

Флюоресцентная гибридизация *in situ*: практическое применение в онкоурологии

С.В. Башкатов¹, А.В. Севаньяев², О.Б. Карякин¹, Г.Ф. Михайлова², Е.В. Голуб²

¹Отделение лучевого и хирургического лечения урологических заболеваний,

²Лаборатория радиационной цитогенетики ГУ МРНЦ РАМН, Обнинск

FLUORESCENT IN SITU HYBRIDIZATION: CLINICAL APPLICATION IN ONCOUROLOGY

S.V. Bashkatov¹, A.V. Sevankaev², O.B. Karyakin¹, G.F. Mihaylova², Ye.V. Golub²

¹Department of Radiotherapy and Surgery of Urologic Diseases, ²Radiation Cytogenetic Laboratory,
State Enterprise Medical Radiological Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Obninsk

Tumor markers for diagnosis of bladder cancer and defining the prognosis of the disease have been actively studied for past decade. FISH-study demonstrates the highest sensitivity and specificity. Abbot Company has developed a diagnostic test system «UroVision» which includes colored DNA-probes referring to 3, 7, 17 and 9p21 chromosomes. This system use provides clinicians with insights into an early diagnosis, prognosis and monitoring of efficacy of anticancer therapy.

Рак мочевого пузыря (РМП) является распространенным заболеванием. Ежегодно в России диагностируется 12,5 тыс. новых случаев, что составляет 2,7% всех злокачественных новообразований. На момент первичной установки диагноза доля больных с I—II стадией составляет 50,8%, III — 31,3%, IV — 12,5%, в 5,3% стадия не установлена. Общий прирост заболевших с 1993 по 2003 г. составляет 25%, что говорит об актуальности проблемы и необходимости разработки новых технологий ранней диагностики и лечения [1].

Существующая классификация переходно-клеточного РМП не позволяет полноценно прогнозировать течение заболевания. Доказано, что ведущую роль в определении выживаемости больных играют глубина инвазии новообразования, степень дифференцировки опухолевых клеток, поражение региональных лимфоузлов, наличие карциномы *in situ* (CIS) уротелия, размер и количество первичных новообразований, а также продолжительность безрецидивного периода.

Наиболее гетерогенную группу представляют опухоли, описываемые классификацией TNM как поверхностный РМП. Для опухолей, локализующихся в слизисто-подслизистом слое мочевого пузыря, после оперативного лечения характерны высокая частота рецидивов (60—90%), возможность как местного, так и системного прогрессирования. Сложной является категория больных T1G3, у которых действует «правило 30%»: у 30% вероятность развития рецидива невелика, у 30% возникнет инвазивный характер роста опухоли, у 30% произойдет системное прогрессирование с развитием метастатического РМП [2]. В настоящее время происходит активное изучение дополнительных факторов прогноза, объединенных термином «биологические». К ним относятся генные и структурные мутации, метилирование промотор-

ных генов, определение экспрессии различных белковых продуктов в злокачественной клетке.

Развитие фундаментальной науки позволило рассматривать канцерогенез как следствие морфологических и/или функциональных нарушений в генетическом аппарате клеток. Хромосомные аномалии регулярно формируются в отдельных соматических клетках у каждого человека под воздействием целого ряда факторов внешней и внутренней среды. Это случайные сбои в работе клеточных систем репарации. Другим фактором, увеличивающим число хромосомных аномалий, является воздействие на организм человека цитотоксических факторов: облучения, химических мутагенов, лекарственных препаратов цитостатического ряда.

Увеличение числа соматических клеток, несущих хромосомные aberrации, повышает в дальнейшем вероятность формирования клеточного клона, способного к опухолевой трансформации. Некоторые хромосомные aberrации могут привести к серьезным изменениям в метаболизме клеток, активируя онкогены или ингибируя действие туморсупрессорных генов. Такая клетка активно делится, формирует клон, состоящий из клеток-потомков с измененным (в сторону увеличения) пролиферативным потенциалом. Появление в клетках-потомках дополнительных мутаций, затрагивающих гены-регуляторы факторов роста, может привести к образованию устойчивого патологического клеточного клона с формированием злокачественных свойств (неконтролируемая пролиферация, независимость от регулирующих воздействий клеточного окружения, способность к инвазивному росту, метастазированию). Среди так называемых стабильных структурных изменений хромосом выделяют следующие: транслокации, делетированные хромосомы, вставки, инверсии, изохромосомы.

Переходно-клеточный рак характеризуется наличием в опухолевых клетках различных количественных и структурных хромосомных аномалий. Имеются публикации о встречаемости хромосомных аномалий во многих парах гомологичных хромосом. В табл. 1 суммированы данные о типах хромосомных нарушений, которые регистрировались при РМП.

Патологические изменения в генах, приводящие к развитию рака, можно разделить на две группы:

— активация протоонкогенов за счет хромосомных транслокаций, амплификации и точечных мутаций;

— инактивация туморсупрессорных генов в результате повторяющихся хромосомных делеций, что встречается примерно в 90% случаев. В настоящее время идентифицировано около 20 таких генов. Они изучены значительно хуже, чем протоонкогены. При делеции происходит потеря генетического материала, но в нормальной клетке хромосомы парные, при потере части одного гена утраченную функцию на себя может взять его аллель. Однако оставшаяся копия может быть функционально неактивна за счет возникновения точечной мутации.

Флюоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) — новое направление молекулярно-цитогенетической диагностики. В основе метода лежит реакция гибридизации между созданным по специальной технологии ДНК-зондом, который представляет собой нуклеотидную последовательность ограниченного размера, и комплементарным ему участком ядерной ДНК цитогенетического препарата, нанесенного на предметное стекло. ДНК-зонд несет «метку», т.е. содержит нуклеотиды, напрямую связанные с флюо-

рохромами или гаптеном для дальнейшей визуализации антителами, несущими флюорохром. С помощью флюоресцентного микроскопа определяют место связывания ДНК-зонда в геноме. Метод имеет существенное ограничение — любая хромосомная аномалия может быть выявлена 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 два участка хромосом на одном цитогенетическом препарате. Отсутствие сигнала может свидетельствовать как о делеции концевого участка, так и о потере целой хромосомы. Локусспецифические ДНК-зонды применяются для детекции транслокаций, делеций, инверсий.

I. Sokolova и соавт. [15] провели исследование, целью которого было определение хромосомных мутаций, наиболее часто встречающихся при РМП. Выбор указанных проб основывался на данных литературы, в которой показано, что нарушения в хромосомах 3, 7, 8, 9, 11, 15, 17, 18, Y и 9p21 наиболее часты при РМП. При анализе образцов мочи, собранной от 93 больных РМП и 86 здоровых доноров, было установлено, что хромосомные аномалии пар 3, 7, 17 и 9p21 чаще других обнаруживаются при РМП. Данное исследование послужило основой для разработки многоцветного FISH-набора фирмы UroVysion (Vysis, США). Набор характеризуется наличием центромерных ДНК-зондов к парам хромосом 3, 7, 17 и локусспецифическим ДНК-зондом к хромосоме 9p21. ДНК-зонды окрашены в красный, зеленый, голубой и золотой цвет соответственно.

Для нормальной клетки характерен диплоидный набор хромосом, что будет выражаться в наличии двух сигналов каждого цвета. Опухолевая клетка больше нормальной уротелиальной клетки по размерам, количество флюоресцентных сигналов может отличаться от двух. Согласно рекомендациям фирмы-производителя, результат является FISH-положительным, если при анализе всего образца в четырех клетках отмечается увеличение числа сигналов от двух и более хромосом или отсутствует локус 9p21 в 12 клетках [16, 17].

Таким образом, сочетание принципов морфологической диагностики опухоли и цитогенетических методик позволяет говорить о принципиально новом направлении — молекулярной цитологии. Ниже представлены его основные пути клинического применения.

Таблица 1. Хромосомные нарушения в клетках уротелия при РМП

Автор	Хромосома
J. Reeder и соавт. [3]	9
T. Inoue и соавт. [4]	7 и 9
S. Ishiwata и соавт. [5]	9 и 17
A. Pycha и соавт. [6]	7, 9 и 17
A. Marano и соавт. [7]	7, 8, 9 и 11
F. Zhang и соавт. [8]	1, 7, 8, 9 и Y
S. Awata и соавт. [9]	8 и 11
R. Cajulis и соавт. [10]	8 и 12
F. Jiang и соавт. [11]	4 и 9
M. Wang и соавт. [12]	10
M. Stamouli и соавт. [13]	5, 8, 9, 11, 13, 15, 17, X и Y
A. Erbersdobler и соавт. [14]	9, 13 и 17

Диагностика

В странах Западной Европы и США широко применяется цитологическое исследование мочи для постановки диагноза РМП. Метод прост в исполнении, недорог, но не лишен ряда недостатков: отмечается высокая чувствительность в определении низкодифференцированных опухолей (G₃) — 94,7% и инфильтративно растущих (pT1—4) — 90,4%, в то же время чувствительность для обнаружения высокодифференцированных опухолей составляет только 25%. При этом результаты исследования зависят от квалификации цитолога [16, 17].

При проведении сравнительной характеристики чувствительности FISH-метода и цитологического исследования мочи были получены статистически значимые различия в диагностике pTis — 100 и 78% ($p=0,046$), стадий pT1—pT4 — 95 и 60% ($p=0,025$), низкодифференцированных опухолей (G₃) — 97 и 71% соответственно ($p=0,003$) [17]. Следует отметить, что в ранних публикациях, посвященных FISH, не изучалась связь цитогенетических маркеров со стадией РМП, основной акцент был сделан на то, что применение FISH-метода способ-

ствует более точной и своевременной постановке диагноза.

J. Placer и соавт. [18] проанализировали чувствительность и специфичность системы UroVysion у 85 больных, которым была проведена биопсия/резекция опухоли. Гистологически переходно-клеточный рак подтвержден в 47 (54,6%) случаях. Общая чувствительность цитологического исследования составила 63,8%, FISH — 80,4% ($p<0,05$). Опухоли, не обнаруженные FISH-методом, характеризовались низким злокачественным потенциалом (TaG1, менее 30 мм), в то же время были обнаружены все инвазивные формы (T2—4). Специфичность цитологического исследования составила 86,1%, а FISH — 85,35%.

R. Veeranachaneni и соавт. [19] получили сходные данные о более высокой чувствительности FISH-метода перед цитологией (72,22% против 45,8%; $p=0,087$). Результаты могли быть еще выше, но, опираясь на критерии Halling и соавт. [16, 17], некоторые образцы с наличием мутаций были расценены как FISH-отрицательные.

В табл. 2 и 3 представлена чувствительность FISH-метода в зависимости от категорий T и G [20].

Таблица 2. Чувствительность FISH-диагностики в зависимости от категории T (цит. по [20])

Автор	Метод диагностики	Чувствительность, % (n)				Общая
		pTa	pTis	pT1	pT2—pT4	
K. Halling и соавт. [16]	Цитология	47 (36)	78 (18)	—	60 (15)	58 (69)
	FISH	65 (37)	100 (17)	—	95 (19)	81 (73)
L. Bubendorf и соавт. [21] *	Цитология	41 (34)	—	62 (8)	89 (9)	53 (51)
	FISH	71 (34)	—	88 (8)	89 (9)	76 (51)
L. Bubendorf и соавт. [21] **	Цитология	24 (45)	—	50 (12)	85 (13)	40 (70)
	FISH	42 (45)	—	83 (12)	92 (13)	59 (70)
M. Sarosdy и соавт. [22]	Цитология	25 (32)	33 (6)	67 (6)	33 (3)	33 (6)
	FISH	66 (32)	100 (7)	83 (6)	100 (3)	100 (7)
K. Halling и соавт. [17]	Цитология	—	—	—	—	—
	FISH	65 (37)	100 (17)	—	95 (19)	81 (73)
J. Placer и соавт. [18]	Цитология	42 (26)	—	92 (12)	89 (9)	64 (47)
	FISH	64 (25)	—	100 (12)	100 (9)	80 (46)
M. Scacel и соавт. [23]	Цитология	—	—	—	—	—
	FISH	83 (63)	100 (3)	83 (6)	100 (9)	85 (82)
M. Friedrich и соавт. [24]	Цитология	—	—	—	—	—
	FISH	62 (21)	—	67 (18)	83 (6)	67 (45)
P. Degtyar и соавт. [25] *	Цитология	30 (20)	—	57 (7)	—	37 (27)
	FISH	45 (20)	—	86 (7)	—	56 (27)
P. Degtyar и соавт. [25] **	Цитология	36 (22)	—	63 (8)	—	37 (27)
	FISH	45 (22)	—	88 (7)	—	56 (27)
M. Varella-Garcia и соавт. [26]	Цитология	—	—	—	—	43 (7)
	FISH	—	—	—	—	86 (7)
Всего	Цитология	35 (215)	67 (24)	66 (53)	76 (49)	48 (341)
	FISH	64 (337)	100 (44)	83 (77)	94 (87)	74 (545)

Примечание. Здесь и в табл. 3: * смывы из мочевого пузыря, ** образцы мочи получены при самостоятельном мочеиспускании.

При суммарном анализе 800 цитологических образцов тест UroVysion показал диагностическое преимущество перед цитологическим исследованием: различия чувствительности в зависимости от глубины инвазии составили 26%, а от степени дифференцировки опухоли — 30%. Таким образом, применение FISH-метода позволило выявить FISH дополнительно у 200 больных РМП.

Специфичность FISH-метода составила от 86 до 98% по отношению к цитологическому исследованию [20].

Сравнительная характеристика чувствительности и специфичности FISH с другими маркерами представлена в табл. 4 [27]. Диагностическая система UroVysion обладает наибольшей чувствительностью среди применяемых маркеров и приемлемой специфичностью.

В 2007 г. появились публикации о новом направлении использования FISH-диагностики в практике уролога. М. Marin-Aguilera и соавт. [28] впервые проанализировали клиническое значение теста UroVysion в диагностике опухолей верхних мочевыводящих путей. Диагностика данных опухолей основана прежде всего на различных методах визуализации (спиральная компьютерная томография, экскреторная урография, ретроградная пиелография), при

которых обнаруживаются дефекты наполнения контрастным веществом лоханки и/или мочеточника. Алгоритмом диагностики обязательно предусмотрены эндоскопия верхних мочевых путей, цитологическое исследование мочи. Учитывая невысокую чувствительность цитологии, авторы дополнительно использовали FISH с целью более точной диагностики рака верхних мочевых путей. В исследование включены 30 больных переходно-клеточным раком лоханки или мочеточника, гистологический диагноз подтвержден после оперативного лечения в 100% случаев. Получены достоверные различия в чувствительности цитологического исследования и FISH-диагностики (36% против 76,7%; $p=0,0056$). В 44% (11/25) случаев цитологические находки описывались как «подозрительные», молекулярно-цитогенетический метод показал способность доказать рак в 64% (7/11) случаев у этих больных. При анализе всех FISH-образцов было обнаружено 554 клетки, содержащие ядра, в которых встречалась полисомия пар хромосом 3, 7 и 17 в 67, 54 и 43% соответственно [28].

Прогнозирование

Важным для клинического применения теста UroVysion является тот факт, что специфические и структурные и генетические изменения, выявленные в клетках слущенного эпителия мочевого пузыря

Таблица 3. Чувствительность FISH-диагностики в зависимости от категории G (цит. по [20])

Автор	Метод диагностики	Чувствительность, % (n)					
		G ₁	G ₂	G ₃	Низкая	Высокая	Общая
K. Halling и соавт. [16]	Цитология FISH	27 (11)	54 (24)	71 (34)	—	—	58 (69)
		36 (11)	76 (25)	97 (34)	—	—	81 (73)
L. Bubendorf и соавт. [21]*	Цитология FISH	14 (21)	41 (29)	76 (17)	—	—	42 (67)
		71 (21)	86 (29)	94 (17)	—	—	84 (67)
M. Sarosdy и соавт. [22]	Цитология FISH	18 (22)	44 (9)	41 (17)	—	—	31 (48)
		55 (22)	78 (9)	94 (18)	—	—	73 (49)
K. Halling и соавт. [17]	Цитология FISH	—	—	—	—	—	—
		36 (11)	76 (25)	97 (37)	—	—	81 (73)
J. Placer и соавт. [18]	Цитология FISH	25 (16)	67 (12)	95 (19)	—	—	64 (47)
		53 (15)	83 (12)	100 (19)	—	—	80 (46)
M. Scacel и соавт. [23]	Цитология FISH	—	—	—	—	—	—
		83 (23)	80 (35)	96 (24)	—	—	85 (82)
M. Friedrich и соавт. [24]	Цитология FISH	—	—	—	—	—	—
		57 (7)	63 (28)	83 (11)	—	—	67 (46)
P. Degtyar и соавт. [25]*	Цитология FISH	—	—	—	25 (16)	64 (14)	43 (30)
		—	—	—	38 (16)	93 (14)	63 (30)
P. Degtyar и соавт. [25]**	Цитология FISH	—	—	—	27 (15)	67 (12)	44 (27)
		—	—	—	33 (15)	92 (12)	59 (27)
M. Varella-Garcia и соавт. [26]	Цитология FISH	—	—	—	—	—	43 (7)
		—	—	—	—	—	86 (7)
Всего	Цитология FISH	19 (73)	50 (74)	71 (87)	26 (31)	65 (26)	48 (288)
		58 (113)	77 (163)	96 (163)	35 (31)	92 (26)	78 (493)

ря, могут помочь в определении прогноза заболевания. В частности, установлено, что делеция локуса 9p21 указывает на возможность развития поверхностного рецидива, а анеуплоидия в хромосомах 3, 7, 17 предполагает рецидивирование и прогрессирование РМП [29].

S. Ishiwata и соавт. [5] при FISH-тестировании больных РМП отметили, что потеря хромосом (гипоплоидия) чаще встречается при высокодифференцированных опухолях, в то время как гиперплоидия характерна для низкодифференцированных. У пациентов с потерей хромосомы 9 вероятность развития рецидива выше, чем у больных с диплоидным набором по этой паре хромосом (67% против 27%; $p=0,16$). При делеции хромосомы 17 рецидив развивается в 100% случаев, а у пациентов с диплоидным набором этой пары — в 23% ($p=0,015$) [5].

A. Rycha и соавт. [30] проанализировали группу промежуточного риска рецидивирования и прогрессирования. Согласно стандартным клиничко-морфологическим факторам прогноза 51 пациент был включен в данную группу после планового оперативного лечения. В последующем изучены хромосомные нарушения в уротелиальных клетках FISH-методом. У 14 пациентов с FISH-отрицательным результатом рецидив развился в 14,3% случаев. Из 20 пациентов с потерей локуса 9p21 и/или анеуплоидией хромосомы 3 рецидивирование наблюдалось у 15%. Анеуплоидия в паре хромосом 7 и/или 17 обнаружена у 15 больных, у 9 (60%) развился рецидив, причем 5 (55,5%) из них имели инвазивный характер роста ($p=0,004$). На основании полученных данных авторы рекомендуют упразднить группу промежуточного прогноза: больных с нарушениями хромосом 7/17 отнести в группу высокого риска с соответствующей лечебной тактикой и схемой наблюдения [6, 30].

В исследовании C. Mian и соавт. [31] была подтверждена взаимосвязь между хромосомными aberrациями и клиническим течением поверхностного РМП в достаточно большой когорте пациентов ($n=96$). Больные с неблагоприятными генетическими нарушениями (aberrации пары хромосом 7 и/или 17) имели значительно более короткий безрецидивный период по сравнению с больными, у которых имелись количественные нарушения в паре 3 и/или 9. В первом случае он составил 20 мес (срок наблюдения 4—48 мес), во втором — 34,5 мес (срок наблюдения 8—71 мес) [31].

По образному выражению G. Sauter и соавт. [32], поверхностный РМП состоит из двух подгрупп: «котят» и «тиграт». Для первых характерно благоприятное течение, вторые характеризуются развитием инвазивных рецидивных опухолей, возникновением отдаленных метастазов.

Достаточно часто встречается ситуация, при которой обнаруживаются хромосомные aberrации,

но РМП не верифицируется гистологически, не обнаруживается методами визуализации. В современной литературе это получило название «предварительный позитивный результат». Клиническое значение этого феномена изучали M. Scacel и соавт. [23]: из 9 больных с FISH-положительным результатом рецидив развился у 8 в течение 12 мес. Такой срок был выбран произвольно и является «точкой», после которой результаты FISH-диагностики считаются ложноположительными. Хромосомные aberrации в клетках уротелия развиваются на 3—12 мес (медиана 5,5 мес) раньше, чем опухоль может быть определена цистоскопией и подтверждена морфологически [23].

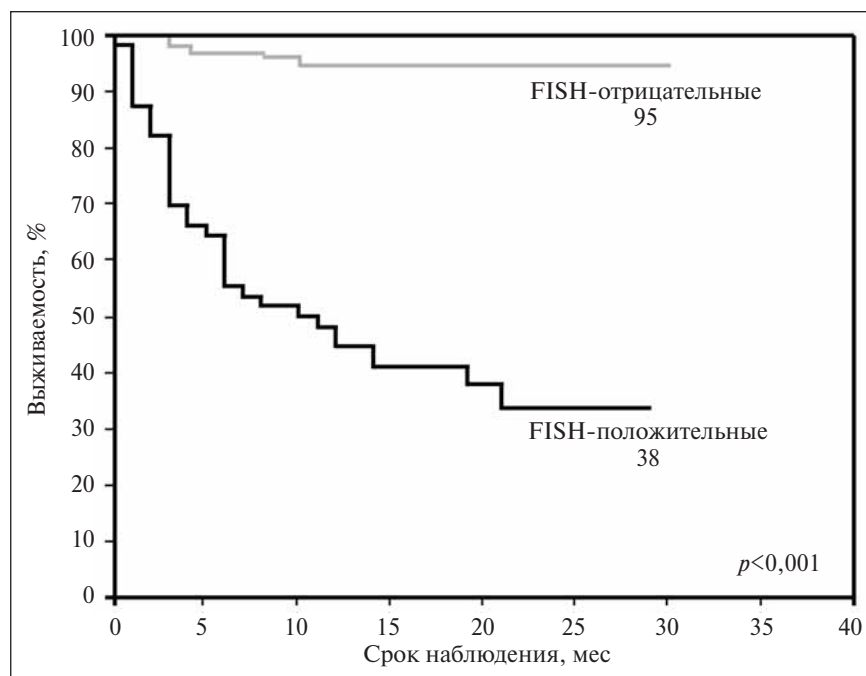
T. Takahashi и соавт. [33] при обследовании 166 пациентов с негативной цистоскопией обнаружили рецидивы в течение года в 28,6% случаев в группе больных с FISH-положительными результатами и в 9,7% — с FISH-отрицательными.

Проспективное исследование в клинической лаборатории Кливленда (США) показало развитие рецидива в 62% (34/55) и в 5% (8/155) случаев в зависимости от результатов цитогенетического исследования (см. рисунок) [20].

Трансуретральная резекция опухоли мочевого пузыря позволяет удалить видимый внутрипузырный компонент опухоли, последующая иммунопрофилактика преследует целью максимальную эрадикацию злокачественных клеток. FISH может быть использована для мониторинга эффективности внутрипузырной иммунопрофилактики. R. Benjamin и соавт. [34] использовали диагностическую систему UroVysion для обнаружения клеток с хромосомными aberrациями до и после внутрипузырной иммунопрофилактики вакциной БЦЖ. Авторами показано, что из 18 пациентов с положительным FISH-результатом у 15 (83,3%) наблюдалось снижение количества патологических клеток, у 2 (11,1%) — увеличение и у одного (5,6%) больного было обнаружено незначительное количество опухолевых клеток. Таким образом, можно

Таблица 4. Сравнительная характеристика чувствительности и специфичности, наиболее широко применяемых маркеров для диагностики РМП (цит. по [27])

Маркер	Чувствительность, %	Специфичность, %
FISH	79	70
BTA trak	71	66
NMP22	71	73
ImmunoCyt	67	75
BTA stat	58	73
FDP	54	61



Различия в безрецидивной выживаемости в зависимости от FISH-статуса (цит. по [20])

обнаружить больных, резистентных к БЦЖ-терапии. Пациенты с положительным результатом FISH до внутрипузырной иммунопрофилактики характеризовались высоким риском рецидивирования: в 3,3 раза выше такового при отрицательном результате FISH. Риск рецидива был в 4,6 раза выше у больных с положительным результатом FISH после БЦЖ-профилактики по сравнению с таковым при отрицательном результате FISH. Особенно важные данные получены при сопоставлении генетических изменений в клетках уротелия и развития инвазивного рецидива. Ни у одного пациента с отрицательным результатом FISH до внутрипузырной иммунопрофилактики не развился инвазивный рецидив при среднем сроке наблюдения 576 дней. В то же время в группе с FISH-положительным статусом прогрессирование развилось у 8 (47,1%)

из 18 больных в среднем через 338 дней. При сравнении риска прогрессирования в группах с положительным и отрицательным результатом после иммунопрофилактики выявлено увеличение последнего в 9,4 раза [34].

Адьювантная иммунотерапия вакциной БЦЖ является методом выбора у больных с высоким риском рецидивирования и прогрессирования поверхностного РМП. L. Mengual и соавт. [35] проследили динамику результатов FISH у данной категории больных после одного курса БЦЖ-терапии. Больные, у которых обнаруживались клетки с хромосомными aberrациями, имели в 2,8 раза больший риск развития рецидивов, чем пациенты с нормальными клетками ($p=0,017$). В то же время риск прогрессирования не зависит от результатов FISH после внутрипузырной терапии [35].

Современные молекулярно-цитогенетические технологии все активнее применяются в практической работе онкоуролога. Диагностическая тест-система UroVysion используется на всех этапах ведения больных РМП: ранняя диагностика, прогнозирование течения заболевания, оптимизация и мониторинг эффективности применяемых методов лечения. Имеющиеся структурные и генные мутации позволяют предсказывать развитие раннего рецидива, прогрессирование заболевания (как локальное, так и системное) и могут служить дополнительным основанием для использования более активной хирургической тактики, применения современных схем полихимиотерапии, таргетных препаратов или, напротив, обосновать органосохраняющее лечение больных РМП.

Литература

1. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Злокачественные новообразования в России и странах СНГ в 2003 г. М.; 2005.
2. Shahin O., Thamann G.N., Rentsch C. et al. A retrospective analysis of 153 patients treated with or without intravesical bacillus Calmette-Guérin for primary stage T1 grade 3 bladder cancer: recurrence, progression and survival. J Urol 2003;169(1):96–100.
3. Reeder J.E., 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 (5A Suppl):58–61.
4. 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(1):57–61.
5. 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(4):811–5.
6. 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.
7. 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(3):358–65.
8. 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 Pt 1):2317–28.

9. 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(3):185—90.
10. Cajulis R.S., Haines G.K., Frias-Hidvegi D. 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(3):214—24.
11. 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;20;106(5):661—5.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. Sokolova I.A., Halling K.C., Tenkins 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.
16. Halling K.C., King W., Sokolova I.A. et al. A comparison of BTA stat, hemoglobin dipstick, telomerase and Vysis UroVysion assays for the detection of urothelial carcinoma in the urine. *J Urol* 2002;167(15):2001—6.
17. Halling K.C., King W., Sokolova I.A. et al. A comparison of cytology and fluorescence in situ hybridization for the detection of urothelial carcinoma. *J Urol* 2000;164(5):1768—75.
18. Placer J., Espinet B., Salido M. et al. Clinical utility of a multiprobe FISH assay in voided urine specimens for detection of bladder cancer and its recurrences, compared with urinary cytology. *Eur Urol* 2002;42(6):547—52.
19. Veeranachaneni R., Nordberg M.L., Shi R. et al. Evaluation of fluorescence in situ hybridization as an ancillary tool urine cytology in diagnosing urothelial carcinoma. *Diagn Cytopathol* 2003;28(6):301—7.
20. Jones J.S. DNA-based molecular cytology for bladder cancer surveillance. *Urology* 2006;67(3 Suppl 1):35—45; discussion 45—7.
21. Bubendorf L., Grilli B., Sauter G. et al. Multiprobe FISH for enhanced detection of bladder cancer in voided urine specimens and bladder washings. *Am J Clin Pathol* 2001;116(1):79—86.
22. Sarosdy M.F., Schellhammer P., Bokisky G. et al. Clinical evaluation of a multi-target fluorescence in situ hybridization assay for detection of bladder cancer. *J Urol* 2002;168(5):1950—4.
23. 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(6):2101—5.
24. Friedrich M.G., Toma M.I., Hellstern A. et al. Comparison of multitarget fluorescence in situ hybridization in urine with other noninvasive test for detecting bladder cancer. *BJU Int* 2003;92(9):911—4.
25. Degtyar P., Neulander E., Zirkhin H. et al. Fluorescence in situ hybridization performed on exfoliated urothelial cell in patients with transitional cell carcinomas of the bladder. *Urology* 2004;63(2):398—401.
26. Varella-Garcia M., Akduman B., Sunpaweravong P. et al. The UroVysion fluorescence in situ hybridization assay is an effective tool for recurrence of bladder cancer. *Urol Oncol* 2004;22(1):16—9.
27. van Rhijn W.G., van der Poel H.G., van der Kwast T.H. Urine markers for bladder cancer surveillance: a systematic review. *Eur Urol* 2005;47(6):736—48.
28. Marin-Aguilera M., Mengual L., Ribal M.J. et al. Utility of fluorescent in situ hybridization as a non-invasive technique in the diagnosis of upper urinary tract urothelial carcinoma. *Eur Urol* 2007;51(2):409—15.
29. Spruk C.H., Ohneseit P.F., Gonzalez-Zulueta M. et al. Two molecular pathways to transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer Res* 1994;54(3):784—8.
30. Pycha A., Lodde M., Comploj E. et al. Intermediate-risk urothelial carcinoma: an unresolved problem? *Urology* 2004;63(3):472—5.
31. Mian C., Lodde M., Comploj E. et al. Multiprobe fluorescence in situ hybridization: prognostic perspectives in superficial bladder cancer. *J Clin Pathol* 2006;59(9):984—7.
32. Sauter G., Mihatsch M.J. Pussycats and baby tigers: non-invasive (pTa) and minimally invasive (pT1) bladder carcinomas are not the same! *J Pathol* 1998;185(4):339—41.
33. Takahashi T. et al. Predicting urothelial carcinoma recurrences with fluorescence in situ hybridization analysis of urine. *J Urol* 2002;167(Suppl):162, abstr 651.
34. 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(2):401—4.
35. 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 BCG therapy. *Eur Urol* 2007;52(3):752—9, abstr.

Уважаемые онкоурологи!

Сайт Российского общества онкоурологов (РООУ) www.roou.ru приглашает вас к активному сотрудничеству.

На сайте вы можете знакомиться с деятельностью и планами РООУ, регистрироваться для участия в мероприятиях организации, читать номера журнала «Онкоурология», следить за новостями из области онкоурологии и информацией о российских клиниках, оказывающих квалифицированную помощь пациентам с онкоурологическими заболеваниями. Если вы хотите, чтобы информация о ваших клинике, отделении, кафедре была опубликована на сайте www.roou.ru, можете прислать ее по e-mail: roou@roou.ru.

В 2008 г. мы планируем публиковать научно-практические материалы российских и зарубежных авторов, рекомендации и стандарты, выработанные зарубежными институтами и организациями. Кроме того, будет открыт форум, где вы сможете общаться, делиться профессиональным опытом, задавать вопросы коллегам.

Ждем ваших пожеланий, замечаний.

До встречи на сайте ROOU.ru!