



# Обзор современных уринарных биомаркеров немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря

Д.В. Черняев<sup>1,2</sup>, И.П. Сафонцев, к.м.н.<sup>1,2</sup>, Р.А. Зуков, д.м.н.<sup>1,2</sup>

Адрес для переписки: Денис Владимирович Черняев, denisonco@mail.ru

Для цитирования: Черняев Д.В., Сафонцев И.П., Зуков Р.А. Обзор современных уринарных биомаркеров немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря. Эффективная фармакотерапия. 2024; 20 (36): 24–28.

DOI 10.33978/2307-3586-2024-20-36-24-28

*Рак мочевого пузыря является одной из наиболее актуальных онкопатологий среди опухолей мочевыводящих путей. Ежегодно регистрируется более 614 тысяч новых случаев данного заболевания, среди которых около 80% относятся к немышечно-инвазивной форме рака мочевого пузыря (НМИРМП). Высокие показатели рецидивирования (до 60%) и прогрессирования (до 55%) за пятилетний период приводят к обширным органосохраняющим операциям и инвалидизации пациентов при развитии мышечной инвазии опухоли, а также к повышению смертности от диссеминированного уротелиального рака. Современные подходы для прогнозирования течения НМИРМП используют балльные системы, основанные на клинических и гистологических особенностях опухоли, при этом активно изучаются потенциально полезные биомаркеры, которые могли бы обеспечить более персонализированную оценку риска как рецидива, так и прогрессирования заболевания. В данной работе мы представляем обзор актуальных исследований, посвященных прогнозированию течения НМИРМП с использованием уринарных биомаркеров. Подробно обсуждается их прогностическая значимость и особенности использования в клинической практике, что определяет персонализированную тактику ведения данной категории больных.*

**Ключевые слова:** рак мочевого пузыря, немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря, биомаркеры, цитологическое исследование мочи

## Введение

Рак мочевого пузыря (РМП) – злокачественная опухоль, возникающая преимущественно из уротелия и характеризующаяся неконтролируемым ростом и пролиферацией атипичных клеток. Его распространенность коррелирует с уровнем социально-экономического развития и эпидемиологической ситуации в различных странах, при этом заболеваемость среди мужчин в четыре раза выше, чем среди женщин. Согласно данным, предоставленным GLOBOCAN, в 2022 г. во всем мире

было диагностировано 614 298 новых случаев РМП, что привело к 220 596 смертям [1]. Как известно, с морфологической точки зрения наиболее распространенной формой РМП является переходо-клеточная карцинома (> 90%). С клинико-тактической точки зрения РМП подразделяется на два основных типа: мышечно-инвазивный (МИРМП) и немышечно-инвазивный (НМИРМП). При этом примерно 75–80% всех случаев являются немышечно-инвазивными, однако частота рецидивирования и прогрессирования данной



формы достигают 60 и 55% соответственно, что зачастую требует выполнения оргауноносящих операций по типу цистэктомии [2]. Остальные 20–25% случаев являются мышечно-инвазивными, то есть изначально более агрессивными, требующими системной противоопухолевой терапии и обширного хирургического лечения.

Курение и длительное воздействие определенных химических веществ, а также паразитарные инвазии мочевого пузыря повышают риск развития РМП [3]. Генные мутации, приводящие к нерегулируемой пролиферации клеток и нарушению апоптоза, как правило, считаются основными факторами риска развития рассматриваемого злокачественного новообразования и широко изучаются научным сообществом. В настоящее время для диагностики РМП используются цистоскопия, цитологическое исследование осадка мочи, а также данные о морфологических особенностях опухоли [4]. Цистоскопия, несмотря на высокую точность метода, относится к инвазивным процедурам, требующим специализированного оборудования, предварительной подготовки пациента и обучения узкопрофильного специалиста, что накладывает логистические и финансовые ограничения на широкое применение данной диагностической процедуры в рамках рутинного повсеместного скрининга здоровых людей и регулярного диспансерного наблюдения за пролеченными пациентами. С другой стороны, классическое цитологическое исследование мочи хотя и менее требовательно к выполнению и, следовательно, более доступно для пациентов, обладает недостаточной специфичностью для выявления РМП, особенно при низкой степени злокачественности клеток.

Таким образом, разработка метода целенаправленного выявления злокачественных опухолей мочевого пузыря, который позволит совместить в себе высокую степень чувствительности и специфичности, а также будет обладать минимальной инвазивностью и простотой реализации, несомненно, найдет широкое применение в клинической практике. С указанной целью активно развиваются молекулярно-генетические методы диагностики, основанные на детекции различных биомаркеров, позволяющих обнаружить как первичную опухоль, так и рецидив заболевания на этапе микроскопического распространения опухоли, спрогнозировать течение болезни и обеспечить персонализированный подход к ведению пациента.

### Цитологический анализ мочи

Цитологический анализ мочи, принцип которого основан на обнаружении отслоившихся опухолевых клеток от стенок мочевого пузыря, признается одним из наиболее надежных методов определения РМП. Однако исследования демонстрируют достаточно низкую чувствительность

метода, которая достигает лишь 48%, а специфичность составляет 86% [5]. Данное исследование на сегодняшний день активно используется как дополнительный инструмент для первичной диагностики, а также для динамического наблюдения за пролеченными пациентами с целью выявления рецидива заболевания. Однако для опухолей НМИРМП тяжелой степени дисплазии (G3), а также CIS, в особенности пролеченных инстилляциями внутривезикулярной химиотерапии, чувствительность анализа достигает 90%, а специфичность – 98–100%. В то время как для высокодифференцированных опухолей (G1), которые встречаются значительно чаще при НМИРМП, чувствительность варьирует от 4 до 31%, а частота ложноположительных результатов достигает 12%, что значительно компрометирует рассматриваемый метод диагностики [5, 6].

### BTA stat и BTA TRAK

Анализы stat и TRAK на bladder tumour antigen (BTA) представляют собой коммерческие тест-системы, предназначенные для количественного определения человеческого антигена РМП в образцах мочи методом иммуноферментного анализа с целью диагностики и мониторинга пациентов после лечения НМИРМП [7]. Принцип детекции опухоли основан на обнаружении человеческого фактора комплемента Н и родственных ему белков, которые играют решающую роль в активации пролиферации злокачественных клеток мочевого пузыря, а также их защите от иммунной системы [8–10]. Считается, что уровень BTA повышается в процессе инвазии опухолевых клеток вглубь стенки мочевого пузыря, при этом заявленными производителем чувствительность и специфичность варьируют от 57 до 92% (для тест-системы BTA stat) и от 45 до 81% (для BTA TRAK) [11, 12]. Преимуществами по сравнению с цитологическим анализом мочи являются более высокая чувствительность метода, особенно для высокодифференцированных опухолей, и меньшее количество ложноположительных результатов. Однако ряд исследований указывает на снижение специфичности при наличии у пациента гематурии, инфекции и воспаления мочевыводящих путей, камней в мочевом пузыре и мочеточниковых стентов [12].

### NMP22

Наборы для анализа РМП NMP22 и NMP20, производимые компанией Alere, основаны на иммунологическом анализе присутствия белка NMP22 в моче. Данный белок содержится в более высоких концентрациях в клетках РМП по сравнению с нормальной уротелиальной тканью и высвобождается во время гибели злокачественных клеток [13]. Для NMP22 чувствительность варьирует в пределах 52–59%, а специфичность – 87–89%; для NMP20 – 62–75 и 70–83% соответственно [14], что

позволяет рассматривать данные тест-системы для диспансерного наблюдения за пролеченными больными в качестве дополнительного неинвазивного метода выявления рецидива и прогрессирования онкопатологии. Однако оба теста могут давать ложноположительные результаты при воспалительных урологических заболеваниях и доброкачественных опухолях, что ограничивает их диагностическую точность и сужает поле применения. Обладая более высокой чувствительностью, они уступают в специфичности стандартному цитологическому анализу мочи.

### **ImmunoCyt/uCyt+**

ImmunoCyt/uCyt+ представляет собой уникальный диагностический инструмент, сочетающий цитологический анализ мочи и иммуногистохимические методы окрашивания с флуоресцентно мечеными моноклональными антителами для мониторинга пациентов после лечения РМП. Этот анализ позволяет обнаружить рецидив и прогрессирование злокачественного новообразования на основании обнаружения раково-эмбрионального антигена (РЭА) и двух специфических муцинов, ассоциированных с РМП (LDQ10 и M344), в образце мочи. ImmunoCyt/uCyt+ в масштабных исследованиях продемонстрировал специфичность в диапазоне от 62 до 84% и чувствительность в пределах от 67 до 100%, что указывает на его эффективность для обнаружения распространенного и низкодифференцированного РМП без необходимости проведения цистоскопии в некоторых случаях [5]. Однако использование этого метода имеет определенные ограничения: для реализации требуется специализированное дорогостоящее оборудование, а для интерпретации результатов необходимы квалифицированные специалисты. Кроме того, ImmunoCyt/uCyt+ обладает меньшей специфичностью по сравнению со стандартным цитологическим анализом мочи и относительно высокой частотой ложноположительных результатов, особенно в случаях воспалительных заболеваний мочевыводящих путей. Показатель также снижается при гематурии и составляет приблизительно 67% [5].

### **UroVysion**

Тест UroVysion, разработанный компаниями Vysis и Abbott Molecular Inc., представляет собой многоцелевой метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), который выявляет анеуплоидию на хромосомах 3, 7, 17 и 9p21, а также потерю гена-супрессора опухоли *P16* в клетках мочевого пузыря [15]. Этот тест обладает превосходной чувствительностью и специфичностью, которые варьируют в пределах от 57,1 до 84% и от 78 до 92% соответственно, что превосходит точность цитологического исследования мочи, особенно в случаях высокодифференцированного РМП (G1) [16].

Указанная тест-система наиболее актуальна для выявления РМП у лиц с сомнительными результатами цистоскопии и цитологическим анализом мочи; для подтверждения эффективности лечения внутрипузырными инстилляциями бациллой Кальметта – Герена (БЦЖ-терапии); для выявления рецидива опухоли после отрицательной цистоскопии, но при наличии подозрительных результатов цитологического исследования мочи у пациентов с НМИРМП [17]. К ограничениям этого метода относятся необходимость в специализированном лабораторном оборудовании, узкопрофильных патоморфологах для интерпретации результатов анализа, а также трудоемкость процесса подготовки образцов, которая ассоциирована с финансовой токсичностью исследования [18]. Кроме того, существует высокая частота ложноположительных результатов, особенно в течение первых 12 месяцев после проведения трансуретральной резекции мочевого пузыря [17]. Наличие других злокачественных опухолей с хромосомными аномалиями также может способствовать увеличению вероятности ложноположительных результатов [17].

### **Цитокератины**

Цитокератины (ЦК, англ. cytokeratin (СК)) – это структурные белки, из которых состоят внутриклеточные промежуточные филаменты цитоскелета эпителиальных клеток. В процессе злокачественной трансформации клеток экспрессия ЦК повышается. Каждому виду эпителиальных клеток с определенной локализацией соответствуют разные молекулярные формы ЦК. Так, уротелиальные клетки мочевого пузыря специфически экспрессируют некоторые фрагменты ЦК в процессе малигнизации, наиболее изученными являются СК8, СК14, СК18, СК19 и СК20.

На основании анализа концентрации фрагментов данных белков в моче иммуноцитохимическим методом созданы различные тест-системы. В нашей стране наиболее распространены и доступны для применения в клинической практике UBC и CYFRA 21-1 [19, 20]. Заявлено, что определение ЦК в моче позволяет проводить раннюю диагностику и мониторинг течения РМП, что дает возможность прогнозировать появление метастазов и является дополнительным показателем эффективности лечения. Однако на практике концентрация ЦК повышается при воспалительных заболеваниях и инфекциях мочевыводящих путей, при воспалительных неврологических заболеваниях в острой фазе и прочих состояниях, которые могут дать ложноположительный результат.

Так, CYFRA 21-1, гидролизованный растворимый фрагмент ЦК19, считается опухолевым маркером для различных злокачественных новообразований, в том числе РМП [18]. В настоящее время механизм регуляции ЦК при РМП до конца не вы-



яснен. Считается, что мертвые опухолевые клетки могут выделять ЦК и молекулярная форма ЦК может варьировать в зависимости от характера гибели клеток. Следуя этой теории, количественный показатель молекулярной формы ЦК18 может указывать на характер клеточной гибели (апоптоз или некроз). Считается, что мутации в гене *Forkhead box A1 (FOXA1)* увеличивают экспрессию некоторых ЦК, хотя для подтверждения этой гипотезы необходимы дальнейшие исследования [21]. Крупное исследование с участием 1262 пациентов с РМП и 1233 здоровых доноров продемонстрировало уровень чувствительности 82%, а специфичности до 80% [22]. При этом важно отметить, что наличие камней в мочевыводящих путях, инфекции мочевыводящих путей и применение внутривезикулярной иммунотерапии БЦЖ могут привести к ложноположительным результатам. Эти данные свидетельствуют о том, что уровень ЦК в моче потенциально может быть ценным показателем для выявления РМП, однако необходимы дополнительные клинические исследования.

### Сурвивин

Сурвивин – белок, ингибирующий апоптоз, – был впервые идентифицирован в 1997 г. Он высоко экспрессируется в терминально дифференцированных клетках опухолевых тканей, где играет решающую роль в стимулировании клеточной пролиферации, дифференцировке и ангиогенезе [23]. Сурвивин ингибирует белки, участвующие в процессе апоптоза, который является процессом, регулирующим клеточный цикл и переход от фазы G2 к фазе митоза (M). Исследования показали, что высокие уровни экспрессии сурвивина коррелируют с фосфорилированием фосфоинозитид-3-киназы (PI3K). Это фосфорилирование активирует фосфорилирование Akt, также известной как протеинкиназа B (PKB), и мишени рапамицина у млекопитающих (mTOR), которое может влиять на экспрессию гликопротеинов.

Описанная цепь реакций может способствовать развитию множественной лекарственной устойчивости в опухолях по пути PI3K–Akt–mTOR. Результаты иммуноферментного анализа и связанных с ним ферментативных тестов подтвердили, что чувствительность и специфичность сурвивина для определения РМП колеблются в пределах от 70,6–77,2 до 89,2–91,8% соответственно [24]. Кроме того, высокие уровни экспрессии сурвивина, Ki-67, β-катенина и p53 связаны с худшими прогностическими показателями, такими как поздняя клиническая стадия и снижение общей выживаемости пациентов с РМП [25]. Кроме того, комбинация сурвивина и циклин-зависимой киназы 4 (CDK4) активирует белок p21, который ингибирует запрограммированную гибель клеток. Следовательно, сурвивин отвечает критериям диагностического маркера, особенно с точки зрения специфичности. Этот биомаркер можно легко и удобно измерить с помощью наборов для иммуноферментного анализа.

### Выводы

Цистоскопия остается «золотым стандартом» в диагностике РМП, но и у нее есть свои ограничения. Доступные в настоящее время биомаркеры мочи не позволяют выявить до 18–43% случаев РМП, а частота ложноположительных результатов составляет от 12 до 26%. Несмотря на эти недостатки, биомаркеры мочи играют решающую роль в преодолении ограничений цистоскопии и повышении точности диагностики. По сравнению с обычным цитологическим исследованием мочи современные тесты, такие как VTA stat, ImmunoCyt/uCyt+ и UroVysion, CYFRA 21-1 и UBC, обладают более высокой чувствительностью при диагностике и мониторинге РМП. Однако они также демонстрируют меньшую специфичность, особенно при выявлении опухолей высокой степени злокачественности (G3), по сравнению с традиционным цитологическим анализом мочи. ☹

### Литература

1. Ferlay J., Ervik M., Lam F., et al. Global cancer observatory: cancer today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 2024. URL: <https://gco.iarc.who.int/today>
2. Dobruch J., Oszczudłowski M. Bladder cancer: current challenges and future directions. *Medicina*. 2021; 57 (8): 749.
3. Larsson S.C., Burgess S. Appraising the causal role of smoking in multiple diseases: a systematic review and meta-analysis of Mendelian randomization studies. *EBioMedicine*. 2022; 82: Article 104154.
4. Oeyen, E., Hoekx, L., De Wachter S., et al. Bladder cancer diagnosis and follow-up: the current status and possible role of extracellular vesicles. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20 (4): 821.
5. Yafi F.A., Brimo F., Steinberg J., et al. Prospective analysis of sensitivity and specificity of urine cytology and other urinary biomarkers for bladder cancer. *Urol. Oncol.* 2015; 33: 66. e25–31.
6. Leiblich A. Recent developments in the search for urinary biomarkers in bladder cancer. *Curr. Urol. Rep.* 2017; 18: 100.
7. Kamat A.M., Dickstein R.J., Messetti F., et al. Use of fluorescence in situ hybridization to predict response to bacillus Calmette-Guerin therapy for bladder cancer: results of a prospective trial. *J. Urol.* 2012; 187: 862–867.

8. Sarosdy M.F., Hudson M.A., Ellis W.J., et al. Improved detection of recurrent bladder cancer using the Bard BTA stat test. *Urology*. 1997; 50: 349–353.
9. Kinders R., Jones T., Root R., et al. Complement factor H or a related protein is a marker for transitional cell cancer of the bladder. *Clin. Cancer Res.* 1998; 4: 2511–2520.
10. Malkowicz S.B. The application of human complement factor H-related protein (BTA TRAK) in monitoring patients with bladder cancer. *Urol. Clin. North. Am.* 2000; 27: 63–73.
11. Tabayoyong W., Kamat A.M. Current use and promise of urinary markers for urothelial cancer. *Curr. Urol. Rep.* 2018; 19: 96.
12. Duquesne I., Weisbach L., Aziz A., et al. The contemporary role and impact of urine-based biomarkers in bladder cancer. *Transl. Androl. Urol.* 2017; 6: 1031–1042.
13. Chou R., Gore J.L., Buckley D., et al. Urinary biomarkers for diagnosis of bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. *Ann. Intern. Med.* 2015; 163: 922–931.
14. Chakraborty A., Dasari S., Long W., et al. Urine protein biomarkers for the detection, surveillance, and treatment response prediction of bladder cancer. *Am. J. Cancer Res.* 2019; 9: 1104–1117.
15. Sokolova I.A., Halling K.C., Jenkins R.B., et al. The development of a multitarget, multicolor fluorescence in situ hybridization assay for the detection of urothelial carcinoma in urine. *J. Mol. Diagn.* 2000; 2: 116–123.
16. Schmitz-Dräger C., Bonberg N., Pesch B., et al. Replacing cystoscopy by urine markers in the follow-up of patients with low-risk non-muscle-invasive bladder cancer? An International Bladder Cancer Network project. *Urol. Oncol.* 2016; 34: 452–459.
17. Kim P.H., Sukhu R., Cordon B.H., et al. Reflex fluorescence in situ hybridization assay for suspicious urinary cytology in patients with bladder cancer with negative surveillance cystoscopy. *BJU Int.* 2014; 114: 354–359.
18. Kuang L.I., Song W.J., Qing H.M., et al. CYFRA 21-1 levels could be a biomarker for bladder cancer: a meta-analysis. *Genet. Mol. Res.* 2015; 14 (2): 3921–3931.
19. Xylinas E., Kluth L.A., Rieken M., et al. Urine markers for detection and surveillance of bladder cancer. *Urol. Oncol.* 2014; 32: 222–229.
20. Dhondt B., Van Deun J., Vermaerke S., et al. Urinary extracellular vesicle biomarkers in urological cancers: From discovery towards clinical implementation. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2018; 99: 236–256.
21. Li Y.-P., Jia X.-P., Jiang Y.-Q., et al. Differential expression of cytokeratin 14 and 18 in bladder cancer tumorigenesis. *Exp. Biol. Med.* 2018; 243 (4): 344–349.
22. Huang Y.L., Chen J., Yan W., et al. Diagnostic accuracy of cytokeratin-19 fragment (CYFRA 21-1) for bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. *Tumour Biol.* 2015; 36 (5): 3137–3145.
23. Stec R., Cierniak S., Lubas A., et al. Intensity of nuclear staining for Ki-67, p53 and survivin as a new prognostic factor in non-muscle invasive bladder cancer. *Pathol. Oncol. Res.* 2020; 26: 1211–1219.
24. Li X., Wang Y., Xu J., et al. Sandwich ELISA for detecting urinary Survivin in bladder cancer. *Chinese Journal of Cancer Research = Chung-kuo yen cheng yen chiu.* 2013; 25 (4): 375–381.
25. Senol S., Yildirim A., Ceyran B., et al. Prognostic significance of survivin,  $\beta$ -catenin and p53 expression in urothelial carcinoma. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences.* 2015; 15 (4): 7–14.

## Review of Modern Urological Biomarkers of Non-Muscle Invasive Bladder Cancer

D.V. Chernyaev<sup>1,2</sup>, I.P. Safontsev, PhD<sup>1,2</sup>, R.A. Zukov, PhD<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>V.F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University

<sup>2</sup>A.I. Kryzhanovskiy Krasnoyarsk Regional Clinical Oncology Dispensary

Contact person: Denis V. Chernyaev, denisonco@mail.ru

*Bladder cancer is a serious condition that affects the urinary tract. Each year, more than 614,000 new cases are reported, and approximately 80% of these are non-muscle invasive bladder cancer (NMIBC). This type of cancer has a high rate of recurrence, reaching up to 60% within five years, and progression, reaching 55%. These factors lead to extensive surgery and disability for patients who have muscle invasion of the bladder. Additionally, bladder cancer can contribute to increased mortality through metastatic urothelial carcinoma. Modern approaches to predicting the progression of NMIBC rely on point systems based on clinical and histological characteristics of the tumor. In addition, researchers are actively exploring potentially valuable biomarkers that could provide a more personalized assessment of both the risk of recurrence and disease progression. This paper presents an overview of current research on predicting the course of NMIBC using urinary biomarkers. Their prognostic significance and features of their use in clinical practice are discussed in detail, which determines the personalized management tactics of this category of patients.*

**Keywords:** bladder cancer, non-muscle invasive bladder cancer, biomarkers, cytological examination of urine