

рогемаурия — у всех. Оценка УЗИ-признаков лучевых циститов у больных 3-й группы показала достоверное увеличение объема мочевого пузыря у пациентов с микроцистисом, однако в меньшей степени супероксиддисмутаза оказала положительное действие на инкрустацию стенок мочевого пузыря и наличие взвеси в его просвете (табл. 6). Язва мочевого пузыря исчезла у всех больных, однако более чем в 60% наблюдений при осложненных циститах сохранились признаки воспаления (гиперемия и отек).

Таким образом, супероксиддисмутаза следует применять у больных с геморрагическим синдромом, при язвенном лучевом цистите и уменьше-

нии объема мочевого пузыря. Итак, препараты «Димексид», «Гепон» и «Рексод» имеют разную направленность действия. В частности, при выраженном фиброзе стенки мочевого пузыря предпочтительнее следует отдавать применению инстилляций раствора димексида; при выраженном инфекционном процессе — использованию гепона, а при гематурии и нарушении целостности слизистой мочевого пузыря (эрозивный или язвенно-некротический цистит) — супероксиддисмутаза. Выбор метода лечения должен основываться на оценке субъективных жалоб больных и данных объективных методов исследования.

### Литература

1. Вишневецкая Е.Е., Косенко И.А. Отдаленные результаты комплексной терапии больных раком шейки матки с неблагоприятным прогнозом // *Вопросы онкологии*. — 1999. — Т. 45, №4. — С. 420—423.
2. Голдобенко Г.В., Ткачев С.И. Злокачественные опухоли мужских половых органов. Лучевая терапия злокачественных опухолей. — М.: Медицина, 1996. — С. 319.
3. Карякин О.Б. Неoadьювантная и адьювантная терапия при органосохраняющем лечении рака мочевого пузыря: Материалы VI Российской ежегодной онкологической конференции. — М., 2001. — С. 103—105.
4. Бардычев М.С. Местные лучевые повреждения и их классификация // *Диагностика и лечение поздних местных лучевых повреждений*. — Обнинск, 1988. — С.3—11.
5. Жаринов Г.М., Винокуров В.Л., Заикин Г.В. Лучевые повреждения прямой кишки и мочевого пузыря у больных раком шейки матки // *Мир медицины*. — 2000. — №7. — С. 8—11.
6. Бардычев М.С. Лечение местных лучевых повреждений // *Лечащий врач*. — 2003. — №5. — С. 78—79.
7. Костромина К.Н., Титова В.А., Демидова Л.Д. Достижения и направления развития лучевой терапии гинекологического рака // *Доклад IV сессии общего собрания РАМН*. — М., 1995.
8. Цыб А.Ф. Местные лучевые повреждения. — М.: Медицина, 1985. — С.240.
9. Бардычев М.С. Реабилитация онкологических больных с поздними местными лучевыми повреждениями: Материалы I съезда онкологов стран СНГ. — 1996. — С. 657—658.
10. Дубровская В.Ф. Патогенез радиоиндуцированных склерозов // *Медицинская радиология*. — 1991. — № 11. — С. 53 — 57.
11. Терехов О.В., Бардычев М.С., Пасов В.В. Принципы лечения поздних лучевых повреждений мочевыводящей системы: Материалы VI Российской ежегодной онкологической конференции. — М., 2002. — С. 206.

## Опухолевые маркеры при скрининге и мониторинге больных раком мочевого пузыря

С.П. Даренков, Д.В. Перлин, В.Н. Паршина, И.В. Чернышев

НИИ урологии Минздрава РФ,  
Поликлиника № 5 ФСБ РФ, Москва

### *Tumor markers during screening and monitoring of patients with cancer of the urinary bladder*

*S.P. Darenkov, D.V. Perlin, V.N. Parshina, I.V. Chernyshev*

*The study was undertaken to evaluate the specificity and sensitivity of a rapid method for qualitative determination of the content of NMP 22 in the diagnosis of cancer of the bladder, as well as the efficiency of the method in detecting recurrences of this disease.*

*The method is based on enzyme immunoassay of the nuclear matrix proteins that are incorporated into the cell nuclear membrane, whose levels are approximately 20—80 times higher in the cancer cells of the bladder. The study included 83 patients. Group 1 comprised 18 patients with new-onset bladder cancer. Group 2 comprised 26 patients with histologically verified recurrent bladder cancer. Group 3 consisted of 19 patients who had a history of bladder cancer, received surgical treatment, and had no recurrences for at least 6 months. The control group included 20 healthy donors.*

*The test urine was put into a test well and the results were assessed 30 minutes later.*

*The resultant sensitivity of the test was 50% ( $p < 0.05$ ) in the patients with new-onset cancer of the bladder and 54% ( $p < 0.05$ ) in those with its recurrent cancer. With staging and grading of the disease and with higher tumor anaplasia, the sensitivity of the test increases: 37, 75, and 80% in T1, T2, T3, respectively ( $p < 0.05$ ); 30, 50, and 87% in G1 ( $p > 0.05$ ), G2 ( $p < 0.05$ ), G3 ( $p < 0.05$ ). Its specificity was 100% in Group 3 and 90% in the control group ( $p < 0.05$ ). Thus, its total specificity was 95% ( $p < 0.05$ ). The study has led to the conclusion that detection of NMP 22 is a promising marker of bladder carcinoma, which show a rather high specificity and specificity not only in identifying primary tumors, but a recurrence of the disease.*

В настоящее время рак мочевого пузыря (РМП) занимает в структуре онкологической заболеваемости населения России 8-е место среди мужчин и 18-е среди женщин. По темпу абсолютного прироста среди онкоурологических заболеваний РМП выходит на 4-е место, уступая лишь раку предстательной железы, почки и яичка [1].

Сегодня в России под динамическим наблюдением находятся около 60 тыс. больных РМП [2]. По-прежнему у большей части пациентов заболевание выявляют на поздних стадиях. Так, начальные стадии РМП диагностированы лишь у 45% больных. Одним из первых признаков болезни, как правило, является гематурия. Она нередко бывает микроскопической и устанавливается случайно при исследовании мочи. Длительное время заболевание может протекать бессимптомно и не вызывать беспокойства у больного, что затрудняет раннюю диагностику и отрицательно сказывается на выживаемости. Летальность в течение первого года с момента установления диагноза составляет 30%.

Все это создает предпосылки для поиска новых методов диагностики РМП, которые позволяют выявлять заболевание на ранних стадиях и контролировать эффективность лечения. Одним из таких направлений является определение уринологических маркеров. К перспективным маркерам можно отнести определяемые в моче специфический ядерный белок матрицы 22, антиген опухоли мочевого пузыря (ВТА), антиген РМП (УВС), теломеразу (ПЦР в клетках осадка мочи). Определение маркеров основано на разных методах. Так, определение теломеразы мочи основано на совмещении реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции. Теломераза — комплекс обратных транскриптаз, которые восстанавливают теломеры. Отмечено, что активность теломераз усилена в раковых клетках мочевого пузыря, что позволяет использовать это как высокоспецифичный тест диагностики при цитологическом исследовании мочи.

Тест-система UroVysion используется для обнаружения генетических изменений в клетках мочевого пузыря при помощи многомишеневой флуоресцентной внутриклеточной гибридизации в анализах мочи пациентов, страдающих РМП. Тест-система состоит из набора ДНК зондов к 3-й, 7-й, 17-й хромосомам и к участку 9p21. Результат считается положительным, если выявляется 5 и более клеток с избыточными 2 и более хромосомами 3-й, 7-й, 17-й; 12 или более клеток с делецией 9p21 или при 10% и более выявлении трисомии по одной из хромосом: 3-й, 7-й и 17-й.

Определение большинства онкомаркеров в моче основано на выявлении опухолевых антигенов с помощью иммуноферментного или иммунохрома-

тографического методов. К таким онкомаркерам относятся ВТА, Мсм 5, УВС, NMP 22.

ВТА stat test основан на иммунохроматографическом методе определения в моче антигена, представляющего собой одноцепочечный белок с молекулярной массой 100 кД, с использованием моноклональных антител. Опухолевый антиген вырабатывается только опухолевыми клетками и обладает свойствами ростового фактора, за счет чего усиливается пролиферация опухолевых клеток. Количество белка Мсм 5, присутствующего в раковых клетках, определяют в образцах мочи с помощью иммунофлуориметрического анализа, используя смесь 2 моноклональных антител к Мсм 5 (аминокислоты 367—582).

Антиген УВС представляет собой растворимый фрагмент цитокератина (8 и 18), характерного для быстро делящихся клеток эпителия мочевого пузыря. Уровни УВС оцениваются с помощью твердофазного иммуноферментного анализа в образцах мочи.

Цель настоящего исследования — оценка специфичности и чувствительности экспресс-метода качественного определения содержания специфических ядерных матричных белков 22 при диагностике РМП, а также эффективности метода для обнаружения рецидивов данного заболевания.

#### Материал и методы

Метод основан на определении ядерных матричных белков, входящих в состав оболочки ядра клетки и ассоциированных с репликацией ДНК, синтезом РНК и экспрессией генов при помощи иммуноферментного анализа. Антитела при этом методе распознают 2 домена ядерных белков митотического аппарата. Уровень ядерных белков матрицы повышен в раковых клетках мочевого пузыря приблизительно в 20—80 раз и содержится в моче пациентов, больных РМП.

В исследование включены 83 пациента. 1-ю группу составили 18 больных с впервые в жизни выявленным РМП. Во 2-ю группу вошли 26 пациентов с гистологически подтвержденным рецидивом РМП. 3-я группа включала 19 пациентов с РМП в анамнезе, подвергшихся оперативному лечению, и отсутствием рецидивов заболевания минимум 6 мес. Контрольную группу составили 20 здоровых.

Клиническое обследование больных включало сбор анамнеза, общий анализ мочи, крови, биохимический анализ крови, 3-кратное цитологическое исследование осадка мочи, цистоскопию, при необходимости с биопсией, УЗИ.

В исследование не вошли пациенты с острыми воспалительными заболеваниями мочеполовой системы (предварительно должен быть проведен курс антибактериальной терапии), онкологическими заболеваниями (исключая РМП), нефростомой, внутренним или наружным стентом, мочекаменной бо-

Таблица 1. *Результаты теста*

Группа пациентов	Количество больных	Возраст, годы	Пол, м/ж	Количество пациентов с положительными результатами теста	Количество пациентов с отрицательными результатами теста
1-я — пациенты с впервые выявленным верифицированным РМП	18	39—81	15/3	9	9
2-я — пациенты с рецидивом РМП, подтвержденным данными гистологического исследования	26	27—79	21/5	14	12
3-я — пациенты с отсутствием рецидива РМП	19	45—80	11/8	0	19
Контроль (здоровые)	20	17—77	5/15	2	18
Всего	83	27—81	52/31	25	58

лезную, подвергавшиеся инструментальным, инвазивным методам исследования в течение 3 нед перед проведением теста.

Материалом для исследования служит моча, которая может быть собрана в любое время. Тест проводился сразу после сбора мочи в пластиковый контейнер. Для проведения теста 4 капли мочи вносятся в тест-лунку. Спустя 30 мин после этого оценивают результат. Какого-либо специального оборудования для проведения теста не требуется, результаты теста проявляются на кассете в виде 1 или 2 полосок.

Полученные данные обработаны методом вариационной статистики с учетом уровня достоверности по Стьюденту.

**Результаты и обсуждение**

Результаты теста представлены в табл. 1. Из 44 случаев, когда биопсия доказывала наличие РМП на момент исследования, тест по выявлению ядерных белков матрицы 22 дал положительный результат в 23 случаях (чувствительность — 52%;  $p < 0,05$ ). Чувствительность теста у пациентов с впервые выявленным РМП — 50% ( $p < 0,05$ ), с рецидивом РМП — 54% ( $p < 0,05$ ).

Как видно из данных табл. 2, по мере нарастания стадии заболевания чувствительность исследования увеличивается с 37 до 80% ( $p < 0,05$ ). Такая же закономерность определяется в зависимости от степени анаплазии опухоли. Если при G<sub>1</sub> чувствительность метода составляет только 30% ( $p > 0,05$ ), то при G<sub>3</sub> — уже 87% ( $p < 0,05$ ). При проведении теста у 19 пациентов с отсутствием рецидива РМП более 6 мес (3-я группа) не выявлено ложноположительных результатов (специфичность — 100%;  $p < 0,05$ ). В контрольной группе выявлено 2 ложноположительных результата (специфичность — 90%;  $p < 0,05$ ). Таким образом, общая специфичность составила 95% ( $p < 0,05$ ). Имеются наблюдения проведения 2 тестов у пациенток с плоскоклеточными папилломами мочевого пузыря. Результаты тестов отрицательные.

В исследовании Saad A. (2002), включавшем 130 пациентов (52 пациента с РМП, 68 — здоровые), также прослеживается закономерность увеличения чувствительности метода от стадии заболевания и степени анаплазии (T<sub>1</sub> — 90%, T<sub>2</sub> — 100% и G<sub>1</sub> — 62%, G<sub>2</sub> — 86%, G<sub>3</sub> — 88%). Высокая чувствительность метода у пациентов с низкодифференцированными опухолями (88%) совпадает с нашими данными — 87%. Однако общая чувствительность метода в нашей работе оказалась ниже, чем в исследовании Saad, — 81%. Это связано с более низкой чувствительностью теста в нашем исследовании как при различных стадиях заболевания, так и при высокодифференцированных и умереннодифференцированных опухолях. Специфичность теста в нашем исследовании была выше, чем в работе Saad A. (87%) [3].

Аналогичные данные зависимости чувствительности от степени анаплазии получены Poulakis V. и соавт. [4]. Отмечаются высокие показатели общей чувствительности (85%) и чувствительности по гистопатологической градации: G<sub>1</sub> — 82%, G<sub>2</sub> — 89%, G<sub>3</sub> — 94% по сравнению с данными нашего исследования. Высокая специфичность (94%) метода согласуется с полученными нами результатами (95%) [4].

Таблица 2. *Чувствительность теста в зависимости от стадии заболевания и степени анаплазии опухоли*

Стадия/анаплазия	Количество пациентов	Чувствительность, %
T <sub>1</sub>	27	37
T <sub>2</sub>	12	75
T <sub>3</sub>	5	80
G <sub>1</sub>	10	30
G <sub>2</sub>	26	50
G <sub>3</sub>	8	87
Всего	44	52

Lee E. Ponsky (2001) большое внимание уделяет критериям исключения пациентов при проведении теста по выявлению ядерных белков матрицы 22. Наличие воспалительных заболеваний мочеполовой системы, мочекаменная болезнь, онкологические заболевания (исключая РМП), травма мочевых путей, инструментальные, инвазивные методы исследования в течение 3 нед перед проведением теста могут давать ложноположительные результаты [6—14]. Обследовали пациентов с симптомами: микрогематурии, макрогематурии и дизурии. На момент исследования гистологически подтвержденный РМП выявлен у 52 больных. Так, специфичность теста без учета критериев исключения составила 83,9%, с учетом вышеуказанных критериев — 99,8%. Таким образом, осведомленность о критериях исключения значительно повышает специфичность теста, не влияя на чувствительность, которая в данном исследовании также выше наших результатов — 88,5% [6, 8—14].

Сравнивая результаты настоящего исследования специфичности и чувствительности теста по выявлению ядерных матричных белков 22 при диагностике РМП с данными литературы, можно отметить более низкие цифры общей чувствительности — 52% по сравнению с приводимыми в литературе (53 — 94%) [2—4, 6—10]. Однако, как в нашей, так и в других работах, прослеживается закономерность повышения чувствительности метода при нарастании стадии заболевания и степени гистопатологической градации.

Высокие показатели специфичности, доказанные в нашей работе (95%), совпадают с данными литературы (87 — 99%) [3, 4, 6—13].

Возникает вопрос, какова диагностическая ценность положительных результатов теста при отсутствии данных в пользу образования в мочевом пузыре. Это относится к ложноположительным результатам, возможным при сопутствующих воспалительных заболеваниях, гематурии, онкологических процессах. Высокая чувствительность метода показана также в 3 наших наблюдениях, когда положительные результаты были получены у пациентов 48, 58 и 61 года с РМП T<sub>1</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>, неоднократными ТУР мочевого пузыря в анамнезе. На момент проведения теста опухолевых образований при цистоскопии у этих пациентов не выявлено. Учитывая положительные результаты тестов, взята биопсия из рубцовой ткани. При гистологическом исследовании получен умереннодифференцированный плоскоклеточный РМП. Аналогичные сведения о выявлении рецидива опухоли с помощью данного теста до того, как она определялась визуально, имеются в литературе [11, 13].

В любом случае положительные результаты теста дают дополнительное основание для дальнейшего обследования и наблюдения пациентов в динамике.

Проведенное нами исследование свидетельствует о том, что выявление ядерных матричных белков 22 — перспективный маркер РМП, характеризующийся высокой специфичностью и чувствительностью при определении не только первичных опухолей, но и рецидива заболевания.

### Литература

1. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Злокачественные образования в России и странах СНГ в 2001 г. — М., 2003.
2. Клиническая онкоурология / Под ред. Б.П.Матвеева. — М., 2003. — С.197—225.
3. Sensitivity and specificity: paper by A.Saad et al. // B. J. U. International. — 2002. — Vol. 89(4). March. — P. 369—373.
4. Poulakis V., Witzsch U., De Vries R. et al. A comparison of urinary nuclear matrix protein — 22 and bladder tumour antigen tests with voided urinary cytology in detecting and following bladder cancer: the prognostic value of false-positive results // BJU International. — 2001. — 88. — 692—701.
5. Сергеева Н.С., Маршуткина Н.В. Новые серологические и уринологические опухолевые маркеры в уточняющей диагностике и мониторинге онкологических больных: Материалы VII Российского онкологического конгресса.
6. Lee E.Ponsky, Shashikala Narma, Lakshimi Pandrangi et al. Screening and monitoring for bladder cancer: refining the use of NMP 22 // J. Urol. — July, 2001. — Vol.166; 75—78.
7. Del Nero Al., Esposito N., Curro A. et al. Evaluation of Urinary Level of NMP 22 as a Diagnostic Marker for Stage pTa-pT1 Bladder Cancer: Comparison with Urinary Cytology and BTA Test // Eur. Urology. — 1999; 35; 93—97.
8. Steiner G., Schoenberg M.P., Linn J.F. Detection of bladder cancer recurrence by microsatellite analysis of urine // Nat. Med. — 1997; 3: 621.
9. Sharma S., Zippe C., Pandrangi L. et al. Exclusion Criteria Enhance the Specificity and Positive Predictive Value of NMP 22 and BTA STAT // J. Urol. — July, 1999; 162; 53—57.
10. Akaza H., Miyanaga N. et al. Evaluation of Urinary NMP 22 (Nuclear Matrix Protein 22) as a Diagnostic Marker for Urothelial Cancer — Screening for Urothelial Cancer in Patients with Microscopic Hematuria // Jpn. J. Cancer Chemotherapy. — 1997; 24 (7): 837—842.
11. Stampfer D.A., Campinito G.A., Rodriguez-Villanueva J. et al. Evaluation of NMP 22 in the Detection of Transitional Cell Carcinoma of the Bladder // J. Urol. — February, 1998; 158: 1899—1901.
12. Landman J., Kavalier E., Chang Y. et al. Sensitivity and Specificity of NMP 22, Telomerase, and BTA in the Detection of Human Bladder Cancer. — New York, NY (Presented by Dr. Landman) // J. Urol. — June, 1998; 159: 47—52.
13. Landman J., Droller M.J. and B. C-S. Liu et al. Evaluation of Urinary Nuclear Matrix Protein (NMP 22) as a Potential Screening Marker for Transitional Cell Carcinoma of the Urinary Tract. — Mt. Sinai Medical Center, New York, NY. The Sixth European Urological Winter Forum, Davos, Switzerland. — February 16—21, 1997.
14. Landman J., Chang Y., Kavalier E. et al. Sensitivity and Specificity of NMP 22, Telomerase, and BTA in the Detection of Human Bladder Cancer // Urology. — September, 1998; 52(3): 398—402.