

Возможности применения метода флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) в диагностике рака мочевого пузыря и его рецидивов

В.Б. Матвеев¹, А.И. Карселадзе², А.П. Казарян³, А.В. Хачатурян¹,
Б.Ш. Камолов¹, О.В. Гигадзе³, С.А. Калинин¹

¹Отделение урологии ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН;

²отделение патологоанатомии ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН;

³15-е урологическое отделение ГКБ № 7, Москва

Контакты: Александр Владимирович Хачатурян centrforward@mail.ru

Флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH) — современный метод выявления в хромосомах специфических генетических нарушений, характерных для рака мочевого пузыря (РМП). Данный метод можно использовать для диагностики РМП, проведения динамического наблюдения за больными после хирургического лечения, оценки эффективности адъювантной терапии у этих больных, а также для прогнозирования развития рецидива заболевания.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, рецидив рака мочевого пузыря, флуоресцентная *in situ* гибридизация, генетические нарушения

Possibilities of using the fluorescence *in situ* hybridization technique in the diagnosis of bladder cancer and its recurrences

V.B. Matveev¹, A.I. Karseladze², A.P. Kazaryan³, A.V. Khachaturyan¹, B.Sh. Kamolov¹, O.V. Gigidze³, S.A. Kalinin¹

¹Department of Urology, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences;

²Department of Pathologic Anatomy, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences;

³Urology Department Fifteen, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Fluorescence *in situ* hybridization is a current technique to detect chromosomal specific genetic disorders specific to urinary bladder cancer (UBC). This technique may be used to diagnose UBC, to follow up patients after surgical treatment, to evaluate the efficiency of adjuvant therapy in these patients, and to predict the development of disease recurrence.

Key words: bladder cancer, recurrent bladder cancer, fluorescence *in situ* hybridization, genetic disorders

Основным и обязательным методом инструментальной диагностики рака мочевого пузыря (РМП) и его рецидивов до настоящего времени остается цистоскопия. Наиболее простым в исполнении и недорогим неинвазивным методом, доступным для многократного повторения, является цитологическое исследование мочи. По данным литературы, этот метод отличается высокой специфичностью, т. е. имеет низкую степень ложноположительных результатов, однако его чувствительность (высокая частота ложноотрицательных результатов) не всегда удовлетворяет исследователей [1]. Поэтому в настоящее время ведется поиск других методов лабораторной диагностики, обладающих более высокой чувствительностью, чем цитологическое исследование мочи, и не уступающих ему по специфичности.

Один из таких методов, активно разрабатываемых в последние годы, — это флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH) — разновидность цитогенетического исследования, позволяющая выявить специфические генетические нарушения, характерные при РМП [2–6 и др.]: гиперплоидию 3, 7, 17-й пар хромосом и делецию локуса 9p21.

Специфические генетические нарушения у больных РМП

Проведенные ранее исследования показали, что РМП является многостадийным процессом, течение которого пока мало предсказуемо [7].

Как известно, генетический аппарат клетки имеет сложную систему, контролирующую ее деление, рост и дифференцировку. Пролиферация клетки зависит от протоонкогенов и генов-супрессоров.

Протоонкогены представляют собой группу нормальных генов, стимулирующих деление клетки. Протоонкоген превращается в онкоген при изменении структуры специфического белка — продукта экспрессии гена в результате мутации генетического кода протоонкогена, либо при повышении уровня экспрессии протоонкогена в результате мутации его регулирующей последовательности (точечная мутация) или при переносе гена в активно транскрибируемую область хромосомы (хромосомные aberrации). В настоящее время у больных РМП наиболее изучена канцерогенная активность протоонкогенов группы *ras* (HRAS, KRAS2).

Гены-супрессоры, напротив, оказывают тормозящее влияние на процессы деления клетки, поэтому инактивация данных генов приводит к развитию и росту опухоли.

Для опухолевой трансформации клетки (промоция) характерен высокий уровень анеу- и полиплоидии, что является результатом нарушения митоза. Клетки опухоли с наиболее распространенным набором хромосом образуют стволовую линию — опухолевый клон, который часто меняется в процессе развития опухоли из-за

ее генетической нестабильности. Сформировавшийся опухолевый клон синтезирует собственные онкобелки и факторы роста, постоянно наращивает темп деления клеток и снижает уровень их дифференцировки, т. е. происходит процесс, называемый опухолевой прогрессией. Опухолевая прогрессия имеет скачкообразный характер и зависит от появления нового опухолевого клона. Прорастая в кровеносные и лимфатические сосуды, опухолевые клетки распространяются по всему организму и, оседая в капиллярах различных органов, формируют метастатические очаги.

Проведенные исследования показали, что большинство больных РМП имеют хромосомные аномалии. Степень анеуплоидности и структурных изменений хромосом напрямую связана со степенью злокачественности опухоли [4, 5].

По данным литературы, у больных РМП встречаются изменения 1, 3–5, 7–13, 15, 17, 18-й, X-, Y- и 9p21 пар хромосом. Так, исследования М. Wang и соавт. [8], результаты которых опубликованы в 1994 г., выявили аномалию 10-й хромосомы, более поздние исследования R. Sajulis и соавт. [9] — аномалии 8-й и 12-й хромосом, А. Руча и соавт. [10] — 7, 9 и 17-й хромосом, F. Zhang и соавт. [11] — 1, 7–9-й и Y-хромосом, J. Reeder и соавт. [12] — 9-й хромосомы, А. Marano и соавт. [13] — 7–9 и 11-й хромосом, M. Stamouli и соавт. [14] — 5, 8, 9, 11, 13, 15, 17-й, X-, Y-хромосом.

На начальных стадиях РМП отмечена делеция (потеря) длинного плеча 9-й хромосомы. Сообщается также о структурных изменениях 1-й хромосомы — делеции ее части, дупликации длинного плеча, транслокации с другими хромосомами. Однако исследования 2, 5, 6, 11 и 16-й пар хромосом не выявили связи между их структурными изменениями и развитием РМП [15, 16].

В то же время при всех стадиях РМП отмечены количественные изменения хромосом, в частности потеря 9-й хромосомы при любой степени анаплазии опухоли и трисомия 7-й хромосомы. Однако клетки с трисомией 7-й хромосомы нередко выявляют и у больных с опухолью почки, кишки, головного мозга, легких, поэтому некоторые исследователи полагают, что данная аномалия не является особенностью РМП [15–17].

По данным литературы, у мужчин, больных переходно-клеточным РМП, может отсутствовать Y-хромосома, при этом заболевание склонно к быстрому прогрессированию [7, 16].

I. Sokolova и соавт. [18] изучили у больных РМП изменения 10 различных хромосом, об аномалии которых наиболее часто упоминалось в литературе: 3, 7–9, 11, 15, 17, 18-й, Y и 9p21. Авторы обследовали 93 больных РМП и 86 здоровых людей и показали, что при РМП преобладают аномалии 3, 7, 17-й и 9p21 пар хромосом. Результаты данного исследования были опубликованы в августе 2000 г. и послужили основой

для разработки нового многоцветного тест-набора для диагностики РМП с помощью реакции флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH).

Реакция FISH

Первые сообщения об использовании реакции FISH для диагностики РМП по образцам мочи появились в 1990-х годах [10, 19].

Была показана принципиальная возможность обнаружения хромосомных аномалий в уротелиальных клетках с помощью FISH и доказано неоспоримое преимущество данного метода перед цитогенетическим анализом кариотипирования, так как FISH дает возможность оценить состояние хромосом во всех уротелиальных клетках независимо от фазы клеточного цикла.

FISH сочетает в себе преимущества классических цитологических, цитогенетических и новейших молекулярных методов. Подобно классическим методам, материалом для FISH-исследования служат тканевые, клеточные и хромосомные препараты. Однако объектом исследования являются не морфологические особенности ткани, клеток или хромосом, а уникальные нуклеотидные последовательности конкретной хромосомы или ее отдельного участка. Соответственно, выявляемые изменения считаются генетическими (этиопатогенетическими), а не морфологическими (фенотипическими) и относятся к более тонкому уровню организации наследственного материала клетки.

Для выявления конкретной хромосомной аномалии используют особую флуоресцирующую метку или зонд, окрашивающий гены или хромосомы. Зонды представляют собой короткие последовательности ДНК, комплементарные последовательностям ДНК объекта исследования. Зонды связываются (гибридизуются) с комплементарными участками ДНК и благодаря тому, что они помечены флуоресцентной меткой, с помощью флуоресцентного (люминесцентного) микроскопа можно видеть локализацию интересующих генов в составе ДНК или хромосом [20, 21]. Одновременно можно использовать несколько зондов к различным локусам.

Диагностика специфических генетических нарушений у больных РМП с помощью реакции FISH

В настоящее время для FISH-диагностики цитогенетических нарушений у больных РМП используют набор многоцветных ДНК-тестов — UroVysion (Abbott Vysis, США). В 2001 г. он был разрешен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration — FDA) для диагностики рецидива заболевания по образцам мочи больных РМП и в начале 2005 г. — для диагностики первичного РМП по образцам мочи пациентов с явной или микроскопической гематурией.

В настоящее время материалом для FISH-исследования служат не только образцы мочи, полученные при самостоятельном мочеиспускании, но и смывы из мочевого пузыря, а также отпечатки фрагментов опухоли мочевого пузыря, полученные при трансуретральной резекции (ТУР) или цистэктомии [2, 3, 22, 23 и др.].

UroVysion — многоцелевой комплект и обеспечивает визуализацию цитогенетических транслокаций в 3, 7, 17-й хромосомах, а также выявляет локуспецифический ген 9p21 — ген из семейства опухолевых супрессоров (Locus-Specific Gene 9p21 Tumor Suppressor Gene).

Центромерные ДНК-зонды к 3 (CEP3), 7 (CEP7) и 17-й (CEP17) парам хромосом окрашены соответственно в красный (Spectrum Red), зеленый (Spectrum Green) цвета и цвет морской волны (Spectrum Aqua). Локуспецифический ДНК-зонд к хромосоме 9p21 окрашен в золотистый цвет (Spectrum Gold).

Одновременное использование нескольких ДНК-зондов повышает чувствительность и специфичность реакции FISH, так как при РМП наиболее часто встречаются аномалии именно 3, 7, 17-й хромосом и локуса 9p21 [24, 25].

Первые клинические исследования, оценивающие чувствительность и специфичность реакции FISH для диагностики РМП с помощью многоцелевого теста UroVysion, были выполнены в клинике Майо. Результаты работы опубликованы в 2000 г. в проспективном исследовании К. Halling и соавт. [25] изучили 280 образцов мочи 265 больных РМП и показали, что чувствительность реакции FISH (81%) значительно ($p = 0,001$) превышает чувствительность рутинного цитологического исследования мочи (59%).

Все последующие работы, выполненные с тех пор, подтвердили эти результаты. Данные аналитического обзора [26], опубликованного в 2006 г. и включавшего 12 различных исследований, показали неоспоримое диагностическое преимущество реакции FISH перед цитологическим исследованием мочи при всех стадиях РМП и при всех степенях злокачественности опухоли. Так, для Та стадии среднее значение показателей чувствительности реакции FISH составило 67%, а цитологического исследования — только 28%, для Tis — соответственно 97 и 73%, для T1 — 90 и 67%, для T2–T4 — 92 и 74%.

Чувствительность реакции FISH в отношении степени злокачественности опухоли также была существенно выше и составила 50% для G₁-опухолей (против 18% при цитологическом исследовании мочи), 75% — для G₂ (против 45%), 90% — для G₃ (против 69%).

Специфичность реакции FISH была немного ниже по сравнению с цитологическим исследованием мочи (85% против 93%) [26].

J. Laudadio и соавт. [27] определяли возможности FISH-анализа для диагностики первичного РМП и его рецидивов. В исследование включено 300 больных, у 47% из них ранее был диагностирован РМП и 53%

находились на стадии обследования. Авторы провели FISH-анализ 521 образца мочи и получили 24% положительных результатов. В 21% случаев результаты FISH-анализа были положительными при отрицательных результатах цитологического исследования, и только в 1% случаев результаты цитологического исследования были положительными при отрицательных данных FISH-анализа. Проведение последующего гистологического исследования показало, что результаты FISH-анализа были положительными у 32 из 44 больных с верифицированным РМП. Общая чувствительность FISH-реакции составила 73%. FISH-анализ выявил 95% низкодифференцированных и 56% — высокодифференцированных опухолей, цитологическое исследование — 41 и 32% соответственно. Из 112 больных, ранее перенесших ТУР, у 28 был диагностирован рецидив, 22 (79%) из этих больных имели FISH- положительный статус.

В исследование S. Gudjonsson и соавт. [28] было включено 159 больных неинвазивным РМП. Все пациенты получили лечение в объеме ТУР мочевого пузыря и прошли контрольное обследование, включавшее цистоскопию, цитологическое исследование мочи и FISH-анализ. Рецидивы РМП верифицированы у 27 больных. Общая чувствительность реакции FISH в данном исследовании составила 30%, чувствительность для диагностики высокозлокачественных опухолей — 70%. Специфичность реакции FISH составила 95%. С помощью FISH-анализа удалось определить все 6 случаев рака *in situ*; еще в 2 случаях, когда результат FISH-анализа был положительным, рак *in situ* был диагностирован при последующем контрольном обследовании. Цитологический анализ определил рак *in situ* только в 4 случаях. Авторы считают, что FISH-анализ целесообразно использовать как метод, дополняющий цистоскопическое исследование, особенно при наличии у больного рака *in situ*.

С.В. Башкатов [29] показал, что гиперплоидия 3, 7, 17-й хромосом и делеция локуса 9p21 в образцах мочи больных поверхностным РМП служат неблагоприятными факторами прогноза течения заболевания. По данным автора, более 60% клеток с гиперплоидией 3, 7 и 17-й хромосом ассоциировано с низкодифференцированной (G₃) уротелиальной карциномой, а делеция 9p21 локуса — с развитием минимально инвазивной уротелиальной карциномы.

L. Bubendorf и соавт. [23] опубликовали результаты FISH-исследования не только образцов мочи, полученных при самостоятельном мочеиспускании, но и смывов из мочевого пузыря и сопоставили каждый из них с результатами цитологического исследования. В 1-м случае общая чувствительность FISH-реакции составила 59%, цитологии — 40%; во 2-м случае — соответственно 76 и 53%.

В своем обзоре литературы B. van Rhijn и соавт. [30] приводят следующие показатели чувствительно-

сти и специфичности маркеров РМП, наиболее часто применяемых для диагностики заболевания: FISH — соответственно 79 и 70 %, ВТА-trak — 71 и 66 %, NMP-22 — 71 и 73 %, ImmunoCyt — 67 и 75 %, ВТА-Stat — 58 и 73 %, FDP — 54 и 61 % соответственно.

М. Sarosdy и соавт. [6] провели 2 многоцентровых исследования, в первом из которых «слепым» методом сравнили чувствительность FISH-анализа, ВТА-теста и цитологического исследования мочи 176 больных РМП. Общая чувствительность оказалась наиболее высокой (71 %) у реакции FISH, несколько ниже (50 %) — у ВТА-теста и минимальной (26 %) — у цитологического исследования мочи. Во 2-м исследовании, определяя специфичность реакции FISH, М. Sarosdy и соавт. изучили образцы мочи 275 здоровых людей и получили FISH-отрицательный результат у 260 лиц. Таким образом, специфичность реакции FISH в данном исследовании составила 94,5 %.

В 2007 г. М. Мау и соавт. [31] опубликовали данные сравнительного анализа результатов FISH-анализа, цитологического исследования мочи и цитокератинового теста UBC-ELISA в диагностике РМП. В исследование вошли 166 пациентов, 1-ю группу составили 62 больных первичным РМП, 2-ю группу — 71 больной, которым ранее была выполнена ТУР мочевого пузыря, 3-ю, контрольную группу — 33 практически здоровых субъекта. Все пациенты с ложноположительными результатами тестов находились под наблюдением в среднем в течение 22 мес. Общая чувствительность реакции FISH составила 53,2 %, UBC-ELISA-теста — 40,3 %, цитологического анализа — 71 % ($p < 0,05$). При диагностике G₃-опухолей чувствительность реакции FISH и цитологического исследования была выше — 93,3 %. У пациентов 2-й и 3-й групп специфичность реакции FISH составила 74 %, UBC-ELISA-теста — 75 %, цитологического анализа — 83,7 %. В дальнейшем рецидив РМП диагностирован у 33,3 % больных с ложноположительным FISH-результатом, у 23,1 % — UBC-ELISA-теста и у 29,4 % — цитологического исследования ($p > 0,05$). По мнению авторов, ложноположительный результат, полученный при одновременном выполнении всех 3 тестов, свидетельствует о наличии рецидива РМП на доклинической стадии и является важным фактором прогноза.

FISH-диагностика РМП и его рецидивов у больных с сомнительными результатами цитологического исследования мочи и цистоскопии

Проведенные исследования показали, что FISH — высокочувствительный метод диагностики, применив который нередко можно обнаружить рецидив РМП раньше, чем с помощью других исследований. FISH-положительные результаты у больных с отрицательными данными цитологического исследования мочи и цистоскопии упоминаются в литературе как упреждающая FISH-положительная диагностика РМП и его рецидивов.

М. Skacel и соавт. [32] изучили диагностическую ценность реакции FISH у 120 больных с сомнительными (клетки, вызывающие подозрение на рак, — у 31, атипичные клетки — у 49) или отрицательными результатами цитологического исследования мочи (40 больных). При гистологическом исследовании у 82 лиц был диагностирован рецидив РМП. Результат FISH-анализа был положительным при обнаружении 5 клеток и более с гиперплоидией 3, 7 или 17-й хромосомы либо 12 клеток и более с делецией 9p21, или 10 клеток и более с изолированной трисомией либо 3, 7 или 17-й хромосомы. FISH-положительный результат получен у 70 (85 %) из 82 больных. У 12 (15 %) пациентов результат оказался отрицательным: 11 из них имели pTa-опухоль и 1 — pT¹. Чувствительность FISH при наличии в цитологическом анализе мочи клеток, подозрительных в отношении рака, составила 100 %, атипичных клеток — 89 %, при отрицательном результате — 60 %. Следует отметить, что у 9 больных с атипичными клетками в моче результаты биопсии оказались отрицательными, однако FISH-статус был положительным. В течение 12 мес наблюдения у 8 (89 %) из этих 9 больных был диагностирован рецидив РМП, верифицированный при гистологическом исследовании, и у 1 (11 %) — рак *in situ* через 15 мес после проведения FISH-исследования. У 29 больных результаты гистологического и FISH-анализа были отрицательными, контрольное обследование, проведенное через 12 мес, не выявило рецидива заболевания. Общая специфичность FISH-анализа составила 97 %.

М. Sarosdy и соавт. [6] сообщили данные исследования FDA, которое привело к одобрению UroVysion и в котором 36 больных с отрицательными результатами цистоскопии имели положительные FISH-результаты. У 15 (42 %) из этих пациентов в течение последующих 3–16 мес (медиана 6 мес) был выявлен гистологически верифицированный рецидив опухоли. В то же время из 68 пациентов с отрицательными результатами и цистоскопии, и FISH только у 13 (19 %) возникли рецидивы, сроки развития которых колебались от 3 до 19 мес (медиана 11,2 мес).

По данным исследования В. Yoder и соавт. [33], приблизительно 27 % пациентов имели отрицательные или сомнительные результаты цитологического исследования мочи и FISH-положительные результаты. При цистоскопии, выполненной в те же сроки, ни у кого из больных не было обнаружено опухоли мочевого пузыря. Однако во время периода наблюдения (follow-up) в течение 29 мес у 65 % этих пациентов при цистоскопии были выявлены рецидивы опухоли. У больных с FISH-отрицательными результатами частота рецидивов составила только 5 %. Это исследование убедительно показало, что с помощью реакции FISH можно обнаружить опухоль мочевого пузыря на стадии доклинических проявлений, когда ее невозможно

выявить ни цистоскопическим, ни цитологическим методом.

Контроль эффективности лечения РМП с помощью реакции FISH

По данным литературы, в настоящее время FISH-анализ может быть не только дополнительным методом диагностики РМП, но и позволяет контролировать эффективность ТУР и внутрипузырной иммунопрофилактики рецидива заболевания.

В. Кирр и соавт. [34] использовали диагностическую систему UroVysion для обнаружения клеток с хромосомными aberrациями в моче 37 больных неинвазивным РМП до и после внутрипузырной иммунопрофилактики вакциной БЦЖ. У всех 12 пациентов с FISH-положительным статусом после окончания иммунопрофилактики при контрольной цистоскопии выявлены верифицированные рецидивы заболевания, причем у 7 — инвазивные опухоли. Результаты лечения 25 больных с FISH-отрицательным статусом оказались достоверно лучше: рецидивы возникли только у 13 пациентов и у 2 из них это были инвазивные опухоли. Авторы считают целесообразным использовать FISH-анализ мочи для оценки эффективности внутрипузырной иммунотерапии и отмечают, что FISH-положительный статус после окончания лечения свидетельствует о высоком риске дальнейшего прогрессирования заболевания и развития инвазивного РМП.

В 2007 г. L. Mengual и соавт. [35] представили данные аналогичного исследования и показали, что больные с FISH-положительными результатами после БЦЖ-терапии имеют в 2,7 раза более высокий риск развития рецидива РМП, чем пациенты без хромосомных aberrаций ($p = 0,017$). Кроме того, наличие FISH-положительного статуса до и после окончания лечения в 3 раза повышает риск развития рецидива опухоли.

А. Руча и соавт. [36] определили влияние адьювантной внутрипузырной терапии вакциной БЦЖ и митомицином-С на хромосомные aberrации 7, 9 и 17-й пар хромосом у больных неинвазивным РМП. В исследование вошли 40 пациентов, перенесших ТУР, 15 из них были включены в контрольную группу и не получали адьювантного лечения. Медиана периода наблюдения составила 30 мес. После БЦЖ-терапии рецидив опухоли был диагностирован у 10 (66,6%) из 15 больных. Число хромосомных aberrаций у 8 (53,3%) из 15 пациентов не изменилось, однако у 6 (40%) — увеличилось. После терапии митомицином-С рецидив опухоли диагностирован у 5 (50%) из 10 больных. Число хромосомных aberrаций в 4 (40%) из 10 случаев осталось прежним и в 5 (50%) случаях — увеличилось. Независимо от вида адьювантного лечения у 1 человека в каждой из групп констатирована полная ремиссия заболевания и наблюдался нормальный диплоидный набор хромосом.

Прогнозирование течения РМП по количественным показателям FISH

Как показывает проведенный нами анализ литературы, в последние годы реакцию FISH используют на всех этапах ведения больных РМП: ранняя диагностика, прогнозирование рецидива, контроль эффективности лечения.

Однако практически все исследователи сообщают только о качественной оценке способности FISH обнаружить опухоль и прогнозировать ее рецидив, т. е. приводят положительный или отрицательный результат исследования. Поэтому особого внимания заслуживают первые попытки количественной оценки результатов FISH.

В марте 2009 г. В. Кирр и соавт. [3] представили данные о связи частоты хромосомных аномалий с безрецидивной выживаемостью (БРВ) больных РМП. В исследование включено 303 пациента, из которых 100 имели FISH-отрицательный статус и 203 — FISH-положительный. Хромосомные аномалии диагностировали по образцам мочи с помощью теста UroVysion. Медиана времени наблюдения составила 189 дней (1–2166 дней). Рецидивы заболевания диагностированы у 188 (62%) из 303 пациентов. Отмечена прямая корреляция между частотой рецидивов и частотой встречаемости клеток с хромосомными аномалиями. У пациентов, не имевших таких клеток, частота рецидивов составила 34%, при наличии 1–4% клеток — 48%, 5–10% клеток — 70%, 11–30% клеток — 83%, 31–100% клеток — 94%. В. Кирр и соавт. выявили следующую зависимость между количеством хромосомных аномалий, определенных с помощью теста UroVysion и риском развития рецидива РМП: увеличение аномальных клеток на 1% увеличивает риск развития рецидива РМП на 2,6%. Таким образом, у больного с FISH-положительным результатом, равным 10%, риск развития рецидива на 26% выше, чем у пациента с FISH-результатом, составляющим только 1%.

Проведенный В. Кирр и соавт. [3] анализ Каплана—Майера выявил достоверную связь между количественным результатом FISH-исследования и БРВ больных: увеличение процентного содержания аномальных клеток ухудшало БРВ больных РМП. Кроме того, авторы сообщили о зависимости между частотой встречаемости уротелиальных клеток с хромосомными аномалиями и частотой развития инвазивных рецидивов РМП: у пациентов без аномальных клеток частота развития инвазии РМП при прогрессировании заболевания составила 5%, при 1–4% клеток — 11%, 5–10% клеток — 9%, 11–30% клеток — 20%, 31–100% клеток — 36%. Используя анализ Сох, В. Кирр и соавт. пришли к выводу, что количество клеток с хромосомными аномалиями, выявленными с помощью теста UroVysion, является наиболее значимым независимым прогнозирующим фактором рецидива заболевания с инвазией опухоли

в мышечный слой мочевого пузыря ($p < 0,001$; относительный риск 1,018), при этом увеличение процентного содержания аномальных клеток сокращает сроки развития инвазивного рецидива РМП. По данным В. Кипп и соавт., риск прогрессирования поверхностного РМП в инвазивную форму у пациентов с частотой аномальных клеток 11% и более почти в 2 раза выше, чем у больных с FISH-показателями ниже 11%.

В настоящее время реакция FISH только начинает внедряться в широкую диагностическую практику

крупных онкологических центров и исследователи начинают переходить от качественной оценки результатов FISH-анализа к количественной. Российские ученые делают первые шаги в этом направлении. Поэтому необходимы дальнейшие проспективные исследования, которые помогут онкоурологам оценить истинную прогностическую и диагностическую значимость FISH-анализа у больных РМП и определить тактику ведения пациентов, направленную на снижение риска рецидива заболевания.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- Halling K.C., Kipp B.R. Fluorescence *in situ* hybridization in diagnostic cytology. *Hum Pathol* 2007;38:1137–44.
- Halling K.C., Kipp B.R. Adv Bladder Cancer Detection Using FISH (UroVysion Assay). *Anat Pathol* 2008;15:279–86.
- Kipp B.R., Tanasescu M., Else T.A. et al. Quantitative fluorescence *in situ* hybridization and its ability to predict bladder cancer recurrence and progression to muscle-invasive bladder cancer. *J Mol Diagn* 2009;11(2):148–54.
- Richter J., Jiang F., Gorog J.P. et al. Marked genetic differences between stage pTa and stage pT1 papillary bladder cancer detected by comparative genomic hybridization. *Cancer Res* 1997;57:2860–4.
- Fadl-Elmula I., Gorunova L., Mandahl N. et al. Karyotypic characterization of urinary bladder transitional cell carcinomas. *Genes Chromosomes Cancer* 2000;29:256–65.
- Sarosdy M.F., Schellhammer P., Bokinsky G. et al. Clinical evaluation of a multi-target fluorescent *in situ* hybridization assay for detection of bladder cancer. *J Urol* 2002;168:1950–4.
- Клиническая онкоурология. Под ред. Б.П. Матвеева. М.: Вердана, 2003. 717 с.
- 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.
- Cajulis R.S., Haines G.K. 3rd, 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 washes: a comparative study. *Diagn Cytopathol* 1995;13(3):214–24.
- Pycha A., Mian C., Haitel A. et al. Fluorescence *in situ* hybridization identifies more aggressive types of primarily noninvasive (stage pTa) bladder cancer. *J Urol* 1997;157:2116–9.
- Zhang F.F., Arber D.A., Wilson T.G. et al. Toward the validation of aneusomy detection by fluorescence *in situ* hybridization in bladder cancer: comparative analysis with cytology, cytogenetics, and clinical features predicts recurrence and defines clinical testing limitations. *Clin Cancer Res* 1997;3:2317–28.
- Reeder J.E., O'Connell M.J., Yang Z. et al. DNA cytometry and chromosome 9 aberrations by fluorescence *in situ* hybridization of irrigation specimens from bladder cancer patients. *Urology* 1998;51(5A Suppl):58–61.
- Marano A., Pan Y., Li C. et al. Chromosomal numerical aberrations detected by fluorescence *in situ* hybridization on bladder washings from patients with bladder cancer. *Eur Urol* 2000;37(3):358–65.
- Stamouli M.I., Panani A.D., Ferti A.D. et al. Detection of genetic alterations in primary bladder carcinoma with dual-color and multiplex fluorescence *in situ* hybridization. *Cancer Genet Cytogenet* 2004;149(2):107–13.
- Kiemeny L.A., Schoenberg M. Familial transitional cell carcinoma. *J Urol* 1996;156(3):867–72.
- Sandberg A.A., Berger C.S. Review of chromosome studies in urological tumors. II. Cytogenetics and molecular genetics of bladder cancer. *J Urol* 199;151(3):545–60.
- Pycha A., Mian C., Posch B. et al. Numerical chromosomal aberrations in muscle invasive squamous cell and transitional cell cancer of the urinary bladder: an alternative to classic prognostic indicators? *Urology* 1999;53(5):1005–10.
- Sokolova I.A., 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; 2:116–23.
- Cajulis R.S., Haines G.K. III, Frias-Hidvegi D. et al. Interphase cytogenetics as an adjunct in the cytodiagnosis of urinary bladder carcinoma. A comparative study of cytology, flow cytometry and interphase cytogenetics in bladder washes. *Anal Quant Cytol Histol* 1994;16:1–10.
- Bubendorf L., Grilli B. UroVysion multiprobe FISH in urinary cytology. *Methods Mol Med* 2004;97:117–31.
- http://www.nikon-microscope.ru/fish_dna.htm
- Halling K.C. Vysis UroVysion for the detection of urothelial carcinoma. *Expert Rev Mol Diagn* 2003;3:507–19.
- 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;116:79–86.
- 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 urine. *J Urol* 2002;167:2001–6.
- 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.
- Halling K.C., Kipp B.R. Fluorescence *in situ* hybridisation for the detection of bladder cancer. *Eur Ren Genitourinary Dis* 2006; 2:51–4.
- Laudadio J., Keane T.E., Reeves H.M. et al. Fluorescence *in situ* hybridization for detecting transitional cell carcinoma: Implications for clinical practice. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* 2006;24(3):270–1.
- Gudjynsson 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(2):402–8.
- Башкатов С.В. Прогностическое значение молекулярно-цитогенетических и молекулярно-биологических нарушений в клетках поверхностной уротелиальной карциномы. Автореф. дис. ... канд. мед. наук, 2008, 20 с.
- Van Rhijn B.W., 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.
- 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.
- Skacel M., Fahmy M., Brainard J.A. et al. Multitarget fluorescence *in situ* hybridization assay detects transitional cell carcinoma in the majority of patients with bladder cancer and atypical or negative urine cytology. *J Urol* 2003; 169:2101–5.
- Yoder B.J., Skacel M., Hedgepeth R. et al. Reflex UroVysion testing of bladder cancer surveillance patients with equivocal or negative urine cytology: a prospective study with focus on the natural history of anticipatory positive findings. *Am J Clin Pathol* 2007;127:295–301.
- Kipp B.R., Carnes 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.
- 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.
- Pycha A., Mian C., Hofbauer J. et al. Does topical instillation therapy influence chromosomal aberrations in superficial bladder cancer? *J Urol* 1998; 159(1):265–9.