

На правах рукописи

ПЕЧНИКОВА ВАЛЕНТИНА ВИКТОРОВНА

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ
ОСОБЕННОСТИ ДИСПЛАЗИИ И УРОТЕЛИАЛЬНОЙ КАРЦИНОМЫ
МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ**

3.3.2 – Патологическая анатомия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва — 2023

Работа выполнена в «Научно-исследовательском институте морфологии человека имени академика А.П. Авцына» Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского».

Научный руководитель:

член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук,
профессор

**Михалева
Людмила Михайловна**

Официальные оппоненты:

профессор кафедры патологической анатомии
ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России,
доктор медицинских наук

**Андреева
Юлия Юрьевна**

профессор Института клинической морфологии и цифровой патологии
ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский Университет),
академик РАЕН,
доктор медицинских наук, профессор

**Коган
Евгения Алтаровна**

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы" (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6).

Защита диссертации состоится « » _____ 2023 года в _____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.204.02 на базе Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына» Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» по адресу: 117418, Москва, ул. Цюрупы, д.3

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына» Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» и на сайте <http://www.med.ru>.

Автореферат разослан « » _____ 2023 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета 24.1.204.02,
доктор биологических наук

**Косырева
Анна Михайловна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Рак мочевого пузыря (РМП) является значимой проблемой здравоохранения, в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями в России РМП занимает 9-е место у мужчин и 16-е у женщин (Каприн А. Д., 2020). Высокая тенденция к рецидивам, прогрессированию или метастазированию РМП требует значительных затрат для системы здравоохранения (Hodges K. B. et al., 2010). Одним из решений данной проблемы представляется сдвиг клинической парадигмы с лечения на предупреждение РМП, а именно поиск факультативных и облигатных предраковых поражений уротелия. Адекватная и своевременная диагностика поражений уротелия (в том числе предраковых) может снизить затраты, а также показатели заболеваемости и смертности (McKenney J. K. et al., 2001).

Степень разработанности темы. Крайне важной проблемой патоморфологии является дифференциальная диагностика воспалительных (реактивная атипия) и предраковых (дисплазия) поражений уротелия. Гистологическая диагностика зачастую вызывает значительные затруднения у врачей-патологоанатомов в трактовке происходящего процесса в тканях мочевого пузыря. Риск прогрессии уротелиальной дисплазии в карциному является чрезвычайно важным вопросом, ведь при ошибочной диагностике последствия для пациентов могут быть фатальными. В дополнение к рутинному гистологическому методу для дифференциальной диагностики реактивной атипии от дисплазии применяется иммуногистохимическое исследование, однако в диагностике реально широко применяется лишь небольшая панель антител (CK20, p53 и CD44). По данным Международного общества уропатологов (International Society for Urological Pathology, ISUP), чрезмерное доверие специалистов-патоморфологов к данной панели антител может ввести в заблуждение, особенно при условиях оценки изменений в биоптате после проведенного лечения. Поэтому поиск новых антител (а также их валидация в клинической практике), способствующих дифференциальной диагностике между реактивными и диспластичными изменениями уротелия, представляется крайне актуальной и важной задачей, способствующей формированию более точного диагностического подхода к данным поражениям.

Другим важным аспектом является определение злокачественного потенциала карцином мочевого пузыря. По данным литературы, мышечно-инвазивная карцинома мочевого пузыря имеет худший прогноз по сравнению с мышечно-неинвазивным раком из-за более высокой частоты метастатического распространения, а также кардинально отличается по молекулярному профилю. Молекулярно-генетическое тестирование опухолей мочевого пузыря на данный момент является малодоступным и сложным методом, который не используется в клинической практике. Возможно, использование опосредованного иммуногистохимического метода сможет продемонстрировать подлежащие молекулярные пути в диагностируемой опухоли мочевого пузыря для определения дальнейшего прогноза заболевания у пациентов, однако на настоящий момент данные иммуногистохимических исследований малочисленны и требуют последующей валидации.

Все вышеизложенное определило актуальность и выбор темы настоящего исследования.

Цель исследования: определить клиничко-морфологические и иммуногистохимические особенности реактивной атипии, дисплазии и уротелиальных карцином мочевого пузыря.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи:**

1. Провести сравнительную оценку клиничко-морфологических параметров реактивной атипии, уротелиальных дисплазии и карцином мочевого пузыря.

2. Проанализировать половые и возрастные особенности пациентов с предраковыми и раковыми поражениями уротелия, оценить размер, локализацию, множественность и степень дифференцировки (для карцином), характерных для данных поражений, а также выявить связь клинико-морфологических параметров с гистологическим типом поражения.

3. Продемонстрировать иммуногистохимические особенности реактивной атипии и уротелиальной дисплазии мочевого пузыря, а также создать оптимальную панель иммуногистохимических антител для дифференциальной диагностики.

4. Представить сравнительный иммунофенотип мышечно-неинвазивной и мышечно-инвазивной уротелиальных карцином, различия в которых носят принципиально важный характер для определения дальнейшего течения заболевания.

5. Разработать алгоритм иммуногистохимической диагностики для пациентов с реактивной атипией, дисплазией и уротелиальными карциномами мочевого пузыря, в зависимости от их иммуногистохимических особенностей.

Научная новизна исследования. На основании проведенного комплексного клинико-морфологического исследования проанализированы половые и возрастные различия у пациентов с реактивной атипией, дисплазией и уротелиальными карциномами. Охарактеризованы клинико-морфологические параметры поражений, такие как размер, локализация, количество и степень дифференцировки (для карцином).

Дана иммуногистохимическая характеристика реактивной атипии и уротелиальной дисплазии мочевого пузыря, а также сформирована панель антител с маркерами CK20, p53, CD44, Vcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3 и GATA3 для дифференциальной диагностики воспалительных и предраковых поражений мочевого пузыря.

Впервые разработана панель иммуногистохимических маркеров (CK7, CK20, Ki-67, p53, HER2, Uroplakin III и GATA3) для оценки злокачественного потенциала мышечно-неинвазивных и мышечно-инвазивных опухолей мочевого пузыря.

Впервые разработан алгоритм дифференциальной диагностики для пациентов с реактивной атипией, уротелиальной дисплазией, мышечно-неинвазивной и мышечно-инвазивной уротелиальной карциномой в зависимости от иммуногистохимических особенностей поражений.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты проведенного комплексного клинико-морфологического, морфометрического и иммуногистохимического исследования способствуют расширению представлений о реактивной атипии, дисплазии и уротелиальных карциномах мочевого пузыря.

Установлена диагностическая значимость пола, возраста, размера и количества поражений в уротелиальных предраковых и раковых заболеваниях мочевого пузыря, а также определена роль степени дифференцировки опухоли в мышечно-неинвазивных и мышечно-инвазивных карциномах мочевого пузыря.

Разработана панель иммуногистохимических маркеров (CK20, p53, CD44, Vcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3, GATA3), которая повышает точность дифференциальной диагностики между реактивной атипией и уротелиальной дисплазией.

Оптимизирована панель иммуногистохимических маркеров для оценки злокачественного потенциала мышечно-неинвазивных и мышечно-инвазивных уротелиальных карцином в биоптате, состоящая из антител к CK7, CK20, Ki-67, p53, HER2, Uroplakin III и GATA3.

Разработан алгоритм иммуногистохимической диагностики для пациентов с реактивной атипией, дисплазией и уротелиальными карциномами мочевого пузыря, в зависимости от их иммунофенотипа.

Методология и методы исследования. На основании клинических данных в работу был взят биопсийный и операционный материал, полученный от 131 пациента с уротелиальными поражениями мочевого пузыря. При детальном патолого-анатомическом исследовании были исключены 11 наблюдений с диагностированной уротелиальной карциномой, где достоверно не определялась мышечная стенка мочевого пузыря. Для предотвращения искажения результатов исследования было принято исключить данные наблюдения на этапе анализа, поэтому в ретроспективное исследование были включены 120 пациентов (мужчины – 77, женщины – 43) с воспалительными, предраковыми и раковыми поражениями уротелия, проходивших лечение в ГБУЗ «ГКБ №31 им. академика Г. М. Савельевой ДЗМ» в период с 2016 по 2021 год, которые составили основную группу исследования (Рисунок 1). Возраст пациентов основной группы варьировал от 39 до 91 года, медиана возраста пациентов составила 69 лет.

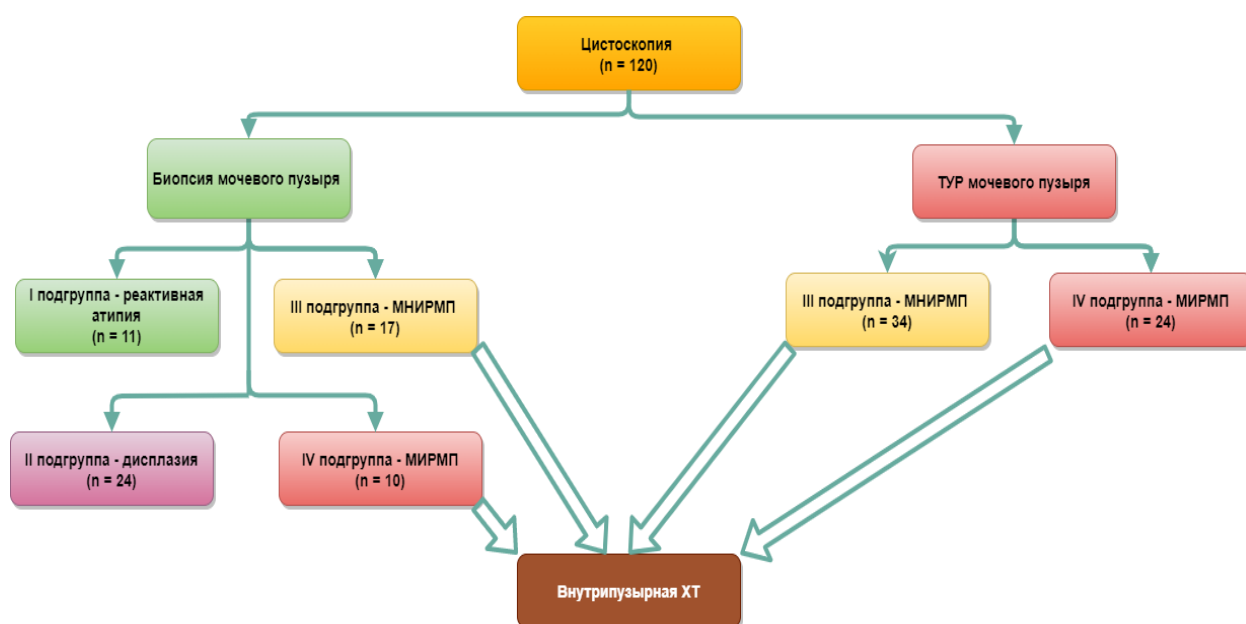


Рисунок 1 – Материал исследования

Всем пациентам основной группы была проведена цистоскопия мочевого пузыря с оценкой эндоскопической картины патологически измененной стенки пузыря. 62 пациентам была выполнена биопсия мочевого пузыря, из них, после морфологической верификации, 11 пациентам был установлен диагноз «реактивная атипия», 24 – «дисплазия», 17 – «уротелиальная карцинома; ТаТ1», 10 – «уротелиальная карцинома; Т2» (Рисунок 1). 58 пациентам с верифицированными уротелиальными карциномами ТаТ1 (n = 34), а также Т2 (n = 24) была выполнена трансуретральная резекция (ТУР) мочевого пузыря с последующей внутрипузырной химиотерапией митомицином С (Рисунок 1).

После проведения внутрипузырных хирургических вмешательств было проведено патолого-анатомическое исследование полученного биопсийного и операционного материала по стандартной методике.

Для проведения клиничко-морфологического сравнительного анализа были сформированы следующие подгруппы: в I подгруппу вошли пациенты с реактивной атипией уротелия (n = 11), во II подгруппу – пациенты с уротелиальной дисплазией (n = 24), в III подгруппу – пациенты с мышечно-неинвазивным РМП (МНИРМП, n = 51, из них пациентов со стадией Та – 11, Т1 – 40) и в IV подгруппу – пациенты с мышечно-инвазивным РМП (МИРМП, n = 34).

Клинически оценивали пол, возраст, размер и локализацию поражений, их солитарность (одиночность) и мультифокальность (множественность), а также наличие гематурии. Измерение линейного размера поражения в сантиметрах выполнялось эндоскопически в ходе цистоскопии. При сборе данных для множественных поражений использовался линейный размер наибольшего поражения.

Во всех отобранных случаях был проведен анализ медицинской документации (данные истории болезни) на предмет наличия/отсутствия клиничко-анамнестических сведений о наличии ИМП, мочекаменной болезни, катетеризации мочевого пузыря, а также о перенесенном ранее РМП в течение периода сроком от 1 до 1,5 лет. При этом у 17 пациентов с верифицированным на момент текущего исследования патолого-анатомическим диагнозом «уротелиальная дисплазия» ранее в анамнезе был перенесен РМП (в течение периода сроком от 1 до 1,5 лет), у 7 пациентов данная патология была диагностирована впервые («de novo»).

В полученных микропрепаратах проводили патоморфологическую оценку поражений, в случаях мышечно-неинвазивного и мышечно-инвазивного рака микроскопически исследовали уровень инвазии опухоли. Также для двух последних подгрупп микроскопически производили оценку степени дифференцировки опухолей по классификациям ВОЗ 1973 г., 2016 г. и 2022 г.

ИГХ-исследование было проведено с антителами к CK7, CK20, Ki-67, p53, CD44, Vcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3, PTEN и GATA3.

Для иммуногистохимического сравнительного анализа были сформированы следующие подгруппы:

1. Пациенты с реактивной атипией уротелия (I подгруппа, n = 10);
2. Пациенты с уротелиальной дисплазией (II подгруппа, n = 10);
3. Пациенты с МНИРМП (III подгруппа, n = 10);
4. Пациенты с МИРМП (IV подгруппа, n = 10).

Сформированные группы для клиничко-морфологического и иммуногистохимического анализа представлены на Рисунке 2.

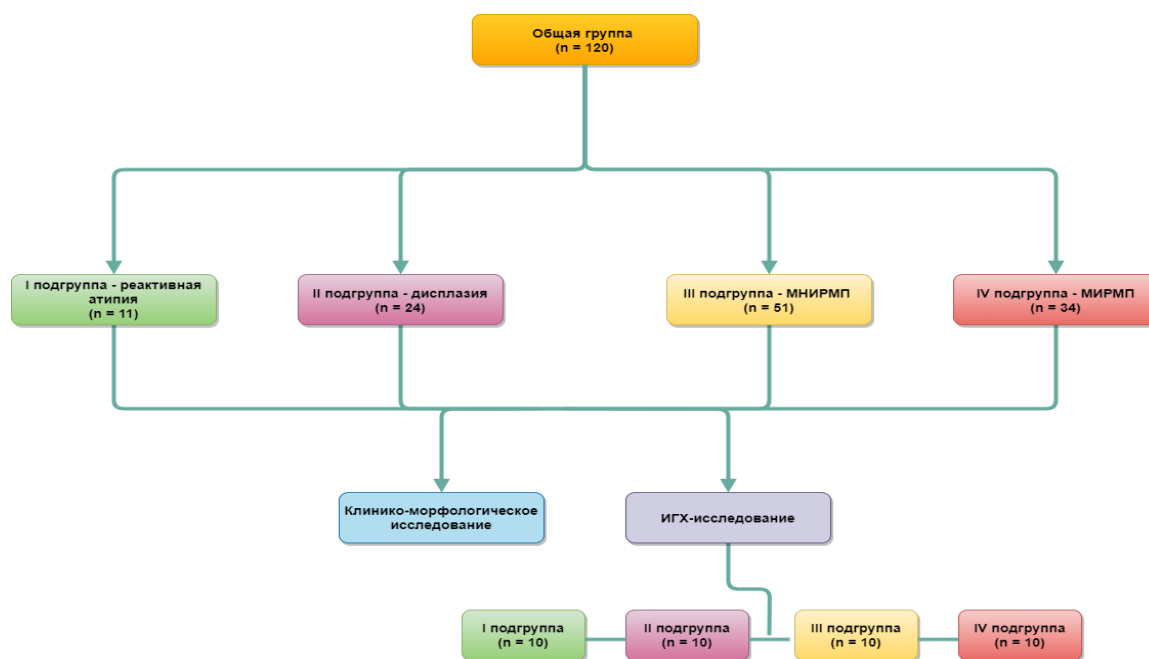


Рисунок 2 – Дизайн исследования

В ходе выполнения диссертационной работы были использованы следующие методы исследования:

1. Клинико-эндоскопический метод:

– Оценка пола и возраста пациентов, данных цистоскопии мочевого пузыря (размер и локализация поражений, их солитарность (одиночность) и мультифокальность (множественность)), наличие клинических симптомов у пациента (гематурия).

2. Гистологический метод:

– Окраска срезов биопсийного и операционного материала воспалительных, предопухолевых и опухолевых поражений мочевого пузыря с окраской гематоксилином и эозином для определения типа уротелиального поражения; в III и IV подгруппах – для определения степени дифференцировки опухоли (по классификации ВОЗ 1973 г., 2016 г., 2022 г.), глубины инвазии поражения.

3. Иммуногистохимический метод:

– Оценка экспрессии маркеров CK7, CK20, Ki-67, p53, CD44, Vcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3, PTEN, GATA3 для уточнения типа уротелиального поражения и выявления соответствующей им характерной иммуногистохимической реакции.

4. Морфометрический метод:

– Количественная оценка полученных иммуногистохимических реакций с маркерами CK7, CK20, Ki-67, p53, CD44, Vcl-2, Uroplakin III, FGFR3, PTEN и GATA3 с использованием методики HistoScore (HScore), анализ иммуногистохимической реакции к Ki-67 (в процентах), оценка иммуногистохимической реакции к HER2 (в баллах, на основании рекомендаций ASCO/CAP для рака молочной железы 2018 г.) [10; 29].

5. Статистический метод:

– Статистическая обработка данных производилась с учетом типа переменных (качественные (номинальные) и количественные (дискретные)) и характера распределения. Определение нормальности распределения осуществляли на основе расчета критериев Колмогорова—Смирнова и Шапиро—Уилка. Для описания тенденций непрерывных величин с нормальным распределением использовались арифметическое среднее (M) и стандартное отклонение (SD). Для описания тенденций величин с распределением, отличным от нормального, использовались медиана (Me), 1-й (нижний; Q1) и 3-й (верхний; Q3) квартили; описание приводилось в форме: (Me (L; U)). В соответствии с проведенной проверкой на нормальность распределения применялись непараметрический коэффициент корреляции r-Спирмена и непараметрический U-критерий Манна—Уитни. Значимость различий между несколькими независимыми выборками оценивалась с помощью H-критерия Краскела—Уоллиса с проведением апостериорных множественных попарных сравнений методом Двасса—Стила—Кричлоу—Флигнера. Сравнение номинальных данных (HScore, индекса Ki-67, балльной оценки HER2) производилось с помощью критерия Хи-квадрат (χ^2) Пирсона и точного критерия Фишера, для оценки силы взаимосвязи между номинальными переменными использовался критерий V Крамера. Статистический анализ был произведен с использованием программ Microsoft Office Excel 2016 (США), IBM SPSS Statistics 23.0 (США), Jamovi 2.3.21 (свободно распространяемое программное обеспечение с открытым исходным кодом (open source)). Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Положения, выносимые на защиту:

1. Для оптимизации дифференциальной диагностики между реактивной атипией уротелия и дисплазией мочевого пузыря показано проведение иммуногистохимического

исследования с маркерами CK20, p53, Bcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3 и GATA3. Для уротелиальной дисплазии характерна негативная реакция с маркерами Bcl-2 ($p = 0,025$), HER2 ($p < 0,001$), Uroplakin III ($p < 0,001$), низкая экспрессия с антителами к CK20 ($p = 0,021$), FGFR3 ($p = 0,047$) и GATA3 ($p < 0,001$), выраженная иммуногистохимическая реакция с маркером p53 ($p = 0,018$). В случае подтверждения диспластического характера патологического процесса требуется более тщательное последующее наблюдение пациентов для исключения прогрессии и рецидива поражения.

2. Возраст пациентов значимо влияет на клиничко-морфологические параметры уротелиальных карцином: при наличии мышечно-неинвазивной опухоли мочевого пузыря мультифокальные поражения встречаются чаще с увеличением возраста пациентов ($U = 155,5$; $p = 0,048$), а в случаях мышечно-инвазивного рака установлена прямая зависимость: чем моложе пациенты, тем чаще у них выявляются недифференцированные, более агрессивные, злокачественные новообразования ($U = 64$; $p = 0,007$).

3. Для оценки злокачественного потенциала уротелиальной опухоли целесообразно применение иммуногистохимического исследования с маркерами CK7, CK20, Ki-67, p53, CD44, HER2, Uroplakin III и GATA3. При выявлении в мышечно-неинвазивной опухоли выраженной экспрессии CK7 ($p = 0,012$) и p53 ($p < 0,001$), высокого показателя индекса пролиферации Ki-67 ($> 25\%$; $p < 0,001$), низкой экспрессии GATA3 ($p = 0,012$), а также негативной реакции с антителами к CK20 ($p < 0,001$), CD44 ($p < 0,001$), HER2 ($p = 0,003$), Uroplakin III ($p < 0,001$) следует думать о более агрессивном течении заболевания с необходимостью тщательного наблюдения данной группы пациентов.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов обеспечивалась достаточным количеством наблюдений в общей группе исследования и ее подгруппах, выбором современных и целесообразных методов исследования, которые соответствовали цели работы и поставленным задачам, применением статистического метода и соответствующих статистических критериев, критической оценкой полученных результатов при сравнении их с литературными данными.

Апробация диссертационной работы состоялась на заседании межлабораторной конференции «Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына» Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» 14 июня 2023 года. Материалы и основные положения диссертации были доложены и обсуждались на следующих конференциях: «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Россия, г. Москва, ноябрь 2020 г.), 33rd European Congress of Pathology (Виртуальный конгресс (онлайн), август 2021 г.).

Результаты исследования внедрены в работу патолого-анатомического отделения Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница № 31 имени академика Г. М. Савельевой Департамента здравоохранения города Москвы».

Личный вклад автора заключался в сборе, анализе и обобщении литературных данных по проблеме воспалительных, предраковых и раковых поражений уротелия. Автором лично был отобран материал исследования, собраны клинические и морфологические данные. В ходе выполнения диссертационной работы автором проведено морфометрическое исследование для оценки иммуногистохимических реакций, а также осуществлена статистическая обработка полученных данных. Результаты были обобщены и проанализированы. На основе полученных данных сформулирован алгоритм иммуногистохимического исследования для дифференциальной диагностики уротелиальных поражений, а также определения

злокачественного потенциала уротелиальных карцином. Подготовка основных публикаций проводилась с соавторами, при этом вклад автора был основным.

Результаты исследования изложены в 9 научных публикациях, 5 из которых опубликованы в журналах Web of Science (1) и Scopus (4), входящих в перечень рецензируемых научных изданий, где должны быть размещены основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

Диссертация изложена на 221 странице машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, глав материалы и методы, результатов собственного исследования, обсуждения результатов исследования, заключения, практических рекомендаций, выводов, списка сокращений и списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 98 рисунками и 35 таблицами. Список литературы включает 284 источника, из них 13 российских и 271 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Результаты и их обсуждение. На первом этапе нашего исследования нами был выполнен сравнительный клинический и патолого-анатомический анализ случаев реактивной атипии, уротелиальной дисплазии, МНИРМП и МИРМП. При реактивной атипии клинико-морфологических особенностей, характерных для данного типа поражения, не обнаружено (Рисунок 3).

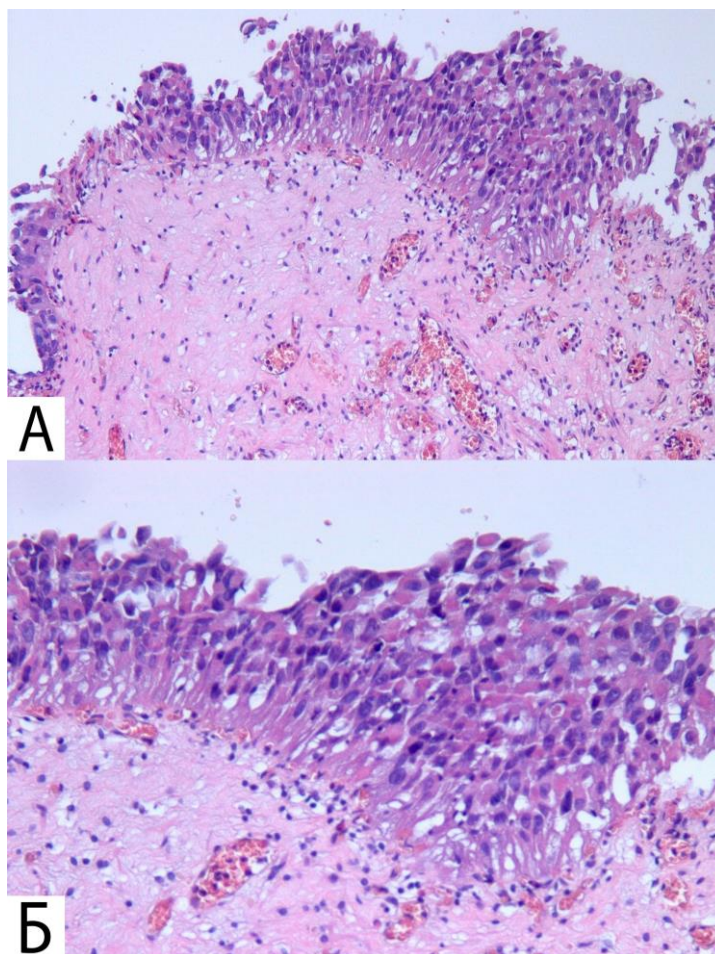


Рисунок 3 – Патоморфологическая картина реактивной атипии уротелия (окраска гематоксилином и эозином): а – увеличение $\times 100$; б – увеличение $\times 200$

В случае уротелиальной дисплазии (Рисунок 4), по данным исследования, отмечен больший размер поражений у женщин (Me – 1,25 см) по сравнению с мужчинами (Me – 0,8 см, U = 26; p = 0,019).

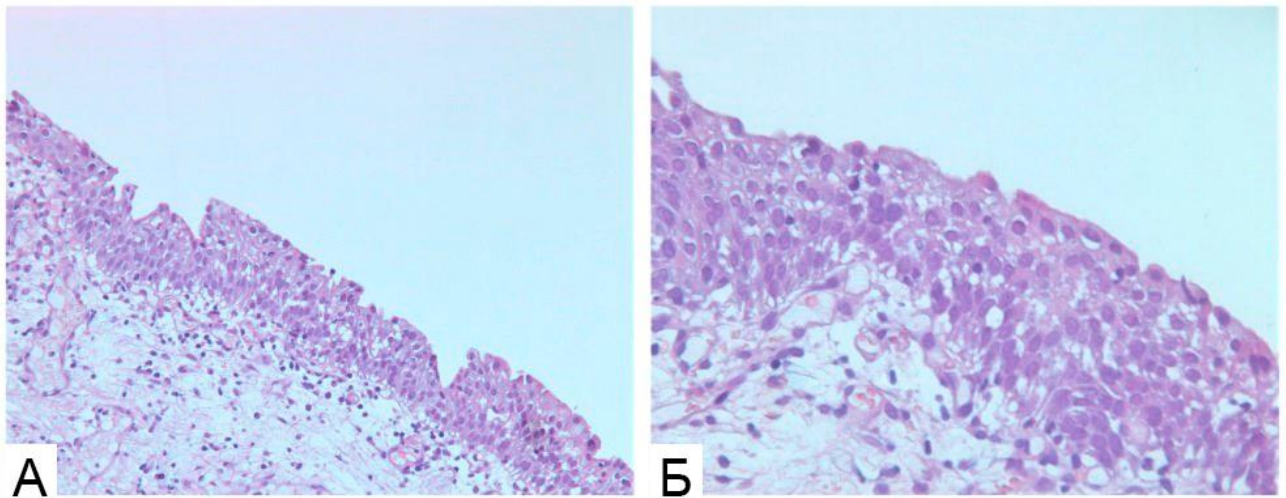


Рисунок 4 – Патоморфологическая картина уротелиальной дисплазии (окраска гематоксилином и эозином): а – увеличение $\times 200$; б – увеличение $\times 400$

Связи дисплазии с возрастом пациентов, локализацией и количеством поражений не было выявлено.

Нами показано, что частота встречаемости РМП была выше у мужчин, чем у женщин (58 мужчин против 27 женщин; 68,24 и 31,76% соответственно; Рисунок 5).

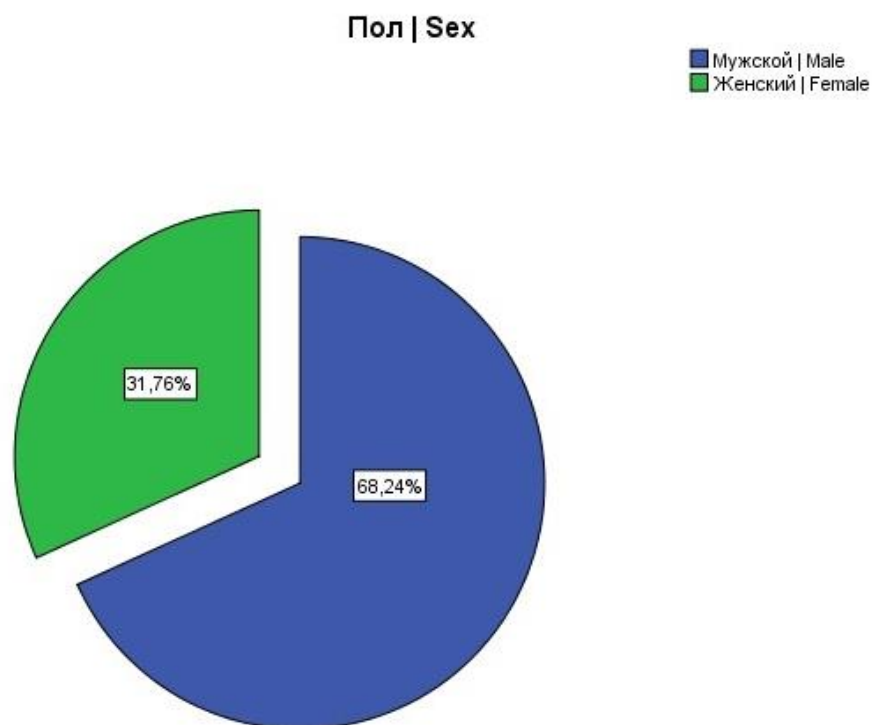


Рисунок 5 – Распределение пациентов с РМП по полу (в %)

Выявлено, что при наличии мышечно-неинвазивной карциномы мочевого пузыря мультифокальные поражения встречались чаще с увеличением возраста пациентов ($U = 155,5$; $p = 0,048$; Рисунок 6).

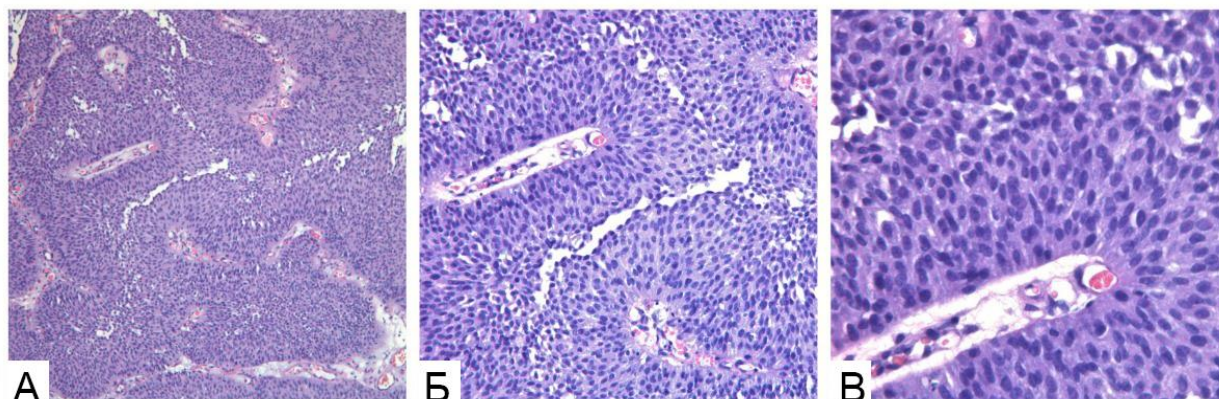


Рисунок 6 – Патоморфологическая картина МНИРМП low-grade (окраска гематоксилином и эозином): а – увеличение $\times 100$; б – увеличение $\times 200$; в – увеличение $\times 400$

При мышечно-инвазивном раке установлена прямая зависимость возраста пациентов с низкодифференцированным, более агрессивным течением опухоли ($U = 64$; $p = 0,007$; Рисунок 7).

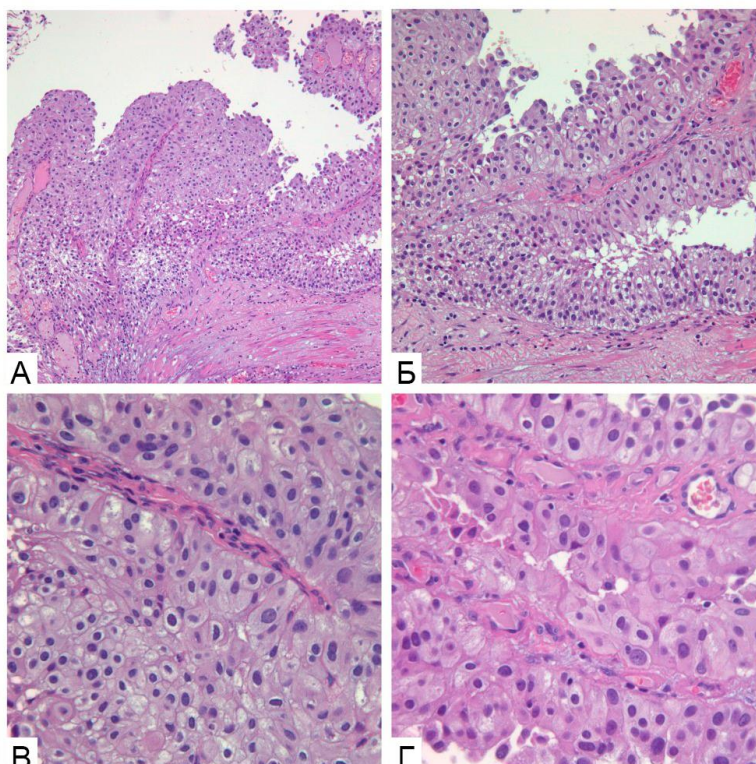


Рисунок 7 – Патоморфологическая картина МИРМП high-grade (окраска гематоксилином и эозином): а – увеличение $\times 100$; б – увеличение $\times 200$; в – увеличение $\times 400$; г – увеличение $\times 400$

Размер и локализация уротелиальной карциномы не зависели от распространенности первичной опухоли (категории Т) исследованных опухолей.

Вторым этапом нашего исследования послужило ИГХ-исследование экспрессии маркеров CK7, CK20, Ki-67, p53, CD44, Vcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3, PTEN, GATA3 между подгруппами исследования (I-IV). Для определения значимости различий мы воспользовались Н-критерием Краскела—Уоллиса, который показал значимые различия во всех исследуемых подгруппах (Таблица 1).

Таблица 1 – Сравнение экспрессии ИГХ-маркеров в I-IV подгруппах (Н-критерий Краскела—Уоллиса)

ИГХ-маркер (метод подсчета)	Критерий согласия Пирсона χ^2	df (степеней свободы)	р-уровень значимости	Размер эффекта ε^2
CK7 (HScore)	18,97	3	< 0,001	0,486
CK20 (HScore)	24,59	3	< 0,001	0,630
Ki-67 (%)	26,47	3	< 0,001	0,679
p53 (HScore)	21,36	3	< 0,001	0,548
CD44 (HScore)	14,01	3	0,003	0,359
Vcl-2 (HScore)	13,78	3	0,003	0,353
HER2 (баллы)	30,42	3	< 0,001	0,780
Uroplakin III (HScore)	34,97	3	< 0,001	0,897
FGFR3 (HScore)	12,19	3	0,007	0,313
PTEN (HScore)	9,80	3	0,020	0,251
GATA3 (HScore)	26,59	3	< 0,001	0,682

Для интерпретации результатов однофакторного дисперсионного анализа Краскела—Уоллиса нами были проведены апостериорные попарные сравнения методом (тестом) Двасса—Стила—Кричлоу—Флигнера. В ходе исследования были выявлены значимые различия по параметру HistoScore между двумя исследуемыми подгруппами (I и II) с маркерами CK20 ($Me_I = 285$; $Me_{II} = 1,8$; $W = -4,079$; $p = 0,021$), p53 ($Me_I = 3,26$; $Me_{II} = 101$; $W = 4,15$; $p = 0,018$), Vcl-2 ($Me_I = 109$; $Me_{II} = 0$; $W = -3,979$; $p = 0,025$), HER2 ($Me_I = 1$; $Me_{II} = 0$; $W = -6,16$; $p < 0,001$), Uroplakin III ($Me_I = 27,6$; $Me_{II} = 0$; $W = -5,71$; $p < 0,001$), FGFR3 ($Me_I = 249$; $Me_{II} = 118$; $W = -3,665$; $p = 0,047$) и GATA3 ($Me_I = 295$; $Me_{II} = 232$; $W = -5,374$; $p < 0,001$). Экспрессия CK20, Vcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3 и GATA3 была более выражена в группе реактивной атипии. Диспластичные поражения, напротив, характеризовались почти полной потерей экспрессии CK20, Vcl-2, HER2 и Uroplakin III. Экспрессия FGFR3 и GATA3 во II подгруппе была сниженной, однако отмечалась яркая реакция с маркером p53. В подгруппе реактивной атипии экспрессия p53 практически полностью отсутствовала. Наиболее значимые отличия были выявлены для маркеров HER2, Uroplakin III и GATA3. Выявленные значимые различия между исследованными подгруппами отображены в таблице 2.

Таблица 2 – Парные сравнения экспрессии ИГХ-маркеров в I-IV подгруппах, имеющих значимые результаты (апостериорные сравнения методом Двасса—Стила—Кричлоу—Флигнера)

Парное сравнение подгрупп	ИГХ-маркер	W-критерий Вилкоксона	p-уровень значимости
I и II	CK20	-4,079	0,021
	p53	4,15	0,018
	Bcl-2	-3,979	0,025
	HER2	6,16	< 0,001
	Uroplakin III	-5,71	< 0,001
	FGFR3	-3,665	0,047
	GATA3	-5,374	< 0,001
I и III	CD44	3,780	0,038
	FGFR3	-3,661	0,047
	GATA3	-5,398	< 0,001
I и IV	CK7	4,92	0,003
	CK20	-5,388	< 0,001
	Ki-67	5,36	< 0,001
	p53	5,44	< 0,001
	Bcl-2	-4,829	0,004
	HER2	-4,52	0,008
	Uroplakin III	-5,71	< 0,001
	GATA3	-5,353	< 0,001
II и III	CK20	4,078	0,021
	HER2	5,81	< 0,001
	Uroplakin III	5,72	< 0,001
II и IV	CK7	4,71	0,005
	Ki-67	5,36	< 0,001
III и IV	CK7	4,31	0,012
	CK20	-5,386	< 0,001
	Ki-67	5,40	< 0,001
	p53	5,39	< 0,001
	CD44	-5,390	< 0,001
	Uroplakin III	-5,72	< 0,001
	GATA3	-4,312	0,012

В научных работах часто предлагается использование ИГХ-панели антител, состоящей из маркеров CK20, CD44 и p53, которая, по данным исследователей, имеет значительные результаты в отношении дифференциальной диагностики. Кроме того, в других работах предлагается использовать маркер клеточной пролиферации Ki-67 (Goebell P. J. et al., 2010).

Несмотря на то, что данная панель является многообещающей и задействована в большом количестве исследований, рутинное использование данных маркеров в отдельных случаях может быть проблематичным из-за вариабельности интенсивности окрашивания и его распределения (Asgari M. et al., 2016).

В нашем исследовании использовался количественный метод HistoScore для оценки ИГХ-реакций с маркерами CK20, CD44 и p53, что позволяет более подробно и точно определить характер распределения и интенсивность окрашивания (в отличие от субъективного определения данных параметров «на глаз»). Нами выявлена выраженная экспрессия маркера CK20 в случаях реактивной атипии, которая локализовалась в верхних слоях уротелия, что совпадает с ранее полученными данными. Та же ситуация была характерна и для маркера p53, где в «атипичном» уротелии экспрессия p53 практически полностью отсутствовала, в отличие от случаев уротелиальной дисплазии. Однако нами не было выявлено значимых отличий между I и II подгруппой в отношении маркера CD44 – окрашивание выявлялось в обоих поражениях.

Нами была найдена только 1 публикация, в которой прослеживалась экспрессия CD44 в базальных слоях уротелия как при дисплазии, так и в случаях карциномы *in situ* (Lawless M. E. et al., 2018). Данная публикация и результаты нашей работы показывают, что экспрессия маркера CD44 в реактивных и предраковых поражениях является вариабельной.

Экспрессия Vcl-2 наблюдается в длительно живущих клеточных популяциях и/или в клетках со способностью к пролиферации, его экспрессия более распространена в тканях плода, чем взрослого организма, что указывает на то, что он может играть важную роль в развитии, созревании и дифференцировке клеток (Lu Q. L. et al., 1993). Таким образом, мы предполагаем, что Vcl-2 играют ключевую роль в обновлении, пролиферации и дифференцировке уротелиальных клеток, а нарушение этой системы может привести к предраковым изменениям уротелия.

Уроплакины экспрессируются исключительно в нормальном уротелии и не обнаруживаются в не-уротелиальных тканях (Olsburgh J. et al., 2003). Они обычно присутствуют на апикальной поверхности и в цитоплазме зонтичных клеток, но отсутствуют в промежуточных и базальных клетках. Уроплакины являются основными продуктами дифференцировки уротелия, поэтому в нашем исследовании одной из задач было определение изменений экспрессии уроплакинов в процессе злокачественной трансформации.

Однако нами не было найдено публикаций, оценивающих роль уроплакина III в дифференциальной диагностике реактивных и предраковых поражений.

В работе Kuprasertkul A. et al. (2022) рассматривали вопрос экспрессии уроплакина IIIa с помощью метода иммунофлуоресценции у постменопаузальных женщин с ИМП (циститом). В нормальных тканях выявлено позитивное окрашивание зонтичных клеток, в воспаленных тканях (с признаками цистита) отмечено отсутствие экспрессии или «пятнистый» тип позитивного окрашивания.

В исследовании Ogawa K. et al. (1999) использовались животные мышиные и крысиные модели для исследования канцерогенеза мочевого пузыря, индуцированного N-бутил-N-(4-гидроксibuтил)-нитрозамином. Как у мышей, так и у крыс наблюдалось снижение экспрессии уроплакинов в случаях дисплазии и карциномы по сравнению с нормой и гиперплазией уротелия.

Xu X. et al. (2002) оценивали разницу в экспрессии поликлональных уроплакиновых антител между реактивными поражениями уротелия и карциномами мочевого пузыря в цитологических мазках верхних мочевыводящих путей. Во всех случаях реактивной атипии (n = 10) было продемонстрировано окрашивание зонтичных клеток. В low-grade карциномах (n = 17) отмечено более слабое и менее «непрерывное» поверхностное окрашивание мембран наряду с переменной интенсивностью, диффузным, мембранным окрашиванием во всех группах опухолевых клеток. В high-grade карциномах (n = 10) отсутствовал поверхностный линейный паттерн окрашивания, наблюдаемый в реактивном уротелии. Вместо этого, все 10 high-grade

карцином демонстрировали выраженное диффузное окрашивание мембран во всех уротелиальных клетках.

В нашем исследовании также отмечена нормальная экспрессия уроплакинов при реактивной атипии уротелия, и, наоборот, отсутствие ИГХ-реакции в случаях дисплазии. Последнее соотносится с наблюдениями Ogawa K. et al. (1999), однако исследователи проводили исследование на животных моделях. Недостатком работы Xu X. et al. (2002) является использование цитологического, а не гистологического метода. Нам кажется, что использование уроплакинов (в нашем случае – Uroplakin III) в дифференциальной диагностике воспалительных и предраковых поражений является перспективным и требует дальнейшего изучения для полноценного понимания диагностического потенциала данных маркеров.

Касаемо ИГХ-маркера FGFR3, нами ранее было описано влияние мутаций гена FGFR3 на канцерогенез РМП. Однако нами не было обнаружено публикаций по использованию данного ИГХ-антитела в дифференциальной диагностике реактивной атипии и дисплазии уротелия.

В недавней публикации Musangile F. Y. et al. (2023) исследовали генетические мутации в воспалительных, предраковых и раковых (карцинома *in situ*) поражениях уротелия. По сведениям авторов, в литературе ранее не исследовались мутации FGFR3 в атипических и диспластичных поражениях, а также не описывались мутации FGFR3 в случае карциномы *in situ*. Интересной особенностью исследования является тот факт, что авторы выявили большее количество мутаций FGFR3 (26%, 6/23) в предраковых и раковых поражениях уротелия, чем в группе реактивной атипии (причем в группе реактивной атипии были выявлены только мутации промотора TERT). Мутации FGFR3 в группе дисплазии преимущественно относились к группе миссенс-мутаций, которые приводят к изменению одной аминокислоты в нуклеотидной последовательности ДНК. Иногда такое изменение является немым и не влияет на белок, кодируемый ДНК, в других случаях – может глубоко изменить способ функционирования белка. В нашем исследовании выявлено снижение интенсивности окрашивания ИГХ-маркера FGFR3 в подгруппе дисплазии по сравнению с подгруппой реактивной атипии. На наш взгляд, учитывая данные работы Musangile F. Y. et al. (2023), эту особенность можно объяснить изменением строения/функции белка FGFR3, что влияет на выраженность специфической реакции антиген-антитело. Крайне интересным представляется изучение подобного аспекта экспрессии FGFR3 в предраковых поражениях уротелия на большем количестве наблюдений.

В то же время перспектива использования FGFR3 в качестве дифференцирующего антитела воспалительных и предраковых поражений нам кажется отдаленной. Несмотря на то, что нами получены значимые различия в показателях HistoScore в данных подгруппах, мы понимаем, что данный подход к оценке ИГХ-реакций не является рутинным и достаточно трудоемок для врачей-патологоанатомов, в то время как, визуальная картина экспрессии FGFR3 не будет значительно отличаться, учитывая положительное окрашивание в обеих подгруппах. Однако при большем объеме исследований по проблеме FGFR3 будет легче сформировать обоснованное и устойчивое мнение.

Дополнительно в нашей работе продемонстрированы значимые различия по параметру HistoScore между III и IV подгруппами с маркерами CK7 ($Me_{III} = 259$; $Me_{IV} = 294$; $W = 4,31$; $p = 0,012$), CK20 ($Me_{III} = 210$; $Me_{IV} = 0,2$; $W = -5,386$; $p < 0,001$), Ki-67 ($Me_{III} = 21\%$; $Me_{IV} = 53,6\%$; $W = 5,40$; $p < 0,001$), p53 ($Me_{III} = 17,1$; $Me_{IV} = 119$; $W = 5,39$; $p < 0,001$), CD44 ($Me_{III} = 220$; $Me_{IV} = 23$; $W = -5,390$; $p < 0,001$), HER2 ($Me_{III} = 1,5$; $Me_{IV} = 0$; $W = -4,84$; $p = 0,003$), Uroplakin III ($Me_{III} = 19,4$; $Me_{IV} = 0$; $W = -5,72$; $p < 0,001$) и GATA3 ($Me_{III} = 289$; $Me_{IV} = 288$; $W = -4,312$; $p = 0,012$; таблица 2). В подгруппе МИРМП отмечалась отрицательная реакция с маркерами CK20, CD44, HER2, Uroplakin III, сниженный уровень экспрессии GATA3, но более яркие показатели маркеров

СК7 и p53. Индекс пролиферации Ki-67 в МИРМП был в 2 раза выше, чем в МНИРМП. В мышечно-неинвазивных карциномах (III подгруппа) отмечалась выраженная реакция с маркерами СК20, CD44, HER2, Uroplakin III и GATA3, экспрессия p53 была слабой. Отличия с наибольшей значимостью наблюдались у маркеров СК20, Ki-67, p53, CD44 и Uroplakin III. Стоит отметить, что в нашем исследовании значимых различий между I-IV подгруппами в экспрессии ИГХ-маркера PTEN не было обнаружено.

Как нами уже было сказано ранее, мышечно-неинвазивные карциномы и МИРМП различны по своему молекулярному профилю, от которого зависит прогноз заболевания (Османов Ю. И. и др., 2019). Опухоли люминального подтипа отличаются менее агрессивным течением, тогда как прогноз для пациентов с базальными злокачественными новообразованиями крайне неблагоприятный (Завалишина Л. Э. и др., 2019). В литературе есть публикации, касающиеся применения ИГХ-метода для опосредованной идентификации молекулярных подтипов РМП. Например, в исследовании Dadhania V. et al. (2016) люминальному подтипу опухоли соответствовала выраженная экспрессия GATA3, базальному – СК5/6; подобный результат отмечен и в работе Guo C. C. et al. (2020). Hardy C. S. C. et al. (2022) выявили 2 ИГХ-панели, разграничивающих молекулярные подтипы РМП: первая панель (антитела к GATA3, СК5 и p16) обладала 86–95% точностью; вторая (СК14 и RB1) – точностью 93–96%.

Michel F. et al. (2022), анализирувавшие экспрессию СК7, СК14, СК20, GATA3, p53, Ki-67, STAG2, CD3 и CD8 в РМП, выявили, что экспрессия СК20 и GATA3 выявлялась чаще в случаях МНИРМП, чем в случаях МИРМП. Однако в абстракте работы не указаны полученные показатели ИГХ-экспрессии (в особенности в отношении СК7), что, вероятнее всего, означает, что результаты с маркером СК7 оказались статистически незначимыми при сравнении данных подгрупп. Наше исследование подошло к схожему выводу в отношении СК20, причем нами приведены подробные результаты ИГХ-реакций.

Касаемо маркера p53, нами выявлен значимо более высокий уровень экспрессии в МИРМП. Roychowdhury A. et al. (2012) обнаружили повышенный уровень экспрессии p53 в high-grade папиллярных и инвазивных карциномах, однако авторы не уточнили уровень инвазии опухоли в своей работе.

Результаты мета-анализа Tian Y. et al. (2016) показали, что пациенты с РМП с высоким Ki-67 в опухоли имели более низкую выживаемость, а также то, что высокий Ki-67 связан с более запущенной стадией заболевания и большим размером опухоли.

В работе Sulpan M. et al. (2021) индекс Ki-67 $\geq 15\%$ был статистически связан как с рецидивом, так и с прогрессированием в однофакторном анализе. В нашем исследовании высокий индекс Ki-67 ($> 25\%$) был характерен для МИРМП. Учитывая вышеописанные работы о влиянии Ki-67 на прогрессию заболевания, мы считаем, что высокий показатель маркера пролиферации указывает на инвазивную форму РМП, и, вполне вероятно, связан с агрессивным базальным фенотипом новообразования.

CD44 играет решающую роль в опухолевой прогрессии, метастазировании и химиорезистентности (Morath I. et al., 2016). Экспрессия CD44 связана с худшим прогнозом при раке желудка (Chen Y. et al., 2014), плоскоклеточном раке головы и шеи (Baschnagel A. M. et al., 2017) и остеосаркоме (Gvozdenovic A. et al., 2013). Однако экспрессия CD44 связана с благоприятным прогнозом при раке предстательной железы (Lipponen P. et al., 2001). В некоторых исследованиях сообщается, что CD44 часто экспрессируется при РМП (Kuncová, J. et al., 2007).

По данным литературы, положительное окрашивание CD44 характерно для базального фенотипа опухолей (Sanguedolce F. et al., 2022). Однако ситуация с маркером CD44 на данный

момент не является однозначной. Hu Y. et al. (2020) провели мета-анализ экспрессии CD44 в РМП и не выявили связи ИГХ-экспрессии CD44 со степенью дифференцировки и стадией заболевания. Кроме того, данные Атласа ракового генома показали, что высокая экспрессия CD44 не была связана со стадией Т опухоли.

В нашем исследовании выявлено положительное окрашивание CD44 в МНИРМП и отсутствие ИГХ-реакции в случаях МИРМП. Мы подтверждаем данные, полученные Sugino T. et al. (1996), Gadalla H. A. et al. (2004), Kong Q. Y. et al. (2003), Османовым Ю. И. и др. (2018), и считаем, что снижение экспрессии CD44 как раз связано с накоплением опухолью агрессивного потенциала. Однако, если принимать во внимание данные Hedegaard J. et al. (2016), мы можем объяснить выраженную экспрессию CD44 в МНИРМП тем, что существует большее количество молекулярных подтипов в РМП, чем люминальный и базальный (Lindskrog S. V. et al., 2021), и, по всей видимости, наши наблюдения МНИРМП не являются строго «люминальными», а могут иметь отдельный молекулярный подтип. Однако данная гипотеза требует подтверждения с помощью молекулярно-генетического исследования. Возможно, требуется продолжить исследования экспрессии данного маркера для определения молекулярных подтипов РМП – после накопления существенных данных можно будет сделать однозначный вывод о дифференциальной роли CD44 между МНИРМП и МИРМП.

Роль уроплакинов в дифференциальной диагностике МНИРМП и МИРМП изучалась немногими исследователями.

Например, одни авторы (Sledge D. G. et al., 2015) выявили связь глубины инфильтрации опухолевыми клетками при папиллярных РМП с потерей экспрессии Uroplakin III. Стоит отметить, что исследование проводилось на образцах опухолей животных (собаки). Также исследователи не уточнили уровни инвазии, которые были использованы при подсчете результатов.

Moll R. et al. (1995) описали экспрессию уроплакинов как в МНИРМП (88%), так и в МИРМП (53%).

Matsumoto K. et al. (2008) пришли к выводу, что потеря экспрессии Uroplakin III характерна для МИРМП и низкодифференцированных опухолей. В последующей работе данного коллектива авторов (Tsumura H. et al., 2015) уровень уроплакинов в сыворотке крови при МИРМП был больше, чем у пациентов с МНИРМП.

В отношении молекулярных подтипов авторы также полагают, что экспрессия уроплакинов характерна для люминального РМП (Sanguedolce F. et al., 2022; Pryma C. et al., 2022).

Мы считаем, что экспрессия уроплакинов может наблюдаться как в МНИРМП, так и в МИРМП, однако потеря экспрессии Uroplakin III, на наш взгляд, является убедительным признаком наличия инвазивной формы заболевания.

На следующем этапе нашего исследования для дальнейшего анализа и более практичного применения количественные данные значений HScore (CK7, CK20, p53, CD44, Bcl-2, Uroplakin III, FGFR3, PTEN и GATA3), процентов (Ki-67) и баллов (HER2) были переведены в качественные (номинальные) данные. Для каждого исследованного ИГХ-маркера вариационный ряд был разбит на терцили (т. е. на 3 равные части – от 0 до 33 перцентиля, от 33 до 66 перцентиля и от 66 до 100 перцентиля).

Для маркеров CK7, CK20, p53, CD44, Bcl-2, Uroplakin III, FGFR3, PTEN и GATA3 были выделены следующие терцили: Low(низкий)-, Moderate(средний)- и High(высокий)-HScore; для индекса пролиферации Ki-67: Low-, Moderate- и High-Ki-67-индекс, для HER2: Low-, Moderate- и High-HER2 (Таблица 3).

Таблица 3 – Терцильные значения ИГХ-маркеров

ИГХ-Маркер	Low(низкие)-значения	Moderate(средние)-значения	High(высокие)-значения
СК7	182,4–278,6	278,7–290,3	290,4–298,0
СК20	0–1,8	1,9–180,9	181,0–291,9
p53	3,23–16,6	16,7–117,3	117,4–159,2
CD44	1,6–24,4	24,5–175,6	175,7–278,9
Bcl-2	0,0	0,1–17,2	17,3–150,0
Uroplakin III	0,0	0,1–21,0	21,1–46,9
FGFR3	104,9–174,5	174,6–248,2	248,3–254,5
PTEN	151,8–182,0	182,1–209,9	210,0–292,8
GATA3	170,4–288,5	288,6–291,7	291,8–297,3
Ki-67	0,0–8,1	8,2–23,0	23,1–55,0
HER2	0,0	0,1–1,0	1,0–2,0

В ходе исследования получено, что реактивная атипия уротелия характеризовалась высокими значениями HScore (High-HScore) маркеров Bcl-2, Uroplakin III, PTEN, GATA3, высокими и умеренными показателями HScore (Moderate/High-HScore) маркеров СК20 и FGFR3, умеренными показателями индекса пролиферации Ki-67 (Moderate-Ki-67-индекс = 8,2–23,0%) и балльного счета HER2 (Moderate-HER2 = 0,1–1 балл). Уротелиальная дисплазия характеризовалась низкими значениями HScore (Low-HScore) маркеров Uroplakin III, FGFR3, PTEN, индекса пролиферации Ki-67 (Low-Ki-67-индекс = 0,0–8,1%) и балльного счета HER2 (Low-HER2 = 0 баллов), а также низкими и умеренными значениями (Low/Moderate-HScore) маркеров СК20, Bcl-2 и GATA3.

При мышечно-неинвазивных опухолях выявлены высокие значения HScore (High-HScore) маркеров CD44, Bcl-2, высокие и умеренные показатели HScore (Moderate/High-HScore) СК20 и балльного счета HER2 (Moderate/High-HER2 = 0,1–2 балла), умеренные показатели HScore (Moderate-HScore) Uroplakin III, GATA3, индекса пролиферации Ki-67 (Moderate-Ki-67-индекс = 8,2–23,0%), умеренные и низкие показатели HScore (Low/Moderate-HScore) p53, а также низкие значения HScore (Low-HScore) маркеров СК7, FGFR3. Мышечно-инвазивные уротелиальные карциномы мочевого пузыря характеризовались высокими значениями HScore (High-HScore) маркеров СК7, p53, индекса пролиферации Ki-67 (High-Ki-67-индекс = 23,1–55,0%), умеренными значениями HScore (Moderate-HScore) FGFR3, умеренными и низкими показателями HScore (Low/Moderate-HScore) CD44, низкими значениями HScore (Low-HScore) СК20, Bcl-2, Uroplakin III, GATA3 и балльного счета HER2 (Low-HER2 = 0 баллов).

Подводя итоги, нами были сформулированы алгоритмы ИГХ-диагностики пациентов с воспалительными, предраковыми и раковыми поражениями уротелия, представленные на Рисунках 8 и 9. Первый алгоритм (Рисунок 8) основывается на статистически значимых данных количественных показателей ИГХ-маркеров, второй (Рисунок 9) – на статистически значимых данных терцильных значений ИГХ-маркеров.

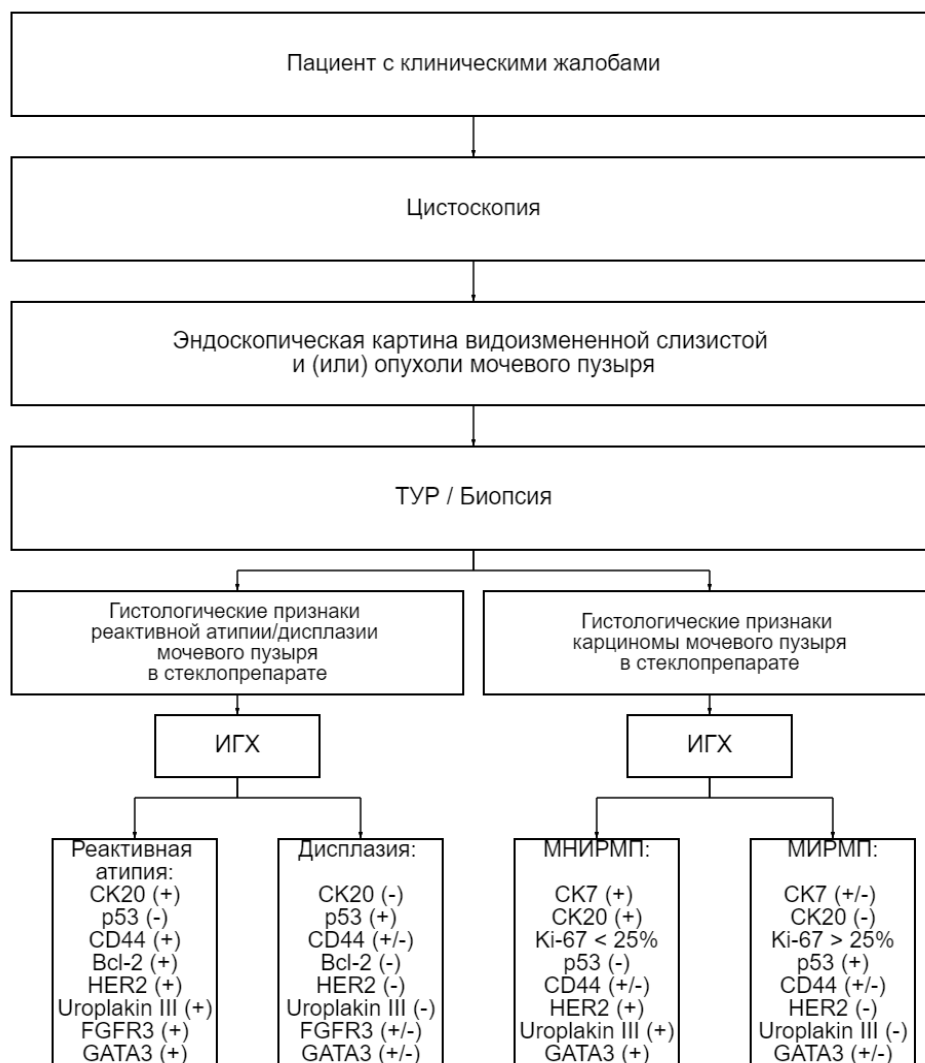


Рисунок 8 – Алгоритм ИГХ-диагностики пациентов с воспалительными, предраковыми и раковыми поражениями уротелия при использовании количественных данных ИГХ-маркеров

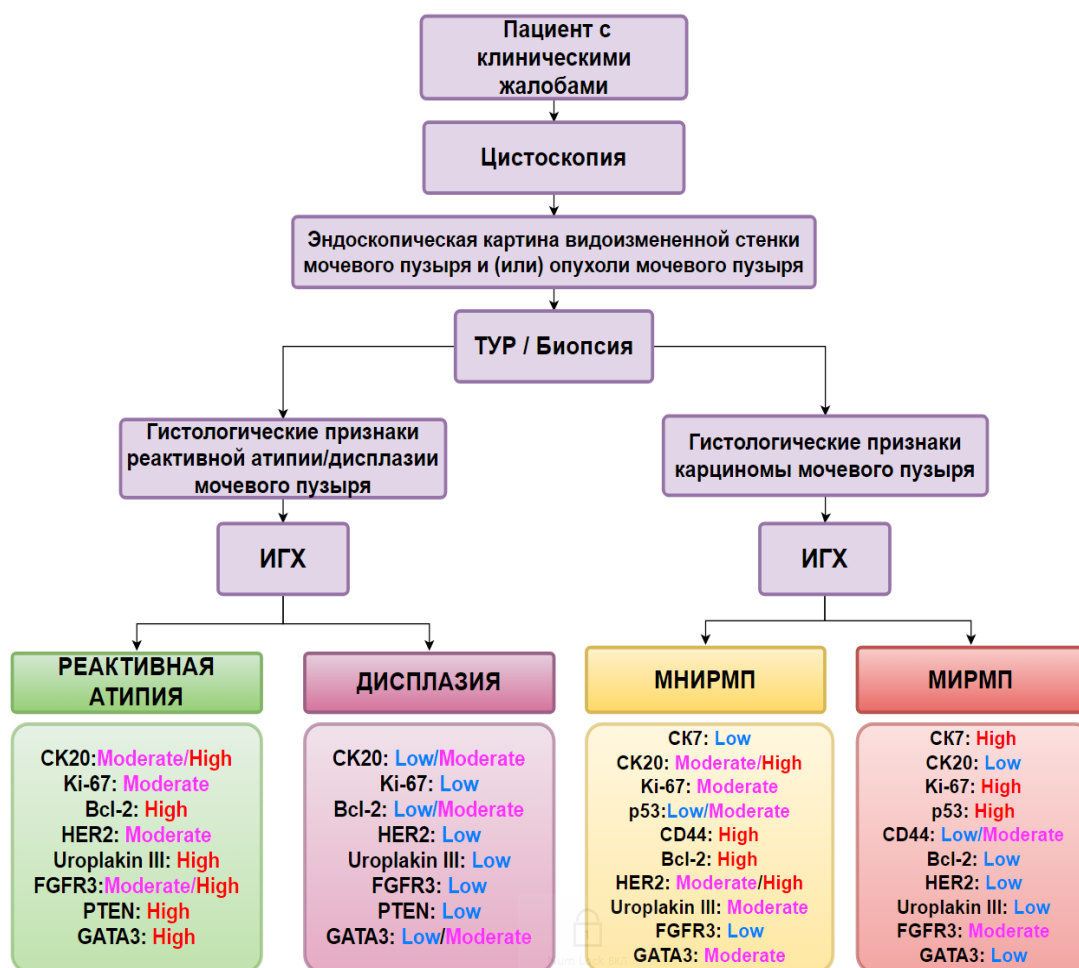


Рисунок 9 – Алгоритм ИГХ-диагностики пациентов с воспалительными, предраковыми и раковыми поражениями уротелия при использовании терцильных значений ИГХ-маркеров.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рак мочевого пузыря – злокачественное новообразование, которое обладает большим генетическим полиморфизмом, вследствие чего имеет различные клинические, патоморфологические и иммуногистохимические свойства. Мышечно-неинвазивная и мышечно-инвазивная карциномы мочевого пузыря радикально отличаются по клиническому поведению: опухоли с инвазией в мышечную оболочку имеют более высокий риск метастазирования, что служит причиной крайне неблагоприятного прогноза у пациентов. Однако существует ряд неинвазивных карцином с агрессивным течением, которые имеют большой риск прогрессирования в мышечно-инвазивную форму заболевания. Для выявления карцином мочевого пузыря с наихудшим прогнозом требуется поиск и валидация иммуногистохимических антител, способных точно определить злокачественный потенциал опухоли.

Критерии патоморфологической диагностики предракового поражения уротелия – уротелиальной дисплазии – также довольно размыты, что вызывает споры у врачей-патологоанатомов по настоящее время. Поэтому нашей главной задачей было определить клинические, морфологические, иммуногистохимические и молекулярно-генетические особенности различных поражений уротелия, которые помогут модифицировать подход к их дифференциальной диагностике.

Нами была продемонстрирована иммуногистохимическая панель антител для дифференциальной диагностики реактивной атипии и уротелиальной дисплазии (с маркерами

СК20, p53, Bcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3 и GATA3), которая облегчит работу врачей-патологоанатомов в интерпретации сложных морфологических случаев.

По результатам проведенной работы нами представлен иммунофенотип мышечно-неинвазивных и мышечно-инвазивных уротелиальных опухолей при помощи антител к СК7, СК20, Ki-67, p53, CD44, HER2, Uroplakin III и GATA3. Полученная панель не только разграничивает молекулярные подтипы карцином, но также опосредованно позволяет выявить высокий потенциал инвазии опухоли в мышечную оболочку пузыря, что крайне важно для определения последующего прогноза заболевания и выбора тактики лечения у пациентов.

Проведенное нами исследование и полученные данные могут привлечь большее внимание врачей-патологоанатомов, урологов и онкологов к проблеме диагностики воспалительных, предраковых и раковых поражений мочевого пузыря, что в дальнейшем способствует оптимизации подходов к выявлению и лечению данных патологических процессов, а также минимизирует риск развития возможных осложнений (в том числе и раковых) у пациентов.

ВЫВОДЫ

1. На основании результатов сравнительного клинического и патолого-анатомического исследования показано, что пол и возраст пациентов, а также размер, локализация и количество поражений, связаны с типом поражения уротелия (уротелиальная дисплазия, мышечно-неинвазивная и мышечно-инвазивная уротелиальные карциномы). При реактивной атипии клинико-морфологических особенностей, характерных для данного типа поражения, не обнаружено.

2. Размер уротелиальной дисплазии значимо выше у женщин (Me – 1,25 см), чем у мужчин (Me – 0,8 см, $U = 26$; $p = 0,019$). Связи дисплазии с возрастом пациентов, локализацией и количеством поражений не было выявлено.

3. Показано, что частота уротелиальных карцином мочевого пузыря у мужчин выше, чем у женщин (68,24 и 31,76% соответственно). При наличии мышечно-неинвазивной карциномы мочевого пузыря мультифокальные поражения встречаются чаще с увеличением возраста пациентов ($U = 155,5$; $p = 0,048$). При мышечно-инвазивном раке установлена прямая зависимость возраста пациентов с низкодифференцированным, более агрессивным течением опухоли ($U = 64$; $p = 0,007$). Размер и локализация уротелиальной карциномы не зависят от распространенности первичной опухоли (категории T) исследованных опухолей.

4. Установлены значимые иммуногистохимические различия по параметру HistoScore между реактивной атипией уротелия и дисплазией. Для реактивной атипии характерна выраженная экспрессия маркеров СК20, Bcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3 и GATA3, негативная реакция с маркером p53. При уротелиальной дисплазии характерна негативная реакция с маркерами Bcl-2, HER2, Uroplakin III, низкая экспрессия с СК20, FGFR3 и GATA3, выраженная иммуногистохимическая реакция с маркером p53. Различий в показателях HistoScore для маркеров СК7, Ki-67, CD44 и PTEN между двумя подгруппами не обнаружено.

5. Продемонстрированы значимые иммуногистохимические различия по параметру HistoScore между уротелиальными карциномами: в мышечно-неинвазивных карциномах отмечена выраженная реакция с антителами к СК20, CD44, HER2, Uroplakin III и GATA3, слабая экспрессия p53. В мышечно-инвазивных карциномах выявлена отрицательная реакция с маркерами СК20, CD44, HER2, Uroplakin III, слабая экспрессия GATA3, а также выраженная иммуногистохимическая реакция с маркерами СК7 и p53. Индекс пролиферации Ki-67 в мышечно-инвазивных карциномах был в 2 раза выше, чем в мышечно-неинвазивных. Различий

в показателях HistoScore для маркеров Bcl-2, FGFR3 и PTEN между двумя подгруппами не обнаружено.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При выявлении в биоптате мочевого пузыря признаков атипичии уротелиальных клеток и неоднозначной гистологической картины в отношении дисплазии уротелия показано проведение иммуногистохимического исследования. Реактивная атипичия уротелия характеризуется высокими значениями HScore (High-HScore) маркеров Bcl-2, Uroplakin III, PTEN, GATA3, высокими и умеренными показателями HScore (Moderate/High-HScore) маркеров CK20 и FGFR3, умеренными показателями индекса пролиферации Ki-67 (Moderate-Ki-67-индекс = 8,2–23,0%) и балльного счета HER2 (Moderate-HER2 = 0,1–1 балл). Уротелиальная дисплазия характеризуется низкими значениями HScore (Low-HScore) маркеров Uroplakin III, FGFR3, PTEN, индекса пролиферации Ki-67 (Low-Ki-67-индекс = 0,0–8,1%) и балльного счета HER2 (Low-HER2 = 0 баллов), а также низкими и умеренными значениями (Low/Moderate-HScore) маркеров CK20, Bcl-2 и GATA3. В случае подтверждения диспластического характера патологического процесса требуется более тщательное последующее наблюдение пациентов для исключения прогрессии и рецидива поражения.

2. В случае выявления мышечно-неинвазивной уротелиальной карциномы мочевого пузыря у пациентов пожилого возраста (> 80 лет) требуется более пристальное последующее наблюдение для исключения возможности рецидива опухоли.

3. Учитывая вероятность наличия более агрессивного подтипа мышечно-инвазивной карциномы у молодых пациентов, в случаях проведения цистэктомии по поводу мышечно-инвазивной (стадия T2) опухоли мочевого пузыря у пациентов моложе 60 лет необходимо рассмотреть показания к выполнению расширенной лимфодиссекции.

4. Для выявления мышечно-неинвазивных уротелиальных карцином мочевого пузыря с агрессивным течением показано проведение иммуногистохимического исследования. Мышечно-неинвазивные опухоли характеризуются высокими значениями HScore (High-HScore) маркеров CD44, Bcl-2, высокими и умеренными показателями HScore (Moderate/High-HScore) CK20 и балльного счета HER2 (Moderate/High-HER2 = 0,1–2 балла), умеренными показателями HScore (Moderate-HScore) Uroplakin III, GATA3, индекса пролиферации Ki-67 (Moderate-Ki-67-индекс = 8,2–23,0%), умеренными и низкими показателями HScore (Low/Moderate-HScore) p53, а также низкими значениями HScore (Low-HScore) маркеров CK7, FGFR3. Мышечно-инвазивные уротелиальные карциномы мочевого пузыря характеризуются высокими значениями HScore (High-HScore) маркеров CK7, p53, индекса пролиферации Ki-67 (High-Ki-67-индекс = 23,1–55,0%), умеренными значениями HScore (Moderate-HScore) FGFR3, умеренными и низкими показателями HScore (Low/Moderate-HScore) CD44, низкими значениями HScore (Low-HScore) CK20, Bcl-2, Uroplakin III, GATA3 и балльного счета HER2 (Low-HER2 = 0 баллов). При выявлении в мышечно-неинвазивной карциноме экспрессии иммуногистохимических маркеров, характерных для инвазивных поражений, требуется более тщательное последующее наблюдение пациентов для исключения прогрессии опухоли в мышечно-инвазивную форму заболевания.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук:

1. Печникова, В. В. Клинико-морфологические особенности воспалительных, предраковых и раковых поражений уротелия / В. В. Печникова, А. М. Пшихачев, Л. М. Михалева // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2022. – Т. 11. – № 1. – С. 33-42
2. Анализ факторов риска рецидива немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря после его комбинированного лечения / М. А. Гусниев, В. В. Печникова, М. Ю. Гушин [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2022. – Т. 17. – № 3. – С. 264-268.
3. Клинико-морфологические особенности немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря: влияние на лечение, прогноз и рецидив заболевания (обзор литературы) / А. М. Пшихачев, Л. М. Михалева, М. А. Гусниев [и др.] // Онкоурология. – 2021. – Т. 17. – № 1. – С. 134–141
4. Клинико-морфологические особенности мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря, влияющие на рецидив заболевания / М. А. Гусниев, В. В. Печникова, С. А. Гусниев [и др.] // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2021. – Т. 10. – № 3. – С. 39-46.
5. Bladder Cancer: Update on Risk Factors, Molecular and Ultrastructural Patterns / L. M. Mikhaleva [et al.] // Current medicinal chemistry. – 2021. – Vol. 28. – № 41. – P. 8517-8533

Другие публикации:

1. Гусниев, М. А. Роль иммуногистохимического исследования в оценке степени дифференцировки мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря / М. А. Гусниев, В. В. Печникова, Л. М. Михалева // Материалы XVII международного конгресса российского общества онкоурологов. Санкт-Петербург. – 2022. – С. 81.
2. Клинико-морфологические особенности рецидивирования одиночного и множественного поражении мочевого пузыря при мышечно-неинвазивном раке: влияние количества образований и их размеров на прогноз и рецидив заболевания / М. А. Гусниев, А. М. Пшихачев, Л. М. Михалева, В. В. Печникова // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2020. – Т. 10. – № 3. – С. 89.
3. Clinical and pathohistological risk factors of relapse in non-muscleinvasive bladder cancer / L. M. Mikhaleva [et al.] // Virchows Arch. – 2021. – Vol. 479 (Suppl1). – № S1–S320. – P. S176.
4. Печникова, В. В. Современные иммуногистохимические аспекты диагностики рака мочевого пузыря / В. В. Печникова, А. М. Пшихачев, Л. М. Михалева // Сборник научных трудов всероссийской научной конференции с международным участием «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии». — М.: Группа МДВ, 2020. — С. 143-144.