



UNIWERSYTET OPOLSKI

PRACA DOKTORSKA

Klaudia Bardowska

**Biomarkery nawrotu i progresji w rakach pęcherza moczowego
nienaciekających mięśniówki - związek z reakcją zapalną i
aktywacją układu plazminogenu**

**Biomarkers of recurrence and progression in non-muscle invasive
bladder cancer – association with inflammatory response and
plasminogen activation system**

Praca napisana pod kierunkiem
dr hab. n. med. Doroty Kamińskiej, prof. PWr

Opole 2025

*Pragnę złożyć serdeczne podziękowania mojej Promotor,
Pani dr hab. n. med. Dorocie Kamińskiej, prof. PWr za nieocenione wsparcie,
niezwykłą życzliwość, opiekę merytoryczną i otwarcie drzwi do świata nauki.*

*Chciałabym podziękować Panu prof. dr hab. n. med. Wojciechowi Krajewskiemu
za nieograniczoną pomoc, wsparcie merytoryczne i poświęcony czas.*

*Dziękuję mojemu Narzeczonemu za niekończącą się cierpliwość, wiarę we mnie,
codzienne wsparcie i ciągłą motywację.*

*Dziękuję mojej Rodzinie i Najbliższym za ogrom bezwarunkowego wsparcia,
wiarę we mnie i niezwykłą wyrozumiałość.*

Mojej Rodzinie i Najbliższym

SPIS TREŚCI

WYKAZ SKRÓTÓW	6
1. WSTĘP	9
1.1. Wprowadzenie	9
1.2. Badane biomarkery i ich patofizjologia.....	10
1.2.1. Biomarkery związane z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu.....	10
1.2.2. Biomarkery systemowej odpowiedzi zapalnej	13
1.2.3. Powszechnie stosowane skale prognostyczne w chorobach nowotworowych.....	14
1.2.4. Modele prognostyczne EAU	15
2. CEL BADAWCZY	17
3. MATERIAŁY I METODY.....	18
3.1. Grupa badana i przebieg badania.....	18
3.2. Kryteria włączenia i wyłączenia z badania.....	18
3.3. Punkty końcowe badania	19
3.4. Zakres gromadzonych danych	19
3.5. Postępowanie ze zgromadzonym materiałem biologicznym i oznaczanie badanych biomarkerów	20
3.6. Analiza statystyczna	20
3.7. Analiza statystyczna dla modeli uczenia maszynowego (ML).....	21
4. WYNIKI.....	22
4.1. Rekrutacja i obserwacja pacjentów	22
4.2. Ogólna charakterystyka grup badanych	23
4.3. Wartość prognostyczna biomarkerów związanych z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu.....	24
4.4. Biomarkery związane z reakcją zapalną i stanem odżywienia pacjentów	33
5. DYSKUSJA	36
5.1. Biomarkery związane z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu.....	36
5.2. Biomarkery związane z reakcją zapalną i stanem odżywienia pacjenta.....	37

5.3. Biomarkery związane z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu a modele prognostyczne EAU.....	39
5.4. Biomarkery związane z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu a BCG-terapia	41
5.5. Badane biomarkery i obserwacja pacjentów po leczeniu	42
5.6. Ograniczenia i zalety badania.....	42
6. WNIOSKI.....	44
7. STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM	45
8. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM.....	47
9. PIŚMIENNICTWO	49
10. SPIS TABEL	56
11. SPIS RYCIN.....	57

WYKAZ SKRÓTÓW

APC (*antigen-presenting cell*) – komórka prezentująca antygen

APOE - apolipoproteina E

AUA (*American Urological Association*) – Amerykańskie Towarzystwo Urologiczne

AUC (*area under the curve*) - pole powierzchni pod krzywą

BCa (*bladder cancer*) – rak pęcherza moczowego

BCG - *Bacillus Calmette-Guerin*

CCI (*Charlson Comorbidity Index*) - wskaźnik współchorobowości Charlson

ChSN – choroba sercowo-naczyniowa

CIS – *carcinoma in situ*

CRP (*C-reactive protein*) - białko C-reaktywne

CUETO (*Club Urologico Español de Tratamiento Oncológico*) – Hiszpańska Grupa Onkologiczno-Urologiczna

dNLR (*derived neutrophile-to-lymphocyte ratio*) - pochodny współczynnik NLR

EAU (*European Association of Urology*) – Europejskie Towarzystwo Urologiczne

ECOG skala - skala sprawności według *Eastern Cooperative Oncology Group*

EFS (*event-free survival*) - przeżycie wolne od zdarzeń

EORTC (*European Organisation for Research and Treatment of Cancer*) – Europejska Organizacja Badań i Leczenia Raka

FGF-2 (*fibroblast growth factor 2*) - czynnik wzrostu fibroblastów 2

G-CSF (*granulocyte colony-stimulating factor*) – czynnik wzrostu granulocytów

GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów

GPS (*Glasgow Prognostic Score*) – skala prognostyczna Glasgow

HIF-1 (*hypoxia-inducible factor 1*) – czynnik indukowany hipoksją

HR (*hazard ratio*) - iloraz hazardu, hazard względny

IL-1 – interleukina 1

IL-6 – interleukina 6

IL-8 – interleukina 8

IQR (*interquartile range*) – rozstęp międzykwartylowy

MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein-1*) - białko chemotaktyczne monocytów 1

mGPS (*modified Glasgow Prognostic Score*) – zmodyfikowana skala prognostyczna Glasgow

MLR (*monocyte-to-lymphocyte ratio*) – stosunek liczebności monocytów do limfocytów

MMC (*mitomycin C*) – mitomycyna C

MMP (*matrix metalloproteinase*) – metaloproteinaza macierzy pozakomórkowej

NF- κ B (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) – jądrowy czynnik transkrypcyjny sekwencji wzmacniającej lekkiego łańcucha kappa limfocytów B

NLR (*neutrophile-to-lymphocyte ratio*) – stosunek liczebności neutrofilów do limfocytów

NMIBC (*non-muscle invasive bladder cancer*) – rak pęcherza moczowego nienaciekający mięśniówki

OR (*odds ratio*) – iloraz szans

OS (*overall survival*) – przeżycie całkowite

PAI-1 (*plasminogen activator inhibitor-1*) – inhibitor aktywatora plazminogenu 1

PAS (*plasminogen activation system*) – system aktywacji plazminogenu

PChN – przewlekła choroba nerek

PDGF (*platelet-derived growth factor*) – płytkopodobny czynnik wzrostu

PFS (*progression-free survival*) - przeżycie wolne od progresji

PLR (*platelet-to-lymphocyte ratio*) – stosunek liczebności płytek krwi do limfocytów

PNI (*prognostic nutritional index*) – prognostyczny indeks żywieniowy

Re-TURB (*restaging transurethral resection of bladder tumor*) – ponowna przecewkowa resekcja guza pęcherza moczowego

RFS (*recurrence-free survival*) – przeżycie wolne od nawrotu

SD (*standard deviation*) – odchylenie standardowe

SE (*standard error*) – błąd standardowy

suPAR (*soluble urokinase plasminogen activator receptor*) - rozpuszczalny receptor dla urokinazowego aktywatora plazminogenu

TAM (*tumor associated macrophages*) – makrofagi związane z nowotworem

TNF-alfa (*tumor necrosis factor alpha*) – czynnik martwicy nowotworów alfa

TRAIL (*tumor necrosis factor related apoptosis-inducing ligand, TNF related apoptosis-inducing ligand*) – czynnik stymulujący apoptozę związany z TNF

TURB (*transurethral resection of bladder tumor*) - przecewkowa resekcja guza pęcherza moczowego

uPA (*urokinase plasminogen activator*) – urokinazowy aktywator plazminogenu

uPAR (*urokinase plasminogen activator receptor*) – receptor dla urokinazowego aktywatora plazminogenu

VEGF (*vascular endothelial growth factor*) - czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego

WHO (*World Health Organization*) - Światowa Organizacja Zdrowia

95% CI (*95% confidence interval*) - 95-procentowy przedział ufności

1. WSTĘP

1.1. Wprowadzenie

Rak pęcherza moczowego (BCa) stanowi jeden z najczęściej występujących nowotworów w Polsce i na świecie. U mężczyzn rozpoznawany jest on około 4 razy częściej niż u kobiet. W raporcie za rok 2022 Krajowego Rejestru Nowotworów BCa znajdował się na 4. miejscu wśród zachorowań na nowotwory złośliwe u mężczyzn, jak również na 4. miejscu wśród nowotworowych przyczyn zgonów mężczyzn [1, 2].

Okolo 75% raków pęcherza moczowego stanowią raki nienaciekające mięśniówki (NMIBC). Obejmują one nowotwory w stadium zaawansowania Ta i CIS (carcinoma *in situ*) ograniczone do błony śluzowej pęcherza moczowego oraz stadium T1 ograniczone do błony podśluzowej pęcherza moczowego. Pozostałą część stanowią raki, które naciekają i przekraczają błonę mięśniową pęcherza moczowego (stadium zaawansowania T2 i wyżej). NMIBC z uwagi na wysoki stopień nawrotowości i stosunkowo wysoki stopień progresji, wymaga szczególnej obserwacji pacjentów, a koszty diagnostyki i leczenia stanowią istotne obciążenie dla systemu ochrony zdrowia [2, 3].

Najważniejszym czynnikiem ryzyka rozwoju BCa pozostaje dym tytoniowy. Dotyczy to zarówno czynnego, jak i biernego palenia. Nikotyzm w wywiadzie również zwiększa ryzyko zachorowania. Kolejny istotny czynnik ryzyka stanowi ekspozycja na kancerogeny chemiczne, takie jak: aminy i węglowodory aromatyczne będące składnikami farb, barwników, ropy naftowej i pochodnych. Stąd na wystąpienie BCa narażone są osoby pracujące, m.in. w przemyśle metalurgicznym, garbarskim, rafineryjnym czy tekstylnym. Do pozostałych znanych czynników ryzyka należy przebyta radioterapia, stosowanie leków takich jak cyklofosamid lub pioglitazon, a także przewlekłe zapalenie pęcherza moczowego [4].

Cystoskopia jest niezbędnym badaniem przy podejrzeniu raka pęcherza moczowego. Umożliwia ona ocenę wielkości guza lub mnogich zmian, ich lokalizację, a także określenie rozległości nieprawidłowych struktur [4]. Następnie przeprowadzany jest zabieg przezcewkowej elektroresekcji guza pęcherza moczowego (TURB), który umożliwia usunięcie zmian, a także pobranie materiału do badania histopatologicznego w celu postawienia ostatecznego rozpoznania. W toku diagnostyki, poza badaniami obrazowymi, wytyczne Europejskiego Towarzystwa Urologicznego (EAU) zaznaczają rolę cytologii moczu w diagnostyce guzów high-grade (HG), w tym CIS, jako badania uzupełniającego do cystoskopii [2].

Po uzyskaniu wyniku badania histopatologicznego, w zależności od obecności czynników ryzyka, chorzy z rozpoznaniem NMIBC powinni zostać poddani stratyfikacji i przydzieleniu do jednej z czterech grup ryzyka. Przynależność do danej grupy implikuje dalsze decyzje terapeutyczne oraz częstotliwość nadzoru onkologicznego. Obecnie brak jest zwalidowanych metod, które w sposób nieinwazyjny pozwoliłyby na rozpoznanie raka pęcherza moczowego lub obserwację pacjentów po leczeniu i zastąpienie cystoskopii. Mimo opracowania markerów molekularnych, żaden z nich nie jest w stanie zastąpić cystoskopii zarówno w zakresie diagnostyki, jak i monitorowania pacjentów z NMIBC po leczeniu. Wynika to z faktu, że markery te mimo wysokiej czułości charakteryzują się niską swoistością. Ponadto zmiany nienowotworowe w pęcherzu moczowym oraz stan po BCG-terapii może wpływać na ich wynik. Jednakże markery molekularne mogą stanowić metodę dodatkową w diagnostyce w przypadku ujemnego wyniku cystoskopii i dodatniego lub niejednoznacznego wyniku cytologii moczu. Należy jednak podkreślić, że zgodnie z wytycznymi EAU cystoskopia stanowi jedyną zalecaną metodę diagnostyki i obserwacji chorych z NMIBC [2].

1.2. Badane biomarkery i ich patofizjologia

W niniejszym badaniu ocenie poddano biomarkery związane z reakcją zapalną, aktywacją układu plazminogenu i stanem odżywienia pacjenta. Są to: rozpuszczalny receptor dla urokinazowego aktywatora plazminogenu (suPAR), inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1 (PAI-1), czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF), interleukina 8 (IL-8), apolipoproteina E (APOE), stosunek liczebności neutrofilów do limfocytów (NLR), pochodny współczynnik NLR (dNLR), stosunek liczebności monocytów do limfocytów (MLR) i stosunek liczebności płytek krwi do limfocytów (PLR). Przeanalizowano również stosowane powszechnie skale prognostyczne odzwierciedlające stan odżywienia: (zmodyfikowaną) skalę prognostyczną Glasgow ((m)GPS) oraz prognostyczny indeks żywieniowy (PNI).

1.2.1. Biomarkery związane z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu

1.2.1.1. suPAR

suPAR jest częścią systemu aktywacji plazminogenu (PAS) i stanowi rozpuszczalną frakcję receptora dla urokinazowego aktywatora plazminogenu. Z błoną komórkową związany jest poprzez glikozylofosfatydilinozitol i występuje na powierzchni makrofagów, monocytów, limfocytów T, megakariocytów, komórek śródbłonna, keratynocytów, fibroblastów oraz komórek mięśni gładkich. W swojej postaci rozpuszczalnej obecny jest w krwi, moczu i płynie mózgowo-rdzeniowym [5]. Receptor dla urokinazowego aktywatora

plazminogenu (uPAR) ekspresjonowany jest na powierzchni miofibroblastów i makrofagów tworzących zręb nowotworu oraz w mniejszej ilości przez komórki nowotworowe. W mikrośrodowisku nowotworu urokinazowy aktywator plazminogenu (uPA) poprzez połączenie z uPAR uruchamia kaskadę reakcji, wskutek czego dochodzi do degradacji błony komórkowej i macierzy pozakomórkowej. Proces ten ułatwia komórkom nowotworowym inicjację angiogenezy, naciekania i tworzenia przerzutów [6]. Stąd uważa się, że suPAR jest silnie związany z kancerogenezą i przebudową mikrośrodowiska nowotworu [7]. Opisano zależność pomiędzy ekspresją uPAR w obrębie makrofagów, miofibroblastów i komórek nowotworowych a stopniem zaawansowania i złośliwości tkanki nowotworu [8].

1.2.1.2. PAI-1

PAI-1, podobnie jak suPAR, należy do PAS. Hamuje on fibrynolizę poprzez inhibicję urokinazowego i tkankowego aktywatora plazminogenu. Mimo spodziewanego działania przeciwnowotworowego PAI-1, opisano jego paradoksalny udział w procesach związanych z kancerogenezą. Dzieje się tak za sprawą stymulowania angiogenezy, hamowania apoptozy komórek nowotworowych oraz promowania ich migracji i zwiększaniu adhezji do komórek endotelium, co umożliwia rozsiew nowotworu [9, 10]. Hamując fibrynolizę PAI-1 zapewnia „budulec” dla macierzy zewnątrzkomórkowej, niezbędny dla komórek endotelium do migracji i tworzenia nowych naczyń. PAI-1 zapobiega apoptozie komórek endotelium poprzez blokowanie powstawania plazminy i mediowanego przez nią uwolnienia Fas-ligandu [11].

1.2.1.3. VEGF

VEGF stanowi główny czynnik proangiogeny w kancerogenezie. Poza stymulowaniem tworzenia naczyń krwionośnych i ich remodellingiem, pobudza mitozę komórek śródbłonna i ich migrację [12, 13]. Zwiększa przepuszczalność naczyń krwionośnych umożliwiając w ten sposób przesiąkanie białek osocza i tworzenie się macierzy pozakomórkowej. Ponadto VEGF pobudza chemotaksję, ekspresję aktywatorów plazminogenu oraz kolagenaz w komórkach endotelium. Wykazano, że VEGF ma zdolność pobudzania komórek macierzystych w procesie hematopoezy. W mikrośrodowisku nowotworu hamuje apoptozę nieprawidłowych komórek poprzez stymulowanie wydzielania czynników antyapoptotycznych [14].

Czynnikiem pobudzającym wydzielanie VEGF jest hipoksja, co odgrywa istotną rolę w procesie kancerogenezy. Angiogeneza jest niezbędna do dalszej proliferacji nieprawidłowych komórek, natomiast wraz ze zwiększaniem się rozmiaru nowotworu wzrasta ilość obszarów narażonych na hipoksję. Wtedy poprzez czynnik indukowany hipoksją (HIF) pobudzane jest

wydzielanie VEGF. Powstające podczas kancerogenezy naczynia krwionośne charakteryzują się nieprawidłową budową, chaotycznym przebiegiem: występują ślepe zakończenia, naczynia są nieregularne i poszerzone. Cechują się one również brakiem zachowanej hierarchii struktur: tętnic, żył i kapilar. W ten sposób naczynia te narażone są na uszkodzenia, zaburzony jest w nich przepływ krwi, co sprzyja hipoksji stymulującej dalsze wydzielanie VEGF [14–16].

1.2.1.4. IL-8

Należy do grupy chemokin CXCL i wytwarzana jest zarówno przez komórki układu odpornościowego (makrofagi, neutrofile, limfocyty T), jak i komórki nabłonka oraz śródbłónka. IL-8 oddziałuje na komórki efektorowe poprzez receptory CXCR1 oraz CXCR2. Wykazano, że IL-8 wydzielana przez komórki nowotworowe pobudza angiogenezę oraz prokancerogenne szlaki sygnałowe. W badaniach neutralizacja chemokin i/lub receptorów CXCR1/CXCR2 związana była z zahamowaniem wzrostu nowotworu i zmniejszoną gęstością naczyń w jego mikrośrodku. IL-8 stymuluje komórki endotelium do wydzielania metaloproteinaz (MMP), w tym metaloproteinazy 9 (MMP-9). MMP niszcząc macierz pozakomórkową promują proliferację i tworzenie nowych naczyń niezbędnych do wzrostu guza. Ponadto IL-8 oddziałuje na leukocyty i mieloidalne komórki supresorowe powodując zahamowanie immunologicznych reakcji obronnych organizmu [17, 18].

1.2.1.5. APOE

W literaturze znajduje się niewiele doniesień na temat mechanizmu działania APOE w procesie kancerogenezy. Sugeruje się, że APOE poprzez gen supresorowy nabłonka przejściowego TERE1, wpływa na przyspieszenie cyklu komórkowego i zwiększenie oporności na apoptozę [19]. W badaniu McGarvey i wsp. [20] wykazano, że APOE ekspresjonowana jest zarówno w zdrowych, jak i nowotworowych komórkach urotelialnych w pęcherzu moczowym. Stąd autorzy sugerują, że APOE może być regulatorem proliferacji komórek w pęcherzu moczowym. Przejściowa lub utrzymująca się na stałym poziomie ekspresja TERE1 w komórkach nabłonka przejściowego powoduje zmniejszenie ich proliferacji. W innej publikacji wykazano zależność pomiędzy ekspresją TERE1 a nasileniem kancerogenezy. W badaniach z wykorzystaniem mikromacierzy tkanki guza pęcherza moczowego zaobserwowano, że nasilona ekspresja TERE1 hamowała wzrost guza. Zmniejszenie ekspresji TERE1 było z kolei obecne w obrębie nowotworowo transfekowanych linii komórkowych, w tym w obrębie próbek z rakiem w stadium T2. Ponadto wykazano, że wzrost ekspresji TERE1 skutkował zmniejszeniem stężenia cholesterolu w komórce

nowotworowej, który niezbędny jest w procesie kancerogenezy do zapewnienia „budulca” oraz proliferacji. Opisano również udział cholesterolu w etiopatogenezie oraz progresji raka piersi i gruczołu krokowego. Jednocześnie zaobserwowano, że w komórkach, w których zwiększona była ekspresja TERE1, stężenia cholesterolu pozostawały obniżone. Autorzy wykazali również, że mutacja w zakresie genu białka TERE1 upośledza jego wiązanie się z APOE skutkując wzrostem stężenia cholesterolu w komórce. Z kolei wzrost ekspresji TERE1 powodował wypływ cholesterolu z komórki i zmniejszenie jego stężenia [21].

1.2.2. Biomarkery systemowej odpowiedzi zapalnej

Do monitorowania intensywności reakcji zapalnej można zastosować markery systemowej odpowiedzi zapalnej, wyliczane na podstawie parametrów pozyskanych z automatycznego rozmazu krwi obwodowej. Należą do nich: NLR, dNLR, MLR i PLR.

1.2.2.1. NLR i dNLR

Wskaźniki te wzrastają wraz z pojawieniem się stanu zapalnego w organizmie, w tym w odpowiedzi na rozwój nowotworu. W wielu doniesieniach naukowych obserwowano, że wzrost ww. wskaźników jest wynikiem neutrofili i/lub limfopenii. Sugeruje się, że neutrofilia może być spowodowana wydzielanym przez nowotwór czynnikiem wzrostu granulocytów (G-CSF) oraz stanem zapalnym w mikrośrodowisku nowotworu za pośrednictwem wydzielanej interleukiny 1 (IL-1) oraz czynnika martwicy nowotworów alfa (TNF-alfa). Neutrofile wydzielają VEGF, interleukinę 6 (IL-6), IL-8 oraz jądrowy czynnik transkrypcyjny NF-κB. Za przyczynę limfopenii przyjmuje się natomiast zmniejszenie liczby limfocytów T CD4+ obserwowane u pacjentów z toczącym się procesem nowotworowym. W ten sposób osłabiona zostaje przeciwnowotworowa odpowiedź organizmu mediowana przez limfocyty, co sprzyja progresji choroby [22, 23].

1.2.2.2. MLR

Wskaźnik MLR podwyższony jest w stanie reakcji zapalnej towarzyszącej procesowi kancerogenezy. Monocyty pobudzają wydzielanie VEGF, TNF-alfa oraz białka chemotaktycznego monocyty 1 (MCP-1) [24]. W ten sposób uczestniczą w procesie angiogenezy i umożliwiają tworzenie się przerzutów. Pod wpływem komórek nowotworowych monocyty mogą różnicować się w makrofagi związane z nowotworem (TAM). Wykazano, że zwiększona obecność TAM związana jest z krótszym czasem przeżycia w licznych nowotworach [25].

1.2.2.3. PLR

Wskaźnik PLR podwyższony jest w związku ze stanem zapalnym w przebiegu procesu nowotworowego. Zwiększona liczba płytek krwi przyczynia się do stymulowania angiogenezy i tworzenia przerzutów poprzez uwalnianie VEGF, płytkopodobnego czynnika wzrostu (PDGF), PAI-1 oraz czynnika wzrostu fibroblastów (FGF-2) i MMP-9. Z kolei limfopenia, podobnie jak w przypadku NLR i MLR spowodowania jest zmniejszeniem liczby limfocytów T CD4+ [26, 27].

1.2.3. Powszechnie stosowane skale prognostyczne w chorobach nowotworowych

1.2.3.1. Skala prognostyczna Glasgow (GPS i mGPS)

Wartość skali GPS i mGPS ustalana jest w oparciu o stężenie białka C-reaktywnego (CRP) oraz albumin. Gdy stężenie CRP wynosi > 10 mg/l oraz albumin < 35 g/l, wartość GPS wynosi 2 punkty, co oznacza złe rokowanie. W przypadku stwierdzenia nieprawidłowego stężenia tylko jednego z tych parametrów wartość GPS wynosi 1 punkt, natomiast, gdy stężenie CRP i albumin są poniżej ww. granic, wartość GPS wynosi 0 i oznacza dobre rokowanie. W punktacji skali mGPS większą wartość uzyskuje się w przypadku nieprawidłowego stężenia CRP. Przy stężeniu CRP > 10 mg/l i albumin < 35 g/l przyznaje się 2 punkty, co oznacza złe rokowanie. W przypadku stężenia CRP > 10 mg/l i prawidłowego stężenia albumin uzyskuje się 1 punkt, natomiast przy stężeniu CRP ≤ 10 mg/l uzyskuje się 0 punktów niezależnie od stężenia albumin. Uzyskanie 0 punktów w skali mGPS oznacza dobre rokowanie.

Prognostyczna rola składowych skali GPS została po raz pierwszy opisana przez Forrest'a i wsp. w pracy dotyczącej nieoperacyjnego raka niedrobnokomórkowego płuc. Wykazano w niej istotność statystyczną w analizie wieloczynnikowej pomiędzy stężeniem CRP, albumin, stadium zaawansowania nowotworu i skalą sprawności ECOG. Podwyższone stężenie CRP jest wynikiem toczącego się stanu zapalnego wskutek wydzielanych przez komórki nowotworowe cytokin prozapalnych. Gorsze rokowanie w przypadku hipoalbuminemii związane jest ze zwiększoną utratą masy ciała, w tym utratą masy mięśniowej [28, 29]. Skala mGPS została opracowana po zaobserwowaniu, że w grupie pacjentów zakwalifikowanych do radykalnego leczenia chirurgicznego z powodu raka odbytnicy, przeżywalność pomiędzy chorymi z hipoalbuminemią a chorymi z prawidłowym stężeniem albumin pozostawała na zbliżonym poziomie. Podobne wyniki uzyskano w innych badaniach. Stąd obecnie postuluje się, że w predykcji rokowania większą rolę odgrywa nasilony stan zapalny wyrażony za pomocą podwyższonego stężenia CRP, a hipoalbuminemia wydaje się mieć mniejsze znaczenie [30–34].

1.2.3.2. Prognostyczny indeks żywieniowy (PNI)

Wskaźnik PNI odzwierciedla stan odżywienia pacjenta i nasilenie reakcji zapalnej, a jego wysoka wartość związana jest z dobrym rokowaniem u pacjentów onkologicznych [35]. Wskaźnik ten po raz pierwszy został opisany w badaniu Onodera i wsp. do oceny rokowania u niedożywionych pacjentów z nowotworami w obrębie przewodu pokarmowego. Na przestrzeni lat był on również wykorzystywany do oceny rokowania w innych nowotworach, w tym w raku pęcherza moczowego [36].

1.2.4. Modele prognostyczne EAU

Zgodnie z wytycznymi EAU pacjenci z NMIBC powinni zostać przyporządkowani do jednej z czterech grup ryzyka w celu predykcji progresji: grupy ryzyka niskiego, średniego, wysokiego i bardzo wysokiego. W celu predykcji nawrotu pacjenci, którzy w leczeniu nie otrzymywali BCG-terapii powinni zostać poddani ocenie za pomocą modelu Europejskiej Organizacji Badań i Leczenia Raka (EORTC) 2006. Aby ocenić ryzyko nawrotu u pacjentów, którzy w leczeniu mieli zastosowaną BCG-terapię dopęcherzową wskazane jest zastosowanie modelu Hiszpańskiej Grupy Onkologiczno-Urologicznej (CUETO) [2].

1.2.4.1. Model prognostyczny EORTC 2006

Klasyfikacja ta została opracowana w celu oceny prawdopodobieństwa nawrotu i progresji NMIBC po 1 roku i po 5 latach. Uwzględnia ona cechy histopatologiczne i kliniczne w postaci: liczby guzów (pojedynczy; 2-7; ≥ 8), średnicy guzów (< 3 cm; ≥ 3 cm), wcześniejszego nawrotu guza (guz pierwotny; ≤ 1 nawrót/rok; > 1 nawrót/rok), kategorii T stopnia zaawansowania nowotworu (Ta; T1), współwystępowania CIS (nie; tak), stopnia zróżnicowania histopatologicznego w klasyfikacji WHO 1973 (G1; G2; G3). Populację pacjentów, którzy zostali włączeni do badania w celu opracowania modelu stanowili głównie chorzy, którzy w leczeniu otrzymali chemioterapię dopęcherzową [37].

1.2.4.2. Model prognostyczny Hiszpańskiej Grupy Onkologiczno-Urologicznej (CUETO) dla pacjentów leczonych BCG-terapią

Model umożliwia predykcję nawrotu i progresji NMIBC i został opracowany na populacji pacjentów, którzy otrzymali 12 dawek wlewek dopęcherzowych BCG w okresie od 5 – 6 miesięcy po TURB. Uwzględnia on następujące czynniki: płeć, wiek, nawrotowość choroby (nie; tak), liczba guzów (3 lub mniej; powyżej 3), kategoria T stopnia zaawansowania nowotworu (Ta; T1), współwystępowanie CIS (nie; tak), stopień zróżnicowania histopatologicznego w klasyfikacji WHO 1973 (G1; G2; G3). Za pomocą modelu CUETO

możliwe jest określenie procentowego ryzyka nawrotu i progresji po 1 roku, 2 latach i 5 latach [38].

2. CEL BADAWCZY

Głównym celem badania było określenie czy biomarkery związane z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu mogą być wiarygodnymi predyktorami nawrotu lub progresji NMIBC po TURB. Dodatkowo celem badania było sprawdzenie czy badane biomarkery mogą zastąpić lub zmniejszyć częstość wykonywania zabiegów cystoskopii podczas obserwacji pacjentów po leczeniu.

3. MATERIAŁY I METODY

Badanie zostało zaprojektowane jako prospektywne pilotażowe badanie obserwacyjne. Uzyskało ono zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu (numer opinii: KB - 692/2019). Grupę chorych kwalifikowanych do badania stanowili pacjenci hospitalizowani w Klinice Urologii i Urologii Onkologicznej we Wrocławiu z powodu rozpoznania lub podejrzenia raka pęcherza moczowego nienaciekającego mięśniówki (NMIBC) w latach 2020-2022. Badanie przeprowadzono zgodnie z zasadami Deklaracji Helsińskiej i Dobrej Praktyki Klinicznej. Badanie finansowane było z grantu naukowego Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego „Diamantowy Grant”. Badanie zostało zarejestrowane w bazie clinicaltrials.gov, z numerem rejestracyjnym: NCT06235853.

3.1. Grupa badana i przebieg badania

W badaniu poddano screeningowi łącznie 318 chorych z podejrzeniem NMIBC. Do badania włączono pacjentów, którzy spełniali predefiniowane kryteria włączenia i wyrazili świadomą zgodę na udział w badaniu. U pacjentów tych przed zabiegiem TURB pobrano krew i mocz do badania w celu oznaczenia biomarkerów związanych z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu: suPAR, PAI-1, VEGF, IL-8, APOE. Materiał biologiczny pobrano również w celu oznaczenia biomarkerów związanych z reakcją zapalną i stanem odżywienia pacjentów: NLR, dNLR, MLR, PLR, GPS, mGPS, PNI.

3.2. Kryteria włączenia i wyłączenia z badania

Kryteria włączenia do badania:

- uzyskanie świadomej zgody pacjenta
- obecność guza lub podejrzenia guza pęcherza moczowego
- kwalifikacja do zabiegu TURB.

Kryteria wyłączenia z badania:

- wiek < 18 r.ż.
- aktywne zakażenie układu moczowego
- aktywna choroba z autoagresji
- schyłkowa niewydolność nerek i leczenie nerkozastępcze
- aktywne wirusowe zapalenie wątroby typu A, B lub C
- aktywne zakażenie HIV
- ciąża

- czynniki dyskwalifikujące pacjenta od leczenia adjuwantowego (immunoterapii dopęcherzowej lub chemioterapii dopęcherzowej)
- zaawansowanie guza pęcherza moczowego równe T2 i więcej lub nowotwór urotelialny w innym miejscu niż pęcherz moczowy
- inny nowotwór lub leczenie przeciwnowotworowe systemowe prowadzone do 5 lat wstecz
- czynniki dyskwalifikujące pacjenta z leczenia zabiegowego, np. koagulopatie
- brak zgody pacjenta na seryjne pobranie próbek krwi i moczu oraz na wizyty kontrolne.

3.3. Punkty końcowe badania

Pierwszorzędowe punkty końcowe:

- nawrót raka pęcherza moczowego (w czasie obserwacji)
- progresja raka pęcherza moczowego do stadium zaawansowania T2 lub wyżej (w czasie obserwacji).

Drugorzędowe punkty końcowe:

- zgon specyficzny dla raka pęcherza moczowego
- zgon niespecyficzny dla raka pęcherza moczowego
- konieczność wykonania leczenia radykalnego (cystektomia radykalna)
- pojawienie się nowotworu urotelialnego w innym miejscu niż pęcherz moczowy (układy zbiorcze nerek, moczowody, cewka moczowa).

3.4. Zakres gromadzonych danych

Od pacjentów włączonych do badania zebrano dane antropometryczne (płeć, wiek, wzrost, masa ciała, BMI) i dane kliniczne (dotyczące chorób współistniejących, farmakoterapii, uwzględniające nikotynizm oraz niezbędne do oznaczenia wskaźnika współchorobowości Charlson (CCI)). Pacjentom pobrano krew i mocz w celu oznaczenia podstawowych parametrów (morfologia 5-DIFF, CRP, albumina) oraz badanych biomarkerów: suPAR, PAI-1, IL-8 (oznaczenie z krwi) oraz APOE, VEGF, IL-8 (oznaczenie z moczu). Na podstawie morfologii 5-DIFF, stężenia CRP i albumin wyliczono parametry związane z reakcją zapalną i stanem odżywienia pacjenta według poniższych wzorów:

- $$NLR = \frac{\text{liczba neutrofili}}{\text{liczba limfocytów}}$$
- $$PLR = \frac{\text{liczba płytek}}{\text{liczba limfocytów}}$$

- $MLR = \frac{\text{liczba monocytów}}{\text{liczba limfocytów}}$
- $dNLR = \frac{\text{liczba neutrofili}}{\text{liczba leukocytów} - \text{liczba limfocytów}}$
- $PNI = 10 \times \text{stężenie albuminy we krwi} \left(\frac{\text{g}}{\text{dL}} \right) + 0.005 \times \text{liczba limfocytów}/\mu\text{L}$.

Wartość skali GPS i mGPS obliczono zgodnie z metodologią opisaną we Wstępie.

Zgromadzono również wyniki wszystkich badań histopatologicznych uzyskanych po przeprowadzeniu zabiegów endoskopowych TURB u wszystkich pacjentów.

3.5. Postępowanie ze zgromadzonym materiałem biologicznym i oznaczanie badanych biomarkerów

Od każdego pacjenta zakwalifikowanego do badania pobierano próbki krwi i moczu. Materiał każdorazowo dostarczany był do Laboratorium Specjalistycznego Katedry i Kliniki Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej we Wrocławiu w czasie < 2h od pobrania i poddawany odwirowaniu przez 10 min przy 1000xg. Uzyskane: surowica, osocze i supernatant zostawały następnie zmrożone w temperaturze <-70°C i były przechowywane w warunkach monitorowanej temperatury w zamrażarkach do czasu oznaczeń biomarkerów. Wszystkie biomarkery oznaczone zostały metodą ELISA za pomocą zestawów firmy R&D Systems oraz Thermo Fisher Scientific. Do oznaczenia ilościowego metodą ELISA biomarkerów: suPAR, PAI-1, IL-8 we krwi oraz VEGF, APOE, IL-8 w moczu zostały użyte: Human uPAR Quantikine ELISA Kit DUP00, Human Serpin E1/PAI-1 Quantikine ELISA Kit DSE100, Human IL-8/CXCL8 Quantikine ELISA Kit D8000C, Human VEGF Quantikine ELISA Kit DVE00, Apolipoprotein E Human ELISA Kit EHAPOE. W przypadku oznaczania stężeń IL-8 konieczne było 10-krotne rozcieńczenie próbek krwi i moczu. Stężenia biomarkerów w moczu zostały znormalizowane względem stężenia kreatyniny w próbce.

3.6. Analiza statystyczna

Dane liczbowe o charakterze ciągłym zostały poddane analizie rozkładu za pomocą testów normalności W Shapiro-Wilka i w zależności od typu rozkładu były prezentowane jako wartość średnia $\pm$ odchylenie standardowe (SD) lub mediana i zakres międzykwartylowy (IQR). Analiza tabel dwudzielczych wykonana została z zastosowaniem testu Fishera, a analiza tabel wielodzielczych z wykorzystaniem testu Chi-kwadrat. Istotność różnic wartości zmiennych ciągłych pomiędzy dwoma grupami oceniana była testem t-Studenta dla zmiennych o rozkładzie normalnym lub testem U Mann-Whitney w przypadku rozkładu nie-normalnego. Analiza wartości predykcyjnej badanych biomarkerów została przeprowadzona przy użyciu

analizy krzywych ROC. Pole pod krzywą (AUC) z 95% przedziałem ufności (CI), swoistość, czułość, punkt Youden'a z najlepszym punktem odcięcia wyznaczono dla każdej krzywej ROC. Asocjacje pomiędzy danymi ciągłymi zostały zbadane z wykorzystaniem współczynnika korelacji rang Spearmana ze względu na dominujący rozkład nie-normalny danych. Wartość prawdopodobieństwa $p < 0.05$ dla hipotezy statystycznej została przyjęta jako istotna statystycznie. Analizy statystyczne zostały wykonane przy użyciu programu Statistica 13.2 StatSoft Inc. Polska.

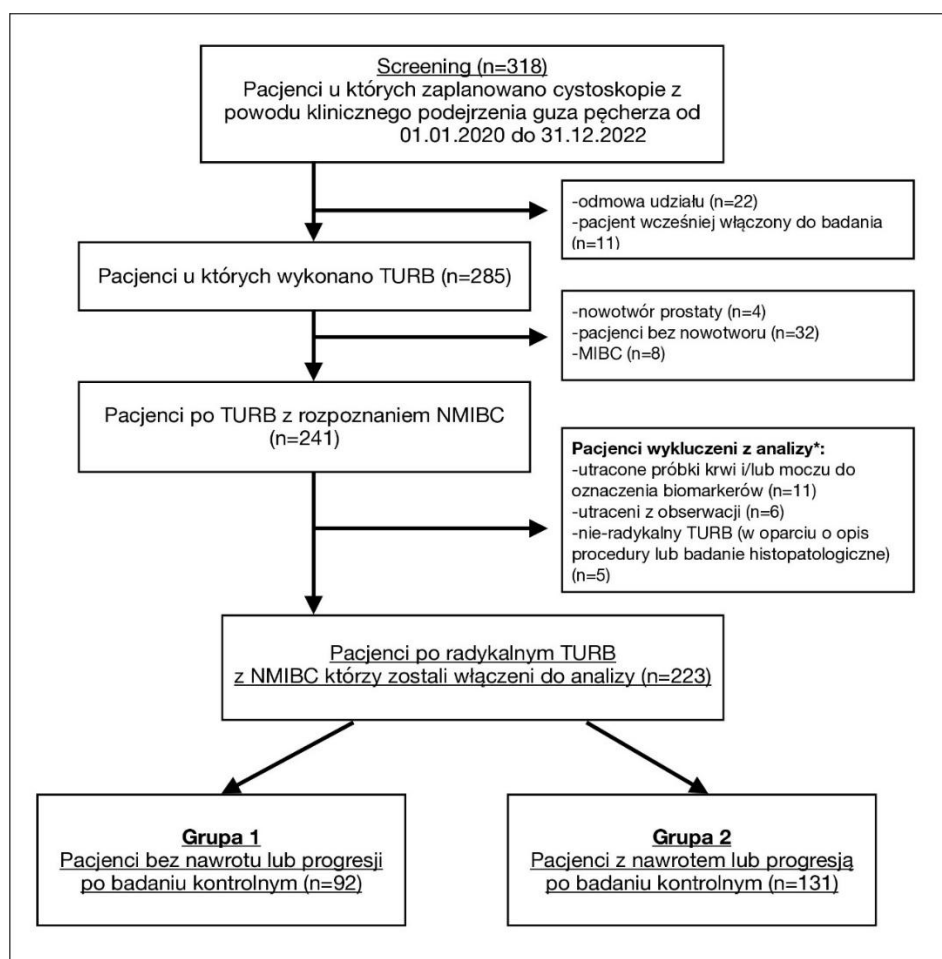
3.7. Analiza statystyczna dla modeli uczenia maszynowego (ML)

W celu zbadania właściwości predykcyjnych biomarkerów i zależności pomiędzy nimi, wykorzystano modele uczenia maszynowego (ML). Wykonano optymalizację hiperparametryczną algorytmów dla modeli ML: Random Forest, Support Vector Machine (SVM), Naïve Bayes, K-nearest Neighbours (KNN) i MLP, AdaBoost, XGBoost oraz LightGBM. Najlepsze wyniki uzyskano z wykorzystaniem algorytmów Random Forest i LightGBM. Aby zminimalizować problem nie zrównoważonego zbioru danych, wykorzystano metodologię opisaną przez Lemaître i wsp. [39]. Dla każdego algorytmu dokonano oceny znormalizowanej istotności czynników współtworzących model.

4. WYNIKI

4.1. Rekrutacja i obserwacja pacjentów

W badaniu poddano screeningowi łącznie 318 pacjentów, którzy nie wykazywali przeciwwskazań do udziału w badaniu. Na Rycinie 1 przedstawiono dokładny przebieg procesu rekrutacji, obserwacji i analizy uzyskanych danych. Do badania włączono ostatecznie 241 uczestników. W związku z: utratą części próbek materiału biologicznego, brakiem obserwacji (zmiana ośrodka leczącego/odmowa kontaktu) lub nieradykalnego zabiegu TURB końcowe analizy oparto o grupę 223 pacjentów. W niektórych przypadkach analizy wykonywane były na mniejszych podgrupach z uwagi na niepełny zestaw danych. W opracowaniu wyników posłużono się złożonym punktem końcowym, zdefiniowanym jako brak nawrotu lub progresji po trzech miesiącach, względem którego podzielono pacjentów na dwie grupy.



Rycina 1 Schemat rekrutacji pacjentów do badania

4.2. Ogólna charakterystyka grup badanych

Pacjentów podzielono na dwie grupy w zależności od wyniku uzyskanego podczas pierwszej kontroli po trzech miesiącach. Grupę 1 (n=92) stanowili pacjenci, u których nie stwierdzono nowotworu (brak nieprawidłowości stwierdzonych w badaniu cystoskopowym lub brak nowotworu w badaniu histopatologicznym materiału z kolejnego zabiegu TURB). Grupę 2 (n=131) stanowili chorzy, u których doszło do nawrotu lub progresji nowotworu do MIBC. Średni czas od przeprowadzenia zabiegu TURB do wykonania kontrolnego badania wyniósł 97 dni. W Tabeli 1 przedstawiono charakterystykę grup badanych i stężenia poszczególnych biomarkerów. Pacjenci w Grupie 2 byli bardziej obciążeni chorobowo, co przekłada się na wyższą liczbę punktów uzyskanych w Indeksie Charlson: 4 (IQR: 2.5 - 5) vs 5 (IQR: 4 – 6), $p < 0.0001$. Zabieg re-TURB z powodu wysokiego ryzyka został przeprowadzony w 5 przypadkach wśród pacjentów z Grupy 1 i w 11 przypadkach wśród chorych w Grupie 2. Nie zaobserwowano innych istotnych różnic między tymi grupami.

	Badania populacja (n=223)	Brak nowotworu post-TURB – Grupa 1 (n=92)	Obecny nowotwór – Grupa 2 (n=131)	wartość p
Wiek [lata]	70; IQR (65 - 76)	69; IQR (64 - 74)	70; IQR (65 - 77)	0.1969
Płeć [M/K]	162 / 61	63 / 29	99 / 32	0.3629
BCG-terapia przed rekrutacją do badania	107 (45.3%)	51 (55.4%)	56 (42.7%)	0.0767
Chemioterapia dopęcherzowa przed włączeniem do badania	42 (18.8%)	22 (23.9%)	20 (15.3%)	0.1189
CCI (Charlson Comorbidity Index)	5; IQR (4 - 6)	4; IQR (2.5 - 5)	5; IQR (4 - 6)	<0.0001
Otyłość	13 (5.8%)	8 (8.7%)	5 (3.8%)	0.1517
ChSN	44 (19.7%)	15 (16.3%)	29 (22.13%)	0.3092
PChN	7 (3.1%)	1 (1%)	6 (4.6%)	0.2970
Cukrzyca	53 (23.8%)	22 (23.9%)	31 (23.7%)	0.9999
Nikotynizm	32 (14.3%)	11 (11.9%)	21 (16.0%)	0.4422
EORTC punkty nawrotu	2; IQR (1 - 3)	1; IQR (0 - 2)	3; IQR (2 - 4)	<0.0001
EORTC punkty progresji	2; IQR (0 - 6)	2; IQR (0 - 4)	4; IQR (2 - 6)	0.0001
Wyjściowa charakterystyka histopatologiczna nowotworu:				
Nowotwór pierwotny	83 (37.2%)	36 (39.1%)	47 (35.9%)	0.6737

Nowotwór wtórny*	140 (62.8%)	56 (60.9%)	84 (64.1%)	
pTis	11 (4.9%)	2 (2.2%)	9 (6.9%)	0.1294
pTa	112 (50.2%)	45 (48.9%)	67 (51.1%)	0.9999
pT1	83 (37.2%)	39 (42.4%)	44 (33.6%)	0.2062
Stopień zaawansowania nieznany	17 (7.6%)	6 (6.5%)	11 (8.4%)	
Low-grade (LG)	92 (41.3%)	36 (39.1%)	56 (42.7%)	0.2941
High-grade (HG)	114 (51.1%)	50 (54.4%)	64 (48.9%)	0.2510
Grading nieznany	17 (7.6%)	6 (6.5%)	11 (8.4%)	
Nawrót	120 (50.8%)	n/a	120 (91.6%)	
Progresja	11 (4.7%)	n/a	11 (8.4%)	
Badane biomarkery:				
PAI-1 we krwi	3.65; IQR (2.17 - 6.2)	3.51; IQR (2.16 - 6.51)	3.76; IQR (2.16 - 5.44)	0.8057
suPAR we krwi	2.69; IQR (1.97 - 3.58)	2.4; IQR (1.89 - 3.08)	2.86; IQR (2.06 - 3.75)	0.0332
IL-8 we krwi	21.6; IQR (12.43 - 66.4)	19.0; IQR (10.12 - 35.71)	24.4; IQR (13.93 - 83.57)	0.0065
IL-8 w moczu	55.9; IQR (16.9 - 67.2)	58.7; IQR (18.1 - 67.2)	53.96; IQR (16.06 - 67.15)	0.9716
VEGF w moczu	122.5; IQR (74.9 - 250.8)	96.0; IQR (72.45 - 149.1)	153.4; IQR (78.84 - 329.3)	0.0011
APOE w moczu	9.54; IQR (5.19 - 21.46)	7.9; IQR (4.33 - 14.69)	9.91; IQR (5.58 - 24.53)	0.0434

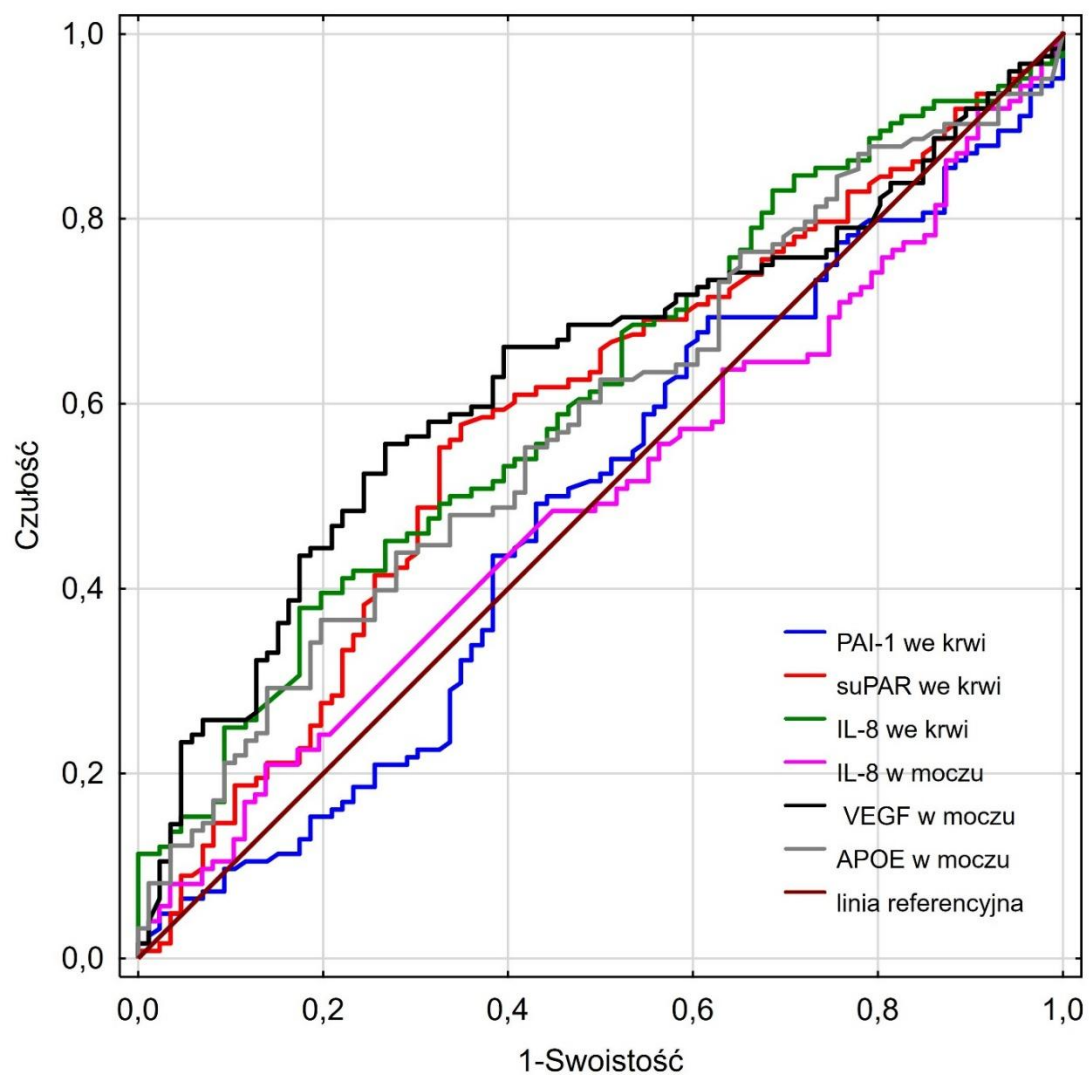
* Nowotwór nawrotowy

Tabela 1 Ogólna charakterystyka badanej populacji z podziałem na grupy

4.3. Wartość prognostyczna biomarkerów związanych z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu

Spośród biomarkerów związanych z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu w Grupie 2 stwierdzono wyższe stężenia IL-8 we krwi (24.4; IQR 13.9-84.6 vs 19.0; IQR 10.1-35.71, $p=0.0065$) oraz wyższe stężenia suPAR (2.86; IQR 2.06-3.75 vs 2.4; IQR 1.89-3.08, $p=0.0033$). Ponadto znacząco wyższe było stężenie VEGF (153; IQR 78.84-329.3 vs 96; IQR 72.45-149.1, $p=0.0011$) oraz APOE (9.91; IQR 5.58-24.53 vs 7.9; IQR 4.33-14.69, $p=0.0434$) w tej grupie chorych. Obie grupy pacjentów uzyskały zbliżone wyniki w zakresie stężeń PAI-1 i IL-8 oznaczanej w moczu.

W celu oceny wartości prognostycznej biomarkerów w zakresie predykcji nawrotu lub progresji po TURB wykonano analizę krzywych ROC dla każdego z nich - Rycina 2. Wartości AUC krzywych ROC przedstawiono w Tabeli 2.



Rycina 2 Krzywe ROC dla badanych biomarkerów związanych z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu

	AUC	AUC 95% CI	SE	wartość p
PAI-1 we krwi	0.49	0.41 - 0.57	0.041	0.9062
suPAR we krwi	0.587	0.508 - 0.665	0.040	0.0305
IL-8 we krwi	0.611	0.534 - 0.687	0.039	0.0044
IL-8 w moczu	0.499	0.42 - 0.577	0.040	0.9704
VEGF w moczu	0.632	0.557 - 0.707	0.038	0.0006
APOE w moczu	0.582	0.505 - 0.660	0.040	0.0375
EORTC punkty nawrotu	0.778	0.748 – 0.804	0.030	<0.0001
EORTC punkty progresji	0.654	0.580 – 0.728	0.038	<0.0001
Najlepszy model wieloczynnikowy ^a	0.806	0.775 – 0.837	0.031	<0.0001

Tabela 2 Analiza krzywych ROC dla biomarkerów związanych z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu w przewidywaniu nawrotu lub progresji nowotworu

^a Model opisany w Tabeli 3

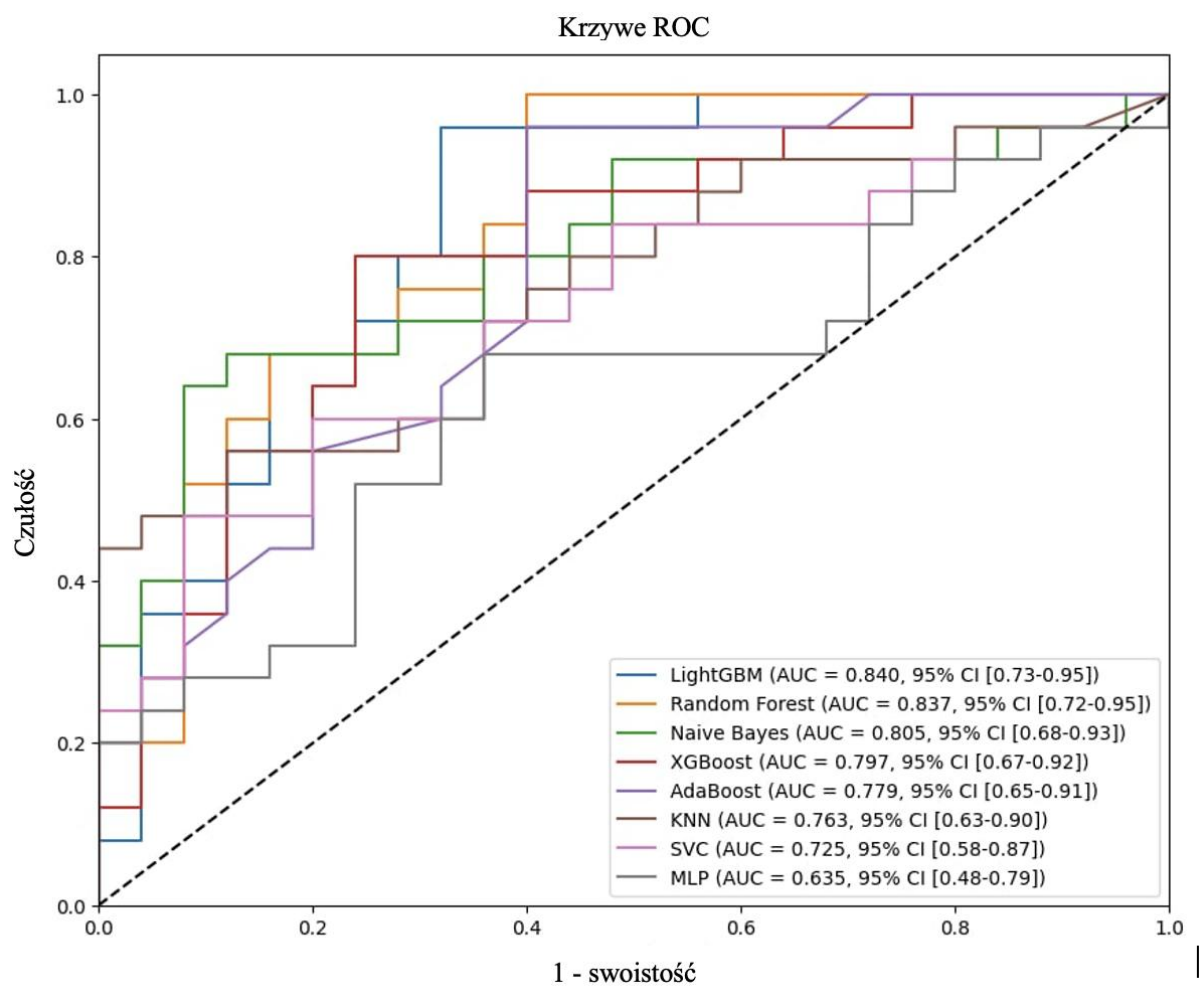
Żaden z badanych biomarkerów związanych z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu nie uzyskał wysokiej wartości w przewidywaniu nawrotu lub progresji w analizie jednoczynnikowej. Stężenie IL-8 we krwi i VEGF uzyskało najwyższą wartość prognostyczną z AUROC wynoszącym odpowiednio 0.611 (95% CI: 0.534 – 0.687, p=0.0044) oraz 0.632 (95% CI: 0.557 – 0.707, p=0.0006). Stężenie PAI-1 i IL-8 w moczu nie wykazały istotności statystycznej dla przewidywania punktu końcowego badania.

W celu zwiększenia użyteczności klinicznej badanych biomarkerów zbadano czy zwiększają one wartość predykcyjną istniejącego już modelu prognostycznego EORTC. Przeprowadzono wieloczynnikową analizę regresji logistycznej ze wsteczną eliminacją zmiennych. Liczba punktów ryzyka nawrotu modelu EORTC, stężenie VEGF w moczu i IL-8 we krwi stanowiły niezależne czynniki złego rokowania. Model osiągnął wartość AUROC wynoszącą 0.806 i SE 0.031. Dokładne wyniki zostały zaprezentowane w Tabeli 3.

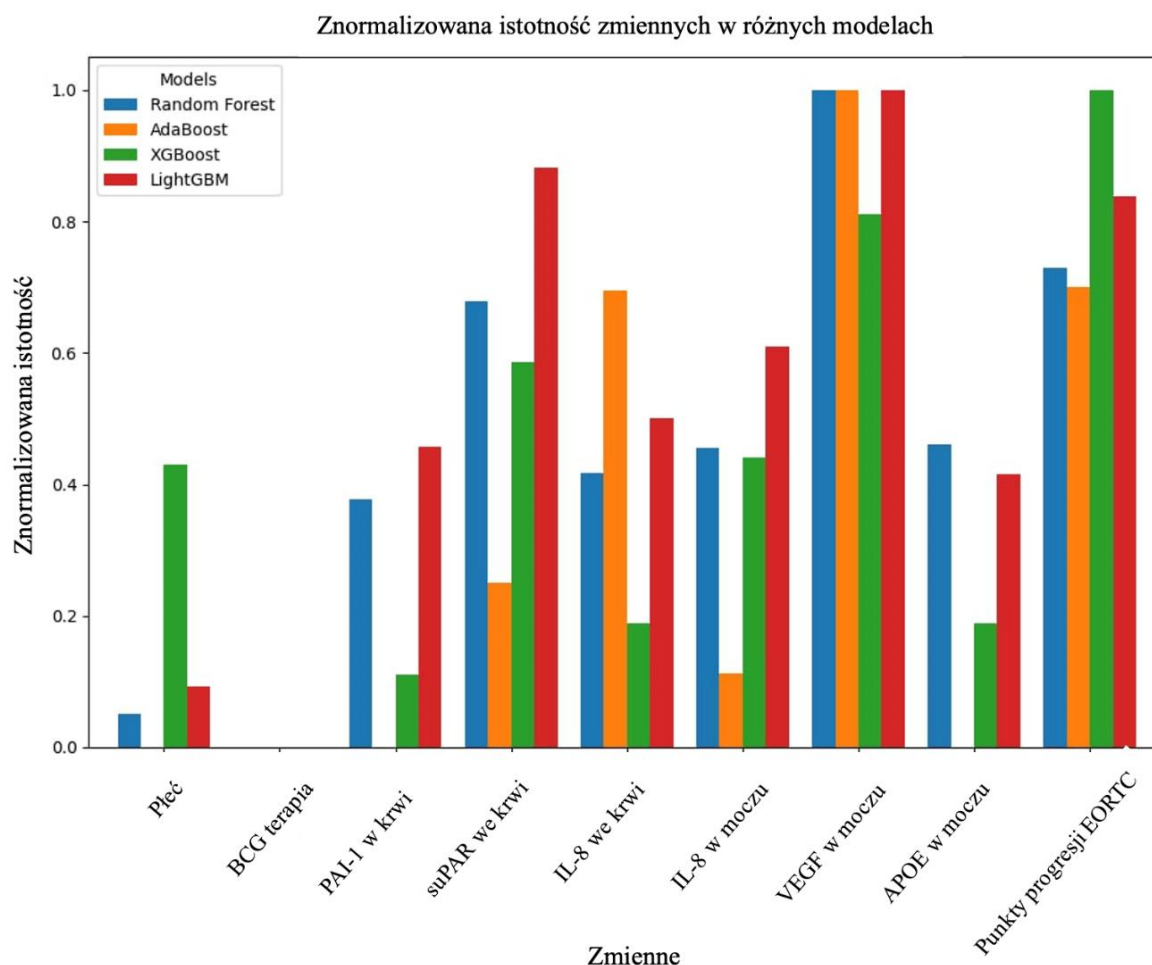
Zmienna	Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa	
	OR (95% CI)	wartość p	Skorygowany OR (95% CI)	wartość p
PAI-1 we krwi	1.014 (0.969 – 1.060)	0.5535	-	-
suPAR we krwi	1.271 (1.012 – 1.598)	0.0396	-	-
IL-8 we krwi	1.005 (1.002 – 1.009)	0.0051	1.006 (1.001 – 1.010)	0.0091
IL-8 w moczu	1.001 (0.999 – 1.003)	0.3278	-	-
VEGF w moczu	1.002 (1.001 – 1.003)	0.0258	1.002 (1.001 – 1.003)	0.0478
APOE w moczu	1.006 (1.000 – 1.013)	0.0642	-	-
EORTC punkty nawrotu	2.531 (1.927 – 3.323)	<0.0001	2.466 (1.866 – 3.259)	<0.0001
EORTC punkty progresji	1.183 (1.080 – 1.297)	0.0003	-	-

Tabela 3 Model wieloczynnikowej regresji logistycznej dla predykcji nawrotu lub progresji nowotworu
Model AUC=0.806 (95% CI: 0.775 – 0.837, p=0.0001)

W celu dalszej eksploracji możliwości oceny właściwości prognostycznych biomarkerów i zbadania interakcji pomiędzy nimi, wykorzystano uczenie maszynowe (ML). W toku analiz utworzono liczne modele ML oparte o najbardziej adekwatne architektury i porównano je pomiędzy sobą. Charakterystyka utworzonych modeli ML zbudowanych z wielu zmiennych (wiek, BCG-terapia, punkty ryzyka nawrotu i progresji modelu EORTC oraz stężenia badanych biomarkerów) została zaprezentowana na Rycinie 3. Najwyższą wartość prognostyczną uzyskano z wykorzystaniem modelu LightGBM, który osiągnął AUROC 0.84 (95% CI: 0.73-0.95, p<0.0001) dla rozpoznawania punktu końcowego badania. W obrębie czterech modeli, które uzyskały najwyższą wartość prognostyczną, dokonano oceny znormalizowanej istotności czynników współtworzących model, aby ocenić, które z nich wnoszą najwięcej informacji w kontekście predykcji punktu końcowego. Uzyskane wyniki zaprezentowano na Rycinie 4.



Rycina 3 Wyniki uzyskane w modelach ML



Rycina 4 Ocena znormalizowanej istotności czynników współtworzących modele ML

Powtarzalne zmienne o najwyższej kontrybucji prognostycznej, z których złożone były modele ML, stanowiły: punkty progresji modelu EORTC, stężenie VEGF w moczu, stężenie IL-8 we krwi oraz stężenie suPAR we krwi.

Kolejne analizy mające na celu ocenę właściwości diagnostycznych biomarkerów związanych z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu w rozróżnianiu MIBC od NMIBC oraz NMIBC od zdrowych pacjentów zostały przedstawione w Tabelach 4-7.

W Tabeli 4 ukazano porównanie stężeń biomarkerów u pacjentów włączonych do badania, u których rozpoznano NMIBC lub MIBC. Pacjenci z MIBC prezentowali istotnie wyższe stężenia APOE, VEGF i IL-8 w moczu. Wartości pola pod krzywą ROC dla każdego z biomarkerów przedstawiono w Tabeli 5. Ponadto, aby porównać i zweryfikować hipotezę postawioną w poprzednich doniesieniach literaturowych [40], zbudowano wieloczynnikowy model regresji logistycznej (Tabela 6), który uzyskał AUROC=0.892 i SE=0.041 dla rozpoznawania MIBC.

Biomarker	Pacjenci z NMIBC (n=223)	Pacjenci z MIBC (n=8)	wartość p
PAI-1 we krwi	3.65 (2.17 - 6.2)	4.89 (2.49 – 5.45)	0.5114
suPAR we krwi	2.69 (1.97 - 3.58)	3.70 (2.87 – 4.99)	0.0399
IL-8 we krwi	21.6 (12.43 - 66.4)	30.76 (25.34 – 85.43)	0.1360
IL-8 w moczu	55.9 (16.9 - 67.2)	280 (67.15 – 524.9)	0.0065
VEGF w moczu	122.5 (74.9 - 250.8)	460.4 (214.7 - 1049)	0.0069
APOE w moczu	9.54 (5.19 - 21.46)	62.37 (16.98 – 259.2)	0.0089

Tabela 4 Porównanie stężeń biomarkerów u pacjentów z NMIBC i MIBC (w momencie włączenia do badania – wartość diagnostyczna)

	AUC	AUC 95% CI	SE	wartość p
PAI-1 we krwi	0.569	0.407 - 0.732	0.083	0.4025
suPAR we krwi	0.712	0.527 - 0.898	0.095	0.0250
IL-8 we krwi	0.656	0.528 - 0.785	0.065	0.0170
IL-8 w moczu	0.773	0.580 - 0.967	0.099	0.0056
VEGF w moczu	0.775	0.594 - 0.956	0.093	0.0029
APOE w moczu	0.765	0.560 - 0.970	0.105	0.0112
EORTC punkty nawrotu^a	n/a	n/a	n/a	n/a
EORTC punkty progresji^a	n/a	n/a	n/a	n/a

Tabela 5 Analiza krzywych ROC dla badanych biomarkerów dla rozpoznawania pomiędzy MIBC i NMIBC (w momencie włączenia do badania – wartość diagnostyczna)

^a W 5 z 8 przypadków MIBC postawiono rozpoznanie *de-novo*, stąd nie dokonano oceny w modelu EORTC. W związku z tym analiza krzywych ROC nie została wykonana dla tych parametrów.

Zmienna	Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa	
	OR (95% CI)	wartość p	Skorygowany OR (95% CI)	wartość p
VEGF w moczu	1.001 (1.001 – 1.006)	0.0041	1.001 (1.000 – 1.002)	0.0330
IL-8 w moczu	1.003 (1.001 – 1.005)	0.0290	1.003 (1.000 – 1.005)	0.0791
APOE w moczu	1.000 (0.999 – 1.001)	0.5711	1.000 (0.998 – 1.001)	0.4735

Zmienna modelowana – MIBC: AUROC=0.892 (SE=0.041)

Tabela 6 Wieloczynnikowa regresja logistyczna dla rozpoznawania pomiędzy NMIBC i MIBC w momencie włączenia do badania

Analiza została przeprowadzona w celu porównania do wyników opisanych przez Goodisona i wsp. [40]

Dodatkowo porównano stężenia biomarkerów u chorych, u których wstępne badanie endoskopowe wykluczyło nowotwór pęcherza moczowego z osobami, u których rozpoznano NMIBC (Tabela 7). Nie wykazano żadnych różnic pomiędzy tymi dwoma grupami.

Biomarker (mediana; IQR)	Pacjenci bez nowotworu (n=32)	Pacjenci z NMIBC (n=223)	wartość p
PAI-1 we krwi	3.45 (2.15 – 5.44)	3.65 (2.17 - 6.2)	0.7696
suPAR we krwi	2.43 (1.80 – 3.39)	2.69 (1.97 - 3.58)	0.3824
IL-8 we krwi	14.75 (10.52 – 39.69)	21.6 (12.43 - 66.4)	0.1224
IL-8 w moczu	67.15 (33.28 – 67.15)	55.9 (16.9 - 67.2)	0.5704
VEGF w moczu	95.42 (52.64 – 221.76)	122.5 (74.9 - 250.8)	0.1170
APOE w moczu	9.16 (4.38 – 20.28)	9.54 (5.19 - 21.46)	0.5709

Tabela 7 Porównanie stężeń biomarkerów dla rozpoznawania pomiędzy pacjentami bez nowotworu i pacjentami z NMIBC w momencie włączenia do badania (wartość diagnostyczna)

W Tabeli 8 stężenia biomarkerów porównano w podgrupach uwzględniających: stopień złośliwości, charakter nowotworu i BCG-terapię w wywiadzie przed włączeniem do badania. Zaobserwowano podwyższone stężenia IL-8 w moczu w grupie HG (w porównaniu do LG) oraz w grupie pacjentów, którzy otrzymali wlewki BCG przed włączeniem do badania. Ponadto stwierdzono wyższe stężenie VEGF w grupie pacjentów z pierwotnym nowotworem. Z uwagi na fakt, że podgrupę chorych, którzy otrzymywali wlewki BCG stanowili głównie pacjenci z rozpoznaniem NMIBC HG (NMIBC-HG), w Tabeli 9 dokonano porównania stężeń biomarkerów pomiędzy chorymi z NMIBC-HG i -LG, w zależności od tego czy otrzymywali BCG-terapię. U chorych, którzy nie otrzymywali wlewek BCG zaobserwowano 2-krotnie wyższe stężenia VEGF i APOE w moczu.

Podgrupy	Biomarker	Liczebność podgrup (Grupa 1 / Grupa 2)	Mediana grupy (IQR)	wartość p
Low-grade (LG) <i>versus</i> High-grade (HG)	PAI-1 we krwi	Low-grade (LG): n=92	-	0.1182
	suPAR we krwi		-	0.0885
	IL-8 we krwi		-	0.9512
	IL-8 w moczu	High-grade (HG): n=114	34.36 (11.23-65.02) vs 67.15 (26.21-109.51)	0.0002
	VEGF w moczu		-	0.8054
	APOE w moczu		-	0.9937
pierwotny nowotwór <i>versus</i> wtórny nowotwór	PAI-1 we krwi	pierwotny nowotwór (n=83)	-	0.1117
	suPAR we krwi		-	0.5056
	IL-8 we krwi		-	0.8194
	IL-8 w moczu	wtórny nowotwór (n=140)	-	0.0505
	VEGF w moczu		145.5 (85.2-301.5) vs 107.3 (66.4-201.1)	0.0085
	APOE w moczu		-	0.0618
[wtórne nowotwory]: Brak BCG-terapii przed włączeniem do badania <i>versus</i> BCG-terapia przed włączeniem do badania	PAI-1 we krwi	Brak BCG-terapii przed włączeniem do badania (n=33)	-	0.7711
	suPAR we krwi		-	0.1663
	IL-8 we krwi		-	0.0893
	IL-8 w moczu	BCG-terapia przed włączeniem do badania (n=107)	31.18 (9.87-67.15) vs 63.89 (18.22-82.09)	0.0114
	VEGF w moczu		-	0.2216
	APOE w moczu		-	0.4052

Tabela 8 Porównanie stężeń biomarkerów w podgrupach uwzględniających stopień złośliwości, charakter nowotworu i BCG-terapię w wywiadzie

	NMIBC – rak HG – BCG(-) (n=30)	NMIBC – rak HG – BCG(+) (n=84)	wartość p
PAI-1 we krwi	3.92 (2.58 – 5.82)	3.09 (1.99 – 4.83)	0.0929
suPAR we krwi	2.97 (2.31 – 4.19)	2.67 (2.03 – 3.28)	0.0247
IL-8 we krwi	19.88 (10.79 – 66.41)	19.97 (15.49 – 51.09)	0.5456
IL-8 w moczu	67.15 (41.89 – 67.15)	67.15 (18.11 – 115.03)	0.3099
VEGF w moczu	226 (114.1 – 542.2)	98.02 (66.37 – 154.79)	<0.0001
APOE w moczu	15.76 (7.72 – 81.20)	7.56 (4.28 – 12.09)	<0.0001

Tabela 9 Porównanie stężeń badanych biomarkerów u pacjentów z rakiem HG w zależności od wcześniejszej ekspozycji na BCG-terapię

4.4. Biomarkery związane z reakcją zapalną i stanem odżywienia pacjentów

Z uwagi na utratę w czasie pandemii COVID-19 części próbek krwi służących oznaczeniu morfologii, stężenia CRP i albuminy (utrata próbek, hemoliza) analiza wartości prognostycznej biomarkerów związanych z reakcją zapalną i stanem odżywienia została przeprowadzona na mniejszej podgrupie chorych obejmującej 183 pacjentów.

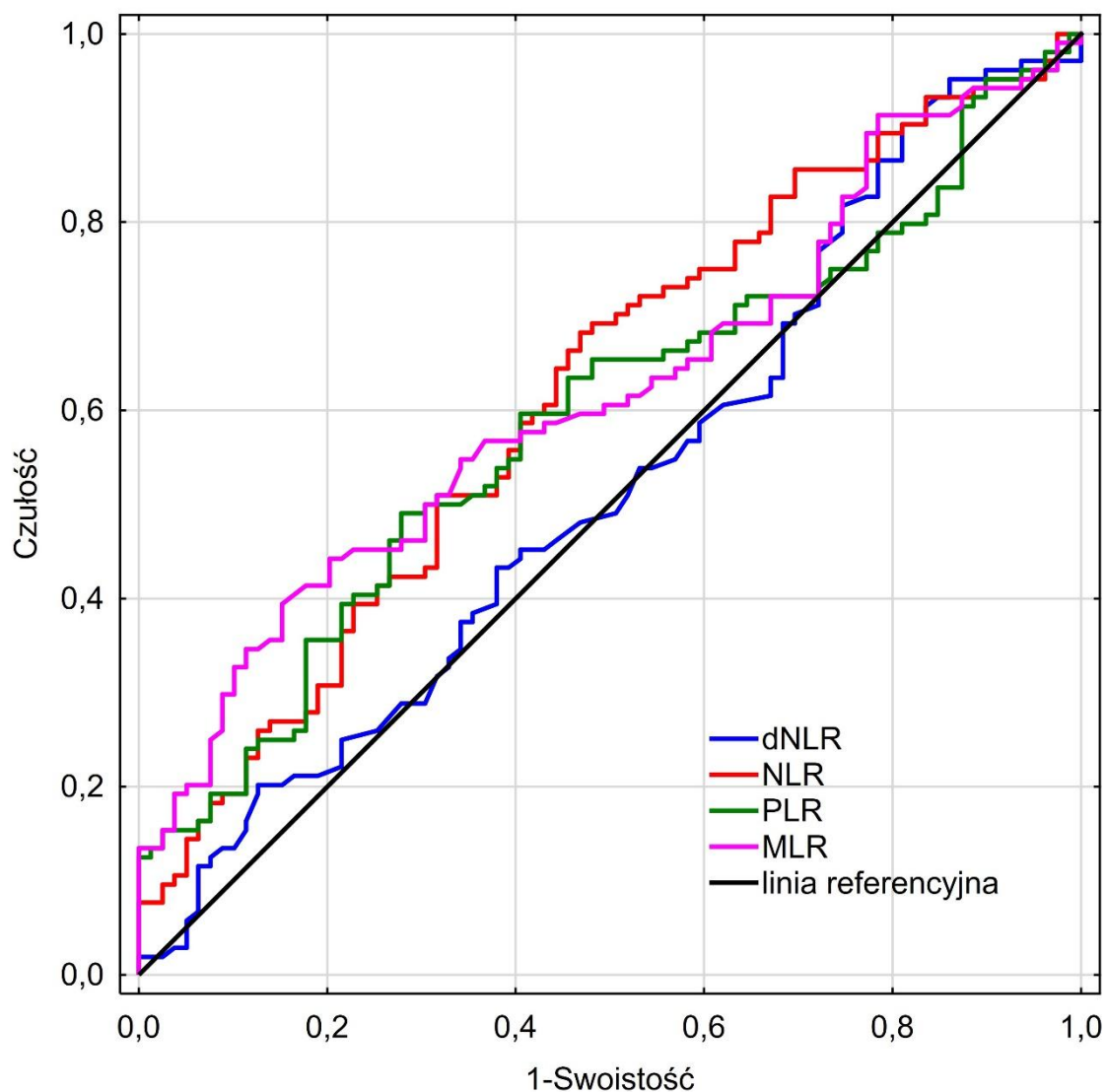
Biomarkery związane z reakcją zapalną i stanem odżywienia osiągnęły niską wartość predykcyjną dla nawrotu lub progresji nowotworu. W Tabeli 10 przedstawiono wyniki analizy krzywych ROC. Najwyższą wartość AUC osiągnął wskaźnik NLR 0.618 (95% CI: 0.536-0.699). NLR >1.5 uzyskał czułość 90% i swoistość 19% w przewidywaniu punktu końcowego. Iloraz szans (OR) wyliczony dla NLR wyniósł 1.46 (95% CI: 1.104-1.921) z wartością $p < 0.0001$. Wartości punktów nawrotu i progresji EORTC zaprezentowano jako punkt odniesienia.

	AUC	AUC 95% CI	SE	wartość p
NLR	0.618	0.536 - 0.699	0.042	0.0047
PLR	0.59	0.508 - 0.672	0.042	0.0305
MLR	0.617	0.537 - 0.698	0.041	0.0044
dNLR	0.521	0.436 - 0.606	0.043	0.6335
GPS	0.536	0.463 - 0.630	0.043	0.2760
mGPS	0.543	0.460 - 0.627	0.043	0.3109
PNI	0.429	0.345 - 0.512	0.043	0.0935
EORTC punkty nawrotu	0.804	0.740 - 0.868	0.033	<0.0001
EORTC punkty progresji	0.685	0.577 - 0.738	0.041	0.0001

Tabela 10 Analiza krzywych ROC dla biomarkerów związanych z reakcją zapalną i stanem odżywienia w przewidywaniu nawrotu lub progresji nowotworu

Żaden spośród biomarkerów związanych ze stanem odżywienia pacjenta nie wykazał wartości predykcyjnej dla nawrotu lub progresji nowotworu. Na Rycinie 5 zostały zaprezentowane krzywe ROC dla biomarkerów przedstawionych w Tabeli 10. Podobnie jak w przypadku biomarkerów związanych z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu, zbadano czy biomarkery reakcji zapalnej i stanu odżywienia mają wpływ na poprawę wartości predykcyjnej skali EORTC. Przeprowadzono dwuczynnikową analizę regresji logistycznej, w której zbadano zależność pomiędzy punktami nawrotu i progresji EORTC oraz kolejno każdym

z biomarkerów, co zaprezentowano w Tabeli 11. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że NLR, MLR oraz dNLR zwiększały wartość predykcyjną modelu EORTC zarówno w zakresie nawrotu, jak i progresji. Z kolei GPS, mGPS oraz PNI nie zwiększyły wartości predykcyjnej modelu w tym kontekście.



Rycina 5 Krzywe ROC dla biomarkerów związanych z reakcją zapalną

Struktura modeli		AUC (SE) modeli	wartość p modeli	Drugi parametr OR (95% CI)
EORTC punkty nawrotu	+ NLR**	0.821 (0.031)	<0.0001	1.432 (1.050-1.953)
	+ MLR**	0.829 (0.030)	<0.0001	64 (2.9-1446.8)
	+ PLR*	0.830 (0.031)	<0.0001	1.008 (1.002-1.014)
	+ dNLR*	0.818 (0.032)	<0.0001	1.69 (1.032-2.772)
	+ GPS ^{ns}	0.814 (0.032)	<0.0001	n/a
	+ mGPS ^{ns}	0.821 (0.031)	<0.0001	n/a
	+ PNI ^{ns}	0.817 (0.032)	<0.0001	n/a
EORTC punkty progresji	+ NLR**	0.701 (0.039)	0.0030	1.47 (1.096-1.972)
	+ MLR*	0.704 (0.039)	0.0013	79.6 (4.48-1210)
	+ PLR*	0.683 (0.039)	0.0054	1.007 (1.001-1.012)
	+ dNLR**	0.692 (0.039)	0.0083	1.658 (1.059-2.596)
	+ GPS ^{ns}	0.677 (0.040)	0.0190	n/a
	+ mGPS ^{ns}	0.686 (0.039)	0.0089	n/a
	+ PNI ^{ns}	0.663 (0.040)	0.0101	n/a

Tabela 11 Dwuczynnikowa analiza regresji logistycznej biomarkerów związanych z reakcją zapalną i stanem odżywienia oraz punktami EORTC w przewidywaniu nawrotu lub progresji nowotworu
wartość p zmiennych modelu: ^{ns} - >0.05, * 0.05-0.01, ** 0.01-0.001, *** <0.001

W związku z tym, że NLR osiągnął najlepszą wartość prognostyczną spośród biomarkerów związanych z reakcją zapalną i stanem odżywienia przeanalizowano czy istnieje zależność pomiędzy jego wartością a stanem nawrotu/progresji i rozpoznaniem histopatologicznym. Uzyskane wartości z podziałem na podgrupy zostały przedstawione w Tabeli 12. Nie zaobserwowano różnic w poziomie NLR pomiędzy wyróżnionymi grupami.

Podgrupy pacjentów:	Wartość NLR (mediana, IQR)	wartość p
Pacjenci z nawrotem (n=94)	2.758 (1.951 - 3.366)	0.2586
Pacjenci z progresją (n=10)	2.708 (2.393 - 7.062)	
Pacjenci z NMIBC low-grade (n=37)	2.468 (1.941 - 3.125)	0.3546
Pacjenci z NMIBC high-grade (n=67)*	2.666 (2.004 - 3.350)	
Pacjenci z rozpoznaniem pTa (n=88)	2.634 (1.871 - 3.209)	wartość p >0.05 dla porównania pomiędzy pTa, pT1 i pTis.
Pacjenci z rozpoznaniem pT1 (n=71)	2.600 (2.104 - 3.422)	
Pacjenci z rozpoznaniem pTis (n=7)	3.001 (2.184 - 3.200)	

Tabela 12 Wartości NLR w podgrupach pacjentów w odniesieniu do kontekstu klinicznego i rozpoznania histopatologicznego

*Pacjenci z rozpoznaniem Tis zostali przydzieleni do podgrupy high-grade.

5. DYSKUSJA

5.1. Biomarkery związane z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu

W niniejszej pracy spośród biomarkerów związanych z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu najwyższą wartość prognostyczną dla oceny nawrotu lub progresji nowotworu uzyskało stężenie IL-8 we krwi i VEGF w moczu - odpowiednio 0.611 (95% CI: 0.534 – 0.687, $p=0.0044$) oraz 0.632 (95% CI: 0.557 – 0.707, $p=0.0006$). W modelach opartych o ML, utworzonych ze zmiennych w postaci: stężenia badanych biomarkerów, wieku pacjentów, BCG-terapii, punktów ryzyka nawrotu i progresji modelu EORTC osiągnięto wysoką wartość prognostyczną z AUROC 0.84 (95% CI: 0.73-0.95, $p<0.0001$).

Dostępna literatura w zakresie badań immunohistochemicznych materiału tkankowego wykazuje, że nadekspresja uPA, uPAR i PAI-1 związana jest z wyższym stopniem złośliwości NMIBC. uPA, uPAR i PAI-1 oraz kombinacja wszystkich 3 markerów stanowiły niezależny predyktor przeżycia wolnego od nawrotu (RFS) u pacjentów z NMIBC po TURB, natomiast uPA i kombinacja 3 markerów stanowiły niezależny predyktor przeżycia wolnego od progresji (PFS) w tej samej grupie pacjentów [41]. W pracy Chan i wsp. [42] zaobserwowano, że wysoka ekspresja PAI-1 w tkankach była związana z występowaniem BCa w stadium HG oraz krótszym czasem przeżycia (OS) u pacjentów z NMIBC. Składowe systemu aktywacji plazminogenu były również predyktorem złego rokowania – wyższego stadium zaawansowania i złośliwości nowotworu, tendencji do występowania przerzutów i krótszego OS u pacjentów z NMIBC oraz MIBC [43].

W pracy Goodison i wsp. [40] zbadano szereg markerów oznaczanych w moczu metodą ELISA pod kątem wykrywania urotelialnego BCa. Panel składający się z markerów VEGF, APOE, IL-8 pozwolił na wykrycie nowotworu z AUROC 0.968 (95% CI: 0.942–0.992), czułością 90% i swoistością 97%. W niniejszym badaniu tożsamy zestaw biomarkerów nie uzyskał podobnej wartości diagnostycznej w rozpoznaniu nowotworu, jednakże umożliwił rozróżnienie chorych z MIBC oraz NMIBC po wykonanym pierwszym zabiegu TURB z AUC 0.892, SE 0.041 – co przedstawiono w Tabeli 6 sekcji Wyniki. Wśród publikacji naukowych znajduje się niewiele doniesień na temat oceny wartości prognostycznej powyższych markerów. W badaniu Gogalic i wsp. [44] podjęto próbę skorelowania VEGF i IL-8 oznaczanych w moczu wraz z innymi markerami białkowymi. Uzyskane wartości w zakresie predykcji nawrotu z wykorzystaniem odpowiednio VEGF i IL-8 wynosiły odpowiednio AUC 0.67 ($p=0.038$) i 0.69 ($p=0.066$). Wyniki te zbliżone są do rezultatów uzyskanych w niniejszej pracy. Jednakże w ww. pracy korelacja markerów wraz z innymi cechami klinicznymi (historia

nawrotów, BCG-terapia, stężenie kreatyniny w surowicy krwi) pozwoliła uzyskać AUC 0.96. Wynik ten i zastosowany model predykcyjny nie zostały jednak jak dotąd zwalidowane w większych badaniach prospektywnych.

W pracy Rossera i wsp. [45] zbadano retrospektywnie panel 10 markerów składający się m.in. z IL-8, PAI-1, VEGF, APOE oznaczanych z moczu metodą ELISA pod kątem predykcji nawrotu NMIBC. Grupę badaną stanowiło 125 pacjentów z BCa w wywiadzie, u 53 z nich stwierdzono nawrót NMIBC, 72 pacjentów pozostało wolnymi od nawrotu. Model oparty o zestaw markerów uzyskał AUC 0.904 (95% CI: 0.853–0.956), natomiast spośród markerów oznaczanych pojedynczo najlepszą wartość predykcyjną zaprezentował PAI-1 z AUROC 0.864 (95% CI: 0.799-0.929), czułością 87% i swoistością 72%. Dużym ograniczeniem powyższego badania był jednak brak udziału pacjentów z pierwotnym rozpoznaniem raka i stosunkowo mała liczba uczestników.

W badaniu Urquidi i wsp. [46] IL-8 była jednym z trzech badanych markerów oznaczanych w moczu dla wykrywania urotelialnego BCa. Stężenie IL-8 u pacjentów z rozpoznaniem BCa było znacząco wyższe względem zdrowych pacjentów. Wartość diagnostyczna w rozpoznawaniu BCa wynosiła AUROC 0.79 z czułością 59% i swoistością 97%. W wieloczynnikowej analizie regresji logistycznej jedynie podwyższony poziom IL-8 był istotnie związany z BCa z ilorazem szans $OR=1.51$; 95% CI: 1.16-1.97; $p=0.002$.

Podsumowując, w niniejszym badaniu uzyskano zbliżoną wartość prognostyczną dla stężenia VEGF w moczu, jak w pracy Gogalic i wsp. [44]. Pozostałe z badanych biomarkerów oznaczane w moczu uzyskały niższe wartości AUC. Należy jednak podkreślić, że brak jest dostępnych prac, które oceniają wartość predykcyjną wybranych w niniejszym badaniu biomarkerów we krwi. Stąd potrzebne są dalsze badania prospektywne w celu walidacji ich przydatności. Najlepsze wyniki w zakresie predykcji nawrotu i progresji wykazują zestawy biomarkerów w połączeniu z danymi klinicznymi.

5.2. Biomarkery związane z reakcją zapalną i stanem odżywienia pacjenta

Na podstawie uzyskanych krzywych ROC w niniejszej pracy zaobserwowano, że $NLR > 1.5$ stanowi czynnik prognostyczny złego rokowania u pacjentów z NMIBC przed zabiegiem TURB. Punkt odcięcia ten charakteryzuje się czułością 90% i swoistością 19%. W powyższym badaniu podobną wartość predykcyjną zaprezentował parametr MLR z AUC 0.617. Zarówno NLR, jak i MLR wykazały wartość predykcyjną dla punktu końcowego badania, która była niezależna statystycznie od punktacji modelu EORTC. Pozostałe zbadane biomarkery związane

z reakcją zapalną uzyskały niższą wartość predykcyjną. Biomarkery związane ze stanem odżywienia nie pozwalają przewidzieć nawrotu lub progresji NMIBC trzy miesiące po TURB. Nie zaobserwowano również związku pomiędzy stężeniem NLR a cechami histopatologicznymi nowotworu.

W dotychczas przeprowadzonych badaniach wykazano, że biomarkery NLR, PLR i dNLR są predyktorami złego rokowania w licznych schorzeniach [47–49], w tym w chorobach nowotworowych [50, 51]. Podwyższone stężenia NLR i PLR były odwrotnie związane z całkowitym przeżyciem (OS) i przeżyciem wolnym od progresji (PFS) u pacjentów z przerzutowym rakiem drobnokomórkowym płuc leczonych niwolumabem [52]. Analogiczną zależność zaobserwowano w rakach odbytnicy, piersi, głowy i szyi oraz gruczołu krokowego [53–56]. W przypadku raka gruczołu krokowego najlepszy predyktor dla punktu końcowego badania stanowił MLR, przewyższając zarówno NLR, jak i PLR [57].

Przeprowadzone badanie wykazało, że NLR może stanowić predyktor przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) z AUC 0.618. W jednej z ostatnich metaanaliz wykazano, że NLR może być predyktorem nawrotu i progresji NMIBC po TURB, w tym u pacjentów z grupy wysokiego ryzyka, którzy w leczeniu otrzymali wlewki BCG [58]. W opublikowanych dotychczas pracach badających markery bazujące na morfologii krwi obwodowej ich wartość prognostyczną oceniano wśród zróżnicowanych grup pacjentów. W publikacji Mano i wsp. [59] wykazano, że NLR związany jest z RFS i PFS u pacjentów z nowo rozpoznanym NMIBC w chwili włączenia do badania. W innym badaniu [60], w którym badaną grupę również stanowili pacjenci z pierwotnym NMIBC nie stwierdzono natomiast żadnej zależności pomiędzy NLR, MLR, PLR i mGPS a rokowaniem. W badaniu D'Andrea i wsp. [61] dokonano oceny wartości predykcyjnej NLR u pacjentów z pierwotnym NMIBC. Z grupy badanej wykluczono jednak pacjentów z rozpoznaniem CIS. Chorych włączonych do badania przydzielono następnie do jednej z trzech grup ryzyka (niskie, pośrednie, wysokie) zgodnie z rekomendacjami EAU i Amerykańskiego Towarzystwa Urologicznego (AUA). Wykazano, że NLR związany jest z RFS i PFS. Dodatkowo oceniono jego wartość prognostyczną w zależności od przynależności pacjentów do danej grupy ryzyka oraz w obrębie subpopulacji pacjentów, którzy otrzymali adjuwantową BCG-terapię. W podgrupie pacjentów z wysokim i pośrednim ryzykiem również stwierdzono zależność NLR z RFS i PFS, natomiast w podgrupie pacjentów z niskim ryzykiem NLR związane było tylko z PFS. W pracy Araujo i wsp. [62] wykorzystano modele ML do określenia wartości diagnostycznej markerów związanych z reakcją zapalną u pacjentek z rakiem piersi. Model zbudowany z NLR, liczby erytrocytów i wieku osiągnął AUC 0.64.

Biomarkery związane ze stanem odżywienia nie osiągnęły istotności statystycznej dla punktów końcowych w niniejszej pracy. W dostępnej literaturze sugeruje się, że parametry te mogą być przydatne w przypadku nowotworów w wyższych stadiach zaawansowania, w predykcji odpowiedzi na leczenie onkologiczne lub w przypadku występowania przerzutów [63–67]. Ponadto mogą one odgrywać istotną rolę w przypadku nowotworów, w których rozległe leczenie chirurgiczne jest niezbędną częścią terapii onkologicznej, jak w przypadku raka żołądka, raka nerki czy nowotworów wymagających hepatojejunostomii [68–70]. Może to być związane z faktem, że PNI stanowi predyktor pooperacyjnego ostrego uszkodzenia nerek, zakażenia ran, udaru czy okołoperacyjnej śmiertelności [71–74]. Dane literaturowe dotyczące roli mGPS w NMIBC u pacjentów poddanych TURB, pokazują, że parametr ten prognozuje PFS, a także zwiększa wartość prognostyczną innych skal ryzyka (rekomendowanych przez EAU w czasie powstania cytowanej publikacji) [75]. Nie wykazał on jednak wartości predykcyjnej dla RFS. Z kolei w niektórych pracach wykazano istotny związek PNI i GPS z RFS u pacjentów z NMIBC [76, 77].

Podsumowując, dane dotyczące wartości predykcyjnej biomarkerów uzyskanych w oparciu o morfologię krwi i związanych ze stanem odżywienia pacjenta są niejednoznaczne. W niniejszym badaniu najwyższą wartość uzyskał wskaźnik NLR, jednak wynik ten jest niewystarczający do wykorzystania go w codziennej praktyce. W wielu badaniach wykazano jednak, że może być on predyktorem zarówno RFS, jak i PFS. Należy zwrócić uwagę, że w dostępnych pracach badane grupy pacjentów różniły się pod kątem kryteriów włączenia i wyłączenia z badania. Ponadto, zdecydowana większość badań miała charakter retrospektywny.

5.3. Biomarkery związane z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu a modele prognostyczne EAU

Zgodnie z rekomendacjami EAU w celu predykcji progresji nowotworu pacjenci z NMIBC powinni zostać przyporządkowani do jednej z czterech grup ryzyka. Predykcja nawrotu oceniana jest z wykorzystaniem modelu EORTC 2006 w przypadku pacjentów, którzy nie otrzymali BCG terapii albo modelu CUETO dla pacjentów leczonych BCG.

Grupa pacjentów włączonych do badania była heterogenna pod względem leczenia przy pomocy wlewek BCG po TURB. W związku z przewagą chorych nieleczonych BCG-terapią podczas opracowywania wyników uwzględniono ocenę ryzyka nawrotu i progresji z wykorzystaniem modelu EORTC.

W niniejszym badaniu w populacji pacjentów, u których oznaczano biomarkery związane z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu, model EORTC w predykcji nawrotu uzyskał AUC 0.778, natomiast w predykcji progresji AUC 0.654. Niższa wartość predykcyjna punktacji dla progresji jest tutaj związana z dominacją nawrotu a nie progresji choroby w obrębie grupy z niekorzystnym wynikiem klinicznym. Model wieloczynnikowy uwzględniający punkty ryzyka progresji EORTC, stężenie VEGF w moczu i IL-8 we krwi przewidywał niekorzystne rokowanie osiągając wartość AUROC 0.806 i SE 0.031.

Jak wspomniano powyżej model EORTC 2006 został zaprojektowany w oparciu o populację pacjentów, w której większość (78%) otrzymywała leczenie dopęcherzowe, głównie chemioterapię [37]. W zakresie predykcji nawrotu model ten uzyskał po 1 roku i 5 latach wskaźnik c 0.66 skorygowanego indeksu zgodności Harrell'a, natomiast w zakresie predykcji progresji c 0.74 po 1 roku i 0.75 po 5 latach. Z kolei pacjenci, którzy w leczeniu otrzymali BCG-terapię, zostali poddani ocenie pod kątem czynników prognostycznych nawrotu i progresji w badaniu Cambier i wsp. w 2016 roku [78]. Do badania nie zostali jednak włączeni pacjenci z rozpoznaniem CIS. Ustalono, że ryzyko nawrotu związane jest z wcześniejszym wskaźnikiem nawrotu (≤ 1 nawrót/rok; > 1 nawrót/rok) i liczbą guzów (< 4 ; ≥ 4). Z kolei ryzyko progresji zależne było od kategorii T stopnia zaawansowania i stopnia zróżnicowania nowotworu. Wyodrębniono 4 grupy prognostyczne: TaG1 z najmniejszym ryzykiem progresji, TaG2 lub T1G1, TaG3 lub T1G2 oraz T1G3 z największym ryzykiem progresji. W zakresie predykcji nawrotu model ten uzyskał wskaźnik c skorygowanego indeksu zgodności Harrell'a 0.636 po 1 roku i 0.644 po 5 latach, natomiast w zakresie predykcji progresji 0.687 po 1 roku i 0.7 po 5 latach. W badaniu tym wyliczono również punkty ryzyka nawrotu i progresji CUETO na podstawie danych EORTC. Stwierdzono, że model CUETO nie doszacowywał ryzyka nawrotu u pacjentów z dobrym rokowaniem, natomiast przeszacowywał to ryzyko u chorych z rokowaniem niekorzystnym.

W literaturze dostępne są prace, w których stwierdzono, że NLR zwiększa wartość prognostyczną modelu EORTC. Do badania Getzler i wsp. [79] włączono pacjentów z rozpoznaniem NMIBC, u których przeprowadzono TURB. Pacjenci obserwowani byli pod kątem wystąpienia nawrotu. Analizę przeprowadzono na całej kohorcie, a następnie z podziałem na podgrupy w zależności od zastosowanego leczenia lub jego braku. Pacjenci zostali również poddani ocenie pod kątem ryzyka nawrotu za pomocą modelu EORTC. Wykazano, że w jednoczynnikowej analizie regresji logistycznej predykcja nawrotu z użyciem modelu EORTC uzyskała istotność statystyczną jedynie w podgrupie pacjentów bez leczenia dopęcherzowego, natomiast NLR przewidywał nawrót w podgrupie pacjentów otrzymujących

BCG-terapię oraz w całej kohorcie. NLR i model EORTC w analizie wieloczynnikowej regresji logistycznej pozostały niezależnymi predyktorami nawrotu w poszczególnych podgrupach. Z kolei dla całej kohorty pacjentów w analizie wieloczynnikowej istotność statystyczną wykazał NLR, natomiast model EORTC bliski był uzyskaniu istotności statystycznej. Dodatnią korelację pomiędzy NLR a EORTC w zakresie predykcji nawrotu i progresji NMIBC zaobserwowano również w badaniu Aydın i wsp. [80]. Z kolei w badaniu Avcı i wsp. [81] zbadano wartość predykcyjną PLR i wskaźnika de Ritisa (AST/ALT) w ocenie nawrotu i progresji NMIBC. Pacjentów oceniono również z wykorzystaniem modelu EORTC. W wieloczynnikowej analizie wykazano, że wskaźnik de Ritisa pozwala na przewidywanie nawrotu i progresji, podobnie jak model EORTC. PLR wykazał istotność statystyczną jedynie w predykcji nawrotu w analizie jednoczynnikowej.

5.4. Biomarkery związane z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu a BCG-terapia

W niniejszym badaniu zaobserwowano, że w podgrupie pacjentów z NMIBC-HG nieleczonych wlewkami BCG uzyskano istotnie wyższe stężenia APOE i VEGF w moczu oraz nieznacznie wyższe stężenie suPAR we krwi.

Immunoterapia BCG stanowi serię dopęcherzowych wlewk zawierających atenuowany szczep *Mycobacterium bovis*. Mechanizm działania BCG-terapii nie został całkowicie poznany, natomiast postuluje się, że główną rolę odgrywa tutaj uruchomienie kaskady reakcji immunologicznych. Podanie wlewki BCG powoduje pobudzenie komórek urotelialnych i prezentujących antygen (APC) do produkcji cytokin i chemokin, które przyciągają makrofagi i komórki jednojądrzaste do pęcherza moczowego. W badaniach *in vitro* wykazano, że BCG pobudza wydzielanie IL-6, IL-8, czynnika stymulującego wzrost kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF) oraz TNF. Przypuszcza się, że poprzez pobudzenie komórek układu odpornościowego niszczone są komórki nowotworowe. Wytworzone neutrofile wykazują zdolność do fagocytozy oraz produkcji czynników proapoptotycznych, m.in. czynnika stymulującego apoptozę związanego z TNF (TRAIL). Ponadto rekrutowane są komórki cytotoksyczne, takie jak limfocyty CD8+, komórki NK oraz makrofagi [82].

Na podstawie uzyskanych w niniejszym badaniu wyników można podejrzewać, że BCG-terapia wpływa na obniżenie APOE i VEGF, które wykazują działanie prokancerogenne, co potwierdzałoby korzystny efekt wlewk BCG w leczeniu pacjentów z NMIBC. Zgodnie z dostępną literaturą, brak jest doniesień, które porównywałyby stężenie badanych biomarkerów

związanych z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu w zależności od zastosowania BCG-terapii. W niniejszym badaniu w grupie pacjentów, którzy otrzymali BCG-terapię obecni byli chorzy, którzy otrzymali wlewki BCG po raz pierwszy, jak i pacjenci leczeni BCG w przeszłości (nawrotowy NMIBC). Nieznany był też wywiad dotyczący szczepienia przeciw gruźlicy w badanej grupie pacjentów. Czynniki te w znaczący sposób ograniczają możliwość formułowania dalszych hipotez wyjaśniających zaobserwowane różnice pomiędzy badanymi podgrupami.

5.5. Badane biomarkery i obserwacja pacjentów po leczeniu

W niniejszym badaniu okres obserwacji u pacjentów z NMIBC po TURB wynosił trzy miesiące. Zgodnie z wytycznymi EAU częstość przeprowadzania cystoskopii u pacjentów poddanych obserwacji po leczeniu zależy od przynależności do grupy ryzyka [2]. Trzymiesięczny czas obserwacji pacjentów jest krótki, a nawroty BCa po TURB mogą wystąpić po znacznie dłuższym czasie. Z drugiej strony częstość wystąpienie nawrotu i/lub progresji w tym okresie wyniosła ok. 58%. Z uwagi na niezadowalającą wartość predykcyjną badanych biomarkerów, zastąpienie nimi pierwszej kontrolnej cystoskopii nie jest możliwe.

5.6. Ograniczenia i zalety badania

Głównym ograniczeniem niniejszego badania jest krótki czas obserwacji pacjentów, co może powodować niedoszacowanie ilości przypadków, u których doszło do nawrotu lub progresji nowotworu. Mimo to zarejestrowano wystarczającą liczbę punktów końcowych do przeprowadzenia miarodajnej analizy statystycznej. Ponadto z powodu pandemii COVID-19 do badania zarekrutowano mniejszą niż planowaną liczbę pacjentów. Dłuższa obserwacja nie była możliwa do przeprowadzenia z uwagi na częstą zmianę ośrodka leczącego i utratę kontaktu z pacjentami. Zastosowanie modeli ML do analizy małej grupy badanej z nierównomiernym rozkładem punktów końcowych może generować niemiarodajne wyniki, w związku z potencjalnym nadmiernym dopasowaniem modeli (tzw „overfitting”), mimo zastosowanych środków zapobiegawczych. Z drugiej strony, wykorzystane modele ML zostały wytrenowane na heterogennej kohorcie pacjentów, w tym leczonych wlewkami BCG, a pacjenci klasyfikowani byli w oparciu o ich rokowanie. Fakt ten czyni je bardziej pragmatycznym narzędziem od zróżnicowanych modeli predykcji nawrotu i progresji w zależności od zastosowanego leczenia (BCG-terapii lub jej braku) i zwiększa ich uniwersalność.

Niewątpliwą zaletą badania jest jego prospektywny charakter. Zgodnie z dostępną literaturą, jest to pierwsze badanie, w którym oceniono wartość predykcyjną opisanego zestawu

biomarkerów u pacjentów z NMIBC po TURB. Ponadto po raz pierwszy zestawiono te biomarkery z już istniejącym modelem predykcyjnym EORTC.

6. WNIOSKI

- Panel biomarkerów związany z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu składający się z PAI-1, suPAR, IL-8 oznaczonych we krwi oraz VEGF, APOE i IL-8 oznaczonych w moczu, w połączeniu z modelem prognostycznym EORTC mogą prognozować nawrót i progresję NMIBC po zabiegu TURB.
- Pojedyncze biomarkery białkowe mają niewystarczającą wartość predykcyjną w przewidywaniu nawrotu lub progresji w tej grupie chorych.
- Pojedyncze biomarkery zapalne oparte o liczebność elementów morfotycznych krwi charakteryzują się niską wartością prognostyczną w kontekście przewidywania nawrotu lub progresji w badanej grupie.
- Wskaźniki odżywienia, takie jak GPS, mGPS i PNI pozbawione są wartości predykcyjnej w ww. kontekście.
- Badane biomarkery nie pozwalają na zastąpienie nimi lub zmniejszenie częstości wykonywania cystoskopii podczas obserwacji u pacjentów z NMIBC po TURB.

7. STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

Wstęp: Rak pęcherza moczowego (BCa) jest jednym z najczęściej rozpoznawanych nowotworów w Polsce i na świecie. Około 75% BCa stanowią raki pęcherza moczowego nienaciekające mięśniówki (NMIBC), które ograniczone są do błony śluzowej (Ta i CIS) lub błony podśluzowej pęcherza moczowego (T1). NMIBC wykazuje wysoki stopień nawrotowości i progresji, stąd wymaga on ścisłego nadzoru onkologicznego. Podstawowym badaniem diagnostycznym wykonywanym przy podejrzeniu BCa jest cystoskopia. Następnie przeprowadzany jest zabieg przezcewkowej elektroresekcji guza pęcherza moczowego (TURB), podczas którego usuwane są nieprawidłowe zmiany oraz pobierane wycinki do badania histopatologicznego. Na podstawie uzyskanego wyniku oraz sytuacji klinicznej pacjenci klasyfikowani są do jednej z czterech grup ryzyka. Przynależność do danej grupy implikuje dalsze postępowanie, obserwację i/lub kolejne etapy leczenia. Obecnie brak jest metod, które umożliwiłyby zastąpienie cystoskopii na etapie diagnostyki czy monitorowania pacjentów po leczeniu. Mimo iż dostępne są markery molekularne, mogą być one stosowane jedynie jako metoda pomocnicza z uwagi na niską swoistość i zakłócający wpływ BCG-terapii na ich wynik.

Cel pracy: Celem pracy była ocena wartości prognostycznej biomarkerów związanych z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu w przewidywaniu nawrotu lub progresji NMIBC po zabiegu TURB. Dodatkowym celem badania było określenie czy badane biomarkery mogą zastąpić lub zmniejszyć częstość wykonywania cystoskopii w toku obserwacji pacjentów po leczeniu.

Material i metody: Badanie zaplanowano jako prospektywne pilotażowe badanie obserwacyjne. Do badania włączono 223 pacjentów hospitalizowanych w Klinice Urologii i Urologii Onkologicznej we Wrocławiu z powodu rozpoznania lub podejrzenia NMIBC w latach 2020-2022. U pacjentów tych przed zabiegiem TURB pobrano krew i mocz do badania biomarkerów związanych z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu: suPAR, PAI-1, VEGF, IL-8, APOE oraz biomarkerów związanych z reakcją zapalną i stanem odżywienia pacjentów: NLR, dNLR, MLR, PLR, GPS, mGPS, PNI.

Wyniki: Po trzech miesiącach od zabiegu TURB u 92 pacjentów nie stwierdzono nowotworu (Grupa 1), natomiast u 131 pacjentów zaobserwowano nawrót lub progresję (Grupa 2). Nie wykazano różnic klinicznych pomiędzy obiema grupami. W Grupie 2 stwierdzono wyższe stężenia IL-8 we krwi, suPAR oraz VEGF i APOE w moczu. Stężenie IL-8 we krwi i VEGF w

moczu osiągnęły najwyższą wartość prognostyczną dla nawrotu lub progresji nowotworu z AUROC wynoszącym odpowiednio 0.611 (95% CI: 0.534 – 0.687, $p=0.0044$) oraz 0.632 (95% CI: 0.557 – 0.707, $p=0.0006$). W modelach uczenia maszynowego (ML), utworzonych ze zmiennych w postaci: stężenia badanych biomarkerów, wieku pacjentów, BCG-terapii oraz punktów ryzyka nawrotu i progresji modelu EORTC osiągnięto wysoką wartość prognostyczną z AUROC 0.84 (95% CI: 0.73-0.95, $p<0.0001$). Spośród biomarkerów związanych z reakcją zapalną opartych o liczebność elementów morfotycznych krwi najwyższą wartość prognostyczną uzyskał NLR z AUROC 0.618 (95% CI: 0.536-0.699). Żaden z biomarkerów związanych ze stanem odżywienia nie wykazał wartości predykcyjnej dla punktów końcowych badania. NLR, dNLR oraz MLR zwiększyły wartość prognostyczną modelu Europejskiej Organizacji Badań i Leczenia Raka (EORTC) w zakresie nawrotu i progresji.

Dyskusja: W niniejszym badaniu uzyskano niską wartość prognostyczną dla stężenia IL-8 we krwi i VEGF w moczu w kontekście przewidywania nawrotu lub progresji NMIBC po TURB. Pozostałe biomarkery osiągnęły niższą wartość predykcyjną. Obecnie brak jest dostatecznej ilości doniesień literaturowych, do których można by odnieść uzyskane wyniki. Spośród biomarkerów związanych z reakcją zapalną i stanem odżywienia nie zidentyfikowano żadnego parametru o wiarygodnej wartości prognostycznej w badanym kontekście. Na podstawie uzyskanych wyników niemożliwe jest zastąpienie lub zmniejszenie częstości wykonywania cystoskopii u pacjentów podczas obserwacji po leczeniu.

Wnioski:

1. Panel biomarkerów związany z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu składający się z PAI-1, suPAR, IL-8 oznaczonych we krwi oraz VEGF, APOE i IL-8 oznaczonych w moczu w połączeniu z modelem prognostycznym EORTC mogą prognozować nawrót lub progresję NMIBC po zabiegu TURB.
2. Pojedyncze biomarkery związane z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu, w tym oparte o liczebność elementów morfotycznych krwi, charakteryzują się niewystarczającą wartością predykcyjną w przewidywaniu nawrotu lub progresji w badanej grupie chorych.
3. Wskaźniki odżywienia, takie jak GPS, mGPS i PNI pozbawione są wartości prognostycznej w ww. kontekście.
4. Badane biomarkery nie pozwalają na zastąpienie nimi lub zmniejszenie częstości wykonywania cystoskopii podczas obserwacji u pacjentów po leczeniu NMIBC.

8. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM

Introduction: Bladder cancer (BCa) is one of the most commonly diagnosed cancer in Poland and worldwide. Non-muscle invasive bladder cancer (NMIBC) accounts for about 75% of bladder cancer cases and is characterized by a high rate of recurrence and progression. NMIBC confine to the mucosa (Ta, CIS) or submucosa (T1). It is necessary to perform cystoscopy to diagnose BCa. During transurethral resection of bladder tumor (TURB) all pathological lesions should be removed. Then based on the histopathological results and risk factors patients should be stratified into one of the four risk groups, what implies follow-up and/or treatment methods. Although some molecular markers are available, they do not allow to replace cystoscopy or perform it less frequently during surveillance.

Objectives: The main objective of this study was to evaluate the prognostic value of the biomarkers associated with inflammation and plasminogen activation system in prediction of NMIBC recurrence or progression. The secondary aim of the study was to assess whether the investigated set of biomarkers can decrease the amount of performed follow-up cystoscopies.

Materials and methods: The study was designed as a pilot prospective observational study. It included 223 patients hospitalized in Urology Clinic of Wrocław Medical University for NMIBC in 2020-2022. Before TURB blood and urine were drawn in all included subjects. Assessed biomarkers included blood: plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1), soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR), interleukin 8 (IL-8) and urine: IL-8, vascular endothelial growth factor (VEGF) and apolipoprotein E (APOE). Additionally, complete-blood-count (CBC) biomarkers and nutritional risk scores were evaluated: NLR (*neutrophile-to-lymphocyte ratio*), dNLR (*derived neutrophile-to-lymphocyte ratio*), MLR (*monocyte-to-lymphocyte ratio*), PLR (*platelet-to-lymphocyte ratio*), (modified) Glasgow Prognostic Score ((m)GPS) and Prognostic Nutritional Index (PNI).

Results: After a 3-month follow-up period with cystoscopy or TURB 92 patients were tumor free (Group 1). In 131 subjects (Group 2) a recurrence of NMIBC or progression to muscle invasive bladder cancer (MIBC) was observed. No major clinical differences between these two groups were noted. The Group 2 has shown with significantly higher concentrations of blood IL-8 and suPAR as well as urine VEGF and APOE. The blood IL-8 and urine VEGF presented the highest prognostic abilities with AUROC of 0.611 (95% CI: 0.534 – 0.687, $p=0.0044$) and 0.632 (95% CI: 0.557 – 0.707, $p=0.0006$), respectively. Machine learning model (ML) which included studied biomarkers and European Organisation for Research and Treatment of Cancer

(EORTC) risk scores has allowed to discriminate the two patient entities with AUROC of 0.84 (95% CI: 0.73-0.95, $p < 0.0001$). Among CBC biomarkers, NLR showed the highest AUROC of 0.618 (95% CI: 0.536-0.699), for discrimination of the study outcomes. None of the nutritional risk scores predicted disease progression or recurrence. NLR, MLR and dNLR enhanced the diagnostic performance for EORTC recurrence and progression points.

Discussion: In this study, urine VEGF and blood IL-8 showed low prognostic value for predicting recurrence or progression of NMIBC after TURB. The remaining biomarkers had lower predictive value. The amount of comparative literature data is scarce. Among CBC inflammatory markers and nutritional indexes no parameter with consistent prognostic value was identified. Based on these results, it is impossible to reduce the amount of performed surveillance cystoscopies with the use of the examined biomarkers.

Conclusions:

1. A panel of inflammatory and plasminogen activation system biomarkers, consisting of blood PAI-1, suPAR, IL-8 and urine VEGF, APOE, IL-8 combined with EORTC model has predicted the recurrence or progression of NMIBC after TURB.
2. Individual biomarkers associated with systemic inflammatory response and plasminogen activation system, including CBC biomarkers have shown insufficient predictive value for predicting the study outcome.
3. None of the nutritional risk scores was predictive of treatment results.
4. Investigated biomarkers cannot replace cystoscopy or reduce its frequency during patients' surveillance.

9. PIŚMIENNICTWO

1. Wojciechowska U, Didkowska JA, Miklewska M (2024) NOWOTWORY ZŁOŚLIWE W POLSCE W 2022 ROKU
2. Gontero P, Birtle A, Capoun O, et al (2024) European Association of Urology Guidelines on Non–muscle-invasive Bladder Cancer (TaT1 and Carcinoma In Situ)—A Summary of the 2024 Guidelines Update. *Eur Urol* 1–70.
<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2024.07.027>
3. Svatek RS, Hollenbeck BK, Holmäng S, et al (2014) The economics of bladder cancer: costs and considerations of caring for this disease. *Eur Urol* 66:253–262.
<https://doi.org/10.1016/J.EURURO.2014.01.006>
4. Wysocki PJ, Chłosta P, Antoniewicz A, et al (2022) Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w raku pęcherza moczowego. *Onkol w Prakt Klin - Eduk* 8:229–291
5. Hamie L, Daoud G, Nemer G, et al (2018) SuPAR, an emerging biomarker in kidney and inflammatory diseases. *Postgrad Med J* 94:517–524.
<https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2018-135839>
6. Dass K, Ahmad A, Azmi AS, et al (2008) Evolving role of uPA/uPAR system in human cancers. *Cancer Treat Rev* 34:122–136.
<https://doi.org/10.1016/J.CTRV.2007.10.005>
7. Dohn LH, Pappot H, Iversen BR, et al (2015) uPAR Expression Pattern in Patients with Urothelial Carcinoma of the Bladder – Possible Clinical Implications. *PLoS One* 10:e0135824. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135824>
8. Dohn LH, Illemann M, Høyer-Hansen G, et al (2015) Urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR) expression is associated with T-stage and survival in urothelial carcinoma of the bladder. *Urol Oncol* 33:165.e15-165.e24.
<https://doi.org/10.1016/J.UROLONC.2014.12.001>
9. Kwaan HC, Lindholm PF (2019) Fibrin and Fibrinolysis in Cancer. *Semin Thromb Hemost* 45:413–422. <https://doi.org/10.1055/S-0039-1688495>
10. Placencio VR, DeClerck YA (2015) Plasminogen Activator Inhibitor-1 in Cancer: Rationale and Insight for Future Therapeutic Testing. *Cancer Res* 75:2969–2974.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-0876>
11. Ismail AA, Shaker BT, Bajou K (2021) The Plasminogen-Activator Plasmin System in Physiological and Pathophysiological Angiogenesis. *Int J Mol Sci* 23:..
<https://doi.org/10.3390/IJMS23010337>
12. Zeng G, Taylor SM, McColm JR, et al (2007) Orientation of endothelial cell division is regulated by VEGF signaling during blood vessel formation. *Blood* 109:1345–1352.
<https://doi.org/10.1182/BLOOD-2006-07-037952>
13. Poyet C, Thomas L, Benoit TM, et al (2017) Implication of vascular endothelial growth factor A and C in revealing diagnostic lymphangiogenic markers in node-positive bladder cancer. *Oncotarget* 8:21871–21883.
<https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.15669>
14. Carmeliet P (2005) VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. *Oncology* 69

Suppl 3:4–10. <https://doi.org/10.1159/000088478>

15. Ferrara N (2010) Binding to the extracellular matrix and proteolytic processing: two key mechanisms regulating vascular endothelial growth factor action. *Mol Biol Cell* 21:687–690. <https://doi.org/10.1091/MBC.E09-07-0590>
16. Apte RS, Chen DS, Ferrara N (2019) VEGF in Signaling and Disease: Beyond Discovery and Development. *Cell* 176:1248–1264. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2019.01.021>
17. Alfaro C, Sanmamed MF, Rodríguez-Ruiz ME, et al (2017) Interleukin-8 in cancer pathogenesis, treatment and follow-up. *Cancer Treat Rev* 60:24–31. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2017.08.004>
18. Singh S, Wu S, Varney M, et al (2011) CXCR1 and CXCR2 silencing modulates CXCL8-dependent endothelial cell proliferation, migration and capillary-like structure formation. *Microvasc Res* 82:318–325. <https://doi.org/10.1016/J.MVR.2011.06.011>
19. Urquidi V, Goodison S, Ross S, et al (2012) Diagnostic potential of urinary α 1-antitrypsin and apolipoprotein E in the detection of bladder cancer. *J Urol* 188:2377–83. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2012.07.094>
20. McGarvey TW, Nguyen TB, Malkowicz SB (2005) An interaction between apolipoprotein E and TERE1 with a possible association with bladder tumor formation. *J Cell Biochem* 95:419–428. <https://doi.org/10.1002/JCB.20432>
21. Fredericks WJ, McGarvey T, Wang H, et al (2011) The bladder tumor suppressor protein TERE1 (UBIAD1) modulates cell cholesterol: implications for tumor progression. *DNA Cell Biol* 30:851–64. <https://doi.org/10.1089/dna.2011.1315>
22. Paramanathan A, Saxena A, Morris DL (2014) A systematic review and meta-analysis on the impact of pre-operative neutrophil lymphocyte ratio on long term outcomes after curative intent resection of solid tumours. *Surg Oncol* 23:31–39. <https://doi.org/10.1016/J.SURONC.2013.12.001>
23. Mbeutcha A, Shariat SF, Rieken M, et al (2016) Prognostic significance of markers of systemic inflammatory response in patients with non-muscle-invasive bladder cancer. *Urol Oncol Semin Orig Investig* 34:483.e17-483.e24. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2016.05.013>
24. Napolitano L, Barone B, Reccia P, et al (2022) Preoperative monocyte-to-lymphocyte ratio as a potential predictor of bladder cancer. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 33:751–757. <https://doi.org/10.1515/JBCPP-2022-0179>
25. Zhu X, Wu SQ, Xu R, et al (2019) The evaluation of monocyte lymphocyte ratio as a preoperative predictor in urothelial malignancies: a pooled analysis based on comparative studies. *Sci Rep* 9:6280. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42781-y>
26. Martínez CE, Smith PC, Palma Alvarado VA (2015) The influence of platelet-derived products on angiogenesis and tissue repair: a concise update. *Front Physiol* 6:. <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2015.00290>
27. Wojtukiewicz MZ, Sierko E, Hempel D, et al (2017) Platelets and cancer angiogenesis nexus. *Cancer Metastasis Rev* 36:249–262. <https://doi.org/10.1007/S10555-017-9673-1>
28. Forrest LM, McMillan DC, McArdle CS, et al (2003) Evaluation of cumulative

- prognostic scores based on the systemic inflammatory response in patients with inoperable non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer* 89:1028. <https://doi.org/10.1038/SJ.BJC.6601242>
29. Glasgow Prognostic Score (GPS) for Cancer Outcomes. <https://www.mdcalc.com/calc/3311/glasgow-prognostic-score-gps-cancer-outcomes#evidence>. Accessed 14 Feb 2025
 30. Proctor MJ, Morrison DS, Talwar D, et al (2011) An inflammation-based prognostic score (mGPS) predicts cancer survival independent of tumour site: a Glasgow Inflammation Outcome Study. *Br J Cancer* 104:726–734. <https://doi.org/10.1038/SJ.BJC.6606087>
 31. Modified Glasgow Prognostic Score (mGPS) for Cancer Outcomes. <https://www.mdcalc.com/calc/3312/modified-glasgow-prognostic-score-mgps-cancer-outcomes#evidence>. Accessed 14 Feb 2025
 32. Crumley ABC, Stuart RC, McKernan M, McMillan DC (2010) Is hypoalbuminemia an independent prognostic factor in patients with gastric cancer? *World J Surg* 34:2393–2398. <https://doi.org/10.1007/S00268-010-0641-Y>
 33. Proctor MJ, Morrison DS, Talwar D, et al (2011) A comparison of inflammation-based prognostic scores in patients with cancer. A Glasgow Inflammation Outcome Study. *Eur J Cancer* 47:2633–2641. <https://doi.org/10.1016/J.EJCA.2011.03.028>
 34. McMillan DC (2009) Systemic inflammation, nutritional status and survival in patients with cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 12:223–226. <https://doi.org/10.1097/MCO.0B013E32832A7902>
 35. Ohno Y (2019) Role of systemic inflammatory response markers in urological malignancy. *Int J Urol* 26:31–47. <https://doi.org/10.1111/IJU.13801>
 36. Karsiyakali N, Karabay E, Yucetas U (2020) PREDICTIVE VALUE OF PROGNOSTIC NUTRITIONAL INDEX ON TUMOR STAGE IN PATIENTS WITH PRIMARY BLADDER CANCER. *Arch Españoles Urol* 7:132–139. <https://doi.org/10.1007/S13238-016-0264-7>
 37. Sylvester RJ, Van Der Meijden APM, Oosterlinck W, et al (2006) Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials. *Eur Urol* 49:466–477. <https://doi.org/10.1016/J.EURURO.2005.12.031>
 38. Fernandez-Gomez J, Madero R, Solsona E, et al (2009) Predicting nonmuscle invasive bladder cancer recurrence and progression in patients treated with bacillus Calmette-Guerin: the CUETO scoring model. *J Urol* 182:2195–2203. <https://doi.org/10.1016/J.JURO.2009.07.016>
 39. LemaîtreGuillaume, NogueiraFernando, K. A (2017) Imbalanced-learn. *J Mach Learn Res*. <https://doi.org/10.5555/3122009.3122026>
 40. Goodison S, Chang M, Dai Y, et al (2012) A multi-analyte assay for the non-invasive detection of bladder cancer. *PLoS One* 7:e47469. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047469>
 41. Iwata T, Kimura S, Abufaraj M, et al (2019) Prognostic role of the urokinase plasminogen activator (uPA) system in patients with nonmuscle invasive bladder

- cancer. *Urol Oncol* 37:774–783. <https://doi.org/10.1016/J.UROLONC.2019.05.019>
42. Chan OTM, Furuya H, Pagano I, et al (2017) Association of MMP-2, RB and PAI-1 with decreased recurrence-free survival and overall survival in bladder cancer patients. *Oncotarget* 8:99707–99721. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.20686>
 43. Grossmann NC, Schuettfort VM, Pradere B, et al (2021) Further Understanding of Urokinase Plasminogen Activator Overexpression in Urothelial Bladder Cancer Progression, Clinical Outcomes and Potential Therapeutic Targets. *Onco Targets Ther* 14:315–324. <https://doi.org/10.2147/OTT.S242248>
 44. Gogalic S, Sauer U, Doppler S, et al (2017) Validation of a protein panel for the noninvasive detection of recurrent non-muscle invasive bladder cancer. *Biomarkers* 22:674–681. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2016.1276628>
 45. Rosser CJ, Chang M, Dai Y, et al (2014) Urinary protein biomarker panel for the detection of recurrent bladder cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 23:1340–5. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-14-0035>
 46. Urquidi V, Chang M, Dai Y, et al (2012) IL-8 as a urinary biomarker for the detection of bladder cancer. *BMC Urol* 12:. <https://doi.org/10.1186/1471-2490-12-12>
 47. Liu K, Tang S, Liu C, et al (2024) Systemic immune-inflammatory biomarkers (SII, NLR, PLR and LMR) linked to non-alcoholic fatty liver disease risk. *Front Immunol* 15:. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2024.1337241>
 48. Królicki T, Bardowska K, Kościelska-Kasprzak K, et al (2020) Systemic Inflammatory Markers Predict Detrimental Outcome of Urosepsis in Kidney Transplant Recipients. *Transplant Proc* 52:2382–2387. <https://doi.org/10.1016/J.TRANSPROCEED.2020.01.107>
 49. Ma M, Li G, Zhou B, et al (2023) Comprehensive analysis of the association between inflammation indexes and complications in patients undergoing pancreaticoduodenectomy. *Front Immunol* 14:. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2023.1303283>
 50. Huang H, Liu Q, Zhu L, et al (2019) Prognostic Value of Preoperative Systemic Immune-Inflammation Index in Patients with Cervical Cancer. *Sci Rep* 9:. <https://doi.org/10.1038/S41598-019-39150-0>
 51. Cupp MA, Cariolou M, Tzoulaki I, et al (2020) Neutrophil to lymphocyte ratio and cancer prognosis: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies. *BMC Med* 18:. <https://doi.org/10.1186/S12916-020-01817-1>
 52. Platini H, Ferdinand E, Kohar K, et al (2022) Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and Platelet-to-Lymphocyte Ratio as Prognostic Markers for Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer Treated with Immunotherapy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Medicina (Kaunas)* 58:. <https://doi.org/10.3390/MEDICINA58081069>
 53. Nøst TH, Alcalá K, Urbarova I, et al (2021) Systemic inflammation markers and cancer incidence in the UK Biobank. *Eur J Epidemiol* 36:841–848. <https://doi.org/10.1007/S10654-021-00752-6>
 54. Ethier JL, Desautels D, Templeton A, et al (2017) Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res* 19:. <https://doi.org/10.1186/S13058-016-0794-1>

55. Yu Y, Wang H, Yan A, et al (2018) Pretreatment neutrophil to lymphocyte ratio in determining the prognosis of head and neck cancer: a meta-analysis. *BMC Cancer* 18:. <https://doi.org/10.1186/S12885-018-4230-Z>
56. Yin X, Xiao Y, Li F, et al (2016) Prognostic Role of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Prostate Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 95:. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000002544>
57. Wang L, Li X, Liu M, et al (2024) Association between monocyte-to-lymphocyte ratio and prostate cancer in the U.S. population: a population-based study. *Front cell Dev Biol* 12:. <https://doi.org/10.3389/FCELL.2024.1372731>
58. Vartolomei MD, Porav-Hodade D, Ferro M, et al (2018) Prognostic role of pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) in patients with non-muscle-invasive bladder cancer (NMIBC): A systematic review and meta-analysis. *Urol Oncol* 36:389–399. <https://doi.org/10.1016/J.UROLONC.2018.05.014>
59. Mano R, Baniel J, Shoshany O, et al (2015) Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts progression and recurrence of non-muscle-invasive bladder cancer. *Urol Oncol Semin Orig Investig* 33:67.e1-67.e7. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2014.06.010>
60. Caglayan A, Horsanali M (2023) Can Peripheral Blood Systemic Immune Response Parameters Predict Oncological Outcomes in Patients with Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer? *Niger J Clin Pract* 26:591–598. https://doi.org/10.4103/NJCP.NJCP_399_22
61. D'Andrea D, Moschini M, Gust K, et al (2017) Prognostic Role of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Primary Non-muscle-invasive Bladder Cancer. *Clin Genitourin Cancer* 15:e755–e764. <https://doi.org/10.1016/J.CLGC.2017.03.007>
62. Araujo DC, Rocha BA, Gomes KB, et al (2024) Unlocking the complete blood count as a risk stratification tool for breast cancer using machine learning: a large scale retrospective study. *Sci Rep* 14:. <https://doi.org/10.1038/S41598-024-61215-Y>
63. Brown JT, Liu Y, Shabto JM, et al (2021) Modified Glasgow Prognostic Score associated with survival in metastatic renal cell carcinoma treated with immune checkpoint inhibitors. *J Immunother cancer* 9:. <https://doi.org/10.1136/JITC-2021-002851>
64. Dolan RD, Daly L, Sim WMJ, et al (2020) Comparison of the prognostic value of ECOG-PS, mGPS and BMI/WL: Implications for a clinically important framework in the assessment and treatment of advanced cancer. *Clin Nutr* 39:2889–2895. <https://doi.org/10.1016/J.CLNU.2019.12.024>
65. Huai Q, Luo C, Song P, et al (2023) Peripheral blood inflammatory biomarkers dynamics reflect treatment response and predict prognosis in non-small cell lung cancer patients with neoadjuvant immunotherapy. *Cancer Sci* 114:4484–4498. <https://doi.org/10.1111/CAS.15964>
66. Abbass T, Dolan RD, MacLeod N, et al (2020) Comparison of the prognostic value of MUST, ECOG-PS, mGPS and CT derived body composition analysis in patients with advanced lung cancer. *Clin Nutr ESPEN* 40:349–356. <https://doi.org/10.1016/J.CLNESP.2020.08.003>
67. Nagashima Y, Funahashi K, Kagami S, et al (2023) Which preoperative

- immunonutritional index best predicts postoperative mortality after palliative surgery for malignant bowel obstruction in patients with late-stage cancer? A single-center study in Japan comparing the modified Glasgow prognostic score (mGPS), the prognostic nutritional index (PNI), and the controlling nutritional status (CONUT). *Surg Today* 53:22–30. <https://doi.org/10.1007/S00595-022-02534-3>
68. Kakiuchi Y, Kuroda S, Choda Y, et al (2023) Prognostic nutritional index is a prognostic factor for patients with gastric cancer and esophagogastric junction cancer undergoing proximal gastrectomy with esophagogastrostomy by the double-flap technique: A secondary analysis of the rD-FLAP study. *Surg Oncol* 50:. <https://doi.org/10.1016/J.SURONC.2023.101990>
 69. Mao C, Xu W, Ma W, et al (2021) Prognostic Value of Pretreatment Prognostic Nutritional Index in Patients With Renal Cell Carcinoma: A Meta-Analysis. *Front Oncol* 11:. <https://doi.org/10.3389/FONC.2021.719941>
 70. Dursun A, Ertekin SC, Tuncer GK, et al (2022) Prognostic Nutritional Index in Short-term Postoperative Outcomes in Hepaticojejunostomy. *J Coll Physicians Surg Pak* 32:864–868. <https://doi.org/10.29271/JCPSP.2022.07.864>
 71. Liu CC, Liu PH, Chen HT, et al (2023) Association of Preoperative Prognostic Nutritional Index with Risk of Postoperative Acute Kidney Injury: A Meta-Analysis of Observational Studies. *Nutrients* 15:. <https://doi.org/10.3390/NU15132929>
 72. Ushirozako H, Hasegawa T, Yamato Y, et al (2021) Does preoperative prognostic nutrition index predict surgical site infection after spine surgery? *Eur Spine J* 30:1765–1773. <https://doi.org/10.1007/S00586-020-06622-1>
 73. Liu M, Sun M, Zhang T, et al (2023) Prognostic Nutritional Index (PNI) as a potential predictor and intervention target for perioperative ischemic stroke: a retrospective cohort study. *BMC Anesthesiol* 23:. <https://doi.org/10.1186/S12871-023-02216-8>
 74. Takagi K, Umeda Y, Yoshida R, et al (2019) Preoperative Controlling Nutritional Status Score Predicts Mortality after Hepatectomy for Hepatocellular Carcinoma. *Dig Surg* 36:226–232. <https://doi.org/10.1159/000488215>
 75. Kimura S, D' Andrea D, Soria F, et al (2019) Prognostic value of modified Glasgow Prognostic Score in non-muscle-invasive bladder cancer. *Urol Oncol* 37:179.e19–179.e28. <https://doi.org/10.1016/J.UROLONC.2018.11.005>
 76. Cui J, Chen S, Bo Q, et al (2017) Preoperative prognostic nutritional index and nomogram predicting recurrence-free survival in patients with primary non-muscle-invasive bladder cancer without carcinoma in situ. *Onco Targets Ther* 10:5541–5550. <https://doi.org/10.2147/OTT.S146990>
 77. YUKSEL OH, AKAN S, URKMEZ A, et al (2016) Preoperative Glasgow prognostic score as a predictor of primary bladder cancer recurrence. *Mol Clin Oncol* 5:201–206. <https://doi.org/10.3892/MCO.2016.901>
 78. Cambier S, Sylvester RJ, Collette L, et al (2016) EORTC Nomograms and Risk Groups for Predicting Recurrence, Progression, and Disease-specific and Overall Survival in Non-Muscle-invasive Stage Ta-T1 Urothelial Bladder Cancer Patients Treated with 1-3 Years of Maintenance Bacillus Calmette-Guérin. *Eur Urol* 69:60–69. <https://doi.org/10.1016/J.EURURO.2015.06.045>

79. Getzler I, Bahouth Z, Nativ O, et al (2018) Preoperative neutrophil to lymphocyte ratio improves recurrence prediction of non-muscle invasive bladder cancer. *BMC Urol* 18:90. <https://doi.org/10.1186/s12894-018-0404-x>
80. Aydın M, Bitkin A, Kadihasanoğlu M, et al (2019) Correlation of neutrophil-lymphocyte ratio and risk scores in non-muscle invasive bladder cancer. *Actas Urol Esp* 43:503–508. <https://doi.org/10.1016/j.acuro.2018.12.004>
81. Avcı MA, Arslan B, Arslan O, Özdemir E (2024) The Role of Thrombocyte/Lymphocyte Ratio and Aspartate Transaminase/Alanine Transaminase (De Ritis) Ratio in Prediction of Recurrence and Progression in Non-muscle Invasive Bladder Cancer. *Cureus* 16:. <https://doi.org/10.7759/CUREUS.59299>
82. Pettenati C, Ingersoll MA (2018) Mechanisms of BCG immunotherapy and its outlook for bladder cancer. *Nat Rev Urol* 15:615–625. <https://doi.org/10.1038/S41585-018-0055-4>

10. SPIS TABEL

Tabela 1 Ogólna charakterystyka badanej populacji z podziałem na grupy

Tabela 2 Analiza krzywych ROC dla biomarkerów związanych z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu w przewidywaniu nawrotu lub progresji nowotworu

Tabela 3 Model wieloczynnikowej regresji logistycznej dla predykcji nawrotu lub progresji nowotworu

Tabela 4 Porównanie stężeń biomarkerów u pacjentów z NMIBC i MIBC (w momencie włączenia do badania – wartość diagnostyczna)

Tabela 5 Analiza krzywych ROC dla badanych biomarkerów dla rozpoznawania pomiędzy MIBC i NMIBC (w momencie włączenia do badania – wartość diagnostyczna)

Tabela 6 Wieloczynnikowa regresja logistyczna dla rozpoznawania pomiędzy NMIBC i MIBC w momencie włączenia do badania

Tabela 7 Porównanie stężeń biomarkerów dla rozpoznawania pomiędzy pacjentami bez nowotworu i pacjentami z NMIBC w momencie włączenia do badania (wartość diagnostyczna)

Tabela 8 Porównanie stężeń biomarkerów w podgrupach uwzględniających stopień złośliwości, charakter nowotworu i BCG-terapię w wywiadzie

Tabela 9 Porównanie stężeń badanych biomarkerów u pacjentów z rakiem HG w zależności od wcześniejszej ekspozycji na BCG-terapię

Tabela 10 Analiza krzywych ROC dla biomarkerów związanych z reakcją zapalną i stanem odżywienia w przewidywaniu nawrotu lub progresji nowotworu

Tabela 11 Dwuczynnikowa analiza regresji logistycznej biomarkerów związanych z reakcją zapalną i stanem odżywienia oraz punktami EORTC w przewidywaniu nawrotu lub progresji nowotworu

Tabela 12 Wartości NLR w podgrupach pacjentów w odniesieniu do kontekstu klinicznego i rozpoznania histopatologicznego

11. SPIS RYCIN

Rycina 1 Schemat rekrutacji pacjentów do badania

Rycina 2 Krzywe ROC dla badanych biomarkerów związanych z reakcją zapalną i aktywacją układu plazminogenu

Rycina 3 Wyniki uzyskane w modelach ML

Rycina 4 Ocena znormalizowanej istotności czynników współtworzących modele ML

Rycina 5 Krzywe ROC dla biomarkerów związanych z reakcją zapalną