Nové možnosti diagnostiky a predikce prognózy nádorů močového měchýře

MUDr. Milan Král, Ph.D., MUDr. David Hradil, MUDr. Šárka Kudláčková, MUDr. Aleš Vidlář, Ph.D., FEBU, doc. MUDr. Vladimír Študent, Ph.D.

Urologická klinika LF UP a FN Olomouc

Nádory močového měchýře vykazují významnou recidivu navzdory radikálně provedenému transuretrálnímu zákroku. Příčinou bývá genetická výbava buněk urotelu, současně však může být příčinou neodhalením maligních ložisek v měchýři během cystoskopie či v rámci transuretrální resekce. Zlepšení diagnostických možností lze docílit použitím endoskopických technik zdokonalujících rozlišení mezi normální a patologickou sliznicí měchýře. Dalšího zlepšení léčby a její individualizace lze docílit analýzou prognostických markerů, jež mohou identifikovat generalizaci onemocnění např. stanovením cirkulujících nádorových buněk ještě ve fázi, kdy nejsou ložiska patrná na zobrazovacích vyšetřeních. V budoucnu bychom tak měli být schopni definovat pacienty, kteří budou profitovat z včasného zahájení multimodální terapie a současně zvýšit šanci na lokální kontrolu a kurabilitu kombinované chirurgicko-onkologické léčby.

Klíčová slova: karcinom měchýře, diagnostika, úzkopásmové zobrazení, fotodynamická diagnostika, markery.

New diagnostic options and prognosis prediction of urinary bladder cancer

High cancer recurrence is typical for urinary bladder tumors regardless of radically performed transurethral surgery. The explanation lies in genetic information of urothelial cells but also in unrevealing all malignant areas in the bladder during cystoscopy or transurethral resection. Diagnostic improvement can be reached by using new endoscopic techniques which precise resolution between normal and pathological bladder mucosa. Further improvement and individualisation of the therapy can be reached by prognostic markers analysis which can identify metastatic status of the disease e.g. by using circulating tumor cells despite invisible metastasis on imaging methods. In the future, we should be able to define patients who would profit from early start of multimodal therapy and, concurrently, we could increase the chance of local cancer control and curability of combined surgical and oncological therapy.

Key words: bladder cancer, diagnostic, narrow band imaging, photodynamic diagnostic, markers.

Úvod

Karcinom močového měchýře se v celosvětovém měřítku řadí na 11. místo mezi nádorovými onemocněními, přičemž vztaženo pouze na mužskou populaci se nachází na 7. místě.

Po karcinomu prostaty je druhou nejčastější malignitou urotraktu (1). Dle dat ze SVOD z r. 2014 je incidence karcinomu měchýře v České republice 20,77/100 000 a mortalita 8,87/100 000 (2). Více než 90 % karcinomů vychází z urotelu. V době stanovení diagnózy je cca 75 % případů

neinfiltrujících svalovinu, ostatní jsou lokálně pokročilé či již generalizované. Standardem terapie je radikální transuretrální resekce (TUR) všech tumorózních ploch. V případě high risk karcinomů či svalovinu infiltrujících nádorů je indikována radikální cystektomie. Zatímco podání neoadjuvantní chemoterapie před cystektomií či v souvislosti s radioterapií je dnes již běžnou praxí, použití chemoterapie v adjuvantních schématech je indikováno jen v případě metastatických stadií či v některých případech pooperač-

ně pokročilých nádorů. Důvodem je chybění spolehlivých prognostických parametrů, jež by lépe definovaly pacienty profitující s adjuvantní chemoterapie. Účelem tohoto článku je přiblížit nové diagnostické možnosti v rámci primární cystoskopie a transuretrální resekce. Současně chceme předložit informace o potenciálních markerech, jež identifikují agresivní karcinomy měchýře a lépe tak budou stratifikovat pacienty profitující ze včasné podané adjuvantní chemoterapie.

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:

MUDr. Milan Král, Ph.D., Milan.Kral@fnol.cz

Urologická klinika LF UP a FN Olomouc, I. P. Pavlova 6, 779 00 Olomouc

Cit. zkr: Urol. praxi 2017; 18(2): 64–68

Článek přijat redakcí: 5. 12. 2016

Článek přijat k publikaci: 13. 2. 2017

Obr. 1. Princip NBI – absorpce v kapilárních a venózních pleteních (převzato z (10))

Zlepšení endoskopických diagnostických metod

Typickou vlastností uroteliálních karcinomů je tendence recidivovat. Příčinou recidiv mohou být nádory vzniklé de novo kdekoliv v močovém měchýři, nebo může jít o tzv. nepravé recidivy, tj. nádory přítomné již v době TUR, které však nebyly identifikovány či řádně endoskopicky ošetřeny. S ohledem na fakt, že dle studií 30–50 % high risk nádorů (tj. high grade Ta či T1) je podhodnoceno v rámci primární TUR, je u těchto pacientů indikována včasná reTUR. Snížení rizika přehlédnutí nebo neradikálního ošetření nádorů je umožněno zvýšením senzitivity cystoskopie použitím nových technologií – kromě cystoskopie s použitím bílého světla lze použít technologie úzkopásmového zobrazení (NBI – narrow band imaging), dále fotodynamické diagnostiky (PDD – photodynamic diagnostic), tzv. SPIES systému (Storz Professional Imaging Enhancement System) a dalších.

Úzkopásmové zobrazení (NBI)

Principem NBI je použití speciálních filtrů, jež propustí z bílého světla svazky úzkého frekvenčního spektra o dvou různých vlnových délkách – zelenou (540 nm) a modrou (415 nm). Při použití NBI dochází k absorpci světla hemoglobinem a světlo proniká do povrchních vrstev tkáně, přičemž se zvýrazňuje cévní zásobení tkáně. Toto je v případě nádorů měchýře výraznější než v okolní, normální tkáni. Zatímco světlo o delší vlnové délce proniká hlouběji (a zobrazí hlouběji uložené venózní plexy), světlo o kratší vlnové délce má jen povrchní průnik a zvýrazní tak kapiláry lokalizované intraepiteliálně (tzv. Intraepithelial Papillary Capillary Loops). V důsledku toho jsou slizniční cévy zobrazeny hnědě a podslizniční modrozeleně. Právě novotvořené kapiláry jsou pozorovatelné intraepiteliálně a při použití NBI lze detekovat již při velikosti několik milimetrů jako drobné hnědé tečky (3).

Obr. 2. Patologická akumulace karcinomu ve sliznici močového měchýře při použití PDD (převzato z (15)) **Obr. 3.** Cystoskopický obraz nádoru v bílém světle (vlevo) a technologií SPIES Spectra B (vpravo) (převzato z (16)) **Obr. 4.** Způsob dissemination a vytváření vzdálených metastáz (převzato z (25))

První použití NBI byla popsána u orofaryngeálních a gastroezofageálních nádorů (4). Odtud se využití přesunulo i na diagnostiku onemocnění močového měchýře. Zde spočívá výhoda v odhalení drobných nádorů oblastí carcinoma in situ (CIS) a v rámci terapie pak rozšíření TUR k zajištění negativních okrajů resekcí plochy. Srovnávací studie (bílé světlo vs. NBI) opakovaně prokázaly zvýšení záchytnosti nádorů při použití NBI, což ve svém důsledku vedlo ke snížení recidiv (týká se nádorů jak primárně zachycených, tak recidivujících). Od r. 2008, kdy byla tato technologie popsána u nádorů močového měchýře na 29 pacientech (5),

byla provedena celá řada studií i metaanalýz srovnávajících výtěžnost a efektivitu NBI. Ještě v r. 2008 Herr, et al. prezentoval výsledky 427 pacientů vyšetřených NBI vs. bílým světlem. Při použití NBI byla záchytnost o 12,6 % vyšší (6). Podle další studie (7) bylo až 27 % nádorů zachyceno pouze díky použití NBI. Obdobná data byla získána metaanalýzou dat, kdy pouze díky NBI bylo diagnostikováno o 24 % nádorů více u 17 % pacientů (8). Nutno podotknout, že zatímco NBI vykazovalo vyšší záchytnost karcinomů u pacientů po instilační terapii BCG vakcínou, v případě recentně proběhlé intravezikální chemoterapie bylo NBI zatíženo výrazně nižší specifitou ve

srovnání s bílým světlem (50 % vs. 86,9%) při srovnatelné senzitivitě. Provedení TUR měchýře pod NBI kontrolou vs. bílým světlem vedlo k poklesu roční četnosti recidiv z 39,7 % na 21,1 % (9).

Fotodynamická diagnostika karcinomů měchýře

Fotodynamická diagnostika (photodynamic diagnostic, PDD či blue-light cystoscopy) nádorů močového měchýře spočívá v intravazikální aplikaci roztoku s fotosenzibilizátorem zavedeným močovým katétre. Touto látkou je fotoaktivní prekurzor protoporphyrinu IX, aminolevulová kyselina (ALA) či její hexyl-ester (HAL). Tyto senzibilizátory jsou akumulovány ve tkáních s vysokým metabolickým obrátem, kdy např. nádorové tkáně vykazují metabolickou aktivitu až 20x vyšší než běžná tkáň (11). S odstupem 60 minut po aplikaci roztoku intravazikálně se při použití modrého světla o vlnové délce 375–440 nm zvýrazní slizniční tkáň patologického charakteru z důvodu červené fluorescence (etiologie nádorové, ale i zánětlivé či posttraumatické). Největší význam má v diagnostice povrchních, bílým světlem špatně identifikovatelných nebo ohraničitelných lézí, např. CIS. Oproti použití bílého světla vykazuje PDD vyšší senzitivitu, ale za cenu snížení specifity. Důvodem jsou změny na sliznici způsobené katetrizací, nezhojená místa po předchozích TUR, instalační terapiích BCG vakcínou či zánětlivé změny. Od svého uvedení do praxe byla provedena celá řada studií, jež prokázaly klinický přínos PDD, a to snížení četnosti recidiv, oddálení intervalů do vzniku recidivy (12, 13). Z metaanalýzy dat Burgera, et al. srovnávající PDD vs. bílé světlo vyplynulo, že PDD detekovalo o 14,7 % více Ta tumorů a o 40,8 % více CIS. Co je důležité, PDD vedlo u 24,9 % pacientů k odhalení minimálně jednoho dalšího nádoru a u 26,7 % pacientů byl CIS identifikován výhradně jen díky PDD. Četnost recidiv v průběhu 12 měsíců byla signifikantně nižší u PDD než bílého světla (34,5 % vs. 45,4 %) (14).

SPIES systém

Tento zobrazovací systém je součástí endoskopické jednotky firmy Storz (Storz Professional Imaging Enhancement System, SPIES). Při použití speciální kamerové hlavy a endoskopu lze využít zobrazovacích modalit označených jako Spectra A, Spectra B, Chroma a Clara za účelem lepšího zobrazení struktur měchýře a nádoru.

Zatímco Chroma zvýrazní ostrost obrazu, Clara zjasní tmavší oblasti zobrazeného pole, čímž zdokonalí původní zobrazení bílým světlem. Modality Spectra A a B upraví spektrální odpověď a zlepší kontrast obrazu u bílého světla (16).

Ramanova spektroskopie (RS), optická koherentní tomografie (OCT) a endoskopická mikroskopie

Ramanova spektroskopie využívá tzv. Ramanova efektu, tj. neelastického optického rozptylu. Slouží k identifikaci složení a struktury látek pevných, kapalných a plyných, ale současně i k analýze biologických struktur, vč. identifikování charakteru a typu tkání. Ozáříme-li molekulu monochromatickým excitačním zářením, je následně všemi směry emitováno rozptýlené Ramanovo záření. Toto záření obsahuje spektrální pásy (například voda má v Ramanově spektru 3 charakteristické pásy), které jsou vůči excitačnímu záření posunuty k vyšším vlnovým délkám. Změna ve vlnové délce je charakteristická pro tkáň konkrétní biologické povahy – vytváří tzv. Ramanovo spektrum (maligní vs. benigní) (17). Jednou z forem měření Ramanových spekter je za pomoci kontaktní próby o průměru 1–2 mm na bázi vláknové optiky, která přivede excitační laserové záření (v případě tkání o vlnové délce typicky 785 nm) ke tkáni, a zároveň sbírá rozptýlené Ramanovo záření a odvádí jej do spektrometru, kde je analyzováno. Výhodami této metody je absence jakéhokoli barvení, nedestruktivnost, flexibilita a rychlost, kdy výsledky bodové analýzy je možné poskytovat téměř okamžitě/on-line. Ačkoli jsou výsledky *ex vivo* optimistické (jak v posouzení low vs. high grade karcinomu, tak hloubky invaze), práce *in vivo* narážejí na technické problémy (časová náročnost získání spektra k posouzení plochy sliznice měchýře) (18). Na druhou stranu výsledky vykazují až 92 % senzitivitu (a 100 % pro high grade nádory) při specifitě 91 % (19). Optická koherentní tomografie využívá vysokého rozlišení při zobrazení tkání (jde o obdobu B-módu zobrazení u ultrazvuku s tím rozdílem, že je použito světlo namísto zvuku). Nespornou výhodou OCT je tzv. real time zobrazení (cystoskopie s perioperačním použitím OCT), neinvazivní charakter a schopnost rozlišit hloubku invaze – svalovinu infiltrující vs. neinvazivní nádor – pro možnost posouzení jen menší plochy při cystoskopii je vhodná kombinace s metodami

lépe definující abnormální sliznici (NBI, PDD) (20). Endoskopická mikroskopie je další z neinvazivních metod umožňujících real time histologické posouzení tkáně při cystoskopii, v tuto chvíli však naráží na technické parametry (rozměry 1,4–2,6 mm v průměru).

Význam genomiky a krevních markerů u karcinomu měchýře

Zatímco u karcinomu prostaty je použití onkomarkerů (PSA) běžné již téměř 30 let, v případě karcinomů měchýře je situace podstatně méně nadějná. Ačkoli je řada výsledků studií velmi perspektivních, do běžné praxe dosud nepronikl žádný diagnostický nástroj. Markery stejné jako u jiných nádorů se využívají pro diagnostiku, predikci stagingu, odpovědi na léčbu, selekci optimální formy a monitoraci léčby. Kromě molekulárně-biologických technologií lze využít analýzu krevních a močových vzorků.

Genomika u karcinomů močového měchýře – průkaz mutací a změny exprese genů

Většina teorií nádorového růstu je založena na mutacích tumor supresorových genů a působení onkogenů. Tyto geny ovlivňují průběh buněčného cyklu, buněčnou proliferaci a indukci apoptózy. Je prokázáno, že typy mutací se liší u svalovinu neinvazivních nádorů (NMIBC) a nádorů invadujících svalovinu či metastatických. Zatímco u NMIBC je velmi častá mutace genu pro FGFR3 (fibroblast growth factor receptor 3) vyskytující se až v 60–70 % případů (a výrazně méně často u MIBC), v případě pokročilých karcinomů měchýře bývají zastoupeny jiné mutace. Jednou z nejvýznamnějších je TP53. Tumor supresorový gen pro protein p53 je jedním z klíčových genů regulujících apoptózu, proliferaci, angiogenezi a reparaci DNA. TP53 identifikuje poškození DNA, následně indukuje DNA reparaci, která – není-li úspěšná – zahájí apoptózu buňky (21). Expres mutovaného TP53 je spojena s horším přežitím specifickým pro karcinom (22). Účinnost chemoterapeutických režimů je u karcinomu měchýře dána mj. mírou exprese genu MDR1 (multidrug resistance gene 1). Tento gen kóduje transportní glykoprotein P-gp, který má za normálních okolností zajišťovat transport xenobiotik z intra do extracelulárního prostoru. V případě řady nádorových onemocnění (vč. karcinomu měchýře) je prokázáno, že tímto me-

chanismem dochází ke snižování intracelulární koncentrace cytotoxických látek (např. antracyklinů, vinca alkaloidů, taxanů či metotrexátu) (23). Vyšší expresivita MDR1 genu je u karcinomu měchýře často indukovaná samotnou chemoterapií, což výrazně zhoršuje perspektivu léčby. Vedle stanovení mutací dalších tumor-supresorových genů (p21, PTEN, RB1) nebo vyšetření markerů proliferace (Ki67) lze použít analýzy exprese mikroRNA (miRNA). MikroRNA je nekódující, 18–24 nukleotidů dlouhá RNA, která se podílí na vzniku/potlačení kancerogeneze podle toho, zda působí jako supresor či onkogenní prvek (24). Ačkoli lze prokázat negativní prognostický dopad některých miRNA na celkové přežití u pokročilých karcinomů měchýře (např. miRNA 145, miRNA 141 a miRNA 205), jejich využití v běžné klinické praxi je zatím vzdálené.

Prognostické a prediktivní markery v krevních vzorcích – tzv. liquid biopsy

Kromě histologického, imunohistochemického a genetického vyšetření tkáně tumoru měchýře (z TUR, cystektomie či excize metastázy) lze analyzovat vzorky periferní krve. Mezi tyto technologie patří použití cirkulujících nádorových buněk (circulating tumor cells – CTCs), vyšetřování miRNA či exozomů. Zatímco miRNA a exozomy jsou i dnes významně vzdálené běžné praxi, CTCs se používají výrazně častěji. Princip detekce a analýzy CTCs vychází s faktu, že z primárních nádorů se mohou

do cévního řečiště uvolňovat nádorové buňky, které lze detekovat ještě dříve, než jsou detekována makroskopická metastatická ložiska klinicky či zobrazovacími metodami. Proces diseminace intravaskulární cestou prochází pěti kroky: progresse nádorových buněk, intravazace, cirkulace nádorových buněk, extravazace a kolonizace buněk do vzdálených tkání (obr. 4) (25). Využití CTCs je dnes běžné v případech karcinomu prsu, kolorekta a dalších malignit. Genetické analýzy buněk např. u karcinomu kolorekta prokázaly podobnost cirkulujících nádorových buněk a buněk primárního nádoru, čehož lze využít pro cílenou terapii nebo testování účinnosti např. chemoterapie *in vitro*. V současné době je nejčastěji používaným systémem pro analýzu CTCs CellSearch™ (Viridex LLC) použitím 7,5 ml periferní krve. Zatímco průkaz AR-V7 (Androgen Receptor splice Variant 7 messenger RNA) v cirkulujících buňkách u kastročného rezistentního karcinomu prostaty souvisí s rezistencí na enzalutamid či abirateron (26), stanovení CTCs u karcinomu měchýře je zatím předmětem výzkumu. Průkaz měchýřových CTCs je nepříznivým prognostickým ukazatelem. CTCs byly prokázány u 20 % pacientů s high risk svalovinu neinfiltujícími nádory močového měchýře, což korelovalo s dobou do recidivy či přežitím bez progresu. U 30 % CTC-pozitivních pacientů byly prokázány vzdálené metastázy při mediánu sledování 24 měsíců oproti 0 % metastáz u CTC-negativních pacientů (27). Ačkoli některé práce neprokázaly odlišnost v přežití u CTC-pozitivních vs. negativních pacien-

tů s lokalizovaným karcinomem měchýře, průkaz CTCs u metastatických karcinomů měchýře dle jiných prací koreloval s horším přežitím (28). Ačkoli je v současné době doporučována neoadjuvantní chemoterapie před radikální cystektomií u pacientů s karcinomem stadia cT2–4 (29), významná skupina pacientů neoadjuvantní léčbu nepodstoupí a jsou indikováni přímo k radikální cystektomii. Průkaz CTCs by mohl v těchto případech lépe stratifikovat pacienty a napomoci v rozhodovacím algoritmu pro další terapii (samotná chirurgická či kombinovaná chirurgicko-onkologická léčba, testování efektu chemoterapie či cílené léčby *in vivo*).

Závěr

Ačkoli je současná endoskopická diagnostika nádorů močového měchýře postavena na použití cystoskopie s bílým světlem, stále více se rozšiřuje použití dalších technologií, např. úzkopásmového zobrazení či PDD. Díky tomu lze zachytit i drobné tumory či oblasti suspektní pro CIS, vést endoskopickou terapii radikálněji a snížit počet recidiv. U pacientů se svalovinu infiltrujícími či metastatickými nádory bychom mohli v budoucnu na podkladě molekulárně genetických metod (cirkulující nádorové buňky či průkaz mutací tumor supresorových genů) identifikovat pacienty potenciálně profitující z neoadjuvantní či včasné zahájené adjuvantní chemoterapeutické léčby.

Autor prohlašuje, že zpracování článku nebylo podpořeno žádnou společností.

LITERATURA

- Babjuk M, Böhle A, Burger M, et al. Guidelines for non-muscle invasive bladder cancer [online]. Dostupné z WWW: <https://uroweb.org/guideline/non-muscle-invasive-bladder-cancer/>
- Dušek L, Mužík J, Kubáček M, et al. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice [online]. Masarykova univerzita 2005 [cit. 2017-2-12]. Dostupné z WWW: <http://www.svod.cz>
- Lukeš P, Záborský P, Plzák J, et al. Úloha NBI v endoskopické diagnostice dlaždicových karcinomů hlavy a krku. Endoskopie 2012; 21(1): 16–20.
- Sano Y, Kobayashi M, Hamamoto Y, et al. New diagnostic method based on color imaging using narrowband imaging (NBI) endoscopy system for gastrointestinal tract. Gastrointestinal Endoscopy 2001; 53(5): Abstrakt 3459.
- Bryan RT, Billingham LJ, Wallace DM. Narrow-band imaging flexible cystoscopy in the detection of recurrent urothelial cancer of the bladder. BJU Int. 2008 Mar; 101(6): 702–705; discussion 705–706.
- Herr HW, Donat SM. A comparison of white-light cystoscopy and narrow-band imaging cystoscopy to detect bladder tumour recurrences. BJU Int. 2008 Nov; 102(9): 1111–1114.
- Tatsugami K, Kuroiwa K, Kamoto T, et al. Evaluation of narrow-band imaging as a complementary method for the detection of bladder cancer. J Endourol. 2010; 24(11): 1807–1811.
- Li K, Lin T, Fan X, Duan Y, Huang J. Diagnosis of narrow-band imaging in non-muscle-invasive bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. Int J Urol. 2013; 20(6): 602–609.
- Kobatake K, Mita K, Ohara S, Kato M. Advantage of transurethral resection with narrow band imaging for non-muscle invasive bladder cancer. Oncol Lett. 2015; 10(2): 1097–1102.
- Narrow Band Imaging [online]. Dostupné z (NBI) https://www.olympus.nl/medical/en/medical_systems/applications/urology/bladder/narrow_band_imaging__nbi_/narrow_band_imaging__nbi_.html
- Brisuda A, Hrbáček J, Babjuk M. Využití fotodynamické diagnostiky a úzkopásmového zobrazení v diagnostice a léčbě svalovinu neinfiltujícími nádory močového měchýře. Ces Urol 2013; 17(2): 79–87.
- Babjuk M, Soukup V, Petrik R, Jirsa M, Dvoracek J. 5-aminolaevulinic acid-induced fluorescence cystoscopy during transurethral resection reduces the risk of recurrence in stage Ta/T1 bladder cancer. BJU Int. 2005; 96(6): 798–802.
- Grossman HB, Stenzl A, Fradet Y, et al. Long-term decrease in bladder cancer recurrence with hexaminolevulinate enabled fluorescence cystoscopy. J Urol 2012; 188(1): 58–62.
- Burger M, Grossman HB, Droller M, et al. Photodynamic diagnosis of non-muscle-invasive bladder cancer with hexaminolevulinate cystoscopy: a meta-analysis of detection and recurrence based on raw data. Eur Urol. 2013; 64(5): 846–854.
- Daneshmand S, Schuckman AK, Bochner BH, et al. Hexaminolevulinate blue-light cystoscopy in non-muscle-invasive bladder cancer: review of the clinical evidence and consensus statement on appropriate use in the USA. Nat Rev Urol. 2014; 11(10): 589–596.
- Kamphuis GM, de Bruin DM, Fallert J, et al. Storz Professional Image Enhancement System: A New Technique to Improve Endoscopic Bladder Imaging. J Cancer Sci Ther 2016; 8: 3.
- Butler HJ, Ashton L, Bird B, et al. Using Raman spectroscopy to characterize biological materials. Nat Protoc. 2016; 11(4): 664–687. doi: 10.1038/nprot.2016.036.
- Lopez A, Liao JC. Emerging endoscopic imaging technologies for bladder cancer detection. Curr Urol Rep. 2014; 15(5): 406.
- Shapiro A, Gofrit ON, Pizov G, Cohen JK, Maier J. Raman molecular imaging: a novel spectroscopic technique for diagnosis of bladder cancer in urine specimens. Eur Urol. 2011; 59(1): 106–112.
- Karl A, Stepp H, Willmann E, et al. Optical coherence tomography for bladder cancer—ready as a surrogate for optical biopsy? Results of a prospective mono-centre study. European Journal of Medical Research. 2010; 15(3): 131–134.
- Ashcroft M, Kubbutat MH, Voudsen KH. Regulation of p53 function and stability by phosphorylation. Mol Cell Biol. 1999; 19(3): 1751–1758.
- Shariat SF, Bolenz C, Karakiewicz PI, et al. p53 expression in patients with advanced urothelial cancer of the urinary bladder. BJU Int. 2010; 105(4): 489–495.

23. Hoffmann AC, Wild P, Leicht C, et al. MDR1 and ERCC1 Expression Predict Outcome of Patients with Locally Advanced Bladder Cancer Receiving Adjuvant Chemotherapy. *Neoplasia*. 2010; 12(8): 628–636.
24. Ratert N, Meyer HA, Jung M, et al. miRNA profiling identifies candidate mirnas for bladder cancer diagnosis and clinical outcome. *J Mol Diagn*. 2013; 15(5): 695–705.
25. Chaffer CL, Weinberg RA. A perspective on cancer cell metastasis. *Science* 2011; 331(6024): 1559–1564.
26. Antonarakis ES, Lu C, Wang H, et al. AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer. *N Engl J Med*. 2014; 371(11): 1028–1038.
27. Gazzaniga P, de Berardinis E, Raimondi C, et al. Circulating tumor cells detection has independent prognostic impact in high-risk non-muscle invasive bladder cancer. *Int J Cancer*. 2014; 135(8): 1978–1982.
28. Flaig TW, Wilson S, van Bokhoven A, et al. Detection of circulating tumor cells in metastatic and clinically localized urothelial carcinoma. *Urology* 2011; 78(4): 863–867.
29. Witjes JA, Compérat E, Cowan NC, et al. Guidelines for muscle invasive and metastatic bladder cancer [online]. Dostupné z WWW: <http://uroweb.org/guideline/bladder-cancer-muscle-invasive-and-metastatic/>