

ОНКОЛОГИЯ

DOI: 10.22363/2313-0245-2018-22-1-9-21

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ДИАГНОСТИКЕ И ПРОГНОЗИРОВАНИЮ ТЕЧЕНИЯ УРОТЕЛИАЛЬНОГО РАКА

С.В. Сальникова^{1,2}, Т.А. Славянская¹, Р.И. Сепиашвили¹¹Институт иммунофизиологии, Москва, Россия;²ФГБУ Клиническая больница № 1 УДП РФ, Москва, Россия

Уротелиальный рак (УР) занимает одно из ведущих мест среди онкоурологических заболеваний. Во всем мире отмечается ежегодный рост этого заболевания, а его темпы расцениваются специалистами как «тревожные». Крайне скудные клинические проявления ранних стадий заболевания приводят к позднему его выявлению. Понимание механизмов развития опухоли создало предпосылки для разработки новых подходов к диагностике злокачественных новообразований, использования инновационных методов и технологий. Современная диагностика УР включает целый спектр лабораторных и инструментальных (инвазивных и неинвазивных) методов исследования. Учитывая недостаточную информативность и ограниченные возможности этих диагностических методов, в настоящее время проводятся исследования по совершенствованию уже используемых методов и разработке новых методов ранней диагностики и прогнозирования заболевания. Выявление маркеров или их комбинаций при УР, обладающих максимальной специфичностью, чувствительностью и информативностью, является актуальной проблемой. В статье всесторонне рассматриваются вопросы, связанные с особенностями структуры и локализации УР; приведены направления по изучению фенотипа УР и результаты молекулярного пан-ракового анализа; представлены новые тенденции в классификации УР, основанные на изучении генетического профиля различных форм УР; сделан краткий обзор исследуемых молекулярно-генетических маркеров раннего выявления и прогнозирования течения УР; показано прогностическое значение соматических мутаций при УР; дана оценка связи между экспрессией генов, степенью инвазии, распространенности опухоли и выживаемостью больных УР; приведены некоторые данные собственных исследований по совершенствованию диагностики УР, изучению экспрессии раковотестикулярных антигенов и обнаружению нарушений в генетическом коде при УР.

Ключевые слова: уротелиальный рак, диагностика, молекулярно-генетические и биологические маркеры, раковотестикулярные антигены, прогноз, выживаемость

Ответственный за переписку:

С.В. Сальникова — к.м.н., Институт иммунофизиологии, 117513, г. Москва, ул. Островитянова, д. 4. E-mail: drsalnikova@mail.ru; tslavyanskaya@gmail.com

Сальникова С.В. SPIN 1721-9099, ORCID 0000-0001-9847-6338

Славянская Т.А. SPIN 1494-9801, ORCID 0000-0002-5550-7664

Сепиашвили Р.И. SPIN 6921-7356, ORCID 0000-0001-6091-1381

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время во всем мире отмечают ежегодное увеличение заболеваемости населения злокачественными новообразованиями. В 2016 г. в Российской Федерации (РФ) впервые выявлено 599 348 случаев злокачественных опухолей

(273 585 у мужчин и 325 763 у женщин). Прирост данного показателя по сравнению с 2015 г. составил 1,7% [1].

По данным ВОЗ уротелиальный рак/рак мочевого пузыря (УР) составляет 3% от всех злокачественных новообразований. Однако, несмотря

на это, УР является одной из ведущих патологий среди онкоурологических заболеваний и занимает 13% в структуре общей смертности. В РФ

численность больных УР с 2006 по 2016 г. увеличилась в 1,44 раза, или почти на 22 человека из расчета на 100 000 населения (рис. 1).

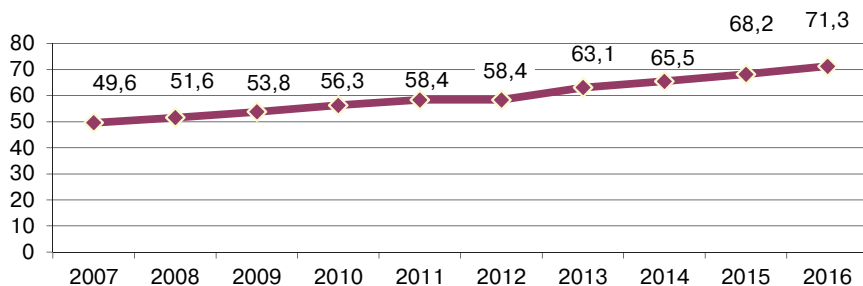


Рис. 1. Распространенность УР в России в 2006—2016 годы (численность больных на 100 000 населения)

Fig. 1. Urothelial cancer morbidity in Russia in 2006—2016 (number of patients per 100 000 population)

Согласно прогнозу специалистов темпы роста заболеваемости УР расцениваются как «тревожные», поскольку около 7,6 миллиона человек ежегодно умирает от этого заболевания.

НОВЫЕ ТЕНДЕНЦИИ В КЛАССИФИКАЦИИ УР

В настоящее время в клинической практике продолжают использовать две основные классификации УР, учитывающие степень дифференцировки (ВОЗ, 1974) и гистологические особенности опухоли (ВОЗ, 2004) [2].

Однако классификация 2004 года по-прежнему остается предметом дискуссии и критики [3], особенно в отношении поверхностной карциномы. Неопределенность критериев диагностики относительно дифференцировки опухолей, разделенных на 3 степени, вызывает вопросы у специалистов. В частности, наибольшую трудность представляет отличие II степени от I в одном конце спектра и II степени от III — в другом конце спектра [4].

Фундаментальные исследования, проводимые в течение последнего десятилетия, были направлены на оптимизацию гистологических и генетических критериев УР. Так, выявлены,

по меньшей мере, две отдельные сети геномных изменений, связанные с молекулярным разнообразием УР, которые могут отражать различные пути развития опухоли: поверхностная (мышечно-неинвазивная) и мышечно-инвазивная [5, 6]. Чрезвычайно гетерогенный генетический профиль является характерной особенностью и одной из основных проблем УР. Основываясь на данных иммуногистохимии (ИГХ) и молекулярно-генетической характеристики 20 генов, были описаны различные подтипы УР. Выбранные гены включали основные биологические признаки, характерные для УР, — активность клеточного цикла, клеточная архитектура, межклеточные взаимодействия и ключевые рецепторы тирозинкиназы [7]. Проведенные исследования позволили выделить 5 молекулярных подтипов УР:

— Urobasal A (UroA) в подавляющем числе случаев представлен мышечно-неинвазивной карциномой, для которой характерно нормальное содержание цитокератина 5 (KRT5) и Р-кадгерина (P-Cad); экспрессия рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). Как правило, этот тип ограничен базальными клетками, активностью клеточного цикла (CCNB1), интерфейсом опухолевой стромы;

— Urobasal B (UroB) примерно в половине случаев является инвазивным раком, «прогрессирующим фенотипом», с повышенной активностью клеточного цикла и экспрессией KRT5+, P-Cad+, TP63+ переходными клетками, связанными с базальными клетками в слизистом и подслизистом слоях. Уровень экспрессии опухоли FGFR3 и CCNB1 составляет 80—90%, что значительно превышает таковой при UroA. Данный подтип характеризуется высокой степенью пролиферации, который разделяет признаки Uro A и подобного плоскоклеточной карциноме (SCCL) подтипов;

— GU (геномно-неустойчивый) — обычно низкодифференцированный и мышечно-инвазивный УР, для которого характерны признаки железистой дифференцировки. Данный подтип отличается пролиферацией по всей паренхиме опухоли и высокой экспрессией CCNE, ERBB2 и E-Cad, но при этом отсутствует экспрессия KRT5, P-Cad и EGFR. Кроме того, подтип GU характеризуется частыми мутациями TP53 и низкой экспрессией PTEN. Было обнаружено, что при данном подтипе опухоли были активны несколько генов, ранее ассоциированных с ее прогрессированием, рецидивом или положительной цитологией (KPNA2, HMOX1, CTSL1 и CTSL2);

— инфильтрированный подтип характеризуется преобладанием экспрессии не опухолевых воспалительных транскриптов;

— при подобном плоскоклеточной карциноме (SCCL) подтипе в большинстве случаев наблюдаются признаки плоскоклеточной дифференцировки, что ассоциируется с плохим прогнозом заболевания. Этот подтип характерен для низкодифференцированных инвазивных опухолей с экспрессией генов KRT4, KRT5, P-Cad, EGFR, KRT14 по всей паренхиме опухоли. Кроме того, в этом подтипе соотношение заболевших мужчин/женщин составляет 1:1, что указывает на то, что у женщин чаще развиваются УР с кератинизированным/плоскоклеточным фенотипом [8].

Ряд исследователей оценивали группу «инфильтрированных» иммунными клетками опухолей, относящихся к типам GU или SCCL с помощью ИГХ методов. Было показано, что для молекулярных подтипов Uro, GU и SCCL характерен высокий риск прогрессирования [6, 7].

При изучении данных аберраций УР было выделено три подгруппы, сходные с молекулярными подтипами рака молочной железы (РМЖ):

а) *базальный подтип* инвазивного УР, который является агрессивным, но чувствительным к химиотерапии;

б) *люминальный подтип*, подобный p53, который обладает высокой устойчивостью к химиотерапии;

в) *высокодифференцированный внутрипросветный подтип* УР (аналогично раковым опухолям молочной железы), который может быть чувствителен для таргетной терапии, используемой при этих подтипах РМЖ, включая блокаторы рецепторов эстрогенов [9, 10]. Предполагают, что анализ метилирования ДНК до лечения может помочь в определении вида и объема химиотерапии.

Оценка **роли РНК** при УР позволила идентифицировать несколько кластеров опухоли:

а) кластер I — «папиллярно-подобный» — включает опухоли с папиллярной морфологией, мутациями, повышенным уровнем и увеличением количества копий FGFR3. Они характеризуются более низкой экспрессией микроРНК (мРНК);

б) кластеры I и II экспрессируют высокие уровни HER2 (ERBB2) и эстрогенный рецепторный белок (ESR1), что может служить потенциальными мишенями для гормональной терапии;

в) кластер III — «базальный/плоскоклеточный» УР — генетически похож на базальноподобный УР, а также на плоскоклеточный рак головы, шеи и легких.

Все кластеры УР экспрессируют гены, характерные для эпителиальных клеток, включая KRT14, KRT5, KRT6 и EGFR [11].

СОВРЕМЕННЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ И ПРОГНОЗИРОВАНИИ УР

Инвазивные и неинвазивные методы диагностики

Понимание механизмов развития опухоли создало предпосылки для разработки новых подходов к диагностике больных злокачественными новообразованиями, использования инновационных методов и технологий. Внедрение инновационных биотехнологий ставит новые вопросы, решение которых представляется стратегически важным в развитии фундаментальных и клинических аспектов современной онкологии.

Современная диагностика УР включает целый спектр лабораторных и инструментальных (инвазивных и неинвазивных) методов исследования.

К инвазивным методам относят цистоскопию и фотодинамическую диагностику (ФДД), основанную на свечении злокачественных новообразований в синем свете в результате возникновения ряда фотохимических реакций при взаимодействии различных видов светового излучения определенных длин волн и фотосенсибилизатора, предварительно введенного в организм и избирательно накопившегося в опухолевой ткани. ФДД позволяет выявить опухоль мочевого пузыря, невидимую при стандартной цистоскопии, а также позволяет улучшить диагностику мелких папиллярных образований и карциномы *in situ*, повышая чувствительность метода с 72,7 до 98,7% со специфичностью, близкой к 100% [12].

Нами впервые был предложен принципиально новый подход к диагностике УР [13], значительно расширяющий возможности фотодинамики, при котором за один сеанс на одном препарате можно выполнить первичную и контрольную диагностику после трансуретральной резекции мочевого пузыря с целью оценки радикальности удаления и отсутствия остаточной опухоли в ее основании.

Неинвазивным методом с высокой специфичностью является цитологическое исследова-

ние осадка мочи. В качестве вспомогательных методов диагностики опухоли применяют МРТ и КТ малого таза с контрастированием, современные методики трансабдоминальной и трансректальной ультразвукографии, исследование физиологических жидкостей пациента для обнаружения молекулярных маркеров УР.

Молекулярно-генетические исследования

В настоящее время значительную роль в развитии онкологических заболеваний играют молекулярно-генетические нарушения, исследование которых позволяют обозначить новые направления диагностики и лечения.

С целью определения фенотипа УР исследователи активно изучают:

- аномалии метилирования ДНК;
- анализ генетических сетей регуляции липидного метаболизма;
- анализ роли РНК;
- уровни экспрессии белков FOXM1 и PLK1, FOXM1, PPARG, RXRA, FOXA1 и GATA3 [11];
- экспрессия базальных кератинов.

Полученные данные позволили провести молекулярный пан-раковый анализ, на основании которого:

- ◆ SCCL был объединен в группу вместе с плоскими опухолями легких, головы и шеи [4, 14];
- ◆ идентифицированы четыре кластера опухоли (кластеры I—IV);
- ◆ выявлены три основные пути, которые чаще всего нарушаются при УР [11]:
 - регулирование клеточного цикла (93%), киназы и PI3K (72%);
 - ремоделирование хроматина, включая мутации в генах (89%);
 - нарушения компонентов комплекса ремоделирования нуклеосом SWI/SNF (64%).

Было показано, что для мышечно-неинвазивных опухолей ключевую роль играют мутации FGFR3 и PIK3CA (катетическая субъединица PI3-киназы α). Эта форма карциномы харак-

теризуется незначительно выраженными хромосомными изменениями и низкой митотической активностью, что взаимосвязано с низкой степенью распространения и высокой степенью дифференцировки. Кроме того, отмечено, что примерно в 20% наблюдается активация генов семейства RAS (HRAS1, KRAS и NRAS) и происходит это в результате точковых мутаций в 12, 13 и 61 кодонах данных генов [15].

В отличие от поверхностных или неинвазивных карцином, для карцином *in situ* характерны мутации генов-супрессоров опухолевого роста — TP53, RB и PTEN.

Исследование антионкогена p53 при УР [16] показало наличие мутаций, высокую пролиферативную активность и геномную нестабильность, что при повреждении структуры ДНК способствует снижению митотической активности клетки и активизирует механизм апоптоза. Инактивация же апоптоза является прогностически неблагоприятным фактором, связанным с высоким риском опухолевой прогрессии, наличием регионарных и/или отдаленных метастазов, более высокой степенью распространения, низкой дифференцировкой (G3) и низкой выживаемостью пациентов.

При мышечно-инвазивном УР отмечены повреждения как генов-супрессоров опухолевого роста p53 (TP53), RB1 и PTEN, так и их инактивация или делеция посредством аномального метилирования промоторных областей [16, 17].

Анализ геномных изменений, характерных для УР, и их связи с молекулярными подтипами показал, что для подтипов Urobasal A и B характерна потеря хромосомы 9 с коэффициентом усиления 1q. Для подтипов GU и SCCL — сложные нарушения с частыми фокальными геномными изменениями 6p22 (E2F3/SOX4). Определены также две основные геномные схемы УР: FGFR3/CCND1 цепь, работающая в опухолях Urobasal, и цепь E2F3/RB1 в опухолях GU. Для подтипа SCCL цепь не установлена.

Инвазия и степень злокачественности опухоли определены генетическими изменениями. Минимальные проявления определяются при мышечно-неинвазивных опухолях. Наиболее распространенными вариантами являются моносомия по 9-й хромосоме и делеции 9p и 9q наряду с делециями 17p, 13q, 11p и 14q (30—60%) [8, 16].

При поверхностных формах УР ранние изменения включают: делецию 11p и 8p, амплификацию 8q и 1q. При неинвазивных папиллярных опухолях, а иногда и при плоских карциномах единственными выявленными изменениями может быть только делеция 9-й хромосомы, что наблюдается как при высокодифференцированных, так и при низкодифференцированных опухолях.

Для мышечно-инвазивных карцином характерны мутации p53 и потеря гетерозиготности локусов 17p, 3p, 13q, 18q или 10q, что чаще выявляется в низкодифференцированных опухолях и на более поздних стадиях [20]. Потеря гетерозиготности 17p (локус гена p53) обнаруживается в 60% карцином с инвазией в мышечный слой и, таким образом, может являться маркером прогрессии.

На основе генетических данных для мочевого пузыря ряд авторов выдвинули гипотезу о наличии двух путей онкогенеза [11, 16, 18]:

- ◆ запускается при наличии делеций 9p и 9q, что приводит к развитию поверхностных папиллярных опухолей, некоторые из которых при наличии мутации гена p53 могут перейти в стадию инвазии;

- ◆ инициируется мутациями гена p53, что способствует формированию карциномы *in situ*. При утрате 9-й хромосомы карцинома становится инвазивной.

Прогностическое значение соматических мутаций при УР было продемонстрировано в докладе Д.С. Михайленко на Ежегодный конгрессе ассоциации онкопатологов, Москва, 2016 (табл. 1).

Таблица 1

Прогностическое значение соматических мутаций при уротелиальной карциноме

ГЕН	ИЗМЕНЕНИЯ	КОММЕНТАРИИ
TP53 (tumor protein) RB1 (retinoblastoma)	Инактивирующие мутации; протяженные делеции, в том числе биаллельные	Неблагоприятный прогноз, высокий риск метастазирования
ERBBB2 (HER-2/Neu)	Амплификация и гиперэкспрессия гена (или активирующие миссенс-мутации в киназном домене при микропапиллярном уротелиальном раке)	Применение таргетных препаратов, направлен- ных против HER-2 (ТРАСТУЗУМАБ, ПЕРТУЗУМАБ, ЛАПАТИНИБ)
PIK3CA (phosphatidylinositol-4,5- Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha)	Активирующие миссенс-мутации E542K и E545K	Возможность использования ингибиторов PiK (МК-2206)
FGFR3 (рецептор фактора роста фибробластов)	Активирующие миссенс-мутации в 7 и 10 экзонах (выявляются в 50%); ассоциированы с высокодифференцированными опухольями УР и ранними стадиями заболевания	Применение ингибиторов рецепторов FGFR (ПАЗОПАНИБ, ПАТОПАНИБ); антител к нормаль- ному и мутантному рецептору PRO-001, R3Mab, малых синтетических ингибиторов RKI258 (или ДОВИТИНИБ, «Новартис»), AZD4547 («Астра- Зенека»), PD1730774 («Пфайзер»), BMC-582664 (или БРИВАТИНИБ, «Бристоль Майерс») и др.
	Вторичная миссенс-мутация V555M	Резистентность к AZ12908010 и, возможно, к другим малым синтетическим ингибиторам

Table 1

Prognostic value of somatic mutation in urothelial carcinoma

GENE	CHANGES	COMMENTS
TP53 (tumor protein) RB1 (retinoblastoma)	Inactivate mutations; extended deletions, incl. biallelic	Poor prognosis; high risk of cancer spread
ERBBB2 (HER-2/Neu)	Amplification and hyperexpression of gene (or activating missense mutations in kinase domain at micro papillary urothelial cancer)	Use of target drug against HER-2 (TRASTUZUMAB, PERTUZUMAB, LAPATINIB)
PIK3CA (phosphatidylinositol-4,5- Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha)	Activating missense mutations E542K and E545K	Possibility of PiK inhibitors use (MK-2206)
FGFR3 (fibroblast growth factor receptor)	Missense mutation in exons 7 and 10 (found in 50%). Associated with high-differentiated UC tumor and early stages of disease	Use of FGFR receptors inhibitors (PAZOPANIB, PATOPANIB); antibodies to a normal mutant recep- tor PRO-001, R3Mab, small synthetically inhibitors RKI258 (or DOVITINIB, «Novartis»), AZD4547 («As- tra-Zeneca»), PD1730774 («Pfizer»), BMC-582664 (or BRIVATINIB, «Bristol-Myers») etc.
	Secondary missense mutation V555M	Resistance against AZ12908010 and, probably, other small synthetically inhibitors

Генетические исследования, проводимые в последнее время в России и за рубежом, показали ключевую роль мРНК в процессах метаболизма, пролиферации, дифференцировки, старе-

ния, а также при различных патологиях, включая рак. Дифференцированное изменение экспрессии мРНК отличает нормальную ткань от опухолевой, инвазивный УР от его поверхностной формы.

Проведенные исследования показали, что мРНК-141 и мРНК-205 были сопряжены с общей выживаемостью [19].

Достигнуты определенные успехи в области изучения роли длинных не кодируемых РНК (днРНК) и MALAT1. Показана связь MALAT1 с развитием метастазов опухоли. Кроме того, продемонстрирована роль aberrантной экспрессии MALAT1 при УР. Блокада MALAT1 в опухоли может быть эффективной для предотвращения развития метастазов опухоли [20].

Сравнительный анализ уровня экспрессии генов и белков опухолевых и нормальных клеток с выживаемостью пациентов показал, что для раковых клеток характерна более высокая экспрессия генов, участвующих в репликации ДНК, делении клеток и запрограммированной клеточной гибели. Для УР был определен ген BLCAP (HGNC Symbol), кодирующий белок, уменьшающий рост клеток и стимулирующий апоптоз. В Cancer Genoma Atlas описан ген FOXA1 mRNA и белок, которые экспрессируются на опухолевых клетках УР [3].

Генетические изменения, характерные для разных стадий УР и возможность их применения в качестве дополнительных факторов для определения прогноза клинического течения и метастазирования УР была также изучена и российскими учеными [13, 19]. Так, нами было показано [13, 16, 19], что все опухолевые культуры имели характерные для УР молекулярно-генетические изменения кариотипа клеток: делецию 9 хромосомы (66,7%), отсутствие Y-хромосомы (50%) и моносомию 13 и 17 хромосом (33,3%). В единичных случаях регистрировали изменения в хромосомах 1, 3, 7 и трисомию 7 хромосомы. Было отмечено нарастание изменений с увеличением стадии заболевания, распространенности и степенью злокачественности. Кроме того, было проведено сравнение выявленных генетических изменений с экспрессией раково-тестикулярных антигенов (РТА) — GAGE, BAGE, MAGE и NY-ESO-1. Исследования показали достоверную корреляцию снижения уровня экспрессии РТА с нарастанием генетических изменений на разных пассажах культур клеток ($p < 0,05$).

Маркеры ранней диагностики и прогнозирования

Важным разделом диагностики является умение своевременно прогнозировать появление различных заболеваний, в том числе и онкологических, а значит, и наличие в руках врача инструментов (методов и маркеров) для ранней их диагностики. В связи с этим многие исследователи продолжают изучать возможность применения на практике молекулярно-генетических и молекулярно-цитогенетических маркеров. В частности, при УР исследуют перспективу их применения в качестве дополнительных факторов для определения прогноза клинического течения и раннего определения процесса метастазирования [13, 19].

Для ранней диагностики УР могут стать перспективными исследования по изучению сывороточных и мочевых онкомаркеров. Современная классификация маркеров УР выделяет: диагностические, маркеры рецидива, маркеры опухолевой прогрессии и маркеры метастазирования, по биологическому материалу: мочевые, сывороточные и тканевые.

Среди диагностических маркеров, предложенных в настоящее время, только шесть из них одобрены и используют в Европе и Америке для раннего выявления УР: BTAStat, BTA TRACK, NMP-22, BladderChek, ImmunoCyt и UroVision. В России для рутинной диагностики маркеры практически не используют. Значительное количество маркеров находится на стадии разработки и изучения. К ним относятся: определение уровней цитокератинов 8, 18 (UBC), 19 (CYFRA21.1), 20 (СК20); гиалуроновой кислоты и гиалуронидазы; фибронектина; DD23; антиапоптотических молекул (BCLA-4, Survivin); активности теломеразы (TRAP, hTert, hTR); гиперметилирования промоторных регионов генов RASSF1, RARB, p16, p14, CDH1 и микросателлитный анализ как метод выявления аллельного дисбаланса. На рис. 2 представлена диаграмма информативности некоторых маркеров УР.

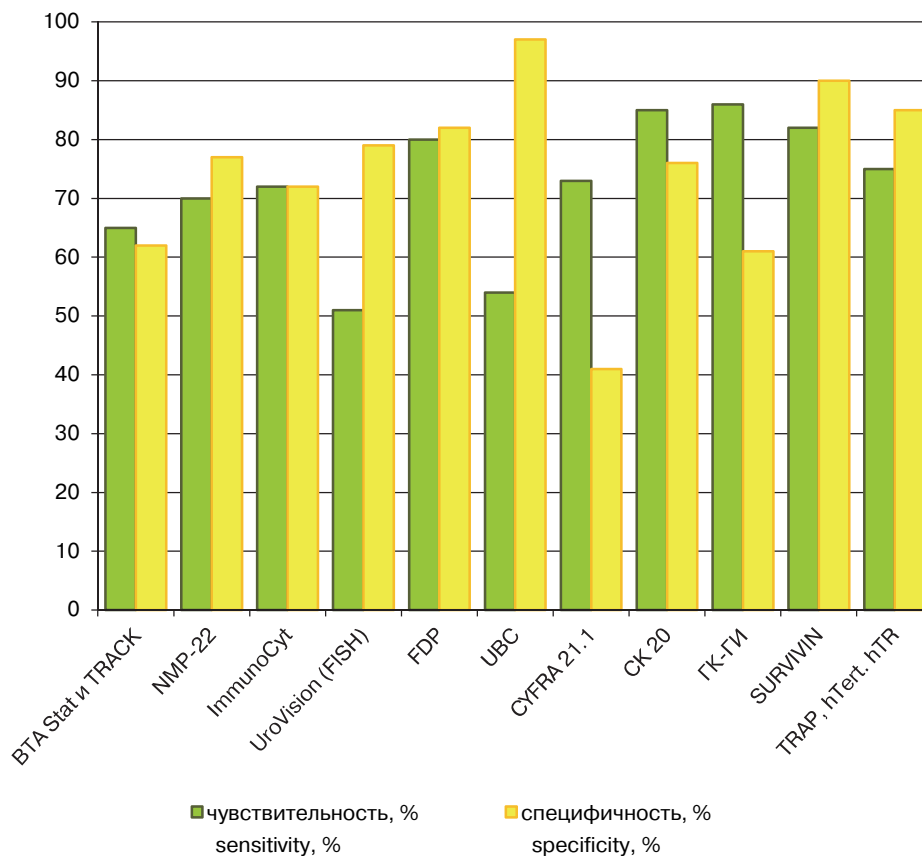


Рис. 2. Информативность маркеров уротелиальной карциномы по их чувствительности и специфичности (в %)

Fig. 2. Informative value of urothelial carcinoma markers in accordance with its sensitivity and specificity (in %)

К сожалению, ни один из вышеописанных диагностических молекулярных маркеров изолировано не обладает полной информативностью из-за своей недостаточной чувствительности или специфичности. Именно это не позволяет в настоящее время полностью отказаться от цитологического исследования [13].

Особенно важным представляется выявление маркеров, которые можно было бы рекомендовать для широкого использования в клинике для прогнозирования исхода заболевания, его прогрессирования и метастазирования, а также маркеров, позволяющих предсказать агрессивный потенциал неинвазивных опухолей. Некоторыми исследователями показано [4, 20], что для УР характерна экспрессия СК7, СК20, СК5/6, СК14,

СК17. Более 90% УР позитивен по реакции с СК7, ко-экспрессия СК20 отмечена, по данным разных авторов, в 30—90% случаев [5, 12].

Наиболее изученной группой маркеров УР являются белки-регуляторы клеточного цикла (p53, Ki-67, pRb, mdm2). P53 (регулятор опухолевой супрессии) изучают в качестве независимого предиктора опухолевой прогрессии и рецидива; Ki-67 рассматривают как показатель пролиферативной активности. Однако его прогностическая ценность не нашла всестороннего подтверждения.

В последнее время в качестве нового маркера УР исследуют кальций-активированные регуляторы хлоридного канала (CLCA), которые участвуют в клеточной дифференцировке, адге-

зии, апоптозе и развитии воспалительных процессов. Авторы показали влияние CLCA1, CLCA2 и CLCA4 на прогрессию опухоли. Другие исследователи [21] показали решающую роль CLCA4 в опухолегенезе и прогрессировании УР. При этом установлено, что CLCA4:

- может ингибировать пролиферацию клеток УР;

- инактивируют сигнальный путь PI3K/AKT в клетках УР, что может быть основным механизмом подавления развития опухоли;

- сверхэкспрессия CLCA4 повышает туморогенность раковых клеток;

- снижение активности CLCA4 коррелирует с плохим прогнозом заболевания;

- низкая экспрессия этого маркера ослабляет инвазию и миграцию клеток УР;

- депрессия экспрессии CLCA4 способствует опухолегенности.

В иных исследованиях [13] показана возможность использования ростовых факторов и их рецепторов в качестве прогностических маркеров.

Так, например, опухоль-ассоциированные макрофаги (TAMs) играют ключевую роль в пролиферации, инвазии и метастазировании опухоли. Их действие осуществляется с помощью экспрессии растворимых белков и цитокинов, таких как ИЛ-10, матричных металлопротеиназ (ММП), урокиназы типа активатора плазминогена (uPA), основного фактора роста фибробластов (BFGF), фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), тромбоцитарного фактора роста (PDGF), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) и стимулирующего фактора миграции (MSF) [22]. Рецепторы семейства тирозинкиназы, в том числе рецепторы эпидермального фактора роста (EGFR), VEGF и Her2/Neu, избыточно экспрессируются при УР, а уровень их экспрессии достоверно коррелирует с прогрессированием и метастазированием.

В иммуногенезе солидных опухолей важную роль отводят ангиогенезу, в котором ключевую роль играет фактор роста эндотелия сосудов (VEGF). Высокий уровень экспрессии VEGF об-

наружен практически во всех известных опухолях, включая УР. Очевидно, экспрессия VEGF и HER2/neu могут быть прогностическими маркерами УР.

Было также показано, что снижение экспрессии опухолью молекул клеточной адгезии: E-кадгерина, бета-катенина, ICAM-1, VCAM-1, селектинов, интегринов, десмосом, способствует инвазии и метастазированию опухоли. Более высокая секреция ИЛ-6, ИЛ-8 и матричной ММП-9 в моче коррелирует со стадией УР и его неблагоприятным прогнозом. Оценка хемокинового рецептора CXCR7 в процессах метастазирования и прогрессирования УР выявила его влияние на процессы апоптоза, миграции, инвазии опухолевых клеток и ангиогенеза. При этом он способствует появлению в опухоли проангиогенных факторов ИЛ-8 и VEGF [17].

Возможность использования в качестве прогностических маркеров молекул клеточной адгезии, цитокинов, хемокиновых рецепторов, трансмембранного гликопротеина 1 типа — тромбомобулина, являющегося одним из эндогенных антиметастатических факторов, была подтверждена и в других работах [22].

Изучение роли онкофетальных протеинов IMP3, глипикана-3 и TPBG выявило достоверную взаимосвязь между уровнем экспрессии IMP3 с рецидивированием и смертностью [10].

Перспективными являются исследования по изучению комплекса раково-тестикулярных антигенов (РТА): NY-ESO-1, MAGE-A3, LAGE-1 и PRAME для определения их прогностической значимости [13, 19, 23]. Было показано, что экспрессия РТА достоверно связана как со стадией заболевания, так и степенью проникновения опухоли. Экспрессия гена LAGE-1 характерна для мышечно-неинвазивного УР с тенденцией к опухолевой прогрессии. На плохой ответ на химиотерапию указывала экспрессия гена PRAME. MAGE-A3 и LAGE-1 были ассоциированы с коротким безрецидивным периодом.

В настоящее время большое внимание уделяется исследованию контрольных иммунных

точек, так называемых «чек-поинтов». CTLA4 (цитотоксический Т-лимфоцитарный антиген 4) был первым таргетом, блокада которого привела к повышению противоопухолевого иммунитета [21]. Другим таргетом является рецептор В7-Н3 (CD276) — член семейства рецепторов В7, который экспрессируют активированные дендритные клетки (DC), макрофаги, Т-клетки, В-клетки и естественные киллеры (NK-клетки). Проведенные исследования показали [24], что до 70% опухолей экспрессируют рецептор В7-Н3. В настоящее время проходит I фазу клинических испытаний антитело IgG1 против В7-Н3 (MGA271, MacroGenics, Inc.), в котором участвуют и пациенты с УР (NCT01391143).

В качестве целевых маркеров при УР изучают и рецептор PD-1 (программируемая смерть 1), а также его лиганд PD-L1. Опухоли, экспрессирующие PD-L1, через взаимодействие ингибирующего рецептора PD-1 могут превращать цитотоксические лимфоциты в инактивированные [18]. Кроме того, экспрессия опухоли PD-L1 может позволить провести отбор пациентов для проведения своевременного лечения [24]. Результаты клинических испытаний уже продемонстрировали стойкий клинический эффект у пациентов с раком легких и злокачественной опухолью толстой кишки. Изучение экспрессии PD-1 и PD-L1 при УР также привлекло внимание исследователей.

Имеются единичные работы по изучению роли ганглиозида GD2 при УР. Был показан высокий уровень экспрессии GD2 при мышечно-инвазивном УР. Отмечено, что клетки GD2+ способствуют более быстрому росту УР, обладают свойствами стволовых клеток и влияют на липидный обмен [25].

В наших экспериментальных исследованиях [12, 13, 16, 19] было выявлено, что в культуры клеток УР на ранних пассажах с высокой частотой обнаруживали экспрессию РТА. В частности, MAGE — 70%; BAGE — 30%; GAGE — 40%; NY-ESO-1 — 50%. В процессе культивирования было отмечено снижение количества РТА, экс-

прессуемых клеточными линиями. Экспрессия РТА в образцах была неоднородной. При длительном культивировании клеток УР (более 30-ти пассажей) отмечали достоверное снижение процентного содержания клеток, экспрессирующих РТА — $28,2 \pm 4,6\%$, вплоть до полного исчезновения ($p < 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные в обзоре данные позволили показать многообразие и разноплановость научных поисков, проводимых различными исследовательскими группами в рамках поиска перспективных ранних прогностических маркеров опухоли. Таким образом, наступает новая эра современной медицины, которая благодаря достижениям фундаментальной иммунологии, молекулярной биологии, генетики, междисциплинарному подходу позволит в ближайшем будущем сделать значительный прорыв в области диагностики онкологических заболеваний. И, несомненно, использование в повседневной практике новых ранних перспективных диагностических методов избавят человечество от страха перед онкологией, а выявление новых диагностических и прогностических маркеров позволит не только своевременно прогнозировать само заболевание, но и определить его течение и исход.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России. Москва. 2017. 236 с.
2. *Собин Л.Х., Господарович М.К., Виттекинд К.* TNM: классификация злокачественных опухолей. Пер. с англ. под ред. Н.Н. Блинова. СПб. Эскулап. 6-е издание. 2003. 244 с.
3. The Cancer Genome Atlas Research network. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma // *Nature* 2014; 507(7492):315—22.
4. *Eriksson P., Aine M., Veerla V., Liedberg F., Sjö Dahl G, Höglund M.* Molecular subtypes of urothelial carcinoma

- are defined by specific gene regulatory systems // *BMC Med Genomics* 2015;8:25. doi: 10.1186/s12920-015-0101-5.
5. J. Ryan Mark, Jean Hoffman-Censite and Leonard G. Gomella Basic concepts in immunotherapy for bladder cancer // *AJHO*. 2017; 13(9):12—17.
 6. Nitu Kumari, Uma S. Dubey, Usha Agrawal. Evolution of Classification Of Bladder (Urothelial) Cancer // *Bladder Cancer Classification*. NJIRM 2015; Vol. 6(6) Nov — Dec. P. 89—94.
 7. Sjö Dahl G., Lövgren K., Lauss M., Patschan O., Gudjonsson S., Chebil G., Aine M., Eriksson P., M°ansson W., Lindgren D., Fernö M., Liedberg F., Höglund M. Toward a molecular pathologic classification of urothelial carcinoma // *Am. J. Pathol* 2013; 183(3):681—91.
 8. Choi W., Porten S., Kim S., Willis D., Plimack E.R., Hoffman-Censits J., Roth B., Cheng T., Tran M., Lee I.L., Melquist J., Bondaruk J., Majewski T., Zhang S., Pretzsch S., Baggerly K., Siefker-Radtke A., Czerniak B., Dinney C.P., McConkey D.J. Identification of distinct basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer with different sensitivities to frontline chemotherapy // *Cancer Cell*. 2014; 25(2):152—65.
 9. Скрябин Н.А., Кашеварава А.А., Денисов Е.В., Лебедев И.Н. Методы исследования метилирования ДНК: возможности и перспективы использования в онкологии // *Сибирский онкологический журнал*. 2003. № 6. С. 65—69.
 10. Xylinas E., Cha E., Khani F., Kluth L., Rieken M., Volkmer B., Hautmann R., Küfer R., Chen Y., Zerbib M., Rubin M., Scherr D., Shariat S., Robinson B. Association of oncofetal protein expression with clinical outcomes in patients with urothelial carcinoma of the bladder // *J. Urol*. 2014 Mar; 191 (3): 830—41.
 11. Hoadley K.A., Yau C., Wolf D.M., Cherniack A.D., Tamborero D., Ng S., Leiserson M.D., Niu B., McLellan M.D., Uzunangelov V., Zhang J., Kandoth C., Akbani R., Shen H., Omberg L., Chu A., Margolin A.A., Van't Veer L.J., Lopez-Bigas N., Laird P.W., Raphael B.J., Ding L., Robertson A.G., Byers L.A., Mills G.B., Weinstein J.N., Van Waes C., Chen Z., Collisson E.A. Cancer Genome Atlas Research Network, Benz C.C., Perou C.M., Stuart J.M. Multiplatform analysis of 12 cancer types reveals molecular classification within and across tissues of origin // *Cell*. 2014. Aug 14; 158(4):929—44.
 12. Salnikova S.V., Slavyanskaya T.A. Comparative characteristics of the level of expression of tumor-associated antigens in various forms of invasion of bladder cancer // *Int. J. Immunoreh.* 2016. Vol. 18. № 2. P. 129.
 13. Славянская Т.А., Сальникова С.В. Иммунологические критерии и маркеры для диагностики и прогноза рака мочевого пузыря // *International Journal on Immunorehabilitation*. 2009. Том 11. № 1. С. 24.
 14. Heim S., Mitelman F. *Cancer Cytogenetics: Chromosomal and Molecular Genetic Aberrations of Tumor Cells* // Wiley-Blackwell. 2015. 632 p.
 15. Uhlen M., Zhang C., Lee S., Sjöstedt E., Fagerberg L., Bidkhorji G., Benfeitas R., Arif M., Liu Z., Edfors F., Sanli K., von Feilitzen K., Oksvold P., Lundberg E., Hober S., Nilsson P., Mattsson J., Schwenk J.M., Brunnström H., Glimelius B., Sjöblom T., Edqvist P.H., Djureinovic D., Micke P., Lindskog C., Mardinoglu A., Ponten F. A pathology atlas of the human cancer transcriptome // *Science*: 2017 Aug 18; 357(6352).
 16. Slavyanskaya T.A., Salnikova S.V., Sepiashvili R.I. Chromosome aberrations and the expression of tumor-associated antigens by tumor cultures of bladder cancer with long-term cultivation // *Int. J. Immunoreh.* 2016. Vol. 18. № 2. P. 128—129.
 17. Owen T.M. Chan, Hideki Furuya, Ian Pagano, Yoshiko Shimizu, Kanani Hokutan, Lars Dyrskjøt, Jørgen Bjerggaard Jensen, Per-Uno Malmstrom, Ulrika Segersten, Filip Janku, Charles J. Rosser. Association MMP-2, RB and PAI-1 with reduced survival without relapse and overall survival in patients with bladder cancer // *Oncotarget*. 2017. Nov. 21; 8 (59): 99707—21.
 18. Daniel S. Chen, Bryan A. Irving and F. Stephen Hodi. Molecular Pathways: Next-Generation Immunotherapy-Inhibiting Programmed Death-Ligand 1 and Programmed Death-1 // *Clin. Cancer Res.* Dec. 15, 2012. Vol. 18. N. 24. P. 6580—88.
 19. Сальникова С.В., Славянская Т.А. Сравнительная характеристика уровня экспрессии опухолеассоциированных антигенов при различных формах инвазии рака мочевого пузыря // *Аллергология и иммунология*. 2016. Том 17. № 4. С. 258.
 20. Yoshimoto R., Mayeda A., Yoshida M., Nakagawa S. MALAT1 long non-coding RNA in cancer // *Biochim Biophys Acta*. 2016 Jan; 1859 (1): 192—9.
 21. Deng Hou, Lijia Zhou, Longwang Wang, Gallina Kazobinka, Xiaoping Zhang, Zhaohui Chen. CLCA4 inhibits proliferation, migration, and invasion of bladder cancer cells by inhibiting the PI3K / AKT pathway // *Oncotarget* . 2017. Nov.3; 8 (54): 93001—93013.
 22. Zhang E., Gu J., Xu H. Prospects for chimeric antigen receptor modified T cell therapy for solid tumors // *Molecular Cancer* (2018) 17:7 DOI 10.1186/s12943-018-0759-3.
 23. McGowan-Jordan J., Simons A., Schmid M. *ISCN: an international system for human cytogenomic nomenclature*. Basel, New York: Karger. 2016. 140 p.
 24. Ali Ghasemzadeh, Trinity J. Bivalacqua, Noah M. Hahn, Charles G. Drake *New Strategies in Bladder Cancer: A Second Coming for Immunotherapy* // *Clin. Cancer Res.* 2016 Feb. 15; 22 (4): 793—801.

25. Venkatrao Vantaku, Sri Ramya Donepudi, Chandrashekar R. Ambati, Feng Jin, Vasanta Putluri, Khoa Nguyen, Kimal Rajapakshe, Cristian Coarfa, Venkata Lokesh Battula, Yair Lotan, Nagireddy Putluri. *Expres-*

sion of ganglioside GD2, reprogram the lipid metabolism and EMT phenotype in bladder cancer // *Oncotarget*. 2017 Nov 10; 8 (56): 95620—31.

Поступила 14.01.2018
Принята 15.02.2018

DOI: 10.22363/2313-0245-2018-22-1-9-21

MODERN APPROACHES TO DIAGNOSIS AND PREDICTION OF COURSE OF UROTHELIAL CANCER

S.V. Salnikova^{1,2}, T.A. Slavyanskaya¹, R.I. Sepiashvili¹

¹Institute of Immunophysiology, Moscow, Russia;

²Federal State Budgetary Institution Clinical hospital № 1
under Administrative Directorate of the President of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract. Urothelial cancer (UC) holds one of the leading positions amongst oncological diseases. Rate of cancer is growing all around the world and according to experts the growth rate of cancer is estimated as alarming. Clinical implications of the early disease are so poor that they result in late detection of the disease. Understanding of tumor's pathogenesis opened the door for development of new approaches for diagnosis of cancer, use of innovative methods and technologies. The modern UC diagnostics includes a variety of lab tests and special exams (invasive method and noninvasive methods). Considering low informative value and limited prospects of these methods, today there are researches in improvement of methods which are already being used and development of new methods for early diagnosis and forecasting of the disease being done. Detecting the most specific, vulnerable and informative markers or its combination of the UC is a pressing topic. In this article we consider questions of peculiarities of structure and site of the UC from all angles; we show directions of the UC phenotype research and results of molecular pan-cancer analysis; new tendencies in the UC classification based on study of genetic profile of the UC's different forms; a short review of the researched molecular genetic markers of early detection of the UC and prognosticating its progression; prognostic value of somatic mutation in the UC; we evaluate the connection between gene expression, invasion, tumor's prevalence and survivability in the UC patients; we give some data on our own researches in the UC diagnostics improvement, study of expression of cancer/testis antigen and detection of abnormalities in genetic code in the UC.

Keywords: urothelial cancer, diagnosis, molecular-genetic markers and biomarkers, cancer-testis antigens, prognosis, survival

Correspondence Author:

S.V. Salnikova PhD, MD, Institute of Immunophysiology, 117513 Moscow, Russia. E-mail: drsalnikova@mail.ru; tslavyanskaya@gmail.com

REFERENCES

1. *Condition of cancer care for Russian population in 2016*. Edited by A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, G.V. Petrova, P.A. Herzen. Moscow Scientific and Research Oncological Institute — branch of Federal State Budgetary Institution «National Medical Radiological Research Center» under Russian Ministry of Healthcare. Moscow. 2017. P. 236. (in Russian).
2. Sobin L.Kh., Gospodarovich M.K., Vittekind K. *TNM: Classification of malignant tumors. Translated from English*. Edited by N.N. Blinova. St. Petersburg. Aesculapian. 6th Edition. 2003. 244 p. (in Russian)
3. The Cancer Genome Atlas Research network. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature* 2014; 507(7492):315—22.
4. Eriksson P., Aine M., VeerlaV., Liedberg F., Sjö Dahl G, Höglund M. Molecular subtypes of urothelial carcinoma are defined by specific gene regulatory systems. *BMC Med Genomics* 2015;8:25. doi: 10.1186/s12920-015-0101-5.
5. J. Ryan Mark, Jean Hoffman-Censite and Leonard G. Gommella Basic concepts in immunotherapy for bladder cancer. *AJHO*. 2017; 13(9):12—17.
6. Nitu Kumari, Uma S. Dubey, Usha Agrawal. Evolution of Classification Of Bladder (Urothelial) Cancer. *Bladder*

- Cancer Classification. NJIRM* 2015; Vol. 6(6) Nov — Dec. PP 89—94.
7. Sjö Dahl G., Lövgren K., Lauss M., Patschan O., Gudjonsson S., Chebil G., Aine M., Eriksson P., M°ansson W., Lindgren D., Fernö M., Liedberg F., Höglund M. Toward a molecular pathologic classification of urothelial carcinoma. *Am. J. Pathol* 2013;183(3):681—91.
 8. Choi W., Porten S., Kim S., Willis D., Plimack E.R., Hoffman-Censits J., Roth B., Cheng T., Tran M., Lee I.L., Melquist J., Bondaruk J., Majewski T., Zhang S., Pretzsch S., Baggerly K., Siefker-Radtke A., Czerniak B., Dinney C.P., McConkey D.J. Identification of distinct basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer with different sensitivities to frontline chemotherapy. *Cancer Cell*. 2014; 25(2):152—65.
 9. Skryabin N.A., Kasevarova A.A., Denisov E.V., Lebedev I.N. Methods of DNA methylation research: possibilities and prospects of use in oncology. *Siberian oncological magazine*. 2003. № 6. p. 65—69. (in Russian)
 10. Xylinas E., Cha E., Khani F., Kluth L., Rieken M., Volkmer B., Hautmann R., Küfer R., Chen Y., Zerbib M., Rubin M., Scherr D., Shariat S., Robinson B. Association of oncofetal protein expression with clinical outcomes in patients with urothelial carcinoma of the bladder. *J. Urol*. 2014 Mar; 191 (3): 830—41.
 11. Hoadley K.A., Yau C., Wolf D.M., Cherniack A.D., Tamborero D., Ng S., Leiserson M.D., Niu B., McLellan M.D., Uzunangelov V., Zhang J., Kandoth C., Akbani R., Shen H., Omberg L., Chu A., Margolin A.A., Van't Veer L.J., Lopez-Bigas N., Laird P.W., Raphael B.J., Ding L., Robertson A.G., Byers L.A., Mills G.B., Weinstein J.N., Van Waes C., Chen Z., Collisson E.A. Cancer Genome Atlas Research Network, Benz C.C., Perou C.M., Stuart J.M. Multiplatform analysis of 12 cancer types reveals molecular classification within and across tissues of origin. *Cell*. 2014. Aug 14; 158(4):929—44.
 12. Salnikova S.V., Slavyanskaya T.A. Comparative characteristics of the level of expression of tumor-associated antigens in various forms of invasion of bladder cancer. *Int. J. Immunoreh*. 2016. Vol. 18. № 2. P. 129.
 13. Slavyanskaya T.A., Salnikova S.V. Immunological criteria and markers to diagnose and predict bladder cancer. *International Journal on Immunorehabilitation*. 2009. Vol. 11. № 1. P. 24. (in Russian)
 14. Heim S., Mitelman F. *Cancer Cytogenetics: Chromosomal and Molecular Genetic Aberrations of Tumor Cells*. Wiley-Blackwell. 2015. 632 p.
 15. Uhlen M., Zhang C., Lee S., Sjöstedt E., Fagerberg L., Bidkhorji G., Benfeitas R., Arif M., Liu Z., Edfors F., Sanli K., von Feilitzen K., Oksvold P., Lundberg E., Hober S., Nilsson P., Mattsson J., Schwenk J.M., Brunnström H., Glimelius B., Sjöblom T., Edqvist P.H., Djureinovic D., Micke P., Lindskog C., Mardinoglu A., Ponten F. A pathology atlas of the human cancer transcriptome. *Science*: 2017 Aug 18; 357(6352).
 16. Slavyanskaya T.A., Salnikova S.V., Sepiashvili R.I. Chromosome aberrations and the expression of tumor-associated antigens by tumor cultures of bladder cancer with long-term cultivation. *Int. J. Immunoreh*. 2016. Vol. 18. № 2. P. 128—129.
 17. Owen T.M. Chan, Hideki Furuya, Ian Pagano, Yoshiko Shimizu, Kanani Hokutan, Lars Dyrskjøt, Jørgen Bjerggaard Jensen, Per-Uno Malmstrom, Ulrika Segersten, Filip Janku, Charles J. Rosser. Association MMP-2, RB and PAI-1 with reduced survival without relapse and overall survival in patients with bladder cancer. *Oncotarget*. 2017. Nov. 21; 8 (59): 99707—21.
 18. Daniel S. Chen, Bryan A. Irving and F. Stephen Hodi. Molecular Pathways: Next-Generation Immunotherapy-Inhibiting Programmed Death-Ligand 1 and Programmed Death-1. *Clin. Cancer Res*. Dec. 15, 2012. Vol. 18. N. 24. P. 6580—88.
 19. Salnikova S.V., Slavyanskaya T.A. Comparative analysis of tumor-associated antigen's expression level at different invasion types of bladder cancer. *Allergology and Immunology*. 2016. Vol. 17. № 4. P. 258. (in Russian)
 20. Yoshimoto R., Mayeda A., Yoshida M., Nakagawa S. MALAT1 long non-coding RNA in cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2016 Jan; 1859 (1): 192—9.
 21. Deng Hou, Lijia Zhou, Longwang Wang, Gallina Kazobinka, Xiaoping Zhang, and Zhaohui Chen. CLCA4 inhibits proliferation, migration, and invasion of bladder cancer cells by inhibiting the PI3K/AKT pathway. *Oncotarget*. 2017. Nov.3; 8 (54): 93001—93013.
 22. Zhang E., Gu J., Xu H. Prospects for chimeric antigen receptor modified T cell therapy for solid tumors. *Molecular Cancer* (2018) 17:7. DOI 10.1186/s12943-018-0759-3.
 23. McGowan-Jordan J., Simons A., Schmid M. *ISCN: an international system for human cytogenomic nomenclature*. Basel, New York: Karger. 2016. 140 p.
 24. Ali Ghasemzadeh, Trinity J. Bivalacqua, Noah M. Hahn, and Charles G. Drake New Strategies in Bladder Cancer: A Second Coming for Immunotherapy. *Clin. Cancer Res*. 2016. Feb. 15; 22 (4): 793—801.
 25. Venkatrao Vantaku, Sri Ramya Donepudi, Chandrashekar R. Ambati, Feng Jin, Vasanta Putluri, Khoa Nguyen, Kimal Rajapakshe, Cristian Coarfa, Venkata Lokesh Battula, Yair Lotan, Nagireddy Putluri. Expression of ganglioside GD2, reprogram the lipid metabolism and EMT phenotype in bladder cancer. *Oncotarget*. 2017 Nov 10; 8 (56): 95620—31.

Received 14.01.2018

Accepted 15.02.2018