополнительных факторов прогноза. Было установлено, что делеция локуса 9p21 указывает на возможность развития поверхностного рецидива, а анеуплоидия 3, 7, 17-й хромосом предполагает рецидивирование и прогрессирование РМП [21].

В работе S. Ishiwata и соавт. [22] при использовании FISH-метода у больных РМП отмечено, что гипоплоидия хромосом чаще встречается при высокодифференцированных опухолях, в то время как гиперплоидия характерна для низкодифференцированных. Пациенты с потерей одного из гомологов 9-й хромосомы имеют тенденцию к развитию рецидива в отличие от тех, у которых определяется диплоидный набор 9 хромосомы (67% против 27%, $p = 0,16$). При делеции 17 хромосомы рецидив развивался в 100% случаев (в данной работе), а у пациентов с диплоидным набором этой хромосомы — в 23% ($p = 0,015$).

M.J. Ribal и соавт. [23] установили, что наличие гиперплоидии (5 и более сигналов) 17-й хромосомы в клетках опухоли является неблагоприятным фактором прогноза, так как ассоциировано с высоким риском развития мышечно-инвазивного рецидива.

A. Rycha и соавт. [24] проанализировали группу промежуточного риска рецидивирования и прогрессирования ($n = 51$) после трансуретральной резекции (ТУР). У 14 пациентов с FISH-отрицательным результатом рецидив развился в 14,3% случаев. У пациентов с потерей локуса 9p21 и/или анеуплоидией 3-й хромосомы рецидивирование наблюдалось в 15% случаев. При анеуплоидии в 7-й и/или 17-й паре хромосом в 60% случаев развился рецидив, 55,5% из которых имели инвазивный характер роста ($p = 0,004$). На основании полученных данных авторы рекомендуют больных с нарушениями 7-й и/или 17-й хромосом отнести в группу высокого риска с соответствующей лечебной тактикой и схемой наблюдения.

В исследовании C. Mian и соавт. [25] была подтверждена взаимосвязь между хромосомными нарушениями и клиническим течением поверхностного РМП. Больные с изменениями 7-й и/или 17-й хромосом имели значительно более короткий безрецидивный период (20 мес) по сравнению с больными, у которых имелись количественные нарушения 3 и/или 9 хромосом (34,5 мес).

В исследовании Q.B. Вао и соавт. [26] показана роль хромосомных нарушений в прогнозировании рецидивирования и прогрессирования РМП. В исследование включено 66 пациентов (42 — с рецидивом заболевания и 24 — без рецидива); среди пациентов, у которых был выявлен рак G₂₋₃, частота анеуплоидии хромосомы 17 составила 64,3 % для пациентов с последующим рецидивом заболевания, у пациентов без рецидива — 22,2 % ($p < 0,05$). Частота одновременной анеуплоидии хромосом 7-й и 17-й для пациентов с рецидивом составила 47,8 %, без рецидива — 12,5 % ($p < 0,05$). У пациентов с прогрессированием ($\geq pT2$) заболевания частота анеуплоидии 7-й и 17-й хромосом составила 78,6 и 92,9 % соответственно, без прогрессирования — 42,9 и 46,4 % соответственно ($p < 0,05$). Таким образом, по мнению авторов, важно выявление не только анеуплоидии 17-й хромосомы, но и ее сочетание с нарушениями по 7-й хромосоме.

В исследовании M. Bollmann и соавт. [27] изучалась возможность выделения групп пациентов с высоким и низким риском рецидивирования/прогрессирования на основании данных FISH-анализа после проведения оперативного лечения (ТУР). Из 34 пациентов у 4 данный тест был отрицательным, у 17 наблюдалась потеря локуса 9p21 в сочетании с другими хромосомными нарушениями в клетках (группа низкого риска), у 13 пациентов обнаружены сочетанные анеуплоидии хромосом (группа высокого риска). Рецидив развился у 23,5 % пациентов группы низкого риска и у 45,5 % пациентов группы высокого риска. Прогрессирование наблюдалось только у пациентов группы высокого риска (36,6 %). Авторы делают выводы о возможности индивидуально-определенного определения риска рецидивирования/прогрессирования заболевания на основании данных, полученных при помощи FISH-метода.

В исследовании T. Zellweger и соавт. [28] изучалась диагностическая ценность FISH-метода в прогнозировании рецидива РМП после ТУР ($n = 138$). FISH-анализ был положительным у 36 % пациентов. Рецидив развился у 39 % пациентов с положительным FISH-тестом и у 21 % — с отрицательным. FISH-положительный результат при отрицательной цистоскопии не был значимо связан с повышенным риском развития рецидива ($p = 0,12$). Однако чувствительность FISH в прогнозировании рецидива существенно увеличивалась в случае принятия образцов с редкими (≤ 10) тетраплоидными клетками как FISH-отрицательных ($p < 0,006$). Делеция 9p21 была значимо связана с рецидивированием ($p < 0,01$). Авторы делают выводы о том, что FISH-анализ способен улучшить стратификацию риска рецидивирования при отрицательной цистоскопии, однако критерии положительного FISH-анализа требуют уточнения.

C.T. Nguyen и соавт. [29] оценивали диагностическую значимость FISH-анализа, когда результат фор-

мально не является положительным, однако хромосомные нарушения отмечены. У большинства пациентов с FISH-положительным анализом, по данным авторов, развивается рецидив в течение 12 мес. Авторы сравнили 2 подгруппы пациентов ($n = 149$): в 1-й наблюдались хромосомные нарушения, но согласно критериям, FISH-анализ был отрицательным; во 2-й хромосомных нарушений не наблюдали, и они также согласно критериям имели отрицательный FISH-анализ. Период наблюдения в обеих подгруппах был одинаков ≥ 30 мес. У пациентов с наличием хромосомных нарушений (1-я подгруппа) риск перехода в FISH-положительное состояние и риск развития рецидива были существенно выше, чем во 2-й подгруппе. Большинство случаев прогрессирования произошло в течение 1 года. Пациенты с сочетанием наличия хромосомных нарушений по результатам FISH-анализа (формально отрицательного), отрицательной цистоскопией и цитологией имели очень низкий риск развития рецидива, сопоставимый с таковым при истинно отрицательном результате FISH-анализа.

O.N. Gofrit и соавт. [30] оценивали возможности FISH-метода в прогнозировании рецидива РМП после ТУР у пациентов с отрицательной цистоскопией и цитологией на момент забора материала. FISH-анализ был положительным у 62,5 % пациентов; у 33 % пациентов развился рецидив заболевания. Рецидивы опухоли развились у 45 % пациентов с FISH-положительным тестом и у 12,5 % пациентов с FISH-отрицательным ($p = 0,01$). Положительный FISH-тест предшествовал рецидивам заболевания в 86 % случаев, включая все *high grade* рецидивы. Авторы предлагают увеличить интервалы между обследованием и, возможно, отказаться от цистоскопии у пациентов с предшествующим РМП *low grade* и отрицательным FISH-анализом.

В исследовании J. Bergman и соавт. [31] сравнивались чувствительность и специфичность FISH-анализа с таковыми при цитологическом анализе мочи. Данные FISH-анализа совпадали с данными цистоскопии и биопсии в 110 (88 %) из 125 случаев, а в 15 (12 %) — нет; цитологический анализ в 112 (77 %) из 146 случаев совпадал с данными других методов исследования, в 34 (23 %) — нет. Чувствительность методов FISH и цитологии составила 77 % (30 из 39) и 74 % (37 из 50) соответственно, специфичность — 93 % (80 из 86) и 78 % (75 из 96) соответственно, положительная предсказывающая ценность — 83 % (30 из 36) и 64 % (37 из 58) соответственно, отрицательная — 90 % (80 из 89) и 85 % (75 из 88) соответственно. Чувствительность методов была сопоставима, тогда как специфичность FISH-теста в диагностике рецидива РМП оказалась выше. Авторы рекомендуют использовать FISH-тест в качестве наиболее значимого маркера рецидива заболевания.

Таблица 2. Данные о чувствительности и специфичности FISH-анализа, выполненного во время наблюдения после ТУР

Авторы	Чувствительность, %	Специфичность, %
J. Bergman и соавт. [31]	77	93
M. May и соавт. [32]	74	—
S. Gudjonsson и соавт. [37]	70	—
W.G. Bas van Rhijn и соавт. (анализ 7 исследований) [38]	65	83
H.-M. Fritsche и соавт. [39]	95	93
J. Dobruch и соавт. [40]	77	98

В исследовании M. May и соавт. [32] сравнивали диагностическую ценность цитологического анализа мочи, UBC-ELISA и FISH-анализа в обнаружении переходо-клеточного РМП в рутинной практике. Общая чувствительность FISH-анализа, UBC-ELISA и цитологического анализа составила 53,2; 40,3 и 71,0 % соответственно. Для рака G₃ чувствительность как FISH-анализа, так и цитологического анализа достигли 93,3 %. У 104 пациентов без признаков рака специфичность FISH-анализа, UBC-ELISA и цитологического анализа мочи составила 74,0; 75,0 и 83,7 % соответственно. Во время наблюдения у 33,3 % пациентов с отсутствием клинически выявленной опухоли и положительным FISH-анализом развился рецидив; с положительным UBC — у 23,1 %; с положительным цитологическим анализом — у 9,4 %. Только цитологический анализ мочи и FISH-анализ были значимыми предикторами гистологически подтвержденного рецидива. Авторы делают вывод, что в рутинной практике цитологический анализ мочи может иметь большую ценность, нежели FISH-анализ; положительные результаты всех 3 методов исследования при отсутствии видимой опухоли могут служить признаками доклинического рецидива РМП.

В исследовании SWOG (S.R. Wolman и соавт.) [33] изучалась роль FISH-анализа в диагностике рецидива НМИ РМП. Целью исследования было изучить корреляцию между хромосомными нарушениями и рецидивом и прогрессированием заболевания. Изменения в 7-й и 9-й хромосомах оценивались методом FISH и были обнаружены у 38 из 54 пациентов. Потеря или полисомия 9-й хромосомы приводила к увеличению вероятности прогрессирования заболевания или рецидиву в отличие от изменений в 7-й хромосоме.

Важно отметить, что достаточно часто встречается ситуация, при которой обнаруживаются хромосомные нарушения, но РМП клинически не верифицируется. Это явление получило название «предварительный положительный результат». Клиническое значение этого феномена изучали M. Scacel и соавт. [34]: из 9 больных с FISH-положительным результатом рецидив развился

у 8 пациентов в течение 12 мес. Срок в 12 мес был выбран авторами в качестве «контрольной точки», после которой результаты FISH-анализа считаются ложноположительными. Таким образом, авторы отмечают, что хромосомные нарушения в клетках уротелия развиваются на 3–12 мес (медиана 5,5 мес) ранее, чем опухоль может быть визуализирована при помощи цистоскопии и подтверждена морфологически.

По данным T. Takahashi и соавт. [35], при обследовании 166 пациентов с негативной цистоскопией рецидивы в течение года обнаруживаются в 28,6 % случаев в группе больных с FISH-положительными результатами и в 9,7 % — с FISH-отрицательными.

Данные исследования J.S. Jones [36] показали развитие рецидива в 62 % (34/55) и в 5 % (8/155) случаев при FISH-положительном и отрицательном результатах соответственно.

В исследовании S. Gudjonsson и соавт. [37] также изучалось значение FISH-анализа в прогнозировании рецидива НМИ РМП. Обследовано 159 больных, FISH-анализ имел чувствительность 70 % для рецидивов *high grade*, позволив обнаружить все 6 случаев уже развившейся CIS, а также верно спрогнозировать развитие 2 случаев CIS в течение 12 мес наблюдения.

В 2009 г. в работе W.G. Bas van Rhijn и соавт. [38] были опубликованы сводные данные о чувствительности и специфичности FISH-метода в отношении выявления рецидива НМИ РМП, полученные в результате 7 исследований в разных научных центрах; чувствительность составила в среднем 65 %, специфичность — 83 %. Однако для пациентов с опухолью, имеющей гистологическую градацию G₁, чувствительность составила лишь 38 %, при G₂ — 51 % (преимущественно эта когорта пациентов составляет группу промежуточного риска развития рецидива).

По данным H.M. Rosevear и соавт. [41], FISH-методу может быть найдено применение в определении показаний к расширению интервала между контрольными осмотрами, особенно в группе низкого и промежуточного риска.

Согласно данным D. Tilki и соавт. [42] вероятность определения рецидива НМИ РМП при помощи FISH-метода может быть доведена до 100 % при сочетании с морфологическим методом исследования.

Таким образом, в настоящий момент многие исследователи пытаются не только выявить те хромосомные изменения, которые достоверно приводят к развитию рецидива НМИ РМП, и выделить среди них наиболее значимые, но и определить и расширить систему определения риска развития рецидива, используя данные FISH-анализа, что может позволить изменить подход к тактике лечения и наблюдения за пациентами с НМИ РМП.

Использование FISH-метода в оценке результатов адъювантного лечения больных НМИ РМП

Стоит отметить, что FISH-метод может быть использован для мониторинга эффективности внутрипузырной иммунопрофилактики. С этой целью B.R. Kipp и соавт. [20] использовали FISH-метод для обнаружения клеток с хромосомными нарушениями до и после проведения внутрипузырной иммунопрофилактики вакциной БЦЖ. Авторами было показано, что из 18 пациентов с положительным FISH-результатом 15 (83,3 %) имели снижение количества патологических клеток после проведенного лечения, у 2 (11,1 %) отмечалось увеличение и у 1 (5,6 %) больного обнаружено незначительное количество опухолевых клеток. Пациенты с положительным FISH-анализом до внутрипузырной иммунопрофилактики имели в 3,3 раза более высокий риск рецидивирования, чем пациенты отрицательным FISH-анализом. Риск рецидива был значительно выше (в 4,6 раза) у больных с положительным FISH-анализом после БЦЖ-профилактики, по сравнению с таковым в группе больных с отрицательным FISH-анализом. Отдельно стоит отметить, что ни у одного пациента с отрицательным FISH-анализом до внутрипузырной иммунопрофилактики не было отмечено прогрессирования заболевания. В то же время в группе с FISH-положительным анализом прогрессирование развилось у 8 (47,1 %) из 18. Риск прогрессирования в группах с положительным и отрицательным FISH-анализом после иммунопрофилактики существенно различался — в 9,4 раза.

У больных с высоким риском рецидивирования и прогрессирования L. Mengual и соавт. [43] изучили, используя FISH-метод, хромосомные нарушения в клетках уротелия до и после 1 курса БЦЖ-терапии. Больные, у которых обнаруживались клетки с хромосомными нарушениями после 1 курса БЦЖ, имели в 2,8 раза больший риск развития рецидивов, чем пациенты с нормальными клетками ($p = 0,017$), а риск прогрессирования не зависел от результатов FISH-анализа после внутрипузырной терапии.

В исследовании S. Savic и соавт. [44] была проанализирована роль FISH-анализа в определении рецидива после проведения БЦЖ-терапии при НМИ РМП. В исследование включено 68 пациентов; смывы из МП анализировались цитологически и методом FISH до и после введения вакцины БЦЖ. У 38 % пациентов развился рецидив. Как положительный цитологический анализ, так и положительный FISH-анализ после терапии БЦЖ были статистически значимо связаны с рецидивированием заболевания (соотношение рисков 5,1 и 5,6 соответственно; $p < 0,001$), по сравнению с отрицательными результатами. FISH-метод позволял прогнозировать рецидив после БЦЖ-терапии в случае неоднозначного цитологического анализа, однако не предоставлял дополнительной информации в случае однозначно положительного цитологического анализа.

В исследовании J. Whitson и соавт. [45] изучались возможности FISH-анализа прогнозировать рецидив после внутрипузырной терапии у пациентов с высоким риском. FISH-анализ проводился до и после каждого курса внутрипузырной терапии, цитологический анализ и цистоскопия — через 6 нед после окончания каждого курса терапии. Положительный FISH-анализ после внутрипузырной терапии указывал на большую вероятность рецидива ($p < 0,01$), а сочетание высокого риска рецидивирования по EORTC и положительного FISH-анализа после внутрипузырной терапии было признано существенным фактором в определении развития рецидива ($p < 0,01$). Авторы делают вывод о том, что положительный FISH-анализ после внутрипузырной терапии с большой степенью вероятности позволяет прогнозировать развитие рецидива; для таких пациентов необходима дополнительная адъювантная терапия.

Таким образом, авторы проводимых исследований отмечают важность полученных результатов FISH-анализа не только до начала адъювантного лечения, но также и на различных его этапах. Учитывая анализ хромосомных нарушений, определяемых FISH-методом, во время проведения внутрипузырной терапии, возможно расширение показаний к продолжению лечения в тех случаях, когда в рутинной практике было бы принято решение о прекращении лечения и активном наблюдении за развитием заболевания.

Заключение

В настоящее время идет активный поиск и разработка диагностических алгоритмов, позволяющих не только верифицировать клинически определяемый РМП, но и прогнозировать его рецидивирование на основании различных показателей, в том числе различных опухолевых маркеров. Одним из таких методов диагностики является FISH-метод. Анализ данных уже проведенных исследований позволяет сделать вывод о том, что существующий на данный момент алгоритм

диагностики и прогнозирования развития заболевания, учитывающий изменения максимально на уровне ткани (гистологическое исследование), может быть значительно дополнен данными цитогенетического исследования. Однако следует отметить, что до сих пор нет единого мнения об интерпретации полученного результата, а именно в каком случае FISH-анализ считать положительным. Кроме того, во многих исследованиях группы пациентов были крайне неоднородны (включены пациенты со стадиями как Ta–T1, так и T4, что не позволяет адекватно использовать полученные результаты для оценки рисков пациентов с НМИ РМП. В большинстве случаев данные о чувствительности, специфичности и положительной прогностической ценности использованного алгоритма диагностики получены на основании анализа пациентов, относящихся

к группам и низкого, и промежуточного, и высокого риска развития рецидива (а разница чувствительности очень существенна — от 38 до 82 % соответственно в группах низкого и высокого риска) [33].

Безусловно, эти ограничения обуславливают необходимость дальнейшего исследования в данной области с включением максимально однородной когорты пациентов.

Группа промежуточного риска представляет особый интерес в связи с тем, что результаты FISH-анализа для групп низкого и высокого риска достаточно однозначны, однако остается множество вопросов относительно рациональной тактики диагностики, прогнозирования исхода болезни и, что очень важно, верной тактики лечения пациентов с промежуточным прогнозом развития рецидива и прогрессирования НМИ РМП.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2009 г. Под ред. М.И. Давыдова, Е.М. Аксель. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. М., 2011; 22, № 3 (85), прил. 1.
2. Злокачественные новообразования в России в 2010 году (заболеваемость и смертность). Под ред. В.И. Чисова, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М., 2012.
3. Sobin L.H., Gospodarowicz M.K., Wittekind Ch. Eds. TNM Classification of Malignant Tumors, 7th ed. Wiley-Blackwell, Oxford 2009. 310 p.
4. Babjuk M., Oosterlinck W., Sylvester R. et al. EAU Guidelines on Non-Muscle-Invasive Urothelial Carcinoma of the Bladder, the 2011 Update. Eur Urol 2011;59:997–1008.
5. Клиническая онкоурология. Под ред. Б.П. Матвеева. М., 2011; с. 283.
6. Sylvester R.J., van der Meijden A.P., Oosterlinck W. et al. Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials. Eur Urol 2006;49:466–77.
7. Reeder J., O'Connell M.J., Yang Z. et al. DNA cytometry and chromosome 9 aberrations by fluorescence in situ hybridization of irrigation specimen from bladder cancer patients. Urology 1998;51(Suppl 5A):58–61.
8. Inoue T., Nasu Y., Tsushima T. et al. Chromosomal numerical aberrations of exfoliated cells in the urine detected by fluorescence in situ hybridization: clinical implication for the detection of bladder cancer. Urol Res 2000;28:57–61.
9. Ishiwata S., Takahashi S., Hommaet Y. et al. Noninvasive detection and prediction of bladder cancer by fluorescence in situ hybridization analysis of exfoliated urothelial cells in voided urine. Urology 2001;57:811–5.
10. Pycha A., Mian C., Haitel A. et al. Fluorescence in situ hybridization identifies more aggressive types of primarily noninvasive (stage Ta) bladder cancer. J Urol 1997; 157:2116–9.
11. Marano A., Pan Y., Li C. et al. Chromosomal numerical aberration detected by fluorescence in situ hybridization on bladder washing from patients with bladder cancer. Eur Urol 2000;37:358–65.
12. Zhang F.F., Arber D.A., Wilson T.G. et al. Toward the validation of aneusomy detection by fluorescence in situ hybridization bladder cancer: comparative analysis with cytology, cytogenetics and clinical features predicts recurrence and defines clinical testing limitations. Clin Cancer Res 1997; 3(12 Pt1):2317–28.
13. Awata S., Sakagami H., Tozawa K. et al. Aberration chromosome 8 and 11 in bladder cancer detected by fluorescence in situ hybridization. Urol Res 2000;28:185–90.
14. Cajulis R., George K. Haines III, Denise Frias-Hidvegi et al. Cytology, flow cytometry image analysis and interphase cytogenetics by fluorescence in situ hybridization in the diagnosis of transitional cell carcinoma in bladder washing. Diagn Cytopathol 1995; 13:214–24.
15. Jiang F., Caraway N.P., Sabichi A.L. et al. Centrosomal abnormality is common in and a potential biomarker for bladder cancer. Int J Cancer 2003;106(5):661–5.
16. Wang M.R., Perissel B., Taillandier J. et al. Nonrandom changes of chromosome 10 in bladder cancer. Detection by FISH to interphase nuclei. Cancer Genet Cytogenet 1994;73(1):8–10.
17. Stamouli M.I., Panani A.D., Ferti A.D. et al. Detection of genetic alterations in primary bladder carcinoma with dual-control and multiplex fluorescence in situ hybridization. Cancer Genet Cytogenet 2004;149(2):107–13.
18. Erbersdobler A., Friedrich M.G., Schwaibold H. et al. Microsatellite alterations at chromosomes 9p, 13q and 17p in nonmuscle-invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder. Oncol Res 1998;10(8):415–20.
19. Sokolova I., Halling K.C., Jenkins R.B. et al. The development of a multitarget, multicolor fluorescence in situ hybridization assay for the detection of urothelial carcinoma in urine. J Mol Diagn 2000; 2(3):116–23.
20. Kipp B.R., Karnes R.J., Brankley S.M. et al. Monitoring intravesical therapy for superficial bladder cancer using fluorescence in situ hybridization. J Urol 2005;173:401–4.
21. Spruc C., Ohneseit P.F., Gonzalez-Zulueta M. et al. Two molecular pathways to transitional cell carcinoma of the bladder. Cancer Res 1994;54:784–8.
22. Ishiwata S., Takahashi S., Homma Y. et al. Noninvasive detection and prediction of bladder cancer by fluorescence in situ hybridization analysis of exfoliated urothelial cells in voided urine. Urology 2001;57:811–5.
23. Ribal M.J., Alcaraz A., Mengual L. et al. Chromosomal high-polysomies predict tumor

- progression in T1 transitional cell carcinoma of the bladder. *Eur Urol* 2004;45(5):593–9.
24. Pycha A., Lodde M., Comploj E. et al. Intermediate-risk urothelial carcinoma: an unresolved problem? *Urology* 2004; 63(3):472–5.
25. Mian C., Lodde M., Comploj E. et al. Multiprobe-FISH: prognostic perspectives in superficial bladder cancer. *JPC* 2006; 59:984–7.
26. Bao Q.B., Liu J., Sun H.B. et al. Clinical value of aneusomy of chromosomes in exfoliated urothelial cells to predict the recurrence of superficial bladder cancer after complete transurethral resection. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2009;89(8): 548–51.
27. Bollmann M., Heller H., Bánkfalvi A. et al. Quantitative molecular urinary cytology by fluorescence in situ hybridization: a tool for tailoring surveillance of patients with superficial bladder cancer? *BJU Int* 2005; 95(9):1219–25.
28. Zellweger T., Benz G., Cathomas G. et al. Multi-target fluorescence in situ hybridization in bladder washings for prediction of recurrent bladder cancer. *Int J Cancer* 2006; 119(7):1660–5.
29. Nguyen C.T., Litt D.B., Dolar S.E. et al. Prognostic significance of nondiagnostic molecular changes in urine detected by UroVysion fluorescence in situ hybridization during surveillance for bladder cancer. *Urology* 2009;73(2):347–50.
30. Gofrit O.N., Zorn K.C., Silvestre J. et al. The predictive value of multi-targeted fluorescent in-situ hybridization in patients with history of bladder cancer. *Urol Oncol* 2008;26(3):246–9.
31. Bergman J., Reznicek R.C., Rajfer J. Surveillance of patients with bladder carcinoma using fluorescent in-situ hybridization on bladder washings. *BJU Int* 2008;101(1):26–9.
32. May M., Hakenberg O.W., Gunia S. et al. Comparative diagnostic value of urine cytology, UBC-ELISA, and fluorescence in situ hybridization for detection of transitional cell carcinoma of urinary bladder in routine clinical practice. *Urology* 2007;70(3):449–53.
33. Wolman S.R., Goldman B., Slovak M.L. et al. Aneusomy for detection of bladder cancer recurrence: a Southwest Oncology Group study. *Cancer Genet Cytogenet* 2007; 176(1):22–7.
34. Scacel M., Fahmy M., Brainard J.A. et al. Multitarget fluorescence in situ hybridization assay detects transitional cell carcinoma in the majority of patients bladder cancer and atypical or negative urine cytology. *J Urol* 2003;169:2101–5.
35. Takahashi T., Lohse C.M., Pankratz S. et al. Predicting urothelial carcinoma recurrences with fluorescence in situ hybridization analysis of urine. *J Urol* 2002; (suppl)167:162.
36. Jones J.S. DNA-based molecular cytology for bladder cancer surveillance. *Urology* 2006; 67 (Suppl 3A).
37. Gudjonsson S., Isfoss B.L., Hansson K. et al. The value of the UroVysion assay for surveillance of non-muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2008;54:402–8.
38. Bas W.G. van Rhijn, Henk G. van der Poel, Theo H. van der Kwast. Cytology and urinary markers for the diagnosis of bladder cancer. *Eur Urol Suppl* 2009;8:536–41.
39. Fritsche H.-M., Burger M., Dietmaier W. et al. Multicolor FISH (UroVysion) facilitates follow-up of patients with high-grade urothelial carcinoma of the bladder. *Am J Clin Pathol* 2010;134:597–603.
40. Dobruch J., Theo M. de Reijke, Borówka A. Biologic markers of urothelial cell cancer of the Bladder. *Central European Journal of Urology* 2010/63/2.
41. Rosevear H.M., Lightfoot A.J., O'Donnell M.A. Ability of urovysion FISH analysis to select patients with low- or intermediate-risk non-muscle-invasive bladder cancer (LI-NMIBC) for decreased surveillance. *J Clin Oncol* 2011;29(suppl 7), abstr.
42. Tilki D., Burger M., Dalbagni G. et al. Urine Markers for Detection and Surveillance of Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Eur Urol* 2011;60:19–28.
43. Mengual L., Marin-Aguilera M., Ribal M.J. et al. Clinical utility of fluorescent in situ hybridization for the surveillance of bladder cancer patients treated with bacillus Calmette-Guerin therapy. *Eur Urol* 2007; 52:752–9.
44. Savic S., Zlobec I., Thalmann G.N. et al. The prognostic value of cytology and fluorescence in situ hybridization in the follow-up of nonmuscle-invasive bladder cancer after intravesical Bacillus Calmette-Guérin therapy. *Int J Cancer* 2009;124(12):2899–904.
45. Whitson J., Berry A., Carroll P. et al. A multicolour fluorescence in situ hybridization test predicts recurrence in patients with high-risk superficial bladder tumours undergoing intravesical therapy. *BJU Int* 2009;104:336–9.