

## ЗНАЧЕНИЕ ОНКОМАРКЕРОВ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ИСХОДОВ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ (ОБЗОР)

**А. Н. Понукалин** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии, заведующий отделом реконструктивной уронефрологии, доцент кафедры урологии, доцент, кандидат медицинских наук; **Н. Б. Захарова** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики, профессор, доктор медицинских наук; **С. А. Скрипцова** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, аспирант кафедры урологии; **Р. Н. Фомкин** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии, старший научный сотрудник отдела реконструктивной уронефрологии, доцент кафедры урологии, доцент, кандидат медицинских наук; **М. Л. Чехонацкая** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии, руководитель отдела лучевой диагностики, заведующая кафедрой лучевой диагностики и лучевой терапии, профессор, доктор медицинских наук.

## THE VALUE OF TUMOR MARKERS IN PROGNOSING THE OUTCOMES OF TREATMENT OF PATIENTS WITH BLADDER CANCER (REVIEW)

**A. N. Ponuskalin** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Scientific Research Institute of Fundamental and Clinical Uro nephrology, Head of Department of Reconstructive Uro nephrology, Assistant Professor, PhD; **N. B. Zakharova** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Professor, DSc; **S. A. Skriptsova** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Urology, Post-graduate; **R. N. Fomkin** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Scientific Research Institute of Fundamental and Clinical Uro nephrology, Department of Reconstructive Uro nephrology, Senior Research Assistant, Assistant Professor, PhD; **M. L. Chekhonatskaya** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Scientific Research Institute of Fundamental and Clinical Uro nephrology, Head of Department of Radiology, Head of Department of Radiology and Radiotherapy, Professor, DSc.

Дата поступления — 10.10.2018 г.

Дата принятия в печать — 29.11.2018 г.

**Понукалин А. Н., Захарова Н. Б., Скрипцова С. А., Фомкин Р. Н., Чехонацкая М. Л.** Значение онкомаркеров в прогнозировании исходов лечения больных раком мочевого пузыря (обзор). Саратовский научно-медицинский журнал 2018; 14 (4): 661–666.

В литературном обзоре анализируются публикации последних лет, посвященные результатам применения в клинической практике молекулярно-генетических маркеров рака мочевого пузыря (РМП). Рассматриваются возможности применения в диагностике РМП серии молекул, определяемых в опухолевой ткани, сыворотке и моче. Исследование протеомного состава мочи представляется одним из наиболее перспективных направлений поиска маркеров для диагностики, контроля и оценки эффективности лечения РМП.

**Ключевые слова:** рак мочевого пузыря, онкомаркеры, химиотерапия, иммунотерапия.

**Ponuskalin AN, Zakharova NB, Skriptsova SA, Fomkin RN, Chekhonatskaya ML.** The value of tumor markers in prognosing the outcomes of treatment of patients with bladder cancer (review). Saratov Journal of Medical Scientific Research 2018; 14 (4): 661–666.

The review analyzes the recent publications of the results of the use of molecular genetic markers of bladder cancer (RMP) in clinical practice. The prospects of application of a series of molecules determined in tumor tissue, serum, urine in the diagnosis of RMP are presented. One of the most promising areas of finding a marker for the diagnosis and control of treatment of RMP in recent years are the study of the proteomic composition of urine.

**Key words:** bladder cancer, tumor markers, chemotherapy and immunotherapy.

Рак мочевого пузыря (РМП) отнесен к наиболее часто встречающимся видам злокачественных новообразований. По данным мировой статистики, в 2016 г. диагноз РМП поставлен 541 тыс. пациентам, зарегистрировано 188 тыс. случаев смертей от этого заболевания.

В России в 2017 г. зафиксировано 16633 новых случая РМП, из них в Саратовской области 360. Доля рака данной локализации в общей структуре онкологической заболеваемости составляет 5,0%. В 2016 г. стандартизированный показатель заболеваемости равнялся 17,00 на 100 тыс. мужского населения и 4,35 — женского. Средний темп прироста заболеваемости в год у мужчин составил 0,22%, у женщин 1,65%. Таким образом, с 2004 по 2016 г. заболеваемость выросла на 26,5% у женщин и на

15,1% у мужчин. Суммарный же риск развития РМП в течение жизни значительно выше у мужчин (1,51%), чем у женщин (0,24%). Средний возраст больных с впервые в жизни установленным диагнозом РМП в России: 66,5 года у мужчин и 69,2 года у женщин. У 64,8% больных диагностированы I и II стадии заболевания, у 21,5% III стадия, у 10,6% IV стадия [1, 2]. Летальность больных РМП в течение 2017 г. после установления диагноза составила 14,9% [3, 4]. Для снижения смертности больных РМП ведущее значение имеет раннее выявление рецидива и метастазов как в до-, так и в послеоперационном периоде.

После радикального лечения вероятность рецидива опухоли в первый год колеблется от 10 до 67%, а допустимость прогрессии в течение пяти лет достигает 55% [5, 6]. Применение «классической» системы оценки рисков развития рецидивирования и прогрессии опухолевого роста (таблицы EORTC) не дает гарантии правильности выбора тактики лечения [7]. Несмотря на эффективность компьютерной томографии (КТ) и позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) для выявления метастазов после радикальных оперативных вмешательств у больных РМП, они относятся к дорогостоящим процедурам и их нельзя проводить многократно. Существует настоятельная необходимость применения простого, но экономически эффективного показателя или технологии исследования для прогноза течения заболевания [6–8].

По сравнению с методическими подходами к оценке тяжести опухолевого процесса, утвержденными в клинических рекомендациях, использование биомаркеров в диагностике РМП имеет ряд существенных преимуществ (повышенная чувствительность, объективное измерение), методы их количественного определения удобны и безопасны [9–11]. Это обстоятельство привело к появлению целого ряда работ, направленных на поиск характеристик биологических свойств клеток РМП [12]. В настоящее время установлен ряд потенциальных прогностических маркеров, характеризующих молекулярные изменения клеток РМП [13, 14]. Среди них: делеции хромосом; потеря регулирования клеточного цикла и клеточная пролиферация; потеря контроля роста или «включение» ангиогенеза, сопровождающего метастазирование. Установлено, что каждый тип опухолевых клеток больных РМП характеризует свои индивидуальные геномные повреждения. От них зависят клинический характер заболевания, его прогноз, стратегия лечения больных РМП. Хромосомные делеции клеток РМП установлены на хромосомах 9, 13 и 17. Инактивация гена на хромосоме 9 представляет собой начальный период развития РМП [15, 16].

Вместе с тем при выборе стратегии лечения больных РМП предпочтение отдается простым и экономически эффективным показателям, в частности целому ряду сывороточных и мочевых белков. Серологические биомаркеры РМП могут быть отнесены к наиболее перспективным показателям для выбора стратегии и контроля лечения [17]. Во многих исследованиях показано, что достаточно высокую чувствительность и специфичность при определении стадии опухолевого роста и активности метастазирования у больных РМП имеют онкоассоциированные цитокератины [18]. Цитокератины (ЦК) — структурные белки цитоскелета эпителиальных клеток [19, 20]. К ЦК относятся 20 различных белков, содержание которых нарастает в кровотоке при разрушении опухолевых клеток и усилении протеолиза. Инвазивный рост злокачественных опухолевых клеток при РМП

сопровождается нарастанием таких растворимых фрагментов цитокератинов, как тканевый полипептидный антиген (tissue polypeptide antigen, TPA) и тканевый полипептид-специфический антиген (tissue polypeptide-specific antigen, TPS) в сыворотке крови [21]. Исследование данных онкомаркеров у одного и того же больного проводится многократно с целью принятия клинических решений. Эти сывороточные биомаркеры наиболее эффективны при мониторинге лечения у пациентов с мышечно-инвазивным раком мочевого пузыря (МИРМП).

Основным недостатком названных сывороточных маркеров считается их низкая специфичность [23–25]. В связи с этим при выявлении критических величин данных онкомаркеров у больных РМП возникает необходимость назначения уточняющих исследований (цистоскопических и гистологических), что значительно ограничивает их применение в клинической практике [25].

За последние годы получены убедительные доказательства роли ангиогенеза в прогрессии и рецидивировании РМП [26, 27]. Фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF) отнесен к независимому показателю развития рецидивов и метастазов в послеоперационном периоде у больных РМП [28, 29]. Его нарастание в сыворотке крови связано с увеличением плотности микрососудов опухолевой ткани. У больных МИРМП высокий уровень VEGF до операционного вмешательства считается предиктором развития рецидива после цистэктомии [30–32].

К потенциальным маркерам опухолевого ангиогенеза относятся: плацентарный фактор роста (PlGF), щелочной фактор роста фибробластов (bFGF), инсулиноподобный фактор роста (IGF-I), фактор роста гепатоцитов (HGF), фактор некроза опухоли  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), фактор роста из тромбоцитов (PDGF), трансформирующий фактор роста (TGF- $\beta$ ), ангиопоэтин-1, оксид азота (NO), эндотелин и другие [33–35].

Исследование уровня сывороточных маркеров не включено в большинство клинических рекомендаций, однако их достаточно часто определяют при лечении больных РМП в Европе для прогнозирования реакции или резистентности к специфической терапии, наблюдения после оперативных вмешательств у пациентов с прогрессией заболевания. При использовании опухолевых маркеров сыворотки в диагностическом процессе у больных РМП необходимо учитывать следующее:

а) ни один из доступных маркеров не увеличивается у всех пациентов с РМП даже с прогрессирующим заболеванием, и для мониторинга необходимо определение панели маркеров в сыворотке крови (TPA, TPS VEGF и др.);

б) маркеры чувствительны к обнаружению отдаленных метастазов и при диагностике локальных рецидивов;

в) основным недостатком существующих маркеров сыворотки для РМП является низкая специфичность. Это не позволяет их использовать при скрининге для выявления ранних стадий заболевания.

Цитологическое исследование мочи является наиболее часто используемым диагностическим методом в клинической практике [36, 37]. Мочевая цитопатология основана на интерпретации морфологических изменений в дезагрегированных клетках и относится к дорогостоящей методике. Вместе с тем для выполнения цитологического исследования требуется профессионально подготовленный и

опытный цитопатолог. Неправильный сбор и обработка образцов могут отрицательно влиять на точность результатов. Возможность получения ложного положительного значения очень высока при внутрипузырной химиотерапии, лучевой терапии. Цитологический анализ мочи может выявлять карциному *in situ* (CIS) с чувствительностью 80–90% и специфичностью 98–100%. Чувствительность метода связана со степенью клеточной дифференцировки опухолевых клеток: достигает при G1 28%, G2 77%, G3 90%, в среднем около 40% [38].

Моча относится к одному из наиболее популярных объектов поиска биомаркеров РМП. В течение последних лет благодаря усовершенствованным методам молекулярной биологии выявлены новые классы диагностических и прогностических биомаркеров. Они учитывали не только отдельные белки, но и взаимодействия между молекулами в путях, которые, как известно, были опухолевыми [39–47]. Протеом мочи содержит подробную информацию об изменениях физиологического состояния человека [48–51]. Процедура сбора ее образцов неинвазивна и безопасна, может проводиться с любой периодичностью, что значительно облегчает проведение исследований в динамике с целью мониторинга развития заболеваний или контроля эффективности лечения [49, 50]. Определение онкомаркеров в моче в основном проводят методами протеомики, основанными на иммунохимическом анализе. Применение конкретного маркера мочи в клинической практике связано с необходимостью «более простых, лучших, более быстрых и дешевых» средствах диагностики и мониторинга эффективности лечения РМП [47, 48]. Наиболее распространенными из них стали: опухолевый антиген мочевого пузыря (БТА), белок ядерной матрицы 22 (NMP22), антиген UBC (urinary bladder cancer), теломераза мочи, тесты на наличие генетических мутаций (чаще всего рецептор фактора роста фибробластов 3 (FGFR3) и TP53), изменение метилирования ДНК, структуры хроматина и, в последнее время, наличие специфической микроРНК и другие [40–42, 52, 53].

Поиск значимых в диагностике РМП маркеров мочи представляет собой неинвазивный подход для молекулярной характеристики опухоли. Для определения биомаркеров в моче в настоящее время начинают появляться доступные наборы реагентов (в том числе отечественного производства) и соответствующее лабораторное оборудование.

Каковы перспективы применения молекулярных маркеров в оценке эффективности химио- и иммунотерапии у больных РМП?

Варианты лечения РМП с комбинированной химиотерапией (ХТ) в качестве основы оставались относительно неизменными в течение последних тридцати лет. Она считалась практически единственным методом лечения неоперабельных местно-распространенных и диссеминированных форм уротелиального рака [54, 55]. Предоперационная химиотерапия позволяет воздействовать на микрометастазы на ранних этапах лечения, потенциально отражает чувствительность к химиопрепаратам *in vivo*. Существует точка зрения, что пациенты, ответившие на неоадьювантную ХТ (НАХТ), могут обладать более благоприятным прогнозом в отношении исхода заболевания [54, 56, 57]. У пациентов, ранее не получавших системного лечения, стандартом первой линии терапии является назначение многокомпонентных режимов, основанных на цисплатине: гемцитабин/

цисплатин (GC); метотрексат, цисплатин, винбластин с доксорубицином или без него. Данный вид ХТ обеспечивает ответ на лечение в 46–50% случаев при медиане общей выживаемости 13,8 месяца [57–59]. Вместе с тем около 50% больных РМП имеют противопоказания к назначению цисплатина, определяемые скоростью клубочковой фильтрации. Препаратом выбора второй линии химиотерапии в настоящее время признан винфлунин [60].

Преимущества проведения ХТ при лечении больных РМП определили поиск лабораторных, клинических, морфологических и молекулярно-генетических показателей ее эффективности. Анализ более 3000 случаев РМП выявил, что у пациентов с локализованными в пределах органа злокачественными новообразованиями, по сравнению с радикальной цистэктомией, НАХТ на 9% улучшает безрецидивную выживаемость, на 5% общую выживаемость [61, 62]. Однако последующее наблюдение за пациентами после НАХТ показало, что клинические исходы при МИРМП неудовлетворительны: 5-летняя выживаемость составила менее 15%; для всех стадий около 77% [63]. Кроме того, значительная часть пожилых больных МИРМП с целым рядом сопутствующих заболеваний не в состоянии перенести стандартные режимы химиотерапии. Takata R. et al. (2010) представили результаты исследования в биоптатах опухоли панели из 2764814 генов, выявленных с помощью микрочипов. Установлено 14 генов у 9 больных с положительным результатом после НАХТ и разработана схема оценки ее эффективности [63]. Одна из последних разработок в области молекулярно-генетической диагностики посвящена изучению панели из 20 генов, повышение экспрессии которых является предиктором инвазии в лимфоузлы и позволяет отобрать пациентов высокого риска для проведения НАХТ.

В 2000-х гг. Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA, США) для лечения метастатического РМП рекомендована иммунотерапия на основе новых препаратов. Это связано с появлением убедительных экспериментальных и клинических исследований, показавших значение иммунной системы в онкогенезе, опухолевой прогрессии и ответе на противоопухолевую терапию [64]. РМП отличаются высокой мутационной нестабильностью и высокой степенью иммуногенности опухолевых клеток. Клеткам опухоли свойственна высокая экспрессия PD-L1, прямо коррелирующая со стадией заболевания и степенью их дифференцировки [65, 66]. Данные белки, PD-1 (поверхностный рецептор Т-клеток, при связывании с опухолевым лигандом PD-L1) и, в меньшей степени, PD-L2 являются участниками подавления противоопухолевого ответа иммунной системы. Медикаментозная блокада белков PD-1 и PD-L1 приводит к восстановлению противоопухолевого ответа [66, 67]. Показано, что иммунотерапия значительно снижает риск рецидива РМП и увеличивает процент пациентов без развития в послеоперационном периоде рецидивов и метастазов. В последнее время системная иммунотерапия стала стандартом ухода за многими пациентами с ранее обработанной метастатической уротелиальной карциномой. На Конгрессе Европейского общества медицинской онкологии (ESMO) в 2018 г. группа исследователей представила первые результаты испытаний одобренных для лечения РМП лекарственных препаратов для иммунотерапии (Check Mate

032) [68]. В настоящее время для лечения РМП и лечения первой линии для пациентов, которые не имеют права на ХТ цисплатином, одобрены: Avelumab (Bavencio ®): связывается с лигандом PD-1/PD-L1; Durvalumab (Imfinzi TM): связывается с лигандом PD-1/PD-L1; Nivolumab (Opdivo ®): связывается с лигандом PD-1/PD-L1; Pembrolizumab (Keytruda ®): связывается с лигандом PD-1/PD-L1 [68, 69].

На современном этапе иммунотерапия становится одним из наиболее перспективных методов лечения РМП. Вместе с тем основой оптимизации химио- и иммунотерапии остается персонализированный подход к контролю и мониторингу эффективности проводимого лечения, в частности с помощью биомаркеров. Ученые приступили к поиску специфичных и чувствительных биомаркеров для индивидуализированного прогнозирования молекулярных событий у больных после иммунотерапии. Конечной целью является разработка надежных прогностических маркеров, которые будут точно прогнозировать ответ опухолевых клеток на проводимое лечение. Вполне возможно, что разработка новых биомаркеров опухолевого ответа на иммунотерапию позволит установить ряд новых прогностических показателей, характеризующих молекулярные изменения на начальных стадиях развития РМП [70, 71].

Таким образом, в последнее десятилетие, несмотря на увеличение доказательной базы диагностического значения серии молекул, определяемых в опухолевой ткани, сыворотке, моче в диагностике РМП, поиски надежного маркера заболевания продолжают. Это связано с высокими требованиями, предъявляемыми к так называемому «идеальному маркеру» опухолевого роста, а также с разнообразием генетических мутаций, приводящих к развитию РМП, и с необходимостью их выявления на начальных стадиях формирования опухоли. Появление такого нового направления в лечении больных РМП, как иммунотерапия, увеличивает значение поиска маркеров РМП. Весомый вклад вносят исследования протеомного состава мочи. Возможно, данное направление позволит найти оптимальные, неинвазивные маркеры, определение которых будет технически несложным, не затратным для клинико-диагностических лабораторий любого уровня, допускающим неоднократные повторные исследования.

**Конфликт интересов.** Работа выполнена в рамках государственного задания НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России «Разработка программы ЭВМ и алгоритмов ее применения в клинической практике для прогнозирования развития рецидива и метастазирования у больных мышечно-инвазивным раком мочевого пузыря (МИРМП) на основе информативных и специфических биомаркеров», №056-00008-1800, утв. 26.12.2017 г.

**Авторский вклад:** написание статьи — А. Н. Понукалин, Н. Б. Захарова, С. А. Скрипцова, Р. Н. Фомкин, М. Л. Чехонацкая; утверждение рукописи для публикации — А. Н. Понукалин, Н. Б. Захарова.

#### References (Литература)

1. Global Burden of Disease Cancer Collaboration. Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 32 cancer groups, 1990 to 2015: A systematic analysis for global burden of disease study. *JAMA Oncol* 2017; 3: 524–48.
2. Kaprin AD, Starinskiy VV, Petrova GV. The state of cancer care in Russia in 2015. Moscow, 2016; 236 p. Russian (Ка-

прин А. Д., Старинский В. В., Петрова Г. В. Состояние онкологической помощи населению России в 2015 году. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2016; 236 с.).

3. Kaprin AD, Starinskiy VV, Petrova GV. Malignant neoplasm in Russia in 2014 (morbidity and mortality). Moscow, 2016. 250 p. Russian (Каприн А. Д., Старинский В. В., Петрова Г. В. Злокачественные новообразования в России в 2014 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П. А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2016; 250 р.).

4. Nosov DA, Bolotina LV, Vorobyov NA, et al. Practical recommendations for drug treatment of bladder cancer. *Malignant tumor* 2016; (4): 338–42. Russian (Носов Д. А., Болотина Л. В., Воробьев Н. А. и др. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака мочевого пузыря. Злокачественные опухоли 2016; (4): 338–42).

5. Sylvester RJ, Meijden AP, Oosterlinck W, et al. Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials. *Eur Urol* 2006; 49 (3): 466–77. DOI: 10.1016/j.eururo.2005.12.031. PMID: 16442208. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16442208>

6. Caprin AD. Modern concepts of bladder cancer treatment. *Modern Oncology* 2004; 4: 34–18. Russian (Каприн А. Д. Современные концепции лечения рака мочевого пузыря. Современная онкология 2004; 4: 34–18).

7. Kaprin AD, Apolikhin OI, Alekseev BYa, et al. Comparison of the EORTC and CUETO prognostic models in non-muscle-invasive bladder cancer. *Cancer Urology* 2018; 14 (2): 162–70. URL: <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2018-14-2-162-170>. Russian (Каприн А. Д., Аполихин О. И., Алексеев Б. Я. и др. Сравнительная оценка прогностических систем EORTC и CUETO при мышечно-неинвазивном раке мочевого пузыря. Онкоурология 2018; 14 (2): 162–70).

8. Mikich DH. Organ-preserving treatment for invasive bladder cancer. *Oncourology* 2005; (2): 27–32. Russian (Микич Д. Х. Органосохраняющее лечение при инвазивном раке мочевого пузыря. Онкоурология 2005; (2): 27–32).

9. Clinical Guidelines of the European Association of Urology on muscle-invasive and metastatic bladder carcinoma. *Actas Urol Esp* 2010; 34 (1): 51–62.

10. Liedberg F, Mansson W. Lymph node metastasis in bladder cancer. *Eur Urol* 2006; 49: 13–21.

11. Babjuk M, Burger M, Zigeuner R, et al. EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: update 2013. *Eur Urol* 2013; 64 (4): 639–53. URL: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2013.06.003>

12. Glaser AP, Fantini D, Shilatifard A, et al. The evolving genomic landscape of urothelial carcinoma. *Nat Rev Urol* 2017; 14 (4): 215–29. URL: <https://doi.org/10.1038/nrurol.2017.11>

13. Kirkali Z, et al. Bladder cancer: epidemiology, staging and grading, and diagnosis. *Urology* 2005; 66 (6A): 4–34.

14. Al-Shukri SA, Tkachuk VN, Volkov NM, Dubina MV. Prognostic molecular genetic markers of bladder cancer (literature review). *Oncology* 2009; (2): 78–84. Russian (Аль-Шукри С. А., Ткачук В. Н., Волков Н. М., Дубина М. В. Прогностические молекулярно-генетические маркеры рака мочевого пузыря (обзор литературы). Онкология 2009; (2): 78–84).

15. Volpe A, et al. Bladder tumor markers: a review of the literature. *The International Journal of Biological Markers* 2008; 23 (4): 249–61.

16. Goebell PJ, Knowles MA. Bladder cancer or bladder cancers? Genetically distinct malignant conditions on the urothelium. *Urol Oncol* 2010; 28 (4): 409–28.

17. Polishchuk LA, Telegeeva PG, Stakhovskiy AE, et al. New specific molecular diagnostic markers in urologic diseases. *Laboratory diagnostics* 2010; 4 (54): 46–51. Russian (Полищук Л. А., Телегеева П. Г., Стаховский А. Э. и др. Новые специфичные молекулярные диагностические маркеры при онкоурологических заболеваниях. Лабораторная диагностика 2010; 4 (54): 46–51).

18. Pu XY, et al. The value of combined use of surviving, cytokeratin 20 and mucin 7 mRNA for bladder cancer detection in voided urine. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2008; 134 (6): 659–665.

19. Ponukalin AN, Popkov VM, Zakharova NB, Mikhailov VYu. Tumor markers in the diagnosis stage of invasiveness of bladder cancer. *Medical Journal of Bashkortostan* 2013; 8 (2): 213–17. Russian (Понукалин А. Н., Попков В. М., Захарова Н. Б., Михайлов В. Ю. Онкомаркеры в диагностике стадии

инвазии рака мочевого пузыря. Медицинский вестник Башкортостана 2013; 8 (2): 213–17.

20. Konety BR, Lotan Y, Konety BR. Urothelial bladder cancer: biomarkers for detection and screening. *BJU International* 2008; 102 (9): 1234–41.

21. Castro J, et al. Erythrocyte and platelet phospholipid fatty acids as markers of advanced non-small cell lung cancer: comparison with serum levels of sialic acid, TPS and CYFRA 21–1. *Cancer Invest* 2008; 26 (4): 407–18.

22. Wang C, Sun Y, Han R. XRCC1 genetic polymorphisms and bladder cancer susceptibility: a meta-analysis. *J. Urology* 2008; 72: 869–72.

23. Shirodkar SP, Lokeshwar VB. Bladder tumor markers: from hematuria to molecular diagnostics where do we stand? Expert review of Anticancer Therapy 2008; 8 (7): 1111–23.

24. Jacobs LB, Lee TC, Montie JE. Bladder cancer in 2010: how far have we come? *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 244–72.

25. Fergelot P, Rioux-Leclercq N, Patard JJ. Molecular Pathways of tumor angiogenesis and new targeted therapeutic approaches in renal cancer. *Prog Urol* 2005; 15 (6): 1021–9.

26. Garcha-Closas M, Malats N, Real FX, et al. Large-scale evaluation of candidate genes identifies association between VEGF polymorphism and bladder cancer risk. *PLoS Genet* 2007 Feb 23; 3 (2): e29. DOI: 10.1371/journal.pgen.0030029

27. Goddard JC, Sutton CD, Furness PN, et al. Microvessel density at presentation predicts subsequent muscle invasion in superficial bladder cancer. *Clin Cancer Res* 2003 Jul; 9 (7): 2583–6.

28. Stenzl A, Cowan NC, De Santis M, et al. Update of the Clinical Guidelines of the European Association of Urology on muscle-invasive and metastatic bladder carcinoma. *Actas Urol Esp* 2010; 34 (1): 51–62.

29. Glybochko PV, Ponukalin AN, Zakharova NB, Shahapasyan NK. The value of markers of tumor growth and angiogenesis in the diagnosis of bladder cancer. *Oncourology* 2009; (2): 56–60. Russian (Глыбочко П. В., Понукалин А. Н., Захарова Н. Б., Шахапзян Н. К. Значение маркеров опухолевого роста и ангиогенеза в диагностике рака мочевого пузыря. *Онкоурология* 2009; (2): 56–60).

30. Al-Shukri SKh, Korneev IA, Yagmurov OD, et al. The role of tumor angiogenesis in the course of transitional cell carcinoma of the bladder. Topical issues of pathological anatomy 2010; (2): 37–8. Russian (Аль-Шукри С. Х., Корнеев И. А., Ягмуров О. Д. и др. Роль ангиогенеза опухоли в течении переходо-клеточного рака мочевого пузыря. Актуальные вопросы патологической анатомии 2010; (2): 37–8).

31. Popkov VM, Ponukalin NB, Zakharova NB. Vascular endothelial growth factor in the diagnosis of metastases of muscle-invasive bladder cancer. *Oncourology* 2016; 12 (2): 53–7. Russian (Попков В. М., Понукалин А. Н., Захарова Н. Б. Фактор роста эндотелия сосудов в диагностике метастазов мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря. *Онкоурология* 2016; 12 (2): 53–7).

32. Harper J, Moses MA. Molecular regulation of tumor angiogenesis: mechanism and therapeutic implication. *EXS* 2006; 96: 223–68.

33. Rey del J, Prat E, Ponsa I, et al. Centrosome clustering and cyclin D1 gene amplification in double minutes are common events in chromosomal unstable bladder tumors. *BMC Cancer* 2010; 10: 280–91.

34. Bollman D, Bollman M, Bankfalvi A, et al. Quantitative molecular grading of bladder tumours: A tool for objective assessment of the biological potential of urothelial neoplasias. *Oncol Rep* 2009; 21: 39–47.

35. Lindgren D, Frikvesi A, Guidonsson S, et al. Combined gene expression and genomic profiling define two intrinsic molecular subtypes of urothelial carcinoma and gene signatures for molecular grading and outcome. *Cancer Res* 2010; 70 (9): 3463–72.

36. Tritschler ML, Sommer J, Straub, et al. Urinary cytology in Era of fluorescence endoscopy: redefining the role of an established method with a new reference standard. *Urology* 2010; 76 (3): 677–80.

37. He H, Han C, Hao L, Zang G. Immunocyt test compared to cytology in the diagnosis of bladder cancer: a meta-analysis. *Oncol Lett* 2016; 12: 83–8. DOI: 10.3892/ol.2016.4556

38. Todenhofer T, Hennenlotter J, Esser M, et al. Combined application of cytology and molecular urine markers to improve

the detection of urothelial carcinoma. *Cancer Cytopathol* 2013; 121: 252–60. DOI: 10.1002/cncy.21247

39. Kim WT, Cho NH, Ham WS, et al. Comparison of the efficacy of urine cytology, Nuclear Matrix Protein 22 (NMP22), and Fluorescence in Situ Hybridization (FISH) for the diagnosis of bladder cancer. *Korean J Urol* 2009; 50: 6–11. DOI: 10.4111/kju.2009.50.1.6

40. May M, et al. Comparative diagnostic value of urine cytology, UBC-ELISA, and fluorescence in situ hybridization for detection of transitional cell carcinoma of urinary bladder in routine clinical practice. *Urology* 2007; 70 (3): 449–53.

41. Giannarini VG, Selli C, et al. Quantitative methylation analysis of BCL2, hTERT, and DAPK promoters in urine sediment for the detection of non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: a prospective, two-center validation study. *Urologic Oncology* 2011; 29 (2): 150–6.

42. Yoder BJ, Skacel M, Hedgepeth R, et al. Reflex urovision testing of bladder cancer surveillance patients with equivocal or negative urine cytology: a prospective study with focus on the natural history of anticipatory positive findings. *American Journal of Clinical Pathology* 2007; 127 (2): 295–301.

43. Tilki D, Burger M, Dalbagni G, et al. Urine markers for detection and surveillance of non-muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2011; 60: 484–92.

44. Beukers W, Keur van der KA, Kandimalla R, et al. FGFR3, TERT and OTX1 as a urinary biomarker combination for surveillance of patients with bladder cancer in a large prospective multicenter study. *J Urol* 2017; 197: 1410–8. DOI: 10.1016/j.juro.2016.12.096

45. Liu X, Cheng X, Liu X, He L, Zhang W, Wang Y, et al. Investigation of urinary metabolic variations and the application in bladder cancer biomarker discovery. *Int J Cancer* 2018; 143: 408–18. DOI: 10.1002/ijc.31323

46. Soukup V, Kalousova M, Capoun O, et al. Panel of urinary diagnostic markers for non-invasive detection of primary and recurrent urothelial urinary bladder carcinoma. *Urol Int* 2015; 95: 56–64. DOI: 10.1159/000368166

47. Masuda N, Ogawa O, Park M, et al. Meta-analysis of a 10-plex urine-based biomarker assay for the detection of bladder cancer. *Oncotarget* 2018; 9: 7101–11. DOI: 10.18632/oncotarget.23872

48. Schiffer E, Vlahou A, Petrolekas A, et al. Prediction of muscle-invasive bladder cancer using urinary proteomics. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 4935–43. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0226

49. Zakharova NB, Pastushkova LKh, Larina IM, et al. The value of the proteomic composition of the urine in diseases of the urinary tract (review of literature). *Experimental and Clinical Urology* 2017; (1): 22–6. Russian (Захарова Н. Б., Пастушкова Л. Х., Ларина И. М. и др. Значение протеомного состава мочи при заболеваниях мочевыводящих путей (обзор литературы). *Экспериментальная и клиническая урология* 2017; (1): 22–6).

50. Di Meo A, Pasic MD, Yousef GM. Proteomics and peptidomics: moving toward precision medicine in urological malignancies. *Oncotarget* 2016; 7: 52460–74. DOI: 10.18632/oncotarget.8931

51. Thongboonkerd V. Study of diabetic nephropathy in the proteomic era. *Contrib Nephrol* 2011; 170: 172–83. DOI: 10.1159/000125928

52. Loras A, Trassierra M, Sanjuan-Herróez D, et al. Bladder cancer recurrence surveillance by urine metabolomics analysis. *Sci Rep* 2018; 8: 9172. Doi: 10.1038/s41598-018-27538-3

53. Chen YT, Chen CL, Chen HW, et al. Discovery of novel bladder cancer biomarkers by comparative urine proteomics using iTRAQ technology. *J Proteome Res* 2010; 5: 5803–15. DOI: 10.1021/pr100576x

54. Bolotina LV, Kaprin AD, Kostin AA. Bladder cancer: medical treatment strategies. *Cancer Urology* 2018; 14 (3): 85–91. Russian (Болотина Л. В., Каприн А. Д., Костин А. А. Стратегии лекарственной терапии рака мочевого пузыря. *Онкоурология* 2018; 14 (3): 85–91. URL: <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2018-14-3-85-91>).

55. Santis M, Bellmunt J, Mead G, et al. Randomized phase II/III trial assessing gemcitabine/carboplatin and methotrexate/carboplatin/vinblastine in patients with advanced urothelial cancer who are unfit for cisplatin-based chemotherapy: EORTC study 30986. *J Clin Oncol* 2012; 30 (2): 191–9. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22162575>

56. Santis M, Bellmunt J, Mead G, et al. Randomized phase II/III trial assessing gemcitabine/carboplatin and methotrexate/carboplatin/vinblastine in patients with advanced urothelial cancer "unfit" for cisplatin-based chemotherapy: phase II — results of EORTC study 30986. *J Clin Oncol* 2009; 27 (33): 5634–9. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19786668>
57. Galsky MD, Hahn NM, Rosenberg J, et al. Treatment of patients with metastatic urothelial cancer "unfit" for cisplatin-based chemotherapy. *J Clin Oncol* 2011; 29 (17): 2432–8. DOI: 10.1200/JCO.2011.34.8433. PMID: 21555688
58. Necchi A, Sonpavde G, Lo Vullo S, et al. Nomogram-based prediction of overall survival in patients with metastatic urothelial carcinoma receiving first-line platinum-based chemotherapy: retrospective international study of invasive/advanced cancer of the urothelium (RISC). *Eur Urol* 2016; 1–9. DOI: 10.1016/j.eururo.2016.09.042. PMID: 27726966
59. Galsky MD, Hahn NM, Rosenberg J, et al. Treatment of patients with metastatic urothelial cancer unfit for cisplatin-based chemotherapy. *J Clin Oncol* 2011; 29 (17): 2432–8. URL: <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.34.8433>
60. Griffiths G, Hall R, Sylvester R, et al. International phase III trial assessing neoadjuvant cisplatin, methotrexate, and vinblastine chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer: long-term results of the BA0630894 trial. *J Clin Oncol* 2011; 29 (16): 2171–7. DOI: 10.1200/JCO.2010.32.3139
61. Bryan RT, Wallace DM. "Superficial" bladder cancer — time to uncouple pT1 tumours from pTa tumours. *BJU Int* 2002; 90 (9): 846–52. PMID: 12460344. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12460344>
62. Soloway MS. It is time to abandon the "superficial" in bladder cancer. *Eur Urol* 2007; 52 (6): 1564–5. DOI: 10.1016/j.eururo.2007.07.011. PMID: 17681680. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17681680>
63. Takata R, Obara W, Fujioka T. Study of the prediction system for clinical response to M–VAC neoadjuvant chemotherapy for bladder cancer. *Aktuelle Urol* 2010 Jan; 41 (Suppl 1): S41–5. DOI: 10.1055/s-0029–1224655
64. Herr HW, Morales A. History of bacillus Calmette-Guerin and bladder cancer: an immunotherapy success story. *J Urol* 2008; 179 (1): 53–6.
65. Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity* 2013; 39 (1): 1–10. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.07.012. PMID: 23890059
66. Chen DS, Irving BA, Hodi FS. Molecular pathways: next-generation immunotherapy-inhibiting programmed death-ligand 1 and programmed death-1. *Clin Cancer Res* 2012; 18 (24): 6580–7. DOI: 10.1158/1078–0432. CCR-12–1362. PMID: 23087408
67. Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase II trial. *Lancet* 2016; 387 (10031): 1909–20. DOI: 10.1016/S0140–6736 (16) 00561–4. PMID: 26952546
68. Rosenberg J, Petrylak D, Abidoye O, et al. Atezolizumab in patients (pts) with locally-advanced or metastatic urothelial carcinoma (mUC): Results from a pivotal multicenter phase II study (IMvigor 210). *Eur J Cancer* 2015; 51 (Suppl 3): 720. DOI: 10.1016/S0959–8049 (15) 30073–3
69. Necchi A, Joseph RW, Loriot Y. Atezolizumab in platinum treated locally advanced or metastatic urothelial carcinoma (mUC): updated OS, safety and biomarkers from the phase II IMvigor210 Study. *Ann Oncol* 2017; 28 (12): 3044–3050. DOI: 10.1093/annonc/mdx51
70. Massard C, Gordon MS, Sharma S, et al. Safety and efficacy of durvalumab (MEDI4736), an anti-programmed cell death ligand-1 immune checkpoint inhibitor, in patients with advanced urothelial bladder cancer. *J Clin Oncol* 2016; 34 (26): 3119–25. DOI: 10.1200/JCO.2016.67.9761. PMID: 27269937
71. Apolo AB, Infante JR, Hamid O, et al. Avelumab (MSB0010718C; anti-PD–L1) in patients with metastatic urothelial carcinoma from the JAVELIN solid tumor phase 1b trial: analysis of safety, clinical activity, and PD–L1 expression. *J Clin Oncol* 2016; 34: 4514.