



*Н.С. Панамарев<sup>1</sup>, Е.Е. Башмакова<sup>1</sup>, А.Н. Кудрявцев<sup>1</sup>, Д.В. Черняев<sup>2,3</sup>,  
А.В. Мазаев<sup>2</sup>, Е.В. Слепов<sup>2</sup>, Р.А. Зуков<sup>2,3</sup>, Л.А. Франк<sup>1</sup>*

## О диагностической и предикторной значимости онкомаркера сурвивина (BIRC5) при раке мочевого пузыря

<sup>1</sup>ИБФ СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск

<sup>2</sup>КБУЗ «КККОД имени А.И. Крыжановского», г. Красноярск

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, г. Красноярск

**Цель исследования.** Оценить содержание сурвивина в моче как диагностического маркера рака мочевого пузыря (РМП); изучить прогностическое значение полиморфизма -31G>C (rs9904341) в промоторной области гена *BIRC5* в отношении агрессивности течения РМП среди населения Красноярского края.

**Материалы и методы.** Иммуноанализом определен сурвивин в 43 образцах мочи пациентов: с РМП — 27, другим вариантом злокачественного новообразования — 4, воспалительными заболеваниями мочеполовой системы и доброкачественной гиперплазией — 8, здоровых — 4. Разработанным авторами способом на основе биолюминесцентного анализа генотипированы образцы ДНК 285 пациентов с РМП и 183 здоровых доноров. Количественные данные сравнивали U-тестом Манна-Уитни, критерием  $\chi^2$  Пирсона — частоты генотипов среди случаев РМП и контролей. Ассоциацию между полиморфизмом и РМП оценивали по отношению шансов с 95 % доверительным интервалом,  $p < 0,05$  считали значимым.

**Результаты.** Установлено, что определение сурвивина в моче позволяет разделять пациентов с РМП и здоровых с чувствительностью 66,7 % и специфичностью 100 %. Повышенное содержание сурвивина обнаружено в образцах пациентов с воспалительными заболеваниями и доброкачественными гиперплазиями мочевыводящих путей.

Показано, что полиморфизм -31G>C (rs9904341) для пациентов Красноярского края при оценке риска возникновения РМП и развития рецидива заболевания не является значимым. Носительство аллеля GG является возможным предиктором агрессивного течения заболевания с быстрым прорастанием в мышечную стенку мочевого пузыря (48,7 % vs 35,7 %,  $p = 0,02$ ).

**Заключение.** Сурвивин является хорошим предиагностическим маркером для выявле-

ния пациентов с заболеваниями мочевых путей: его повышенный уровень в моче может указывать на развитие злокачественных (в т. ч. РМП) и доброкачественных гиперплазий, а также воспалительных заболеваний уротелия. Разработка отечественной «аларм» тест-системы по определению сурвивина в моче для быстрой и неинвазивной диагностики перспективна. Полиморфизм -31G>C (rs9904341) можно рассматривать как предиктор агрессивного течения РМП.

**Ключевые слова:** рак мочевого пузыря (РМП); сурвивин (BIRC5); однонуклеотидный полиморфизм -31G/C (rs9904341)

**Для цитирования:** Панамарев Н.С., Башмакова Е.Е., Кудрявцев А.Н., Черняев Д.В., Мазаев А.В., Слепов Е.В., Зуков Р.А., Франк Л.А. О диагностической и предикторной значимости онкомаркера сурвивина (BIRC5) при раке мочевого пузыря. Вопросы онкологии. 2023;69(2):308–315. doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-2-308-315

### Введение

Удельный вес рака мочевого пузыря (РМП) составляет 3–5 % всех злокачественных новообразований и около 40 % опухолевых заболеваний мочеполовой системы [1]. Стандартные методы диагностики РМП — цистоскопия, а также цитологическое исследование мочи, являются либо инвазивными, либо дорогими и трудоемкими, требующими высокой квалификации цитопатолога и часто обладают недостаточной чувствительностью для обнаружения опухолей на стадии немышечно-инвазивной опухоли. В связи с этим ведется разработка новых неинвазивных лабораторных методов диагностики РМП, способных прогнозировать тяжесть течения заболевания и вероятность рецидивирования.

С момента своего открытия в 1997 г. сурвивин (BIRC5) привлекает внимание онкологов как белок-мишень, обладающий перспективным

диагностическим, прогностическим и терапевтическим потенциалом. Сурвивин (142 а.о., м.м. 16,5 кДа) не выполняет каталитических функций, однако активно участвует в процессах клеточного деления, а также способен ингибировать апоптоз. В норме он синтезируется только в активно делящихся клетках, однако его суперэкспрессия наблюдается практически во всех типах раковых клеток. Именно это обстоятельство делает его привлекательной потенциальной диагностической и онкотерапевтической мишенью [2, 3]. Мета-анализ литературных данных, проведенный недавно Liang и соавт., показал, что определение содержания сурвивина в моче является достаточно надежным лабораторным способом диагностики РМП, обеспечивающим пуловую чувствительность и специфичность в 0,75 (95 % ДИ 0,71–0,79) и 0,76 (95 % ДИ 0,73–0,79) соответственно (по результатам 9 статей, всего исследовано 789 пациентов с РМП и 684 контрольных образцов мочи) [4]. Во всех исследованиях для выявления сурвивина использовали иммуноаналитические технологии. Авторы отмечают, что для клинического применения этого анализа необходимы дополнительные исследования с целью проверки точности теста и идентификации порогового значения сурвивина, поскольку опубликованные данные получены в разных экспериментальных условиях (используемые тест-системы, количество и качество аналитического материала и пр.). Однако, принимая во внимание неинвазивность и доступность анализируемого биоматериала, перспективность разработки такой аналитической системы не вызывает сомнений.

Наблюдаемую сверхэкспрессию сурвивина в раковых клетках [5], многие исследователи связывают с нуклеотидными вариациями в регуляторной области гена этого белка. По данным мета-анализа 2019 г., выполненного Moazeni-Roodi и соавт., полиморфизм -31G>C (rs9904341), находящийся в промоторной области, коррелирует с экспрессией этого гена: аллель 31C вызывает более активный синтез сурвивина и его наличие ассоциирует с риском возникновения большинства типов рака [6]. Для РМП ассоциация полиморфизма rs9904341 установлена только в азиатской популяции как для рецессивной, так и для доминантной моделей наследования.

Для европейской популяции установлен защитный эффект генотипов CC и GC [7] для некоторых типов рака, либо отмечается отсутствие каких-либо ассоциаций [6]. Первое исследование распространенности и ассоциации этого полиморфизма с риском и течением РМП среди населения Красноярского края было проведено нами недавно [8]. Однако установленные ассо-

циации требовали дополнительных масштабных исследований.

Целью настоящей работы было установить значимость онкомаркера сурвивина (BIRC5) для диагностики РМП и ассоциаций полиморфизма rs9904341 в промоторной области гена BIRC5 этого белка с риском развития РМП среди населения Красноярского края.

## Материалы и методы

Образцы венозной крови от больных РМП забирались в КБУЗ «КККОД имени А.И. Крыжановского». Исследование одобрено Локальным Этическим комитетом КККОД (протокол заседания № 27 от 02.07.2020 г.). От всех пациентов, принявших участие в исследовании, получено информированное согласие.

Пациенты были обследованы с учетом современных клинических рекомендаций. Оценивались основные клинико-морфологические параметры: стадия, степень дифференцировки опухоли, рецидив/прогрессирование заболевания.

Образцы венозной крови от здоровых доноров предоставлены Красноярским краевым центром крови № 1 и Красноярской городской поликлиникой № 14.

В ходе исследования проанализирован 285 образец ДНК от 77 женщин и 208 мужчин (средний возраст 64±10,8 лет, Me: 65 лет; C<sub>25</sub>,C<sub>75</sub>: 58–71) со злокачественными новообразованиями (ЗНО). Из них 207 пациентов имели немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря (НМИРМП), 78 пациента — мышечно-инвазивный рак (МИРМП).

Критериями включения пациента в исследование являлись:

- подписанное пациентом информированное добровольное согласие на участие в НИР;
- возраст ≥ 18 лет;
- морфологически верифицированный РМП;
- немышечно-инвазивные формы РМП (T1, Ta, Tis);
- мышечно-инвазивные формы РМП (T2-T3);
- отсутствие тяжелой сопутствующей патологии, печеночной и почечной недостаточности.

Гистологические особенности группы больных НМИРМП: было выявлено 2 уротелиальные опухоли с железистой метаплазией, 4 — с плоскоклеточной, остальные 200 опухолей были представлены уротелиальным раком. В группе пациентов с МИРМП диагностированы: 1 аденокарцинома, 1 переходно-клеточная карцинома с железистой метаплазией, 1 с плоскоклеточной и 1 со смешанной железисто-плоскоклеточной метаплазией, оставшиеся 75 опухолей были представлены уротелиальным раком. По степени дифференцировки больные в группах разделились следующим образом. При НМИРМП низкая степень злокачественности (G1) наблюдалась в 30 случаях (15 %), умеренная (G2) — в 161 (79 %), тяжелая (G3) — в 12 случаях (6 %). У 4 больных дифференцировка не была определена (Gx).

У 45 (58 %) больных МИРМП опухоль имела умеренную степень злокачественности (G2), у 30 (42 %) — тяжелую (G3), у 3 больных дифференцировка не была определена (Gx).

Контрольную группу составили 183 здоровых донора, 40 женщин и 143 мужчины (средний возраст 63,2 ± 6,4 лет, Me: 63 года; C<sub>25</sub>,C<sub>75</sub>: 59–68).

Выделение ДНК и генотипирование образцов проводили с помощью разработанного ранее способа на основе реакции удлинения специфичных праймеров с последующим твердофазным биолюминесцентным анализом ее продуктов. Подробное описание способа приведено в работе [8]. Образец ДНК с генотипом GC, дополнительно подтвержденным секвенированием по Сэнгеру (ЦКП «Гено-

мика» СО РАН, г. Новосибирск, Россия), использовали как внутренний контроль.

Обработку данных проводили с использованием Microsoft Excel для Windows 10, статистического программного обеспечения STATISTICA 12 (Statsoft, Россия).

U-тест Манна-Уитни применяли для сравнения количественных данных. Исследуемая выборка для случаев и контролей находилась в равновесии Харди-Вайнберга ( $p > 0,05$ ). Критерий  $\chi^2$  Пирсона использовали для сравнения частот вариантов гена среди случаев с РМП и контрольных образцов. Ассоциация между вариантами rs9904341 и РМП оценивалась по отношению шансов (ОШ) с 95 % доверительным интервалом (ДИ), значения  $p < 0,05$  считали статистически значимыми.

Кроме того, в исследовании использовали образцы мочи от пациентов с заболеваниями мочеполового тракта: с диагнозом РМП — 27, другими заболеваниями мочевыводящих путей — 8, с другими злокачественными новообразованиями (ЗНО) — 4, а также 4 образца получены от здоровых добровольцев, всего — 43 образца. Среди пациентов было 28 мужчин (71,8 %) и 11 женщин (28,2 %), средний возраст  $68,0 \pm 12,1$  лет. Образцы мочи центрифугировали (4000 g, 10 мин., 4 °C), полученный супернатант хранили при -80 °C и анализировали после размораживания. Содержание сурвивина определяли колориметрическим твердофазным иммуноанализом с использованием набора Human Survivin Quantikine ELISA Kit (R&D Systems, США) по инструкции производителя.

Модельный биолюминесцентный иммуноанализ сурвивина конкурентного типа проводили, как описано ранее [9]. Кратко: поверхность лунок непрозрачного иммунологического планшета (Corning, США) активировали антителами к сурвивину (ab469, Abcam, Англия), затем вносили растворы сурвивина разной концентрации, приготовленные в К-На фосфатном буфере (pH 7,5, ФБ), либо в стандартных сыворотке (Вектор Бест, Россия) или моче (Вектор Бест, Россия), и раствор белка сурвивина, генетически слитого с  $Ca^{2+}$ -регулируемым фотопротеином обелином (Surv-OL) 2 нг/мл (ФБ, 5 mM ЭДТА, 0,1 % Tween20), инкубировали при встряхивании 1 ч. и промывали. Биолюминесцентный сигнал измеряли с помощью планшетного люцинометра LB 940 Mithras (Berthold, Германия) сразу после впрыска раствора 0,1 M CaCl<sub>2</sub> в 0,1 M Tris-HCl pH 8,8, сигнал интегрировали в течение 5 с. Полученные усредненные сигналы относили к усредненному сигналом от контрольных лунок, содержащих ФБ в качестве образца.

### Результаты исследования

Образцы мочи были отобраны случайным образом у пациентов перед хирургическим лечением. Диагноз был установлен в каждом случае по результатам патоморфологического исследования операционного материала. Всего в эксперименте на содержание сурвивина было исследовано 43 образца, из которых 4 — образцы здоровых людей. Чувствительность использованной тест-системы, указанная производителем, составляет 9,96 пг/мл сурвивина. В соответствии с этим концентрация сурвивина 10 пг/мл была принята нами как пороговая, а образцы с повышенным содержанием как сурвивин-положительные. На рис. 1 показаны результаты определения сурвивина в моче: (1) — пациентов с установленным диагнозом РМП, 27 образцов; (2) — пациентов с другими ЗНО: рак предстательной железы — 2,

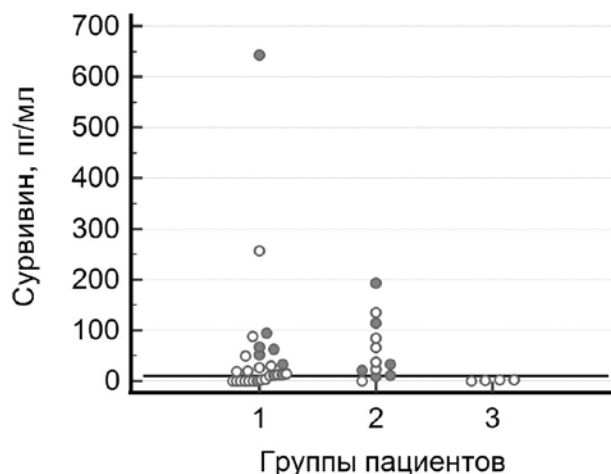


Рис. 1. Содержание сурвивина в образцах мочи пациентов разных групп: (1) — пациенты с диагнозом РМП, (2) — с другими онкологическими и доброкачественными заболеваниями, (3) — здоровые доноры. Серые кружки соответствуют образцам с макрогематурией

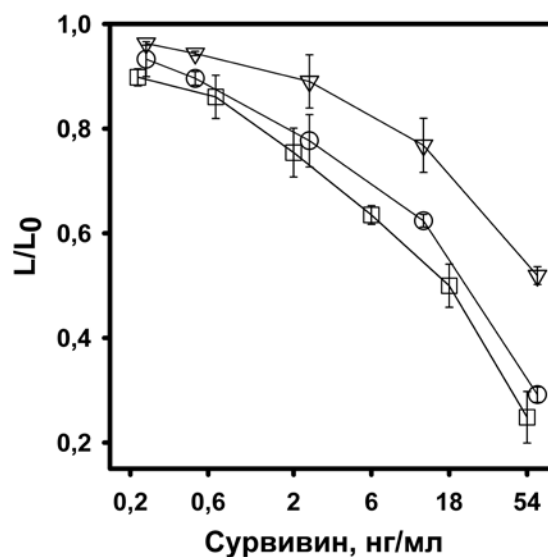
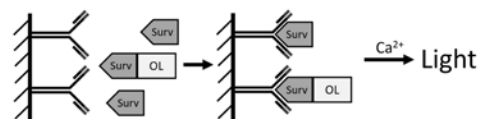


Рис. 2. Биолюминесцентный конкурентный иммуноанализ сурвивина в контрольной сыворотке (-Δ-), моче (-o-) и фосфатном буфере (-□-). L/L0 — соотношение сигналов образца и контроля. Каждая точка — среднее от 3-х независимых определений

рак прямой кишки — 2, всего — 4 образца; а также с другими заболеваниями мочеполовой системы: хронический цистит — 5, экстрагенитальный эндометриоз с поражением мочеочника — 1, доброкачественные новообразования мочевого пузыря — 2, всего — 8 образцов; (3) — здоровых людей, 4 образца. При сравнении с образцами здоровых пациентов установленное пороговое значение позволяет выявлять РМП с чувствительностью 66,7 % и специфичностью 100 %. При этом высокое содержание сурвивина было обнаружено почти во всех образцах второй группы.

Отметим, что в 50 % случаев в образцах второй группы наблюдалась макрогематурия (в случаях РМП — в 30 %). В целом из 15 образцов с гематурией у 13 (87 %) был выявлен повышенный сурвивин, вне зависимости от диагноза, т. е. наблюдается взаимосвязь повышенной концентрации сурвивина и гематурии, которая также является важным диагностическим признаком.

Полученные результаты показывают, что содержание сурвивина в моче является хорошим преддиагностическим фактором для разделения пациентов на группу здоровых и группу с серьезными патологиями в отношении мочеполовой системы. К сожалению, имеющиеся на современном рынке тест-системы являются импортными и не предназначены для клинического применения. В связи с этим нами были проведены первоначальные исследования по созданию отечественной тест-системы для определения содержания сурвивина в моче на основе высокочувствительных биолюминесцентных репортеров. Предложен вариант твердофазного иммуноанализа конкурентного типа, для чего сконструированы, получены и изучены необходимые составляющие белки: рекомбинантный сурвивин и генетически слитый гибридный белок-репортер, включающий сурвивин и  $Ca^{2+}$ -регулируемый фотопротеин обелин [8]. Способ был испытан с использованием модельных растворов сурвивина в фосфатном буфере, контрольных образцах сыворотки и мочи (рис. 2). Поверхность лунки иммунологического планшета активировали анти-сурвивин антителами, вносили образцы с растворами сурвивина (Surv)

и репортера — гибридный белок сурвивин-обелин (Surv-OL). Полученные на поверхности комплексы выявляли добавлением раствора  $CaCl_2$  (Схема на рис. 2, сверху).

Зависимость относительного биолюминесцентного сигнала от концентрации сурвивина для всех вариантов модельных образцов наблюдали в диапазоне 200 пг/мл – 54 нг/мл, что близко к содержанию сурвивина в сыворотке (его пороговое значение в сыворотке составляет 50–100 пг/мл [10]), но находится значительно выше интересующего диагностического диапазона в моче. Это требует дальнейших исследований, направленных на повышение чувствительности анализа.

Особый интерес представляют вопросы предрасположенности к возникновению онкологического заболевания и прогнозированию тяжести его течения (риск рецидивирования и прогрессирования). В качестве такого прогностического фактора рассматривают уровень экспрессии сурвивина. Наблюдаемая сверхэкспрессия этого белка практически во всех типах раковых клеток может объясняться вариациями нуклеотидной последовательности в промоторной области гена этого белка. Недавно нами были проведены исследования по поиску взаимосвязи полиморфизма -31G/C, расположенного в промоторной области гена белка сурвивина, с предрасположенностью к развитию РМП и его прогрессированию у жителей Красноярского края [8]. Основанием для проведения такого исследования послужили противоречивые и немногочисленные литературные сведения о роли этого полиморфизма: часть работ указывала на наличие

**Таблица 1. Распределение частот генотипов среди пациентов (случай) и здоровых доноров (контроль)**

Генотип	Случай N = 285 (%)	Контроль N = 183 (%)	ОШ (95 % ДИ)	p
GG	112 (39,3)	76 (41,5)	0,91 (0,62–1,33)	0,28
GC	141 (49,5)	79 (43,2)	1,29 (0,89–1,87)	
CC	32 (11,2)	28 (15,3)	0,7 (0,41–1,21)	

**Таблица 2. Распределение генотипов по рецессивной модели**

Генотип	Случай N = 285 (%)	Контроль N = 183 (%)	ОШ (95 % ДИ)	p
GG+GC	253 (88,8)	158 (84,7)	1,43 (0,83–2,46)	0,2
CC	32 (11,2)	28 (15,3)	0,7 (0,41–1,21)	

**Таблица 3. Распределение генотипов для пациентов с разной глубиной инвазии рака мочевого пузыря**

Генотип	Мышечно-инвазивный РМП (T2-T4) N = 78 (%)	Немышечно-инвазивный РМП (Ta, Tis, T1) N = 207 (%)	ОШ (95 % ДИ)	p
GG	38 (48,7)	74 (35,7)	1,71 (1,01–2,89)	0,02
GC	35 (44,9)	106 (51,2)	0,78 (0,46–1,31)	
CC	5 (6,4)	27 (13)	0,46 (0,17–1,23)	

ассоциации данного полиморфизма с возникновением РМП и других типов рака (это касается прежде всего азиатского населения), часть работ либо указывала на ее защитный эффект, либо фиксировала отсутствие ассоциаций. Выявленные в предыдущем исследовании эффекты требовали дополнительных исследований, поскольку выборка была достаточно немногочисленной. В рамках настоящей работы количество образцов было увеличено почти в 2 раза: полиморфизм rs9904341(G/C) определен для 474 образцов ДНК (табл. 1). Была увеличена группа здоровых доноров и, в отличие от предыдущего исследования, обе группы были сопоставимы по возрасту и полу. Исследуемые генотипы и аллели находились в равновесии Харди-Вайнберга ( $p > 0,05$ ). При анализе распределения генотипов между экспериментальной и контрольной группами статистически значимых различий не выявлено (табл. 1).

Ранее при исследовании данного полиморфизма нами было показано, что носителей генотипа CC статистически значимо меньше в группе больных РМП, т. е. мутантный аллель проявляет защитный эффект. В текущем исследовании при объединенной оценке частоты генотипов GG и GC и их сопоставлении с частотой генотипа CC эффект не подтвердился: различий между анализируемыми группами по частоте генотипа CC не обнаружено ( $p = 0,2$ ), (табл. 2).

При сравнении частоты генотипов в группах пациентов с мышечно-инвазивным и неммышечно-инвазивным РМП для аддитивной модели наследования показано, что генотип GG чаще встречался в группе с инвазией опухоли в стенку мочевого пузыря,  $p = 0,02$ , данные представлены в табл. 3.

### Обсуждение

Результаты проведенного исследования показали, что в образцах мочи здоровых пациентов сурвивин не выявляется. В наш эксперимент, помимо больных РМП-пациентов, были включены пациенты с другими заболеваниями мочеполовой системы, у большинства из которых (83 %) также оказалось повышенное содержание сурвивина. Это соответствует функциональной активности сурвивина, сверхэкспрессия которого наблюдается во всех активно пролиферирующих клетках, и кроме того, его способности ингибировать апоптоз. В литературе представлены данные о том, что помимо ЗНО он может быть использован как сывороточный маркер любых доброкачественных гиперплазий: простаты [11], эндометриоза [12], полипов кишечника [13] и др., а также аутоиммунных и воспалительных заболеваний, включающих ревматоидный артрит,

рассеянный склероз, системную красную волчанку, болезнь Крона и другие [см., например, обзор 14]. Последние исследования по содержанию сурвивина в моче показали, что аналогично сывороточному, его повышенное содержание не является единственным независимым фактором для постановки диагноза РМП, поскольку оно наблюдается в случаях других ЗНО с близкой локализацией, доброкачественных гиперплазий и воспалительных заболеваний. Показано, что использование сурвивина в комбинации с другими онкомаркерами или методами диагностики существенно повышает специфичность анализа и точность диагноза на его основе [15–18].

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости разработки отечественной тест-системы для высокочувствительного выявления сурвивина в моче. Доступность и неинвазивность получения анализируемого материала определяют дополнительную ценность такой аналитической системы. Кроме того, появляется возможность диагностировать РМП и другие заболевания уротелиального тракта в ходе скрининговых лабораторных обследований групп высокого риска (работники вредных производств, возрастные пациенты и т. п.), а также обосновать назначение дополнительного обследования. Предложенный вариант одностадийного иммуноанализа конкурентного типа на основе биолюминесцентного репортера проводится в течение 1,5–2 ч. (вместе со стадиями инкубирования и промывки), не требует соблюдения особых условий и высокой квалификации персонала. Однако недостаточная чувствительность данного анализа определяет необходимость дополнительных исследований, направленных на оптимизацию условий его проведения и пробоподготовки.

В рамках настоящего расширенного исследования по выявлению полиморфизма rs9904341(G/C) среди больных РМП не было обнаружено статистически значимых взаимосвязей полиморфизма с заболеванием. Это означает, что данный полиморфизм для оценки риска возникновения РМП среди жителей Красноярского края не является значимым. Также не было обнаружено статистически значимой взаимосвязи при распределении генотипов между группой пациентов с рецидивом заболевания и группой пациентов с безрецидивной выживаемостью в течение трех лет после постановки диагноза. В то же время была обнаружена ассоциация носительства генотипа GG с более агрессивным типом РМП: этот генотип чаще встречался среди пациентов с инвазией опухоли в стенку мочевого пузыря, чем у пациентов в сравнении с больными, имеющими неммышечно-инвазивные формы рака (48,7 % vs 35,7 %,  $p = 0,02$ ).

## Заключение

Содержание белка сурвивина в моче является хорошим преддиагностическим показателем для выявления пациентов с патологией в отношении мочеполовой системы. Повышенное содержание сурвивина в моче указывает на развитие процессов, характеризующихся интенсивной пролиферацией клеток: злокачественные (в т. ч. РМП) и доброкачественные гиперплазии, а также воспалительные заболевания уретериального тракта. Разработка отечественной тест-системы для выявления этого маркера в моче является перспективной, поскольку позволяет неинвазивно диагностировать РМП и другие заболевания мочевого тракта в ходе скринингового обследования групп высокого риска (работники вредных производств, курящие, возрастные пациенты с обструкцией нижних мочевых путей и т. п.).

В ходе расширенного исследования показано, что полиморфизм -31G>C (rs9904341), находящийся в промоторной области гена *BIRC5*, для жителей Красноярского при оценке риска возникновения РМП и развития рецидива заболевания не является значимым. Представляет интерес определение носительства генотипа GG у больных РМП как возможного предиктора агрессивного течения заболевания с быстрым прорастанием в мышечную стенку мочевого пузыря.

### Вклад авторов:

Панамарев Н.С. — анализ литературы, проведение экспериментов, анализ и интерпретация результатов, подготовка текста рукописи;

Башмакова Е.Е. — разработка дизайна исследования, получение, анализ и интерпретация результатов, подготовка текста рукописи;

Кудрявцев А.Н. — проведение экспериментов, анализ и интерпретация результатов;

Черняев Д.В. — забор биологических образцов, составление и описание коллекции экспериментального материала;

Мазаев А.В. — забор и описание экспериментальных образцов;

Слепов Е.В. — получение экспериментальных данных, подготовка отдельных фрагментов статьи;

Зуков Р.А. — разработка концепции и планирование научной работы, критический просмотр текста рукописи;

Франк Л.А. — разработка концепции исследования, анализ литературы, планирование и корректирование хода научной работы, составление текста рукописи.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

## Финансирование

Исследование поддержано грантом Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технической деятельности (Договор № 241 от 28.04.2021 г.)

The study was carried out with the support of the Krasnoyarsk Regional Fund for the Support of Scientific and Scientific and Technical Activities, Contract No. 241 (April 28, 2021).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Аксель Е.М., Матвеев В.Б. Статистика злокачественных новообразований мочевых и мужских половых органов в России и странах бывшего СССР. Онкоурология. 2019;15(2):15–24 [Axel EM, Matveev VB. Statistics of malignant tumors of urinary and male urogenital organs in Russia and the countries of the former USSR. Cancer Urology. 2019;15(2):15–24 (In Russ.). doi:10.17650/1726-9776-2019-15-2-15-24.
2. Wheatley SP, Altieri DC. Survivin at a glance. J Cell Sci. 2019;132(7):jcs223826. doi:10.1242/jcs.223826.
3. Слепов Е.В., Башмакова Е.Е., Панамарев Н.С. и др. Белок сурвивин как перспективный маркер диагностики и лечения злокачественных новообразований. Эффективная фармакотерапия. 2021;17(2):58–63 [Slepov YeV, Bashmakova YeYe, Panamarev NS et al. The Survivin protein as novel anti-cancer diagnosis and treatment marker. Effektivnaya farmakoterapiya. 2021;17(2):58–63 (In Russ.). doi:10.33978/2307-3586-2021-17-2-58-63.
4. Liang Z, Xin R, Yu Y et al. Diagnostic value of urinary survivin as a biomarker for bladder cancer: a systematic review and meta-analysis of published studies. World J Urol. 2018;36(9):1373–1381. doi:10.1007/s00345-018-2285-8.
5. Xu Y, Fang F, Ludewig G et al. A mutation found in the promoter region of the human survivin gene is correlated to overexpression of survivin in cancer cells. DNA Cell Biol. 2004;23(7):419–429. doi:10.1089/1044549041474788.
6. Moazeni-Roodi A, Ghavami S, Hashemi M. Survivin RS9904341 polymorphism significantly increased the risk of cancer: evidence from an updated meta-analysis of case-control studies. Int J Clin Oncol. 2019;24(4):335–349. doi:10.1007/s10147-019-01408-y.
7. Bogdanovic L, Lazic M, Bogdanovic J et al. Polymorphisms of survivin -31 G/C gene are associated with risk of urothelial carcinoma in Serbian population. JBUON. 2017;22(1):270–277.
8. Башмакова Е.Е., Панамарев Н.С., Кудрявцев А.Н. и др. Анализ связи полиморфизма -31G/C (rs9904341) в гене *BIRC5* с риском возникновения рака мочевого пузыря. Сибирский онкологический журнал. 2022;21(4):48–55 [Bashmakova EE, Panamarev NS, Kudryavtsev AN et al. Relationship of -31G/C (rs9904341) polymorphism in the survivin gene *BIRC5* and the risk of bladder cancer. Sib J Oncol. 2022;21(4):64–71 (In Russ.). doi:10.21294/1814-4861-2022-21-4-48-55
9. Bashmakova EE, Panamarev NS, Kudryavtsev AN et al. N-extended photoprotein obelin to competitively detect small protein tumor markers. Biochem Biophys Res Commun. 2022;598:69–73. doi:10.1016/j.bbrc.2022.02.011.
10. Ren YQ, Zhang HY, Su T et al. Clinical significance of serum survivin in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2014;18(20):3063–3068. doi:10.1186/s12957-015-0605-7.

11. Morgia G, Micali A, Rinaldi M et al. Survivin and NAIP in human benign prostatic hyperplasia: protective role of the association of Serenoa repens, Lycopene and Selenium from the Randomized Clinical Study. *Int J Mol Sci.* 2017;18(3):680. doi:10.3390/ijms18030680.
12. Gokmen Karasu AF, Sonmez FC, Aydin S, et al. Survivin expression in simple endometrial polyps and tamoxifen-associated endometrial polyps. *Int J Gynecol Pathol.* 2018;37(1):27–31. doi:10.1097/PGP.0000000000000376.
13. Jourabchin A, Mazoochi T, Haddad Kashani H et al. Assessment of relationship between expression of survivin protein and histopathology diagnosis and malignancy severity in colon specimen. *J Gastrointest Cancer.* 2020;51(1):76–82. doi:10.1007/s12029-019-00206-z.
14. Ebrahimiyan H, Aslani S, Rezaei N et al. Survivin and autoimmunity; the ins and outs. *Immunol. Lett.* 2018;193:14–24. doi:10.1016/j.imlet.2017.11.004.
15. Gong YW, Wang YR, Fan GR et al. Diagnostic and prognostic role of BTA, NMP22, survivin and cytology in urothelial carcinoma. *Transl. Cancer Res.* 2021;10(7):3192–3205. doi:10.21037/tcr-21-386.
16. Yahyazadeh R, Bashash D, Ghaffari P et al. Evaluation of hTERT, KRT7, and survivin in urine for noninvasive detection of bladder cancer using real-time PCR. *BMC urology.* 2021;21(1):64. doi:10.1186/s12894-021-00838-z.
17. Xu X, Li P, Fu D et al. Combined use of urinary survivin detection and liquid-based cytology for the early diagnosis of bladder urothelial carcinoma. *Oncol Lett.* 2018;15(5):7739–7743. doi:10.3892/ol.2018.8326.
18. Li Y, Lu W, Yang J et al. Survivin as a biological biomarker for diagnosis and therapy. *Expert Opin Biol Ther.* 2021;21(11):1429–1441. doi:10.1080/14712598.2021.1918672.

Поступила в редакцию 10.10.2022  
 Прошла рецензирование 08.02.2023  
 Принята в печать 16.02.2023

*N.S. Panamarev<sup>1</sup>, E.E. Bashmakova<sup>1</sup>,  
 A.N. Kudryavtsev<sup>1</sup>, D.V. Chernyaev<sup>2,3</sup>, A.V. Mazaev<sup>3</sup>,  
 E.V. Slepov<sup>3</sup>, R.A. Zukov<sup>2,3</sup>, L.A. Frank<sup>1</sup>*

### **On the diagnostic and prognostic significance of the oncomarker survivin (BIRC5) in bladder cancer**

<sup>1</sup>Institute of Biophysics SB RAS, FRC KSC SB RAS, Krasnoyarsk, the Russian Federation

<sup>2</sup>Krasnoyarsk State Medical University named after V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, the Russian Federation

<sup>3</sup>Regional Clinical Oncology Center named after A.I. Kryzhanovskiy, Krasnoyarsk, the Russian Federation

**Aim.** To evaluate the content of survivin in urine as a diagnostic marker for bladder cancer (BC) and to investigate the prognostic value of the rs9904341 (-31G>C) polymorphism in *BIRC5* gene promoter in relation to the aggressiveness of BC course among the population of the Krasnoyarsk region.

**Materials and methods.** The content of survivin was analyzed by immunoassay in 43 urine samples from patients, including 27 with bladder cancer, 4 with other malignant neoplasms, 8 with inflammatory diseases of the urogenital system and benign hyperplasia, and 4 healthy donors. DNA samples from BC patients (285) and healthy donors (183) were genotyped using the previously developed method based on bioluminescence analysis. Quantitative data were compared using the Mann-Whitney U test, and the Pearson  $\chi^2$  test was used to compare genotype frequencies between BC cases and con-

trols. The association between the polymorphism and BC was evaluated using odds ratios with a 95 % confidence interval, and  $p < 0.05$  was considered significant.

**Results.** Urine survivin was found to be a parameter capable of defining patients with BC from healthy individuals with a sensitivity of 66.7 % and specificity of 100 %. Elevated levels of survivin were detected in samples from patients with inflammatory diseases and benign hyperplasia of the urinary tract.

It was shown that the -31G>C (rs9904341) polymorphism is not a significant risk factor for the development or recurrence of BC in patients from the Krasnoyarsk region. However, carriage of the GG allele may be a predictor of aggressive disease progression with rapid invasion into the muscular wall of the bladder (48.7 % vs 35.7 %,  $p = 0.02$ ).

**Conclusion.** Survivin is a good pre-diagnostic marker for detecting patients with urinary tract diseases: its elevated level in urine may indicate the development of malignant (including BC) and benign hyperplasia, as well as inflammatory diseases of the urothelium. The development of Russian “alarm” urine survivin test for rapid and non-invasive diagnostics is promising. The polymorphism -31G>C (rs9904341) can be considered as a predictor of aggressive course of BC.

**Keywords:** bladder cancer (BC); survivin (BIRC5); single-nucleotide polymorphism (SNP) -31G/C rs9904341

**For citation:** Panamarev NS, Bashmakova EE, Kudryavtsev AN, Chernyaev DV, Mazaev AV, Slepov EV, Zukov RA, Frank LA. On the diagnostic and prognostic significance of the oncomarker survivin (BIRC5) in bladder cancer. *Voprosy Onkologii.* 2023;69(2):308–315. doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-2-308-315

### **Сведения об авторах**

*Панамарёв Никита Сергеевич*, мл. науч. сотр. ИБФ СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН, 660036, Россия, г. Красноярск, ул. Академгородок 50/50; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6954-7280>, [meditron@yandex.ru](mailto:meditron@yandex.ru).

*Башмакова Евгения Евгеньевна*, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. ИБФ СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН, 660036, Россия, г. Красноярск, ул. Академгородок 50/50; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8951-8599>, [jeun\\_a@bk.ru](mailto:jeun_a@bk.ru).

*Кудрявцев Александр Николаевич*, мл. науч. сотр. ИБФ СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН, 660036, Россия, г. Красноярск, ул. Академгородок 50/50; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0034-1879>, [kirush07@mail.ru](mailto:kirush07@mail.ru).

*Черняев Денис Владимирович*, ассистент кафедры онкологии и лучевой терапии с курсом ПО ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого Минздрава России; врач-онколог КБУЗ «КККОД имени А.И. Крыжановского», 660133, Россия, г. Красноярск, ул. 1ая Смоленская, д.16; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4625-9531>, [denisonco@mail.ru](mailto:denisonco@mail.ru).

*Слепов Евгений Владимирович*, канд. биол. наук, зав. отделом прогностических и молекулярных методов, КБУЗ «КККОД имени А.И. Крыжановского», 660133, Россия, г. Красноярск, ул. 1ая Смоленская, д.16; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3787-3126>, [slepov99@mail.ru](mailto:slepov99@mail.ru).

*Мазаев Андрей Владимирович*, врач-онколог онкоурологического отделения, КБУЗ «КККОД имени А.И. Крыжановского», 660133, Россия, г. Красноярск, ул. 1ая Смоленская, д.16; [mazaev@list.ru](mailto:mazaev@list.ru).

*Зуков Руслан Александрович*, д-р мед. наук, зав. кафедры онкологии и лучевой терапии с курсом ПО ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого Минздрава России; главный врач, КБУЗ «КККОД имени А.И. Крыжановского», 660133, Россия, г. Красноярск, ул. 1ая Смоленская, д.16; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8951-8599>, [zukov\\_rus@mail.ru](mailto:zukov_rus@mail.ru).

\**Франк Людмила Алексеевна*, д-р биол. наук, гл. науч. сотр. ИБФ СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН, 660036, Россия, г. Красноярск, ул. Академгородок 50/50; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4462-1944>.

*Panamarev Nikita Sergeyevich*, Junior Researcher, Institute of Biophysics SB RAS, FRC KSC SB RAS, 50/50 Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660036, Russia, [meditron@yandex.ru](mailto:meditron@yandex.ru), ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6954-7280>.

*Bashmakova Eugenia Eugenievna*, PhD (Bio.), Senior Researcher, Institute of Biophysics SB RAS, FRC KSC SB RAS. 50/50 Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660036, Russia, [jeyn\\_a@bk.ru](mailto:jeyn_a@bk.ru), ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8951-8599>.

*Kudryavtsev Aleksandr Nikolayevich*, Junior Researcher, Institute of Biophysics SB RAS, FRC KSC SB RAS. 50/50 Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660036, Russia, [kirush07@mail.ru](mailto:kirush07@mail.ru), ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0034-1879>.

*Chernyaev Denis Vladimirovich*, MD, Assistant, Department of Oncology and Radiation Therapy, Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V. F. Voyno-Yasenetsky; Oncologist, Krasnoyarsk Regional Clinical Oncological Dispensary named after A.I. Kryzhanovsky, 16 1-st Smolenskaya St. Krasnoyarsk, 660133, Russia, [denisonco@mail.ru](mailto:denisonco@mail.ru), ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4625-9531>.

*Slepov Eugeny Vladimirovich*, PhD (Bio.), Head of the Department of Prognostic and Molecular Methods in the Regional Clinical Oncology Center named after A.I. Kryzhanovsky, 16 1-st Smolenskaya St. Krasnoyarsk, 660133, Russia, [slepov99@mail.ru](mailto:slepov99@mail.ru), ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3787-3126>.

*Mazaev Andrey Vladimirovich*, MD, Oncologist, Krasnoyarsk Regional Clinical Oncological Dispensary named after A.I. Kryzhanovsky, 16 1-st Smolenskaya St. Krasnoyarsk, 660133, Russia, [mazaev@list.ru](mailto:mazaev@list.ru).

*Zukov Ruslan Aleksandrovich*, DSc (Med.), Chief Physician, Krasnoyarsk Regional Clinical Oncology Center named after A.I. Kryzhanovsky; Head of the Department of Oncology and Radiation Therapy, Krasnoyarsk State Medical University named after V.F. Voyno-Yasenetsky. 16 1-st Smolenskaya St. Krasnoyarsk, 660133, [zukov\\_rus@mail.ru](mailto:zukov_rus@mail.ru), ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8951-8599>.

\**Frank Ludmila Alexeevna*, DSc (Bio.), Chief Researcher, Institute of Biophysics SB RAS, FRC KSC SB RAS, 50/50 Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660036, Russia, [lfrank@yandex.ru](mailto:lfrank@yandex.ru), ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4462-1944>.