Федеральное государственное бюджетное учреждение

Российский научный центр радиологии и хирургических технологий

Министерства здравоохранения РФ

На правах рукописи

АДЕИШВИЛИ

ГЕОРГЕ ЗУРАБОВИЧ

ОЦЕНКА ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ЦИТОКЕРАТИНОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

14.01.12 – онкология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата

медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Школьник Михаил Иосифович

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор

Атдуев Вагиф Ахмедович

Санкт-Петербург

2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ----------3

ВВЕДЕНИЕ----------5

Глава 1. Методы диагностики и прогноза при раке мочевого пузыря (обзор литературы)----------11

1.1.Эпидемиология и этиология рака мочевого пузыря----------11

1.2.Молекулярная генетика рака мочевого пузыря----------12

1.3.Диагностика рака мочевого пузыря----------14

1.4.Онкомаркеры рака мочевого пузыря----------18

1.5.Прогнозирование рецидивов и прогрессирования рака мочевого пузыря-----27

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ----------32

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ----------38

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ----------53

ВЫВОДЫ----------57

Практические рекомендации----------58

Список литературы----------59

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

РМП рак мочевого пузыря

UBC мочевой маркер рака мочевого пузыря Urinary bladder cancer

TPA тканевой полипептидный антиген

BCG *Bacillus Calmette—Guérin*

TNM (Tumor, Node, Metastasis) опухоль, узел, метастаз

5-ALA 5-аминолевулиновойкислоты

FISH Флуоресцентная in situ гибридизация

NMP22 Белок ядерного матрикса 22

BTA Антиген рака мочевого пузыря

PUNLMP папиллярная уротелиальная неоплазма
с низким потенциалом малигнизации

HG (High Grade) Высокой степени

LG (Low Grade) Низкой степени

Cis карцинома in situ (плоская опухоль)

СКТ компьютерная томография

МРТ магнитно-резонансная томография

EAU Европейская ассоциация урологов

ELISA иммуноферментный анализ

EORTC Европейская организация исследования и лечения рака

G (Grading) степень дифференцировки

HAL гексааминолевулиновая кислота

ТУР трансуретральная резекция

ВОЗ всемирная организация здравоохранения

МПС мочеполовая система

BLCA-4 белок ядерного матрикса 4

FDP продукты деградации фибрина/фибриногена

ГК Гиалуроновая кислота

LEWISX Льюис Х тест

УЗИ ультразвуковое исследование

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Рак мочевого пузыря (РМП) входит в десятку злокачественных опухолей, которые характеризуются крайне высокой онко-специфичной смертностью. Диагностика и лечение данного заболевания остаются одной из самых актуальных проблем современной онкоурологии. В Российской Федерации РМП составляет 2,6 % в структуре онкологической заболеваемости, занимая восьмое место у мужчин и восемнадцатое - у женщин (Аполихин О.И., 2007). Заболеваемость РМП составляет 9,34 на 100 000 населения, а прирост показателя с 1999 по 2009 гг. 8,15 %. За 2009г. стандартизированный показатель смертности от РМП составляет 2,68 на 100 000 населения (Чиссов В.И. и соавт., 2011). На долю мышечно-неинвазивного РМП приходится 51,9 %, в то время как в странах Европы 70-80 % (Лопаткин Н.А. и соавт., 2003). При первичном обращении 20-60 % больных диагностируется мышечно-инвазивный опухолевый рост, а у 30-70 % из них имеются метастазы, в том числе у 10-15 % - отдаленные (Чиссов В.И., 2006, 2008; Матвеев Б.П. 2001).За последние десятилетия отмечается постоянный прирост заболеваемости. После первичного лечения РМП отмечается высокая частота рецидивов и прогрессирования заболевания. Эффективность лечения РМП зависит от многих факторов: ранней диагностики опухоли, адекватности хирургического вмешательства, своевременной диагностики рецидивов и прогрессирования заболевания. Для пациентов с симптомами, подозрительными на РМП, в основном с безболевой гематурией, золотым стандартом диагностики является цистоскопия. Новые технологии, такие как оптическая когерентная томография и конфокальная лазерная эндомикроскопия улучшают показатели чувствительности и специфичности в выявлении РМП и отражают патоморфологическую картину опухоли (Morgan T., Clark P., 2010).

Кроме того, эти методы имеют высокую диагностическую точность, но они требуют материальных и временных затрат, а также инвазивны и дискомфортны для пациентов. Скрининг РМП у бессимптомных пациентов не внедрен в

клиническую практику потому, что полученные результаты скриниговых тестов не показали снижение смертности у пациентов с умеренным риском РМП (Chou R., Dana T., 2010).

Несмотря на то, что основным предиктором в выборе тактики лечения и в прогнозировании течения заболевания является TNM стадирование, встречается существенные различия среди пациентов с одинаковой стадией относительно ответа на лечение и общего исхода заболевания. В связи с этим возникает необходимость идентификации биомаркеров для диагностики РМП на ранней стадии и для мониторинга рецидивов. Совершенствование прогнозирования заболевания и оценки ответа на проведённую терапию также представляется актуальным. Выявление новых биомаркеров поможет лучше понимать патогенез заболевания, биологические основы в различии исходов болезни и, тем самым, даст дополнительную информацию о более эффективных методах лечения и наблюдения за больными РМП.

Проблема диагностики РМП связана с недостаточной информативностью общеклинических методов исследования на ранних стадиях заболевания. Выявляемость немышечно-инвазивных форм рака при ультрасонографии не превышает 73% (Черепанова О.В., 2001). Чувствительность гистологического исследования биоптатов опухоли, получаемых при помощи щипковой биопсии, составляет не более 60% (Аль-Шукри С.Х., 2003). Контрастная урография не позволяет установить наличие РМП у 30% больных (Буйлов В.М., 2009).

Только метод компьютерной томографии обладает чувствительностью 60-93% и специфичностью 66-93% в диагностике РМП при его инвазивном росте (Каприн А.Д., 2004). Сложность стадирования и низкая выявляемость ранних стадий заболевания приводит к увеличению частоты инвазивного РМП (Yamada T., 2006; Измайлов А.А., 2010; Лоран О.Б., 2010).

В связи с вышеуказанным, актуальным направлением является поиск молекулярно-биологических маркеров, определяющих факт наличия, стадию,

прогноз заболевания и дополняющих стандартный диагностический этап в качестве вспомогательных критериев при уточнении диагноза (van Dalen A., 2000; Глыбочко П.В. и соавт. 2009; Шахпазян Н.К., 2010).

К перспективным молекулярным онкомаркерам относят цитокератины. Они являются белками промежуточных филаментов цитоскелета эпителиальных клеток. Повышенная экспрессия цитокератинов наблюдается при наличии опухолевого роста, сопровождаемого увеличением концентрации белков, регистрируемой в сыворотке крови и моче (Петров С.В., 2004; Zargar M., Soleimani M., 2005; Измайлов А.А., 2010).

Использование молекулярных маркеров из группы цитокератинов в совокупности с другими прогностическими факторами и диагностическими методами рака мочевого пузыря открывает новые перспективы в диагностике и прогнозировании заболевания, что отражает актуальность темы.

Цель исследования. повысить эффективность ранней диагностики РМП, улучшить возможности диагностических методов контроля после проведённого лечения и рассчитать более достоверный прогноз заболевания с помощью молекулярных маркеров (UBC иТРА) из группы цитокератинов.

Задачи исследования:

1. Изучить диагностические возможности опухолевого маркера UBC в комплексе с известными применяемыми в настоящее время прогностическими факторами у пациентов с первичным раком мочевого пузыря.
2. Исследовать возможность применения молекулярного маркера UBC у пациентов после радикальной цистэктомии с созданием ортотопического мочевого резервуара с целью выявления местного рецидива и прогрессирования заболевания.

3. Оценить диагностическую ценность молекулярного маркера UBC у пациентов с различными неонкологическими заболеваниями мочеполовой системы (МПС).

4. Изучить возможности совместного использования молекулярных маркеров из группы цитокератинов (UBC и TPA) в мониторинге больных после первичного лечения рака мочевого пузыря.

Методы исследования. Сбор анамнеза, физикальное обследование, ультрасонография, компьютерная томография, внутривенная урография, цистоскопия с биопсией мочевого пузыря, трансуретральная резекция мочевого пузыря, патоморфологическое исследование, молекулярные маркеры из группы цитокератинов (UBC и TPA).

Положения выносимые на защиту:

1. Исследование молекулярного маркера UBC в моче у пациентов с первичным раком мочевого пузыря является целесообразным. Применение данного маркера в совокупности с другими прогностическими факторами, обладает чувствительностью при категории Т1, Т2 и Т3 89%, 91% и 100% соответственно. Общая чувствительность UBC - теста у пациентов с первичной опухолью мочевого пузыря составила 89%.
2. При комбинированном использовании тестов TPA и UBC в мониторинге РМП у пациентов после первичного лечения установлено, что чувствительность TPA (74,2%), превосходит чувствительность UBC (48,4%), но специфичность UBC (95,7%) достоверно выше, чем специфичность TPA (78,3%). При использовании комбинации сывороточных и мочевых цитокератинов (TPA и UBC) чувствительность метода повышается до 87,1%.

3. При динамическом наблюдении пациентов после радикальной цистэктомии с ортотопическими кишечными резервуарами при отсутствии рецидива и прогрессирования заболевания тест UBC даёт ложно положительные результаты (средний уровень UBC составил 179.8 ± 0.5 мкг/л– норма до 12 мкг/л).
4. Тест UBC является неточным методом дифференциальной диагностики РМП с различными неонкологическими заболеваниями МПС вследствие ложно-положительных результатов (средний уровень UBC составил 124.56 ± 0.5 мкг/л – норма до 12 мкг/л).

Объём и объекты исследования

1. Группа пациентов (n=108) на этапе динамического наблюдения после лечения РМП.

2. Группа пациентов (n=46) с впервые выявленным РМП.

3. Группа пациентов (n=11) после радикальной цистэктомии с ортотопическим кишечным резервуаром.

4. Группа пациентов (n=13) с различными неонкологическими заболеваниями мочеполовой системы

Научная новизна:

1. Использован молекулярный маркер UBC в сочетании со стандартными диагностическими методами и в корреляции с другими прогностическими факторами для диагностики и расчёта более достоверного прогноза заболевания.

2. Оценены диагностические возможности молекулярных маркеров UBC и TPA в совокупности со стандартными методами обследования при РМП.

3. Изучено значение молекулярного маркера UBC у больных после радикальной цистэктомии с ортотопическим кишечным резервуаром.

4. Оценена диагностическая значимость молекулярного маркера UBC у больных с различными неонкологическими заболеваниями мочеполовой системы.

Практическая значимость:

Применение молекулярных маркеров из группы цитокератинов (UBC и TPA) позволят повысить эффективность для ранней диагностики рака мочевого пузыря, определения прогноза заболевания и контроля за проводимым лечением.

Глава 1. Методы диагностики и прогноза при раке мочевого пузыря (обзор литературы)

1.1.**Эпидемиология и этиология рака мочевого пузыря.** Рак мочевого пузыря занимает ведущее место в структуре онкологических заболеваний мочевого тракта. В мире ежегодно регистрируется 430000 новых случаев рака мочевого пузыря, более 165000 человек умирает от этого заболевания ежегодно. Средний возраст больных составляет 65 лет. В связи с ростом продолжительности жизни пациентов, растёт выявляемость и смертность от этого заболевания. В Российской Федерации рак мочевого пузыря составляет 2,6 % в структуре онкологической заболеваемости, занимая восьмое место у мужчин и восемнадцатое – у женщин (Аполихин О.И., 2007). Заболеваемость составляет 9,34 на 100000 населения, а прирост показателя с 1999 по 2009 гг. составил 8,15 %. Стандартизированный показатель смертности от РМП составляет 2,68 на 100000 населения за 2009 г. (Чиссов В.И. и соавт. 2011).

На долю немышечно-инвазивного РМП в Российской Федерации приходится 51,9% (Лопаткин Н.А. и соавт., 2004). При первичном обращении у 20-60% больных диагностируется мышечно-инвазивный опухолевый рост, а у 30-70% из них имеются метастазы, в том числе у 10-15% - отдаленные (Матвеев Б.П. 2003; Чиссов В.И., 2006, 2008).

По данным мировой статистики рак мочевого пузыря занимает 11-ое место среди всех онкологических заболеваний, частота заболеваемости составляет у мужчин 8.9, у женщин 2.2 на 100000 населения, по смертности РМП находится на 14-ом месте. Общая смертность от рака мочевого пузыря составляет 3.3 для мужчин и 0.9 у женщин на 100000 населения (EAU Guidelines, 2015). Частота выявляемости и смертности от РМП варьирует между странами в зависимости от различных факторов риска, от полноценности диагностики и возможностей лечения. При первичном обращении у 75% больных диагностируется немышечно-инвазивная форма (Cis, Ta, T1), а у 25% больных мышечно-инвазивная форма рака, из них 30% уже имеют метастазы (EAU Guidelines, 2014). Неинвазивные

формы характеризуются высокой частотой рецидивирования (50-70%) в течении первых 5 лет и сравнительно низкой частотой прогрессирования (около 15%), что обеспечивает длительную выживаемость (Holmang S., Hedelin H., 1995). По этой причине все пациенты нуждаются в динамическом наблюдении, им регулярно необходимо цистоскопическое и цитологическое исследование осадка мочи. Необходимость пожизненного наблюдения и лечения пациентов с немышечно-инвазивной формой болезни приводит к тому, что РМП требует больших материальных затрат с момента установки диагноза до смерти пациента (Botteman M., Pashos C., 2003).

Опухоли, которые прорастают мышечный слой, имеют плохой прогноз и требуют более агрессивного лечения. Стандартом лечения для мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря является радикальная цистэктомия или комбинированное химиолучевое лечение. Общая 5-летняя безрецидивная выживаемость после цистэктомии составляет 69%, и 39% у пациентов с региональными лимфогенными метастазами (Steven K., Poulsen A., 2007).

Этиология. Потенциальным фактором риска рака мочевого пузыря считается табакокурение, которое повышает риск развития рака в 4 раза у мужчин и в 4.5 раза у женщин и является причиной возникновения РМП в 50% случаев. Другими установленными факторами риска являются различные промышленные химикаты (ароматические амины). В группу повышенного риска, на которую приходится около 10% всех случаев рака мочевого пузыря входят рабочие следующих производств: печатное дело, железный и алюминиевый технологические процессы, промышленное рисование, газовое и гудроновое производство. Также имеется генетическая предрасположенность к развитию РМП. Менее известными факторами риска считаются: ионизирующее излучение, лечение циклофосфамидом, шистосоматоз, хронический эндемичный цистит с рецидивирующими паразитарными инфекциями (EAU Guidelines, 2015).

1.2 Молекулярная генетика рака мочевого пузыря. Молекулярные механизмы возникновения и развития уротелиальных карцином мочевого пузыря,

включают взаимодействие между генами-супрессорами, онкогенами, факторами роста, молекулами адгезии и факторами ангиогенеза. В результате этих взаимодействий происходит приобретение злокачественного фенотипа в нормальных уротелиальных клетках. Инициирование и развитие опухолевого процесса является результатом генетических нарушений: инактивации генов супрессоров и индукции онкогенов. Считается, что процесс развития рака мочевого пузыря содержит несколько эволюционных этапов, проходя через стадии гиперплазии и дисплазии к злокачественной трансформации уротелиальных клеток (Boccardo F., Silvestrini R., 2005).

Цитогенетические исследования показали, что хромосомные аномалии имеют тесную корреляцию между генетическими изменениями и биологическим поведением опухоли. Наиболее частые факторе генетических и эпигенетических изменений, которые приводят к развитию рака мочевого пузыря, являются приобретёнными. Неинвазивные и высокодифференцированные опухоли мочевого пузыря имеют только несколько геномных изменений, и поэтому рассматриваются как генетически стабильными. Инвазивные и низкодифференцированные новообразования мочевого пузыря расцениваются как генетически нестабильными и имеют множество хромосомных аберраций. Наиболее распространенные изменения высокодифференцированных, неинвазивных опухолей включают делецию 9 хромосомы и точечную мутацию рецептора 3 фактора роста фибробластов рецептор 3 (FGFR3).

Мышечно-инвазивные опухоли мочевого пузыря характеризуются широким спектром генетических изменений, как известных, так и неизвестных. Многие исследования выявили гены-супрессоры опухолей RB1 и TP53, изменения которых встречаются при большинстве опухолевых процессах. В заключение нужно отметить, что многочисленных делеции на хромосомных плечах (9q, 11p, 17p) характерны для карцином мочевого пузыря. Недавние исследования показали, что изменения p53/ p21, по всей видимости, являются

прогностическими факторами развития рецидива и прогрессирования РМП (Shariat S., Tokunaga H., 2004).

1.3 **Диагностика рака мочевого пузыря.** Применяемые современные методы диагностики РМП, кроме сбора анамнеза и физикального осмотра, можно разделить на 2 основные группы: инвазивные и неинвазивные. К наиболее часто применяемым инвазивным методам диагностики относят цистоскопию, позволяющую визуализировать опухоль и провести комплексное обследование подозрительных участков слизистой оболочки мочевого пузыря с помощью биопсии. Для повышения чувствительности метода была разработана флуоресцентная цистоскопия - новый метод флуоресцентного обнаружения опухолей мочевого пузыря. Он основан на избирательном накоплении протопорфирина IX в опухолевых тканях при внутрипузырном введении 5-аминолевулиновой кислоты (5-ALA); флюоресценция возникает при освещении мочевого пузыря сине-фиолетовым светом. Было установлено, что чувствительность флуоресцентной цистоскопии составляет более 96.9% и превосходит более чем на 20% чувствительность цистоскопии в белом свете (72.7%) (Kriegmair M., Baumgartner R., 1995).

Цистоскопия с биопсией слизистой мочевого пузыря является основным и наиболее достоверным методом диагностики и мониторинга РМП в современной клинической практике. Гистопатологическое исследование с определением степени дифференцировки опухоли и глубины инвазии является золотым стандартом для диагностики рака мочевого пузыря и считается самым важным признаком для прогнозирования клинического течения заболевания.

В 2004 г Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ), пересмотрела систему гистологической классификации, разделив опухоли мочевого пузыря на мышечно и немышечно инвазивные формы, последняя категория встречается как карцинома in situ, немышечно-инвазивная папиллярная карцинома низкой и высокой степени злокачественности, немышечно-инвазивная папиллярная карцинома с низким злокачественным потенциалом и уротелиальная папиллома

(Eble J., Sauter G., 2004). Из всех карцином мочевого пузыря в 90% случаев встречается уротелиальная карцинома, остальные 10% - плоскоклеточные карциномы или аденокарциномы. Белковые маркеры, применяемые в иммуногистохимическом исследовании, помогают в дифференциальной диагностике доброкачественных опухолей от злокачественных.

К неинвазивным методам относятся ультрасонография, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, внутривенная урография, цитологическое исследование мочи или промывной жидкости и обнаружение в физиологических жидкостях маркеров РМП.

Ультрасонография. Преимуществом ультразвукового исследования является простота исполнения, а также доступность и низкая стоимость. Поэтому на первом этапе лучевой диагностики целесообразно использовать именно УЗИ. Трансабдоминальная ультрасонография мочевого пузыря является исследованием первой линии при наличии симптомов, подозрительных на РМП. Широкое использование внутриполостных (трансректальный, трансвагинальный и трансуретральный) датчиков значительно повышает диагностические возможности выявления ранних стадий РМП и позволяет дифференцировать различные слои стенки мочевого пузыря и их взаимосвязь с опухолью (Шолохов В.Н., 2000).

Трансуретральная ультрасонография мочевого пузыря более точно определяет глубину инвазии стенки пузыря, карциномы in situ и толщину стенки пузыря после трансуретральной резекции мочевого пузыря. По сравнению с трансабдоминальным ультразвуковым сканированием, при трансректальном исследовании гораздо лучше визуализируются опухоли в шейке мочевого пузыря и в тригональной зоне. Диагностическая точность трансректального УЗИ при опухолях мочевого пузыря >0,5 см составляет 82%, а при опухолях <0,5 см – 38%. При категории Т1-2 точность метода составила 55%, при Т3 83% и при Т4 100% соответственно. Общая точность в оценке категории Т не превышает 67% (Глыбочко П.В., Зуев В.В., Попков В.М., 2011). Некоторые авторы считают

трансректальную ультрасонографию лучшим диагностическим методом для выявления рецидивов РМП, особенно после цистэктомии (Shanks J.H., Iczkowski K.A., 2009).

Экскреторная урография. При обследовании пациентов, страдающих РМП, часто используется экскреторная урография в сочетании с нисходящей цистографией (Аль-Шукри С.К., Ткачук В.Н., 2000; Громов А.И., Буйлов В.М. 2011). Данная методика позволяет оценить состояние верхних мочевых путей, дефекты наполнения в полости лоханки и в просвете мочеточника (Буйлов В.М., Сенча А.Н., Патрунов Ю.Н., Старшова И.А., 2007). При цистографии опухоль чётко обнаруживается как дефект наполнения, асимметрия мочевого пузыря и деформация его стенки. Учитывая низкую чувствительность при опухолях до 1 см, цистография всё же не имеет самостоятельного значения в диагностике РМП (Громов А.И., Буйлов В.М., 2011). В целом, чувствительность экскреторной урографии с нисходящей цистографией в выявлении РМП не превышает 54% (Глыбочко П.В., Зуев В.В., Попков В.М. 2011).

Спиральная компьютерная томография (СКТ). СКТ является одним из ведущих методов в диагностике РМП, чувствительность метода составляет 80% (Kim J.K., Park S.Y., Ahn H.J. et al., 2004; Bassi P.F., Pagano F., 2007). Использование КТ целесообразно при подозрении на поражение регионарных лимфатических узлов, точность метода варьирует от 73 до 97%; при местном распространении опухолевого процесса с точностью до 87% (Hall T.B., Mac Vicar A.D., 2001). С помощью КТ-урографии возможно оценить состояние паренхимы и чашечно-лоханочных систем почек, мочеточников и мочевого пузыря. Доказано, что при диагностике опухолей в проекции шейки мочевого пузыря применение УЗИ предпочтительнее КТ. При рецидиве в тригональной зоне чувствительность КТ–79.3%, а УЗИ 82.7% соответственно (Bassi P.F., Pagano F., 2007; Глыбочко П.В., Зуев В.В., Попков В.М. и др., 2011).

При оценке поражения лимфатических узлов имеются сложности визуализации образований до 10 мм в диаметре, также трудно дифференцировать

реактивно увеличенные лимфатические узлы от увеличения их при метастатическом поражении (Hall T.B., MacVicar A.D., 2001).

Работы многих авторов направлены на изучение специфичных контрастных препаратов, которые могут быть использованы в качестве маркеров вторичного поражения лимфоузлов, что, по их мнению, позволит улучшить чувствительность и специфичность в определении стадии РМП (Deserno W.M. et al., 2004; Hricak H., 2006).

Магнитно-резонансная томография (МРТ). МРТ имеет преимущества пространственного и контрастного разрешения с отсутствием лучевой нагрузки. Метод позволяет оценить степень инвазии, количество и размеры образований мочевого пузыря, местное распространение опухолевого процесса и состояние лимфатических узлов (Глыбочко П.В. и др., 2011). По результатам различных исследований, точность метода составляет 85% (Tillou X., Grardel E., Fourmarier M. et al., 2008). При динамическом контрастировании опухоль демонстрирует более интенсивное повышение МР-сигнала, чем нормальная стенка мочевого пузыря или постбиопсийные изменения (Wong-You-Cheong J.J., Woodward P.J., Manning M.A., Sesterhenn I.A., 2006).

Диагностические возможности МРТ при местно-распространённом РМП выше, чем при КТ и трансабдоминальном УЗИ. Точность МРТ в оценке состояния лимфоузлов зависит от их размеров и формы и колеблется от 73 до 90% и сопоставима с возможностями КТ (Bassi P.F., Pagano F. 2007; Semelka R.C., Ascher S.M. et al., 2004).

Для повышения эффективности диагностики РМП оправдано применение комплекса лучевых методов исследования, что обеспечивает наиболее полную информацию о структуре и анатомической форме роста опухоли, глубине инвазии стенки мочевого пузыря, наличии регионарных и/или отдалённых метастазов. Однако, несмотря на обилие методов лучевой диагностики, проблема ранней

диагностики опухоли, сложности определения стадии РМП и, соответственно, выбора метода лечения остаются актуальной.

Цитологическое исследование осадка мочи. Является неинвазивным методом диагностики рака мочевого пузыря, который определяет наличие или отсутствие патологических уротелиальных клеток в выпущенной моче или в промывных водах. Цитологическое исследование осадка мочи имеет высокую специфичность, но сравнительно низкую чувствительность, в основном при высокодифференцированных опухолях (Wiener H.G., Vooijs G.P. and van't H.B., 1993). При опухолях низкой степени злокачественности чувствительность цитологического исследования варьирует от 13 до 75% и превышает 80% для опухолей высокой степени злокачественности. Общая чувствительность цитологического исследования колеблется в пределах 25-70%. Суммированные результаты 36 исследований, в которые были включены 14260 пациентов, показало чувствительность цитологии 44%, а специфичность 96% (Mowatt G. et al., 2010). Точность цитологического исследования напрямую зависит от опыта цитолога.

1.4 Онкомаркеры рака мочевого пузыря

Перспективным направлением ранней диагностики РМП признано использование сывороточных и уринарных онкомаркеров, как необходимых критериев точного диагноза (Чернышев И.В., 2004; Глыбочко П.В. и др., 2007; Измайлов А.А., 2010).

Флуоресцентная in situ гибридизация FISH «UROVISION». Довольно часто при раке мочевого пузыря наблюдаются хромосомные изменения, которых возможно обнаружить с помощью теста флуоресцентной in situ гибридизации (FISH). Метод предназначен для обнаружения анеуплоидных хромосом 3,7, 17 и 9p21 локуса опухолевых клеток (Reid-Nicholson M.D. et al., 2009). Существуют следующие критерии FISH для обнаружения рака мочевого пузыря: >5

уротелиальных клеток с усилением >2 хромосом 3,7 и 17 или >10 клеток с отсутствием локуса 9p21 (Sokolova I.A. et al., 2000).

Многочисленные исследования показали, что чувствительность теста FISH «UROVISION», варьирует в пределах 69-85%, а специфичность составляет 78-92% (Villicana P. et al., 2009). При прямом сравнении FISH с цитологическим исследованием осадка мочи и белком ядерного матрикса 22 (NUCLEAR MATRIX PROTEIN, NMP22), FISH-метод показал лучшую чувствительность при опухолях низкой степени злокачественности. Применение комбинации FISH и цитологического исследования обнаруживает рак в 97.4% случаев, а комбинация цитологии с NMP22 выявляет рак в 92.1% случаев (Yoo J.H. et al., 2010).

Ряд авторов описали использование FISH для мониторирования ответа на внутрипузырную БЦЖ-терапию. У пациентов с положительным пост-терапевтическим FISH-тестом, рецидив развивался раньше и в 9.4 раза чаще выявлялся мышечно-инвазивный рак мочевого пузыря, чем с отрицательным FISH тестом (Kipp B.R. et al., 2005).

Белок ядерного матрикса 22 (NMP22). Белки ядерного матрикса являются важной частью структурного каркаса ядра. Эти белки играют важную роль в репликации, транскрипции ДНК и регуляции экспрессии генов. NMP22 специфичен для белка ядерного митотического аппарата, который участвует в правильном распределении хроматид к дочерним клеткам. Было показано, что концентрация NMP22 была в 25 раз больше в клетках рака мочевого пузыря, чем клетках уротелия нормального мочевого пузыря (Carpinto G.A. et al., 1996).

Было установлено, что средний уровень NMP22 в моче у пациентов с активным РМП в пять раз больше, чем у здоровых людей (Jamshidian H., Kor K., Djalali M., 2008). Кроме того, он также может быть повышенным у пациентов с мочекаменной болезнью, при пиурии, гематурии и цистите (Villicana P., Whiting B., Goodison S., Rosser C.J., 2009).

В исследовании, проведённом у 1331 пациентов с наличием риска РМП, сравнивался тест NMP22 с цитологическим исследованием осадка мочи в обнаружении рака. Полученные данные показали чувствительность NMP22 55,7%

и специфичность 85,7%, по сравнению с 15,8% чувствительности и специфичности 99,2% для цитологического исследования (Grossman H.B., Messing E. et al., 2005). Аналогичные результаты были получены в последующем исследования по оценке NMP22 в диагностике рецидива рака мочевого пузыря. Дополнительно, сочетание цистоскопии с NMP22 обеспечивает обнаружение злокачественных опухолей в 99,0% случаев (Grossman H.B., Soloway M., Messing E. et al., 2006). Объединенные данные 28 исследований 10119 пациентов продемонстрировали чувствительность 68% и 79% специфичность теста NMP22 (Mowatt G. et al., 2010).

Антиген BTA. BTA-stat и BTA-trak предназначены для обнаружения антигена опухоли мочевого пузыря в моче. Это белок, ассоциированный с фактором Н комплемента человека (hCFHrg), обладающий свойствами фактора роста (Матвеев Б.П., 2011). В культуре клеток, нормальные клетки не экспрессируют Н-связанный белок (Poulakis V. et al., 2001). BTA-stat является иммунохроматографическим тестом, похожим на NMP22, который одобрен FDA для мониторинга, но не для скрининга и диагностики РМП. BTA-trak измеряет фактор Н-связанный белок количественным методом ELISA (Villicana P., Whiting B., Goodison S., Rosser C.J., 2009). Кроме рака мочевого пузыря, причиной повышения данного маркера могут быть мочевая инфекция, мочекаменная болезнь, внутрипузырные инстилляции.

Отдельные исследования свидетельствуют о преимуществе данного теста в диагностике и определении чувствительности при немышечно-инвазивных опухолях и опухолях низкой степени злокачественности по сравнению с цитологическим исследованием (Poulakis V. et al., 2001). По данным Raitanen M.P. et al., 2001 у 53,4% пациентов тест оказался позитивен при наличии подтвержденного при цистоскопии рецидива. Исследование 414 пациентов с немышечно-инвазивным РМП показало чувствительность BTA-stat в 67-70% со специфичностью 75-78% (Leyh H. et al., 1997). Чувствительность и специфичность BTA-TPAK установлено как 66 и 65% соответственно (Quek M.L., Sanderson K., Daneshmand S., Stein J.P., 2004). Дополнительно, тест может показать

ложноположительный результат после БЦЖ терапии и у пациентов с кишечными резервуарами.

BLCA-4. BLCA-4 это белок ядерного матрикса, специфичный к опухолевым тканям мочевого пузыря. Доказано участие этого белка в патогенезе рака мочевого пузыря, увеличивая количество IL-1a (усиливающего пролиферацию и инвазию), тромбомодулина (который обеспечивает кровоток для выживания клеток), и IL-8 (который участвует в ангиогенезе) (Myers-Irvin J.M., VanLe T.S., Getzenberg R.H., 2005).

Исследование BLCA-4 определило, что для обнаружения рака мочевого пузыря тест имеет чувствительность 89%, а специфичность 95% (VanLe T.S. et al., 2005). Высокий потенциал опухолевого маркера BLCA-4 при РМП требует дальнейшего изучения, так как нет данных о влиянии на уровень BLCA-4 инфекции мочевыводящих путей, катетеризации, инструментального вмешательства или гематурии (Konety B.R. et al., 2000).

ImmunoCyt. Тест использует моноклональные антитела для обнаружения отслаивающих уротелиальных клеток в моче. Это улучшенное цитологическое исследование с имунноокраской. ImmunoCyt основан на выявлении реакции иммунофлуоресценции с тремя моноклональными антителами M344, LDQ10 и 19A211, которые являются специфичными для рака мочевого пузыря (Mian C. et al., 2006). Критерием положительного теста является обнаружение одной красной или зелёной флуоресцентной клетки. Многие исследования показали высокую чувствительность и специфичность данной методики. Для выявления рецидива при опухолях G1, чувствительность составила 79.3 %, при G2 84.1% и при G3 92.1% соответственно. Системный анализ 8 исследований, в котором участвовали 2896 пациентов, показал средний показатель общей чувствительности 84% (77-91%), а специфичности 78-92%, в среднем 75% (Mowatt G. et al., 2010).

При использовании ImmunoCyt в комбинации с цитологическим исследованием осадка мочи чувствительность метода возрастает с 78% до 88% с незначительным изменением специфичности. Эти данные были установлены как

при низкодифференцированных, так и при высокодифференцированных опухолях (Tetu B., Tiguert R., Harel F., Fradert Y., 2005).

Микросателлитный анализ. Микросателлитный анализ оценивает геномные изменения, специфичные для опухолевого процесса. Этот метод демонстрирует сдвиг в соотношении двух нормальных аллелей при опухолевой трансформации. Отсутствие гетерозиготности можно оценить как маркер неопластического процесса. Установлено, что микросателлитные изменения в моче отмечены в экстрактах ДНК из опухолевой ткани (Frigerio S. et al., 2007).

В проспективном слепом исследовании тест сравнивался с цитологией осадка мочи - чувствительность микросателлитного анализа для опухолей G1 и G2, составила 60% и 51.8 % соответственно, по сравнению с цитологическим исследованием – 10 % и 18.5 % соответственно. При комбинации микросателлитного анализа с цитологическим исследованием отмечалось увеличение чувствительности при G1 до 72% а при G2 и G3 до 96% (Wild P.J. et al., 2009).

Отдельные исследование продемонстрировали многообещающие результаты - общая чувствительность теста достигала 97%, также высокая чувствительность до 95% отмечена при опухолях G1 и G2, и 100% чувствительность наблюдалась при Tis (Seripa D. et al., 2001).

Льюис X тест (LEWISX). Моноклональные антитела также были использованы для обнаружения Льюис-Х антигена на отслаивающихся уротелиальных клетках. Льюис-Х представляет собой антиген группы крови, которого в норме нет в уротелиальных клетках у взрослых, но он экспрессируется в клетках уротелиальной карциномы, вне зависимости от стадии заболевания и секреторного статуса опухоли (Pode D. et al., 1998). В самом крупном исследовании с участием 260 пациентов по оценке одного анализа мочи, тест продемонстрировал чувствительность 79.8% (70.1-87.4%) и специфичность 86.4% (80.6-90.9%) и 100% - при карциноме in situ. В другом исследовании двух последовательных анализов мочи отмечено повышение чувствительности теста до 97%, а специфичности до 85.5% (Golijanin D. et al., 1995).

FDP тест. Продукты деградации фибрина/фибриногена (FDP) в моче были обнаружены в повышенном количестве при раке мочевого пузыря. FDP продуцируется при воздействии плазмина на фибрин и фибриноген, попадая в мочу через микрососудистую сеть опухоли. Метод был разработан для качественного иммуноферментного теста с использованием мышиных моноклональных антител, специфичных для FDP. Однако отмечено, что эти антитела также реагировали на интактный фибриноген в сыворотке крови человека. Диагностическая ценность теста может быть низкой при гематурии (Lokeshwar V.B. and Soloway M.S., 2001).

Многоцентровое исследование по оценке 192 больных раком мочевого пузыря продемонстрировало чувствительность и специфичность метода 68,4 и 79,6% соответственно (Schmetter B.S. et al., 1997). Исследование с участием 196 пациентов продемонстрировало иные данные чувствительности в 52% (95% ДИ 38-66%) и специфичности 91% (95% ДИ 85-95%). В этом исследовании для опухолей дифференцировки G1, G2 и G3, зарегистрирована чувствительность 25, 46, и 92% соответственно (Ramakumar S. et al., 1999).

Теломераза. В последние годы значение теломеразы активно исследуется в патогенезе рака мочевого пузыря. Теломеры состоят из тандема "TTAGGG", которые повторяются на концах хромосом. Постепенная утрата этих повторов при каждом клеточном цикле, как известно, играет важную роль в гибели клеток. Фермент теломераза участвует в синтезе этих тандемов и, как правило, инактивируется в зрелых соматических клетках. Изменение этого фермента может привести к перерождению клеточных линий в некоторые злокачественные опухоли, такие как рак мочевого пузыря (Bavaccini S. et al., 2009).

Фермент теломераза состоит из трех субъединиц: компонента РНК (HTR), теломераза-ассоциированного белка (TP1), и теломераза-реверсной транскриптазы (hTERT). Активность теломеразы как опухолевого маркера была оценена с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) – анализ основан на протоколе повторных теломерных усилений (TRAP). В крупном исследовании 218 мужчин, чувствительность теломеразы с анализом TRAP составила 90% (ДИ

83-94%), а специфичность 88% (ДИ, 79-93%) (Sanchini M.A. et al., 2005). Теломераза обещает быть потенциально полезным маркером рака мочевого пузыря, однако требуется стандартизация в выполнения анализа этого теста, прежде чем он будет применяться в рутинной клинической практике.

Гиалуроновая кислота (ГК). ГК - это внеклеточный гликозаминогликан, который помогает в адгезии и миграции опухолевых клеток, а также является некоторой защитой в опухолевых тканях от воздействия иммунной системы. Мелкие фрагменты ГК симулируют ангиогенез и продуцируются с помощью гиалуронидазы (ГЗА). Небольшие фрагменты ГК были обнаружены в моче у пациентов РМП (Lokeshwar V.B. et al., 2002). В недавнем исследовании доказана важность ГК и ГЗА в патогенезе РМП, где было отмечено, что окрашивание тканей для ГК и ГЗА коррелирует с мышечно-инвазивной формой и рецидивом заболевания (Kramer M.W. et al., 2010).

В ряде исследований была оценена диагностическая эффективность ГК и ГЗА как возможных маркеров РМП. По мнению ряда авторов, ГК в диагностике РМП имеет чувствительность 83.1%, специфичность 90.1%, и точность 86.5%, независимо от степени дифференцировки опухоли. ГЗА, сама по себе, продемонстрировала чувствительность 81.5% и специфичность 83.8% при опухолях высокой степени злокачественности. Комбинация ГК и ГЗА повысила чувствительность метода до 91.2%, специфичность до 84.4% и точность до 88.3% при всех морфологических формах опухолей (Lokeshwar V.B. et al., 2000).

При сравнении теста BTA-stat в комбинации ГК-ГЗА, последний показал лучшие результаты в выявлении рецидивов и прогнозировании заболевания, в частности, чувствительность ГК-ГЗА с BTA-stat составила 94 и 61%, а специфичность 63 и 74%, соответственно.

ЦИТОКЕРАТИНЫ. Открытие цитокератинов произошло в 1970-х годах. Это онкоассоцированные биологические молекулы, позволяющие определить дифференциацию тканей. Фрагменты цитокератинов растворимы в сыворотке и моче и могут использоваться в диагностических системах. Определение цитокератинов как маркеров злокачественного роста обусловлено тем, что

опухолевый рост и инвазия опухоли в подлежащие слои сопровождается разрушением здоровых клеток, при этом происходит выброс в просвет мочевого пузыря и кровеносных сосудов органа специфичных белков – цитокератинов. Деление цитокератинов на группы осуществляется по их изоэлектрической точке, как кислые и в зависимости от их молекулярной массы.

TPA - тканевой полипептидный антиген (цитокератины 8, 18, 19). TPA является сывороточным опухолевым маркером пролиферации из группы цитокератинов. Маркер определяется в сыворотке крови в процессе некроза опухолевых клеток и обнаруживается в большинстве эпителиальных клеток, в клеточных мембранах опухолевых клеток. TPA позволяет дифференцировать прогрессию опухолевого роста. При этом TPA измеряет смесь продуктов деградации цитокератинов 8, 18 и 19 типов. Эти цитокератины в норме обнаруживаются в большинстве эпителиальных клеток и сохраняются в аналогичных клетках и тканях при их малигнизации. Верхняя граница нормы тканевого полипептидного антигена (TPA) в сыворотке крови - 85-120 Ед/мл. По данным ряда исследований, чувствительность TPA в сыворотке крови составляет 72.3%, а специфичность 73.9-85%). Он трактуется как комплекс протеолитических фрагментов, содержащий относительно стабильные стержневые зоны цитокератинов простых эпителиев. Эти фрагменты проникают в кровь при некрозе и лизисе раковых клеток. Впервые он был получен в 1980-х годах из нерастворимых тканевых субстратов нескольких типов злокачественных опухолей. Иммуно-электромикроскопические исследования K.Zimer с соавторами в 1985 г показали, что антитела к TPA могут связываться с филаментами цитокератина. В настоящее время он используется как маркер пролиферации и дифференциации неплоскоклеточных опухолей (Van Popel H., 1996). Повышенный уровень тканевого полипептидного антигена (TPA) наблюдается при раке мочевого пузыря, раке молочной железы и колоректальном раке, а также при некоторых доброкачественных заболеваниях урогенитального тракта.

UBC – urinary bladder cancer (цитокератины 8, 18). Это белковые фрагменты промежуточных филаментов цитоскелета эпителиальных клеток,

обладающие тканевой специфичностью, количество которых повышается при злокачественной трансформации клеток (Чиссов В.И., 2012). Благодаря выявлению в моче растворимых фрагментов цитокератинов 8 и 18 (UBC тест), резко повысилась информативность маркерных исследований при РМП. Количество публикаций по данному тесту пока невелико и, соответственно, нет единого стандарта в применении UBC в клинико-лабораторной диагностике и для прогнозирования течения РМП. По данным ряда зарубежных авторов, эти маркеры продемонстрировали высокую чувствительность — 67-81% и более высокую специфичность 78-90% в диагностике РМП (van Rhijn B.W. et al., 2005; Youssef R.F. et al., 2011).

В России UBC тест был применен в 2003 г специалистами Научно-исследовательского онкологического института им. П.А.Герцена (г.Москва) в качестве нового неинвазивного метода выявления РМП. Проведённые исследования показали, что чувствительность теста для выявления РМП составила для первичных пациентов 72%, а для больных с рецидивами РМП - 63-81%, со специфичностью 87.5%. В исследовании 177 пациентов с верифицированным РМП, чувствительность метода составила 57.8%, а специфичность – 66.7% (Todenhöfer T. et al., 2013). Дискриминационным уровнем UBC является 12 мкг/л. Объектом исследования является средняя порция утренней мочи, забор мочи производится до лечения и не раньше, чем через 10 суток после инвазивных процедур (Сергеева Н.С., 2003). Повышение уровня маркера возникает при РМП, однако повышение UBC отмечено и при бактериальных инфекциях мочевых путей и мочекаменной болезни. Отмечена чёткая корреляция уровня маркера со стадией опухолевого процесса и пролиферативной активностью опухолевых клеток. Возможно использование UBC для наблюдения за пациентами после лечения с целью выявления рецидивов и прогрессирования РМП.

Все применяемые системы диагностики имеют свои недостатки. Инвазивные методы связаны с дороговизной и сложностью выполнения. Неинвазивные методы на сегодняшний день недостаточно чувствительны и

специфичны. Таким образом, исследование и апробация онкомаркеров РМП является актуальной задачей современной онкоурологии.

1.5 Прогнозирование рецидивов и прогрессирования РМП.

Для прогнозирования краткосрочных и долгосрочных рисков развития рецидива и прогрессирования, Европейская организация исследования и лечения рака (EORTC), создала системы суммирования и таблицы риска. В основе этих таблиц лежат индивидуальные данные 2596 пациентов с диагностированными опухолями Ta и T1. Пациенты только с CIS не были включены. Из всех пациентов 78% получали внутрипузырную терапию, в основном химиотерапию. Им не выполнялась повторная ТУР и не проводилась поддерживающая BCG терапия (Sylvester R.J., vander Meijden A.P., Oosterlinck W., et al., 2006). Система оценок включает шесть наиболее значимых клинических и патологических факторов: возраст, пол, ранее существующий рецидив, количество опухолей, Т категорию, сопутствующий CIS и степень дифференцировки опухоли. Для прогнозирования вероятности риска рецидивов и прогрессирования эти факторы подсчитаны по отдельности и суммированы, полученные данные отражены в таблицах 2, 3 и 4.

Таблица 1

Обзор основных мочевых онкомаркеров (EAU 2015)

онкомаркеры	**Общая чувствительность %**	**Общая специфичность %**	**Чувствительность для опухолей высокой степени злокачественности %**	**При-постельное тестирование**	**УД**
UroVysion (FISH)	30-86	63-95	66-70	нет	2b
Microsatellite Analysis	58-92	73-100	90-92	нет	1b
Immunocyt/ И Cyt +	52-100	63-79	62-92	нет	2a
Nuclear matrix Protein 22	47-100	55-98	75-92	да	2a
BTA stat	29-83	56-86	62-91	да	3
BTA TRAK	53-91	28-83	74-77	нет	3
Cytokeratins	12-88	73-95	33-100	нет	3

Таблица 2

Расчёт рисков рецидива и прогрессирования (EAU, 2015)

Фактор	**Рецидив**	**Прогрессирование**
Количество опухолей		
Единичная	0	0
2-7	3	3
> 8	6	3
Диаметр опухолей		
< 3	0	0
> 3	3	3
Предшествующие рецидивы		
Первичная опухоль	0	0
< 1 рецидива в год	2	2
> 1 рецидива в год	4	2
Категория		
Ta	0	0
T1	1	4
Конкурентная CIS		
Нет	0	0
Да	1	6
Степень дифференцировки		
G1	0	0
G2	1	0
G3	2	5
Общий балл	0-17	0-23

Таблица 3

Вероятность рецидива в зависимости от общего балла (EAU, 2015)

Оценка баллов для рецидива	Вероятность рецидива в 1-ом году		Вероятность рецидива в течение 5 лет	
	%	(95% ДИ)	%	(95% ДИ)
0	15	(10-19)	31	(24-27)
1-4	24	(20-26)	46	(42-49)
5-9	38	(35-41)	62	(58-65)
10-17	61	(55-67)	78	(73-84)

Таблица 4

Вероятность прогрессирования в зависимости от общего балла (EAU 2015).

Оценка баллов для прогрессирования	Вероятность прогрессирования в 1-ом году		Вероятность прогрессирования в течение 5 лет	
	%	(95% ДИ)	%	(95% ДИ)
0	0.2	(0-0.7)	0.8	(0-1.7)
2-6	1	(0.4-1.6)	6	(5-8)
7-13	5	(4-7)	17	(14-20)
14-23	17	(10-24)	45	(35-55)

Карцинома in situ – CIS. Независимо от вида лечения, примерно у 54% пациентов с CIS заболевание прогрессирует до мышечно-инвазивной формы (Lamm D.L., 1992). К сожалению, не существует достоверных прогностических факторов, которые могут быть использованы для прогнозирования исхода заболевания. Публикации основаны на ретроспективном анализе и включают малое число пациентов и полученные данные неоднородны. Некоторые

исследования показали худший прогноз при T1 в сочетании с CIS, по сравнению с первичным распространённым CIS и CIS в простатическом отделе уретры (Losa A. et al., 2000; Griffiths T.R., Charlton M. et al. 2002; Palou J. et al., 2012). Важным прогностическим фактором при наличии CIS является ответ на внутрипузырную терапию BCG или химиотерапию (Fernandez-Gomez J. et al., 2009; VanRhijn B. et al., 2010; Fernandez-Gomez J. et al., 2011). У 10% пациентов при полном ответе на лечение, заболевание прогрессирует в мышечно-инвазивную форму, а при отсутствии ответа на лечение - у 66% пациентов (VanGils-Gielen R. et al., 1995; Solsona E. et al., 2000). Чтобы упростить и улучшить рекомендации по лечению РМП, необходима стратификация пациентов по группам риска, которые отражены в таблице 5.

Таблица 5

Стратификация групп риска

Стратификация по группам риска	**Характеристики**
опухоли с низким риском	первичный, одиночный, Ta, G1 * (PUNLMP, LG), <3 см, не CIS
опухоли с промежуточным риском	Все опухоли, которые не определены в двух смежных категорий (Между категорией низкого и высокого риска)
опухоли с высоким риском	Любое из следующего: -опухоли T1 -G3 (HG) опухоли -CIS -множественные, рецидивные, большие (> 3 см) Ta,G1,G2

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом настоящей работы являются результаты исследований, проведённых в период с 2007 по 2008 г. в лаборатории ФБУЗ Приволжского Окружного Медицинского Центра ФМБА России. Анализировали общее состояние пациентов с выявлением основных симптомов заболевания и сопутствующей патологии, лабораторные показатели анализов крови и мочи и цистоскопическую картину с гистологической верификации диагноза. В исследование было включено 178 пациентов (118 мужчин и 60 женщин) в возрасте от 22-х до 87 лет, средний возраст составил 57.45 лет, всем больным проводилось исследование молекулярных маркеров группы цитокератинов в крови и моче.

Таблица 6

Распределение пациентов раком мочевого пузыря по категории Т и степени дифференцировки.

Классификация опухолей мочевого пузыря	T1	T2	T3	G1	G3
Общее количество	67	26	15	80	28
Первичная опухоль	28	12	6	27	19
Рецидивная опухоль	39	14	9	53	9

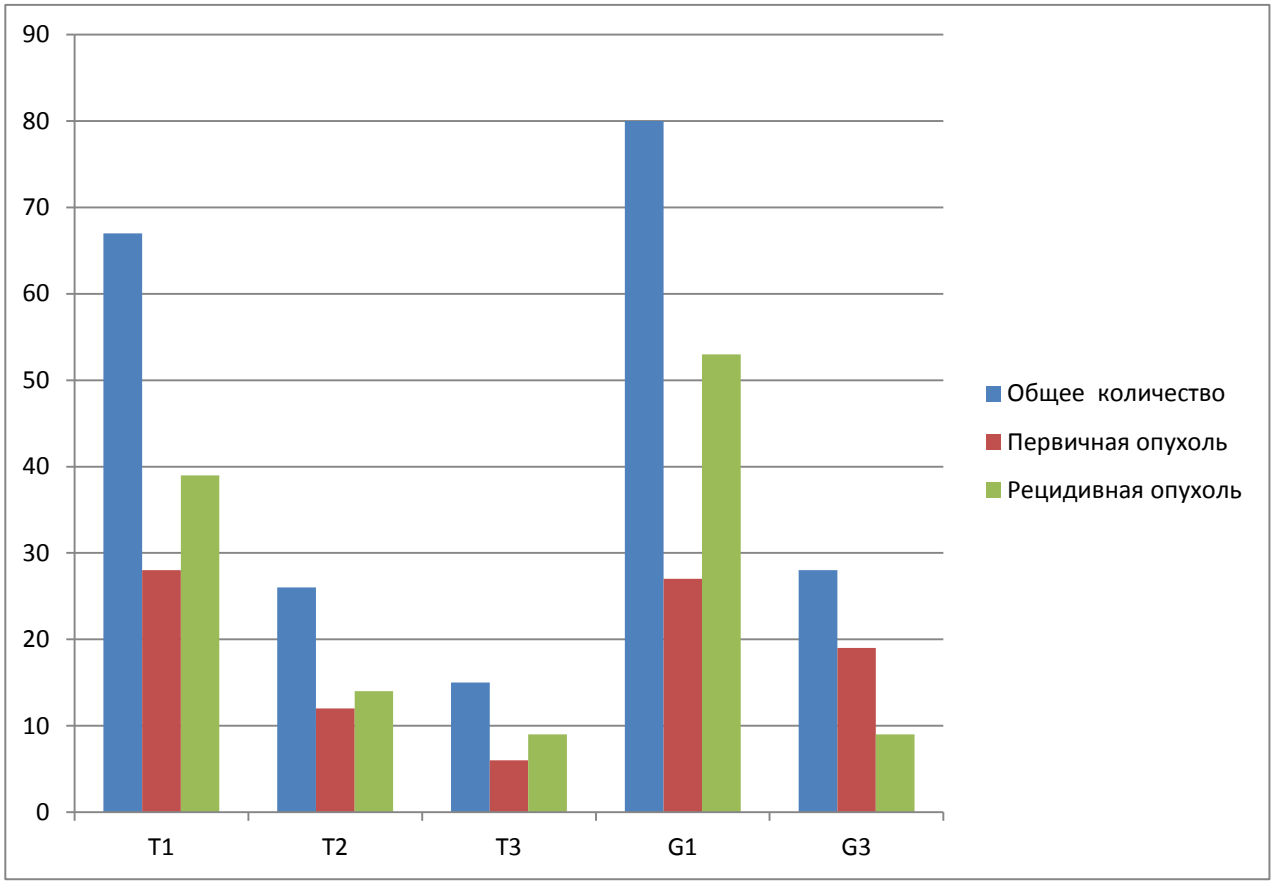

Рис.1. Распределение больных раком мочевого пузыря по категории Т и степени дифференцировки.

Пациенты с первичным раком мочевого пузыря на этапе динамического наблюдения после первичного лечения РМП, после радикальной цистэктомии с ортотопической кишечной пластики и с различными неонкологическими заболеваниями МПС были разделены на 4 группы:

группа №1 – В эту группу вошли 46 пациентов (34 мужчины и 12 женщин), в возрасте от 22 до 85 лет, средний возраст которых составил 59,5 лет, с впервые выявленным раком мочевого пузыря. У этих пациентов исследовалась общая чувствительность UBC теста, а также в сочетании с другими прогностическими факторами течения РМП (категория Т, размер и количество опухолей, степень дифференцировки опухоли). Тест выполнялся накануне видеоэндоскопических

вмешательств: цистоскопия, ТУР мочевого пузыря или ТУ-биопсия мочевого, или радикальная цистэктомия.

группа №2 - 108 пациентов (37 женщин и 71 мужчин), в возрасте от 29 до 87 лет средний возраст - 59.5 лет, с гистологически верифицированным РМП, которым ранее проводилась ТУР мочевого пузыря с последующей адъювантной терапией, находившимися на этапе динамического наблюдения. В этой группе у всех пациентов параллельно исследованы уровни UBC в моче и TPA в крови. Забор анализов проводился до эндоскопической манипуляции. Трансуретральная резекция проводилась при наличии опухолей или подозрительных участков слизистой оболочки, при отсутствии опухолевых образований или подозрительных участков проводилась рандомная мультифокальная биопсия с получением патоморфологического заключения. В этой группе исследовались диагностические и прогностические возможности этих тестов и сравнивались с результатами цистоскопии и патоморфологическими данными.

группа №3 – 11 пациентов (7 мужчин и 4 женщины) в возрасте от 47 до 63 лет, средний возраст 55.6 лет. У всех пациентов резервуар в разных модификациях был сформирован из тонкой или толстой кишки. Исследование проводилось однократно в течение первого года и не ранее 4-х месяцев после оперативного вмешательства. После выполения UBC теста в моче, всем пациентам выполнялась уретрорезервуароскопия, УЗИ или КТ брюшной полости и малого таза с пероральным и внутривенным контрастированием.

группа №4 - 13 пациентов (5 мужчин и 8 женщин) с различными не онкологическими заболеваниями МПС, в возрасте от 23 до 87 лет; средний возраст составил 55.8 лет. Диагностированы такие заболевания как цистит, пиелонефрит, мочекаменная болезнь, гиперплазия предстательной железы. Исследование UBC теста проводилось до начала терапии основного заболевания.

Для определения TPA у пациентов выполнялся забор венозной крови в объёме 10 мл, кровь центрифугировалась в течение 10 минут при 1000 об\мин.

Сыворотку крови замораживали до -18°С и перед непосредственным выполнением анализа размораживали при комнатной температуре. Верхней границей нормы ТРА считается 120 Ед/мл.

Метод основан на иммунохимическом анализе с хемилюминесцентной детекцией. Это современная методика лабораторной диагностики, в основе которой лежит реакция между антителом и антигеном, причем, к антителу присоединено вещество, способное светиться в ультрафиолетовых лучах (люминофор). После того, как реакция произошла, степень свечения регистрируется при помощи специальных люминометров.

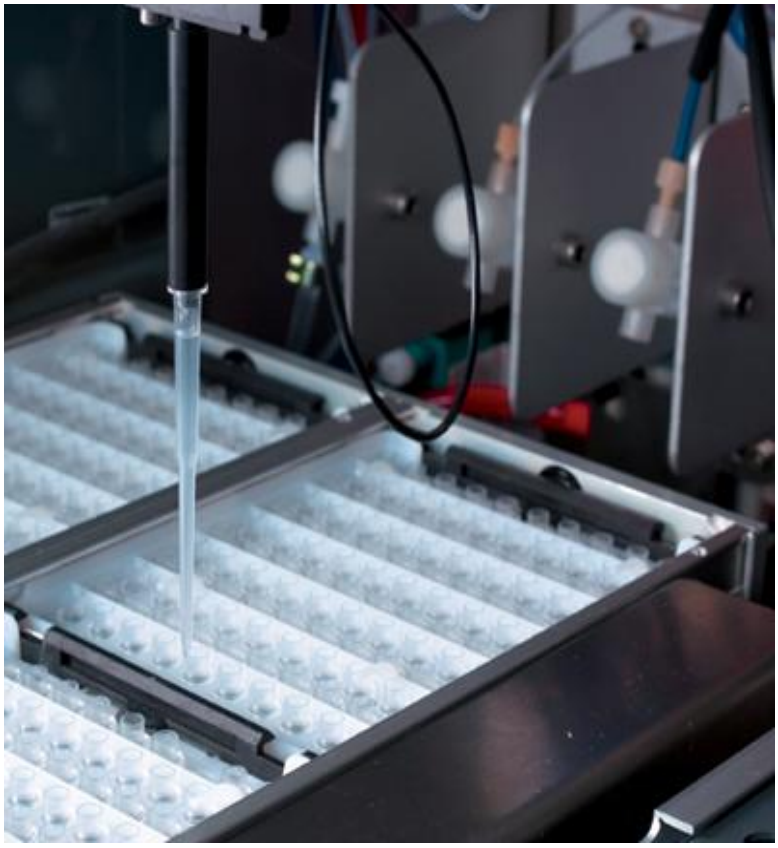

Рис.2. Автоматический хемилюминесцентный анализатор «IMMULITE» (США)

Для определения уровня UBC исследована средняя порция утренней мочи, которая подвергалась центрифугированию в течение 10 мин при 1000 об\мин и хранилась при температуре -20°С; при выполнении анализа моча размораживалась при комнатной температуре. Забор пробы проводился до лечения и не ранее 10 суток после инвазивных процедур.

С помощью тест-системы UBC фиксируется количественное радиометрическое выявление цитокератинов 8 и 18 в моче методом сэндвича в твердой фазе на основе иммунохимической реакции с этанолом. Верхней границей нормы молекулярного маркера UBC в моче считается 12 мкг/л.

Рис.3. Набор тест системы UBC для иммуноферментного анализа «IDL BIOTECH» (Швеция).

Из инструментальных методов исследования применялись: ультрасонография, экскреторная урография с нисходящей цистографией, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография. Эти методы позволяют оценить локализацию, размер и количество опухолей, а также местное распространение опухолевого процесса и состояние верхних мочевыводящих путей.

При цистоскопии оценивалась ёмкость мочевого пузыря, состояние слизистой, выраженность сосудистого рисунка, основание, размер и строение опухоли, количество очагов, вовлечение в процесс устьев мочеточников. Во время цистоскопического исследования при наличии опухолевого процесса,

выполнялось трансуретральное взятие биопсии из опухоли или ТУ-резекция мочевого пузыря, при отсутствии опухоли выполнялась рандомная щипковая биопсия мочевого пузыря.

Рассчитывались основные показатели информативности диагностических методов: чувствительность, специфичность, положительная прогностическая ценность и отрицательная прогностическая ценность тестов. Полученные данные были обработаны с использованием программы 9.2.1 Excel.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты исследования цитокератинов в 4-х группах пациентов, с гистологически верифицированным РМП и различными неонкологическими заболеваниями.

В группе №1 после гистологической верификации установлено: у 28 пациентов категория T1 (60%), у 12 пациентов (26%) - T2 и у 6 пациентов (13%) - T3. По степени дифференцировки из 46 пациентов G1 выявлена у 27 пациентов (58%), а G3 у 19 пациентов (41%). По количеству и диаметру опухолей, пациенты Группы №1 распределились следующим образом:

2 группы (группа N) по числу опухолей:

(Группа N1) - первая группа - единичная опухоль - 31 пациент.

(Группа N2) - вторая группа - от 2-х до 7 опухолей - 15 пациентов.

2 группы (группа D) по диаметру опухолей:

(Группа D1) - первая группа – единичная или множественные опухоли до 3 см в диаметре - 36 пациентов.

(Группа D2) - вторая группа – единичная или множественные опухоли более 3 см в диаметре - 10 пациентов.

Таблица 7

Распределение пациентов с первичным РМП по категории Т, степени дифференцировки и количеству опухолей

Распределение больных по группам	Число больных
T1	28
T2	12
T3	6
G1	27
G3	19
Группа N1	31
Группа N2	15
Группа D1	36
Группа D2	10

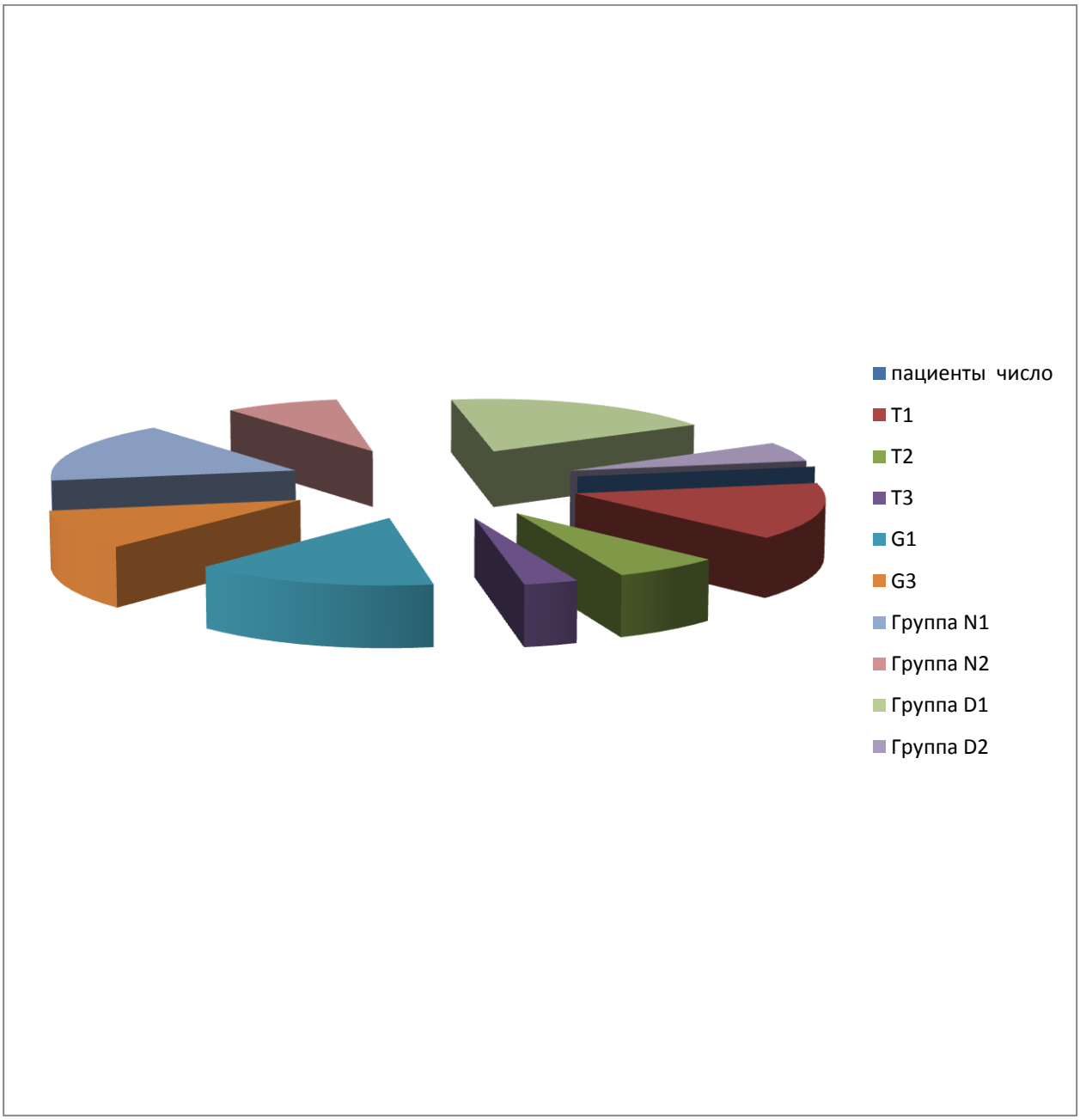

Рис.4. Распределение пациентов с первичным РМП по категории Т, степени дифференцировки и количеству опухолевых очагов.

Проведённое исследование показало, что чувствительность метода при категории Т1, Т2 и Т3 составляет 89%, 91% и 100% соответственно.

При оценке чувствительности метода в зависимости от дифференцировки опухоли установлено, что при G1 она составляет 89% и при G3 - 94%.

Чувствительность метода в зависимости от числа и диаметра опухолей составила: в Группе N1 - 89%, в Группе N2 - 93%, в Группе D 1 - 89%, в Группе D 2 - 90%.

Общая чувствительность метода у пациентов с первичной опухолью мочевого пузыря составила 89%.

Таблица 7

Чувствительность UBC теста у пациентов с первичным РМП в зависимости от категории, степени дифференцировки, и количества опухолей

Категории	Чувствительность UBC, %
T1	89
T2	91
T3	100
G1	89
G3	94
Группа N1	89
Группа N2	94
Группа D1	89
Группа D2	90

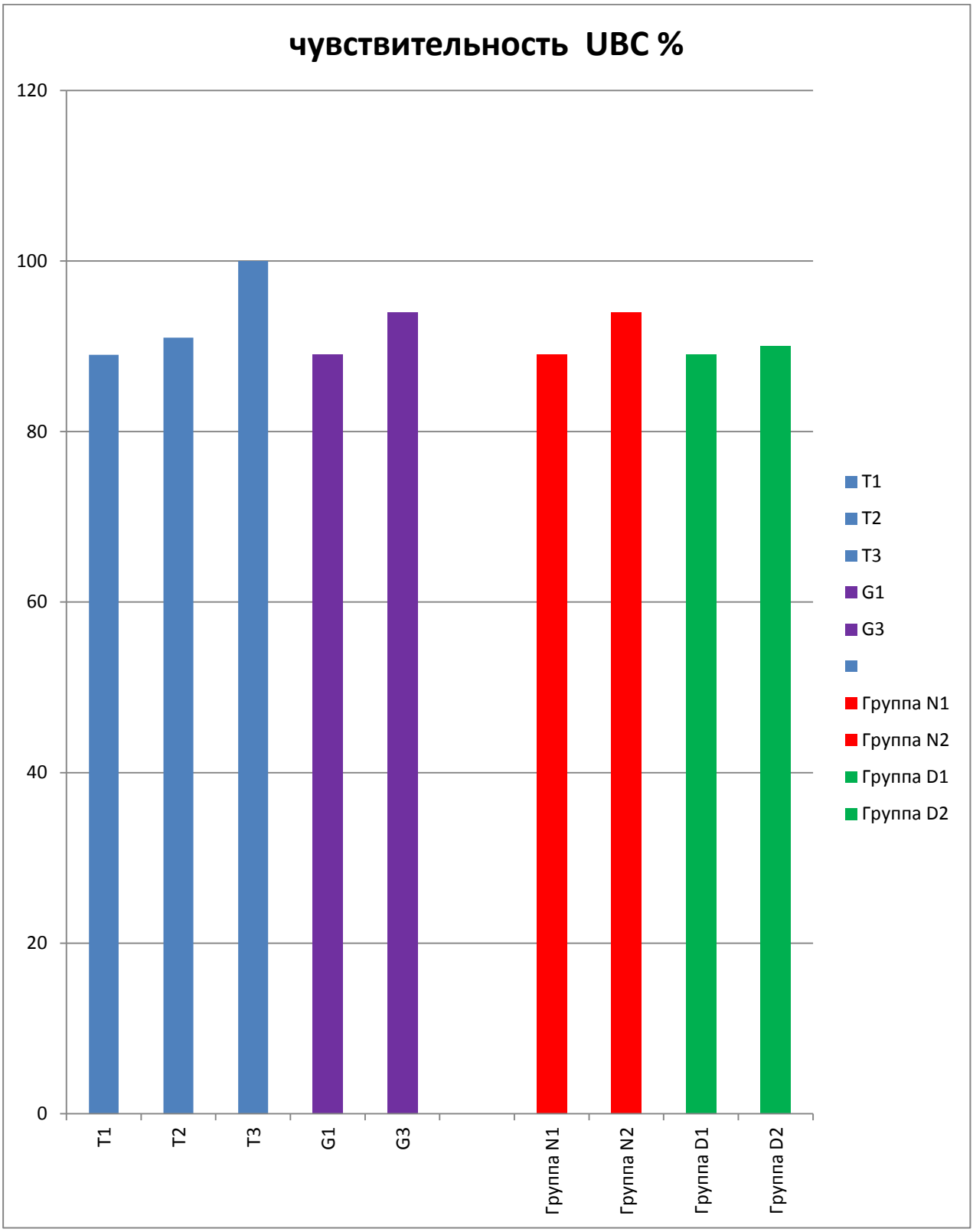

Рис.5. Чувствительность UBC теста у пациентов с первичным РМП в зависимости от категории, степени дифференцировки и количества опухолей

Таблица 8

Пределы колебания уровня UBC у больных первичным раком мочевого пузыря в зависимости от категории Т, степени дифференцировки, размера и количества опухолей.

Категория	Колебания уровня UBC	Средний уровень UBC
T1	0.1 - 231 мкг/л	46.65± 0.5 мкг\л
T2	10.9 - 271 мкг/л	55.91± 0.5 мкг/л
T3	23.9 - 331.1 мкг/л	126 ± 0.5 мкг/л.
G1	0.1-179.2 мкг/л	24.5 ± 0.5 мкг/л
G3	14.6-331.1 мкг/л	94 ± 0.5 мкг/л.
Группа N1	0.1 - 95.8 мкг/л	42.9± 0.5 мкг/л.
Группа N2	14.6 - 331.1 мкг/л	92.6 ± 0.5 мкг/л.
Группа D1	0.1 - 179.2 мкг/л	29.8 ± 0.5 мкг/л
Группа D2	23.9 - 331.1 мкг/л	98.9 ± 0.5 мкг/л.

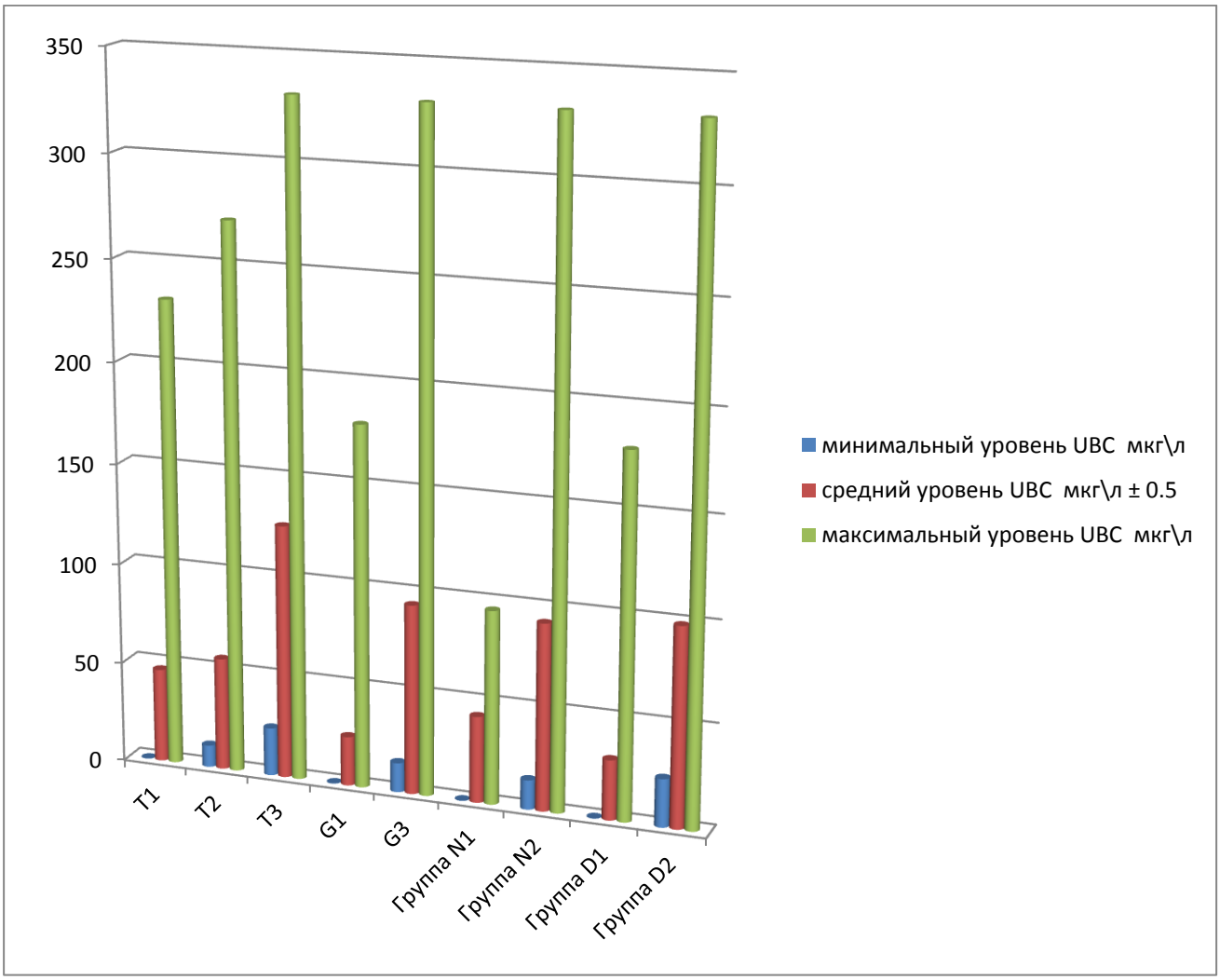

Рис.6. Пределы колебания уровня UBC у больных первичным раком мочевого пузыря в зависимости от категории Т, степени дифференцировки, размера и количества опухолей.

Нами было отмечено, что по мере усиления опухолевой инвазии в стенку мочевого пузыря и степени злокачественности имело место стойкое повышение уровня UBC. Также зарегистрирована связь между увеличением показателей уровня UBC и увеличением количества и размеров опухолей.

В группе №2 полученные данные показали, что из 108 пациентов у 80 цистоскопически визуализированы опухоли в мочевом пузыре, а у 28 опухоли цистоскопически не определялись, и им была выполнена рандомная биопсия мочевого пузыря. По данным проведенного исследования биопсийного материала 108 пациентов, у 46 гистологически данных за рак не получено, а у 62

пациентов выявлена уротелиальная карцинома мочевого пузыря. Из них у 53 пациентов диагностирована G1, а у 9 - G3. Детальная интерпретация сравнительных результатов **TPA и UBC** с гистоморфологическими данными отражена в таблице 9.

Таблица 9

Сравнительные результаты цистоскопии с биопсии мочевого пузыря и молекулярных маркеров группы цитокератинов

Методы исследования	Оценка	Пациенты с положительным результатом биопсии	Пациенты с отрицательным результатом биопсии	Общее количество пациентов
TPA	положительный	46	10	56
	отрицательный	16	36	52
UBC	положительный	30	2	32
	отрицательный	32	44	76
Комбинация TPA и UBC	положительный	54	12	66
	отрицательный	8	34	42
цистоскопия	положительный	62	18	80
	отрицательный	0	28	28
Общее число		62	46	108

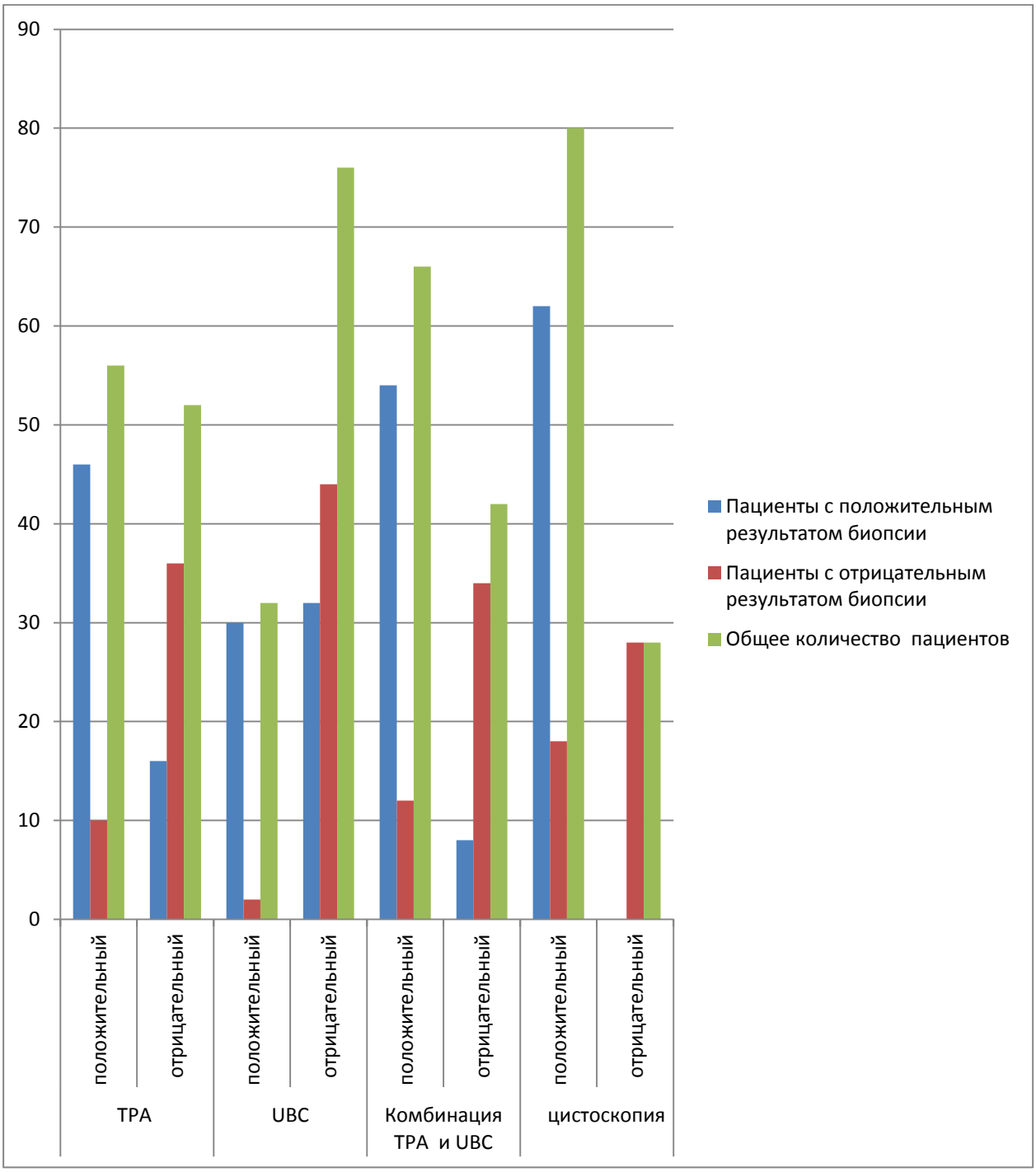

Рис.7. Сравнительные результаты цистоскопии с биопсии мочевого пузыря и молекулярных маркеров группы цитокератинов

TPA тест был положительным у 56 пациентов (51.9%), а положительный UBC тест выявлен у 32 больных (29.6%). Чувствительность TPA была значительно выше, чем чувствительность UBC (74.2% и 48.4%) соответственно. При комбинированном использовании обоих тестов установлена чувствительность 87.1%, а специфичность 73.9%. Из 56 пациентов с

положительным TPA у 22 также выявлен положительный UBC тест. У 48 пациентов из 52 с отрицательным показателем TPA, также выявлен отрицательный результат UBC теста. Соотношение тестов и их диагностические и прогностические возможности отражены в таблице 10.

Таблица 10

Чувствительность, специфичность, положительная прогностическая ценность, отрицательная прогностическая ценность тестов: TPA, UBC, комбинация TPA и UBC тестов, цистоскопии**.**

	Чувствитель-ность %	Специфич-ность %	Положительная прогности-ческая ценность %	Отрицательная прогности-ческая ценность %
TPA	74.2	78.3	82.1	69.2
UBC	48.4	95.7	93.8	57.9
Комбинация TPA и UBC	87.1	73.9	81.8	81.0
цистоскопия	100	60.9	77.5	100

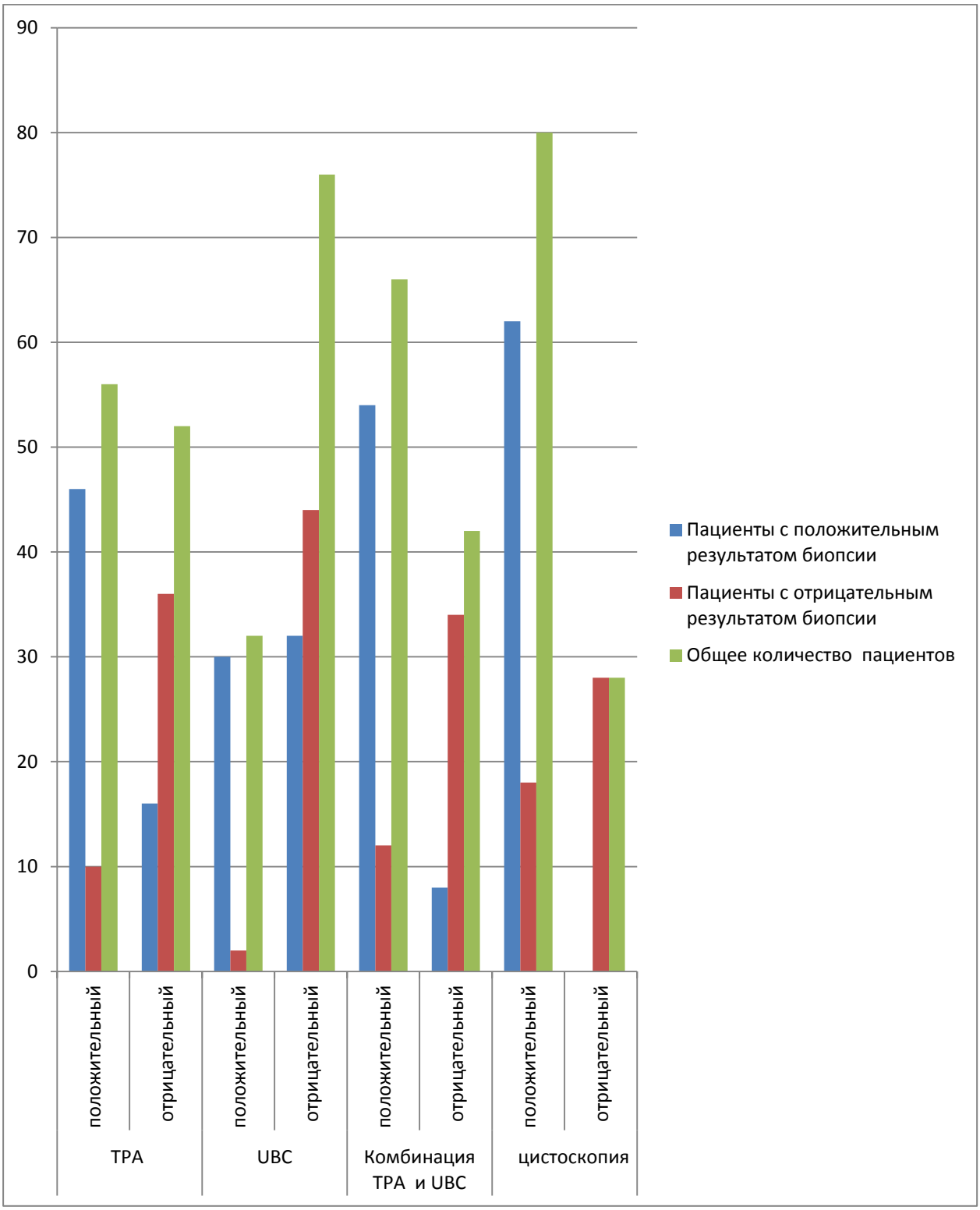

Рис.8. Чувствительность, специфичность, положительная прогностическая ценность, отрицательная прогностическая ценность тестов: TPA, UBC, комбинация TPA и UBC тестов и цистоскопии.

В группе №3 у больных после радикальной цистэктомии с ортотопической кишечной пластикой исследование показало, что UBC тест был ложноположительным у всех пациентов (колебание теста 138.8 - 351.2 мкг/л, средний уровень 179.8 ± 0.5 мкг/л), несмотря на отсутствие рецидива, прогрессирования заболевания или наличие резидуальных опухолей при уретрорезервуароскопии, УЗИ или КТ брюшной полости и малого таза с контрастированием.

Таблица 11

Показатели UBC теста в моче у пациентов после радикальной цистэктомии с различными вариантами ортотопической цистопластики.

Уровень UBC в моче	Тонкокишечная пластика n (7)	Толстокишечная пластика n (4)
Минимальный уровень	138,8	143,9
Средний уровень	236,6	258,4
Максимальный уровень	333,7	351,2

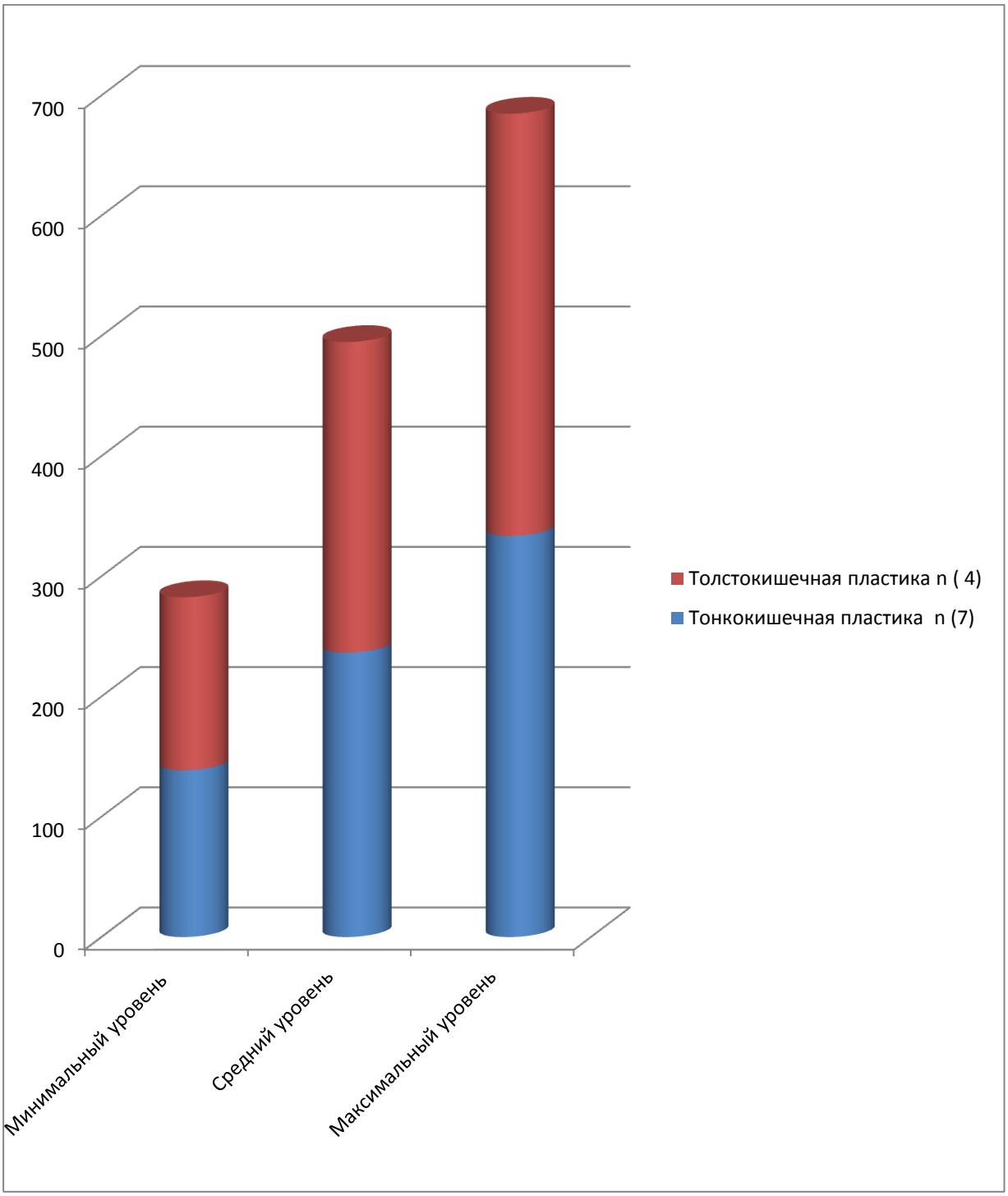

Рис.9. Показатели UBC теста в моче у пациентов после радикальной цистэктомии с различными вариантами ортотопической цистопластики.

Также нужно отметить, что при микроскопическом исследовании осадка мочи у этих пациентов наблюдались: стойкая лейкоцитурия (от 30 до сплошь в п\з), низкий удельный вес (1003-1008), незначительная протеинурия (0.04 – 0.67 г\л) и умеренное количество эритроцитов в моче (до 10 в п\з).

В группе №4 UBC тест выполнялся пациентам со следующими заболеваниями мочеполовой системы: цистит, пиелонефрит, гиперплазия предстательной железы, мочекаменная болезнь. Ложноположительный тест выявлен у 3 пациентов: 1 - Острый геморрагический цистит, осложнённый тампонадой мочевого пузыря UBC - 120.9 мкг/л., 2 - Гиперплазия предстательной железы, осложнённая острой задержкой мочеиспускания UBC - 124.9 мкг/л. 3 - Острый правосторонний пиелонефрит с кровотечением UBC - 127.5 мкг/л, средний показатель UBC составил 124.56 ± 0.5 мкг/л. У 10 пациентов тест показал подлинно отрицательный результат (колебания теста 0.3 - 7.5 мкг/л, средний 2.71 ± 0.05 мкг/л). Исследование показало, что специфичность UBC теста у пациентов с различными неонкологическими заболеваниями составила 77%.

Таблица 12

Уровни UBC теста в моче у пациентов с различными неонкологическими заболеваниями МПС.

Уровень UBC в моче	Ложноположительный n (3)	Подлинноотрицательный n (10)
Минимальный уровень	120,9	0,3
Средний уровень	124,9	2,71
Максимальный уровень	127,5	7,5

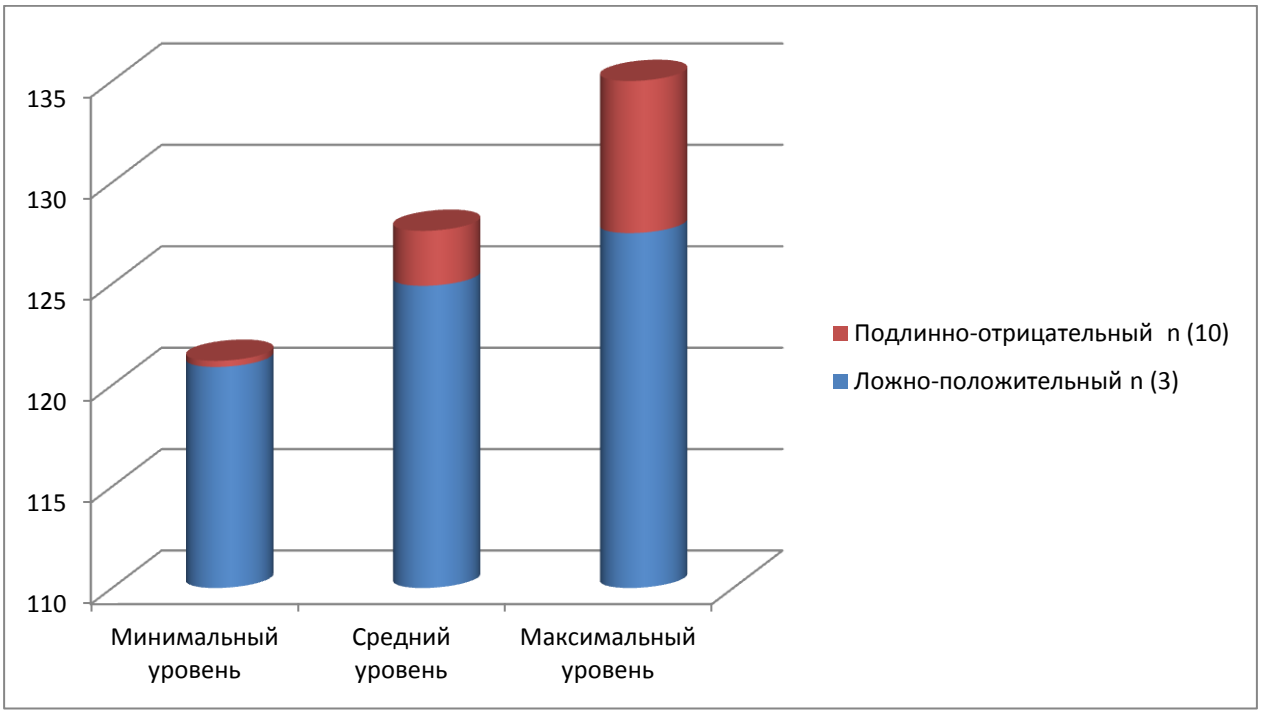

Рис.10. Уровни UBC теста в моче у пациентов с различными неонкологическими заболеваниями МПС.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ

Рак мочевого пузыря является является сложным и гетерогенным заболеванием, генез которого охватывает несколько факторов, начиная от генетических изменений разнообразных молекул, в том числе хромосомных маркеров, генетический полиморфизм, генетические и эпигенетические изменения, которые могут быть потенциально вовлечены в онкогенез, прогрессирование и исход заболевания. Известно, что оценки риска основаны на традиционных клинических и патологических данных, которые дают важную, но ограниченную прогностическую информацию об исходе заболевания и относительно ответа на проведённое лечение. Таким образом, более подробное понимание молекулярных механизмов, участвующих в канцерогенезе и прогрессировании рака, приводят к идентификации большого числа молекулярных маркеров РМП, которые имеют значимую прогностическую ценность. Такими маркерами являются ДНК, РНК и белки, они могут быть исследованы в различных биологических образцах, в сыворотке крови, мочи, а также в тканях. Нужно отметить, что наиболее эффективное прогностическое значение имеет комбинация различных маркеров, по сравнению с исследованием одного онкомаркера. Таким образом, новые исследования должны двигаться в двух направлениях.

Первым остаётся определение новых молекулярных маркеров, которые могли бы надежно прогнозировать поведение опухоли и реакцию опухоли на лечение, с возможностью создания панели онкомаркеров для практического применения. В этом отношении важно, что маркеры имели бы не только высокую чувствительность и специфичность, но и были легко и быстро выполнимы, а также экономически приемлимы.

Второе - оптимизация доступных маркеров путём их включения в клиническую практику, вместе со стандартными клинико-патологическими показателями. Всё перечисленное поможет лучше диагностировать и прогнозировать рак мочевого пузыря.

На сегодняшный день золотым стандартом в диагностике и послеоперационном ведении больных раком мочевого пузыря является цистоскопия в сочетании с цитологическим исследованием осадка мочи. В настоящее время не существует неинвазивного диагностического метода для диагностики рака мочевого пузыря. Роль цитокератинов в диагностике РМП остаётся предметом обсуждения.

Так, исследование 168 пациентов, 100 из которых - с установленным гистологическим диагнозом уротелиальной карциномы, оценивались онкомаркеры UBC, фибронектин, белок ядерного матрикса 22 и цитологическое исследование мочи (Eissa S. et al., 2002).

Исследование показало, что чувствительность UBC была выше, чем цитологическое исследование осадка мочи - 67% и 55% соответственно, в то время как специфичность цитологии осадка мочи была значительно выше - 100% по сравнению с 80,8% для UBC. Полученные данные доказали, что фибронектин и белок ядерного матрикса 22 более точные маркеры, а также комбинация цитологического исследования с другими маркерами повышает чувствительность метода до 95%. UBC антиген и цитология осадка мочи в комбинации имели чувствительность 82,8%. По данным разных исследователей, чувствительность UBC превышает чувствительность цитологии осадка мочи и, в среднем, составляет более 60%. Также отмечена чёткая корреляция диагностической точности онкомаркеров с размерами опухоли, степенью дифференцировки и стадией заболевания (Boman H., Hedelin H., Holmang S., 2002).

В другом исследовании чувствительность UBC теста для рецидивных опухолей составила 72%, а для первичных опухолей - 60%. Однако, ни одна работа не показала достаточную эффективность цитокератинов или других тестов, чтобы расценивать их как альтернативу цистоскопии с патоморфологическим исследованием материала. С помощью тестов возможно уменьшить число цистоскопий и увеличить интервалы между ними

индивидуально у каждого пациента во время динамического наблюдения (Sanchez-Carbayo M. et al., 2000).

В нашей работе изучен молекулярный маркер UBC в моче у больных с первично выявленным раком мочевого пузыря. Проведённый анализ показал, что чувствительность метода при категории Т1, Т2 и Т3 составляет 89%, 91% и 100% соответственно. В зависимости от дифференцировки опухоли установлено, что чувствительность при G1 составляет 89%, а при G3 - 94%. Чувствительность метода в зависимости от числа опухолей составила: в группе N1 (единичнная опухоль) - 89%, в группе N2 (от 2-х до 7 опухолей) - 93%, в группе D1 (единичная или множественные опухоли до 3-х см в диаметре) - 89%, в группе D2 (единичная или множественные опухоли более 3-х см в диаметре) - 90%. Общая чувствительность метода у пациентов с первичной опухолью мочевого пузыря составила 89%.

Также мы провели сравнительный анализ цитокератинов ТРА и UBC, вместе со стандартными методами диагностики (цистоскопия с патоморфологическим исследованием материала) у больных РМП. Наши результаты показывают, что ТРА превосходит UBC тест по чувствительности, (74.2% и 48.4%) соответственно, но специфичность UBC значительно выше, чем ТРА, (95.7% и 78.3%) соответственно. При комбинации двух тестов совокупная чувствительность методов достигает 87.1%.

У пациентов после радикальной цистэктомии с ортотопической кишечной пластикой исследование UBC теста в моче показало, что тест является ложно положительным у всех пациентов, несмотря на отсутствие рецидива, прогрессирования заболевания или наличия резидуальных опухолей.

В группе пациентов с различными неонкологическими заболеваниями МПС, установлено, что специфичность UBC теста в моче составляет 77%.

Перспективным направлением среди неинвазивных методов диагностики РМП является исследование уже существующих онкомаркеров, поиск

подходящей комбинации этих тестов, а также обнаружение новых молекулярных маркеров, что может послужить надёжным диагностическим инструментом в диагностике РМП. Конечной целью является найти идеальный маркер, который будет иметь высокую диагностическую точность, а также будет комфортным и малозатратным в применении.

Выводы

1.Исследование молекулярного маркера UBC в моче у пациентов с первичным раком мочевого пузыря является целесообразным. Применение данного маркера в совокупности с другими прогностическими факторами, обладает чувствительностью при категории Т1, Т2 и Т3 89%, 91% и 100% соответственно. Общая чувствительность UBC - теста у пациентов с первичной опухолью мочевого пузыря составила 89%.

2.При динамическом наблюдении пациентов после радикальной цистэктомии с ортотопическими кишечными резервуарами при отсутствии рецидива и прогрессирования заболевания тест UBC даёт ложно положительные результаты (средний уровень UBC составил 179.8 ± 0.5 мкг/л– норма до 12 мкг/л).

3.Тест UBC не является точным методом дифференциальной диагностики РМП с различными неонкологическими заболеваниями МПС вследствие значительного колличества ложно-положительных результатов (средний уровень UBC составил 124.56 ± 0.5 мкг/л – норма до 12 мкг/л).

4.При комбинированном использовании тестов TPA и UBC в мониторинге РМП у пациентов после первичного лечения установлено, что чувствительность TPA (74,2%), превосходит чувствительность UBC (48,4%), но специфичность UBC (95,7%) достоверно высше, чем специфичность TPA (78,3%). При использовании комбинации сывороточных и мочевых цитокератинов (TPA и UBC) чувствительность метода повышается до 87,1%.

Практические рекомендации:

1. Рекомендуется определять молекулярный маркер UBC в моче у пациентов с подозрением на рак мочевого пузыря с целью улучшения его ранней диагностики.
2. UBC тест не рекомендуется к использованию в дифференциальной диагностике рака мочевого пузыря с различными неонкологическими заболеваниями мочевыделительной системы.
3. Показатели UBC теста являются ложно положительными у пациентов после радикальной цистэктомии с ортотопическими кишечными резервуарами.
4. Целесообразно применение UBC теста при динамическом наблюдении за больными раком мочевого пузыря с целью уменьшения числа выполняемых цистоскопий.

Список литературы

1. Аполихин О.И. Состояние оказания урологической помощи в России и задачи службы по реализации национального проекта «Здоровье». Пути улучшения образования уролога. М: Дипак; 2007; 32 с.

2. Злокачественные новообразования в России в 2010 году (заболеваемость и смертность). [Под ред. В.И. Чиссова, В.В. Старинского, Г.В. Петровой]. М.,2012.260 с

3. Заболотнева А.А., Гайфуллин Н.М., Буздин А.А., Алексеев Б.Я., Андреева Ю.Ю., Шегай П.В., Соков Д.Г., Русаков И.Г. Молекулярные маркеры рака мочевого пузыря от частного к целому. Онкоурология. 2011. N 3. С. 16-19.

4. Сергеева Н.С., Маршутина Н.В., Родина И.А. Использование маркера рака мочевого пузыря UBC в диагностике и мониторинге больных. Пособие для врачей. М. , 2004. 19 с

5. Матвеев Б.П., Фигурин К.М., Корякин О.Б. Рак мочевого пузыря. М., 2001.243 с.

6. Шелепова В.М. Клиническое значение определения растворимого фрагмента цитокератина 19-Cyfra 21-1 // . 2004. Лаборатория № 2. С. 3—6.

7. Клиническая онкоурология [Под ред. Б.П. Матвеева]. М., 2011. 934 с.

8. Рязанцев В.Е. Прогностическая значимость общеклинических и молекулярно-биологических маркеров группы кератинов в ранней диагностике рака мочевого пузыря: Дис… канд. мед. наук. М., 2011.156 с.

9. Коган М.И., Перепечай В.А. Рак мочевого пузыря. Ростовский государственный медицинский университет, 2002. 239 с.

10. Сергеева Н.С. Новые опухолевые маркеры в онкоурологии. //Матер. V Всерос. научно-практич. конф. с междунар. участием «Актуальные вопросы лечения онкоурологических заболеваний» 2-3 октября. Обнинск, 2003. С. 144–145

11. Мационис А.Э., Матвеенко А.А., Медведева Л.А.,Ягубянц Ю.Т. Поверхностный рак мочевого пузыря. Роль патолога / Материалы 4-й Всерос.конф. М, 2001. С 30-38.

12. Меньшиков В.В. Качество клинических лабораторных исследований. М.: Москва, 2002. 304 с.

13. Переверзев А.С., Петров С.Б. Опухоли мочевого пузыря. Харьков: Факт, 2002. 303 с.

14. Сергеева Н.С., Родина И.А., Русаков И.Г. и др. Исследование UBC-антигена как возможного уринологического маркера рака мочевого пузыря // Рос.онкол. журн. № 1. 2004. С. 30—33.

15. Шелепова В.М. Клиническое значение определения растворимого рагмента цитокератина 19-Cyfra21-1 // Лаборатория. 2004. № 2. С. 3—6. 1

16. Рекомендации Европейского общества урологов по лечению мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря, 2014 год.http:www.uroweb.org/guidelines/

17. Morales A., Eidinger D., Bruce A.W. Intracavitary bacillus Calmette-Guerin in the Treatment of superficial bladder tumors. // J Urol. 1976. Vol. 116, N 2. P. 180-183.

18. Bianco F.J. Jr, Justa D, Grignon D.J., Sakr W.A., Pontes J.E., Wood D.P. Jr. Management of clinical T1 bladder transitional cell carcinoma by radical cystectomy. // Urol Oncol. 2004. Vol. 22, N 4. P. 290-294.

19. Raitanen M.P., Kaasinen E., Lukkarinen O., Kauppinen R., Viitanen J., Liukkonen T., Tammela T.L.; Finnbladder Group. Analysis of false-positive BTA STAT test results in patients followed up for bladder cancer. // Urol. 2001. Vol. 57, N 4. P. 680-684

20. Brausi M., Witjes J.A., Lamm D., Persad R., Palou J., Colombel M., Buckley R., Soloway M., Akaza H., Böhle A. A review of current guidelines and best practice recommendations for the management ofnonmuscle invasive bladder cancer by the International Bladder Cancer Group. // J Urol. 2011. Vol. 186, N 6. P. 2158-2167.

21. Lokeshwar V.B., Habuchi T., Grossman H.B., Murphy W.M., Hautmann S.H., Hemstreet G.P. 3rd, Bono A.V., Getzenberg R.H., Goebell P., Schmitz-Dräger B.J., Schalken J.A., Fradet Y., Marberger M., Messing E., Droller M.J. Bladdertumor

markers beyond cytology: International Consensus Panel on bladder tumor markers. // Urol. 2005. Vol. 66, N 6, Suppl 1. P. 35-63.

22. Grossman H.B., Messing E., Soloway M., Tomera K., Katz G., Berger Y., Shen Y. Detection of bladder cancer using a point-of-care proteomic assay. // JAMA. 2005. Vol. 293, N 7. P. 810-816.

23. Glas A.S., Roos D., Deutekom M., Zwinderman A.H., Bossuyt P.M., Kurth K.H.Tumor markers in the diagnosis of primary bladder cancer.A systematic review. // J Urol. 2003. Vol. 169, N 6. P. 1975-1982.

24. 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. Vol. 47, N 6. P. 736-748.

25. Williams S.G., Stein J.P. Molecular pathways in bladder cancer. // Urol Res. 2004.Vol. 32, N 6. P. 373-385.

26. Clark P.E., Agarwal N., Biagioli M.C., Eisenberger M.A., Greenberg R.E., Herr H.W., Inman B.A., Kuban D.A., Kuzel T.M., Lele S.M., Michalski J., Pagliaro L.C., Pal S.K., Patterson A., Plimack E.R., Pohar K.S., Porter M.P., Richie J.P., Sexton W.J., Shipley W.U., Small E.J., Spiess P.E., Trump D.L., Wile G., Wilson T.G., Dwyer M., Ho M. Bladder cancer. // J Natl Compr Canc Netw. 2013. Vol. 11, N 4. P. 446-475.

27. Barbieri C.E., Lotan Y., Lee R.K., Sonpavde G., Karakiewicz P.I., Robinson B., Scherr D.S., Shariat S.F. Tissue-based molecular markers for bladder cancer. // Minerva Urol Nefrol. 2010. Vol. 62, N 3. P. 241-258.

28. Protzel C., Hakenberg O.W. Molecular markers in the diagnostics and therapy of urothelial cancer. // Urologe A. 2010. Vol. 49, N 11. P. 1415-1424.

29. Roos P.H., Jakubowski N. Methods for the discovery of low-abundance biomarkers for urinary bladder cancer in biological fluids. // Bioanalysis. 2010. Vol. 2, N 2. P. 295-309.

30. Patel T., Pitman M., McKiernan J.M. Bladder cancer: a review of clinical management and prognostic factors. // Minerva Urol Nefrol. 2010. Vol. 62, N 4. P. 377-386.

31. Manvar A.M., Wallen E.M., Pruthi R.S., Nielsen M.E. Prognostic value of CA 125 in transitional cell carcinoma of the bladder.// Expert Rev Anticancer er. 2010. Vol. 10, N 12. P. 1877-1881.

32. Mungan N.A., Vriesema J.L., Thomas C.M. et al. Urinarybladder cancer test: a new urinary tumor marker in the follow-up of superficialbladder cancer // Urology. 2000. P. 787—792.

33. Sanchez-Carbayo M., Herrero E., Megı.as J. et al.Comparative sensitivity of urinary CYFRA 21-1, UBC, TPA and NMP22 inthe detection of bladder cancer // J. Urol. 1999. № 162.P. 1951—1956.

34. Youssef R.F., Shariat S.F., Kapur P. et al. Expression ofcellcycle-related molecular markers in patients treated with radical cystectomyfor squamous cell carcinoma of the bladder. // Hum Pathol. 2011.Vol. 42, N 3. P. 347-555.

35. Ajit D., Dighe S., Desai S. Has urine cytology a role to play in the era offlorescence in situ hybridization? // Acta Cytol. 2010. Vol.54, N 6. P. 1118-1122.

36. Lokeshwar V.B., Block N.L. HA-HAase urine test. A sensitive and specifi method for detecting bladder cancer and evaluating its grade. // Urol Clin.North Am. 2000.Vol. 27, N 1.P. 53–61.

37. Li T., Chen Z., Lin C. Value ofurinary cytokeratins 8 and 18 as a diagnostic marker for transitional cell carcinoma. // Chin J Urol. 2003. Vol. 24.P. 12.

38. Jeong S., Park Y., Cho Y., Kim Y.R., Kim H.S. Diagnostic values of urine CYFRA21-1, NMP22, UBC, and FDP for the detection ofbladder cancer.// Clin Chim Acta. 2012. Vol. 414. P. 93-100.

39. Todenhöfer T., Hennenlotter J., Ritter R. et al. Point-of-care testing for bladder cancer – the UBC Rapid test on the concile® Ω100 reader platform provides quantitative results. // Eur Urol Suppl. 2013. Vol. 12, Issue 1. P. e365

40. Yamashita S., Hoshi S., Ohyama C. et al. Urethral reccurence following neobladder in bladder cancer patients // Tohoku J. Exp.Med. 2003. V. 199. P. 197—203

41. Jemal A., Siegel R., Ward E. et al. Cancer statistics, 2008. CA Cancer J Clin 2008; 58: 71-96.

42. Messing E.M. Urothelial tumors of the renal pelvis and ureter. In: Walsh PC, Retik AB, Vaughan E.D. Jr, et al. Campbell's urology. 8th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2002. p.2737-41.

43. Eissa S., Swellam M., Sadek M. et al. Comparative evaluation of the nuclear matrix protein, fibronectin, urinary bladder cancer antigen and voided urine cytology in the detection of bladder tumors. J Urol. 2002;168:465-9.

44. Babjuk M., Kostirova M., Mudra K. et al. Qualitative and quantitative detection of urinary human complement factor H-related protein (BTA stat and BTA TRAK) and fragments of cytokeratins 8, 18 (UBC rapid and UBC IRMA) as markers for transitional cell carcinoma of the bladder. Eur Urol. 2002;41:34-9.

45. Todenhöfer T., Hennenlotter J., Ritter R. et al. Point-of-care testing for bladder cancer – the UBC Rapid test on the concile® 100 reader platform provides quantitative results. // Eur Urol Suppl. 2013. Vol. 12, Issue 1. P. e365

46. Van Popel H., Billen J., Goethuys H., Elqamal A.A., Gerits, Mortelmans L., Blanckaert N, Baert L . 1996/.

47. Sanchez-Carbayo M., Urrutia M., Gonzalez de Buitrago J.M. et al. Utility of serial urinary tumor markers to individualize intervals between cystoscopies in the monitoring of patients with bladder carcinoma.Cancer. 2001;92:2820-8.

48. Boman H., Hedelin H., Holmang S. Four bladder tumor markers have a disappointingly low sensitivity for small size and low grade recurrence. J Urol. 2002;167:80-3.

49. Sanchez-Carbayo M., Urrutia M., Romani R., Herrero M., Gonzalez de Buitrago J.M., Navajo J.A. Serial urinary IL- 2, IL-6, IL-8, TNFalpha, UBC, CYFRA 21-1 and NMP22 during follow-up of patients with bladder cancer receiving intravesical BCG. Anticancer Res. 2001;21(4B):3041-7.

50. Giannopoulos A., Manousakas T., Gounari A., Constantinides C., Choremi-Papadopoulou H., Dimopoulos C. Comparative evaluation of the diagnostic performance of the BTA stat test, NMP22 and urinary bladder cancer antigen for primary and recurrent bladder tumors. J Urol. 2001;166:470-5.

51. Ash J.E. Epithelial tumors of the bladder. J Urol. 1940;44:135-45.

52. Sumi S., Arai K., Kitahara S., Yoshida K.I. Preliminary report of the clinical performance of a new urinary bladder cancer antigen test: comparison to voided urine cytology in the detection of transitional cell carcinoma of the bladder. Clin Chim Acta. 2000;296:111-20.

53. Mian C., Lodde M., Haitel A., Egarter Vigl E., Marberger M., Pycha A. Comparison of two qualitative assays, the UBC rapid test and the BTA stat test,in the diagnosis of urothelial cell carcinoma of the bladder. Urology. 2000 Aug 1;56(2):228-31.

54. Mian C., Lodde M., Haitel A., Vigl E.E., Marberger M., Pycha A. Comparison of the monoclonal UBC-ELISA test and the NMP22 ELISA test for the detection of urothelial cell carcinoma of the bladder. Urology. 2000;55:223-6.

55.Leyh H., Hall R., Mazeman E., Blumenstein B.A. Comparison of the BardBTA test with voided urine and bladder wash cytology in the diagnosis andmanagement ofcancer ofthe bladder. // Urology. 1997. Vol. 50, N 1. P. 49-53.

56. Sarosdy M.F., Sarosdy M.F., deVere White R.W. et al. Results of a multicenter trial using the BTA test to monitor for anddiagnose recurrent bladder cancer. // J Urol. 1 995. Vol. 1 54, N 2,Pt 1. P. 379-383.

57. Gutiérrez Baños J.L, Martín García B., Hernández Rodríguez R. et al. Usefulness of BTA Stat test (Bard) in the diagnosis of bladder cancer.Preliminary results and comparison with cytology and cystoscopy. // ArchEsp Urol. 1998. Vol. 51, N 8. P. 778-782.

58. Xu K., Tam P.C., Hou S., Wang X., Bai W. The role ofnuclear matrix protein 22 combined with bladder tumor antigen stat test in surveillance of recurring bladder cancer. // Chin Med J (Engl). 2002. Vol. 1 1 5, N 1 1 .P. 1736-1738.

59. Dey P. Urinary markers ofbladder carcinoma. // Clin Chim Acta. 2004. Vol. 340. P. 123–126.

60. Bian W., Xu Z. Combined assay of CYFRA21-1, telomerase and vascular endothelial growth factor in the detection ofbladder transitional cell carcinoma. // Int J Urol. 2007. Vol. 14, N 2. P. 108-111.

61. Wakatsuki M., Suzuki Y., Nakamoto S. et al. Clinical usefulness of CYFRA 21 -1 for esophageal squamous cell carcinoma in radiation therapy. // J Gastroenterol Hepatol. 2007. Vol. 22, N 5. P. 715-719.

62. Wu G.P., Ba J., Zhao Y.J., Wang E.H. Diagnostic value of CEA, CYFRA 21-1, NSE and CA 125 assay in serum and pleural effusion of patients with lung cancer. // Acta Cytol. 2007. Vol. 51, N 4. P. 679-680.

63. Mady E.A. Cytokeratins as serum markers in egyptian bladder cancer. A comparison of CYFRA 21-1, TPA and TPS. // Int J Biol Markers. 2001. Vol. 16, N 2. P. 130-135.

64. Celis J.E., Wolf H., Ostergaard M. Bladder squamous cell carcinoma biomarkers derived from proteomics. // Electrophoresis. 2000. Vol. 21, N 11.P. 2115-2121.

65. Mowatt G., Zhu S., Kilonzo M., Boachie C. et al. Systematic review ofthe clinical effectiveness and cost-effectiveness ofphotodynamic diagnosis and urine biomarkers (FISH, ImmunoCyt, NMP22) and cytology for the detection and follow-up ofbladder cancer. // Health Technol Assess. 2010. Vol. 14, N 4. P. 1-331.

66. Laudadio J., Keane T.E., Reeves H.M. et al. Fluorescence in situ hybridization for detecting transitional cell carcinoma: implications for clinical practice. // BJU Int. 2005. Vol. 96, N 9.P. 1280-1285.

67. Oeda T., Manabe D. The usefulness of urinary FDP in the diagnosis of bladder cancer: comparison with NMP22, BTA and cytology. // Nihon Hinyokika Gakkai Zasshi. 2001. Vol. 92, N 1. P. 1-5.

68. Schmetter B.S., Habicht K.K., Lamm D.L. et al. A multicentertrial evaluation of the fibrin/fibrinogen degradation products test fordetection and monitoring of bladder cancer. // J Urol. 1 997. Vol. 1 58,N 3, Pt 1 .P. 801 -805.

69. Halling K.C., King W., Sokolova I.A. et al. A comparison of BTA stat, hemoglobin dipstick, telomerase and VysisUroVysion assays for the detection of urothelial carcinoma in urine. // JUrol. 2002. Vol. 167, N 5. P. 2001-2006.

70. Mian C., Lodde M., Haitel A., Vigl E.E., Marberger M., Pycha A. Comparison ofthe monoclonal UBC-ELISA test and the NMP22 ELISA test for thedetection of urothelial cell carcinoma of the bladder. // Urol. 2000. Vol. 55,N 2. P. 223-226.

71. Lüdecke G., Pilatz A., Hauptmann A., Bschleipfer T., Weidner W. Comparative analysis of sensitivity to blood in the urine for urine-based pointof-care assays (UBC rapid, NMP22 BladderChek and BTA-stat) in primarydiagnosis of bladder carcinoma. Interference of blood on the results ofurine-based POC tests. // Anticancer Res. 2012. Vol. 32, N 5. P. 2015-2018.

72. Babjuk M., Soukup V., Pesl M. et al. Urinary cytology and quantitative BTA and UBC tests in surveillance ofpatients with pTapT1 bladderurothelial carcinoma. // Urol. 2008. Vol. 71, N 4. P. 718-722.

73. Todenhöfer T., Hennenlotter J., Kühs U. et al. Expedient combination of urine markers enhances their diagnostic performancein the detection of urothelial carcinoma. // Eur Urol Suppl. 2013. Vol. 12.Issue 1.P. 364.

74. Shariat S.F., Marberger M.J., Lotan Y. et al. Variability in the performance of nuclear matrix protein22 for the detection of bladder cancer. // J Urol. 2006. Vol. 176, N 3.P. 919-926.

75. Black P.C., Brown G.A., Dinney C.P. Molecular markers of urothelial cancer and their use in the monitoring ofsuperfiial urothelial cancer. // J Clin1.

76. Parkin D.M., Bray F., Ferlay J. et al. Global cancer statistics, 2002. CA Cancer J Clin 2005; 55(2):74–108.

77. Ploeg M., Aben K.K., Kiemeney L.A. The present and future burden of urinary bladder cancer in the world. World J Urol 2009;27(3):289–93.

78. Jacobs B.L., Lee C.T, Montie J.E. Bladder cancer in 2010: how far have we come? CA Cancer J Clin 2010;60(4):244–72.

79. Kaufman D.S., Shipley W.U., Feldman A.S. Bladder cancer. Lancet 2009; 374(9685):239–49.

80. O' Donoghue P.M., McSweeney S.E., Jhaveri K. Genitourinary imaging: current and emerging applications. J Postgrad Med 2010;56(2):131–9.

81. Qu X., Huang X., Wu L. et al. Comparison of virtual cystoscopy and ultrasonography for bladder cancer detection: A meta-analysis. Eur J Radiol 2010.

82. Sanchez-Carbayo M. Use of high-throughput DNA microarrays to identify biomarkers for bladder cancer. Clin Chem 2003;49(1):23–31.

83. Junttila T.T., Laato M., Vahlberg T. et al. Identification of patients with transitional cell carcinoma of the bladder overexpressing ErbB2, ErbB3, or specific ErbB4 isoforms: real-time reverse transcription-PCR analysis in estimation of ErbB receptor status from cancer patients. Clin Cancer Res 2003;9(14):5346–57.

84. Yang Y.C., Li X., Chen W. Characterization of genes associated with different phenotypes of human bladder cancer cells. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai) 2006;38(9):602–10.

85. Kenney D.M., Geschwindt R.D., Kary M.R. et al. Detection of newly diagnosed bladder cancer, bladder cancer recurrence and bladder cancer in patients with hematuria using quantitative rt-PCR of urinary survivin. Tumour Biol 2007; 28(2):57–62.

86. Van Tilborg A.A., Bangma C.H., Zwarthoff E.C. Bladder cancer biomarkers and their role in surveillance and screening. Int J Urolv2009; 16(1):23–30.

87. Eissa S., Swellam M., Ali-Labib R. et al. Detection of telomerase in urine by 3 methods: evaluation of diagnostic accuracy for bladder cancer. J Urol 2007;178(3 Pt 1):1068–72.

88. Christoph F., Muller M., Schostak M. et al. Quantitative detection of cytokeratin 20 mRNA expression in bladder carcinoma by real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction. Urology 2004;64(1):157–61.

89. Carrington J.C., Ambros V. Role of microRNAs in plant and animal development. Science 2003;301(5631):336–8.

90. Dyrskjot L., Ostenfeld M.S., Bramsen J.B. et al. Genomic profiling of microRNAs in bladder cancer: miR-129 is associated with poor outcome and promotes cell death in vitro. Cancer Res 2009;69(11):4851–60.

91. Kawamoto K., Enokida H., Gotanda T. et al. p16INK4a and p14ARF methylation as a potential biomarker for human bladder cancer. Biochem Biophys Res Commun 2006;339(3):790–6.

92. Tada Y., Wada M., Taguchi K. et al. The association of death-associated protein kinase hypermethylation with early recurrence in superficial bladder cancers. Cancer Res 2002;62(14):4048–53.

93. Friedrich M.G., S. Chandrasoma K.D. Siegmund et al. Prognostic relevance of methylation markers in patients with non-muscle invasive bladder carcinoma. Eur J Cancer 2005;41(17):2769–78.

94. Marsit C.J., Houseman E.A., Schned A.R. et al. Promoter hypermethylation is associated with current smoking, age, gender and survival in bladder cancer. Carcinogenesis 2007; 28(8):1745–51.

95. 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(5):1950–4.

96. Knowles M.A. Molecular pathogenesis of bladder cancer. Int J Clin Oncol 2008; 13(4):287–97.

97. Van Rhijn B.W., Lurkin I., Kirkels W.J. et al. Microsatellite analysis–DNA test in urine competes with cystoscopy in follow-up of superficial bladder carcinoma: a phase II trial. Cancer 2001;92(4):768–75.

98. Zhang J., Fan Z., Gao Y. et al. Detecting bladder cancer in the Chinese by microsatellite analysis: ethnic and etiologic considerations. J Natl Cancer Inst 2001;93(1):45–50.

99. Goode E.L., Ulrich C.M., Potter J.D. Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2002; 11(12):1513–30.

100. Marsh H.P., Haldar N.A., Bunce M. et al. Polymorphisms in tumour necrosis factor (TNF) are associated with risk of bladder cancer and grade of tumour at presentation. Br J Cancer 2003;89(6):1096–101.

101. Liotta L.A., Petricoin E.F. Serum peptidome for cancer detection: spinning biologic trash into diagnostic gold. J Clin Invest 2006;116(1):26–30.

102. Babjuk M., Soukup V., Pesl M. et al. Urinary cytology and quantitative BTA and UBC tests in surveillance of patients with pTapT1 bladder urothelial carcinoma. Urology 2008;71(4):718–22.

103. Fernandez-Gomez J., Rodriguez-Martinez J.J., Barmadah S.E. et al. Urinary CYFRA 21.1 is not a useful marker for the detection of recurrences in the follow-up of superficial bladder cancer. Eur Urol 2007;51(5):1267–74.

104. Lodde M., Mian C., Comploj E. et al. uCyt+ test: alternative to cystoscopy for lessinvasive follow-up of patients with low risk of urothelial carcinoma. Urology 2006;67(5):950–4.

105. Miyanaga N., Akaza H., Tsukamoto S. et al. Usefulness of urinary NMP22 to detect tumor recurrence of superficial bladder cancer after transurethral resection. Int J Clin Oncol 2003;8(6):369–73

106. Y.Senga, G.Kimura, T.Hattori and K.Yoshida, “Clinical Evaluation of Soluble Cytokeratin 19 Fragments (CY- FRA 21-1) in Serum and Urine of Patients with Bladder Cancer,” Urology, Vol. 48, No. 5, 1996, pp. 703-710. doi:10.1016/S0090-4295(96)00253

107. G.Gakis, J.Efstathiou, S.P.Lerner et al., “ICUD-EAU International Consultation on Bladder Cancer 2012: Radi- cal Cystectomy and Bladder Preservation for Muscle-Invasive Urothelial Carcinoma of the Bladder,” European Urology, Vol. 63, No. 1, 2013, pp. 45-57. doi:10.1016/j.eururo.2012.08.009

108. H.Azuma, K. Yamamoto, T.Inamoto et al., “Total Cys- tectomy versus Bladder Preservation Therapy for Locally Invasive Bladder Cancer: Effect of Combined Therapy Using Balloon-Occluded Arterial Infusion of Anticancer Agent and Hemodialysis with Concurrent Radiation,” American Journal of Clinical Oncology, Vol. 32, No. 6, 2009, pp. 592-606. doi:10.1097/COC.0b013e318199fb42

109. H.Azuma, T.Inamoto, K.Takahara et al., “Neoadjuvant and Adjuvant Chemotherapy for Locally Advanced Blad- der Carcinoma: Development of Novel

Bladder Preserva- tion Approach, Osaka Medical College Regimen," Inter-national Journal of Urology, Vol. 19, No. 1, 2012, pp. 26-38. doi:10.1111/j.1442-2042.2011.02856.x

110. H.Azuma, T.Inamoto, N.Ibuki et al. "Novel Bladder Preservation Therapy for Locally Invasive Bladder Can- cer: Combined Therapy Using Balloon-Occluded Arterial Infusion of Anticancer Agent and Hemodialysis with Concurrent Radiation," International Journal of Urology, Vol. 37, No. 4, 2010, pp. 773-785. doi:10.3892/ijo_00000727

111. A.Mokarim, M.Uetani, I.Sakamoto et al. "Transcathe- ter Arterial Infusion of Cisplatin and Doxorubicin in Bladder Cancer," Acta Oncologica, Vol. 36, 1997, pp. 175-181. doi:10.3109/02841869709109227

112. S.Ozono, S.C.Kim, K.Takashima et al. "Intra-Arterial Chemotherapy for Invasive Bladder Cancer," Hinyokika Kiyo, Vol. 45, No. 2, 1999, pp. 133-137.

113. H.J.Yan, R.B.Wang, K.L.Zhu et al. Fragment Antigen 21-1 as an Independent Predictor for Definitive Chemoradiotherapy Sensitivity in Esophageal Squamous Cell Carcinoma," Chinese Medical Journal (English Edition), Vol. 125, No. 8, 2012, pp. 1410-1415.

114. Y.N.Fahmueller, D.Nagel, R.T.Hoffmann et al. "Pre- dictive and Prognostic Value of Circulating Nucleosomes and Serum Biomarkers in Patients with Metastasized Co-lorectal Cancer Undergoing Selective Internal Radiation Therapy," BMC Cancer, Vol. 4, No. 12, 2012, p. 5.

115. W.Sidney, P.C.Vincent, S.Melvin, J.Douglas "Transcatheter Intraarterial Infusion of Chemotherapy in Advanced Bladder Cancer," Cancer, Vol. 49, 1982, pp. 640-645.doi:10.1002/1097-0142(19820215)49:4<640::AID-CNCR2820490406>3.0.CO;2-6

116. C.Andreadis, S.Touloupidis, G.Galaktidou et al., "Serum CYFRA 21-1 in Patients with Invasive Bladder Cancer and Its Relevance as a Tumor Marker during Chemo-

therapy," Journal of Urology, Vol. 174, No. 5, 2005, pp. 1771-1775. doi:10.1097/01.ju.0000176742.53556.25

117. Murphy C.; Karnes J. Bladder cancer in males: A comprehensive review of urothelial carcinoma of the bladder. J. Mens Health 2014, 6, 18–27.

118. Smith Z.L., Guzzo T.J. Urinary markers for bladder cancer. F1000Prime Rep. 2013, 5, 5–21.

119. Botterman M.F., Pashos C.L., Redaelli A., Laskin B., Hauser R., The health economics of bladder cancer: A comprehensive review of published literature. Pharmacoeconomics 2003, 21,1315–1330.

120. Hong Y.M., Loughlin K.R. Economic impact of tumor markers in bladder cancer surveillance. Urology 2008, 71, 131–135.

121. Sievert K.D., Amend B., Nagele U. et al. Economic aspects of bladder cancer: What are the benefits and costs? World J. Urol. 2009, 27, 295–300.

122. Grossman, H.B.; Soloway, M.; Messing, E.; Katz, G.; Stein, B.; Kassbian, V.; Shen, Y. Surveillance for recurrent bladder cancer using point-of-care proteomic assay. JAMA 2006, 295, 299–305.

123. Lokeshwar, V.B.; Habuchi, T.; Grossman, H.B.; Murphy, W.M.; Hautmann, S.H.; Hemstreet, G.P., III; Bonog, A.V.; Getzenbergh, R.H.; Goebelli, P.; Schmitz-Dräger, B.J.; et al. Bladder tumor markers beyond cytology: International Consensus panel on bladder tumor markers. Urology 2005, 66, 35–63.

124. Hajdinjak, T. UroVysion FISH test for detecting urothelial cancers: Meta-analysis of diagnostic accuracy and comparison with urinary cytology testing. Urol. Oncol. 2008, 26, 646–651.

125. Huber, S.; Schwentner, C.; Taeger, D.; Pesch, B.; Nasterlack, M.; Leng, G; Mayer, T.; Gawrych, K.; Bonberg, N.; Pelster, M.; et al. Nuclear matrix protein-22: Prospective

evaluation in a population at risk for bladder cancer. Results from the UroScreen study. BJU Int. 2012, 110, 699–708.

126. Ku, J.H.; Godoy, G.; Amiel, G.E.; Lerner, S.P. Urine surviving as a diagnostic biomarker for bladder cancer: A systematic review. BJUI 2012, 110, 630–636. Int. J. Mol. Sci. 2014, 15 23907

127. Agarwal, P.K.; Black, P.C.; Kamat, A.M. Considerations on the use of diagnostic markers in management of patients with bladder cancer. World J. Urol. 2008, 26, 39–44.

128. Behrens, T.; Bonberg, N.; Casjens, S.; Pesch, B.; Bruning, T. A practical guide to the epidemiological practice and standards in the identification and validation of diagnostic markers using a bladder cancer example. Biochim. Biophys. Acta 2014, 1844, 145–155.

129. Todenhoffer, T.; Hennenlotter, J.; Esser, M.; Morhardt, S.; Tews, V.; Aufderklamm, S.; Gakis, G.; Kuehs, U.; Stenzl, A.; Schwentner, C. Combined application of cytology and molecular urine markers to improve the detection of urothelial carcinoma. Cancer Cytopathol. 2013, 121, 252–260.

130. Eissa, S.; Badr, S.; Barakat, M.; Zaghloul, A.S.; Mohanad, M. The Diagnostic Efficacy of Urinary Survivin and Hyaluronidase mRNA as Urine Markers in Patients with Bladder Cancer. Clin. Lab. 2013, 59, 893–900.

131. Eissa, S.; Badr, S.; Elhamid, S.A.; Helmy, A.S.; Nour, M.; Esmat, M. The value of combined use of survivin mRNA and matrix metalloproteinase 2 and 9 for bladder cancer detection in voided urine. Dis. Markers 2013, 34, 57–62.

132. Kamat, A.M.; Karam, J.A.; Grossman, H.B.; Kader, A.K.; Munsell, M.; Dinney, C.P. Prospective trial to identify optimal bladder cancer surveillance protocol: Reducing costs while maximizing sensitivity. BJU Int. 2011, 118, 1119–1124.

133. Sartini, D.; Muzzonigro, G.; Milanese, G.; Pozzi, V.; Vici, A.; Morgant, S.; Rossi, V.; Mazzucchelli, R.; Montironi, R.; Emanuelli, M. Up-regulation of tissue and urinary

nicotinamide N-methyltransferase in bladder cancer: Potential for the development of a urine-based diagnostic test. Cell Biochem. Biophys. 2013, 65, 473–483.

134. Wang, P.; Lin, S.L.; Zhang, L.H.; Li, Z.; Liu, Q.; Gao, J.X.; Liu, D.M.; Bo, J.J.; Huang, Y.R. The prognostic value of P-cadherin in non-muscle-invasive bladder cancer. Eur. J. Surg. Oncol. 2014, 40, 255–259.

135. Bryan, R.T.; Shimwell, N.J.; Wei, W.; Devall, A.J.; Pirrie, S.J.; James, N.D.; Zeegers, M.P.; Cheng, K.K.; Martin, A.; Ward, D.G. Urinary EpCAM in urothelial bladder cancer patients: Characterization and evaluation of biomarker potential. Br. J. Cancer 2014, 110, 679–685.

136. Ratert, N.; Meyer, H.A.; Jung, M.; Lioudmer, P.; Mollenkopf, H.J.; Wagner, I.; Miller, K.; Kilic, E.; Erbersdobler, A.; Weikert, S.; et al. miRNA profiling identifies candidate miRNAs for bladder cancer diagnosis and clinical outcome. J. Mol. Diagn. 2013, 15, 695–705.

137. Rosenberg, E.; Baniel, J.; Spector, Y.; Faerman, A.; Meiri, A.; Aharonov, R.; Margel, D.; Goren, Y.; Nativ, O. Predicting progression of bladder urothelial carcinoma using microRNA expression. BJU Int. 2013, 112, 1027–1034.

138. Mengual, L.; Lozano, J.J.; Ingelmo-Torres, M.; Gazquez, C.; Ribal, M.J.; Alcaraz, A. Using micro RNA profiling in urine samples to develop a non-invasive test for bladder cancer. Int. J. Cancer 2013, 133, 2631–2641.

139. Van Rhijn, B.W; Zuiverloon, T.C.; Vis, A.N.; Radvanyi, F.; van Leenders, G.J.; Ooms, B.C.; Kirkelsa, W.J.; Lockwoodg, G.A.; Boevéb, E.R.; Jöbsish, A.C.; et al. Molecular grade (FGFR3/MIB-1) and EORTC risk scores are predictive in primary non-muscle-invasive bladder cancer. Eur. Urol. 2010, 58, 433–441.

140. Dorn, G.W., II; Matkovich, S.J. Menage a trois: Intimate relationship between microRNA, long noncoding RNA, and mRNA. Circ. Res. 2014, 144, 1362–1365. Int. J. Mol. Sci. 2014, 15 23908

141. Descotes, F.; Dessen, P.; Bringuier, P.P.; Decaussin, M.; Martin, P.M.; Adams, M.; Villers, A.; Lechevallier, E.; Rebillard, X.; Rodriguez-Lafrasse, C.; et al. Microrray gene expression profilingand analysis of bladder cancer supports the sub-classification of T1 tumours into T1a and T1b stages. BJU Int. 2014, 113, 333–342.

142. Liberko, M.; Kolostova, K.; Bobek, V. Essentials of circulating tumor cells for clinical research and practice. Crit. Rev. Oncol. Hematol. 2013, 88, 338–356.

143. Hong, B.; Zu, Y. Detecting circulating tumor cells: Current challenges and new trends. Theranostics 2013, 3, 377–394.

144. Gazzaniga, P.; Gradilone, A.; Berardinis, E.D.; Busetto, G.M.; Raimondi, C.; Gandini, O.;Nicolazzo, C.; Petracca, A.; Vincenzi, B.; Farcomeni, A.; et al. Prognostic value of circulating tumor cells in nonmuscle invasive bladder cancer: A CellSearch analysis. Ann. Oncol. 2012, 23, 2352–2356.

145. Flaig, T.W.; Wilson, S.; Bokhoven, A.; Varella-Garcia, M.; Wolfe, P.; Maroni, P.; Genovac, E.E.; Moralese, D.; Scott Luciac, M. Detection of circulating tumor cells in metastatic and clinically localized urothelial carcinoma. Urology 2011, 78, 863–867.

146. Kamat, A.M.; Hegarty, P.K.; Gee, J.R.; Clark, P.E.; Svatek, R.S.; Hegarty, N.; Shariat, S.F.; Xylinas, E.; Schmitz-Dräger, B.J.; Lotan, Y.; et al. ICUD-EAU international consultation on bladder cancer 2012: Screening, diagnosis, and molecular markers. Eur. Urol. 2013, 63, 4–15.