

¹ *Городской клинический
онкологический диспансер
(Россия, Санкт-Петербург)*

² *Санкт-Петербургский
государственный
университет
(Россия, Санкт-Петербург)*

ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИИ ОПУХОЛЕЙ МОЧЕПОЛОВОЙ СИСТЕМЫ

П.С. Борисов¹, Р.В. Орлова^{1,2}, Э.Э. Топузов¹

BIOLOGY CHARACTERISTICS IN UROLOGICAL CANCERS DEVELOPEMENT

П.С. Борисов¹

*Кандидат медицинских наук, онколог,
главный специалист по стратегическому развитию,
Городской клинический онкологический диспансер,
198255, Санкт-Петербург, пр. Ветеранов, 5б.*

Р.В. Орлова^{1,2}

*Доктор медицинских наук, профессор,
заведующая кафедрой онкологии,
медицинский факультет,
Санкт-Петербургский государственный университет;
главный специалист по лекарственному
противоопухолевому лечению,
Городской клинический онкологический диспансер,
198255, Санкт-Петербург, пр. Ветеранов, 5б.
E-mail: Orlova_rashbida@mail.ru,*

Э.Э. Топузов¹

*Доктор медицинских наук,
профессор,
главный врач.
E-mail: eltop@inbox.ru,*

P.S. Borisov¹

*Candidate of Medicine,
Chief Specialist for Strategic Development,
Oncologist,
City Clinical Oncology Dispensary,
198255, St. Petersburg, Pr. Veteranov, 5b.*

R.V. Orlova^{1,2}

*Doctor of Medicine, Professor,
Head of Department of Oncology,
Medical Faculty,
St. Petersburg State University;
Chief Specialist in Drug Antineoplastic Treatment,
City Clinical Oncology Dispensary,
198255, St. Petersburg, Pr. Veteranov, 5b.
E-mail: Orlova_rashbida@mail.ru,*

E.E. Topuzov¹

*Doctor of Medicine, Professor,
Chief Physician.
E-mail: eltop@inbox.ru,*

Актуальность. Рак мочевого пузыря (РМП) занимает 3-е место среди всех опухолей по числу генетических мутаций. Новые методики генетического типирования позволили выявить точковые генетические мутации, открыв перспективное направление поиска эффективного лечения для данного вида опухоли.

Цель данной статьи – обзор современных представлений о механизме развития РМП и возможности его внедрения в клиническую практику.

В статье представлен обзор литературы, включивший статистические данные опухолей мочеполовой системы, патогенез развития РМП и перспективных методов лечения данной патологии.

Выводы. РМП является опухолью, сопряженной с большим числом мутаций генов. Современные технологии позволили установить и структурировать генетические события, возникающие в уротелиальной карциноме. Данные точковые генные альтерации рассмотрены как потенциальные мишени, как в отношении оценки прогноза течения заболевания, так и подбора таргетной противоопухолевой терапии. Определение мутационной нагрузки и генетическое секвенирование позволили максимально приблизить информацию о генных альтерациях для понимания практических специалистов.

Ключевые слова: мышечно-инвазивный РМП, немышечно-инвазивный РМП, генетическое секвенирование, канцерогенез, *FGFR3*, *TP53*, люминальный подтип, базальный подтип.

Relevance. Bladder cancer is the 3rd among all tumors by the number of genetic mutations. Implementation of new techniques in routine clinical practice give us an opportunity to identify genetic changes, open up the prospects for effective treatment depending of the tumor type.

Aim. The purpose of this article is to review the current understanding of the mechanism of bladder cancer and the possibility of its implementation in clinical practice.

Description of the object of study. The article provides an overview of the statistics, pathogenesis of the development and treatment of bladder cancer.

Findings. Bladder cancer is a tumor with a large number of gene mutations. Modern technologies have allowed to establish and structure genetic events arising in the development of bladder cancer. These point gene alterations can serve as potential targets for assessing the prognosis of the course of the disease, as well as the selection of targeted antitumor therapy. Determination of the mutational load and genetic sequencing are methods as close as possible to the understanding of practical specialists.

Keywords: *urothelial carcinoma, muscle invasive bladder cancer (MIBC), non-muscle invasive bladder cancer (NMIBC), FGFR3, TP53, oncogene, mutation load, genetic profiling.*

Введение

Изучение биологии роста опухолей мочеполовой системы в эпоху современного лекарственного лечения и малоинвазивных хирургических методик является крайне актуальным. За последние 15 лет произошли радикальные перемены в понимании механизмов возникновения и развития большинства типов опухолей. Так, из 5 видов урогенетальных раков алгоритмы лечения остаются практически неизменными только для рака яичка и рака полового члена. Первые связаны с достигнутыми успехами в лечении в начале 1980-х, когда летальные формы герминогенных опухолей перешли в разряд курабельных с достигнутым уровнем 5-летней выживаемости более 95%. В отличие от рака яичка, лечение рака полового члена является наименее успешным и в эпоху таргетной терапии и терапии ингибиторами «контрольных точек». Показатели выживаемости, в особенности для местно-распространенных и метастатических форм, не превышают 10%. Однако, вероятно, в ближайшее время ожидается «прорыв» в лечении данного вида рака, благодаря описанной в литературе связи плоскоклеточного рака с вирусом папилломы человека и внедрением в рутинную превентивную медицину вакцинации от данного вируса, как у женского населения, в отношении профилак-

ки развития рака шейки матки, так и рака полового члена у мужчин.

Лечение рака предстательной железы (РПЖ), почки (РП) и мочевого пузыря (РМП) в последнюю декаду кардинально изменилось, в связи с полученными данными об увеличении МОВ при использовании современных методик противоопухолевого лечения.

Успех в лечении РПЖ связан с технологиями малоинвазивной хирургии (робот-ассистированная хирургия, стереотаксическая лучевая терапия), сопровождающимися значительным улучшением качества жизни (QoL). Кроме того, выявлены и индолентные формы РПЖ, для которых может использоваться тактика активного динамического наблюдения, не требующая применения противоопухолевых лекарственных препаратов. Успехи лекарственной терапии касаются гормон-чувствительных опухолей с характеристиками высокого риска прогрессирования, а также для кастрационно-рефрактерного РПЖ.

С 2007 года отмечается рост показателей МОВ у больных метастатическим РП. В первую очередь, это связано с внедрением препаратов «таргетной» терапии, способных воздействовать на различные пути канцерогенеза. Однако с течением времени у больных развивалась резистентность к лечению, а эффективность последующих линий терапии была ниже достигнутых показателей времени без прогрессирования (ВБП) в

первой линии. Использование комбинаций таргетных препаратов не увеличивало их эффективность и сопровождалось развитием нежелательных явлений, значимо снижающих QoL больных. Однако, после открытия нового иммуно-опосредованного механизма развития опухоли появились препараты, способные воздействовать на микроокружение опухоли – ингибиторы «контрольных точек». С тех пор активно исследуются комбинации ингибиторов контрольных точек и таргетных препаратов в лечении метастатического и местно-распространенного рака почки.

Для РМП открытие иммуноонкологических препаратов стало наиболее знаковым среди всех опухолей урогенитального тракта. В первую очередь, это было связано с весьма ограниченным спектром эффективных схем полихимиотерапии и высокой долей противопоказаний к назначению платин-содержащих препаратов. Во вторую очередь, РМП, инвазивная его форма, является крайне генетически нестабильной опухолью, что связано и с быстрым ростом опухоли и достижением фатальных характеристик.

В данном обзоре будут представлены статистические данные наиболее часто встречающихся раков мочевого пузыря. В дальнейшем, авторы сконцентрируют свое внимание на механизмах патогенеза и его клинической значимости уротелиальной карциномы (УК), как наиболее актуальной формы опухоли, претерпевшей кардинальные изменения, как в отношении этиологии и патогенеза, так и в отношении методов эффективной лекарственной противоопухолевой терапии.

Статистические данные

Рак мочевого пузыря. По распространенности РМП занимает 13-е место среди всех онкологических заболеваний и 9-е место среди онкологических заболеваний у мужчин в России [1]. По количеству смертельных исходов уротелиальный рак (УР) находится на 17-м месте [8]. РМП представляет собой разнородную по своему гистологическому строению группу новообразований. Более 90% опухолей мочевого пузыря представлены переходно-клеточным раком. Меньший процент приходится на плоскоклеточный рак и аденокарциному мочевого пузыря. Опухоли с минимальной инвазией составляют около 75% от всех случаев диагностики РМП и представлены не мышечно-инвазивным РМП (НРМП), распространяющимся до собственной пластины слизистой стенки пузыря, что соответствует градации Та, Т1, CIS по классификации TNM. В 25% случаев опухоль распространяется вглубь стенки, в мышечный и более глубокие слои. Данный вид РМП в мировой литературе описан как мышечно-инвазивный РМП (МИРМП) [9]. В 10% случаев НРМП прогрессирует и переходит в мышечно-инвазивную форму.

Истинно инвазивные новообразования возникают в отсутствие предшествующих опухолевых по-

ражений за исключением высоко злокачественной карциномы in situ (CIS). Первичный МИРМП в сочетании с CIS ассоциируется с летальным фенотипом, при котором более чем у 50% больных развиваются метастазы и наступает смерть от уротелиального рака, несмотря на проводимую современную лекарственную терапию.

Рак почки занимает 3-е место среди опухолей мочевого тракта, составляя около 3% всех злокачественных новообразований у взрослого населения в мире.

Ежегодно в мире регистрируют около 300 тыс. новых случаев РП и более 134 тыс. смертей от этого заболевания. В последние годы заболеваемость РП в мире ежегодно увеличивается на 3–5%, а смертность уменьшается [10]. С 1990 года заболеваемость данной патологией среди мужчин выросла почти в 4 раза, среди женщин – в 2 раза. В то же время смертность имеет тенденцию к снижению [7].

В России в 2017 году зарегистрированы 13556 заболевших мужчин и 11223 женщины, умерли 5180 мужчин и 3206 женщин [1].

Наиболее частым (80–85%) гистологическим типом рака почки является светлоклеточный почечноклеточный рак (скПКР). Прогноз при ранних, локализованных формах скПКР (I и II стадии) достаточно благоприятен, и показатели 5-летней выживаемости составляют 70%, однако при наличии отдаленных метастазов (IV стадия) они не превышают 10%. Представляется важным определение прогностических молекулярно-генетических маркеров прогрессирования скПКР.

Длительное, практически бессимптомное течение является причиной поздней диагностики РП: около 40% пациентов на момент постановки диагноза имеют либо большую первичную опухоль, либо отдаленные метастазы. Кроме того, у 30% пациентов с локализованным процессом метастазы развиваются после хирургического удаления первичной опухоли.

Рак предстательной железы. На сегодняшний день РПЖ является одним из наиболее распространенных среди всех злокачественных новообразований и ведущих причин онкологической смертности у мужчин в России [2].

В 2017 году в России зарегистрировано 40785 новых случаев РПЖ. По темпу ежегодного прироста заболеваемости РПЖ занимает 1-е место среди других онкологических заболеваний у мужчин, стандартизованный показатель заболеваемости составляет 40,47 на 100 тыс. населения. Прирост показателя заболеваемости в России с 2007 по 2017 год составил 70,61%.

Несмотря на существенный рост ранней диагностики и успехи в лечении пациентов на поздних стадиях заболевания, за последние 10 лет стандартизованный показатель смертности от РПЖ вырос с 10,33 до 11,98 на 100 тыс. мужского населения.

Исследование уровня простатического специфического антигена (ПСА) привело к значимому увеличению первичной диагностики локализованных форм РПЖ, тем не менее, частота выявления распространенных форм заболевания остается высокой. Так, в 2017 году IV стадия РПЖ выявлена у 19,1% больных. У мужчин в возрасте 60–69 лет РПЖ является причиной смерти в 6,2% случаев, а в возрастной группе >70 лет – в 14–16%, занимая 2-е место после опухолей трахеи, бронхов и легкого. Таким образом, РПЖ остается одной из наиболее актуальных проблем в онкологии на сегодняшний день.

Процессы развития рака мочевого пузыря

Регуляция процесса роста и дифференцировки клеток в организме человека находится под строгим контролем двух разнонаправленных регуляторных систем – протоонкогенов и генов-супрессоров. Первая стимулирует клетки к делению в ответ на внешний сигнал, а продукты генов-супрессоров, наоборот, возвращают ее в состояние покоя после прекращения внешнего стимулирования. Нарушение динамического равновесия между этими системами способно привести к инициации процессов злокачественной трансформации клетки. Превращение нормальной клетки в злокачественную – многостадийный и последовательный процесс. Он включает в себя следующие события:

1. Множественные повреждения генов, контролирующих клеточную пролиферацию, дифференцировку, морфогенетические реакции и апоптоз;
2. Повреждение ключевых перекрестных звеньев сигнальных путей;
3. Нарушение нормального синтеза белка.

В конечном счете, злокачественный фенотип опухоли определяется количественным и качественным изменением профиля белковых молекул, вовлеченных в канцерогенез.

Сегодня в качестве этапов канцерогенеза мочевого пузыря рассматриваются повреждения и поломки, накапливающиеся в ДНК опухолевой клетки, как в виде хромосомных изменений, при которых приобретает или теряется материал от целых хромосом, до точковых мутаций в генах в виде замены одного нуклеотида на другой. Также собраны данные об эпигенетической регуляции генной активности, при которых структура ДНК остается сохранной, но в результате ее химической модификации происходит изменение генной экспрессии и как следствие – РНК и белков.

Особенности клинического течения РМП диктуют необходимость поиска параметров, ассоциированных с ранней диагностикой рецидивов опухоли и неблагоприятным исходом заболевания. Одним из возможных путей является поиск прогностических параметров в отношении исхода течения РМП.

Очевидно, что клинические и морфологические характеристики опухолевого роста обусловлены различиями в генотипе опухолей. Проведенные исследования по определению генетических мутаций в отношении РМП установили факт, что НМРМП и МИРМП развиваются по двум независимым молекулярно-генетическим путям [11].

Для получения прозрачной картины развития РМП необходимо ответить всего на один вопрос – существует ли общий предшественник для поверхностного и инвазивного РМП или они развиваются независимо друг от друга?

Если предшественники разные, то молекулярные события, приводящие к ним, возникают на ранней стадии опухолеобразования и являются ключевыми в процессе злокачественной трансформации клетки. Наличие единого предшественника означает, что критические молекулярные изменения, способные однозначно разделить эти два опухолевых типа, происходят уже после инициации канцерогенеза и выступают пусковым механизмом опухолеобразования.

Современные представления о молекулярных характеристиках НМРМП

НМРМП – наиболее распространенная клиническая форма заболевания. Опухоли этого типа развиваются на поверхности слизистой оболочки мочевого пузыря, с возможным прорастанием в подслизистый слой, но без мышечной инвазии (pT_a, pT₁). Опухоли отличаются частым рецидивированием и мультифокальным типом роста, но более благоприятной и хорошей выживаемостью в сравнении с МИРМП. Общая 5-летняя выживаемость больных НМРМП превышает 70% [3]. Для данной формы опухоли не свойственна прогрессия и мышечная инвазия, тем не менее, примерно 15–20% таких опухолей в процессе рецидивирования могут прогрессировать в инвазивную форму.

Поверхностный РМП развивается, преимущественно через гиперплазию. Потеря длинного плеча 9 хромосомы (9p) является пусковым механизмом развития НМРМП [12].

Ведущую роль в развитии НМРМП играют выявленные мутации в генах фактора роста фибробластов 3 (FGFR3) и суперсемейства RAS (HRAS). По различным данным, от 50 до 80% первичного уротелиального рака при НМРМП несут мутации гена FGFR3, тогда как в инвазивных опухолях и их метастазах их частота не превышает 10%. В исследованных литературных источниках мутации FGFR3 ассоциируются с развитием НМРМП, ранней стадией заболевания, высокой и умеренной дифференцировкой опухоли, относительно благоприятным прогнозом при оценке выживаемости пациентов РМП.

Миссенс-мутации фосфоинозитид-3-киназы (PIK3CA) встречаются в 15–25% случаях поверхностного РМП и значительно меньше при инвазивном. Зачастую мутации сопряжены с потерей гетерозиготности

гена PTEN, продукт которого ингибирует сигнальный путь PIK3A/AKT. Данное событие также ассоциируется с низким прогрессирующим НМРМП.

Мутации генов FGFR3 и PIK3CA являются независимыми друг от друга событиями, однако в 20% случаев наблюдается сочетание данных мутаций.

Мутация в гене TERT. Абберантная реактивация гена теломеразы TERT наблюдается в 90% злокачественных новообразований, помогая опухолевым клеткам преодолевать лимит делений. Мутации TERT рассматриваются как иницирующие драйверы, встречающиеся на ранних этапах развития РМП, с частотой мутаций до 70% в первичных опухолях, что позволяет рассматривать данные изменения как перспективную прогностическую мишень. Кроме того, мутация TERT может быть определена в осадке мочи на стадии предраковых заболеваний – гиперплазии и дисплазии, что позволяет рассматривать ее как ранний скрининговый маркер.

Поверхностный РМП развивается на участке поля канцеризации, в том числе как мультифокальная опухоль, ему предшествует фаза гиперплазии уротелия (рис. 1). На стадии гиперплазии происходит делеция 9-ой хромосомы и мутации FGFR3 и HRAS. Мутантные гены запускают процесс злокачественной трансформации, активируя RAS-сигнальный путь и стимулируя фосфатидилинозитол-3-киназу (PI3K), а также активаторы сигнальной транскрипции и трансдукции. Мутация PIK3CA является наиболее часто встречаемым событием, достигая уровня в 25%. Отмечены также мутации стромального антигена (STAG) и других генов. Каскад данных генетических изменений приводит к образованию НМРМП. Активация

сигнального ETK/RAS/RAF пути играет ведущую роль в обновлении и пролиферации эпителиальных клеток посредством митогенного сигнала, который передается с клеточной поверхности к ядру.

Помимо FGFR3, в НМРМП обнаруживается и гиперэкспрессия других рецепторных тирозинкиназ ERBB2 (также известного как HER2), эпидермального фактора роста (EGFR), PTEN, NRAS. Отдельно следует отметить, что в НМРМП практически не встречаются мутации транскрипционного фактора p53 [6].

Таким образом, развитие НМРМП предполагает преимущественное повреждение системы протоонкогенов и ее последующую активацию для опухолеобразования.

Также в НМРМП идентифицированы и некоторые опухолевые супрессорные гены, принимающие участие в инициации данной формы неагрессивного уротелиального рака. Среди них участвующий в регуляции клеточного цикла ген CDKN2, локализованный в 21 локусе короткого плеча 9 хромосомы (9p21), ген TSC1 (9q34), который участвует в регуляции сигнального mTOR пути. Мутация CDKN2A ассоциирована с агрессивным течением опухолевого процесса.

Современные представления о молекулярных характеристиках МИРМП

РМП занимает 3-е место по частоте мутации генов репарации ДНК среди других злокачественных образований.

В отличие от НМРМП, инвазивный РМП является менее частым событием, на его долю приходится до 20% больных. Данный вид РМП характеризуется прорастанием в мышечный слой (pT2, pT3, pT4),



Рис. 1. Схема патогенеза развития не мышечно-инвазивного (НМРМП) и мышечно-инвазивного (МИРМП) рака мочевого пузыря. CIS – карцинома «in situ», EMT – эпителиально-мезенхимальная трансформация. Прерывистой линией выделены стадии предраковых изменений (гиперплазия и дисплазия), толстой линией – два основных типа РМП (поверхностный – НМРМП и инвазивный – МИРМП).

агрессивным течением и значительной смертностью. Пациенты с МИРМП погибают в среднем через 2 года после установления диагноза. А показатель 5-летней выживаемости для пациентов метастатическим РМП составляет менее 6%.

Мутации генов распределяются неравномерно в зависимости от типа повреждения и вида РМП. Подавляющее большинство мутаций происходит именно в первичном МИРМП или в прогрессирующем и метастазирующем РМП, но не в НМРМП. При РМП в геноме опухолевых клеток происходит мутация практически всех известных нам генов. Генетическая и хромосомная нестабильность одна из основных характеристик МИРМП. Инвазивный уротелиальный рак генетически не стабилен и характеризуется одной из самых высоких генетических мутаций (более 300) среди всех онкологических заболеваний (рис. 2).

Как представлено на рисунке 1, предраковые изменения МИРМП включают стадию дисплазии с мутациями TP53, амплификацией E2F3, крупными абберациями в 9-ой хромосоме в отсутствии активирующих мутаций в FGFR3 и HRAS. После наступает стадия карциномы *in situ* (CIS) с инактивацией RB1. Затем, на месте CIS развивается инвазивный рак с большим количеством дополнительных аббераций (делеции PTEN, FHIT, потери 2q, 8p, 11q).

Таким образом, в противоположность НМРМП в инвазивной форме чаще выявляется повреждение генов-супрессоров опухолевого роста, T53, RB1 и PTEN. Нарушение функции именно этих основных регуляторов клеточного цикла приводит к развитию нестабильности генома, и, как следствие, к накоплению клеткой множества молекулярно-генетических аббераций и приобретению антиапоптотического фенотипа [4].

Множественным хромосомным абберациям при МИРМП предшествуют точковые мутации в генах, влияющих на сегрегацию хроматид в митозе (STAG1/2 – гены когезина, а также гены ESPL1, SMC1-3) на структуру хроматина (KDM6A, MLL2). Каждая из них мутирует в МИРМП в 20–30% случаев. Совокупность нарушений генов – хромотрипсис – одномоментное образование множественных хромосомных перестроек.

Так, при экспериментальной гиперэкспрессии SV40, ведущей к инактивации p53 и Rb, у модельных животных при небольшом увеличении числа копий SV40 наблюдали развитие карциномы *in situ* (CIS), а при значительном увеличении числа копий развивались инвазивные опухоли мочевого пузыря. Предполагается, что, хотя полная инактивация гена p53 при малом количестве копий SV40 ведет к развитию CIS, для дальнейшей прогрессии в инвазивный РМП необходимы другие факторы, среди которых основным считается инактивация функции гена ретинобластомы (Rb) [13].

Развитие опухоли мочевого пузыря, помимо генов p53 и Rb зависит и от состояния других регуляторов

клеточного цикла (p21, p27), которые осуществляют контроль пролиферативной активности клетки.

В развитии МИРМП важную роль играет активация пути PTEN/PI3K/AKT/mTOR. Ингибирование p53 и PTEN приводит к развитию CIS с последующей инвазией в мышечный слой. При сравнительном анализе показано, что снижение экспрессии PTEN и гиперактивация AKT-сигнального пути характерны для групп инвазивных опухолей [13]. Клинические различия НМРМП и МИРМП, как и молекулярный патогенез каждой из форм, обусловлен видом повреждения в геноме опухолевых клеток. Пролиферация и дифференцировка клеток контролируется протоонкогенами и генами супрессорами. Однако можно предположить, что сдвиг равновесия в пользу той или иной системы регуляторов, происходящий в ключевой момент канцерогенеза, способен определить дальнейший путь развития опухоли. При этом развитие неинвазивной опухоли происходит преимущественно по пути активации онкогенов, тогда как генез инвазивного рака идет преимущественно по пути инактивации генов-супрессоров [5].

Таким образом, суммируя вышеизложенное, можно представить схему развития РМП. Пусковым механизмом является делеция короткого или длинного плеча 9 хромосомы. Дальнейшая активация РМП определяется наличием мутации в генах FGFR3 или TP53. В первом случае запускается рост опухоли по типу гиперплазии с последующим развитием НМРМП с высокой или умеренной дифференцировкой опухолевых клеток. Повреждение TP53 в результате мутации/ делеции короткого плеча 17 хромосомы (17p) ведет к тяжелой дисплазии и развитию CIS с последующим развитием МИРМП. Однако, остается нерешенным один вопрос, является ли pT1 самостоятельной группой опухолей или представляет собой этап перехода от поверхностного к инвазивному РМП.

Несмотря на значительный прогресс последних лет в изучении развития РМП, до сих пор нельзя однозначно сказать, существует ли общий предшественник для развития обеих форм опухоли.

Для ответа на данный вопрос необходимо рассмотреть данные литературы об уротелиальных стволовых клетках и путях их прогрессирования.

Идея о существовании в организме взрослого человека клеток эмбрионального типа, которые могут давать начало клеткам опухоли, была выдвинута еще в XIX столетии. Гипотезу о возникновении опухоли из специальных клеток высказывал Рудольф Вирхов. Однако, подтверждение данной гипотезы было получено после открытия экспериментальных методов клонирования стволовых клеток нормальной ткани. Существование стволовых клеток (СК), обладающих высоким потенциалом деления и дифференцировки было показано для различных клеточных популяций. СК опухоли крайне чувствительны к сигналам микроокружения и стромальным взаимодействиям. Важную

роль играют сигналы интегриновых взаимодействий с межклеточным матриксом, а также сигнальные пути, которые в нормальных условиях активируются только в процессе эмбрионального развития [14]. Ассиметричное деление СК, в результате которого формируется полная копия СК и клетка, не способная ассиметрично делиться, но обладающая неконтролируемым пролиферативным потенциалом и высокой инвазивностью.

Слизистая оболочка мочевого пузыря состоит из базальных и люминальных клеток, формируя переходо-клеточный эпителий. Степень дифференцировки клеток повышается при удалении от базальной мембраны, при этом изменяется профиль экспрессии цитокератинов и цепей ламинина. В норме базальные клетки мочевого пузыря экспрессируют цитокератины 5 и 17 (СК5 и СК17), составные цепи молекулы ламинина, бета-интегрины и гиалуроновую кислоту (CD44). Клетки базального слоя делятся, образуя самостоятельно поддерживающуюся популяцию. Промежуточные клетки утрачивают способность экспрессировать ламинины и другие компоненты межклеточного матрикса, они экспрессируют цитокератины СК5 и СК18, а их пролиферативный потенциал ограничен. Зонтичные клетки, представляющие самый верхний ряд слизистого слоя, являются высоко дифференцированными клетками, они неспособны к делению, но экспрессируют уроплакины и СК20.

В последние годы ученые выделили и охарактеризовали стволовые клетки РМП, которые имеют сходство с базальными клетками уротелия по профилю экспрессии описанных выше цитокератинов и цепей ламинина. Большинство изолированных клеток демонстрировали экспрессию Gli1, являющегося мишенью сигнального пути Hedgehog, действующем при эмбриональном развитии. Популяции клеток, определенных как опухолевые стволовые клетки РМП, достаточно гетерогенна.

Таким образом, с одной стороны, сегодня считается общепринятым, что различие между поверхностным и инвазивным РМП осуществляется при появлении одного из двух событий: мутации FGFR3 или инактивации p53/Rb/PTEN. С другой стороны, пока не найдено достоверных свидетельств, определяющих, происходят ли эти события в одной клетке, предположительно базальной или осуществляются в различных клетках предшественниках уротелия.

Определение молекулярных подтипов РМП

В последние несколько лет обсуждается роль экспрессии генов РМП. Генетические нарушения в РМП представляют собой точечные мутации. Настоящей революцией в молекулярной онкологии стала возможность проводить глубокое профилирование соматических мутаций за счет технологии секвенирования

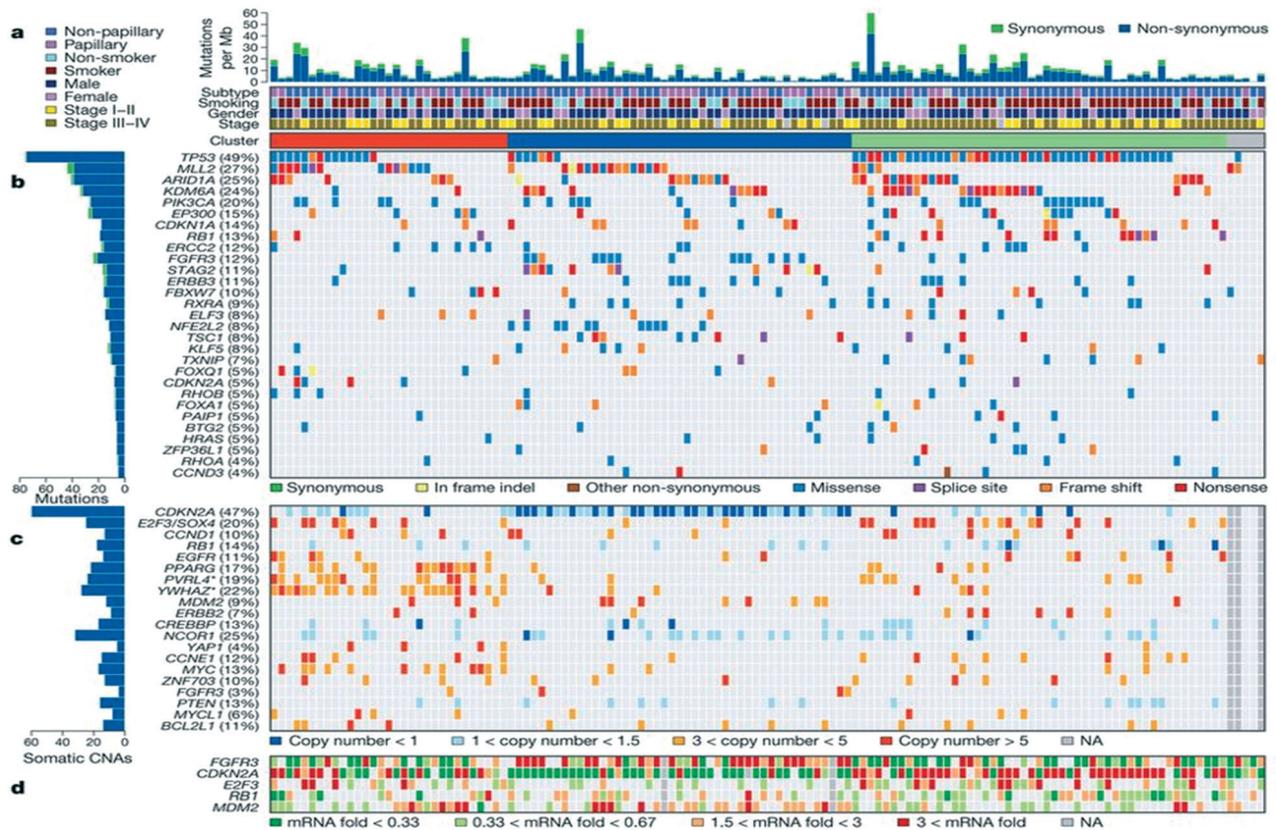


Рис. 2. Мутационная альтерации при раке мочевого пузыря. 2a – подтипы РМП; 2b, c – перечень исследуемых мутаций генов; красные локусы – экспрессия генов.

следующего поколения (next generation sequencing (NGS)), которая объединила все возможные мутации в одну схему, представленную на рисунке (рис. 2).

Подобное схематичное изображение генетических событий позволяет выявить и увидеть все генетические альтерации, возникающие при РМП: мы знаем, какие мутации, с какой частотой возникают, сколько мутаций в опухоли и т.п. Вне всяких сомнений, генетические технологии значительно приблизились к практической медицине. В любой момент можно исследовать образец опухоли, секвенировать ее и использовать полученную информацию для планирования тактики лечения. К сожалению, объем информации, возможный для использования в практической медицине, в настоящее время еще слишком мал.

Как говорилось в статье ранее, МИРМП представляет собой опухоль с наибольшим числом генетических изменений. Опухоль является генетически нестабильной и агрессивной практически в самом начале опухолевого процесса. Заболевание развивается с огромной скоростью. И это определяет клинический курс рака мочевого пузыря.

В зависимости от особенностей генетического повреждения были сформированы так называемые молекулярные классы РМП, играющие ключевую роль как в прогнозе, так и в планируемом лечении МИРМП.

В мировой научной литературе представлено 4 ведущих классификации, которых объединяет деление опухоли на 2 основных подтипа – люминальный и базальный: классификация UNC (Университет Северной Каролины), TCGA (The Cancer Genome Atlas, «Атлас генома рака»), MDA (классификация клиники MD Anderson) и LUND [15].

Разделение на классы или типы напрямую связано с особенностями строения уротелия, представленного в виде люминальных и базальных клеток. Классы, в свою очередь, представлены подтипами (рис. 3А) [16].

Люминальный папиллярный подтип представляет РМП, который прогрессировал в МИРМП из НМРМП. В случае если опухоль изначально инвазивная, то речь идет уже о люминальном инвазивном раке. Его характеристика отражена в виде выраженной инфильтрацией иммунными и стромальными клетками. Указанный факт позволяет предположить наличие чувствительности данного типа опухоли в отношении применения ингибиторов контрольных точек в отношении данного подтипа.

Система классификации UNC выделяет 2 класса опухолей мочевого пузыря: люминальный и базальный, внутри которого отдельно представлен базальный подтип с низкой экспрессией клаудина («Claudin-low»). Данный подтип РМП характеризуется отсутствием четкой дифференцировки эпителия и высоким уровнем иммунной инфильтрации.

Классификация MDA дополнительно выделяет люминальный тип с экспрессией p53, как отдельный вид люминального типа РМП.

Классификация TCGA выделяет 4 основных класса: базальный класс, кластер I и II и люминальный класс, кластер III и IV.

Скандинавская классификация Lund выделяет 5 подтипов РМП – базальный-URO-B и базальную опухоль, подобную сквамозной карциноме (SCC-подобный базальный), люминальный Uro-A и генетически нестабильный люминальный, а также люминальный инфильтративный.

Для каждого подтипа РМП имеются определенные генетические мутации, которые схематично представлены на рисунке (рис. 3В). На рисунке 3В отражена карта генетических альтераций, характерных для каждого типа РМП: так, отмечается высокая экспрессия маркеров пролиферативной активности в генетически нестабильном подтипе базального типа РМП. Базальный подтип claudin-low и кластер IV показывают высокую экспрессию Т-лимфоцитов и миелоидных клеток, в то время как UroA тип сопровождается экспрессией FGFR3. Гены, которые экспрессируются в околочеточном матриксе, определяются в p53 и инфильтративных подтипах.

При анализе данных исследованной литературы установлено, что базальный подтип с низкой экспрессией клаудина («Claudine Low») ассоциирован с выраженной иммунной инфильтрацией и более агрессивным течением процесса. В базе данных международного онкологического консорциума содержатся сведения об имеющихся точковых мутациях, изменениях и экспрессии структурных генов и регуляторных РНК, aberrантном метилировании генов в разных типах опухолей человека [17].

Клиническая значимость механизмов образования РМП, точковых мутаций и генетического типирования

Проведенный в статье анализ механизмов генетических изменений РМП несет и высокую клиническую ценность, которую можно объединить в 3 пункта:

1. Оценка прогноза течения опухоли;
2. Ответ на неоадъювантную ХТ;
3. Ответ на терапию ингибиторами «контрольных точек»:
 - a. Anti-PD-1,
 - b. Anti-PD-L1.

Особой прогностической значимостью обладают маркеры, которые позволяют уточнить прогноз при пограничных стадиях первичной опухоли (T) и степенях дифференцировки опухоли (G) Так, например, в результате проведенного исследования течения больных НМИРМП с характеристиками T1N0M0G3 (T1G3) по классификации TNM. Авторы обнаружили полярное течение заболевания в зависимости от присутствия отдельных видов мутаций генов. В исследовании выделили четыре группы больных T1G3, по возрастанию степени злокачественности:

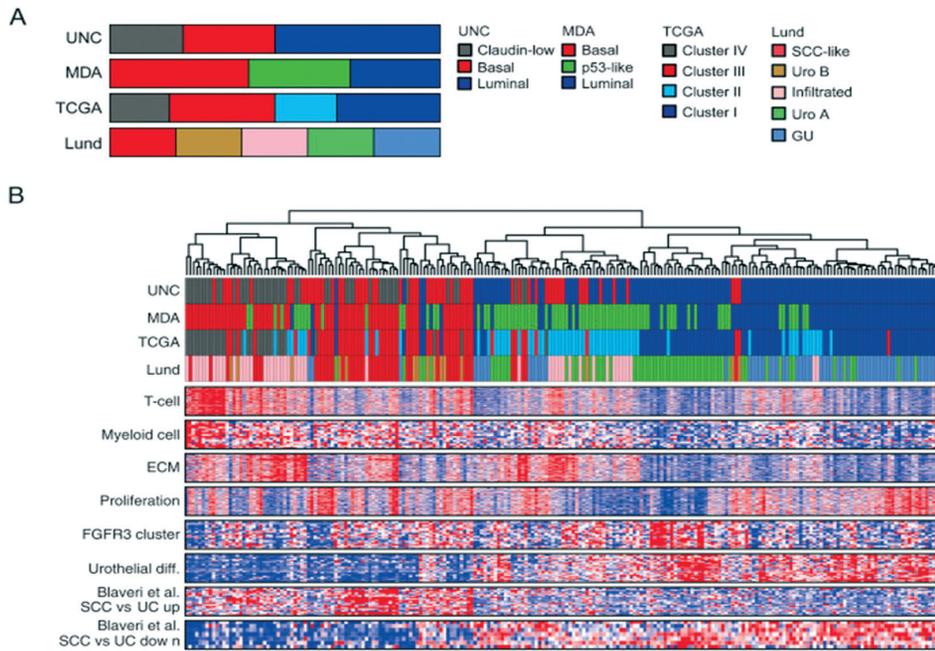


Рис. 3А. Основные молекулярные классы и подтипы РМП на основании ведущих классификаций – UNC, MDA, TCGA, Lund. Молекулярные подтипы в образцах ТУР мочевого пузыря до выполнения НАТ в отношении оценки дальнейшей эффективности НАТ(А).

Рис. 3В. Карта генетических мутаций. Данные мутаций биологически обоснованных генетических изменений образцов выполненного ТУР до начала выполнения НАТ. Отмечается высокая экспрессия Т-лимфоцитов и миелоидных клеток. Высокая экспрессия маркеров пролиферативной активности определялась в генетически нестабильных опухолях: подтип с низкой экспрессией клаудина и кластер IV, в то время как UroA тип сопровождается экспрессией FGFR3. Гены, которые экспрессируются в околочелюточном матриксе, определяются в p53 и инфильтративных подтипах.

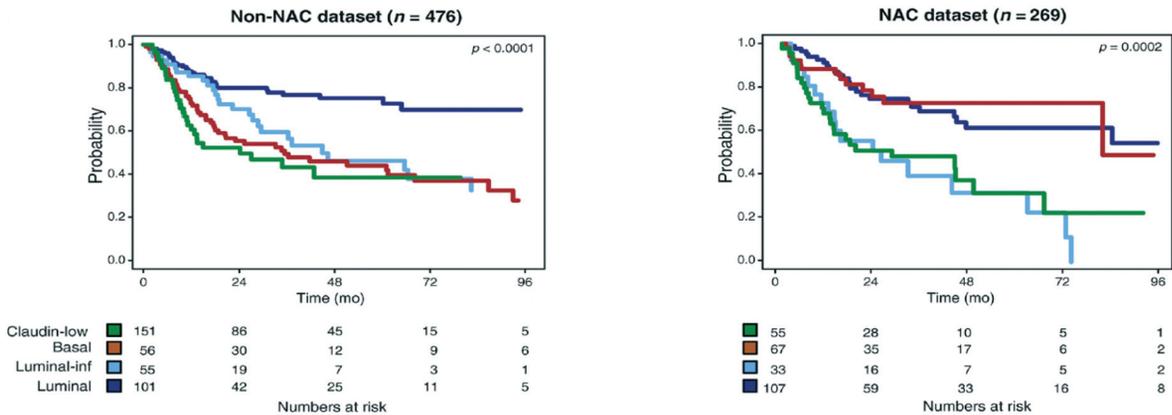


Рис. 4. Сравнительные данные применения неoadъювантной терапии (НАТ). 4А – без использования НАТ. 4Б – с применением НАТ. Зеленый – базальный тип с низкой экспрессией клаудитинов, красный – базальный тип, голубой – люминальный инвазивный, темно-синий – люминальный.

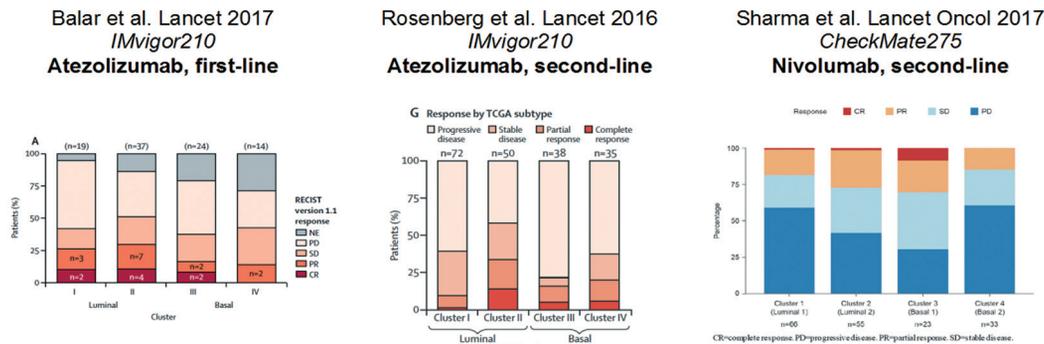


Рис. 5. Сравнительная оценка ответов на лечение ингибиторами «контрольных точек» в зависимости от подтипа опухоли.

Кластер I – мутации FGFR3, отдельные участки LOH 17p и 9p без хромотрипсиса;

Кластер II – амплификация участков 1q, 7 и 15 хромосом;

Кластер III – мутации TP53 (19% на стадии T1a и более 50% – на поздних стадиях), отсутствие мутаций FGFR3, хромотрипсис (но с относительно низкой частотой потери хромосомы 9);

Кластер IV – ярко выраженный хромотрипсис.

В статье авторами также было отмечено, что высокий метастатический потенциал РМП наблюдается в случае обнаружения делеций 10q (LOH в области локализации гена-супрессора PTEN), 16q и 22q, амплификациями 10p, 1q, 12p и 19 хромосом [18].

Значимость мутации генов, как прогностических маркеров, отражены в исследовании Sanguedocce F., выполненном в 2018 году. В работе исследован материал 67 больных. Проведена оценка прогностической значимости экспрессии ключевых участников системы репарации ДНК, выявленной иммуногистохимическим методом у больных низкодифференцированным НМРМП: MLH1, MSH2 и ERBB2. Выявлена обратная корреляционная зависимость между уровнем экспрессии исследованных в работе генов и показателями выживаемости без прогрессирования и безрецидивной выживаемостью НМРМП [19].

Мутации генов супрессоров несут потенциальную роль в оценке прогноза течения заболевания. Так, снижение экспрессии и функции протеина гена Rb сочетается с формированием агрессивных форм опухоли. Появление мутантных и измененных форм белка p53 в опухоли мочевого пузыря на фоне недостаточности белка p21 являются независимыми предикторами прогрессирования заболевания и снижения показателей выживаемости [20].

В исследовании 2017 года Seiler с соавторами показал убедительные данные зависимости лечебного ответа на неoadъювантную химиотерапию (НАТ) в зависимости от молекулярного подтипа РМП [21]. В работу было включено 269 больных МИРМП, которые получили специфическое противоопухолевое лечение с включением препаратов платины. Также был проведен и анализ выживаемости 476 больных РМП, получивших только хирургическое лечение, без НАТ.

Основываясь на полученных данных, преимущество НАТ обнаружено только для базального типа МИРМП. Незначительное улучшение результатов лечения при использовании НАТ достигнуто и в случае инфильтративно-люминального МИРМП (рис. 4). Для остальных подтипов МИРМП различий в показателях выживаемости получено не было.

Ограничивающим фактором значимости данного исследования был ретроспективный характер его выполнения. Для более четкого понимания целесообразности практического использования типов РМП требуются проспективные исследования.

Дополнительно, авторами было отмечено, что при наличии объективного ответа на лечение (патологический «downstaging») на фоне НАТ показатели выживаемости были значимо выше, вне зависимости от подтипа РМП.

С помощью применения классификаций подтипов МИРМП можно прогнозировать резистентность к химиотерапии: так, у p53-подобного РМП выявлена устойчивость к терапии схемами, содержащими цисплатин.

Технологии NGS позволяют оценить и прогноз ответа на иммунотерапию ингибиторами «контрольных точек». Различные подтипы РМП отличаются друг от друга степенью инфильтрации иммунными или стромальными клетками. В представленных 3-х крупных рандомизированных исследованиях (рис. 5) эффективности препаратов Атезолизумаб, в первой и второй линиях, и Ниволумаб, во второй линии, обнаружена зависимость частоты объективных и общих ответов от класса РМП [24, 25, 26]. Так, наивысший ответ на лечение получен при кластере I люминального подтипа I РМП. Наибольшее число прогрессирования при проведении терапии ингибиторами «контрольных точек» обнаружено в базальном типе, кластер IV.

Тем не менее, как представлено на рисунке, в каждом из подтипов РМП были зафиксированы как общие, так и объективные ответы (рис.5).

Основываясь на данных литературы, представленных в статье выше, сигнальный путь PIK3CA/AKT1/mTOR является наиболее активным в метастатической МИРМП. В связи с этим рассматривается возможность применения ингибиторов mTOR (эверолимус, темси-ролимус, ингибитор АКТ-МК2206) как самостоятельно, так и в сочетании с другими препаратами.

В 6–10% случаев прогрессирования НМИРМП характерна активация HER2 вследствие амплификации гена ERBB2. На основании многочисленных сведений о лечении рака молочной железы при обнаружении мутаций данного гена активно и успешно используются ингибиторы HER2 (трастузумаб, пертузумаб, лапатиниб), которые уже используются при лечении других онкологических заболеваний.

Потенциально, в отдельных случаях могут оказаться полезными ингибиторы FGFR3 (Пазопаниб) и FGFR1 (Патопаниб) [22].

Экспериментальный препарат МК-2206 направлен ингибирует PIK3CA с миссенс-мутациями в спиральном домене. Действие лекарственной молекулы направлено на лечение больных НМРМП с выявленными мутациями E542K и E545K [23].

Заключение

Рак мочевого пузыря представляет собой гетерогенное заболевание с множественными генетическими мутациями, развивающийся, в зависимости от формы опухоли (НМРМП или МИРМП), по двум

путям патогенеза. Неинвазивный РМП характеризуется высокой выживаемостью и малой долей (до 20%) прогрессирования с переходом в инвазивную форму РМП. В свою очередь, МИРМП представляет собой генетически нестабильную опухоль с низкими показателями выживаемости.

Развитие технологии секвенирования следующего поколения (NGS – next generation sequencing) привело к настоящей революции в молекулярной онкологии и позволило проводить глубокое профилирование соматических мутаций. Благодаря этой

методике были дифференцированы 2 типа РМП – мышечно-инвазивный и мышечно-инвазивный, как 2 отдельных заболевания с различными механизмами возникновения.

Генетические мутации, характерные для различных видов РМП, довольно разнообразны и представлены всеми типами структурно-функциональных нарушений генома человека при канцерогенезе. Они несут высокую потенциальную прогностическую ценность, являясь мишенями для применения современных таргетных противоопухолевых препаратов.

Перечень сокращений:

РПЖ	– рак предстательной железы
РП	– рак почки
РМП	– рак мочевого пузыря
мОВ	– медиана общей выживаемости
QoI	– качество жизни
ВВП	– время без прогрессии
УК	– уротелиальная карцинома
УР	– уротелиальный рак
CIS	– carcinoma in situ
TNM	– Международная классификация опухолей Tumor, Nodulus, Metastases
МИРМП	– мышечно-инвазивный рак мочевого пузыря
НМРМП	– не мышечно-инвазивный рак мочевого пузыря
скПКР	– светлоклеточный вариант почечноклеточного рака
ПСА	– простатический специфический антиген
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
РНК	– рибонуклеиновая кислота
FGFR3	– рецептор фактора роста фибробластов 3
PIK3CA	– фосфоинозитид-3-киназа
EMT	– эпителиально-мезенхимальная трансформация
EGFR	– рецептор эпидермального фактора роста
Rb	– ретинобластома
NGS	– секвенирование следующего поколения
НАТ	– неoadьювантная химиотерапия

Список литературы

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность) // Москва: МНИОИ им. П.А.Герцена – Филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. – 2018. – 250 с.
2. Заридзе Д.Г., Каприн А.Д., Стилиди И.С. Динамика заболеваемости злокачественными новообразованиями и смертности от них в России // Вопросы онкологии. – 2018. – №64(5). – С. 578–91.
3. Михайленко Д.С., Сергиенко С.А., Заборский И.Н. Роль молекулярно-генетических изменений в прогнозе эффективности адьювантной внутрипузырной терапии не мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря // Онкоурология. – 2018. – №4. – С. 124–137.
4. Бабаян А.Ю., Карякин О.Б., Теплов А.А. Молекулярно-генетические изменения, определяющие патогенез поверхностного и инвазивного рака мочевого пузыря // Молекулярная биология. – 2011. – №45(6). – С. 1012–6.
5. Немцова М.В., Кушлинский Н.Е. Молекулярный патогенез рака мочевого пузыря // Альманах клинической медицины. – 2015. – №41. – С. 79–88.
6. Михайленко Д.С., Немцова М.В. Точковые соматические мутации в развитии рака мочевого пузыря: ключевые события канцерогенеза, диагностические маркеры и мишени для терапии // Урология. – 2016. – №1. – С. 16–22.
7. Zaridze D.G., Maksimovich D.M. Prevention of malignant neoplasms // Advances in molecular oncology. – 2017. – Vol. 4(2). – P. 8–25.
8. Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R. Cancer Incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 // Int J Cancer. – 2015. – Vol. 136, №5. – P. 359–86.
9. Comperat E., Larre S., Roupret M. Clinicopathological characteristics of urothelial bladder cancer in patients less than 30 years old // Virchows Arch. – 2015. – Vol. 466(5). – P. 589–94.
10. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer Statistics // CA Cancer J Clin. – 2016. – Vol. 66(1). – P. 7–30.

11. Cheng L., Zhang S., MacLennan G.T. Bladder cancer: translating molecular genetic insights into clinical practice // *Hum Pathol.* – 2011. – Vol. 42(4). – P. 455–81.
12. Jones P.A., Droller M.J. Pathways of development and progression in bladder cancer: new correlations between clinical observations and molecular mechanisms // *Semin Urol.* – 1993. – Vol. 11(4). – P. 177–92.
13. Cheng J., Huang H., Pak J. Allelic loss of p53 gene is associated with genesis and maintenance, but not invasion, of mouse carcinoma in situ of the bladder // *Cancer Res.* – 2003. – Vol. 63(1). – P. 179–85.
14. He S., Nakada D., Morrison S.J. Mechanisms of stem cells renewal. Notch, Wnt, Hedgehog, BMPs/ TGF-beta // *Annu Rev Cell Dev Biol.* – 2009. – Vol. 25. – P. 377–406.
15. Knowles M.A., Hurst C.D. Molecular biology of bladder cancer: new insights into pathogenesis and clinical diversity // *Nat Rev Cancer.* – 2015 – Vol. 15(1). – P. 25–41.
16. Ackerman C., Mariathasan S., Nickles D. Molecular subtyping of metastatic urothelial bladder cancer // *ASCO.* – 2017. – Abstract 326.
17. Ren R., Tyrtyshkin K., Graham C.H. Comprehensive immune transcriptomic analysis in bladder cancer reveals subtype specific immune gene expression patterns of prognostic relevance // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8(41). – P. 70982–71001.
18. Hurst C.D., Platt F.M., Taylor C.F., Knowles M.A. Novel tumor subgroups of urothelial carcinoma of the bladder defined by integrated genomic analysis // *Clin Cancer Res.* – 2012. – Vol. 18(21). – P. 5865–5877.
19. Sanguedolce F., Cormio A., Massenio P. Altered expression of HER-2 and the mismatch repair genes MLH1 and MSH2 predicts the outcome of T1 high-grade bladder cancer // *J Cancer Res Clin Oncol.* – 2018. – Vol. 144(4). – P. 637–44.
20. Grivas P.D., Melas M., Papavassilou A.G. The biological complexity of urothelial carcinoma: insights into carcinogenesis, targets and biomarkers of response to therapeutic approaches // *Semin Cancer Biol.* – 2015. – Vol. 35. – P. 125–32.
21. Seiler R., Asbab H., Ercho N. Impact of Molecular Subtypes in Muscle-invasive Bladder Cancer on Predicting Response and Survival after Neoadjuvant Chemotherapy // *Eur Urol.* – 2017. – Vol. 72. – P. 544–554.
22. Sathe A., Guertel F., Cronauer M.V., Heck M.M. Mutant PIK3CA controls DUSP1-dependent ERK1/2 activity to confer response to AKT target therapy // *Brit J Cancer.* – 2014. – Vol. 111. – P. 2103–2113.
23. Chell V., Balmanno K., Little A.S. Tumor cell responses to new fibroblast growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors and identification of a gatekeeper mutation in FGFR3 as a mechanism of acquired resistance // *Oncogene.* – 2013. – Vol. 32. – P. 3059–3070.
24. Balar A.V., Galsky M.D., Rosenberg J.E. Atezolizumab as first-line treatment in cisplatin-ineligible patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma: a single-arm, multicentre, phase 2 trial // *Lancet.* – 2017. – Vol. 389. – P. 67–76.
25. Rosenberg J.E., Hoffman-Censits J., Powles T. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial // *Lancet.* – 2016. – Vol. 387. – P. 1909–20.
26. Sharma P., Retz M. Nivolumab in metastatic urothelial carcinoma after platinum therapy (Check Mate 275): a multicentre, single-arm, phase 2 trial // *The Lancet Oncol.* – 2017. – Vol. 18(3). – P. 312–322.

References

1. Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2016 (morbidity and mortality). M: Moscow Research Institute for them. P.A. Herzen – Branch of the FSBI “NMITS of Radiology” of the Ministry of Health of Russia. 2018; 250. (In Russ)
2. Zaridze D.G., Kaprin A.D., Stilidi I.S. Dynamics of incidence of malignant neoplasms and mortality from them in Russia. *Questions of Oncology.* 2018; 64(5): 578-91. (In Russ)
3. Mikhaylenko D.S., Sergienko S.A., Zaborsky I.N. The role of molecular genetic changes in the prediction of the effectiveness of adjuvant intravesical therapy for non-muscular-invasive bladder cancer. *Oncourology.* 2018; 4: 124-137. (In Russ)
4. Babayan A.Yu., Karyakin O.B., Teplov A.A. Molecular genetic changes that determine the pathogenesis of superficial and invasive bladder cancer. *Molecular Biology.* 2011; 45(6): 1012-6. (In Russ)
5. Nemtsov M.V., Kushblinsky N.E. Molecular pathogenesis of bladder cancer. *Almanac of clinical medicine.* 2015; 41: 79-88. (In Russ)
6. Mikhaylenko D.S., Nemtsova M.V. Somatic current mutations in the development of bladder cancer: key carcinogenesis events, diagnostic markers and treatment targets. *Urology.* 2016; 1: 16-22. (In Russ)
7. Zaridze D.G., Maksimovich D.M. Prevention of malignant neoplasms. *Advances in molecular oncology.* 2017; 4(2): 8-25.
8. Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R. Cancer Incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer.* 2015 Mar 1; 136(5): E359-86. doi: 10.1002/ijc.29210.
9. Comperat E., Larre S., Roupret M. Clinicopathological characteristics of urothelial bladder cancer in patients less than 30 years old. *Virchows Arch.* 2015 May; 466(5): 589-94. doi: 10.1007/s00428-015-1739-2.
10. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer Statistics. *CA Cancer J Clin.* 2016 Jan-Feb; 66(1): 7-30. doi: 10.3322/caac.21332.

11. Cheng L., Zhang S., MacLennan G.T. Bladder cancer: translating molecular genetic insights into clinical practice. *Hum Pathol.* 2011 Apr; 42(4): 455-81. doi: 10.1016/j.humpath.2010.07.007.
12. Jones P.A., Droller M.J. Pathways of development and progression in bladder cancer: new correlations between clinical observations and molecular mechanisms. *Semin Urol.* 1993 Nov; 11(4): 177-92.
13. Cheng J., Huang H., Pak J. Allelic loss of p53 gene is associated with genesis and maintenance, but not invasion, of mouse carcinoma in situ of the bladder. *Cancer Res.* 2003; 63(1): 179-85.
14. He S., Nakada D., Morrison S.J. Mechanisms of stem cells renewal. Notch, Wnt, Hedgehog, BMPs/ TGF-beta. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2009; 25: 377-406.
15. Knowles M.A., Hurst C.D. Molecular biology of bladder cancer: new insights into pathogenesis and clinical diversity. *Nat Rev Cancer.* 2015 Jan; 15(1): 25-41. doi: 10.1038/nrc3817.
16. Ackerman C., Mariathasan S., Nickles D. Molecular subtyping of metastatic urothelial bladder cancer. *ASCO.* 2017; Abs. 326.
17. Ren R., Tyrshbkin K., Graham C.H. Comprehensive immune transcriptomic analysis in bladder cancer reveals subtype specific immune gene expression patterns of prognostic relevance. *Oncotarget.* 2017 Aug 9; 8(41): 70982-71001. doi: 10.18632/oncotarget.20237.
18. Hurst C.D., Platt F.M., Taylor C.F., Knowles M.A. Novel tumor subgroups of urothelial carcinoma of the bladder defined by integrated genomic analysis. *Clin Cancer Res.* 2012 Nov 1; 18(21): 5865-5877. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-1807.
19. Sanguedolce F., Cormio A., Massenio P. Altered expression of HER-2 and the mismatch repair genes MLH1 and MSH2 predicts the outcome of T1 high-grade bladder cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2018 Apr; 144(4): 637-644. doi: 10.1007/s00432-018-2593-9.
20. Grivas P.D., Melas M., Papavassilou A.G. The biological complexity of urothelial carcinoma: insights into carcinogenesis, targets and biomarkers of response to therapeutic approaches. *Semin Cancer Biol.* 2015 Dec; 35: 125-32. doi: 10.1016/j.semcancer.2015.08.006.
21. Seiler R., Ashab H., Ercho N. Impact of Molecular Subtypes in Muscle-invasive Bladder Cancer on Predicting Response and Survival after Neoadjuvant Chemotherapy. *Eur Urol.* 2017 Oct; 72(4): 544-554. doi: 10.1016/j.eururo.2017.03.030.
22. Sathe A., Guerth F., Cronauer M.V., Heck M.M. Mutant PIK3CA controls DUSP1-dependent ERK1/2 activity to confer response to AKT target therapy. *Brit J Cancer.* 2014 Nov 25; 111(11): 2103-13. doi: 10.1038/bjc.2014.534.
23. Chell V., Balmanno K., Little A.S. Tumor cell responses to new fibroblast growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors and identification of a gatekeeper mutation in FGFR3 as a mechanism of acquired resistance. *Oncogene.* 2013 Jun 20; 32(25): 3059-70. doi: 10.1038/onc.2012.319.
24. Balar A.V., Galsky M.D., Rosenberg J.E. Atezolizumab as first-line treatment in cisplatin-ineligible patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet.* 2017 Jan 7; 389(10064): 67-76. doi: 10.1016/S0140-6736(16)32455-2.
25. Rosenberg J.E., Hoffman-Censits J., Powles T. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet.* 2016 May 7; 387(10031): 1909-20. doi: 10.1016/S0140-6736(16)00561-4.
26. Sharma P., Retz M. Nivolumab in metastatic urothelial carcinoma after platinum therapy (Check Mate 275): a multicentre, single-arm, phase 2 trial. *The Lancet Oncol.* 2017; 18(3): 312-322.