

Молекулярные маркеры прогноза при раке мочевого пузыря

В.Н. Павлов^{1,2}, А.А. Измайлов¹, Л.З. Ахмадишина³, Т.В. Викторова^{2,3}, С.М. Измайлова²,
М.Ф. Урманцев¹, А.В. Алексеев¹, А.Р. Загитов¹, Л.М. Кутлияров¹

¹Клиника Башкирского ГМУ, Уфа;

²ГБОУ ВПО Башкирский ГМУ Минздрава России, Уфа;

³ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского НЦ РАН

Контакты: Аделя Альбертович Измайлов Izmailov75@mail.ru

Рак мочевого пузыря (РМП) остается актуальной проблемой онкоурологии. Несмотря на то, что факторы риска РМП изучены и описаны в литературе, выявляются новые молекулярно-генетические механизмы, предрасполагающие к развитию заболевания. В патогенез РМП вовлечено множество клеточных процессов. Менее агрессивные, неинвазивные, медленно прогрессирующие формы РМП характеризуются активацией системы *Ras-mitogen-activated protein kinase (Ras-MAPK)*. Более агрессивные опухоли с низкой раковоспецифической выживаемостью, характеризуются изменениями в генах ретинобластомы и *p53*. Предпринимаются попытки разработать прогностические тесты, предсказывающие развитие опухоли, выбор тактики лечения. В перспективе в лечении пациентов РМП будут использоваться молекулярно-генетические маркеры, позволяющие достоверно предсказать поведение опухоли у пациента и выбрать индивидуальную тактику лечения.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, молекулярно-генетические маркеры, прогноз

Molecular prognostic markers of urine bladder cancer

V.N. Pavlov^{1,2}, A.A. Izmailov¹, L.Z. Akhmadishina³, T.V. Victorova^{2,3}, S.M. Izmailova²,
M.F. Urmantsev¹, A.V. Alekseev¹, A.R. Zagitov¹, L.M. Kutliyarov¹

¹Clinic of Bashkir State Medical University, Ufa;

²Bashkir State Medical University, Ufa;

³Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa

Bladder cancer (BC) remains a current problem in oncurology. Despite that bladder cancer risk factors have been studied and described in the literature, new molecular and genetic mechanisms have been identified that predisposes to the disease development. There are numerous cellular processes involve in BC pathogenesis. The less-aggressive, non-invasive slow progressing bladder cancer types are defined by *Ras-MAPK* system activation. Tumors that are more aggressive and have low cancer-specific survival rate are characterized by changes in retinoblastoma genes and *p53*. Attempts are made to develop prognostic tests to predict tumor behavior, targeted treatment. perspective, BC patients will be treated using molecular genetic markers allowing the accurate prediction of the patient's tumor behavior and fitting the treatment tactics on the individual basis.

Key words: bladder cancer, genetic markers, prognosis

Рак мочевого пузыря (РМП) — одно из самых распространенных новообразований мочевого тракта. РМП составляют 3,1 % от общей смертности от злокачественных новообразований у мужчин и 1,8% у женщин [1].

Процессы злокачественной трансформации уротелия происходят при нарушении молекулярных взаимодействий, регулирующих клеточный гомеостаз [2]. В настоящее время выделено несколько ключевых молекул и путей, которые вовлечены в регуляцию важнейших клеточных процессов, а также в онкогенез и прогрессирование РМП. Это регуляция клеточного цикла, апоптоз, рост клеток, опухолевый ангиогенез и инвазия. Ключевые молекулярные маркеры служат важными показателями исхода заболевания и чувствительности к проводимому лечению [3].

Регуляция клеточного цикла

Изменения, происходящие в клеточном цикле, — наиболее исследованные аспекты молекулярной природы РМП. Клеточный цикл регулируется прежде всего сигнальными путями, вовлекающими белки *p53* и ретинобластомы (*Rb*), которые, в свою очередь, тесно связаны с процессами апоптоза и регуляцией генов.

Ген супрессора опухоли *TP53* расположен в локусе *p13.1* хромосомы 17, кодирует основной белок сигнального пути регуляции клеточного цикла *p53* [4]. Белок *p53* ингибирует переход клетки из фазы *G1* в *S* клеточного цикла посредством транскрипционной активации *p21*. Хотя в большинстве случаев РМП обнаруживается утрата локуса 17p только одной из хромосом, мутация в другой хромосоме может инактивировать

ровать *TP53*, приводя к потере супрессивной функции белка [5]. Однако потеря гетерозиготности хромосомы 17 происходит во время поздних стадий РМП и обычно ассоциирована с более агрессивным фенотипом [6].

В норме период полужизни *p53* составляет 6–30 мин, за это время белок не успевает накопиться в ядре [7]. Однако мутации гена *TP53* приводят к синтезу белка, который не подвергается убиквитинопосредованной деградации. Это приводит к накоплению белка внутри ядра, что может быть обнаружено иммуногистохимически [8]. Группой исследователей было показано, что ядерная иммунореактивность *p53* служит прогностическим фактором, особенно для пациентов с мышечно-инвазивным РМП, без метастазов в лимфатических узлах (T1–2bN0) [9–11]. Имеются данные о том, что, несмотря на ограниченное применение стандартной химиотерапии, больные — носители скрытых мутаций в гене белка *p53* чувствительны к адъювантной терапии, в состав которой входят ДНК-повреждающие агенты, такие как цисплатин [12]. Вероятное объяснение может состоять в том, что повреждение ДНК в уротелиальных клетках с мутациями в гене белка *p53* вызывает разобщение синтетической и митотической фаз клеточного цикла и приводит к апоптозу [13].

Ген *p21* локализован на хромосоме 6p21, кодирует ингибитор циклинзависимой киназы (CDK1), который регулируется *p53* на транскрипционном уровне, хотя существует и другой тип регуляции. Так, в ряде работ было показано, что отсутствие экспрессии *p21* является независимым прогностическим фактором прогрессии РМП, а его экспрессия способна нивелировать эффекты мутантного *p53* [14].

Ген *HDM2* расположен в локусе 12q14.3–q15. Белок HDM2 является природным ингибитором *p53* [15]. Он блокирует трансактивационный домен *p53* [16] и одновременно способствует экспорту *p53* из ядра в системы протеосомной деградации [17]. Представляют интерес регуляторные взаимоотношения между белками *p53* и HDM2. Фактор *p53* связывается со специфическим сайтом в первом интроне гена *HDM2* и активирует его транскрипцию [18]. Белок HDM2 связывается непосредственно с белком *p53*, блокируя его способность активировать транскрипцию [19], т. е. существует петля отрицательной обратной связи, которая обеспечивает контроль уровня активности белка *p53* в клетке. При РМП было обнаружено увеличение числа копий гена *HDM2*, причем количество копий возрастало с увеличением стадии опухоли [15]. Кроме того, обнаружена однонуклеотидная замена (SNP) в промоторном регионе гена *HDM2*, ассоциированная с ранней манифестацией и неблагоприятным прогнозом. В совокупности с мутацией гена *TP53* данные маркеры могут иметь прогностическое значение [20].

Следующий после *p53* по частоте изменений в различных новообразованиях человека — ген *INK4a*,

расположенный в коротком плече хромосомы 9 (сегмент 9p21). Его особенностью является одновременное кодирование двух негомологичных ядерных белков — *p16^{INK4a}* и *p14^{ARF}* (продукты альтернативных рамок считывания), каждый из которых выполняет супрессорные функции. При этом *p16^{INK4a}* связывает циклинзависимые киназы *Cdk4* и *Cdk6* и препятствует образованию их функционально активных комплексов с циклинами *D*, которые, фосфорилируя *pRb*, инициируют вход в S-фазу клеточного цикла. Белок *p14^{ARF}* обладает способностью стабилизировать и активировать *p53*, нарушая его взаимодействие с HDM2.

Таким образом, нормальное функционирование продуктов гена *INK4a* эффективно предотвращает дальнейшее размножение клеток, в которых произошла активация какого-либо из представителей большой группы онкогенов [21].

Изменения апоптоза при РМП

Апоптоз инициируется 2 альтернативными путями. Внеклеточный путь включает активацию рецепторов гибели на поверхности клетки, тогда как внутриклеточный путь опосредуется митохондриями. В обоих случаях активируются каспазы, которые разрушают клеточный субстрат, что приводит к характерным биохимическим и морфологическим изменениям.

Fas относится к суперсемейству рецепторов TNF (фактора некроза опухоли). Было показано, что при РМП блокируется Fas-опосредованный апоптоз в процессе злокачественной трансформации [22]. Сниженная Fas-иммунореактивность ассоциируется с более поздней стадией и неблагоприятным прогнозом [23]. Взаимодействие рецепторов с соответствующими лигандами приводит к образованию сигнальных комплексов, индуцирующих апоптоз. Комплексы включают каспазы 8 и 10, которые функционируют как инициаторы каспаз. Каспазы-инициаторы могут непосредственно активировать каспазы-эффекторы 3, 6, 7 и тем самым приводить к апоптозу.

Семейство белков Bcl-2 играет важную роль в апоптозе и состоит из антиапоптотических членов, таких как Bcl-2 и Bcl-X_L и проапоптотических (Bax, Bid, Bad). Гиперэкспрессия Bcl-2 коррелирует с неблагоприятным прогнозом у пациентов, прошедших курсы радиотерапии или одновременно химио- и радиотерапии [24]. Иммунореактивность Bcl-2 связана со снижением выживаемости при T1G₃ [25] и в сочетании с *p53* может быть фактором неблагоприятного прогноза при мышечно-неинвазивном РМП [26].

Bax является независимым показателем более благоприятного прогноза при мышечно-инвазивном РМП [26]. Пониженная экспрессия каспазы 3 ассоциируется с повышенной вероятностью рецидива у больных после цистэктомии [27].

Факторы роста клеток

Факторы роста клеток и связанные с ними тирозинкиназные рецепторы ответственны за передачу сигналов в ядра уротелиальных клеток. Изменения в рецепторах факторов роста и/или сигналах, передаваемых ими, могут привести к патологическому увеличению трансдукции сигналов роста и неконтролируемой клеточной пролиферации, приводящей к формированию опухоли.

Семейство FGFR (рецепторы фактора роста фибробластов) включает 4 представителя (1–4), обладающих высоким сродством к поверхности клеток. Наиболее изучены мутации гена *FGFR3*. Так, было показано, что приблизительно 70 % низкодифференцированных опухолей в стадии Ta имеют мутации гена *FGFR3*, кроме того, показана строгая ассоциация данного гена с развитием низкодифференцированных папиллярных опухолей [28]. Одним из предполагаемых эффектов мутации гена *FGFR3* является активация сигнального пути MAPK (mitogen-activated protein kinase). Мутации в генах *FGFR3* и *Ras* — взаимоисключающие [29], поэтому, вероятно, мутация в любом из этих генов приведет к активации одного и того же сигнального пути. Приблизительно 82 % опухолей стадии TaT1 имеют мутации или в гене *Ras*, или в гене *FGFR3*; предполагается, что активация сигнального пути MAPK — обязательное событие в большинстве подобных опухолей.

Семейство рецепторов EGFR (эпидермального фактора роста) состоит из 4 сходных рецепторов, которые гомо- или гетеродимеризуются после активации лиганда и передают сигналы через Ras-MAPK или фосфатидилинозит-3-киназный (PI3K)-Akt-путь трансдукции сигнала, регулируя развитие клеточного цикла, митоз и другие процессы, происходящие при развитии опухоли. Наиболее изучены EGFR (ErbB-1) и ErbB-2 (Her-2/neu). Эти рецепторы гиперэкспрессируются при инвазивных опухолях [30]. Повышенная экспрессия EGFR ассоциируется с повышенной вероятностью прогрессирования опухоли и смерти больного [31]. Точно так же повышенная экспрессия ErbB-2 коррелирует с неблагоприятным прогнозом [32]. VEGF (фактор роста эндотелия сосудов) — важная сигнальная молекула, вовлеченная как в образование и развитие сосудов *de novo* (эмбриональная сосудистая система), так и ангиогенез (рост кровеносных сосудов от уже существующих сосудов). Все члены семейства VEGF опосредуют клеточные ответы, связываясь с рецепторами VEGF (VEGFR). VEGFR2 (KDR/Flk-1) опосредует большинство известных клеточных ответов на VEGF. Экспрессия VEGFR2 коррелирует с более поздней стадией болезни и мышечной инвазией опухоли [33]. Имеются предположения, что VEGFR2 может быть важным прогностическим маркером лимфогенного метастазирования у больных РМП [34].

Опухолевый ангиогенез

Наиболее сильным стимулятором опухолевого ангиогенеза является гипоксия, которую постоянно испытывают клетки растущего новообразования, находящегося в условиях недостаточного кровоснабжения.

Факторы, индуцируемые гипоксией (HIF-1 и HIF-2), — гетеродимерные транскрипционные факторы, которые регулируются концентрацией кислорода. Было показано, что гиперэкспрессия HIF-1 достоверно коррелирует неблагоприятным прогнозом при РМП, особенно в сочетании с измененной экспрессией p53 [35, 36]. Также имеется достоверная корреляция HIF-1α с рецидивированием и уровнем выживаемости при мышечно-неинвазивном РМП [37]. Недавние исследования двух однонуклеотидных полиморфных локусов P582S и A588T гена *HIF-1α* показали, что наличие полиморфных вариантов этих маркеров статистически значимо ассоциируется с неблагоприятным прогнозом течения заболевания и выживаемости [38].

HIF индуцирует транскрипцию VEGF. VEGF, в свою очередь, стимулирует NO-синтазу, которая активизирует образование NO и васкуляризацию опухоли. Гиперэкспрессия VEGF при мышечно-неинвазивном РМП ассоциируется с ранним рецидивированием и прогрессией опухоли в мышечно-инвазивную форму [39]. Высокий сывороточный уровень VEGF также ассоциируется с более поздней стадией РМП, инвазией, метастазами и неблагоприятным прогнозом [40].

Фермент тимидинфосфорилаза (TP) индуцирует продукцию интерлейкина-8 и MMPs (матричные металлопротеиназы) [41]. Уровень РНК TP при мышечно-инвазивном РМП в 33 раза выше, чем при мышечно-неинвазивной опухоли, и в 260 раз выше, чем в здоровом мочевом пузыре [42], и уровень белка, соответственно, при мышечно-инвазивной опухоли выше в 8 раз, чем при мышечно-неинвазивной опухоли, и в 15 раз выше, чем в здоровой ткани мочевого пузыря [43]. Повышенная ядерная активность TP связана с более высоким риском рецидивирования при мышечно-неинвазивном РМП [44, 45].

В отличие от ангиогенных факторов ингибиторы ангиогенеза, синтезируемые в клетках, еще мало изучены. Пониженная экспрессия антиангиогенного белка тромбоспондина (TSP-1) ассоциируется со сниженной вероятностью безрецидивного течения и меньшей выживаемостью при РМП.

Инвазивный потенциал опухоли при РМП

Способность к инвазии — главная особенность опухолевого роста. При РМП инвазия опухолевых клеток происходит в сосуды, лимфатические узлы и окружающие ткани.

Кадгерины присутствуют во всех тканях и являются основными медиаторами межклеточной адгезии. Так, было показано, что сниженная экспрессия кадге-

рина. Е достоверно коррелирует с повышенным риском рецидивирования и прогрессии опухоли, а также с более короткой продолжительностью жизни больных РМП [46].

Интегрины — трансмембранные гликопротеиновые гетеродимеры, которые регулируют клеточные процессы, являются рецепторами для белков экстрацеллюлярного матрикса, таких как ламинин и коллаген, которые, в свою очередь, сохраняют нормальную архитектуру ткани [47]. При РМП изучается главным образом $\alpha\beta4$ -интегрин. При мышечно-неинвазивном РМП наблюдалась потеря полярности $\alpha\beta4$ -интегрин [48]. Течение заболевания у пациентов с опухолями, имеющими слабую $\alpha\beta4$ -иммунореактивность, более благоприятное, чем у больных с отсутствием экспрессии или с гиперэкспрессией [49].

Способность опухоли разрушать матрикс и проникать сквозь базальную мембрану опосредуется воздействием некоторых протеаз, в частности uPAs (активаторы плазминогена урокиназного типа) и MMPs.

Высокие уровни MMP-2 и MMP-9 ассоциируются с более поздними стадиями РМП [50, 51], а гиперэкспрессия MMP-2 является маркером неблагоприятного прогноза [52]. Тканевые ингибиторы металлопротеиназ (TIMP) — белки, которые продуцируются или самой клеткой, или опухолью, являются функциональными антагонистами металлопротеиназ и, таким образом, подавляют инвазию опухолевых клеток. Имеются данные, что гиперэкспрессия TIMP-2 связана с неблагоприятным прогнозом РМП [53].

Таким образом, в настоящий момент идентифицировано достаточное количество молекулярно-генетических маркеров прогноза РМП. К сожалению, имеющиеся панели выявления данных маркеров пока дорогостоящие и не вошли в повседневную клиническую практику. В настоящее время совершен прорыв в молекулярной диагностике РМП, на мировом рынке появились коммерческие тест-системы. Надеемся, что в недалеком будущем будут созданы и доступные для широкого применения прогностические тест-системы.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ferlay J., Autier P., Boniol M. et al. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol* 2007;18(3):581–92.
2. Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100:57–70.
3. Mitra A.P., Cote R.J. Searching for novel therapeutics and targets: insights from clinical trials. *Urol Oncol* 2007;25:341–3.
4. Mitra A.P., Lin H., Datar R.H., Cote R.J. Molecular biology of bladder cancer: prognostic and clinical implications. *Clin Genitourin Cancer* 2006;5:67–77.
5. Dalbagni G., Presti J.C. Jr., Reuter V.E. et al. Molecular genetic alterations of chromosome 17 and p53 nuclear overexpression in human bladder cancer. *Diagn Mol Pathol* 1993;2:4–13.
6. Cote R.J., Chatterjee S.J. Molecular determinants of outcome in bladder cancer. *Cancer J Sci Am* 1999;5(1):2–15.
7. Birkhahn M., Mitra A.P., Cote R.J. Molecular markers for bladder cancer: the road to a multimarker approach. *Expert Rev. Anticancer Ther* 2007;7(12):1717–27.
8. Mitra A.P., Lin H., Cote R.J., Datar R.H. Biomarker profiling for cancer diagnosis, prognosis and therapeutic management. *Natl Med J India* 2005;18:304–12.
9. Esrig D., Elmajian D., Groshen S. et al. Accumulation of nuclear p53 and tumor progression in bladder cancer. *NEngl J Med* 1994;331:1259–64.
10. Sarkis A.S., Dalbagni G., Cordon-Cardo C. et al. Nuclear overexpression of p53 protein in transitional cell bladder carcinoma: a marker for disease progression. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:53–9.
11. Serth J., Kuczyk M.A., Bokemeyer C. et al. p53 immunohistochemistry as an independent prognostic factor for superficial transitional cell carcinoma of the bladder. *Br J Cancer* 1995;71:201–5.
12. Cote R.J., Esrig D., Groshen S. et al. p53 and treatment of bladder cancer. *Nature* 1997;385:123–5.
13. Waldman T., Lengauer C., Kinzler K.W., Vogelstein B. Uncoupling of S phase and mitosis induced by anticancer agents in cells lacking p2. *Nature* 1996;381:713–6.
14. Stein J.P., Ginsberg D.A., Grossfeld G.D. et al. Effect of p21WAF1/CIP1 expression on tumor progression in bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1072–9.
15. Simon R., Struckmann K., Schraml P. et al. Amplification pattern of 12q13–q15 genes (HDM2, CDK4, GLI) in urinary bladder cancer. *Oncogene* 2002;21:2476–83.
16. Momand J., Zambetti G.P., Olson D.S. mdm-2 inhibits the G1 arrest and apoptosis functions of the p53 tumor suppressor protein. *Cell* 1992;69:1237–45.
17. Lozano G., Montes de Oca Luna R. *Biochim. Biophys Acta* 1998; p. 55–9.
18. Barak Y., Gottlieb E., Juven-Gershon T., Oren M. Regulation of HDM2 expression by p53: alternative promoters produce transcripts with nonidentical translation potential. *Genes Dev* 1994;1, 8(15):1739–49.
19. Chen J., Marechal V., Levine A.J. Mapping of the p53 and mdm-2 interaction domains. *Mol Cell Biol* 1993;13:4107–14.
20. Sanchez-Carbayo M., Socci N.D., Kirchoff T. et al. A polymorphism in HDM2 (SNP309) associates with early onset in superficial tumors, TP53 mutations, and poor outcome in invasive bladder cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13:3215–20.
21. <http://www.rosencoweb.ru/library/pub/02/04.htm> (дата обращения 12.04.2011).
22. Perabo F.G., Kamp S., Schmidt D. et al. Bladder cancer cells acquire competent mechanisms to escape Fas-mediated apoptosis and immune surveillance in the course of malignant transformation. *Br J Cancer* 2001;84:1330–8.
23. Yamana K., Bilim V., Hara N. et al. Prognostic impact of FAS/CD95/APO-1 in urothelial cancers: decreased expression of Fas is associated with disease progression. *Br J Cancer* 2005;93:544–51.
24. Hussain S.A., Ganesan R., Hiller L. et al. BCL2 expression predicts survival in patients receiving synchronous chemoradiotherapy in advanced transitional cell carcinoma of the bladder. *Oncol Rep* 2003;10:571–76.
25. Wolf H.K., Stober C., Hohenfellner R., Leissner J. Prognostic value of p53, p21/WAF1, Bcl-2, Bax, Bak and Ki-67 immunoreactivity in pT1 G3 urothelial bladder carcinomas. *Tumor Biol* 2001;22:328–36.
26. Gonzalez-Campora R., Davalos-Casanova G., Beato-Moreno A. et al. BCL-2, TP53 and BAX protein expression in superficial urothelial bladder carcinoma. *Cancer Lett* 2007;250:292–99.

27. Karam J.A., Lotan Y., Karakiewicz P.I. et al. Use of combined apoptosis biomarkers for prediction of bladder cancer recurrence and mortality after radical cystectomy. *Lancet Oncol* 2007;8:128–36.
28. Van Rhijn B.W., Van Der Kwast T.H., Vis A.N. et al. FGFR3 and P53 characterize alternative genetic pathways in the pathogenesis of urothelial cell carcinoma. *Cancer Res* 2004;64:1911–4.
29. Jebar A.H., Hurst C.D., Tomlinson D.C. et al. FGFR3 and Ras gene mutations are mutually exclusive genetic events in urothelial cell carcinoma. *Oncogene* 2005;24:5218–25.
30. Korkolopoulos P., Christodoulou P., Kapralos P. et al. The role of p53, HDM2 and c-erb B-2 oncoproteins, epidermal growth factor receptor and proliferation markers in the prognosis of urinary bladder cancer. *Pathol Res Pract* 1997;193:767–75.
31. Kramer C., Klammer K., Bojar H. et al. Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor isoforms and epidermal growth factor receptor/ErbB1 expression in bladder cancer and their relation to clinical outcome. *Cancer* 2007;109:2016–24.
32. Kruger S., Weitsch G., Buttner H. et al. Overexpression of c-erbB-2 oncoprotein in muscle-invasive bladder carcinoma: relationship with gene amplification, clinico-pathological parameters and prognostic outcome. *Int J Oncol* 2002;21:981–7.
33. Xia G., Kumar S.R., Hawes D. et al. Expression and significance of vascular endothelial growth factor receptor 2 in bladder cancer. *J Urol* 2006;175:1245–52.
34. Mitra A.P., Almal A.A., George B. et al. The use of genetic programming in the analysis of quantitative gene expression profiles for identification of nodal status in bladder cancer. *BMC Cancer* 2006;6:159.
35. Theodoropoulos V.E., Lazaris A., Sofras F. et al. Hypoxia-inducible factor 1a expression correlates with angiogenesis and unfavorable prognosis in bladder cancer. *Eur Urol* 2004;46:200–8.
36. Theodoropoulos V.E., Lazaris A.C., Kastriotis I. et al. Evaluation of hypoxia-inducible factor 1a overexpression as a predictor of tumour recurrence and progression in superficial urothelial bladder carcinoma. *Br J Urol Int* 2005;95:425–31.
37. Palit V., Phillips R.M., Puri R. et al. Expression of HIF-1a and Glut-1 in human bladder cancer. *Oncol Rep* 2005;14: 909–13.
38. Nadaoka J., Horikawa Y., Saito M. et al. Prognostic significance of HIF-1a polymorphisms in transitional cell carcinoma of the bladder. *Int J Cancer* 2008;122:1297–302.
39. Crew J.P., O'Brien T., Bradburn M. et al. Vascular endothelial growth factor is a predictor of relapse and stage progression in superficial bladder cancer. *Cancer Res* 1997;57:5281–5.
40. Bernardini S., Fauconnet S., Chabannes E. et al. Serum levels of vascular endothelial growth factor as a prognostic factor in bladder cancer. *J Urol* 2001;166:1275–9.
41. Brown N.S., Jones A., Fujiyama C. et al. Thymidine phosphorylase induces carcinoma cell oxidative stress and promotes secretion of angiogenic factors. *Cancer Res* 2000;60:6298–302.
42. Aoki S., Yamada Y., Nakamura K. et al. Thymidine phosphorylase expression as a prognostic marker for predicting recurrence in primary superficial bladder cancer. *Oncol Rep* 2006;16:279–84.
43. O'Brien T., Cranston D., Fuggle S. et al. Different angiogenic pathways characterize superficial and invasive bladder cancer. *Cancer Res* 1995;55:510–13.
44. O'Brien T.S., Fox S.B., Dickinson A.J. et al. Expression of the angiogenic factor thymidine phosphorylase/platelet-derived endothelial cell growth factor in primary bladder cancers. *Cancer Res* 1996;56:4799–804.
45. Aoki S., Yamada Y., Nakamura K. et al. Thymidine phosphorylase expression as a prognostic marker for predicting recurrence in primary superficial bladder cancer. *Oncol Rep* 2006;16:279–84.
46. Nonomura N., Nakai Y., Nakayama M. et al. The expression of thymidine phosphorylase is a prognostic predictor for the intravesical recurrence of superficial bladder cancer. *Int J Clin Oncol* 2006;11:297–302.
47. Mhawech-Fauceglia P., Fischer G., Beck A. et al. Raf1, Aurora-A/STK15 and E-cadherin biomarkers expression in patients with pTa/pT1 urothelial bladder carcinoma: a retrospective TMA study of 246 patients with long-term follow-up. *Eur J Surg Oncol* 2006;32:439–44.
48. Hehlhans S., Haase M., Cordes N. Signalling via integrins: implications for cell survival and anticancer strategies. *Biochim Biophys Acta* 2007;1775(1): 163–80.
49. Liebert M., Washington R., Wedemeyer G. et al. Loss of colocalization of a6b4 integrin and collagen VII in bladder cancer. *Am J Pathol* 1994;144:787–95.
50. Grossman H.B., Lee C., Bromberg J., Liebert M. Expression of the a6b4 integrin provides prognostic information in bladder cancer. *Oncol Rep* 2000;7:13–6.
51. Davies B., Waxman J., Wasan H. et al. Levels of matrix metalloproteinases in bladder cancer correlate with tumor grade and invasion. *Cancer Res* 1993;53:65–9.
52. Gerhards S., Jung K., Koenig F. et al. Excretion of matrix metal- loproteinases 2 and 9 in urine is associated with a high stage and grade of bladder carcinoma. *Urology* 2001;57:675–9.
53. Vasala K., Paakko P., Turpeenniemi-Hujanen T. Matrix metalloproteinase-2 immunoreactive protein as a prognostic marker in bladder cancer. *Urology* 2003;62:952–7.