

Фактор роста эндотелия сосудов в диагностике метастазов мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря

В.М. Попков, А.Н. Понукалин, Н.Б. Захарова

ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского»;
Россия, 410053, Саратов, ул. Большая Садовая, 137

Контакты: Андрей Николаевич Понукалин ponukalin@bk.ru

Цель исследования — изучение диагностического значения фактора роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF) при мышечно-инвазивном раке мочевого пузыря (МИРМП).

Материалы и методы. Определение уровня VEGF методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови и плазме проводили до оперативного вмешательства у больных с инвазией в пределах органа и с экстраорганным ростом, а также через 12–18 мес после операции у пациентов с рецидивами и метастазами или без таковых.

Результаты. Было установлено, что содержание VEGF является одним из показателей активности опухолевого ангиогенеза. Так, повышение уровня VEGF коррелировало с глубиной инвазии опухоли, являясь одним из показателей ее агрессивности и злокачественности, а также метастатического потенциала. В то же время снижение концентрации данного биомаркера у больных МИРМП в послеоперационном периоде сопровождалось уменьшением или отсутствием клинических проявлений опухолевого роста.

Выводы. Таким образом, определение содержания VEGF в сыворотке крови и плазме может служить основой для разработки новых методов ранней неинвазивной диагностики МИРМП, прогнозирования течения заболевания и оценки эффективности лечения.

Ключевые слова: мышечно-инвазивный рак мочевого пузыря, фактор роста эндотелия сосудов, сыворотка, плазма, диагностический фактор, прогностический фактор

DOI: 10.17650/1726-9776-2016-12-2-53-57

Vascular endothelial growth factor in diagnostics of metastases of a muscle-invasive bladder cancer

V.M. Popkov, A.N. Ponukalin, N.B. Zakharova

V.I. Razumovskiy Saratov State Medical University; 137 Bol'shaya Sadovaya St., Saratov, 410053, Russia

Objective. The diagnostic value of vascular endothelial growth factor (VEGF) in muscle-invasive bladder cancer (MIBC) was estimated.

Materials and methods. The level of VEGF was determined by ELISA in blood serum, plasma of patients with cancer invasion within the bladder or with extra-bladder invasion before surgical treatment and of patients with recurrences and metastases or without them 12–18 months after surgical treatment.

Results. Concentration of VEGF was shown to be one of criteria of activity in this disease. Thus, increasing of VEGF level correlated with the degree of the tumor invasion being one of criteria of its aggressive character and malignancy as well as its metastatic potential. At the same time, decreasing of concentration of this biomarker in patients with MIBC in the post-operative period was followed by limitation or absence of clinical manifestation of the tumor progression.

Conclusions. Thus, detection of VEGF in blood serum, plasma can serve as the basis for development of new methods of early non-invasive diagnostics of MIBC, prognosis of its course and estimation of the efficiency of treatment.

Key words: muscle-invasive bladder cancer, vascular endothelial growth factor, blood serum, plasma, diagnostic factor, prognostic factor

Введение

Рак мочевого пузыря (РМП) относится к наиболее часто встречающимся злокачественным новообразованиям мочевыводящих путей. Более 90 % регистрируемых случаев морфологически диагностируются как переходно-клеточный рак. Наиболее сложной группой считаются пациенты с мышечно-инвазивным РМП (МИРМП) стадий Т2–4 [1]. В России МИРМП диагностируют у 66,4 % больных [2, 3]. Пациенты

с МИРМП при отсутствии лечения погибают в течение 24 мес [1, 4, 5]. Известно, что если опухоль находится в пределах органа, частота метастазирования в лимфатические узлы (ЛУ) составляет 20 %, при выходе образования за пределы органа она повышается до 44 %. При отсутствии метастазов в ЛУ 5-летняя выживаемость после цистэктомии при Т2–4 стадиях составляет 72–50 % [6, 7]. Значительно худшие результаты наблюдаются при метастатическом поражении

регионарных ЛУ. После цистэктомии 50 % больных с регионарными метастазами в ЛУ умирают в течение 12 мес, 87 % — в течение 24 мес; 5-летняя выживаемость составляет менее 7 %. Расширенная лимфодиссекция и системная химиотерапия достоверно улучшают выживаемость этих больных [8]. Поэтому дооперационная диагностика метастазов в ЛУ может существенно повлиять на выбор тактики лечения пациентов с МИРМП [6]. В то же время чувствительность компьютерной и магнитно-резонансной томографии в визуализации метастазов при МИРМП остается низкой и варьирует от 48 до 87 % [7].

VEGF-A — гомодимерный гликолизированный белок, уровень которого повышается в тканях при активации ангиогенеза [9, 10]. Фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF), взаимодействуя со своими рецепторами (VEGFR), способен индуцировать миграцию, пролиферацию и дифференцировку клеток эндотелия [11–13]. В клетках РМП человека найдена экспрессия генов факторов роста [14, 15]. Выявлена корреляция между повышением экспрессии VEGF-C, VEGF-D или VEGFR-3 и метастазированием опухолей в ЛУ [22]. Получены данные, что VEGF-C и VEGF-D участвуют в образовании кровеносных сосудов опухоли [16]. Факторы ангиогенеза при РМП в настоящее время относят к показателям, коррелирующим с неблагоприятным прогнозом, агрессивным ростом опухоли, рецидивами, метастазированием и снижением выживаемости каждого конкретного больного [17–22].

При МИРМП практически не исследован характер изменения профиля показателей ангиогенеза в биологических жидкостях человека (сыворотка, плазма и др.) для оценки потенциала опухолевого роста. Исследования в этом направлении могут послужить основой для разработки малоинвазивного метода прогноза риска регионарного метастазирования у больного МИРМП, позволяющего оптимизировать тактику оперативного и консервативного лечения, добиться увеличения продолжительности жизни. Актуальность исследований, направленных на улучшение ранней диагностики метастазов РМП, не вызывает сомнений.

Цель работы — установить диагностическое значение изменения содержания VEGF в сыворотке и плазме крови у больных МИРМП для прогнозирования рецидива и метастазирования.

Материалы и методы

В исследовании, проведенном с 2010 по 2014 г., приняли участие 159 больных, находившихся на обследовании и лечении в Саратовском НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии. В числе обследованных было 32 женщины и 127 мужчин в возрасте от 44 до 79 лет. В контрольную группу бы-

ли включены 30 условно здоровых лиц в возрасте от 41 до 70 лет (1-я группа), так как ранее было показано, что с возрастом происходит физиологическое повышение уровня VEGF в сыворотке и плазме крови [23].

Критерии включения в исследование: пациенты с переходно-клеточным (уротелиальным) РМП стадий T2–4NxMx, случаи первично выявленного РМП, отсутствие предшествующей лучевой терапии, отсутствие острой задержки мочеиспускания, требующей установки уретральных катетеров, на момент забора биоматериала на исследование.

Критерии исключения: при гистологическом исследовании верифицированы аденокарцинома, саркома, лейомиома и др. (не переходно-клеточный рак), наличие опухолей других локализаций (в том числе рак лоханки и мочеточника, рак предстательной железы), неотложные состояния (острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения, тромбоэмболия легочной артерии), почечная и печеночная недостаточность, заболевания сердечно-сосудистой системы атеросклеротического генеза, артериальная гипертензия III–IV стадий.

В исследуемую группу вошли 129 больных МИРМП. Кроме клинко-инструментального обследования (ультразвуковое исследование, ядерная магнитно-резонансная томография, компьютерная томография, экскреторная урография, цитологическое и гистологическое исследования биопсийного и операционного материала) у всех больных до хирургического вмешательства исследовали кровь для определения концентрации VEGF. В этих целях использовали наборы реактивов для твердофазного иммуноферментного анализа «VEGF–ИФА–БЕСТ» производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Пациентам были проведены следующие виды оперативных вмешательств: радикальная цистэктомия ($n = 117$), открытая резекция мочевого пузыря ($n = 12$), паллиативные операции ($n = 3$). По данным гистологического исследования удаленных органов у всех больных был диагностирован переходно-клеточный РМП. В пределах органа (pT2aN0M0–T2bN0M0) — у 69 пациентов; у 60 больных опухоль прорастала паравезикальную клетчатку и окружающие органы (pT3a–bN0M0–41; pT3bN1M0–11; pT4N1M0–5; T4N1M1–3). Опухоли имели следующие градации: G1 — 44; G2 — 46; G3 — 39. Из 60 больных у 19 были зарегистрированы метастазы. Метастатическое поражение подвздошных ЛУ выявлено после операции во всех 19 случаях, из них в 3 метастазы обнаружены также в легких.

В зависимости от полученных результатов пациенты были рандомизированы на 2 группы: 110 с МИРМП стадий pT2–4N0M0 без метастазирования (2-я группа) и 19 с МИРМП стадий pT2–4N1–3M1 с метастазами (3-я группа).

Повторное исследование крови на содержание VEGF через 12–18 мес после хирургического вмешательства было проведено у 63 пациентов, которые впоследствии были разделены на 2 аналитические группы. В 4-ю группу ($n = 25$) вошли больные с местным рецидивом и метастазами, в 5-ю ($n = 38$) – без рецидивирования и метастазов после операции.

Анализ полученных данных проводили с помощью стандартных методов статистической обработки с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel и пакета прикладных программ для научно-технических расчетов Statistica v6.0. Статистическую обработку данных проводили методами непараметрической статистики: в качестве критерия достоверности различия между 2 независимыми группами использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни и тест Вилкоксона. Данные представлены как медиана и интерквартильный размах для непараметрических переменных. При оценке диагностических характеристик исследуемого маркера применяли анализ кривой ROC (receiver operating characteristic curve), предусматривающий сравнение операционных характеристик теста – чувствительности и специфичности. В качестве нулевой гипотезы принималось, что площадь под кривой ROC не отличается от величины 0,5. Пороговые уровни биомаркера определяли при построении графиков зависимостей чувствительности и специфичности от концентрации биомаркера в крови.

Результаты

Из 117 радикально оперированных больных в течение 12–18 мес рецидив заболевания возник у 32 (27,7 %): в 6 (50 %) случаях после резекции мочевого пузыря и в 27 (23,4 %) – после цистэктомии. Из 129 пациентов в течение 2 лет умерли от прогрессирования онкологического заболевания 38 (29,4 %); 91 (70,6 %) пациент находится под наблюдением.

Результаты исследования представлены в табл. 1, 2.

Из табл. 1 видно, что статистически достоверное повышение уровней VEGF в сыворотке и плазме крови имеет место у больных МИРМП по сравнению с группой практически здоровых лиц, составивших контрольную. Достоверные различия уровней VEGF получены в группах больных МИРМП с метастазами (3-я группа) и без них (2-я группа).

После выполненных радикальных оперативных вмешательств в группе больных МИРМП с рецидивом и метастазами содержание VEGF оставалось высоким через 12–18 мес в сыворотке и плазме крови. В группе больных без метастазов и рецидивов в сыворотке крови снижение достигало 72,8 % от нормы ($p \leq 0,05$), в плазме – 68,2 % ($p \leq 0,05$).

На основании анализа результатов исследования VEGF сыворотки и плазмы крови у 129 больных МИРМП мы рассчитали чувствительность, специфичность

Table 1. Serum and plasma VEGF levels in healthy people and muscle-invasive bladder cancer patients before surgery

Group	VEGF concentration (ng/ml)	
	serum, Me (min–max)	plasma, Me (min–max)
1 st, $n = 30$	696,2 (550,3–776,1)	308,5 (215,3–323,3)
2 nd, $n = 110$	1031,6* (772,4–989,0)	366,5* (202,6–519,5)
3 rd, $n = 19$	1313,7* (769,5–1858,5)	599,9* (465,5–856,8)

*Here and in the table. 2: $p \leq 0,05$.

Table 2. Serum and plasma VEGF levels in muscle-invasive bladder cancer patients measured 12–18 months after surgery

Group	VEGF concentration (ng/ml)	
	serum, Me (min–max)	plasma, Me (min–max)
1 st, $n = 30$	696,2 (550,3–776,1)	308,5 (215,3–323,3)
4 nd, $n = 25$	1121,9* (914,8–1368,0)	562,1* (229,4–772,8)
5 rd, $n = 38$	506,8* (414,3–584,3)	262,9* (100,4–387,0)

и уровень прогностической значимости для больных МИРМП с метастазами и без (табл. 3).

Прогностические показатели VEGF сыворотки (796,92 пг/мл) и VEGF плазмы крови (339,35 пг/мл) являются пороговыми значениями. Превышение этих значений в предоперационном периоде можно считать факторами прогноза риска регионарного метастазирования. В этих случаях целесообразно рассмотреть возможность неoadъювантной химиотерапии в целях увеличения опухолевоспецифической выживаемости. При выполнении радикальной цистэктомии рекомендуется проведение расширенной лимфодиссекции. В послеоперационном периоде увеличение уровня биомаркера выше порогового имеет диагностическое значение в отношении развития метастазирования и рецидивирования заболевания.

Обсуждение

Анализ полученных данных показал, что наиболее значимый подъем уровня VEGF в каждой из исследуемых фракций крови имел место у больных МИРМП 2, 3 и 4-й групп. По-видимому, у пациентов 2-й и 3-й групп активация ангиогенеза способствовала росту опухолевой ткани, тогда как в послеоперационном периоде (4-я группа) рост уровня VEGF был связан с развитием инвазии и метастазирования.

Обращает на себя внимание то, что ангиогенные факторы у больных МИРМП вырабатывались не только

Table 3. Specificity, sensitivity and prognostic significance of serum and plasma VEGF levels measured in muscle-invasive bladder cancer patients with/without regional lymph node metastases

Groups	Characteristic	Serum VEGF	Plasma VEGF
Muscle-invasive bladder cancer patients with metastases (n = 44)/muscle-invasive bladder cancer patients without metastases (n = 85)	Sensitivity, %	71,40	98,90
	Specificity, %	87,50	50,00
	Prognostic significance, ng/ml	796,92	339,35

опухолевыми, но и эндотелиальными прогениторными клетками (ЭПК). Значимое нарастание уровня VEGF плазмы можно считать результатом прямого поступления ЭПК из костного мозга в эндотелий сосудов. В исследованиях последних лет было показано, что ЭПК мобилизуются из костного мозга при участии цитокинов, таких как VEGF, мигрируют с током периферической крови и заселяют места опухолевой неоваскуляризации [24].

Формирующиеся опухолевые микрососуды отличаются высокой проницаемостью, хаотичный характер ветвления, многочисленные петли, отсутствие структурированности сосудистой сети и малочисленность перicyтов [13, 25]. Экспрессия VEGF повышает их проницаемость, что увеличивает интерстициальное и внутриопухолевое давление и способствует проникновению опухолевых клеток в кровотоки [10, 25, 26].

У больных МИРМП активация опухолевого роста и выход опухолевой ткани за пределы мышечной стенки мочевого пузыря сопровождаются увеличением содержания VEGF в крови, что способствует выбросу ЭПК из костного мозга. При этом эндотелиальные клетки, участвующие в опухолевом ангиогенезе, фенотипически и функционально отличаются от клеток здоровых тканей [19, 25].

Таким образом, подъем уровня VEGF в сыворотке и плазме крови до хирургического вмешательства и в послеоперационном периоде у больных МИРМП, свидетельствующий о «включении» опухолевого ангиогенеза, связан с глубиной инвазии опухоли (при распространении ее за пределы органа) и метастазированием. Нарастание уровня VEGF в сыворотке и плазме крови больных МИРМП является одной из характеристик агрессивности и злокачественности, а также метастатического потенциала опухоли.

У больных МИРМП 5-й группы содержание VEGF в сыворотке и плазме крови было ниже, чем в контрольной группе. Снижение уровня VEGF в сыворотке и плазме крови через 12–18 мес после оперативного вмешательства у пациентов с МИРМП сопровождалось отсутствием клинических данных за рецидив и метастазирование и свидетельствовало о «выключении» опухолевого ангиогенеза.

Анализ ROC-кривых позволяет выделить в качестве потенциального биомаркера прогноза риска регионарного метастазирования у больных МИРМП VEGF в сы-

воротке и плазме крови. Результаты проведенного анализа площади под ROC-кривой показали, что данный тест имеет достаточно высокие чувствительность и специфичность. VEGF считается мультифункциональным провоспалительным цитокином, оказывающим митогенное действие на эндотелиальные клетки и моноциты-макрофаги, увеличивающим проницаемость стенок микрососудов для жидкости и различных макромолекул. Можно считать, что при наиболее тяжелых инвазивных формах РМП высокое содержание данного цитокина характеризуется не только активностью процесса неоваскуляризации, но и метастазирования.

Результаты настоящей работы показали, что измерение концентрации VEGF в сыворотке и плазме крови до и после оперативных вмешательств у больных МИРМП позволяет, с одной стороны, оценивать их изменение в процессе лечения или развития осложнений, с другой — может быть использовано для оценки эффективности проводимого лечения. Индивидуальный контроль уровня VEGF в сыворотке и плазме крови позволяет выявить одно из важных звеньев формирования регионарных метастазов у больных МИРМП до и после хирургического вмешательства, рецидивов заболевания в послеоперационном периоде и тем самым определить мишень для патогенетически обоснованной терапии.

Выводы

Измерение уровня VEGF в сыворотке и плазме крови можно считать одним из лабораторных показателей «включения» и «выключения» ангиогенеза у больных МИРМП до и после хирургического вмешательства.

Подъем уровня VEGF в сыворотке более 796,92 пг/мл и плазме крови больных МИРМП более 339,35 пг/мл можно считать показателями прогноза риска регионарного метастазирования.

Превышение представленных пороговых уровней VEGF может быть показанием к неоадьювантной химиотерапии у больных МИРМП, а также дополнительной оценкой ее эффективности.

Снижение уровня VEGF в сыворотке крови и плазме в послеоперационном периоде у больных МИРМП сопровождается уменьшением или отсутствием клинических проявлений опухолевого роста.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Воробьев А.В. Классификация и диагностика рака мочевого пузыря, вопросы дифференциальной диагностики. Практическая онкология 2003;4(4):196–203. [Vorob'yov A.V. Classification and diagnostics of bladder cancer, problems of differential diagnostics. *Prakticheskaya onkologiya* = *Practical Oncology* 2003;4(4):196–203. (In Russ.)].
2. Аполихин О.И., Сивков А.В., Москалева Н.Г. и др. Анализ уронефрологической заболеваемости и смертности в Российской Федерации в 2010–2011 годах. Экспериментальная и клиническая урология 2013;(2):10–7. [Apolikhin O.I., Sivkov A.V., Moskalyova N.G. et al. Analysis of urological and nephrological morbidity and lethality in Russian Federation in 2010–2011. *Ekspperimental'naya i klinicheskaya urologiya* = *Experimental and Clinical Urology* 2013;(2):10–7. (In Russ.)].
3. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2011 году (заболеваемость и смертность). М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2013. 289 с. [Chissov V.I., Starinskiy V.V., Petrova G.V. Malignant tumors in Russia in 2011 (morbidity and lethality). Moscow: FSBI "P.A. Hertzen Moscow Cancer Research Institute" at the Ministry of Health of Russia, 2013. 289 p. (In Russ.)].
4. Аль-Шукри С.Х., Корнеев И.А. Общие принципы лечения больных раком мочевого пузыря. Значение клинических, гистологических и биологических факторов прогноза для выбора метода лечения. Практическая онкология 2003;4(4):204–13. [Al'-Shukri S.Kh., Korneev I.A. Common principles of treatment of patients with bladder cancer. The role of clinical, histological and biological prognostic factors for choosing of the method of treatment. *Prakticheskaya onkologiya* = *Practical Oncology* 2003;4(4):204–13. (In Russ.)].
5. Имянитов Е.Н., Хансон К.П. Эпидемиология и биология рака мочевого пузыря. Практическая онкология 2003;4(4):191–5. [Imyanitov E.N., Khanson K.P. Epidemiology and biology of bladder cancer. *Prakticheskaya onkologiya* = *Practical Oncology* 2003;4(4):191–5. (In Russ.)].
6. Клиническая онкоурология. Под ред. Б.П. Матвеева. М., 2011. [Clinical oncology. Ed. by B.P. Matveev. Moscow, 2011. (In Russ.)].
7. Клинические рекомендации Европейской ассоциации урологов, 2014. [Clinical Recommendations of European Association of Urology, 2014. (In Russ.)].
8. Хабалов Р.В., Матвеев В.Б., Волкова М.И., Носов Д.А. Лечение и прогноз больных переходноклеточным раком мочевого пузыря с метастазами в регионарные лимфоузлы. Онкоурология 2007;(4):30–5. [Khabalov R.V., Matveev V.B., Volkova M.I., Nosov D.A. Treatment and prognosis in patients with transitional cell carcinoma of the bladder with metastasis in regional lymphatic nodes. *Onkourologiya* = *Cancer Urology* 2007;(4):30–5. (In Russ.)].
9. Jussila L., Alitalo K. Vascular growth factors and lymphangiogenesis. *Physiol Rev* 2002;82(3):673–700.
10. Mandriota S.J., Jussila L., Jeltsch M. et al. Vascular endothelial growth factor-C-mediated lymphangiogenesis promotes tumour metastasis. *EMBO J* 2001;20(4):672–82.
11. Folkman J. Is angiogenesis an organizing principle in biology and medicine? *J Pediatr Surg* 2007;42(1):1–11.
12. Ishikawa M., Kitayama J., Kazama S., Nagawa H. The expression pattern of vascular endothelial growth factor C and D in human esophageal normal mucosa, dysplasia and neoplasia. *Hepatogastroenterology* 2004;51(59):1319–22.
13. Carson-Walter E.B., Watkins D.N., Nanda A. et al. Cell surface tumor endothelial markers are conserved in mice and humans. *Cancer Res* 2010;61(18):6649–55.
14. Li N., Kanda K., Fukumori T. et al. Expression of vascular endothelial growth factor isoforms and platelet-derived endothelial cell growth factor in bladder cancer. *Urol Oncol* 2000;6(1):10–5.
15. Streeter E.H., Harris A.L. Angiogenesis in bladder cancer – prognostic marker and target for future therapy. *Surg Oncol* 2002;11(1–2):85–100.
16. Italiano J.E., Richardson J.L., Patel-Hett S. et al. Angiogenesis is regulated by a novel mechanism: pro- and antiangiogenic proteins are organized into separate platelet granules and differentially released. *Blood* 2007;111(3):1227–33.
17. Мационис Э.Я., Ягубянц Ю.Т., Медведев В.Л. Молекулярная биология рака мочевого пузыря: дань моде или необходимость? Практическая онкология 2004;(2):64–6. [Matsionis E.Ya., Yagubants Yu.T., Medvedev V.L. Molecular biology of bladder cancer: the latest fashion or necessity? *Prakticheskaya onkologiya* = *Practical Oncology* 2004;(2):64–6. (In Russ.)].
18. Мнихович М.В., Гершзон Д., Брикман М. и др. Морфогенетические механизмы клеточных взаимодействий в процессе ангиогенеза. Журнал анатомии и гистопатологии 2012;1(3):63–5. [Mnikhovich M.V., Gershzon D., Brickman M. et al. Morphological and genetic mechanisms of cell interaction in angiogenesis. *Zhurnal anatomii i gistopatologii* = *Journal of Anatomy and Histopathology* 2012;1(3):63–5. (In Russ.)].
19. Lee S., Chen T.T., Barber C.L. et al. Autocrine VEGF signaling is required for vascular homeostasis. *Cell* 2007;130(4):691–703.
20. Глыбочко П.В., Шахпазян Н.К., Понукалин А.Н., Захарова Н.Б. Молекулярные маркеры в диагностике мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря. Клиническая лабораторная диагностика 2011;(5):16–20. [Glybochko P.V., Shakhpazyan N.K., Ponukalin A.N., Zakharova N.B. Molecular markers in diagnostics of non-muscle-invasive bladder cancer. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* = *Clinical Laboratory Diagnostics* 2011;(5):16–20. (In Russ.)].
21. 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):213–7. [Ponukalin A.N., Popkov V.M., Zakharova N.B., Mikhaylov V.Yu. Oncologic markers in diagnostics of the stage of bladder cancer invasion. *Meditinskiy vestnik Bashkortostana* = *Bashkortostan Medical Bulletin* 2013;8(2):213–7. (In Russ.)].
22. van Rhijn B.W., Burger M., Lotan Y. et al. Recurrence and progression of disease in non-muscle-invasive bladder cancer: from epidemiology to treatment strategy. *Eur Urol* 2009;56(3):430–42.
23. Peterson J., Zurakowski D., Joseph E. et al. Normal ranges of angiogenesis regulatory proteins in human platelets. *Am J Hematol* 2010;85(7):487–93.
24. Raffi S., Lyden D. Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ vascularization and regeneration. *Nat Med* 2003;9(6):702–12.
25. Theodorescu D. Molecular pathogenesis of urothelial bladder cancer. *Histol Histopathol* 2003;18(1):259–74.
26. Folkman J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Semin Oncol* 2002;29(Suppl 16):15–8.