

# Прогностическая роль экспрессии Ki-67 в определении риска развития рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря

М.В. Ковылина, Е.А. Прилепская, Н.В. Тупикина, И.А. Рева

ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России; Россия, 127473 Москва, ул. Делегатская, 20, стр. 1

Контакты: Наталия Владимировна Тупикина tatatu@yandex.ru

**Введение.** Для повышения точности прогноза заболевания у пациентов, страдающих раком мочевого пузыря, было предложено определение уровня экспрессии ряда молекулярных онкомаркеров.

**Цель исследования** — оценка прогностической значимости экспрессии Ki-67 для риска развития рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря.

**Материалы и методы.** Для проведения иммуногистохимического исследования с онкопротеином Ki-67 был использован операционный материал 83 пациентов, перенесших первичную трансуретральную резекцию мочевого пузыря по поводу мышечно-неинвазивного рака. Выполнен корреляционный анализ между уровнем экспрессии Ki-67 в злокачественной ткани, удаленной в ходе трансуретральной резекции мочевого пузыря, и характеристиками опухолевого процесса. Проведена оценка роли Ki-67 в стратификации риска развития рецидива у больных путем сравнения уровней экспрессии антигена Ki-67 в группах пациентов с рецидивом мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря и его отсутствием. Дана оценка чувствительности, специфичности и прогностической ценности количественного определения уровня экспрессии Ki-67 в отношении развития рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря.

**Результаты.** За период наблюдения был зарегистрирован 41 случай рецидива мышечно-неинвазивной опухоли мочевого пузыря. Количественное значение маркера Ki-67 коррелировало со степенью дифференцировки опухоли G, степенью злокачественности, инвазией в подслизистый и мышечный слои, расстоянием до инвазии опухоли, наличием первичного процесса и рецидива опухоли. Был отмечен достоверно более высокий уровень экспрессии Ki-67 у больных с рецидивом опухоли по сравнению с группой пациентов без рецидива ( $p = 0,0035$ ), на основании чего выделено пороговое количественное значение маркера Ki-67 (48 %), свидетельствующее о развитии рецидива заболевания. Наличие порогового значения маркера Ki-67 показало умеренный уровень чувствительности (до 71 %) с относительно невысоким уровнем специфичности (57 %). Однако высокого значения прогностической ценности не отмечено (в пределах 63–65 %).

**Заключение.** У больных с рецидивом мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря отмечается повышенная экспрессия антигена Ki-67 по сравнению с пациентами без рецидива заболевания (чувствительность теста составила 70,7 %). Очевидно, что определение молекулярных биомаркеров, в частности Ki-67, может потенциально помочь в выделении группы опухолей высокой степени злокачественности с высоким риском прогрессирования и рецидивирования, что может значительно улучшить результаты лечения таких пациентов. Однако этот вопрос требует дальнейшего тщательного изучения.

**Ключевые слова:** мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря, молекулярный маркер, рецидив, прогноз

DOI: 10.17650/1726-9776-2017-13-1-67-73

## Prognostic role of Ki-67 expression in determination of risk of non-muscle invasive bladder cancer recurrence

M.V. Kovylyina, E.A. Prilepskaya, N.V. Tupikina, I.A. Reva

A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Ministry of Health of Russia;  
Build. 1, 20 Delegatskaya St., Moscow 127473, Russia

**Introduction.** To increase accuracy of disease prognosis in patients with bladder cancer we propose determination of expression level of several tumor markers.

**Objective** is evaluation of prognostic significance of Ki-67 expression level in risk of non-muscle invasive bladder cancer recurrence.

**Materials and methods.** To perform immunohistochemistry analysis of Ki-67 we used surgery material of 83 patients who underwent primary transurethral bladder resection due to non-muscle invasive cancer. We performed an analysis of correlation between Ki-67 expression level in malignant tissue removed by transurethral resection and characteristics of tumor development. We evaluated the role of Ki-67 in stratification of recurrence risk by comparing the level of Ki-67 antigen expression in patients with recurrent non-muscle invasive bladder cancer and in relapse-free patients. We present evaluation of sensitivity, specificity, and prognostic value of quantitative determination of Ki-67 expression level in relation to non-muscle invasive bladder cancer recurrence.

**Results.** During the follow-up period, 41 cases of non-muscle invasive bladder tumor recurrence were observed. Quantitative value of the Ki-67 marker correlated with tumor differentiation grade G, malignancy grade, invasion into submucosal and muscle layers, presence of primary

process, and tumor recurrence. In comparison with relapse-free patients, a significantly higher level of Ki-67 expression was observed in patients with cancer recurrence ( $p = 0.0035$ ). We have determined a threshold quantitative value of Ki-67 (48 %) indicating disease recurrence. Presence of a threshold value of the Ki-67 marker showed moderate sensitivity level (less than 71 %) with relatively low specificity level (57 %). However prognostic level wasn't high (between 63 and 65 %).

**Conclusion.** In patients with recurrent non-muscle invasive bladder cancer an elevated level of Ki-67 expression was observed in comparison with relapse-free patients (test sensitivity was 70.7 %). Obviously, determination of molecular biomarkers, Ki-67 in particular, can potentially help distinguish highly malignant tumors with high progression and recurrence risk, which can significantly improve treatment results for these patients. However, this problem requires further research.

**Key words:** non-muscle invasive bladder cancer, molecular marker, relapse, prognosis

## Введение

Рак мочевого пузыря является самой распространенной уротелиальной опухолью и, по данным Международного общества по изучению рака (International Agency for Research on Cancer, IARC), занимает 7-е место в структуре онкологических заболеваний у мужчин и 17-е у женщин. В мужской популяции он встречается в 4,5 раза чаще, чем в женской (9 случаев против 2 на 100 тыс. человек) [1].

Примерно у 75 % пациентов с впервые диагностированным раком мочевого пузыря опухоль имеет мышечно-неинвазивный характер (стадии Tis, Ta и T1 по классификации TNM) [2]. Методом окончательной постановки диагноза является трансуретральная резекция мочевого пузыря с последующим гистологическим исследованием удаленного новообразования [3, 4], позволяющим определить глубину инвазии и степень дифференцировки опухоли. Согласно таблицам Европейской организации по исследованию и лечению рака (EORTC) становится возможным оценить риски прогрессирования и развития рецидива опухоли [5, 6]. Указанные таблицы разработаны на основе данных 2596 пациентов с уротелиальным раком мочевого пузыря стадий Ta и T1, включенных в 7 рандомизированных исследований EORTC. Система оценки EORTC базируется на 6 важных клинических и патологических характеристиках опухоли: число опухолей, размер опухоли, частота развития рецидивов, стадия и степень дифференцировки опухоли, наличие сопутствующей карциномы *in situ* (табл. 1). После определения удельной массы каждого фактора проводят суммарную оценку риска прогрессирования и развития рецидива опухоли (табл. 2). Последнее необходимо для подбора оптимального вида и определения длительности адъювантной внутрипузырной терапии или для рекомендации о выполнении ранней цистэктомии.

К сожалению, характер развития опухолевого процесса чрезвычайно гетерогенен — вероятность развития рецидива опухоли в течение 1 года составляет 10–67 %, вероятность прогрессирования в течение 5 лет — 0–55 % [7, 8]. Применение даже такой «классической» системы оценки рисков развития рецидива и прогрессирования опухоли, как таблицы EORTC,

**Таблица 1.** Баллы по подсчету риска развития рецидива и прогрессирования

Table 1. Scores for recurrence and progression risks

Фактор Factor	Рецидив Recurrence	Прогрессирование Progression
Число опухолей: Number of tumors:		
1	0	0
2–7	3	3
≥ 8	6	6
Диаметр опухоли, см: Tumor diameter, cm:		
< 3	0	0
≥ 3	3	3
Число предыдущих рецидивов: Number of previous relapses:		
первичная опухоль primary tumor	0	0
≤ 1 рецидива в год ≤ 1 relapse in a year	2	2
> 1 рецидива в год > 1 relapse in a year	4	2
Стадия: Stage:		
Ta	0	0
T1	1	4
Сопутствующая карцинома <i>in situ</i> : Concomitant carcinoma <i>in situ</i> :		
нет no	0	0
да yes	1	6
Степень дифференцировки (по классификации ВОЗ 1973 г.): Differentiation grade (according to 1973 WHO classification):		
G <sub>1</sub>	0	0
G <sub>2</sub>	1	0
G <sub>3</sub>	2	5
Сумма баллов Total score	0–17	0–23

**Примечание.** ВОЗ — Всемирная организация здравоохранения.  
Note. WHO — World Health Organization.

Таблица 2. Вероятность развития рецидива и прогрессирования в соответствии с общим числом баллов

Table 2. Probability of recurrence and progression based on the total score

Число баллов Score	Вероятность в течение 1 года, % Probability for a year, %	Вероятность в течение 5 лет, % Probability for 5 years, %	Группа риска Risk group
<b>Для риска развития рецидива</b> <i>For recurrence risk</i>			
0	15 (10–19)	31 (24–37)	Низкий Low
1–4	24 (21–26)	46 (42–49)	Промежуточный Intermediate
5–9	38 (35–41)	62 (58–65)	Промежуточный Intermediate
10–17	61 (55–67)	78 (73–84)	Высокий High
<b>Для риска прогрессирования</b> <i>For progression risk</i>			
0	0,2 (0–0,7)	0,8 (0–1,7)	Низкий Low
2–6	1 (0,4–1,6)	6 (5–8)	Промежуточный Intermediate
7–13	5 (4–7)	17 (14–20)	Высокий High
14–23	17 (10–24)	45 (35–55)	Высокий High

не дает абсолютной гарантии правильности выбора дальнейшей тактики лечения пациента, что чревато развитием метастатического процесса и, соответственно, снижением выживаемости пациентов [9, 10].

Для повышения точности прогноза заболевания у пациентов, страдающих раком мочевого пузыря, было предложено определение уровня экспрессии ряда онкомаркеров: TP53, MDM-2, BCL-2 и Ki-67 [11]. Ki-67 представляет собой ядерный протеин – один из регуляторных белков клеточного цикла. Экспрессия Ki-67 происходит преимущественно в стадиях G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub> и M клеточного цикла и может быть легко определена при иммуногистохимическом исследовании с моноклональными антителами Ki-67 и MIB-1 [12]. В ряде работ была продемонстрирована роль Ki-67 как независимого прогностического фактора риска прогрессирования и развития рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря [13–16].

**Цель исследования** – оценка прогностической значимости экспрессии Ki-67 для риска развития рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря.

#### Материалы и методы

Для проведения исследования был использован операционный материал 83 пациентов, перенесших

первичную трансуретральную резекцию мочевого пузыря по поводу мышечно-неинвазивного рака на кафедре урологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова. При наличии показаний больным была выполнена повторная трансуретральная резекция через 6 нед после первой операции. Контрольное цистоскопическое исследование осуществляли каждые 3 мес на протяжении 1-го года и 3–6 мес в последующем. Средний период наблюдения составил 46 (6–75) мес, среднее время до развития рецидива опухоли – 10,2 (2–39) мес, средний возраст пациентов – 61,1 (43–84) года.

Иммуногистохимическое исследование проводили на базе патоморфологической лаборатории кафедры урологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова.

Иммуногистохимическая реакция с онкопротеином Ki-67 была выполнена на срезах фрагментов опухолей, зафиксированных нейтральным забуференным формалином и залитых в парафин; толщина срезов составляла 4 мкм.

Иммуногистохимическую реакцию во всех случаях проводили по стандартному протоколу с использованием модуля Dako PT link, системы визуализации EnVisionTM Flex, иммунотейнера Dako.

Оценку экспрессии Ki-67 осуществляли количественным методом путем подсчета процента клеток с ядерной экспрессией Ki-67 с использованием ска-

**Таблица 3.** Сравнение уровней экспрессии антигена Ki-67 в группах пациентов с наличием рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря и его отсутствием

**Table 3.** Comparison of Ki-67 antigen expression in patient groups with non-muscle invasive bladder cancer and without it

Параметр Parameter	Значение Value		p
	Группа пациентов с рецидивом (n = 41) Patient group with recurrence (n = 41)	Группа пациентов без рецидива (n = 40) Patient group without recurrence (n = 40)	
Среднее значение Ki-67 Ki-67 average value	0,5805	0,3700	0,0035
Стандартное отклонение Standard deviation	0,2784	0,3228	
95 % доверительный интервал 95 % confidence interval	0,4926–0,6683	0,2668–0,4732	
Пороговое значение Ki-67 в отношении рецидива заболевания Ki-67 threshold value for disease recurrence	0,48		

нирующего микроскопа RapoGatic с программным обеспечением.

Нами был выполнен корреляционный анализ (с помощью коэффициента корреляции Спирмена ( $\rho$ )) между уровнем экспрессии Ki-67 в злокачественной ткани, удаленной в ходе трансуретральной резекции мочевого пузыря, и характеристиками опухолевого процесса. Дополнительно проведена оценка роли Ki-67 в стратификации риска развития рецидива у пациентов с мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря путем сравнения уровней экспрессии антигена Ki-67 в группах больных с наличием рецидива и его отсутствием. Также дана оценка чувствительности, специфичности и прогностической ценности количественного определения уровня экспрессии Ki-67 в отношении развития рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря. Для сравнения непрерывных данных использовали критерий Манна–Уитни. Статистически значимым уровнем считали значение  $p$ , равное 0,05.

### Результаты

За период наблюдения зарегистрирован 41 рецидив мышечно-неинвазивной опухоли мочевого пузыря.

Проведена оценка наличия корреляционных связей уровня экспрессии Ki-67 с характеристиками опухолевого процесса и различными системами градации уротелиального рака мочевого пузыря: системой градации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 1973 г. (G), четырехступенчатой системой дифференцировки, предложенной L. Cheng, (G<sub>1</sub>) и системой градации ВОЗ 2004 г. (G<sub>3</sub>). Количественное значение маркера Ki-67 коррелировало (сильная

степень – 0,7–1,0; средняя – 0,3–0,7; слабая – < 0,3; отрицательные значения – обратная связь):

- со степенью G ( $\rho = 0,637$ ;  $p < 0,0001$ );
- степенью G<sub>1</sub> ( $\rho = 0,656$ ;  $p < 0,0001$ );
- степенью G<sub>3</sub> ( $\rho = 0,648$ ;  $p < 0,0001$ );
- степенью злокачественности ( $\rho = 0,581$ ;  $p < 0,0001$ );
- инвазией в подслизистый ( $\rho = 0,451$ ;  $p < 0,0001$ ) и мышечный ( $\rho = 0,403$ ;  $p = 0,0002$ ) слои;
- расстоянием от нижней границы опухоли до инвазии ( $\rho = 0,584$ ;  $p = 0,0006$ );
- наличием рецидива ( $\rho = 0,327$ ;  $p = 0,0028$ ).

Был отмечен достоверно ( $p = 0,0035$ ) более высокий уровень экспрессии антигена Ki-67 у больных с рецидивом опухоли (0,58;  $\sigma = 0,28$ ; 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,49–0,67) по сравнению с группой пациентов без рецидива (0,37;  $\sigma = 0,32$ ; 95 % ДИ 0,27–0,47). При этом выделено пороговое количественное значение маркера Ki-67, свидетельствующее о развитии рецидива заболевания (табл. 3).

В соответствии с полученными данными все пациенты были распределены на 4 группы в зависимости от порогового значения Ki-67 и наличия рецидива (табл. 4). Выполнены расчеты диагностической значимости количественного уровня экспрессии Ki-67 для прогнозирования риска развития рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря (табл. 5). Анализ включал определение чувствительности (вероятность положительного результата диагностического теста при наличии болезни) и специфичности (вероятность отрицательного результата диагностического теста в отсутствие болезни) теста, прогностической ценности положительного или отрицательного

**Таблица 4.** Распределение пациентов в зависимости от наличия рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря и порогового значения Ki-67

**Table 4.** Patient distribution by non-muscle invasive bladder cancer recurrence and Ki-67 threshold value

Значение Ki-67 Ki-67 value	Число пациентов, n Number of patients, n	
	с рецидивом with recurrence	без рецидива without recurrence
≥ 0,48	29	17
< 0,48	12	23

**Таблица 5.** Диагностическая значимость количественного определения уровня экспрессии Ki-67 для прогнозирования риска развития рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря

**Table 5.** Diagnostic significance of quantitative determination of Ki-67 expression level for prognosis of non-muscle invasive bladder cancer recurrence

Показатель Feature	Значение Value	95 % доверитель- ный интер- вал 95 % confidence interval
Чувствительность, % Sensitivity, %	70,73	54,46–83,87
Специфичность, % Specificity, %	57,50	40,89–72,96
Положительное отношение правдоподобия Positive likelihood ratio	1,66	1,10–2,51
Отрицательное отношения правдоподобия Negative likelihood ratio	0,51	0,30–0,88
Положительная прогно- стическая ценность, % Positive prognostic value, %	63,04	47,55–76,79
Отрицательная прогно- стическая ценность, % Negative prognostic value, %	65,71	47,79–80,87
Распространенность, % Pre-test probability, %	50,62	39,27–61,92
Отношение шансов Odds ratio	3,2696 (p = 0,0116)	1,3036– 8,2008

результатов теста (вероятность заболевания при положительном (патологическом) результате теста/вероятность отсутствия заболевания при отрицательном (нормальном) результате теста).

Согласно полученным данным наличие порогового значения маркера Ki-67 показало умеренный

уровень чувствительности (до 71 %) с относительно невысоким уровнем специфичности (57 %). Однако высокого значения прогностической ценности не отмечено (в пределах 63–65 %). Как известно, прогностическая ценность более информативна, чем чувствительность и специфичность. Этот показатель отражает вероятность наличия или отсутствия заболевания у пациента с учетом результатов теста. Однако ключевым моментом в прогностической ценности, в отличие от чувствительности и специфичности является зависимость от распространенности, заболевания. В нашем случае она составляла распространенность случаев развития рецидива (50,62 %), что, возможно, несколько отличается от данных основной популяции.

### Обсуждение

Четкая стратификация риска прогрессирования мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря имеет критическое значение для повышения опухолевоспецифической выживаемости пациентов (процент пациентов в исследовании, которые не умерли от данного заболевания в определенный период времени). Преимущество в выживаемости пациентов с поверхностным раком мочевого пузыря группы высокого риска, которым была выполнена ранняя цистэктомия, по сравнению с больными, перенесшими радикальную цистэктомию в связи с прогрессией опухоли после трансуретральной резекции мочевого пузыря и адъювантной иммунотерапии, продемонстрировано в работе Н. W. Негг и соавт. [17].

Таблицы определения рисков EORTC разделяют пациентов на 3 группы с прогredientным увеличением риска развития рецидива и прогрессирования опухоли. Тем не менее эту систему посчитали недостаточной для предсказания исхода заболевания у отдельно взятого пациента, а ее положительная прогностическая ценность была признана довольно низкой [18]. В связи с этим для улучшения стратификации рисков ведется активный поиск дополнительных молекулярных маркеров.

Как было сказано выше, экспрессия ядерного протеина Ki-67 происходит во всех активных фазах клеточного цикла (фазы G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub> и M) и отсутствует в покоящихся клетках (фаза G<sub>0</sub>) [19]. Антиген Ki-67 быстро деградирует в клетках, перешедших в неопролиферативное состояние, экспрессия антигена также отсутствует в процессе репарации ДНК [12, 20].

Доказана корреляция уровня экспрессии Ki-67 с характером развития ряда онкологических заболеваний. Так, в исследовании И. И. Бабиченко и соавт. продемонстрирована положительная корреляция уровня экспрессии Ki-67 со степенью дифференцировки Глисона аденокарциномы предстательной железы [21]. А. И. Горелов и соавт. сообщают о достовер-



но худшей общей выживаемости у пациентов, страдающих метастатическим раком почки, при уровне экспрессии Ki-67 > 10 % [22].

Помимо отмеченных ранее исследований прогностическая ценность Ki-67 у больных раком мочевого пузыря показана в работе V. Margulis и соавт. По результатам проведенного ими крупного мультицентрового исследования было доказано, что высокая экспрессия Ki-67 независимо связана с рецидивом заболевания и общей выживаемостью пациентов, перенесших радикальную цистэктомию [23]. В исследовании, включающем 332 пациента с мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря, W. Ding и соавт. выявили гиперэкспрессию Ki-67 и тесную связь онкомаркера с более агрессивными проявлениями онкологического процесса: мультифокальный рост, сопутствующая карцинома *in situ*, более высокая стадия заболевания и низкая дифференцировка опухоли, а также больший риск прогрессирования по таблицам EORTC [24]. Кроме этого, мультивариантный анализ продемонстрировал тесную связь Ki-67 с риском прогрессирования и развития рецидива опухоли, а также с выживаемостью, свободной от рецидива и прогрессирования. Аналогичные результаты получены отечественными исследователями. В работе В.П. Авдошина и соавт. отмечена тесная корреляция уровня экспрессии Ki-67 со степенью дифференцировки и пролиферативной активностью уротелиальных опухолей [25]. К.Н. Сафиуллин и соавт. также сообщают о корреляции высокого уровня экспрессии Ki-67 с высокой степенью злокачественности и стадией процесса: при опухолях высокой степени злокачественности и стадии T1 пролиферативный индекс, определяемый с помощью Ki-67, значительно выше [26]. В.В. Пугачев и соавт. приводят данные о достоверно меньшем уровне экспрессии Ki-67 у пациентов с папиллярным уротелиальным раком низкой степени

злокачественности (Ki-67 < 50 %, у большинства больных — 10 % и менее) [27].

Результаты настоящего исследования сопоставимы с данными мировой литературы. Отмечена повышенная экспрессия Ki-67 у пациентов с рецидивом мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря, выявлены статистически достоверные корреляционные связи гиперэкспрессии Ki-67 со степенью злокачественности опухоли и инвазией в мышечный слой мочевого пузыря. Дополнение стандартной оценки риска прогрессирования и развития рецидива по таблицам EORTC определением уровня экспрессии Ki-67, возможно, будет способствовать повышению точности стратификации риска заболевания, оказывая влияние на принятие решения о необходимости повторной трансуретральной резекции, частоте контрольных цистоскопий и режиме адъювантной терапии. Более точная стратификация риска крайне важна для раннего принятия решения о необходимости радикальной цистэктоми и уверенного онкологического контроля, с одной стороны, и сохранения мочевого пузыря и минимизации риска избыточного лечения — с другой.

### Заключение

Результаты нашего исследования продемонстрировали, что у больных с рецидивом мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря отмечается повышенная экспрессия антигена Ki-67 по сравнению с пациентами без рецидива заболевания (чувствительность теста составила 70,7 %).

Очевидно, что определение молекулярных биомаркеров потенциально может помочь в выделении группы опухолей высокой степени злокачественности с высоким риском прогрессирования и рецидивирования, что может значительно улучшить результаты лечения таких пациентов. Однако этот вопрос требует дальнейшего тщательного изучения.

### Финансирование

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ МК-6070.2015.7 «Клинико-морфологическая характеристика рака мочевого пузыря. Поиск биологических маркеров прогноза».

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ferlay J., Bray F., Forman D. et al. Cancer incidence and mortality worldwide. IARC Cancer Base No. 10, 2010. International Agency for Research on Cancer: Lyon, France. GLOBOCAN 2008 (1.2). [http://www.ejccancer.com/article/S0959-8049\(13\)00007-5/references](http://www.ejccancer.com/article/S0959-8049(13)00007-5/references).
2. Burger M., Catto J.W., Dalbagni G. et al. Epidemiology and risk factors of urothelial bladder cancer. *Eur Urol* 2013;63(2):234–41. DOI: 10.1016/j.eururo.2012.07.033. PMID: 22877502.
3. Brausi M., Collette L., Kurth K. et al. Variability in the recurrence rate at first follow-up cystoscopy after TUR in stage Ta T1 transitional cell carcinoma of the bladder: a combined analysis of seven EORTC studies. *Eur Urol* 2002;41(5):523–31. PMID: 12074794. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12074794>.
4. Mariappan P., Finney S.M., Head E. et al. Good quality white-light transurethral resection of bladder tumours (GQ-WLTURBT) with experienced surgeons performing complete resections and obtaining detrusor muscle reduces early recurrence in new non-muscle-invasive bladder cancer: validation across time and place and recommendation for benchmarking. *BJU Int* 2012;109(11):1666–73. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2011.10571.x. PMID: 22044434. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/articles/22044434/>.
5. Millan-Rodriguez F., Chechile-Toniolo G., Salvador-Bayarri J. et al. Primary superficial

- bladder cancer risk groups according to progression, mortality and recurrence. *J Urol* 2000;164(3 Pt 1):680–4. PMID: 10954628. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10954628>.
6. Sylvester R.J., van der Meijden A.P., 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. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16442208>.
7. Kurth K.H., Denis L., Bouffloux C. et al. Factors affecting recurrence and progression in superficial bladder tumors. *Eur J Cancer* 1995;31A(11):1840–6. PMID: 8541110. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959804995002875>.
8. Allard P., Bernard P., Fradet Y., Têtu B. The early clinical course of primary Ta and T1 bladder cancer: a proposed prognostic index. *Br J Urol* 1998;81(5):692–8. PMID: 9634043. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9634043>.
9. Soloway M.S. 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. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17681680>.
10. Bryan R.T., Wallace D.M. “Superficial” bladder cancer – time to uncouple pT1 tumours from pTa tumours. *BJU Int* 2002;90(9):846–52. PMID: 12460344. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12460344>.
11. Gönül H., Akyürek N., Dursun A., Küpeli B. Relationship of Ki67, TP53, MDM-2 and BCL-2 expressions with WHO 1973 and WHO/ISUP grades, tumor category and overall patient survival in urothelial tumors of the bladder. *Pathol Res Pract* 2008;204(10):707–17. DOI: 10.1016/j.prp.2008.03.011. PMID: 18572327. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18572327>.
12. Scholzen T., Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown [review]. *J Cell Physiol* 2000;182(3):311–22. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4652(200003)182:3<311::AID-JCP1>3.0.CO;2-9. PMID: 10653597. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10653597>.
13. Popov Z., Hoznek A., Colombel M. et al. The prognostic value of p53 nuclear overexpression and MIB-1 as a proliferative marker in transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer* 1997;80(8):1472–81. PMID: 9338472. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/articles/9338472/>.
14. Liukkonen T., Rajala P., Raitanen M. et al. Prognostic value of MIB-1 score, p53, EGFR, mitotic index and papillary status in primary superficial (stage pTa/T1) bladder cancer: a prospective comparative study. The Finnbladder Group. *Eur Urol* 1999;36(5):393–400. DOI: 20039. PMID: 10516448. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10516448>.
15. Pfister C., Lacombe L., Vezina M.C. et al. Prognostic value of the proliferative index determined by Ki-67 immunostaining in superficial bladder tumors. *Hum Pathol* 1999;30(11):1350–5. PMID: 10571516. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10571516>.
16. Wu T.T., Chen J.H., Lee Y.H., Huang J.K. The role of bcl-2, p53, and ki-67 index in predicting tumor recurrence for low grade superficial transitional cell bladder carcinoma. *J Urol* 2000;163(3):758–60. PMID: 10687971. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10687971>.
17. Herr H.W., Sogani P.C. Does early cystectomy improve the survival of patients with high risk superficial bladder tumors? *J Urol* 2001;166(4):1296–9. PMID: 11547061. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11547061>.
18. Sylvester R.J. How well can you actually predict which non-muscle-invasive bladder cancer patients will progress? *Eur Urol* 2011;60(3):431–4. DOI: 10.1016/j.eururo.2011.06.001. PMID: 21680084.
19. Gerdes J., Lemke H., Baisch H. et al. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984;133(4):1710–5. PMID: 6206131. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6206131>.
20. Gerdes J., Li L., Schlueter C. et al. Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. *Am J Pathol* 1991;138(4):867–73. PMID: 2012175. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1886092/>.
21. Бабиченко И.И., Пульбере С.А., Мотин П.И. и др. Значение матричной металлопротеиназы-9, тканевого ингибитора металлопротеиназы и белка Ki-67 при новообразованиях предстательной железы. *Урология* 2014;(5):82–6. [Babichenko I.I., Pul'bere S.A., Motin P.I. et al. Significance of matrix metalloproteinase-9, metalloproteinase tissue inhibitor, and Ki-67 protein in prostate tumors. *Urologiya = Urology* 2014;(5):82–6. (In Russ.)].
22. Горелов А.И., Нариманян З.Н., Горелов Д.С. Прогностическое значение маркеров Ki-67 и vimentin у больных метастатическим раком почки. *Урология* 2014;(3):54–8. [Gorelov A.I., Narimanyan Z.N., Gorelov D.S. Prognostic significance of Ki-67 and vimentin markers in patients with metastatic kidney cancer. *Urologiya = Urology* 2014;(3):54–8. (In Russ.)].
23. Margulis V., Lotan Y., Karakiewicz P.I. et al. Multi-institutional validation of the predictive value of Ki-67 labeling index in patients with urinary bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009;101(2):114–9. DOI: 10.1093/jnci/djn451. PMID: 19141773. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19141773>.
24. Ding W., Gou Y., Sun C. et al. Ki-67 is an independent indicator in non-muscle invasive bladder cancer (NMIBC); combination of EORTC risk scores and Ki-67 expression could improve the risk stratification of NMIBC. *Urol Oncol* 2014;32(1):42.e13–9. DOI: 10.1016/j.urolonc.2013.05.004. PMID: 24360660. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24360660>.
25. Авдошин В.П., Бабиченко И.И., Котельникова Е.В. Прогностическое значение экспрессии иммуногистохимических маркеров Ki-67, MMP-9 и коллагена IV у больных папиллярным уротелиальным раком мочевого пузыря. *Онкоурология* 2011;7(3):75–9. [Avdoshin V.P., Babichenko I.I., Kotelnikova E.V. Prognostic significance of Ki-67, MMP-9 and Col IV immunohistochemical markers at bladder tumors. *Onkourologiya = Oncourology* 2011;7(3):75–9. (In Russ.)]. DOI:10.17650/1726-9776-2011-7-3-75-79.
26. Сафиуллин К.Н., Горбань Н.А., Карякин О.Б., Пугачев В.В. Клиническое значение некоторых иммуногистохимических маркеров при немышечно-инвазивном раке мочевого пузыря. *Онкоурология* 2010;6(4):36–41. [Safullin K.N., Gorban' N.A., Karyakin O.B., Pugachev V.V. Clinical significance of some immunohistochemical markers in non-muscle-invasive bladder carcinoma. *Onkourologiya = Oncourology* 2010;6(4):36–41. (In Russ.)]. DOI:10.17650/1726-9776-2010-6-4-36-41.
27. Пугачев В.В., Горбань Н.А., Сафиуллин К.Н., Карякин О.Б. Иммуногистохимическое исследование в оценке степени злокачественности немышечно-инвазивного папиллярного уротелиального рака мочевого пузыря. *Онкоурология* 2014;10(3):49–53. [Pugachev V.V., Gorban N.A., Safullin K.N., Karyakin O.B. Immunohistochemical study in the grading of non-muscle-invasive papillary urothelial carcinoma of the bladder. *Onkourologiya = Oncourology* 2014;10(3):49–53. (In Russ.)]. DOI:10.17650/1726-9776-2014-10-3-49-53.