

«Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика
А.П. Авцына» Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского»

На правах рукописи

**ПЕЧНИКОВА
ВАЛЕНТИНА ВИКТОРОВНА**

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

3.3.2 – Патологическая анатомия

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук, профессор
Михалева Людмила Михайловна

Москва – 2023

Оглавление

Введение.....	4
Глава 1. Обзор литературы.....	18
Глава 1.1. Факторы риска РМП	19
Глава 1.2. Этиология и патогенез РМП	24
Глава 1.3. Классификация молекулярных подтипов РМП	28
Глава 1.4. Морфологические (гистологические) особенности РМП.....	30
Глава 1.5. Иммуногистохимические особенности РМП.....	36
Глава 1.6. Прогнозирование исходов МНИРМП.....	38
Глава 1.7. Заключение.....	39
Глава 2. Материалы и методы исследования	41
Глава 3. Результаты собственного исследования	48
Глава 3.1. Общая характеристика исследуемой группы	48
Глава 3.2. Характеристика I подгруппы	49
Глава 3.3. Характеристика II подгруппы	51
Глава 3.4. Характеристика III подгруппы.....	54
Глава 3.5. Характеристика IV подгруппы.....	59
Глава 3.6. Результаты иммуногистохимического исследования в I-IV подгруппах	63
Глава 3.7. Результаты иммуногистохимического исследования в I-IV подгруппах (терцильные значения).....	91
Глава 3.7.1. Результаты иммуногистохимического исследования в I и II подгруппах (терцильные значения).....	93
Глава 3.7.2. Результаты иммуногистохимического исследования в III и IV подгруппах (терцильные значения).....	110
Глава 3.7.3. Результаты иммуногистохимического исследования в группах по степеням дифференцировки (количественные значения HistoScore).....	128
Глава 3.7.4. Результаты иммуногистохимического исследования в подгруппах по степеням дифференцировки (терцильные значения HistoScore)	132
Глава 4. Обсуждение результатов исследования.....	156

Глава 4.1. Клинико-морфологические особенности воспалительных, предраковых и раковых поражений уротелия	156
Глава 4.2. Иммуногистохимические особенности воспалительных, предраковых и раковых поражений уротелия	159
Глава 4.2.1. Иммуногистохимические особенности реактивной атипии и уротелиальной дисплазии.....	159
Глава 4.2.2. Иммуногистохимические особенности МНИРМП и МИРМП	170
Заключение	181
Выводы	183
Практические рекомендации.....	185
Список сокращений	187
Список литературы	193

Введение

Актуальность темы исследования. В условиях развития современной цивилизации с каждым годом возрастает доля распространенности онкологических заболеваний в общей популяции. 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 «рак мочевого пузыря» в России по состоянию на 2019 год составлял 65,7 лет (у мужчин – 66,9 лет, у женщин – 69,5 лет). В период с 2009 по 2019 год наблюдалась явная тенденция к росту показателей заболеваемости РМП, что соответствует общему положительному приросту за десятилетие в размере 30,8% [4]. Распространенность РМП в России в период с 2011 по 2021 год возросла с 58,4 до 80,0 на 100 тыс. населения [5]. В 2021 г. в РФ диагностировано около 14,9 тыс. первичных случаев РМП [5].

Самым частым гистологическим типом РМП является уротелиальная карцинома – ее обнаруживают в 90% случаев как в США, так и в России [153]. По своей структуре уротелий (ранее в литературе использовалось понятие «переходный эпителий») представлен специализированными клетками, выстилающими мочевыводящие пути, и, в отличие от обычного эпителия, они могут сжиматься и растягиваться. Плоскоклеточный рак и аденокарцинома мочевого пузыря – более редкие злокачественные новообразования данной локализации, распространенность которых не превышает 2–5% [232], поэтому в настоящее время исследование уротелиального рака представляется более актуальной и приоритетной медицинской проблемой.

Интенсивное развитие новых технологий и подходов к диагностике РМП позволяет в большинстве случаев выявить заболевание на ранних стадиях. По данным многочисленных авторов, глубина инвазии – критически важный

прогностический фактор выживаемости пациентов с уротелиальной карциномой [234; 248; 249].

На момент постановки диагноза у большинства пациентов (70–75%) выявляют мышечно-неинвазивный РМП (МНИРМП) [48]. В данную категорию включаются поражения уротелия без инвазии в мышечный слой мочевого пузыря (МП), такие как папиллярная неинвазивная карцинома (соответствующая стадия TNM – Ta); «плоская» карцинома *in situ*, ограниченная слизистой оболочкой (Tis); карцинома с инвазией в подэпителиальную соединительную ткань (T1) [54]. Среди МНИРМП около 70% поражений имеет стадию pTa, 20% – pT1 и оставшиеся 10% – Tis [217]. Мышечно-инвазивный РМП (МИРМП) встречается у 20–25% пациентов [48], при этом категория T варьирует от T2a до T4b в зависимости от степени инвазии в мышечный слой. Инвазия может быть ограничена стенкой мочевого пузыря или выходить за ее пределы, в части случаев с прорастанием в соседние органы. Как мышечно-неинвазивный, так и инвазивный РМП имеет разные варианты прогноза и лечения. У пациентов с мышечно-неинвазивным типом заболевания (Ta, T1, Tis) отмечаются бóльшая выживаемость и меньшая летальность, чем у пациентов со стадией опухоли T2–T4 [94; 149].

При этом стоит отметить, что МНИРМП является широким разнородным злокачественным новообразованием, представленным папиллярными, «плоскими» и ранне-инвазивными поражениями. В зависимости от характеристик опухоли вероятность рецидива для любого конкретного пациента может составлять от 15 до 70% спустя 1 год после проведенного лечения [1; 198], что считается главной проблемой у пациентов с данной формой РМП. При этом большинство неинвазивных опухолей имеет довольно низкую (10–20%) вероятность прогрессирования [53; 198; 272]. Инвазивный тип обладает более высокой частотой метастатического распространения и нуждается в более радикальной форме лечения [171], при этом 5-летняя выживаемость пациентов без метастазов составляет около 60% и снижается до 10% в случае ранней диссеминации [156]. В научных работах ранее была показана связь РМП с определенными генетическими мутациями, которые активно исследуются для прогнозирования течения и исходов

заболевания у пациентов [73]. Результаты многих исследований являются многообещающими, однако в рутинной практике эти показатели еще не используются [20; 205], по всей видимости, из-за трудноприменимости и высокой стоимости молекулярно-генетического метода. Иммуногистохимическое исследование, напротив, является менее затратным и более легким для интерпретации вспомогательным инструментом, который можно использовать для определения злокачественного потенциала РМП [226; 240], что, в свою очередь, неопределимо в клинической практике для определения дальнейшего прогноза заболевания. Поэтому для выявления карцином мочевого пузыря с наихудшим прогнозом требуется поиск и валидация иммуногистохимических антител, способных точно определить степень опухолевой агрессии [26].

Высокая тенденция к рецидивам, прогрессированию или метастазированию РМП требует значительных затрат для системы здравоохранения [272]. 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 [85].

Уротелиальная дисплазия («плоская» уротелиальная неоплазия низкой степени злокачественности) – предшественник РМП, связанный с повышенным риском прогрессирования и рецидива заболевания [248]. Сохранение дисплазии после лечения указывает на его неэффективность и в дальнейшем может привести к радикальной цистэктомии. По данным литературы, существует связь дисплазии и МИРМП: считается, что структурные и функциональные дефекты в белке p53 и/или ретинобластомы (pRb) способствуют трансформации диспластических процессов в рак [176; 280].

Дисплазия часто упускается из внимания патологоанатомами, а иногда ошибочно диагностируется как реактивная атипия или карцинома *in situ*. В части случаев эксперты используют также понятие «атипия уротелия неясного значения»

строения» уротелия, минимальные изменения в виде увеличения или нерегулярности ядер. Клеточная полярность, напротив, сохраняется при реактивной атипии, при ней обычно наблюдаются признаки острого/хронического воспаления в уротелии (на что в анамнезе могут указывать травмы, инфекции, камни или внутривезикулярные манипуляции), но не полиморфизм или неправильный паттерн хроматина [85].

Следовательно, дифференциальная диагностика дисплазии и реактивной атипии очень важна при воспалительных процессах уротелия или при реактивных состояниях после проведенного лечения [85].

Таким образом, учитывая разногласия в интерпретации патологических процессов уротелия, целью исследования стала оценка клинико-морфологических и иммуногистохимических особенностей воспалительных, предраковых и раковых поражений уротелия на примере уротелиальной дисплазии и МНИРМП.

Степень разработанности темы исследования. 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 [44]. 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.

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

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

1. Провести сравнительную оценку клинико-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:

- 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:

- 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 (СК20, p53, CD44, Bcl-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 СК7, СК20, 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.

Положения, выносимые на защиту:

1. Для оптимизации дифференциальной диагностики между реактивной атипией уротелия и дисплазией мочевого пузыря показано проведение иммуногистохимического исследования с маркерами СК20, 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 СК20 ($p = 0,021$), 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 клинико-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.

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.

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).

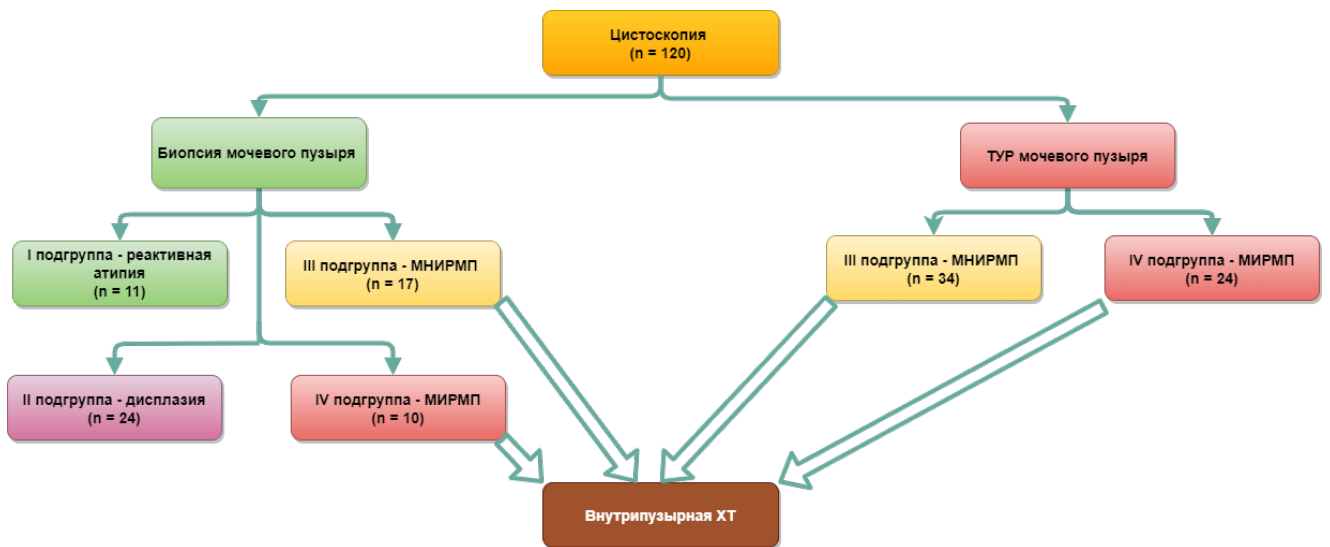


Рисунок 1 – Материал исследования

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 МНИРМП (n = 51, из них пациентов со стадией Та – 11, Т1 – 40) и в IV подгруппу – пациенты с МИРМП (n = 34).

Клинически оценивали пол, возраст, размер и локализацию поражений, их солитарность (одинокость) 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 клинико-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 клинико-морфологического и иммуногистохимического анализа представлены на Рисунке 2.

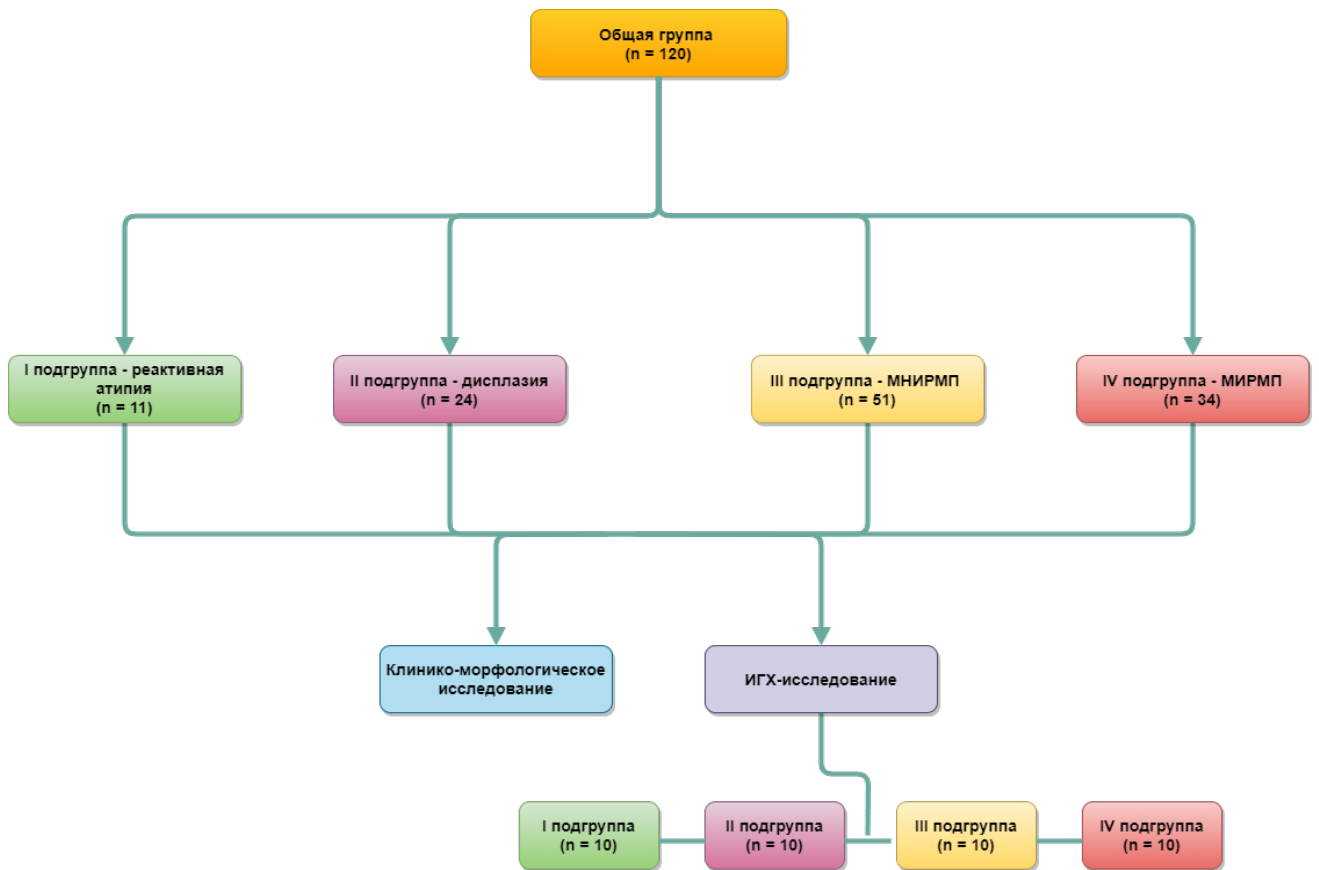


Рисунок 2 – Дизайн исследования

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 (одинокость) 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, Bcl-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, Bcl-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 $p < 0,05$.

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

Степень достоверности работы. 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.

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.), межлабораторная конференция «НИИ морфологии человека им А. П. Авцына» ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б. В. Петровского» (г. Москва, июнь 2023 г.).

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.

Публикации по теме работы. 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 ВАК, где должны быть размещены основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

Объем и структура диссертации. 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.

Диссертация соответствует паспорту специальности:

3.3.2 – Патологическая анатомия в пп. 2, 3, 4.

Глава 1. Обзор литературы

Рак мочевого пузыря (РМП) является гетерогенным и мультифакториальным злокачественным новообразованием, развивающимся из тканей мочевого пузыря. По оценкам экспертов, РМП является десятым наиболее распространенным типом рака в мире, ежегодно выявляется примерно 549000 новых случаев заболевания [122]. В США каждый год РМП заболевают 67 тыс. человек (50000 мужчин и 17000 женщин). Смертность составляет 13750 человек в год (9630 мужчин и 4120 женщин) [56]. В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями в России РМП занимает 8-е место среди мужчин и 18-е – среди женщин [3]. Абсолютные показатели заболеваемости на 2017 год у мужчин составили 13,2 случая на 100 тыс. населения, у женщин – 2,3 случая на 100 тыс. населения. Причем в период с 2007 по 2017 год отмечается явная тенденция к росту заболеваемости РМП – общий прирост за десятилетие у мужчин составил 28%, у женщин – 47%. Возрастная медиана заболеваемости у обоих полов приходится в среднем на 67,3 лет. Абсолютные показатели смертности от РМП составили 0,57 случаев у женщин, 4,71 случаев у мужчин. Средний возраст умерших от РМП на 2017 год в РФ – 71,7 лет [3].

За последние десятилетия было предложено несколько внешних факторов риска РМП: курение (в частности, курение сигарет), присутствие мышьяка в питьевой воде и длительное воздействие ароматических аминов на организм (профессиональная вредность). Другие хорошо известные факторы риска РМП включают шистосомоз (инфекция, эндемичная для Африки) и несколько наследственных генетических синдромов. Дополнительными факторами риска являются: потребление недостаточного количества жидкости, присутствие побочных продуктов дезинфекции/обеззараживания (например, тригалометанов) в питьевой воде, употребление алкоголя, загрязнение окружающей среды, инфекции мочевыводящих путей (ИМП), заболевания, передающиеся половым путем (ЗППП), а также побочные эффекты терапии.

Кроме того, недавние исследования на тему РМП показывают, что генетические и молекулярные изменения в клетках мочевого пузыря влияют на естественное течение, прогрессирование и исход заболевания. Эти генетические изменения могут присутствовать на любом уровне, включая полную потерю хромосом, хромосомные aberrации и точечные мутации. Повреждения некоторых генов встречаются чаще, например, генов *TP53*, *RB1* и *FGFR3*.

Молекулярное типирование и субтипирование опухолей мочевого пузыря является перспективным методом для создания более персонализированной терапии РМП, однако данный подход требует дальнейшего изучения вследствие огромного разнообразия мутаций в опухолевых тканях. Рутинный метод диагностики опухоли, а именно патоморфологическое исследование, находится в постоянном развитии, поскольку эксперты-патологоанатомы не пришли к единому мнению в отношении классификации опухолей мочевого пузыря. Поэтому требуется обобщить современную информацию о молекулярных типах и подтипах, различных гистологических и иммуногистохимических особенностях и возможных биомаркерах РМП, которые могут быть полезны в клинической и диагностической практике.

Глава 1.1. Факторы риска РМП

Существует более 10 теорий происхождения РМП, которые объясняют этиологию и патогенез заболевания. Однако не существует единой универсальной теории, раскрывающей разнообразные формы и проявления данного злокачественного новообразования. Факторы риска РМП отображены на Рисунке 3.



Рисунок 3 – Факторы риска РМП (самыми значимыми факторами риска РМП являются: пол, этническая принадлежность, генетическая предрасположенность, курение, профессиональные вредности, различные сопутствующие заболевания, питание, загрязнение окружающей среды и аномалии развития)

Пол. РМП встречается у мужчин намного чаще, чем у женщин (соотношение – 5:1), однако точный механизм, влияющий на риск возникновения РМП у разных полов, все еще неизвестен [46]. По данным исследования Reid et al. (1984 г.) на животной модели (мыши), в мочевых пузырях мужских особей, которые инъекционно получали андрогены, опухолевый процесс возникал чаще, чем у женских особей, которые получали эстрогены [62].

Этническая принадлежность. Наивысший уровень заболеваемости РМП отмечается у людей европеоидной расы. В то же время наименьшая выживаемость отмечается в темнокожей популяции, что было выявлено в Соединенных Штатах Америки и Бразилии [94; 96; 97].

Генетическая предрасположенность. Риск развития РМП у близких родственников пациентов с карциномой мочевого пузыря в 2 раза выше, чем в

остальной популяции. Наследственные генетические факторы, такие как медленное ацетилирование N-ацетилтрансферазы 2 (N-acetyltransferase 2, *NAT2*) и генотип с отсутствием глутатион-S-трансферазы mu 1 (glutathione S-transferase mu 1, *GSTM1*) были определены как факторы риска развития РМП.

Повреждения в белке транспортировщике мочевины, кодируемом геном *SLC14A1*, может влиять на контакт канцерогенных веществ с уротелием [16; 18; 118; 119; 225].

Также, на основании биоинформатического анализа и 2 полногеномных поисков ассоциаций Cheng et al. (2016), была выявлена роль декарбоксилазных белковых комплексов, влияющих на генетическую восприимчивость РМП [68].

Существуют наследственные генетические синдромы, встречающиеся у небольшой популяции людей, которые увеличивают риск развития РМП. Например: а) мутация гена ретинобластомы (*RBI*) может вызывать одноименную злокачественную опухоль сетчатки глаза у детей, а также увеличивает риск развития РМП [172]; б) синдром Коудена, вызванный мутациями в гене *PTEN*, который главным образом связан с раком молочной железы и щитовидной железы; пациенты с синдромом Коудена также имеют более высокий риск развития РМП [231]; в) синдром Линча (также известный как наследственный неполипозный рак толстой кишки) в основном связан с раком толстой кишки и эндометрия; пациенты с этим синдромом также имеют повышенный риск развития РМП (и других видов рака мочевыводящих путей) [222].

Курение. Риск развития РМП у курящих значительно выше, чем у некурящих [75; 162]. По данным 1988 г., около 30–40% всех случаев РМП были связаны с курением табака [95].

В обширном мета-анализе о влиянии курения на развитие РМП и рака почки было выявлено, что наибольший риск приходится на активных курильщиков, а наименьший на прекративших употребление табака [255]. Исследователями отмечено, что пассивное курение также является неблагоприятным фактором в развитии РМП [255].

Профессиональные вредности. Как и в случае курения, вдыхание канцерогенных веществ, таких как бензидин, 4-аминобифенил, 2-нафтиламин, 4-хлоро-толуидин, ингаляция полициклических ароматических углеводородов и хлорированных углеводородов являются важными факторами риска развития РМП [94]. В настоящее время установлено около 40 потенциально опасных производств: красильные, резиновые, каучуковые, нефтяные, алюминиевые, текстильные, пластмассовые и т. д. [131; 254].

Заболевания и последствия лечебных манипуляций. Риск РМП выше у пациентов с хроническим циститом и мочекаменной болезнью (камнями мочевого пузыря) с явлениями уростаза. Для больных с длительно стоящими в мочевом пузыре катетерами характерно повышение риска развития аденокарциномы мочевого пузыря [74].

В литературе также известен путь канцерогенеза рака данной локализации, связанный с хроническим воспалением или шистосоматозом (хронический цистит, вызванный паразитарным инфицированием трематодами; эндемичен для стран Африки, Южной Америки, Юго-Восточной Азии, Ближнего Востока и является прекурсором плоскоклеточных карцином) [283]. Более того, в исследовании «случай – контроль» Anton Pottegård et al. (2020) показали, что рецидивирующие инфекции мочевыводящих путей (ИМП) связаны с риском развития плоскоклеточного рака мочевого пузыря [266].

Что касается последствий лечебных манипуляций, РМП может развиваться после воздействия радиации и лекарственных препаратов. В исследовании Abern et al. (2012) было выявлено повышение заболеваемости РМП после проведения радиотерапии по поводу рака простаты [243].

Из лекарственных препаратов токсическое действие на уротелий имеют циклофосфамид – алкилирующий агент, применяющийся в лечении лимфом и лейкозов, а также пиоглитазон – антидиабетический препарат, который находится в слабой корреляции с возникновением РМП при длительном применении [77; 221].

Питание (алиментарные факторы риска). Проведенное Michaud et al. (2007) исследование показало, что потребление воды обратно пропорционально риску РМП, так как они наблюдали снижение риска РМП вдвое у субъектов, потребляющих большее количество жидкости в день по сравнению с меньшим количеством жидкости [259]. Однако хлорированная питьевая вода и тригалометаны считаются канцерогенными. В отличие от Michaud et al., Villanueva et al. (2006) сообщили о повышении риска РМП при воздействии тригалометанов и о связи РМП с потреблением водопроводной воды независимо от ее хлорирования [258]. Исследование Evlampidou et al. (2020) показало, что наличие тригалометанов в питьевой воде в Европейском союзе может привести к значительному числу случаев РМП [262].

Однако недавние проспективные данные не показывают очевидной связи между потреблением воды и канцерогенезом мочевого пузыря. Отчет Ross et al. (2011) по данным Европейского Проспективного Исследования Рака и Питания (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition, EPIC) показал отсутствие влияния общего потребления жидкости на риск развития РМП у 250000 человек после среднего периода наблюдения сроком в 9 лет [109].

По аналогии с данными о неопределенном влиянии типа и количества потребляемой жидкости на заболеваемость РМП, Donat et al. (2003) не обнаружили влияния обычного уровня потребления жидкости на частоту рецидивов у пациентов с РМП [108]. Помимо употребляемой воды, важными в онкогенезе РМП считают продукты питания, так как многие канцерогены, попадающие в организм с пищей, выводятся с мочой, что приводит к их прямому воздействию на уротелий. При других видах рака предполагается, что потребление мяса повышает риск развития злокачественных новообразований, а потребление овощей и фруктов снижает его. Относительно РМП этот эффект не очевиден.

Загрязнение окружающей среды. Потребление питьевой воды с высоким содержанием мышьяка считается причиной развития РМП. Смертность от РМП в Чили через 20 лет после загрязнения мышьяком была значительно выше в пораженных регионах [164]. Результаты данной работы не были воспроизведены,

поэтому вывод исследования остается предварительным. Современные работы показывают, что воздействие мышьяка может быть предиктором возникновения опухолей high-grade (высокой степени злокачественности) и связано с местно-распространенным течением РМП [36; 144].

Аномалии развития. До рождения у эмбриона человека имеется трубчатое образование, соединяющее переднюю часть верхушки мочевого пузыря и пупок, которое называется урахус. При нормальном эмбриогенезе с 5 месяцев внутриутробной жизни начинается облитерация урахуса, если же этого не происходит – формируется порок (аномалия) развития, который может привести к возникновению карциномы. Рак, который начинается в урахусе, обычно представляет собой аденокарциному, которая состоит из железистых клеток. Около трети всех случаев аденокарциномы мочевого пузыря имеют именно такое происхождение, однако заболеваемость карциномой урахуса составляет менее половины от 1% всех случаев РМП [195; 265].

Глава 1.2. Этиология и патогенез РМП

Развитие РМП связано с хромосомными aberrациями, которые включают в себя анеусомии, делеции и амплификации, затрагивающие почти весь хромосомный набор. Исследования по полногеномному поиску ассоциаций смогли идентифицировать гены и сигнальные пути, которые являются ключевыми двигателями возникновения РМП, а также помогли представить более полную картину существующих карцином, которые можно разделить на молекулярные подтипы [173; 177].

Атлас ракового генома (The Cancer Genome Atlas, TCGA) представил научному сообществу современную характеристику мышечно-инвазивного РМП, выявил 58 значительно мутированных генов, а также продемонстрировал высокую частоту встречаемости определенных генетических путей, характерных для РМП

[69]. Таковых пути три: путь *FGFR3/RAS*, путь *PIK3/AKT/mTOR* и путь *TP53/RB1* (Рисунок 4).

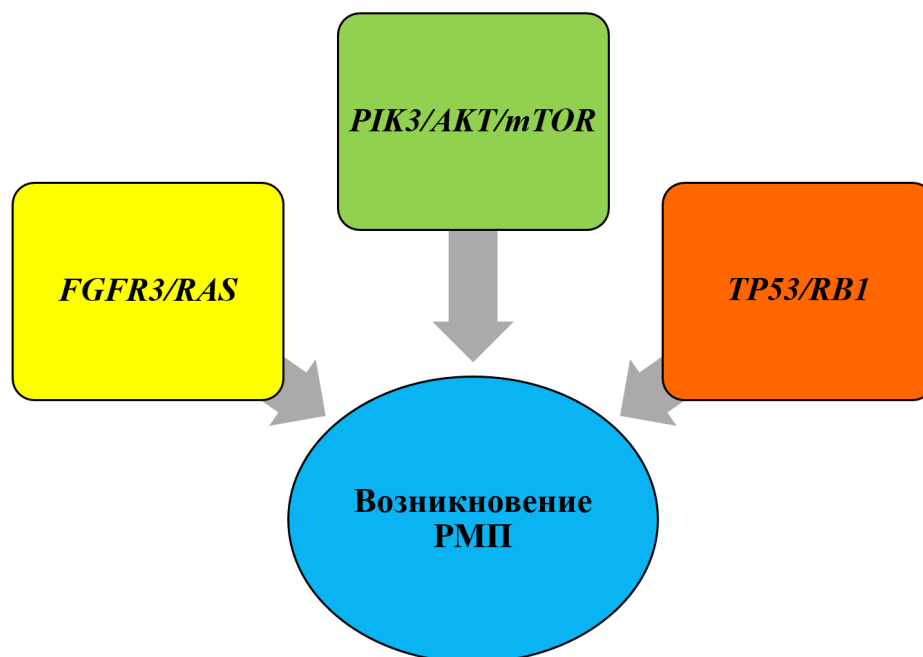


Рисунок 4 – Наиболее частые молекулярно-генетические пути канцерогенеза мочевого пузыря (по данным TCGA, 2017 г.; *FGFR3* – ген рецептора фактора роста фибробластов 3; *RAS* – семейство генов *Ras*; *PIK3CA* – ген фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы каталитической субъединицы альфа; *AKT* – ген протеинкиназы В; mTOR – мишень рапамицина млекопитающих; *TP53* – ген опухолевого белка p53; *RB1* – ген ретинобластомы)

Путь *FGFR3/RAS* чаще встречается в высокодифференцированных мышечно-неинвазивных РМП (МНИРМП) – до 80% неинвазивных карцином несут в *FGFR3* активирующие мутации, которые связаны с более высоким риском рецидива неинвазивного папиллярного рака, а также с более благоприятным клиническим прогнозом опухолей стадии pT1 [111; 157; 214; 246].

В МИРМП мутации *FGFR3* встречались только в 10–20% случаев. Мутантный *FGFR3* активирует *RAS-MAPK* путь, ведущий к клеточной пролиферации. Около 10% карцином имеют мутации в генах семейства *RAS* (*HRAS*, *KRAS*, *NRAS*), которые появляются отдельно от мутаций *FGFR3* [104; 105]. Есть

основания полагать, что существует отдельная когорта карцином с гибридным геном *FGFR3-TACC3* (слияние генов *FGFR3* и *TACC3*) [70].

Путь *PIK3/AKT/mTOR* регулирует важные звенья туморогенеза и опухолевой прогрессии и активируется рецептором тирозиновых киназ, включая *ERBB2*, *ERBB3* и *FGFR3*. Мутации *PIK3CA* были выявлены в 22% случаев МИРМП и их связывают с более благоприятным прогнозом у пациентов с выполненной радикальной цистэктомией. Делеция или сниженная экспрессия гена *PTEN*, который является негативным регулятором пути *PIK3/AKT/mTOR*, прослеживается в многих случаях мышечно-инвазивного РМП [120].

Путь *TP53/RB1* играет ключевую роль регуляции клеточного цикла. Мутации или делеции *TP53* часто прослеживаются в случаях карциномы *in situ* (carcinoma *in situ*, CIS) и МИРМП. Инактивация *RB1* также преимущественно выявляется в мышечно-инвазивных раках, чаще всего совместно с *TP53* [189; 192].

Клетки уротелия становятся злокачественными, подвергаясь генетическим изменениям либо по пути *FGFR3/RAS*, либо по пути *TP53/RB1* [280]. Делеция 9-й хромосомы превалирует не только при РМП, но и при явлениях уротелиальной гиперплазии и дисплазии, что, в свою очередь, свидетельствует о том, что делеция происходит на самой ранней стадии туморогенеза и в обоих путях [112; 189]. Молекулярные пути развития РМП схематично отражены на Рисунке 5.

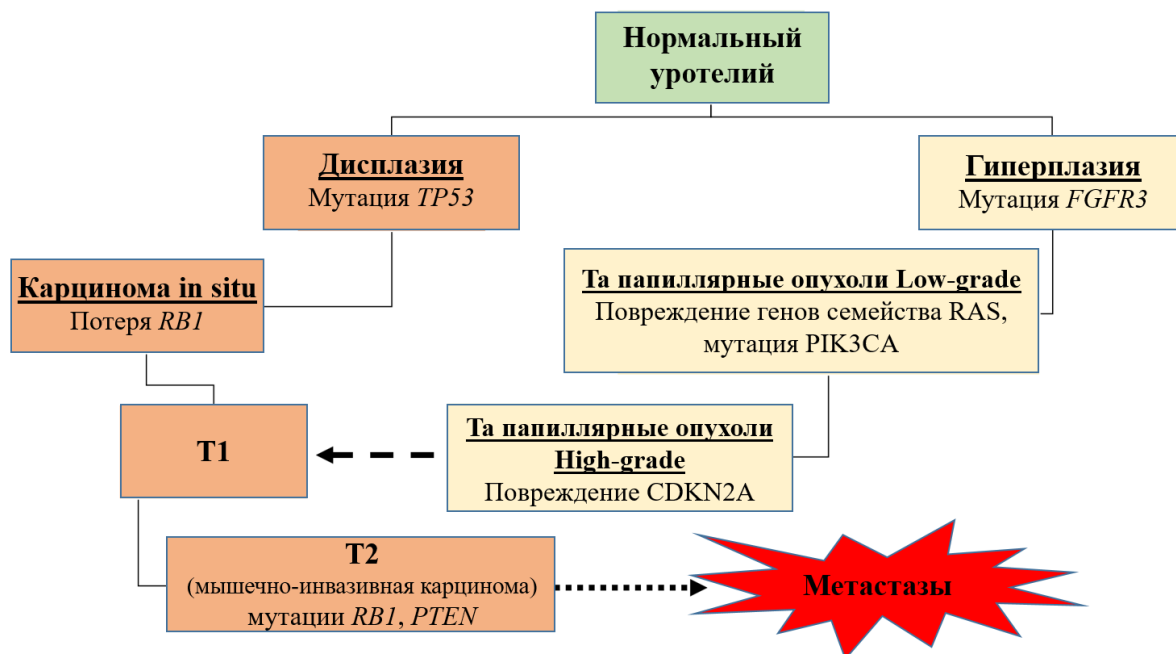


Рисунок 5 – Роль молекулярных путей в патогенезе МНИРМП и МИРМП (*FGFR3* – ген рецептора фактора роста фибробластов 3; *RAS* – семейство генов *Ras*; *PIK3CA* – ген фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы каталитической субъединицы альфа; *RB1* – ген ретинобластомы; *TP53* – ген опухолевого белка p53; *CDKN2A* – ген *CDKN2A*, ингибитор циклин-зависимой киназы 2A; CIS – карцинома in situ; T1 – в системе TNM буква «Т» плюс буква и/или цифра (от 0 до 4) используются для описания размера и местоположения опухоли, T1 означает, что опухоль распространилась в подэпителиальную соединительную ткань (собственная пластинка), которая отделяет слизистую оболочку мочевого пузыря от мышц под ней, но не затрагивает детрузор (мышцы стенки мочевого пузыря); T2 – опухоль мочевого пузыря распространилась на детрузор (мышцы стенки мочевого пузыря))

Глава 1.3. Классификация молекулярных подтипов РМП

Многочисленные исследования выявили, что low-grade неинвазивные карциномы и high-grade инвазивные карциномы различны и по генетическому профилю, и по клиническому поведению.

Молекулярные подтипы в МНИРМП. Современный транскриптомный анализ 460 случаев МНИРМП разделил их на 3 геномных подтипа, которые значительно отличаются друг от друга по клиническим характеристикам, включая продолжительность безрецидивного течения. 1-й и 2-й подтипы опухолей имели экспрессию люминальных генных сигнатур, которые включали в себя экспрессию уроплакинов. В 3-м подтипе опухолей экспрессировались базально-подобные клеточные сигнатуры, такие как *KRT5*, *KRT15* и *CD44* [49; 90].

1-й подтип опухолей имел наилучший прогноз среди остальных подтипов и по большей части включал в себя случаи неинвазивных папиллярных карцином (Ta). Этот класс характеризовался наибольшим уровнем экспрессии ранних генов клеточного цикла. 2-й подтип был представлен опухолями стадии Ta и T1 (преимущественно низкодифференцированными (high-grade)), характеризовался экспрессией поздних генов клеточного цикла и имел наихудший прогноз. Что интересно, генетические сигнатуры опухолей 2-го подтипа и большинства МИРМП, оцениваемых в исследовании совместно, были одинаковыми. Кроме того, у опухолей 2-го класса была выявлена эпителиально-мезенхимальная трансформация (ЭМТ).

Молекулярные подтипы в МИРМП. Для категоризации молекулярных подтипов РМП в 2014 году проект Атласа ракового генома исследовал 131 случай МИРМП. Всего было выделено 4 кластера.

Кластер I и II имели характеристики люминального типа мышечно-инвазивного рака, включая уротелиально-клеточную дифференцировку, экспрессию *GATA3* и *FOXA1*, а также высокий уровень экспрессии E-кадгерина.

Кластер I (папиллярно-подобный подтип) характеризовался папиллярным строением опухоли, повреждениями гена *FGFR3*, низкой экспрессией *miR-99a-5p* и *miR-100-5p*, которые снижали экспрессию *FGFR3*.

Кластер III (базальный/плоскоклеточный подтип) имел признаки базального типа мышечно-инвазивного рака с плоскоклеточной дифференцировкой опухоли.

Кластер IV соотносился с подтипом ЭМТ и имел низкий уровень экспрессии E-кадгерина. В отношении ответа на терапию кластер II (*TP53*-подобный люминальный подтип) имел высокую чувствительность к PD-L1 ингибитору атезолизумабу, но не к неoadъювантной химиотерапии [37; 71; 136].

По различным уровням экспрессии мРНК были выявлены 5 молекулярных подтипов МИРМП: люминально-папиллярный, люминально-инфильтрированный, люминальный, базально-плоскоклеточный и нейрональный (Рисунок 6) [69]. Все люминальные подтипы (люминально-папиллярный, люминально-инфильтрированный, люминальный) экспрессировали люминальные маркеры, такие как *GATA3*, *FOXA1*, уроплакины и *KRT20*.

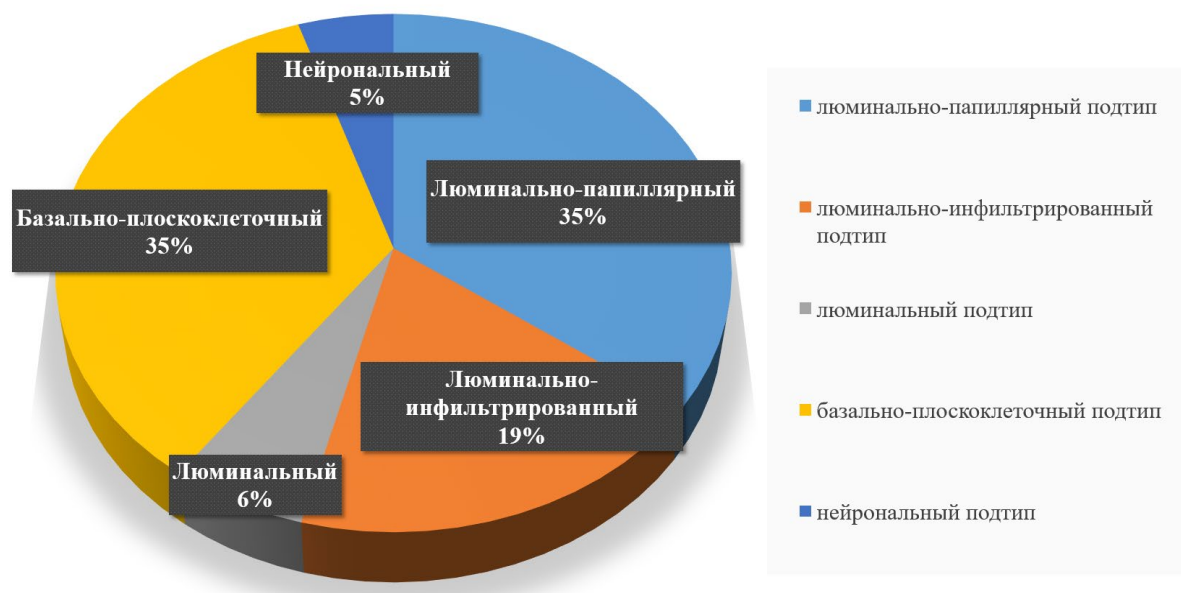


Рисунок 6 – Молекулярные подтипы МИРМП (по данным Robertson et al. (2017))

Глава 1.4. Морфологические (гистологические) особенности РМП

Самым частым гистологическим типом РМП является уротелиальная карцинома, которая выявляется в 90% случаев рака мочевого пузыря в США [153].

Клетки уротелия (ранее в литературе использовалось понятие переходного эпителия) являются специализированными клетками, выстилающими мочевыводящие пути, и, в отличие от обычного эпителия, могут сжиматься и растягиваться. Другие типы РМП, а именно плоскоклеточный рак и аденокарцинома мочевого пузыря, являются более редкими злокачественными новообразованиями данной локализации, еще реже встречаются саркомы мочевого пузыря, распространенность которых не превышает 1% [93; 230].

Гистологические типы и классификация РМП. Как уже было сказано ранее, подавляющее большинство (более 90%) карцином мочевого пузыря, а также почечной лоханки и мочеточника, имеют уротелиальное происхождение.

Существует несколько систем классификации и градации уротелиальных поражений, которые по-прежнему взаимозаменяемо используются в клинической практике для определения последующей лечебной тактики.

Самая первая классификация опухолей уротелия была издана Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в 1973 году [135]. В связи с вариабельностью систем классификации и необходимостью универсально-приемлемой системы в 2004 г. была предложена консенсусная классификация ВОЗ/Международного Общества Урологической Патологии (The International Society of Urological Pathology, ISUP; Таблица 1) [188].

Таблица 1 – Консенсусная классификация ВОЗ/Международного Общества Урологической Патологии поражений уротелия от 2004 г.

Консенсусная классификация ВОЗ/Международного Общества Урологической Патологии поражений уротелия (2004 г.)
Инвазивные уротелиальные опухоли
Инфильтрирующая уротелиальная карцинома
с плоскоклеточной дифференцировкой
с железистой дифференцировкой
с трофобластической дифференцировкой
Гнездная
Микрокистозная
Микропапиллярная
Лимфоэпителиомоподобная
Лимфомоподобная
Плазмоцитоподобная
Саркоматоидная
Гигантоклеточная
Недифференцированная
Неинвазивные уротелиальные опухоли
Уротелиальная карцинома in situ
Low-grade папиллярная уротелиальная карцинома
High-grade папиллярная уротелиальная карцинома
Папиллярная уротелиальная неоплазия с низким потенциалом злокачественности

Уротелиальная папиллома
Инвертированная уротелиальная папиллома

По классификации ВОЗ/ISUP (2004 г.) [188], к плоским поражениям относятся: уротелиальная гиперплазия, реактивная уротелиальная атипия, атипия неясного значения, дисплазия и карцинома *in situ* (Таблица 1). К неинвазивным папиллярным поражениям относят сосочковую/папиллярную неоплазию уротелия с низким злокачественным потенциалом, папиллярную карциному low-grade и high-grade (низкой и высокой степеней злокачественности). Папиллярные опухоли с низким злокачественным потенциалом не имеют признаков малигнизации, но имеют склонность к рецидивированию, поэтому данный процесс нельзя назвать истинно доброкачественным.

В отличие от классификации 1973 г. [135], в классификации 2004 г. [188] отказались от определения «умеренной» степени дифференцировки (grade 2, G2). Обе классификации подтвердили свою прогностическую ценность. Однако попытки продемонстрировать прогностическое преимущество одной из них привели к противоречивым результатам. Большинство клинических исследований по изучению опухолей Ta-T1, опубликованных до настоящего времени, выполнялись с использованием классификации ВОЗ 1973 г., поэтому последующие рекомендации основываются на данной классификации. Система ВОЗ от 2016 г. [239], так же как и система от 2022 г. (Таблица 2), использовала по существу классификацию от 2004 г. с незначительными изменениями. В 4-м издании был введен термин «urothelial proliferation of uncertain malignant potential» (UPUMP, уротелиальная пролиферация неопределенного злокачественного потенциала), который объединял такие группы поражений, как «плоская» гиперплазия с атипией и папиллярная уротелиальная гиперплазия [239].

Таблица 2 – Классификация опухолей уротелиального тракта ВОЗ (2016 г.)

Классификация опухолей уротелиального тракта ВОЗ (2016 г.)
Инфильтрирующая уротелиальная карцинома
Гнездная (включает крупногнездный тип)
Микрокистозная
Микропапиллярная
Лимфоэпителиомоподобная карцинома
Плазмоцитовидная/перстневидноклеточная/диффузная
Саркоматоидная
Гигантоклеточная
Низкодифференцированная
Богатая липидами/Липоидная
Светлоклеточная
Неинвазивные уротелиальные поражения
Уротелиальная карцинома in situ
Неинвазивная папиллярная уротелиальная карцинома, low-grade
Неинвазивная папиллярная уротелиальная карцинома, high-grade
Папиллярная уротелиальная неоплазия с низким потенциалом злокачественности
Уротелиальная папиллома
Инвертированная уротелиальная папиллома
Уротелиальная пролиферация неопределенного злокачественного потенциала
Уротелиальная дисплазия

В пятом издании классификации ВОЗ (2022 г., Таблица 3) [240] были добавлены новые субтипы уротелиальной карциномы и подчеркнута важность патолого-анатомических заключений, в которых указывается процент дивергентной дифференцировки карциномы (при ее наличии). Из классификации 2022 г. был убран термин UPUMP, в то время как диагностический термин «дисплазия» был сохранен, однако вместо отдельной главы данной нозологической единице посвящено краткое описание в главе уротелиальной карциномы *in situ*.

Согласно новейшему изданию, у каждой инвазивной уротелиальной карциномы должна быть определена степень дифференцировки [263]. В бóльшем проценте случаев инвазивные карциномы имеют high-grade профиль, но встречаются и low-grade инвазивные поражения. При этом pT1 low-grade опухоли имеют лучший прогноз, чем карциномы pT1 high-grade [72; 233; 257]. Поэтому клинические схемы лечения пациентов с pT1 уротелиальной карциномой сформированы по различным группам риска: для low- и high-grade инвазивных карцином [98; 223].

С патолого-анатомической точки зрения критическим вопросом является неоднородность/гетерогенность степени дифференцировки опухоли (которая встречается в 1/3 неинвазивных папиллярных уротелиальных карцином), поскольку степень дифференцировки имеет решающее значение для выбора клинической тактики. Отсутствие четкого порога для разграничения low-grade и high-grade карцином привело к плохой воспроизводимости результатов между исследователями. За последние годы были выдвинуты различные предложения для улучшения стратификации папиллярной уротелиальной карциномы.

Редакционная коллегия пятого издания классификации считает, что существует необходимость в повышении воспроизводимости между исследователями для гетерогенных опухолей мочевого пузыря, и предлагает принять общие диагностические критерии, как описано в недавнем исследовании Reis L. O. et al. [228]: карциномы с high-grade компонентом $\geq 5\%$ рекомендуют расценивать как high-grade поражения. Кроме того, опухоли, где high-grade компонент занимает менее 5%, следует расценивать как low-grade карциномы с

high-grade компонентом < 5%. Данный подход, по оценкам экспертов, поможет достичь большей воспроизводимости между онкопатологами, однако требуются мультидисциплинарные исследования для оценки влияния новых диагностических критериев на исход и прогноз заболевания.

Таблица 3 – Классификация опухолей уротелиального тракта ВОЗ (2022 г.)

Классификация опухолей уротелиального тракта ВОЗ (2022 г.)
Инвазивные уротелиальные неоплазии
<i>Инвазивная уротелиальная карцинома</i>
Конвенциональная/Традиционная
С плоскоклеточной дифференцировкой
С железистой дифференцировкой
С трофобластной дифференцировкой
Гнездная
Крупногнездная
Тубулярная и микрокистозная
Микропапиллярная
Лимфоэпителиомоподобная
Плазмоцитоподобная
Гигантоклеточная
Богатая липидами
Светлоклеточная (богатая гликогеном)
Саркоматоидная
Низкодифференцированная

<i>Неинвазивные уротелиальные неоплазии</i>
Уротелиальная папиллома
Инвертированная уротелиальная папиллома
Папиллярная уротелиальная неоплазия с низким потенциалом злокачественности
Неинвазивная папиллярная уротелиальная карцинома, low-grade
Неинвазивная папиллярная уротелиальная карцинома, high-grade
Уротелиальная карцинома in situ

Глава 1.5. Иммуногистохимические особенности РМП

В настоящее время не существует иммуногистохимических маркеров или иммуногистохимической панели антител, которые могли бы использоваться в рутинной практике врачей-патологоанатомов для прогнозирования течения онкозаболевания и последующего выбора терапии; несмотря на это, с каждым годом потребность в этом возрастает. Согласно данным многочисленных исследований, наиболее подходящими иммуногистохимическими маркерами для исследования уротелиальных поражений мочевого пузыря являются: CK20, CD44, p53, и Ki-67 – для дифференциальной диагностики реактивной атипии, уротелиальной дисплазии и карциномы in situ; GATA3, CK7, CK20, высокомолекулярные цитокератины, p53, CK5/6, CD44, CDX2, PSA, CA-125, PAX8 – для подтверждения уротелиальной дифференцировки карциномы [45; 241; 272]. Однако, основываясь на данных молекулярного типирования уротелиальных карцином с преимущественным делением их на люминальный и базальные типы, различными авторами высказывались предположения о связи генетической картины образований с иммуногистохимической.

По данным мета-анализа Dadhania V. et al. (2016) [170], люминальными маркерами карцином мочевого пузыря считаются GATA3, CK18, CK20, Uroplakin II, cyclin D1 и ERBB2/HER2, в то время как CK5/6, CK14, и p63 – базальными. В ходе работы, несмотря на соответствие данных маркеров их молекулярным подтипам, выявилось значимое наложение (совпадение, нахлестывание) предложенных двух панелей антител друг на друга, особенно в люминальной категории. Для поиска наиболее показательных маркеров был проведен дальнейший анализ данных, который показал, что наилучшей парой маркеров, разграничивающих базальный и люминальный подтипы, явились CK5/6 и GATA3 (точность 91%); второй по эффективности парой явились CK14 и GATA3 (точность 89%) [170].

По данным работы Rodriguez Pena et al. (2019) [139], попытка создания иммуногистохимической панели антител, позволяющей классифицировать опухоли на базальные и люминальные подтипы в мышечно-неинвазивных опухолях (используя CD44 и CK5/6 для базального, CK20 и Uroplakin II для люминального) не увенчалась успехом, однако была выявлена выраженная корреляция между вероятностью рецидива опухоли и экспрессией маркеров CD44 и ER, между степенью дифференцировки опухоли и маркером HER2/neu, а также между экспрессией CK5/6 и прогрессией стадии опухоли при последующей биопсии [139].

По данным Alfonso et al. (2015) [100], в мышечно-инвазивных карциномах наиболее важными прогностическими маркерами являются маркеры лимфоваскулярной инвазии, RKIP (Raf kinase inhibitor protein), являющийся супрессором метастазирования, CD147 и MCT1(monocarboxylate transporter 1) [100].

Глава 1.6. Прогнозирование исходов МНИРМП

По данным исследований, 5-летняя выживаемость пациентов с МНИРМП обычно превышает 88% [184], однако до 70% мышечно-неинвазивных опухолей рецидивируют после первичного лечения и имеют 10–20% риск прогрессирования в МИРМП. Прогноз у пациентов с МИРМП крайне неблагоприятный, так как 5-летняя выживаемость варьирует от 63 до 15% [184].

В 2006 г. Европейская организация по изучению и лечению рака (European Organisation for Research and Treatment of Cancer, EORTC) разработала инструмент стратификации риска для прогнозирования 1- и 5-летней вероятности рецидива и прогрессии опухоли после ТУР [198]. В 2009 г. Испанский урологический клуб лечения рака (Club Urologico Espanol de Tratamiento Oncologico, CUETO) опубликовал сопоставимую модель риска, адаптированную для пациентов, получающих поддерживающую иммунотерапию бациллами Кальметта—Герена (БЦЖ) [196]. Как модель EORTC, так и модель CUETO выделяют 4 группы риска пациентов на основании ретроспективного анализа данных клинических исследований. Для расчета риска рецидива и прогрессирования используются следующие клиничко-морфологические факторы: пол и возраст пациентов, размер и распространенность первичной опухоли (определяется как T в классификации TNM), наличие сопутствующей карциномы *in situ*, степень дифференцировки и количество опухолей, а также рецидивный статус. В рекомендациях Европейской ассоциации урологов (European Association of Urology, EAU) определен трехуровневый алгоритм стратификации риска, использующий такие же параметры [88].

Исследование, на котором основана классификация EORTC, не включало пациентов, получавших БЦЖ-терапию, исследование CUETO включало только пациентов с коротким поддерживающим курсом БЦЖ-терапии, а стратификация риска EAU основана, в основном, на риске прогрессирования, а не рецидива. Таким образом, на данный момент нет универсального подхода к оценке риска рецидива

и прогрессирования при МНИРМП, а эффективность прогностических систем для реальных гетерогенных когорт пациентов остается неопределенной.

В научных работах показано, что вышеописанные инструменты стратификации риска не достигают «желаемых» результатов: модели не могут предсказать точное время возникновения рецидива или прогрессирования РМП, а также недооценивают/переоценивают риск рецидива и прогрессии у различных групп пациентов [22; 23; 50; 76; 92; 220; 273; 274].

В связи с данной проблемой актуальным является поиск новых факторов, которые помогут улучшить предиктивный потенциал моделей стратификации риска у пациентов с МНИРМП.

В работе Ding W. et al. отмечено повышение прогностической точности модели EORTC при интеграции таблицы рисков с результатами ИГХ-исследования с антителами к Ki-67 [154]. Напротив, Passoni N. et al. [61] не выявили существенного влияния на прогнозирование рецидива и прогрессии при добавлении к классификациям EORTC и CUETO ИГХ-панели, состоящей из маркеров Ki-67, p21, p27, p53 и cyclin E. Данный вопрос требует дальнейшего изучения для определения роли ИГХ-исследования в оценке прогноза у пациентов с МНИРМП.

Глава 1.7. Заключение

РМП является полиэтиологическим злокачественным новообразованием, развитие которого детерминировано генетическими мутациями в клетках уротелия. Генетические исследования показывают, что в РМП существуют различные молекулярные пути, связанные со степенью агрессии опухоли: в люминальных образованиях, как правило, не характерно наличие инвазии в мышечную оболочку мочевого пузыря, в отличие от базальных. Однако на настоящий момент крайне трудно предсказать клиническое поведение опухоли без использования

дорогостоящего молекулярно-генетического метода, сложного для интерпретации. ИГХ-исследование является многообещающим и общедоступным методом, который в перспективе может определить не только молекулярный подтип образования, но и предсказать дальнейшее клиническое поведение уротелиальной карциномы. Поэтому крайне важной задачей на настоящий момент будет поиск панели антител, демонстрирующей ИГХ-фенотип опухоли для определения дальнейшей тактики лечения у пациентов с РМП.

Качественная дифференциальная диагностика воспалительных и предраковых поражений уротелия является важнейшим фактором на пути предупреждения развития РМП, однако морфологические критерии дисплазии уротелия являются крайне субъективными и создают большое недопонимание между онкопатологами. Опосредованный ИГХ-метод может способствовать улучшению качества и точности дифференциальной диагностики между реактивной атипией и дисплазией уротелия, что значительно уменьшит случаи ошибочных медицинских заключений о характере патологического процесса в мочевом пузыре и в дальнейшем поможет избрать адекватную клиническую тактику ведения пациентов.

Глава 2. Материалы и методы исследования

В ретроспективное исследование были включены 120 пациентов (77 мужчин и 43 женщины) с воспалительными, предраковыми и раковыми поражениями уротелия в возрасте от 39 до 91 лет (медиана = 69).

Пациенты были разделены на четыре подгруппы. В первую подгруппу (I) вошли 11 пациентов с реактивной атипией уротелия, во вторую подгруппу (II) – 24 пациента с уротелиальной дисплазией, в третью подгруппу (III) – 51 пациент с МНИРМП (из них пациенты со стадией T_a – 11, T₁ – 40) и в четвертую подгруппу (IV) – 34 пациента с МИРМП.

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»).

Всем пациентам была проведена цистоскопия мочевого пузыря с оценкой эндоскопической картины патологически измененной стенки пузыря. 62 пациентам была выполнена биопсия стенки мочевого пузыря, из них, после морфологической верификации, 11 пациентам был установлен диагноз «реактивная атипия», 24 – «дисплазия», 17 – «уротелиальная карцинома; T_aT₁», 10 – «уротелиальная карцинома; T₂». 58 пациентам с верифицированными уротелиальными карциномами T_aT₁ (n = 34), а также T₂ (n = 24) была выполнена трансуретральная резекция (ТУР) мочевого пузыря с последующей внутривезикулярной химиотерапией митомицином С.

После проведения внутривезикулярных хирургических вмешательств было проведено патолого-анатомическое исследование полученного биопсийного и

операционного материала по стандартной методике. Клинически оценивали пол, возраст, размер и локализацию поражений, их одиночность и 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.

Полученный материал фиксировали в 10% нейтральном забуференном растворе формалина и после гистологической проводки в автоматическом гистопроцессоре Leica ASP 300 (Leica Microsystems, Германия) заливали в парафин на станции Leica EG 1150 (Германия). Гистологические срезы толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином в автоматической станции Leica ST 5010 (Leica Microsystems, Германия). Микроскопическое исследование осуществляли на триокулярном микроскопе Leica DMLB (Leica Microsystems, Германия, окуляры $\times 10$) с использованием цифровой камеры Leica DFC 420 (Германия). В полученных микропрепаратах проводили патоморфологическую оценку поражений. Отдельно для III и IV подгрупп микроскопически исследовали уровень инвазии опухоли (по классификации TNM 8-го издания: T_a – неинвазивная папиллярная карцинома; T₁ – опухоль с распространением в подэпителиальную соединительную ткань; T₂ – опухоль с инвазией мышечного слоя мочевого пузыря). Кроме того, в III и IV подгруппах микроскопически производили оценку степени дифференцировки опухолей по классификации ВОЗ 1973 года (G₁ – высокая степень дифференцировки опухоли (низкая степень злокачественности); G₂ – умеренная степень дифференцировки опухоли; G₃ – низкодифференцированная опухоль); по классификации ВОЗ 2016 года (low-grade поражения – высокодифференцированные опухоли, низкой степени злокачественности; high-grade поражения – низкодифференцированные опухоли, высокой степени злокачественности); по классификации ВОЗ 2022 года (low-grade поражения – высокодифференцированные опухоли, низкой степени злокачественности (без high-grade компонента); low-grade поражения с high-grade компонентом менее 5%, high-grade поражения – низкодифференцированные

опухоли, высокой степени злокачественности (high-grade компонент карциномы $\geq 5\%$)).

По классификации ВОЗ 1973 года опухоли G1 микроскопически характеризуются отсутствием выраженного полиморфизма (ядра униформные, вытянутые, полярность клеток сохранена) и митозов; опухоли G2 – умеренно выраженными изменениями полярности клеток, увеличением размеров и формы ядер; степень G3 отличается выраженной дезорганизацией архитектоники клеток, значительной ядерной атипией и полиморфизмом, в опухоли также наблюдается большое количество митозов [6].

В опухолях low-grade (по классификации ВОЗ 2016 года) присутствует минимальная клеточная дезорганизация, полярность, размер и форма ядер переменны, митозы, как правило, редкие. Low-grade поражения соответствуют степеням дифференцировки G1 и G2 1973 года. High-grade поражения микроскопически имеют выраженные архитектурные, цитологические и ядерные нарушения. Ядерная атипия проявляется видимыми и полиморфными ядрышками, большим количеством митозов. В high-grade поражениях могут наблюдаться некрозы опухоли и слияние ее сосочков. High-grade поражения соответствуют степеням дифференцировки G2 и G3 1973 года.

По классификации ВОЗ от 2022 года под high-grade карциномой принимается уротелиальная опухоль, в которой high-grade компонент занимает $\geq 5\%$. Опухоль, где high-grade компонент занимает менее 5% поражения, обозначается как low-grade карцинома с high-grade компонентом $< 5\%$.

Для проведения ИГХ-исследования с антителами CK7, CK20, Ki-67, p53, CD44, Vcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3, PTEN и GATA3 были отобраны 10 случаев из каждой подгруппы (I–IV) исследования ($n_I = 10$; $n_{II} = 10$; $n_{III} = 10$; $n_{IV} = 10$).

ИГХ-исследование антител CK7, CK20, Ki-67, p53, CD44, Vcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3, PTEN и GATA3 проводилось с помощью иммуноштейнеров «Leica Bond-maX» (Германия), Roche Ventana BenchMark Ultra (США; Таблица 4).

Таблица 4 – ИГХ-маркеры, применявшиеся в исследовании

№	Наименование антитела	Полное наименование антитела	Клон	Разведение	Фирма-производитель
1	CK7	BOND™ Ready-To-Use Primary Antibody Cytokeratin 7 (RN7)	RN7	Ready-To-Use	Leica Biosystems
2	CK20	CONFIRM™ anti-Cytokeratin 20 (SP33) Rabbit Monoclonal Primary Antibody	SP33 790-4431	Ready-To-Use	Ventana Medical Systems, Inc.
3	Ki-67	CONFIRM™ anti-Ki-67 (30-9) Rabbit Monoclonal Primary Antibody	30-9	Ready-To-Use	Ventana Medical Systems, Inc.
4	p53	BOND™ Ready-To-Use Primary Antibody p53 (DO-7)	DO-7	Ready-To-Use	Leica Biosystems
5	CD44	Anti-CD44 (SP37) Rabbit Monoclonal Primary Antibody	SP37	Ready-To-Use	Ventana Medical Systems, Inc.
6	Bcl-2	CONFIRM™ anti-bcl-2 (124) Mouse Monoclonal Primary Antibody	124	Ready-To-Use	Ventana Medical Systems, Inc.

7	HER2	VENTANA anti-HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody	4B5	Ready-To-Use	Ventana Medical Systems, Inc.
8	Uroplakin III	Uroplakin III (SP73) Rabbit Monoclonal Antibody	SP73	Ready-To-Use	Ventana Medical Systems, Inc
9	FGFR3	Anti-FGFR3 antibody ab10651	ab10651	1:400	Abcam plc
10	PTEN	Monoclonal Mouse Anti-Human PTEN Clone 6H2.1	6H2.1	1:100	Dako, Agilent Technologies, Inc.
11	GATA3	GATA3 (L50-823) Mouse Monoclonal Antibody	L50-823 760-4897	Ready-To-Use	Cell Marque Corporation

Оценку ИГХ-реакции к CK7, CK20, p53, CD44, Bcl-2, Uroplakin III, FGFR3, PTEN и GATA3 производили на полученных изображениях с использованием стандартного подхода: осуществлялся подсчет числа клеток в пятнадцати полях зрения при увеличении $\times 400$. При этом определяли общее число опухолевых клеток, количество окрашенных клеток и интенсивность их окрашивания.

Полуколичественная оценка выраженности экспрессии маркеров CK7, CK20, Ki-67, p53, CD44, Bcl-2, Uroplakin III, FGFR3, PTEN и GATA3 производилась с использованием формулы HistoScore: $HScore = \sum (P_i \times i)$, где i – интенсивность окрашивания со значением 0, 1, 2 или 3 (негативная, слабая, умеренная или сильная соответственно), а P_i – процент окрашенных клеток для каждой интенсивности, варьирующий от 0% до 100%. Результаты ИГХ-реакции записывали в баллах от 0 до 300.

Анализ иммуногистохимической реакции к Ki-67 выразался в процентном заключении от 0 до 100%. Подсчитывали количество Ki-67 положительных клеток на 100–200 опухолевых клеток. Индекс Ki-67 определяли по формуле: число Ki-67 положительных клеток $\times 100$ / общее количество клеток.

Анализ иммуногистохимической реакции к HER2 (ввиду отсутствия стандартизированных протоколов окрашивания для образцов тканей мочевого пузыря) проводился на основании рекомендаций ASCO/CAP от 2018 г. [29] [10] по определению HER2 при раке молочной железы и выразался в балльном заключении (от 0 до 3): 0 баллов – отсутствие мембранного окрашивания или наличие слабого мембранного окрашивания менее 10% клеток; 1 балл – слабое и неполное мембранное окрашивание более 10% клеток или слабое равномерное мембранное окрашивание менее 10% клеток; 2 балла – слабое равномерное или яркое неполное мембранное окрашивание более 10% клеток или яркое равномерное мембранное окрашивание менее 10% клеток; 3 балла – яркое равномерное мембранное окрашивание более 10% клеток.

Для дальнейшего сравнения групп по показателям HScore, Ki-67 (%), HER2 (баллы) было использовано среднее арифметическое (M) по всем полям зрения.

После сравнения групп по средним значениям полуколичественные данные значений HScore (CK7, CK20, p53, CD44, Vcl-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%, от 33 до 66% и от 66 до 100%). Полученные числовые значения были округлены до десятых. Для маркеров CK7, CK20, p53, CD44, Vcl-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.

Статистическую обработку данных осуществляли методами параметрического и непараметрического анализа с использованием пакетов программ Microsoft Office Excel 2016 (США), IBM SPSS (США), Jamovi 2.3.21

(свободно распространяемое программное обеспечение с открытым исходным кодом (open source)). Определение нормальности распределения осуществляли на основе расчета критериев Колмогорова—Смирнова и Шапиро—Уилка. Для описания тенденций непрерывных величин с нормальным распределением использовались арифметическое среднее и стандартное отклонение ($M \pm SD$). Для описания тенденций величин с распределением, отличным от нормального, использовались медиана, 1-й (нижний) и 3-й (верхний) квартили ($Me (L; U)$). В соответствии с проведенной проверкой на нормальность распределения применялись непараметрический коэффициент корреляции 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. Результаты считались значимыми при $p < 0,05$.

Глава 3. Результаты собственного исследования

Глава 3.1. Общая характеристика исследуемой группы

Распределение пациентов, включенных в исследование, в подгруппах по возрасту и по размеру поражений (реактивная атипия, дисплазия) или опухолей (МНИРМП, МИРМП) представлено в Таблицах 5 и 6.

Таблица 5 – Распределение подгрупп по возрасту (в годах)

Подгруппа	Количество наблюдений	Me (L 25%; U 75%)
I	11	62 (58; 70)
II	24	68 (51; 74)
III	51	70 (62; 74)
IV	34	65 (58; 78)

Таблица 6 – Распределение подгрупп по размеру поражений/опухоли (в сантиметрах)

Подгруппа	Количество наблюдений	Me (L 25%; U 75%)
I	11	0,6 (0,3; 0,9)
II	24	1,2 (0,52; 1,675)
III	51	1,3 (0,5; 2,6)

Глава 3.2. Характеристика I подгруппы

I подгруппу пациентов составили мужчины ($n = 11$) в возрасте от 52 до 73 лет (Me – 62 (58; 70)).

Анамнестически у всех пациентов данной группы наблюдались признаки длительного хронического раздражения стенки мочевого пузыря (ввиду инфекционных заболеваний, мочекаменной болезни, длительно установленных катетеров мочевого пузыря).

Размер поражения варьировал от 0,15 до 1 см (Me – 0,6 (0,3; 0,9)).

При вычислении коэффициента корреляции Спирмена связь возраста и размера поражения в I подгруппе не обнаружена ($R = 0,394$; $p = 0,23$).

По локализации реактивная атипия уротелия отмечалась в треугольнике МП ($n = 1$; 9,09%), боковой стенке МП ($n = 2$; 18,18%), задней стенке МП ($n = 2$; 18,18%), в устье одного из мочеточников ($n = 4$; 36,36%); поражение более одной локализации выявлено в двух наблюдениях (18,18%; Рисунок 7).

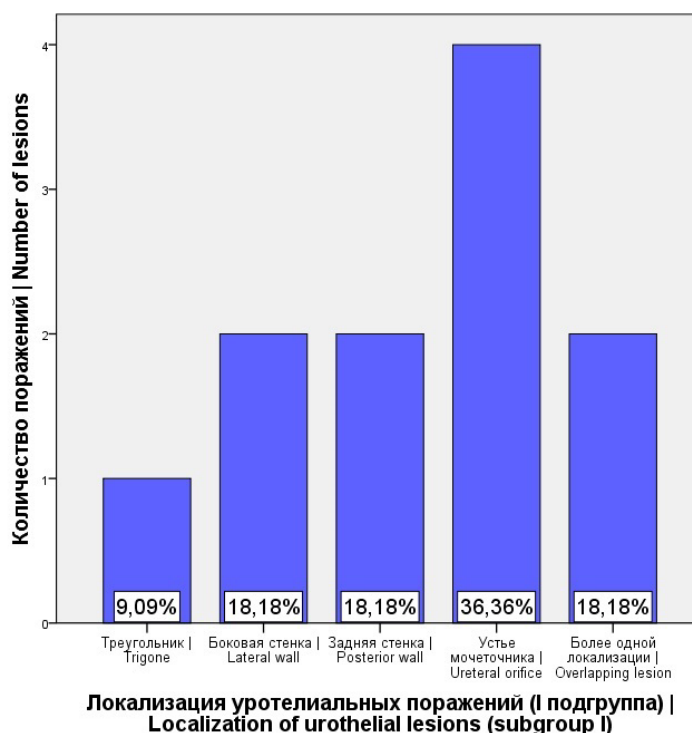


Рисунок 7 – Распределение уротелиальных поражений по локализации в I подгруппе

Солидарное поражение наблюдалось в девяти случаях (81,8%), мультифокальное – в двух (18,2%). В одном наблюдении (9,1%) клинически выявлена гематурия, в остальных наблюдениях (n = 10; 90,1%) гематурия не обнаружена.

У пациентов с реактивной атипией, по данным протоколов цистоскопии, отмечались гиперемия и отек слизистой мочевого пузыря (местами с элементами буллезного отека), контактная кровоточивость слизистой, а также дефекты и эрозии слизистой.

При микроскопическом исследовании в случаях реактивной атипии отмечалась нормальная или увеличенная толщина уротелия, сохранность или слущивание зонтичных клеток, отсутствие ярко выраженного клеточного полиморфизма, ядра клеток были обычного или слегка увеличенного размера. Количество митозов было переменным, отмечалось большое количество митозов в базальных слоях уротелия. Интраэпителиально и в собственной пластинке – очаговая и диффузная смешанная воспалительная инфильтрация (лейкоциты, лимфоциты, плазмциты; Рисунок 8).

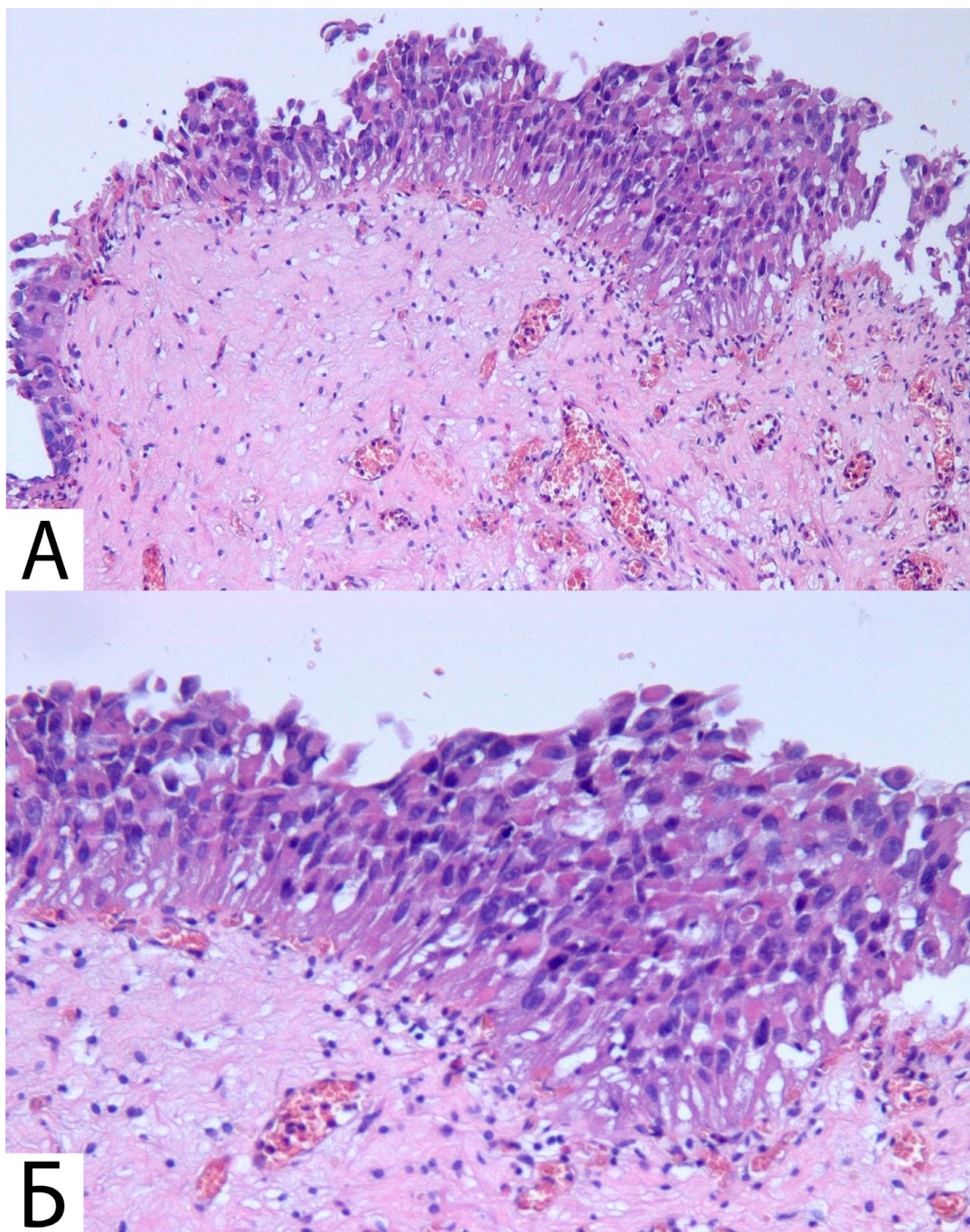


Рисунок 8 – Патоморфологическая картина реактивной атипии уротелия (окраска гематоксилином и эозином): а – увеличение $\times 100$; б – увеличение $\times 200$

Глава 3.3. Характеристика II подгруппы

II подгруппу составили 24 пациента (8 мужчин и 16 женщин) в возрасте от 43 до 88 лет, Me – 68 (51; 74). Возраст мужчин: Me – 73 (68; 74); женщин: Me – 59

(46,75; 75,5). Размер поражений у пациентов обоего пола находился в пределах от 0,3 до 3 см (Me – 1,2 (0,52; 1,675)): у мужчин Me – 0,8 (0,37; 0,9); у женщин Me – 1,25 (0,67; 2,0).

При вычислении коэффициента корреляции Спирмена связь возраста и размера поражения во II подгруппе не обнаружена ($R = -0,18$; $p = 0,93$).

При сравнении возраста мужчин и женщин с дисплазией уротелия с помощью непараметрического U-критерия Манна—Уитни статистически значимые различия не выявлены ($p > 0,05$).

При сравнении размера поражения уротелия у мужчин и женщин во II подгруппе с помощью непараметрического U-критерия Манна—Уитни выявлены статистически значимые различия: размер уротелиальной дисплазии у женщин достоверно больше, чем у мужчин ($U = 26$; $p = 0,019$) [11].

По локализации дисплазия уротелия наблюдалась в треугольнике МП ($n = 3$; 12,5%), боковой стенке МП ($n = 7$; 29,1%), задней стенке МП ($n = 2$; 8,3%), шейке МП ($n = 4$; 16,67%), в устье одного из мочеточников ($n = 2$; 8,33%); поражение более одной локализации наблюдалось в шести случаях (25%; Рисунок 9).

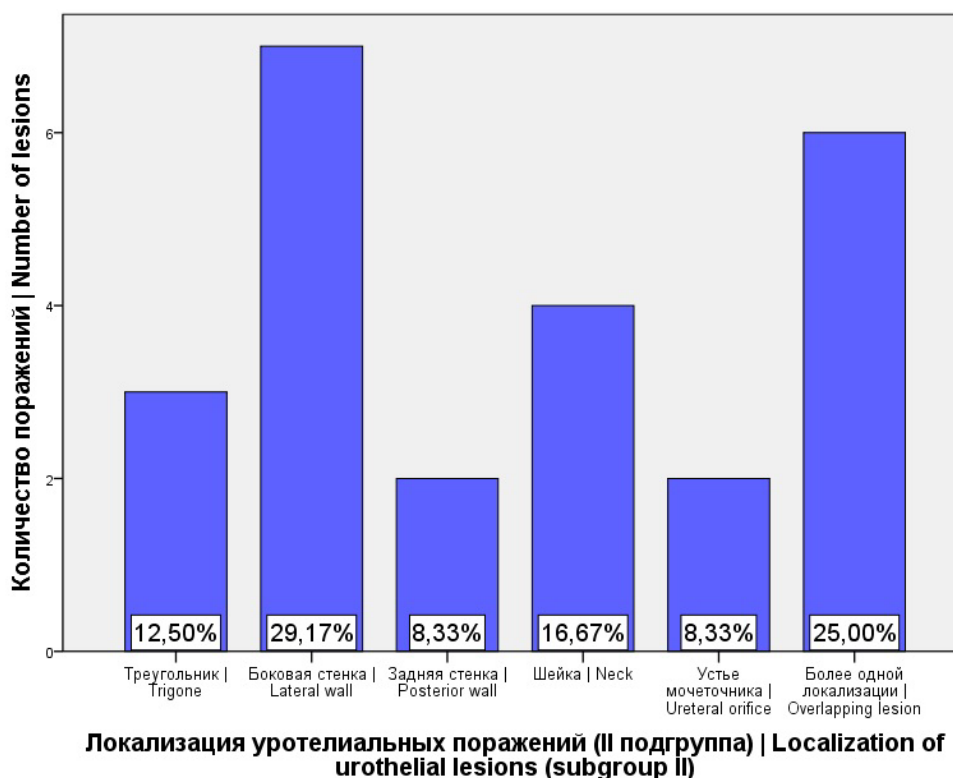


Рисунок 9 – Распределение уротелиальных поражений по локализации во II подгруппе

Солидарное поражение наблюдалось в 18 случаях (75%), мультифокальное – в шести (25%). Возраст пациентов при солидарном поражении: Me – 65 (48,25; 74); при мультифокальном: Me – 68 (57; 78).

У большинства пациентов отмечалось наличие гематурии ($n = 19$; 79,17%), у пяти пациентов (20,83%) гематурия не обнаружена.

У пациентов с уротелиальной дисплазией, по данным протоколов цистоскопии, отмечались гиперемия и отек слизистой мочевого пузыря (местами с элементами буллезного отека), контактная кровоточивость, участки «рыхлой» слизистой с белесоватыми наложениями (по типу лейкоплакии).

При микроскопическом исследовании биоптатов отмечалась переменная толщина уротелия – как утолщение, так и уплощение уротелиального пласта. Зонтичные клетки на большем протяжении были сохранены, местами слущены. Визуально определялась «скупенность» уротелиальных клеток, клеточная атипия в базальных и промежуточных слоях: наблюдалась потеря ядерной полярности, увеличение ядер и появление видимых ядрышек, ядерная гиперхромазия. В базальном слое отмечались единичные митозы. В собственной пластинке – очаговые смешанные воспалительные инфильтраты (Рисунок 10).

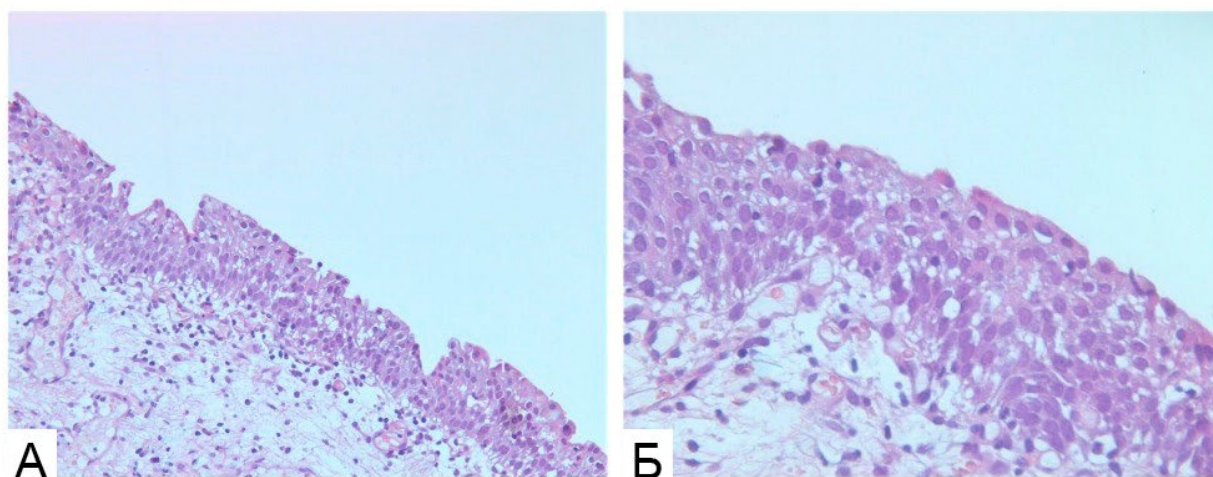


Рисунок 10 – Патоморфологическая картина уротелиальной дисплазии (окраска гематоксилином и эозином): а – увеличение $\times 200$; б – увеличение $\times 400$

Глава 3.4. Характеристика III подгруппы

В III подгруппу вошел 51 пациент (32 мужчины и 19 женщин с МНИРМП) в возрасте от 41 до 86 лет, Ме – 70 (62; 74). Возраст мужчин: Ме – 70 (59; 73,75); женщин: Ме – 71 (67; 79).

Размер опухолевых поражений у пациентов обоего пола находился в пределах от 0,12 до 4,4 см (Ме – 1,3 (0,5; 2,55)). Размер МНИРМП у мужчин варьировал от 0,12 до 4,4 см (Ме – 1,9 (0,5; 2,9)), у женщин – от 0,15 до 4 см (Ме – 0,9 (0,3; 2,3)).

При сравнении возраста пациентов и размера МНИРМП в группах по полу с помощью непараметрического U-критерия Манна—Уитни статистически значимые различия не выявлены ($p > 0,05$).

По локализации МНИРМП встречались в треугольнике МП ($n = 1$; 1,96%), куполе МП ($n = 2$; 3,92%), боковой стенке МП ($n = 21$, 41,18%), передней стенке МП ($n = 3$; 5,88%) задней стенке МП ($n = 3$; 5,88%), шейке МП ($n = 2$; 3,92%), устье мочеточника ($n = 8$; 15,69%); поражение более одной локализации наблюдалось в 11 случаях (21,57%; Рисунок 11).

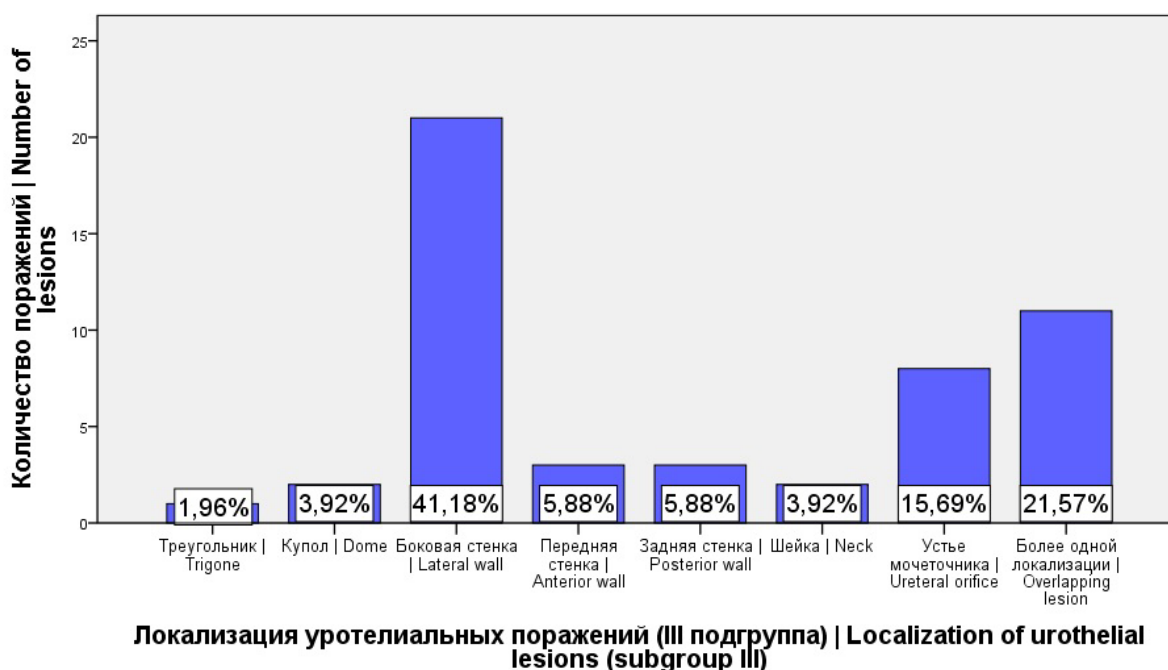


Рисунок 11 – Распределение уротелиальных поражений по локализации в III подгруппе

Солидарное поражение отмечено в 38 наблюдениях (74,5%), мультифокальное – в 13 (35,2%). Возраст пациентов при солидарном поражении: Me – 69,5 (62; 73); при мультифокальном: Me – 80 (62,5; 81).

При сравнении групп (возраст) с множественным и одиночным поражением с помощью непараметрического U-критерия Манна—Уитни выявлены статистически значимые различия: с увеличением возраста множественные поражения встречаются чаще ($U = 155,5$; $p = 0,048$) [11].

В 42 наблюдениях (82,35%) выявлена гематурия, в остальных наблюдениях ($n = 9$; 17,65%) гематурия не обнаружена.

Согласно классификации TNM, в 11 случаях (21,57%) выявлена стадия Ta (папиллярная неинвазивная карцинома), в 40 (78,43%) – стадия T1 (инвазия опухоли в подэпителиальную соединительную ткань). Возраст пациентов со стадией Ta: Me – 69 (59; 70); при стадии T1: Me – 71,5 (63; 74,75); статистически значимые различия не обнаружены ($p = 0,21$).

При этом размер МНИРМП при стадии Ta: Me – 2 (0,6; 3), а при стадии T1: Me – 1,1 (0,35; 2,57), что, возможно, связано и с меньшим числом наблюдений опухолей стадии Ta.

Степень дифференцировки МНИРМП по классификации ВОЗ 1973 года (G1, G2, G3) распределялась следующим образом: 20 опухолей (39,22%) соответствовали G1 образованиям (высокодифференцированным), 22 случая (43,14%) – G2 (умереннодифференцированным), 9 наблюдений (17,65%) – G3 (низкодифференцированным).

Возраст пациентов со степенью дифференцировки МНИРМП G1: Me – 70 (62,75; 73,75); при опухолях G2: Me – 68 (59,75; 80); при опухолях G3: Me – 73 (70,5; 78,0) соответственно.

При сравнении групп со степенью дифференцировки G1 и G2 МНИРМП с помощью непараметрического U-критерия Манна—Уитни статистически значимые различия не обнаружены ($p = 0,89$), такой же результат получен для групп G1/G3 ($p = 0,116$) и G2/G3 ($p = 0,174$).

Размер МНИРМП также возрастал при снижении степени дифференцировки. Размер опухолевых образований при степени G1: Ме – 0,8 (0,42; 2,87); G2: Ме – 0,95 (0,29; 2,57); G3: Ме – 1,8 (1,25; 2,8).

При сравнении групп со степенью дифференцировки G1 и G2 с помощью непараметрического U-критерия Манна—Уитни статистически значимые различия не обнаружены ($p = 0,89$), такой же результат получен для групп G1/G3 ($p = 0,216$) и G2/G3 ($p = 0,188$).

При использовании классификации степени дифференцировки опухоли ВОЗ 2016 года (low-grade, high-grade) выявлено 20 случаев (39,2%) low-grade образований и 31 поражение (60,78%) high-grade.

Возраст пациентов с low-grade поражениями: Ме – 70 (62,75; 73,75); при опухолях high-grade: Ме – 71 (62; 80). Размер опухолей с low-grade дифференцировкой: Ме – 0,8 (0,42; 2,87); у high-grade поражений: Ме – 1,5 (0,5; 2,6).

При сравнении групп с low-grade и high-grade МНИРМП с помощью непараметрического U-критерия Манна—Уитни статистически значимые различия не обнаружены ($p = 0,602$).

При использовании классификации степени дифференцировки опухоли ВОЗ 2022 года выявлено 14 случаев (27,5%) low-grade карцином и 37 поражений (72,5%) high-grade (Рисунок 12, Рисунок 13).

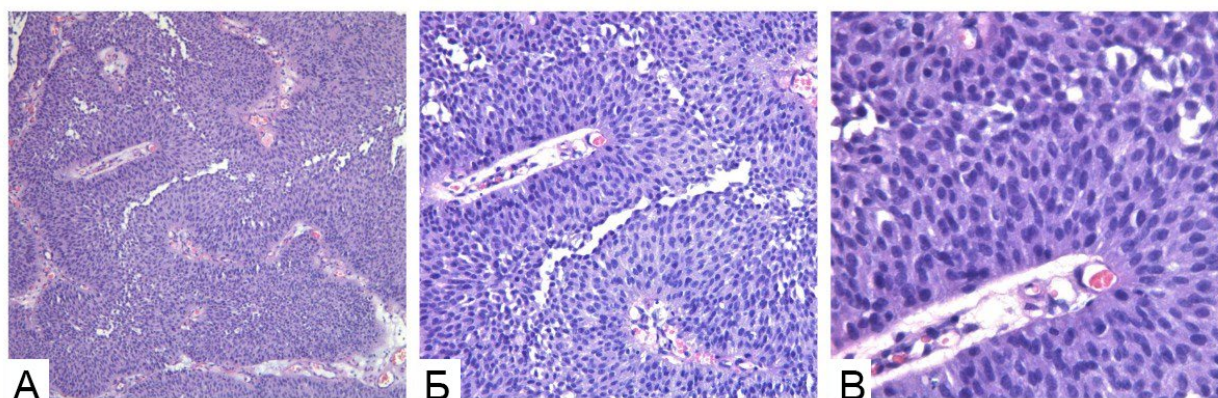


Рисунок 12 – Патоморфологическая картина МНИРМП low-grade (окраска гематоксилином и эозином): а – увеличение $\times 100$; б – увеличение $\times 200$; в – увеличение $\times 400$

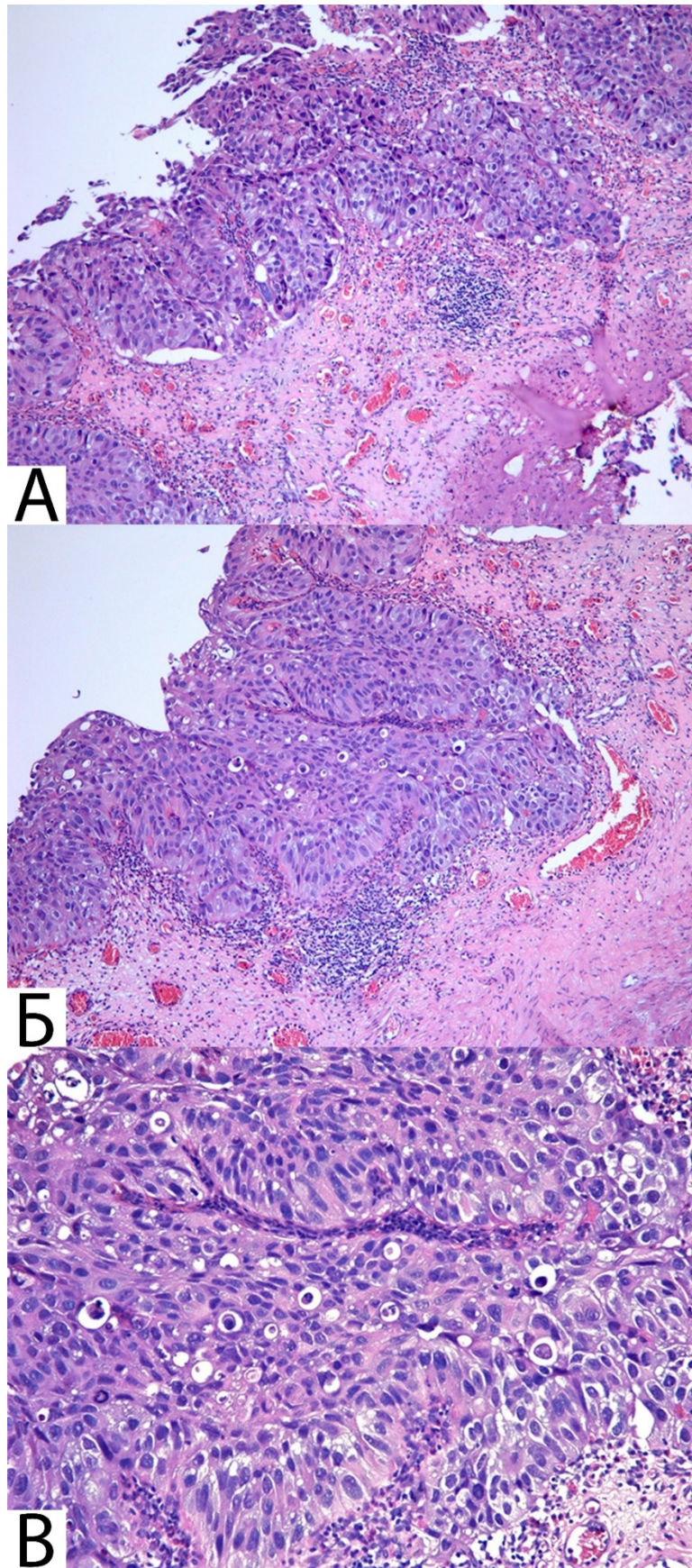


Рисунок 13 – Патоморфологическая картина МНИРМП high-grade (окраска гематоксилином и эозином): а – увеличение $\times 100$; б – увеличение $\times 100$; в – увеличение $\times 200$

При сравнении частоты встречаемости высокой (low-grade) и низкой (high-grade) степеней дифференцировки (ВОЗ 2022 г.) между карциномами, имеющими различную распространенность первичной опухоли (категирию Т: Та и Т1), были выявлены значимые различия ($\chi^2 < 0,001$, V Крамера = 0,532; Таблица 7, Рисунок 14). Выявлено, что Та карциномы чаще были высокодифференцированными (72,7%); опухоли Т1 стадии, напротив, чаще имели high-grade профиль (72,5%).

Таблица 7 – Таблица сопряженности low- и high-grade поражений в карциномах с различной стадией Т

Категория Т		Степень дифференцировки (ВОЗ 2022 г.)		Всего
		Low-grade	High-grade	
Та	Наблюдаемый	8	3	11
	Ожидаемое	3,02	7,98	11,0
	% в строке	72,7 %	27,3 %	100,0 %
	% в столбце	57,1 %	8,1 %	21,6 %
	% от общего количества	15,7 %	5,9 %	21,6 %
Т1	Наблюдаемый	6	34	40
	Ожидаемое	10,98	29,02	40,0
	% в строке	15,0 %	85,0 %	100,0 %
	% в столбце	42,9 %	91,9 %	78,4 %
	% от общего количества	11,8 %	66,7 %	78,4 %
Всего	Наблюдаемый	14	37	51
	Ожидаемое	14,00	37,00	51,0
	% в строке	27,5 %	72,5 %	100,0 %
	% в столбце	100,0 %	100,0 %	100,0 %
	% от общего количества	27,5 %	72,5 %	100,0 %

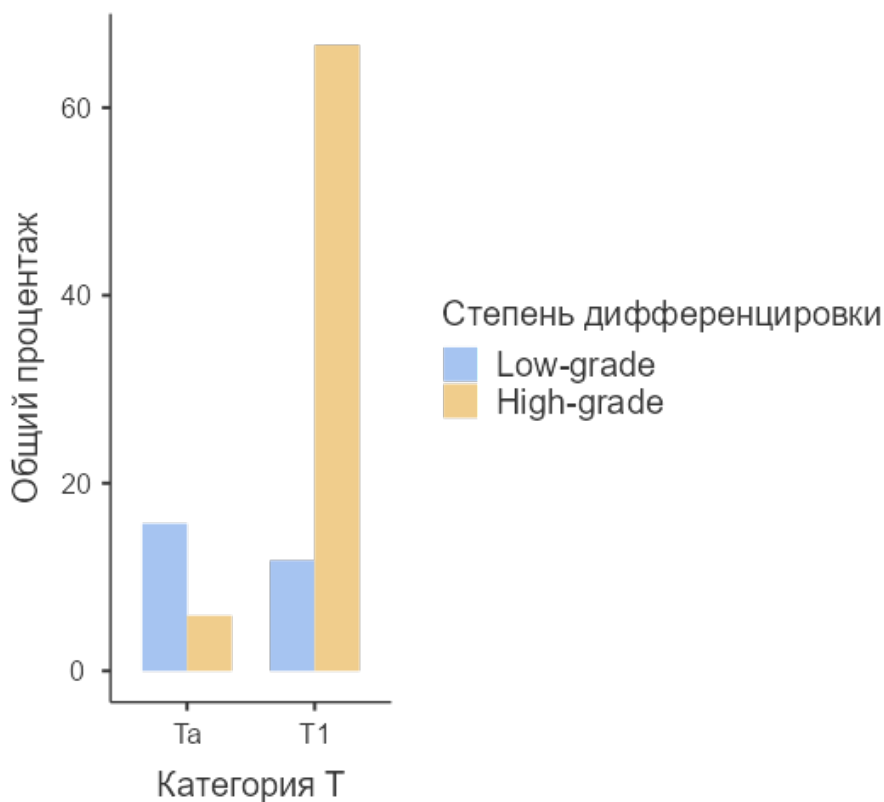


Рисунок 14 – Распределение частоты встречаемости low- и high-grade поражений в карциномах стадий Ta-T1

Глава 3.5. Характеристика IV подгруппы

IV подгруппу составили 34 пациента (26 мужчин и 8 женщин с МИРМП) в возрасте от 44 до 90 лет, Me – 65 (58; 78). Возраст мужчин: Me – 65 (57,5; 76); женщин: Me – 72 (61; 83).

Размер опухолевых поражений у пациентов IV группы не определялся (в протоколах вырезки материала указывались общие размеры «раскускованных» фрагментов опухоли, фиксированных в формалине, что, на наш взгляд, является субоптимальным методом оценки размера опухоли; помимо этого, невозможно объективно установить наибольший размер опухоли ввиду инвазивного характера роста в стенку пузыря).

При сравнении возраста в группах по полу с помощью непараметрического U-критерия Манна—Уитни статистически значимые различия не выявлены ($p > 0,05$).

По локализации МИРМП встречался в треугольнике МП ($n = 2$; 5,88%), боковой стенке МП ($n = 8$; 23,53%), задней стенке МП ($n = 6$; 17,65%), шейке МП ($n = 2$; 5,88%); поражение более одной локализации наблюдалось в 16 случаях (47,06%; Рисунок 15).

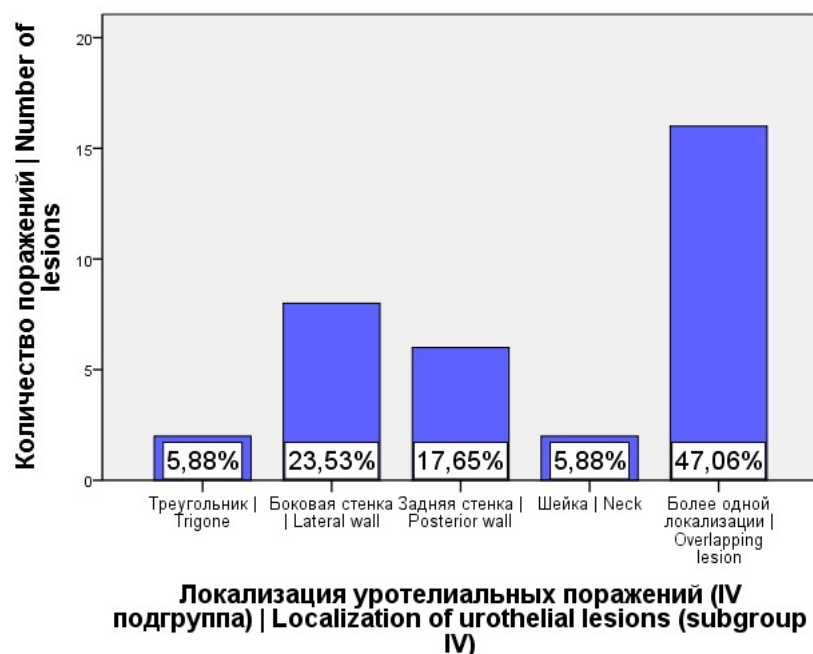


Рисунок 15 – Распределение уротелиальных поражений по локализации в IV подгруппе

Солитарное поражение при МИРМП наблюдалось в 18 случаях (52,94%), мультифокальное – в 16 (47,06%). Возраст пациентов при одиночном поражении: Me – 65 (59,5; 75,25); при множественном: Me – 69 (56,5; 80). Статистически значимые различия при этом не обнаружены ($p = 0,67$).

Во всех наблюдениях (100%) отмечена гематурия.

По уровню инвазии по классификации TNM во всех наблюдениях (100%) установлена стадия T2 (инвазия опухоли в мышечную оболочку МП; Рисунок 16).

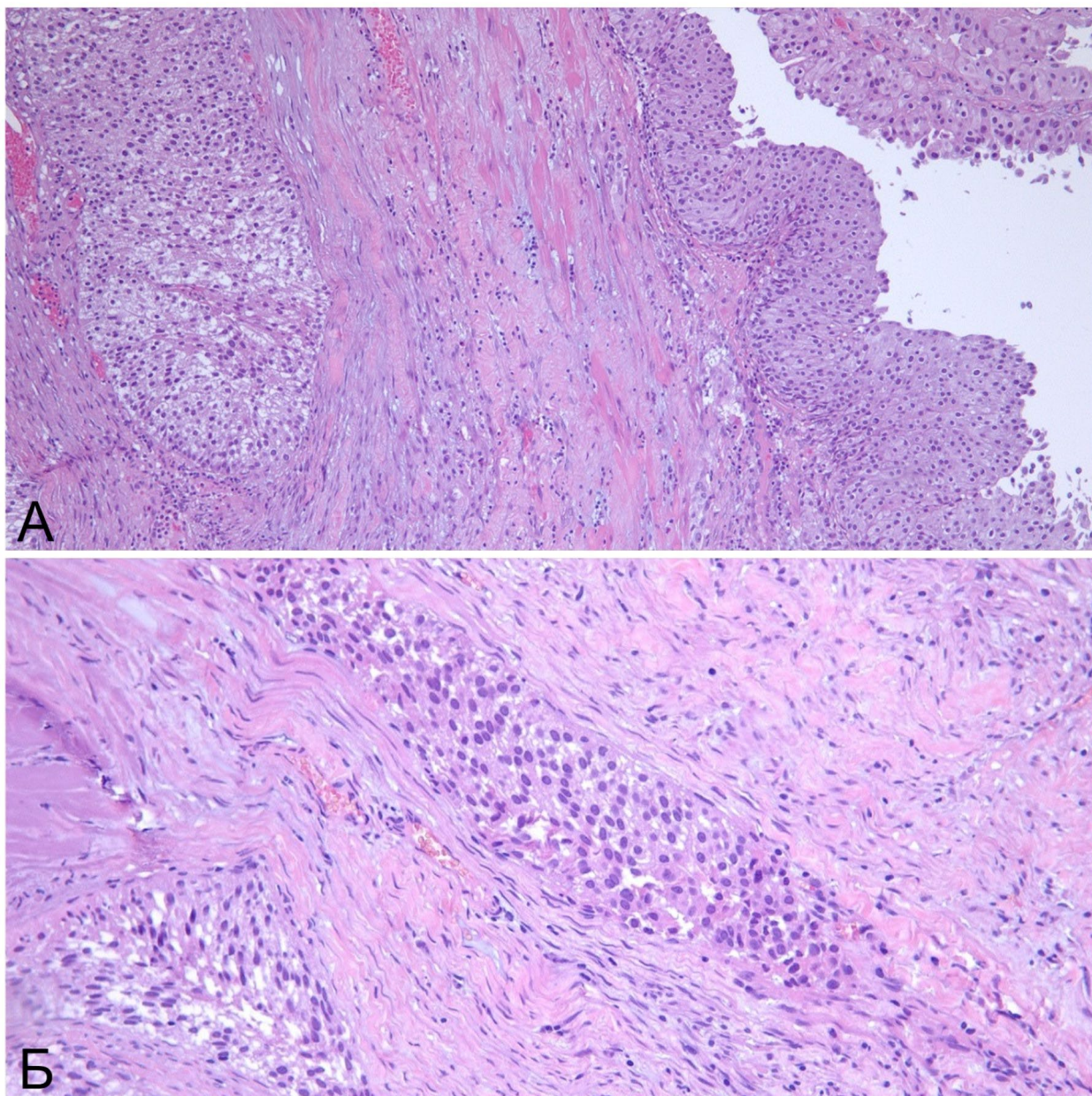


Рисунок 16 – Патоморфологическая картина МИРМП high-grade – инвазия опухоли в мышечный слой (окраска гематоксилином и эозином): а – увеличение $\times 100$; б – увеличение $\times 200$

Степень дифференцировки МИРМП по классификации ВОЗ 1973 года распределялась следующим образом: в 14 случаях (41,18%) наблюдалась степень G2, в оставшихся 20 (58,82%) установлена степень G3, опухоли со степенью дифференцировки G1 в IV подгруппе в нашем исследовании не выявлены.

Возраст пациентов со степенью дифференцировки опухоли G2: Ме – 77 (65; 80), при опухолях G3: Ме – 61 (58; 71).

При сравнении групп (возраст) со степенью дифференцировки G2 и G3 с помощью непараметрического U-критерия Манна—Уитни были выявлены статистически значимые различия: у пациентов более молодого возраста встречался менее дифференцированный МИРМП ($U = 64$; $p = 0,007$) [11].

Все случаи МИРМП (100%) по классификациям ВОЗ от 2016 г. и 2022 г. были отнесены к высокой степени злокачественности (high-grade; Рисунок 17).

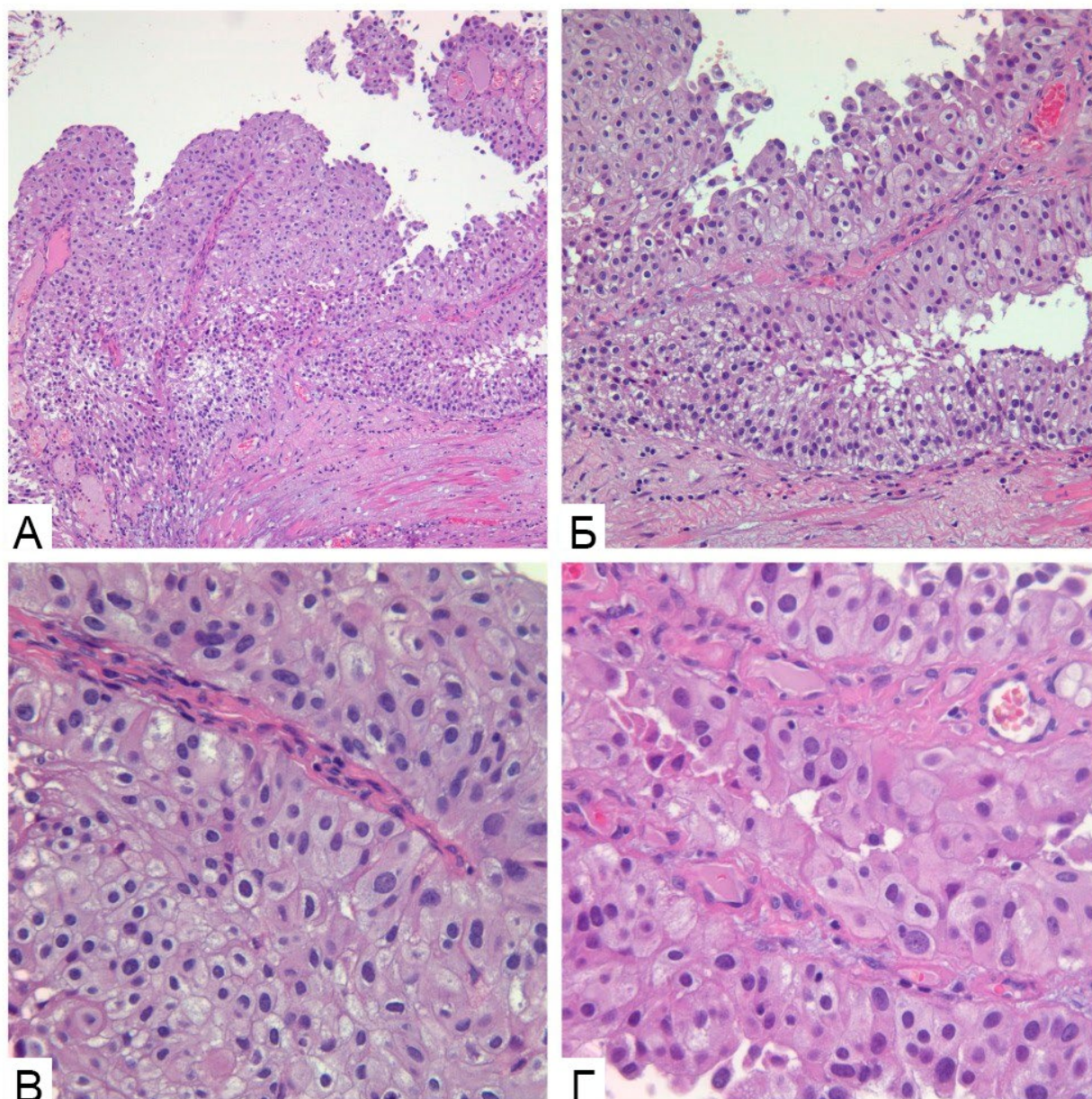


Рисунок 17– Патоморфологическая картина МИРМП high-grade (окраска гематоксилином и эозином): а – увеличение $\times 100$; б – увеличение $\times 200$; в – увеличение $\times 400$; г – увеличение $\times 400$

Дополнительное объединение III и IV подгрупп пациентов показало, что частота встречаемости РМП у мужчин выше, чем у женщин (58 мужчин против 27 женщин; 68,24 и 31,76% соответственно; Рисунок 18).

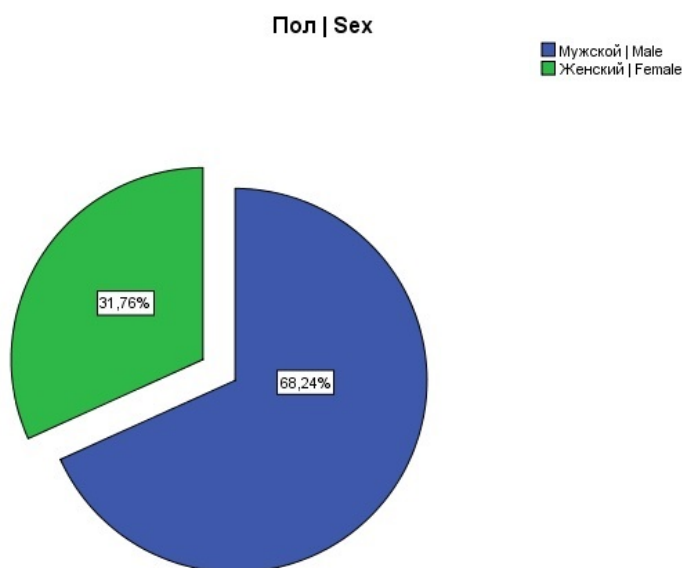


Рисунок 18 – Распределение пациентов с РМП по полу (в %)

Глава 3.6. Результаты иммуногистохимического исследования в I-IV подгруппах

В I подгруппе показатель HScore для маркера CK7 составил от 271 до 292 баллов (Рисунок 19, Рисунок 20, Рисунок 21), среднее значение – $281 \pm 5,85$ балла, медиана Me – 281 (279; 284).

Для подгруппы с дисплазией (II) показатель маркера CK7 варьировал от 252 до 290 баллов (Рисунок 19, Рисунок 20, Рисунок 21), в среднем – $279 \pm 14,5$ балла, Me – 284 (282; 288).

У III подгруппы показатель HScore для маркера CK7 составил от 182 до 293 баллов (Рисунок 19, Рисунок 20, Рисунок 21), среднее значение – $248 \pm 36,4$ балла, Me – 259 (222; 259).

В IV подгруппе показатель маркера СК7 находился в пределах от 287 до 298 баллов (Рисунок 19, Рисунок 20, Рисунок 21), в среднем – $294 \pm 3,73$ балла, Ме – 294 (291; 297).

Экспрессия маркера СК7 во всех группах локализовалась по всей толще уротелиального пласта, характер окрашивания был диффузным, выраженным.

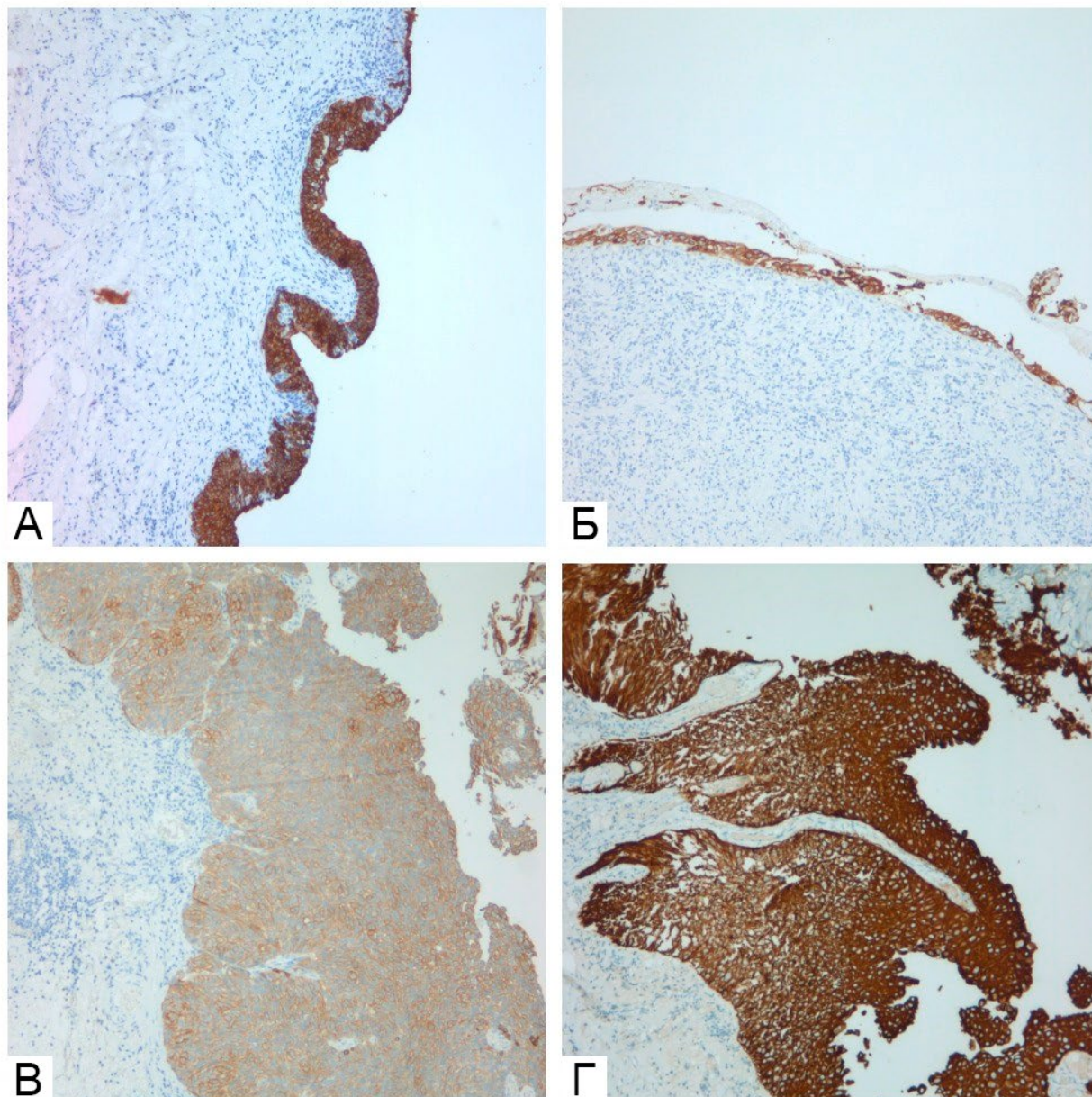


Рисунок 19 – ИГХ: экспрессия СК7 в I-IV подгруппах: а – подгруппа I, $\times 100$; б – подгруппа II, $\times 100$; в – подгруппа III, $\times 100$; г – подгруппа IV, $\times 100$

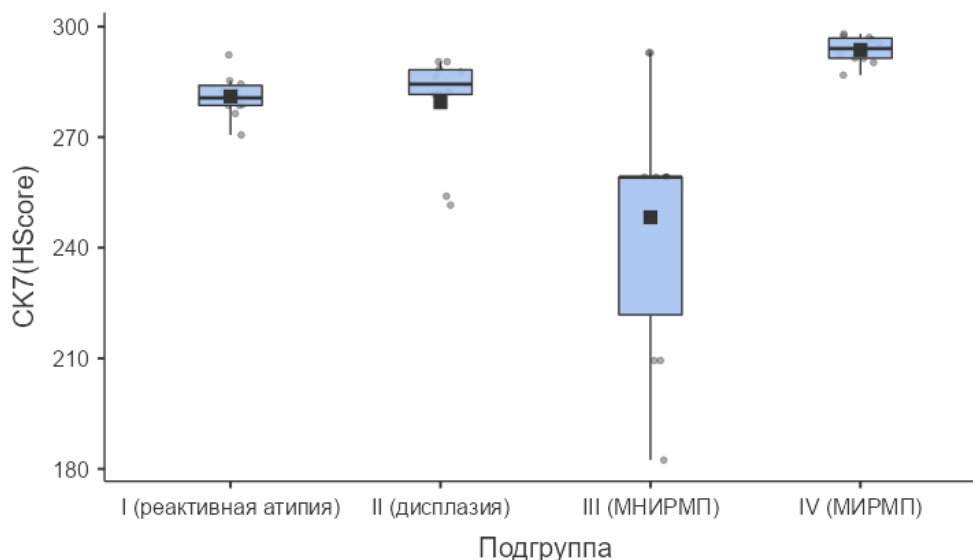


Рисунок 20 – Экспрессия ИГХ-маркера СК7 в I-IV подгруппах (коробчатая диаграмма)

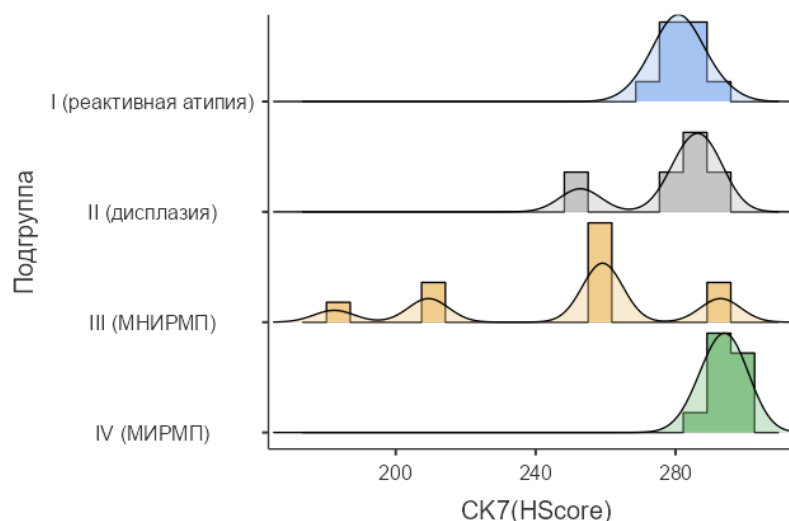


Рисунок 21 – Экспрессия ИГХ-маркера СК7 в I-IV подгруппах (гистограмма)

У подгруппы с реактивной атипией (I) показатель маркера СК20 варьировал от 102 до 290 баллов (Рисунок 22, Рисунок 23, Рисунок 24), в среднем – $214 \pm 94,3$ балла, Me – 285 (106; 287).

В подгруппе II показатель HScore для маркера СК20 составил от 0 до 181 балла (Рисунок 22, Рисунок 23, Рисунок 24), среднее значение – $54,9 \pm 86,9$ балла, Me – 1,8 (0,64; 136).

Для III подгруппы показатель маркера СК20 находился в пределах от 80 до 292 баллов (Рисунок 22, Рисунок 23, Рисунок 24), в среднем – $191 \pm 98,6$ балла, Ме – 210 (83,2; 290).

В IV подгруппе показатель HScore для маркера СК20 составил от 0 до 2 баллов (Рисунок 22, Рисунок 23, Рисунок 24), среднее значение – $0,72 \pm 0,865$ балла, Ме – 0,2 (0; 1,55).

Экспрессия СК20 в случаях реактивной атипии была очаговой, ярковыраженной и локализовалась в зонтичных клетках (10/10). В случаях дисплазии экспрессия СК20 преимущественно была аберрантной – наблюдалось окрашивание глубоких слоев уротелиальных клеток переменной степени интенсивности (6/10); однако в части случаев отмечено полное отсутствие окрашивания (4/10). В мышечно-неинвазивных карциномах наблюдалось как диффузное выраженное окрашивание (5/10), так и диффузное окрашивание слабой-умеренной степени интенсивности (5/10). В МНИРМП реакция с СК20 преимущественно была негативной (9/10).

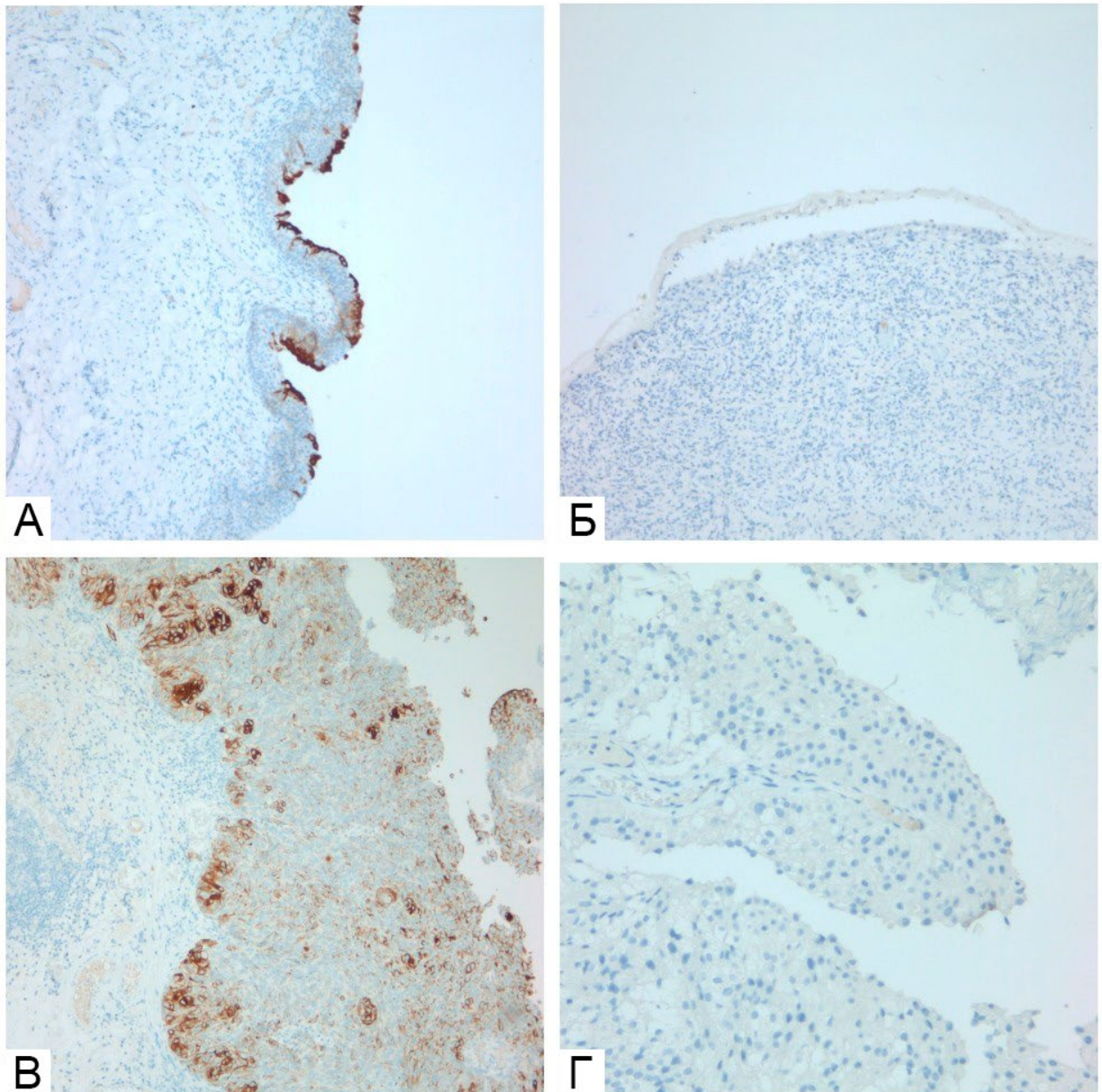


Рисунок 22 – ИГХ: экспрессия СК20 в I-IV подгруппах: а – подгруппа I, $\times 100$; б – подгруппа II, $\times 100$; в – подгруппа III, $\times 100$; г – подгруппа IV, $\times 200$

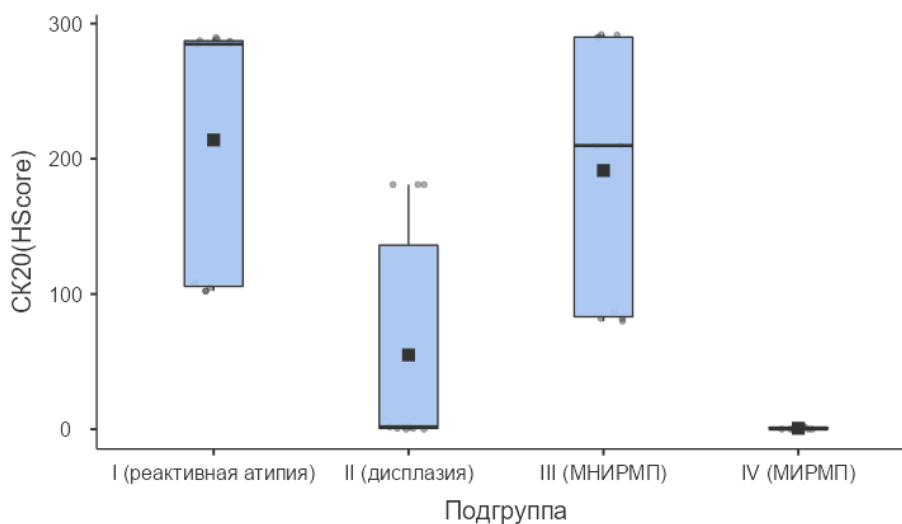


Рисунок 23 – Экспрессия ИГХ-маркера СК20 в I-IV подгруппах (коробчатая диаграмма)

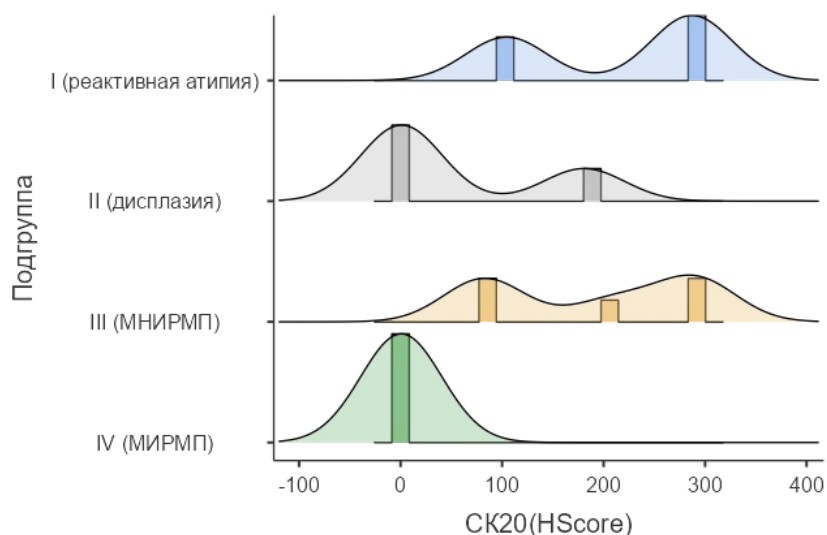


Рисунок 24 – Экспрессия ИГХ-маркера СК20 в I-IV подгруппах (гистограмма)

В I подгруппе показатель маркера пролиферации Ki-67 составил от 5,8 до 12,6% (Рисунок 25, Рисунок 26, Рисунок 27), среднее значение – $8,86 \pm 2,08\%$, Me – 8,2% (8,05%; 9,1%).

У II подгруппы показатель маркера Ki-67 находился в пределах от 0 до 40,2% (Рисунок 25, Рисунок 26, Рисунок 27), в среднем – $9,42 \pm 15,6\%$, Me – 1,1% (0,25%; 7,1%).

В подгруппе с МНИРМП показатель маркера Ki-67 варьировал от 2,8 до 23% (Рисунок 25, Рисунок 26, Рисунок 27), среднее значение – $17,8 \pm 7,96\%$, Me – 21% (21%; 21,5%).

Для IV подгруппы показатель маркера Ki-67 составил от 47,8 до 55% (Рисунок 25, Рисунок 26, Рисунок 27), в среднем – $52,2 \pm 2,77\%$, Me – 53,6% (49,5%; 54,4%).

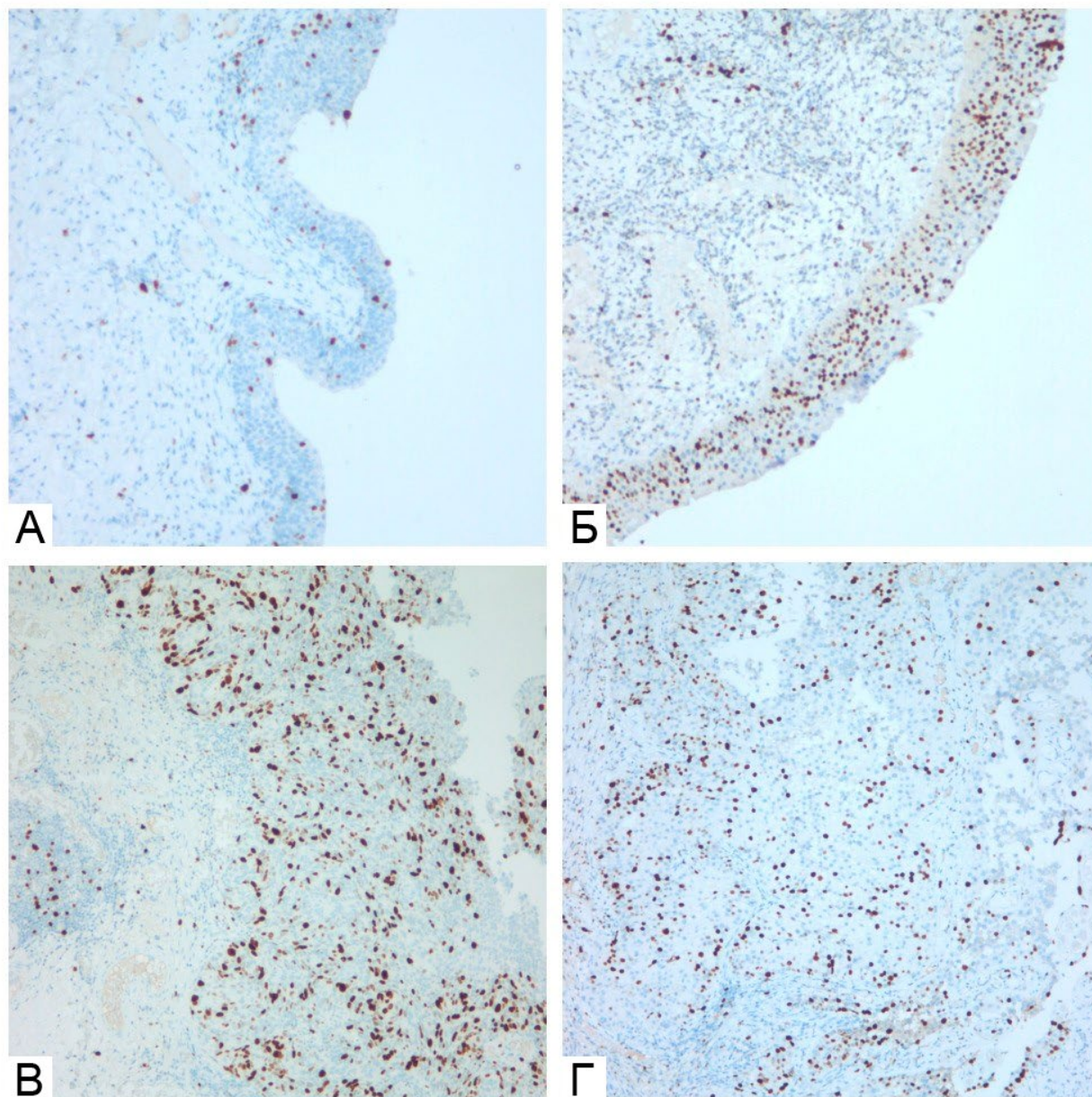


Рисунок 25 – ИГХ: индекс пролиферации Ki-67 в I-IV подгруппах: а – подгруппа I, $\times 100$; б – подгруппа II, $\times 100$; в – подгруппа III, $\times 100$; г – подгруппа IV, $\times 100$

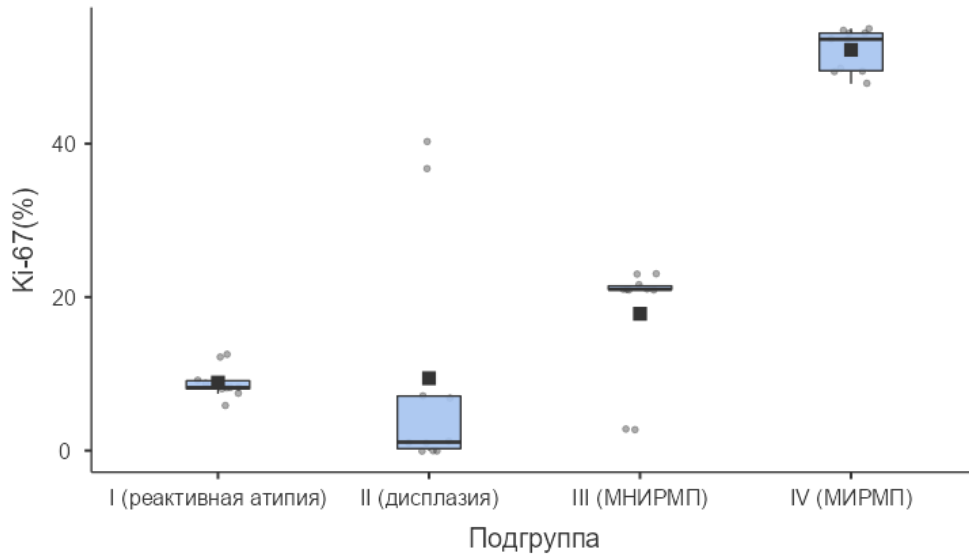


Рисунок 26 – Экспрессия ИГХ-маркера Ki-67 в I-IV подгруппах (коробчатая диаграмма)

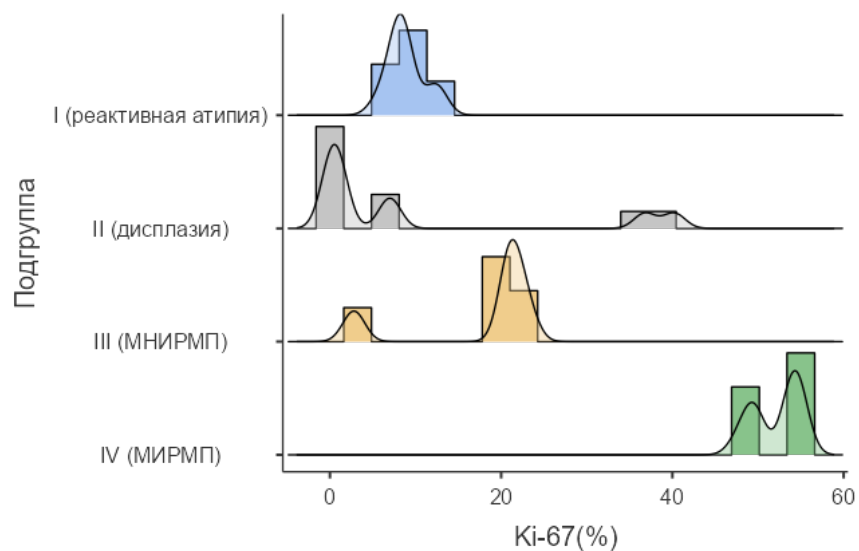


Рисунок 27 – Экспрессия ИГХ-маркера Ki-67 в I-IV подгруппах (гистограмма)

В I подгруппе показатель HScore для маркера p53 составил от 3,26 до 59 баллов (Рисунок 28, Рисунок 29, Рисунок 30), в среднем – $25,6 \pm 28,8$ балла, Me – 3,26 (3,26; 59).

Для II подгруппы показатель маркера p53 варьировал от 15,4 до 159 баллов (Рисунок 28, Рисунок 29, Рисунок 30), среднее значение – $91,6 \pm 56,8$ балла, Me – 101 (36,7; 125).

У III подгруппы показатель HScore для маркера p53 составил от 6,24 до 23,9 баллов (Рисунок 28, Рисунок 29, Рисунок 30), в среднем – $15,4 \pm 5,33$ балла, Me – 17,1 (15,9; 17,1).

В подгруппе с МИРМП (IV) показатель маркера p53 находился в пределах от 117 до 121 балла (Рисунок 28, Рисунок 29, Рисунок 30), среднее значение – $119 \pm 1,1$ балла, Me – 119 (119; 120).

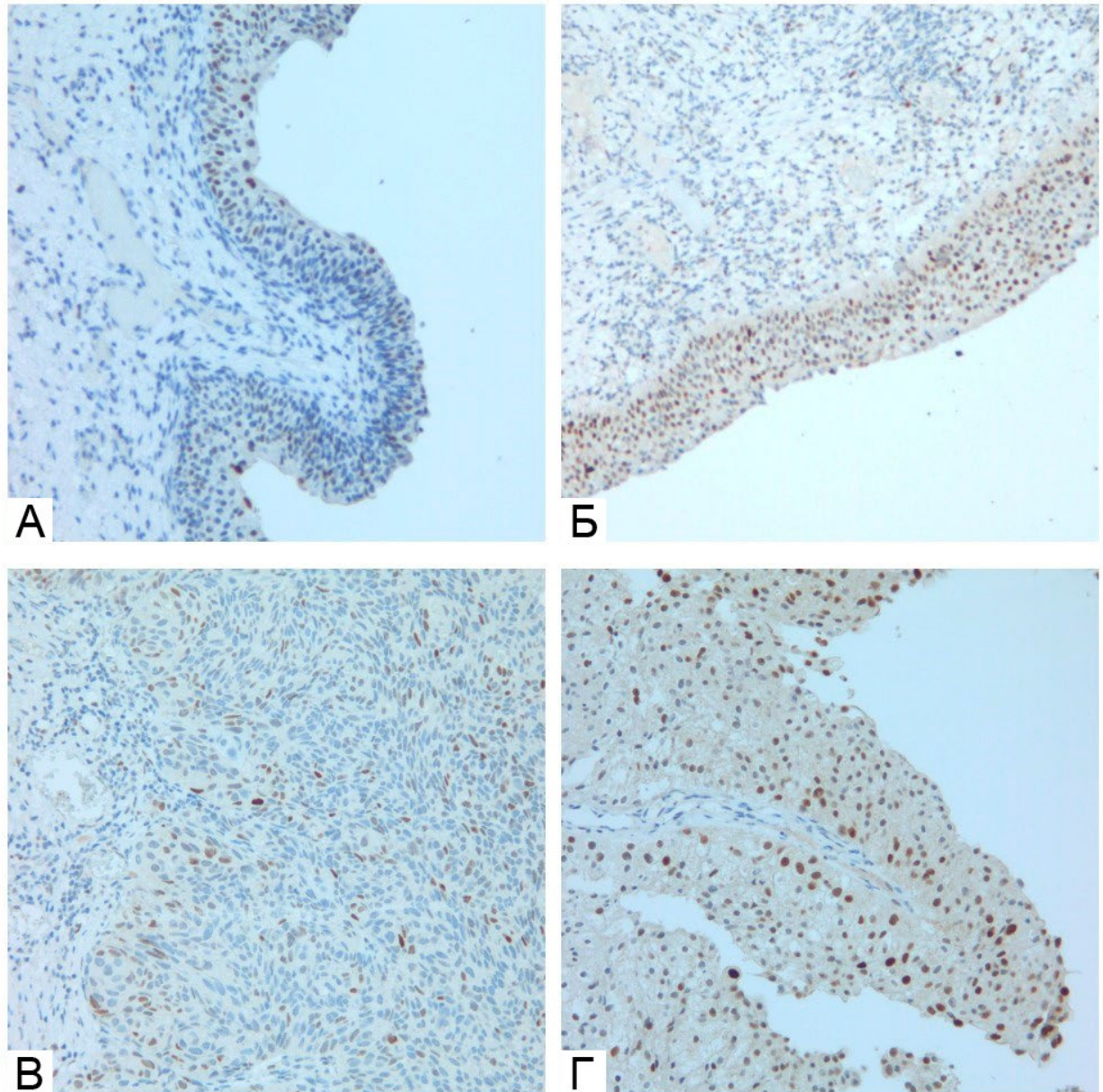


Рисунок 28 – ИГХ: экспрессия p53 в I-IV подгруппах: а – подгруппа I, $\times 200$; б – подгруппа II, $\times 200$; в – подгруппа III, $\times 200$; г – подгруппа IV, $\times 200$

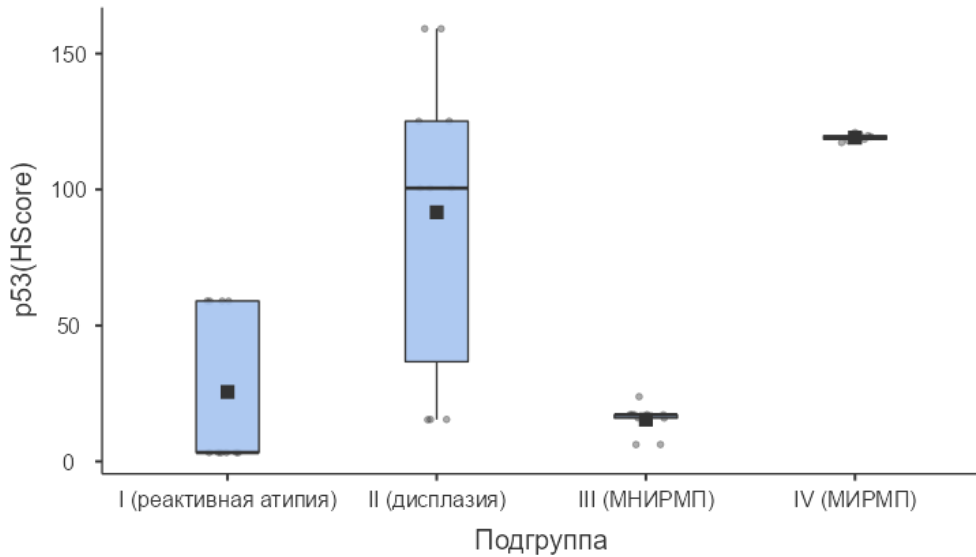


Рисунок 29 – Экспрессия ИГХ-маркера p53 в I-IV подгруппах (коробчатая диаграмма)

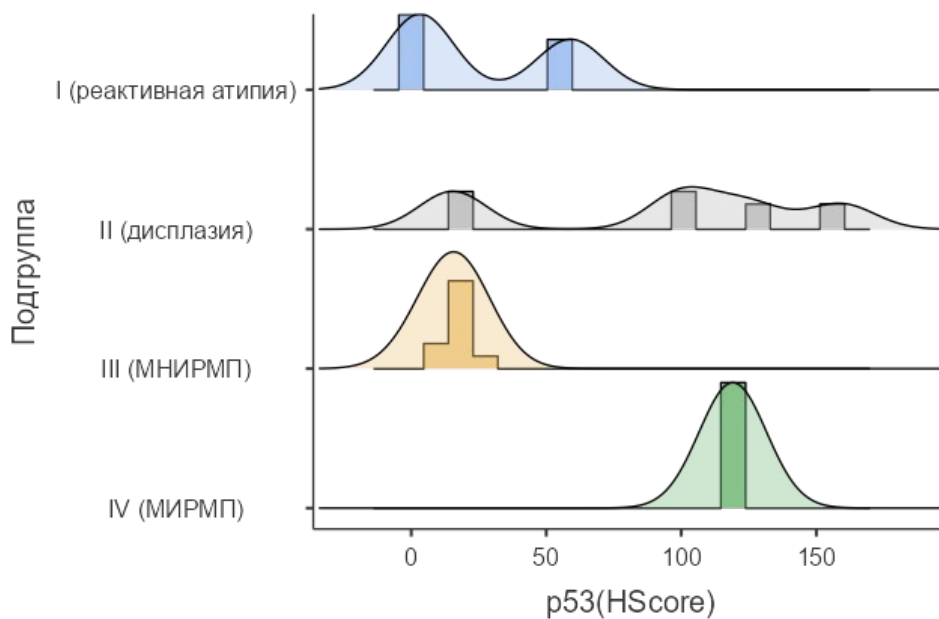


Рисунок 30 – Экспрессия ИГХ-маркера p53 в I-IV подгруппах (гистограмма)

Для I подгруппы показатель маркера CD44 варьировал от 19,6 до 178 баллов (Рисунок 31, Рисунок 32, Рисунок 33), среднее значение – $144 \pm 65,7$ балла, Me – 175 (173; 176).

В подгруппе II показатель HScore для маркера CD44 составил от 1,6 до 279 баллов (Рисунок 31, Рисунок 32, Рисунок 33), в среднем – 137 ± 117 балла, Me – 104 (27,5; 248).

У III подгруппы показатель маркера CD44 находился в пределах от 147 до 232 баллов (Рисунок 31, Рисунок 32, Рисунок 33), среднее значение – $207 \pm 30,4$ балла, Me – 220 (184; 230).

В IV подгруппе показатель HScore для маркера CD44 составил от 22,2 до 24,4 баллов (Рисунок 31, Рисунок 32, Рисунок 33), в среднем – $23,4 \pm 0,867$ балла, Me – 23 (22,8; 24,4).

Экспрессия CD44 в случаях реактивной атипии была диффузной и затрагивала все слои уротелиального пласта (10/10). В случаях дисплазии окрашивание различной степени интенсивности наблюдалось в базальных слоях уротелия (10/10), в части полей зрения окрашивание полностью отсутствовало. В мышечно-неинвазивных карциномах наблюдалось диффузное окрашивание с переменной интенсивностью (10/10). В МНИРМП реакция с CD44 преимущественно была негативной (8/10), в 2 случаях наблюдалось слабое окрашивание базальных слоев уротелиальных клеток.

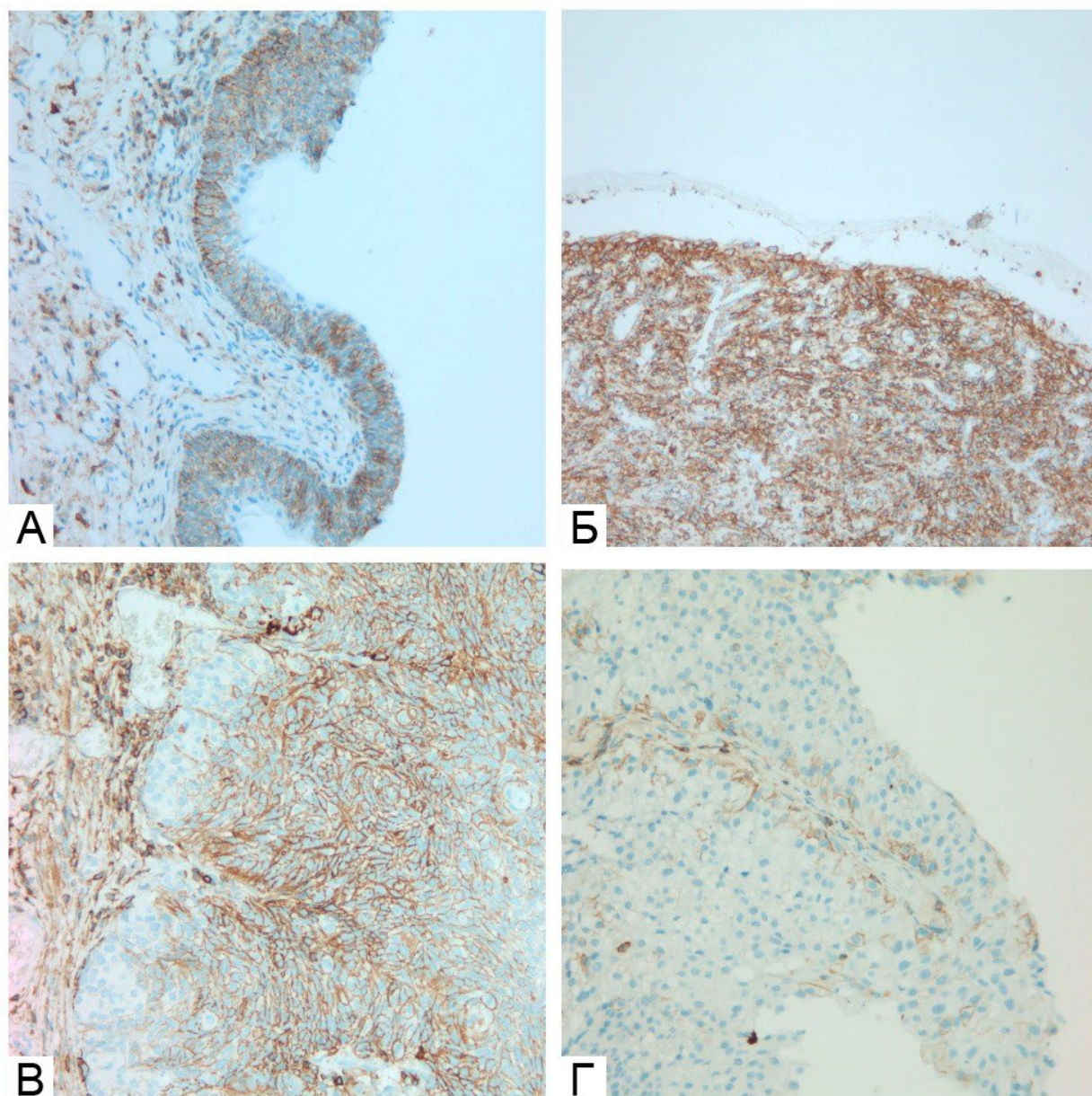


Рисунок 31 – ИГХ: экспрессия CD44 в I-IV подгруппах: а – подгруппа I, $\times 200$; б – подгруппа II, $\times 100$; в – подгруппа III, $\times 200$; г – подгруппа IV, $\times 200$

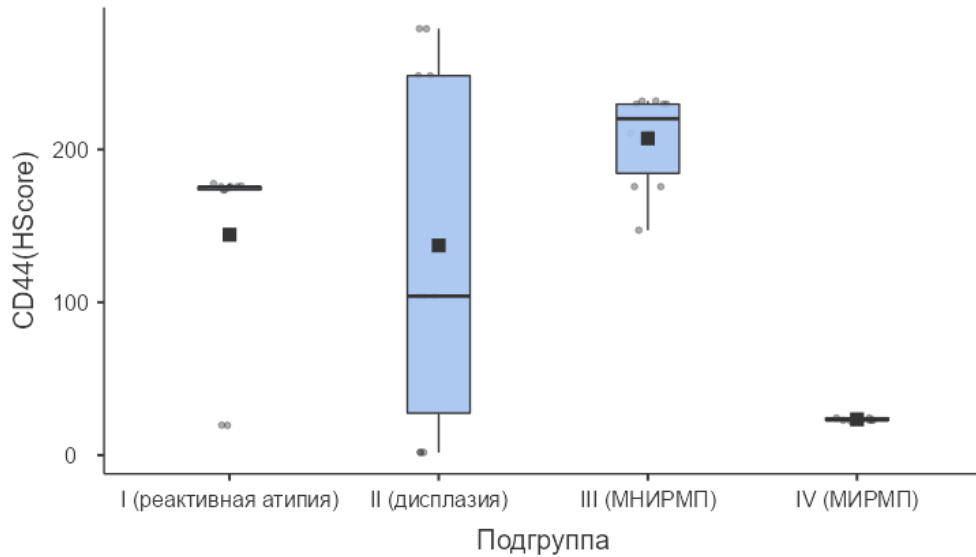


Рисунок 32 – Экспрессия ИГХ-маркера CD44 в I-IV подгруппах (коробчатая диаграмма)

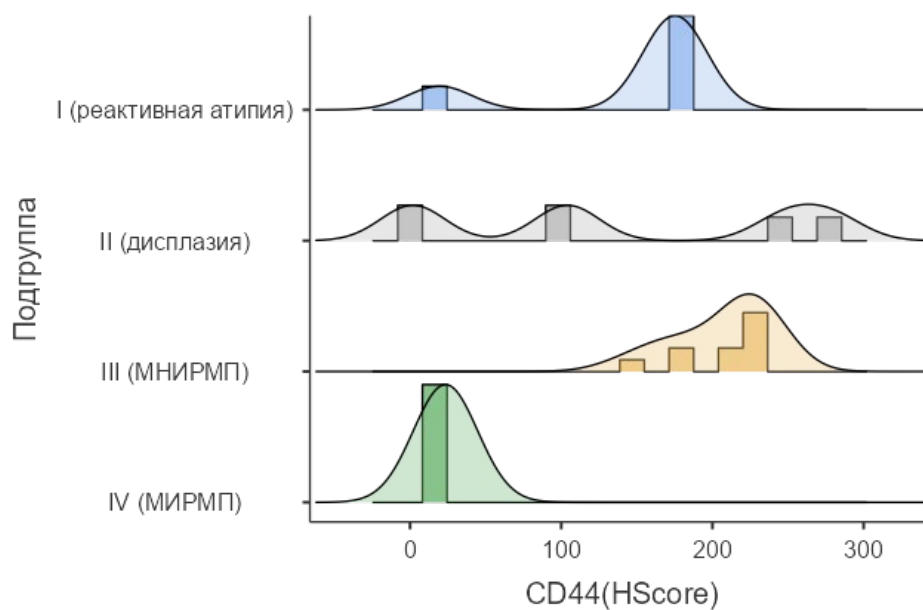


Рисунок 33 – Экспрессия ИГХ-маркера CD44 в I-IV подгруппах (гистограмма)

В I подгруппе показатель HScore для маркера Vcl-2 составил от 0 до 111 баллов (Рисунок 34, Рисунок 35, Рисунок 36), в среднем – $87,4 \pm 46,1$ балла, Me – 109 (108; 110).

У II подгруппы показатель маркера Vcl-2 находился в пределах от 0 до 11,5 баллов (Рисунок 34, Рисунок 35, Рисунок 36), среднее значение – $2,44 \pm 4,77$ балла, Me – 0 (0; 0,79).

В подгруппе III показатель HScore для маркера Vcl-2 варьировал от 0 до 150 баллов (Рисунок 34, Рисунок 35, Рисунок 36), в среднем – $71,1 \pm 75$ баллов, Ме – 67,3 (0; 141).

Во всех наблюдениях в IV подгруппе реакция с маркером Vcl-2 была негативной (HScore = 0; Рисунок 34, Рисунок 35, Рисунок 36).

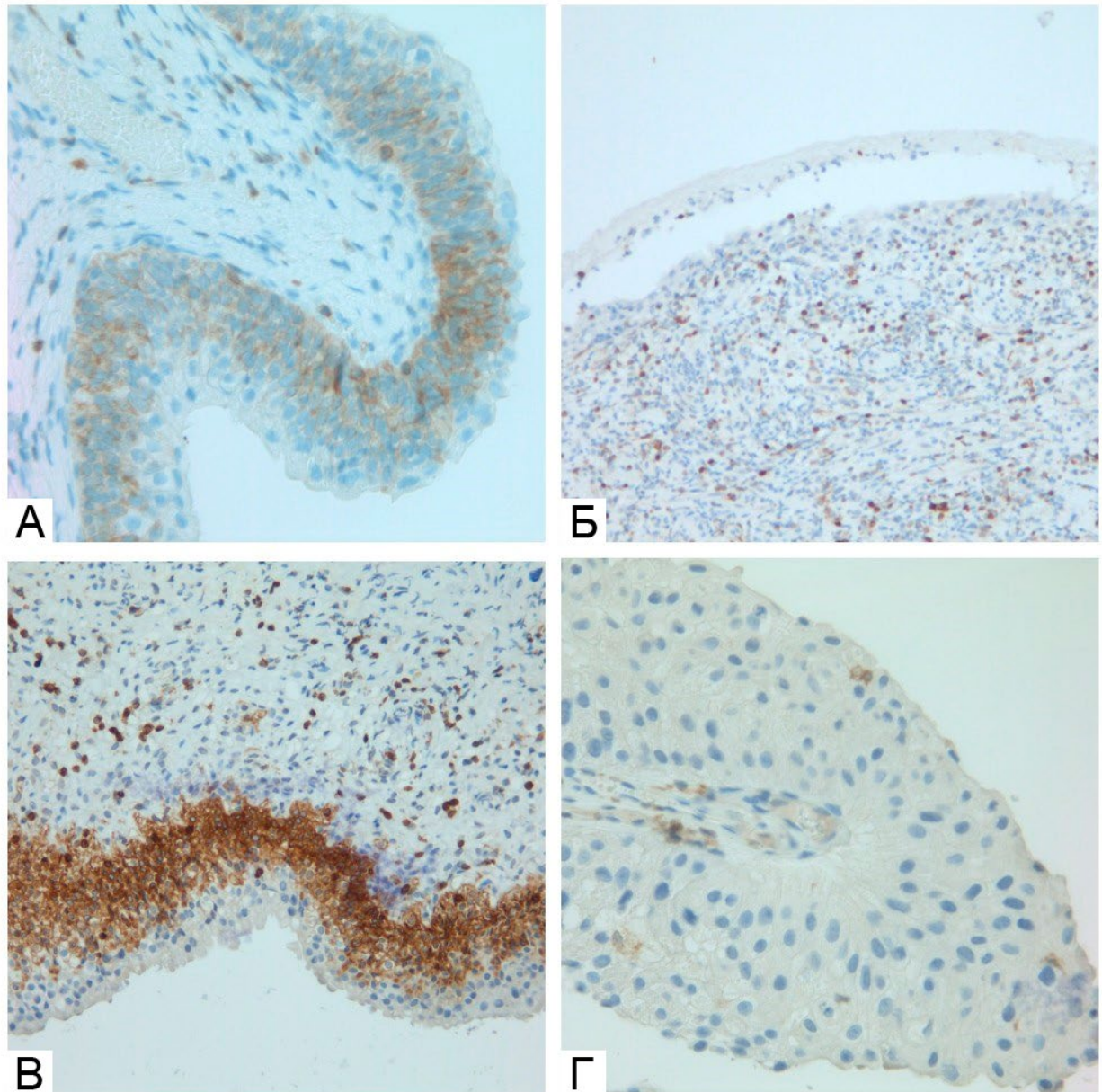


Рисунок 34 – ИГХ: экспрессия Vcl-2 в I-IV подгруппах: а – подгруппа I, $\times 400$; б – подгруппа II, $\times 200$; в – подгруппа III, $\times 200$; г – подгруппа IV, $\times 400$

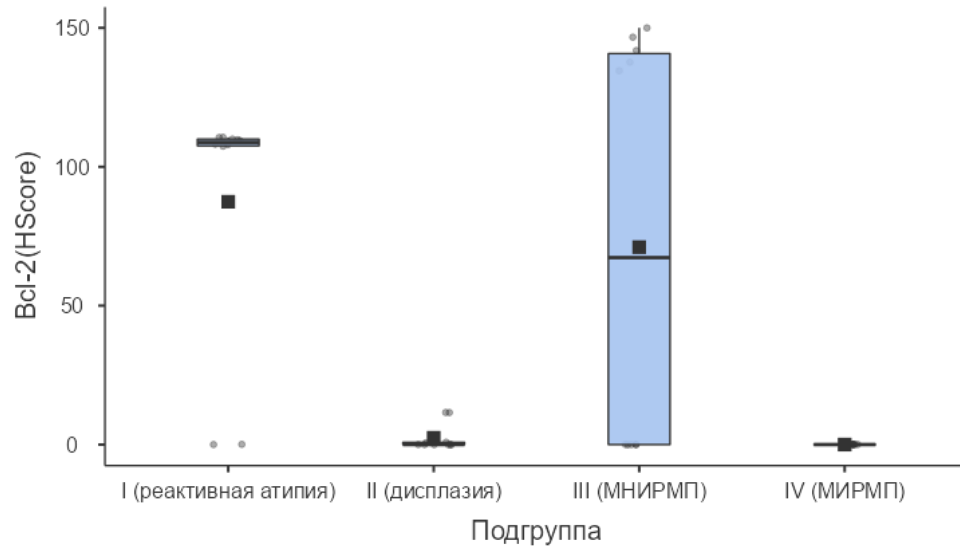


Рисунок 35 – Экспрессия ИГХ-маркера Vcl-2 в I-IV подгруппах (коробчатая диаграмма)

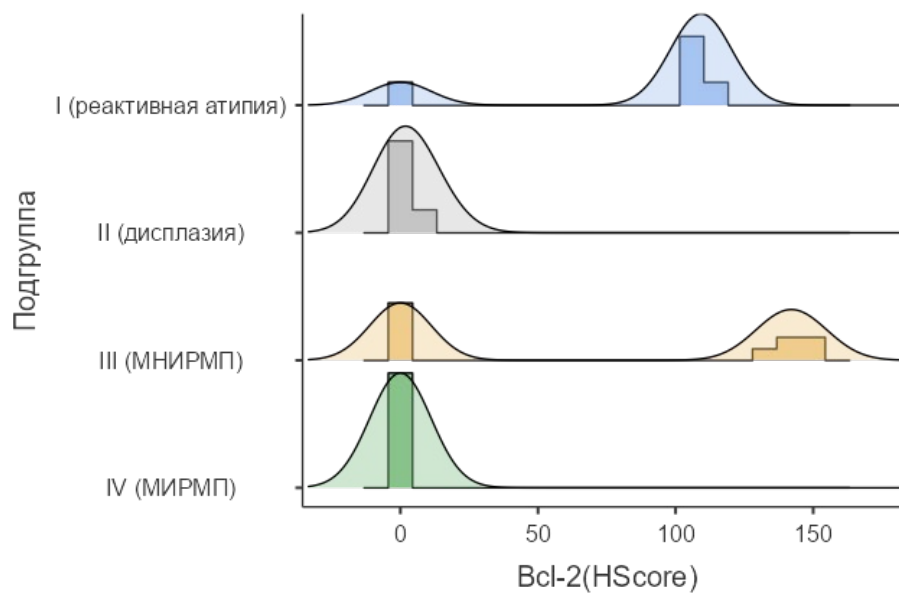


Рисунок 36 – Экспрессия ИГХ-маркера Vcl-2 в I-IV подгруппах (гистограмма)

Во всех наблюдениях I подгруппы обнаружена экспрессия маркера HER2, равная 1 баллу (Рисунок 37, Рисунок 38, Рисунок 39).

Для подгруппы II реакция с маркером HER2 была негативной (балльный показатель равен 0; Рисунок 37, Рисунок 38, Рисунок 39).

У III подгруппы показатель маркера HER2 варьировал от 1 до 2 баллов (Рисунок 37, Рисунок 38, Рисунок 39), среднее значение – $1,5 \pm 0,527$ балла, Ме – 1,5 (1; 2).

В подгруппе IV показатель маркера HER2 составил от 0 до 1 балла (Рисунок 37, Рисунок 38, Рисунок 39), в среднем – $0,3 \pm 0,483$ балла, Ме – 0 (0; 0,75).

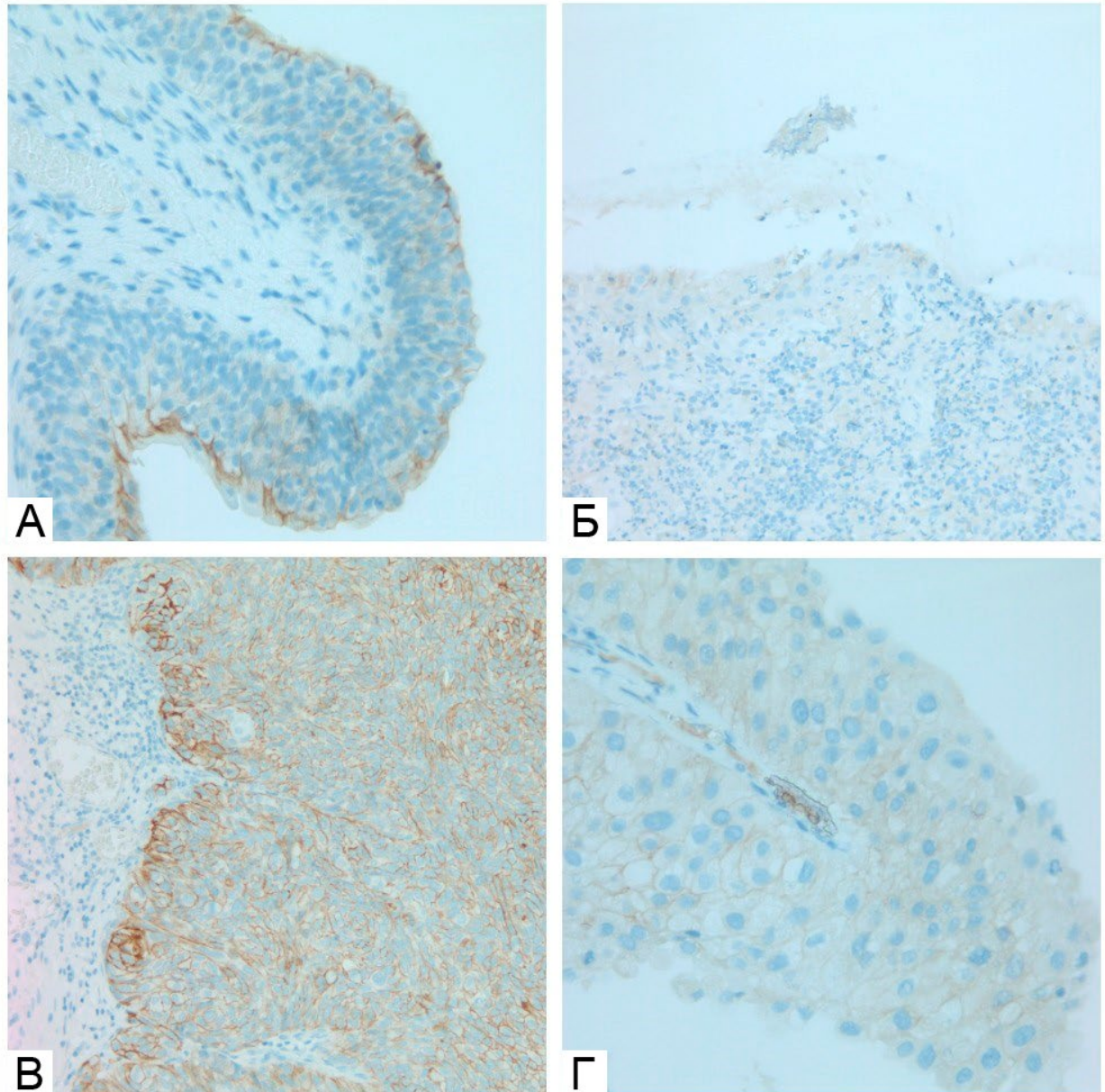


Рисунок 37 – ИГХ: экспрессия HER2 в I-IV подгруппах: а – подгруппа I, $\times 400$; б – подгруппа II, $\times 200$; в – подгруппа III, $\times 200$; г – подгруппа IV, $\times 400$

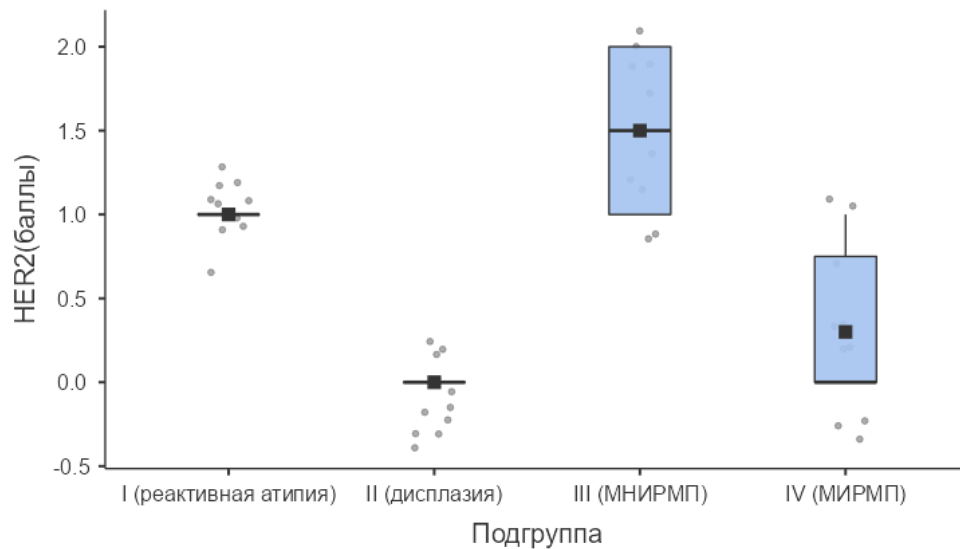


Рисунок 38 – Экспрессия ИГХ-маркера HER2 в I-IV подгруппах (коробчатая диаграмма)

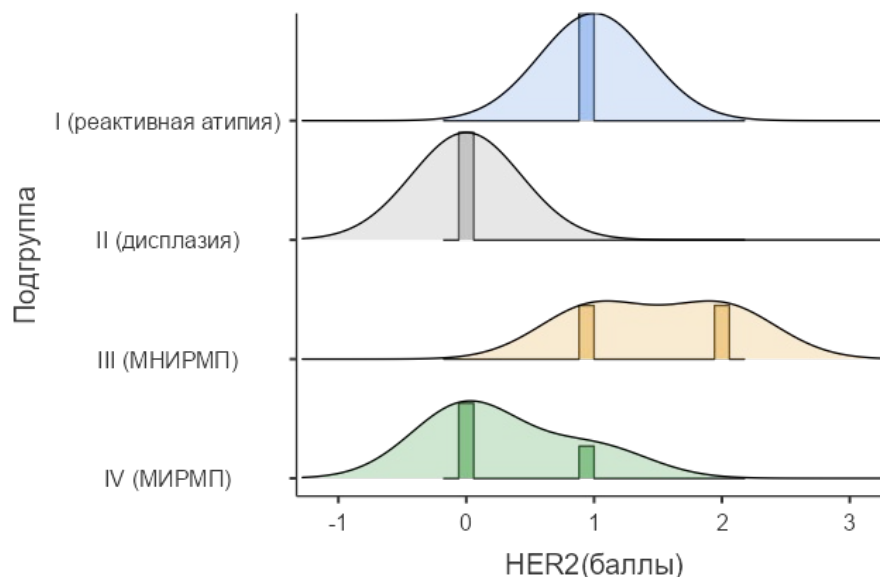


Рисунок 39 – Экспрессия ИГХ-маркера HER2 в I-IV подгруппах (гистограмма)

В I подгруппе показатель HScore для маркера Uroplakin III составил от 23,9 до 29,2 баллов (Рисунок 40, Рисунок 41, Рисунок 42), в среднем – $27,2 \pm 1,89$ балла, Me – 27,6 (26,9; 28,5).

Во всех наблюдениях в подгруппе дисплазии (II) реакция с маркером Uroplakin III была негативной (HScore = 0; Рисунок 40, Рисунок 41, Рисунок 42).

У III подгруппы показатель HScore для маркера Uroplakin III составил от 8,28 до 46,9 баллов (Рисунок 40, Рисунок 41, Рисунок 42), в среднем – $21,8 \pm 14,3$ балла, Me – 19,4 (10,7; 21,8).

Для подгруппы IV реакция с маркером Uroplakin III была негативной во всех исследованных случаях (HScore = 0; Рисунок 40, Рисунок 41, Рисунок 42).

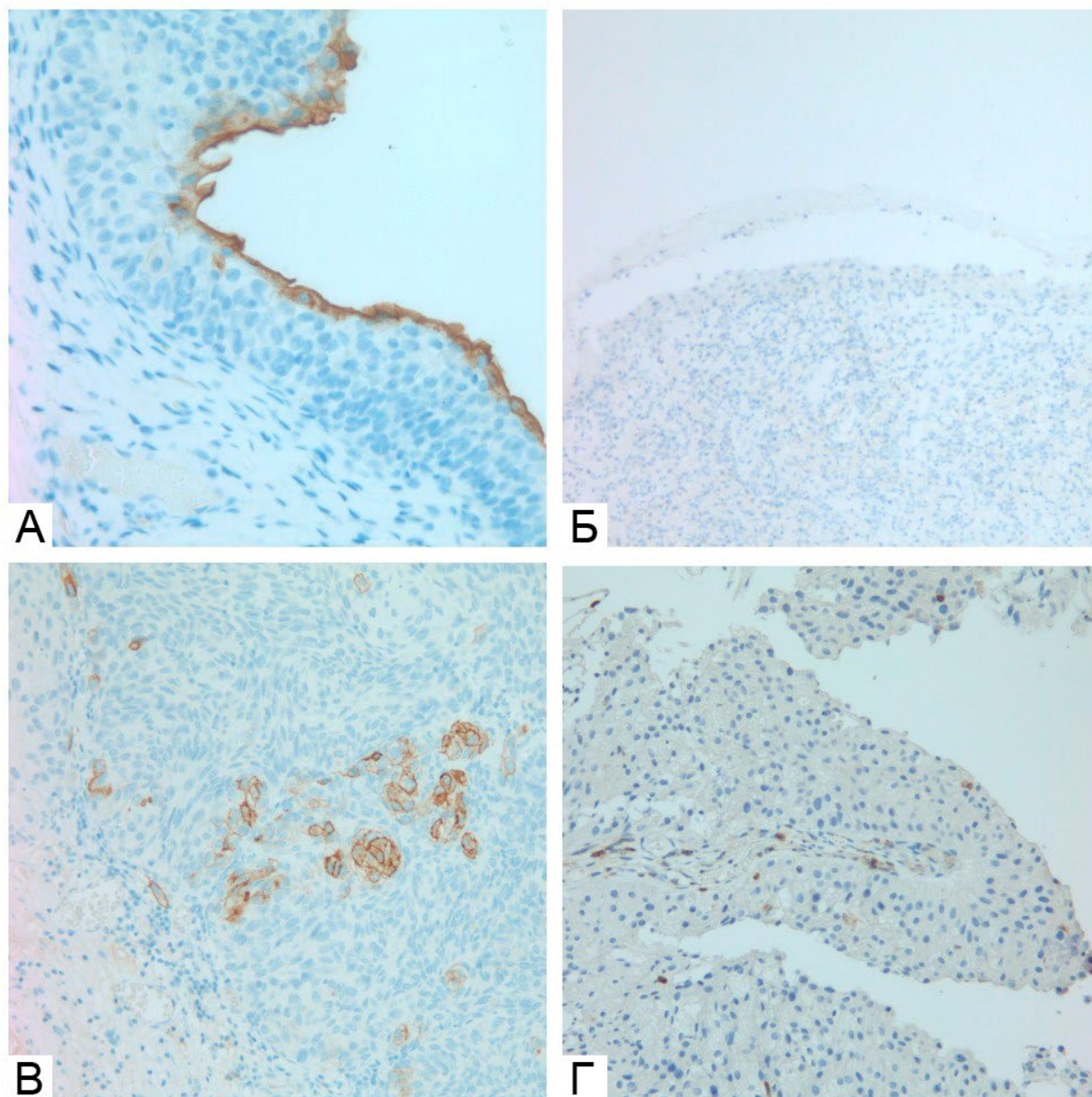


Рисунок 40 – ИГХ: экспрессия Uroplakin III в I-IV подгруппах: а – подгруппа I, $\times 400$; б – подгруппа II, $\times 200$; в – подгруппа III, $\times 200$; г – подгруппа IV, $\times 400$

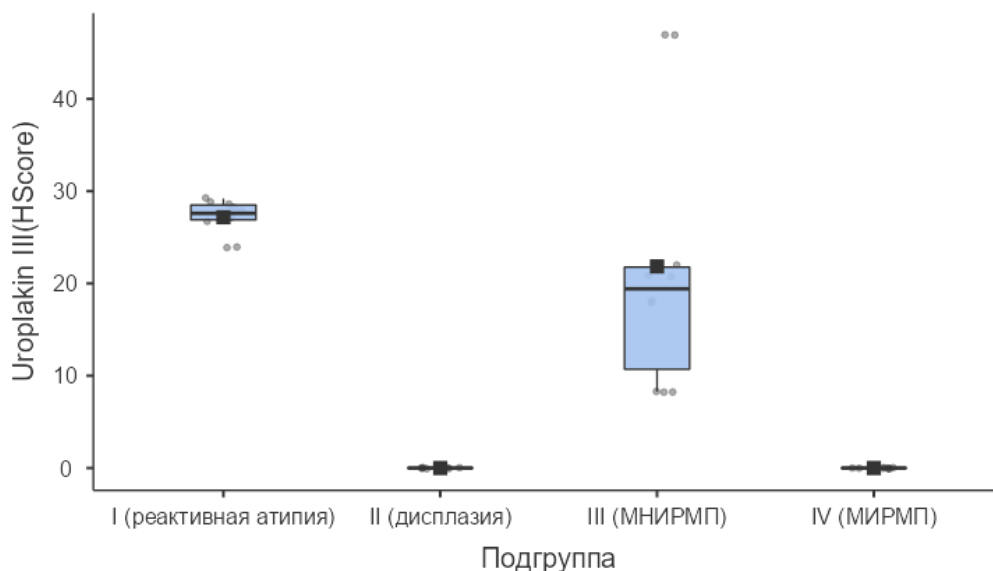


Рисунок 41 – Экспрессия ИГХ-маркера Uroplakin III в I-IV подгруппах (коробчатая диаграмма)

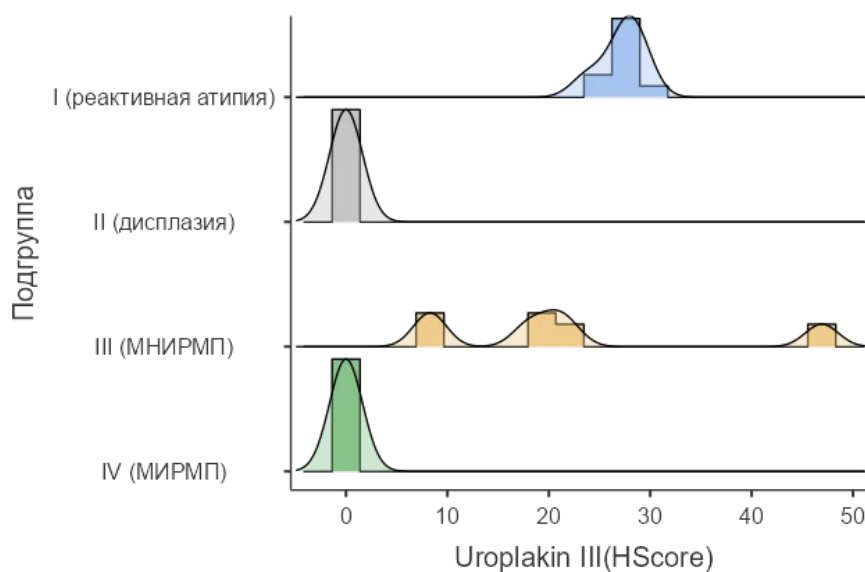


Рисунок 42 – Экспрессия ИГХ-маркера Uroplakin III в I-IV подгруппах (гистограмма)

Для I подгруппы показатель маркера FGFR3 находился в пределах от 243 до 254 баллов (Рисунок 43, Рисунок 44, Рисунок 45), среднее значение – $248 \pm 4,56$ балла, Me – 249 (243; 250).

В подгруппе II показатель HScore для маркера FGFR3 составил от 117 до 253 баллов (Рисунок 43, Рисунок 44, Рисунок 45), в среднем – $169 \pm 65,9$ балла, Me – 118 (118; 237).

У III подгруппы показатель маркера FGFR3 варьировал от 105 до 252 баллов (Рисунок 43, Рисунок 44, Рисунок 45), среднее значение – $155 \pm 56,8$ балла, Me – 130 (111; 174).

В IV подгруппе показатель HScore для маркера FGFR3 составил от 243 до 251 балла (Рисунок 43, Рисунок 44, Рисунок 45), в среднем – $246 \pm 2,81$ балла, Me – 246 (244; 249).

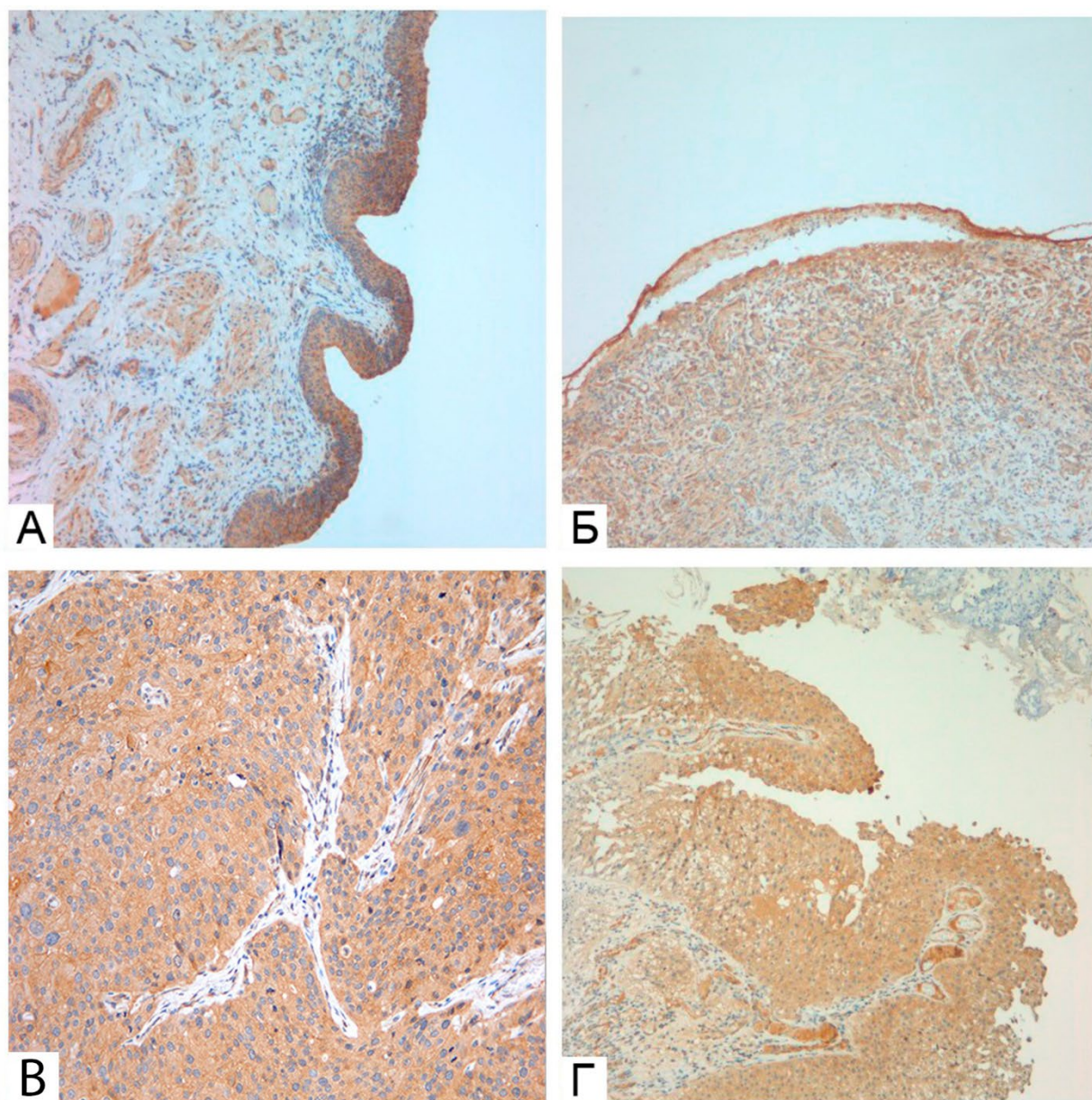


Рисунок 43 – ИГХ: экспрессия FGFR3 в I-IV подгруппах: а – подгруппа I, $\times 100$; б – подгруппа II, $\times 100$; в – подгруппа III, $\times 100$; г – подгруппа IV, $\times 100$

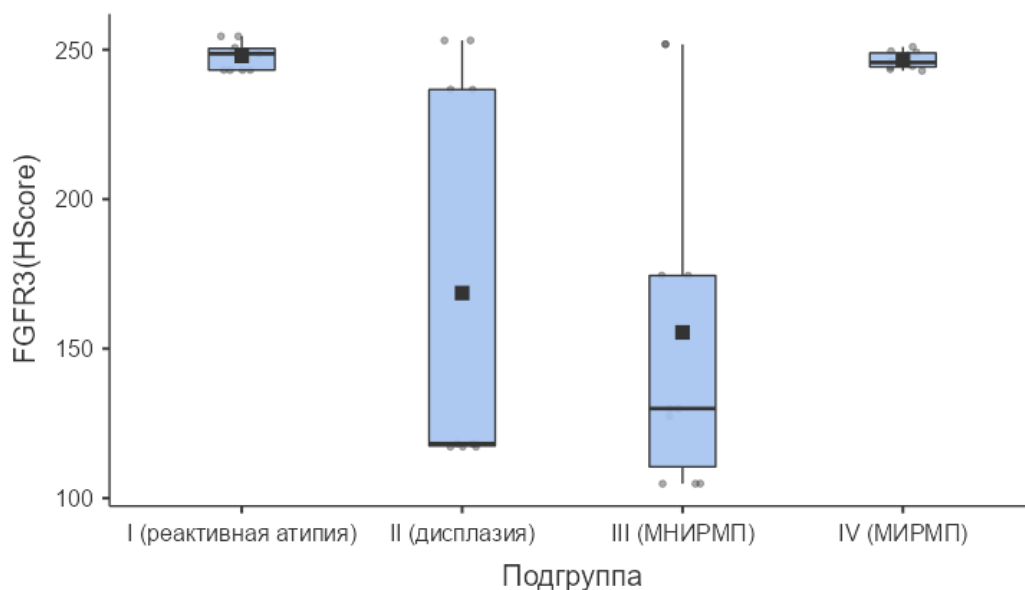


Рисунок 44 – Экспрессия ИГХ-маркера FGFR3 в I-IV подгруппах (коробчатая диаграмма)

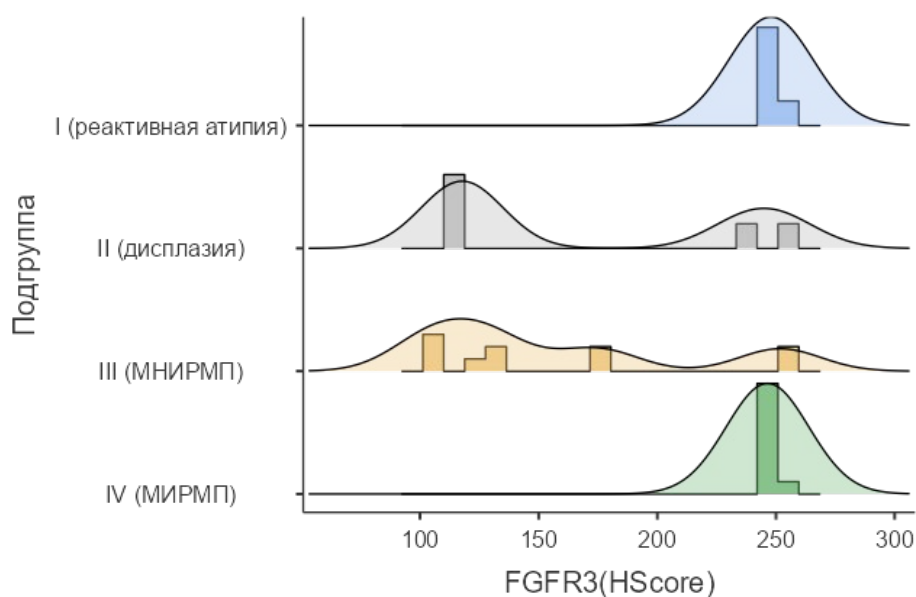


Рисунок 45 – Экспрессия ИГХ-маркера FGFR3 в I-IV подгруппах (гистограмма)

В I подгруппе показатель HScore для маркера PTEN варьировал от 154 до 292 баллов (Рисунок 46, Рисунок 47, Рисунок 48), в среднем – $265 \pm 58,4$ балла, Me – 292 (292; 292).

У II подгруппы показатель маркера PTEN составил от 157 до 289 баллов (Рисунок 46, Рисунок 47, Рисунок 48), среднее значение – $195 \pm 53,1$ балла, Me – 163 (158; 205).

Для III подгруппы показатель HScore для маркера PTEN находился в пределах от 152 до 292 баллов (Рисунок 46, Рисунок 47, Рисунок 48), в среднем – $198 \pm 51,2$ балла, Me – 182 (182; 182).

В подгруппе IV показатель маркера PTEN составил от 201 до 210 баллов (Рисунок 46, Рисунок 47, Рисунок 48), среднее значение – $206 \pm 3,71$ балла, Me – 204 (203; 210).

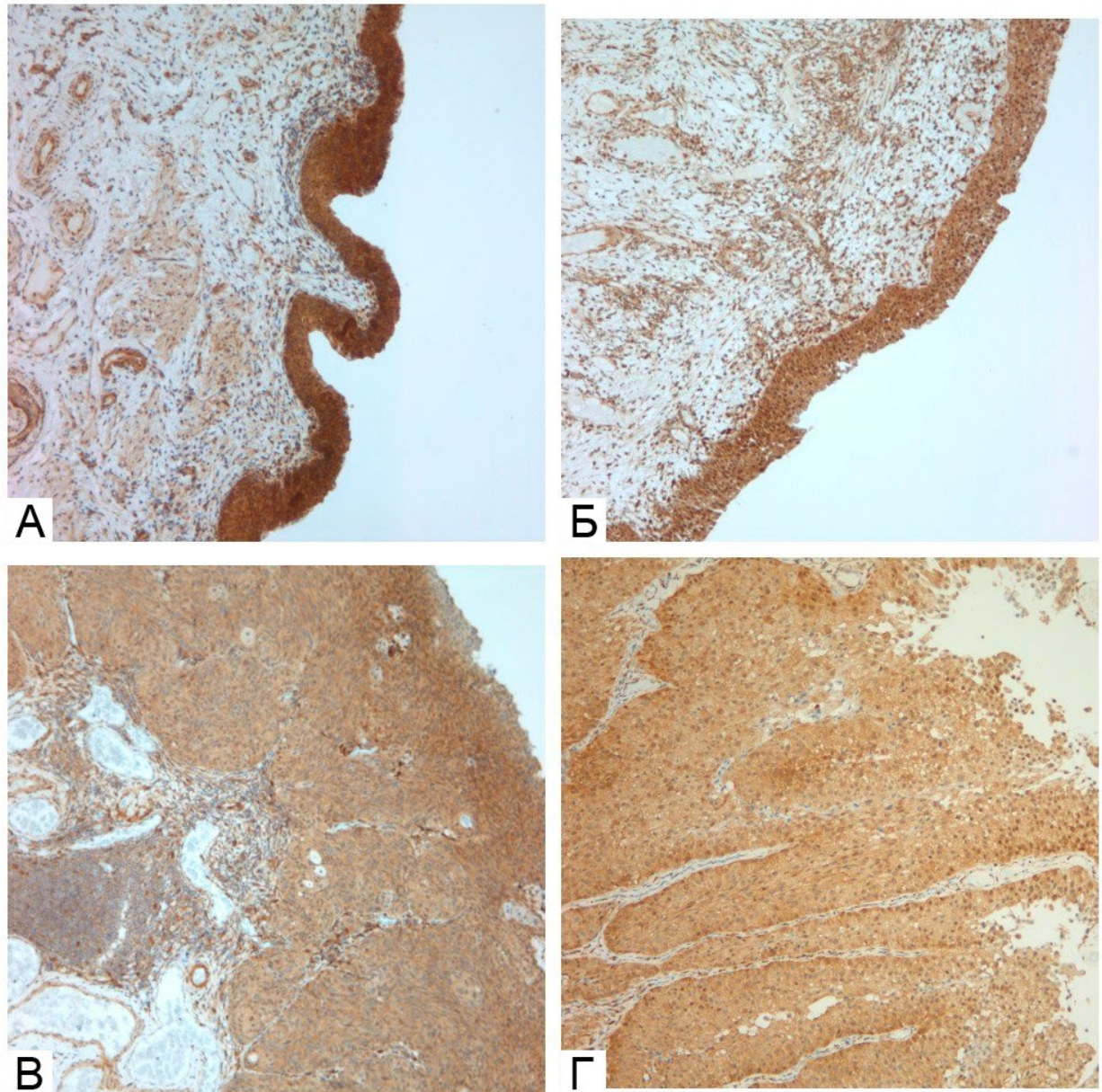


Рисунок 46 – ИГХ: экспрессия PTEN в I-IV подгруппах: а – подгруппа I, $\times 100$; б – подгруппа II, $\times 100$; в – подгруппа III, $\times 100$; г – подгруппа IV, $\times 100$

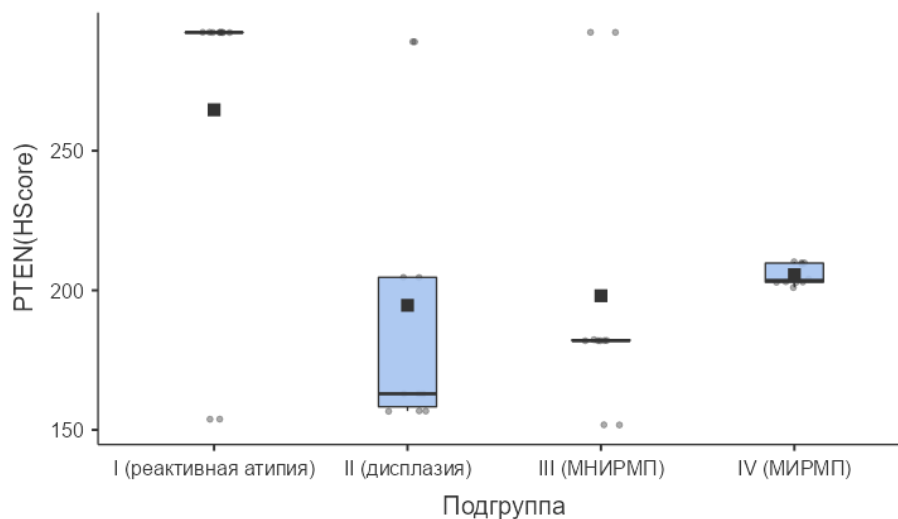


Рисунок 47 – Экспрессия ИГХ-маркера РТЕН в I-IV подгруппах (коробчатая диаграмма)

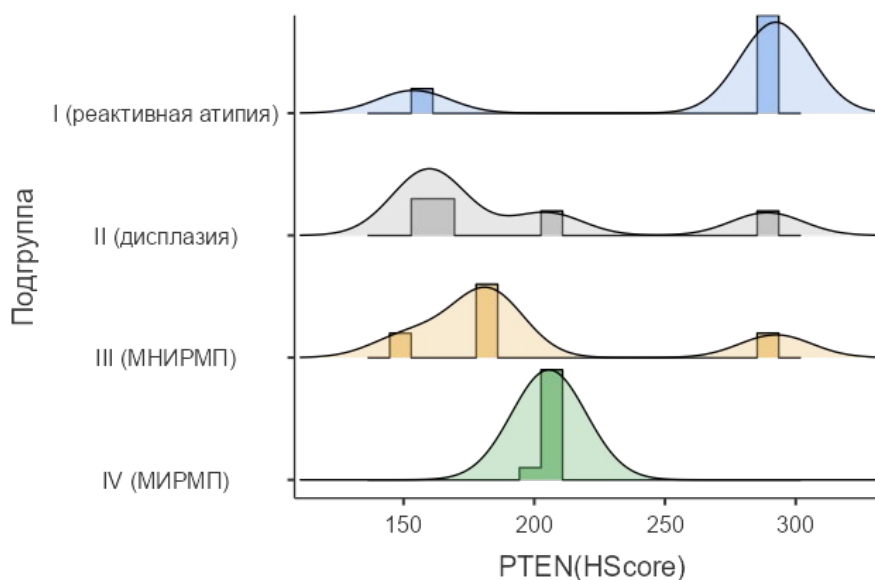


Рисунок 48 – Экспрессия ИГХ-маркера РТЕН в I-IV подгруппах (гистограмма)

Для I подгруппы показатель маркера GATA3 составил от 294 до 297 баллов (Рисунок 49, Рисунок 50, Рисунок 51), среднее значение – $296 \pm 0,967$ балла, Me – 295 (295; 296).

В подгруппе II показатель HScore для маркера GATA3 находился в пределах от 170 до 292 баллов (Рисунок 49, Рисунок 50, Рисунок 51), в среднем – $231 \pm 62,7$ балла, Me – 232 (171; 291).

У III подгруппы показатель маркера GATA3 варьировал от 288 до 292 баллов (Рисунок 49, Рисунок 50, Рисунок 51), среднее значение – $290 \pm 1,42$ балла, Me – 289 (289; 291).

В IV подгруппе показатель HScore для маркера GATA3 составил от 285 до 291 балла (Рисунок 49, Рисунок 50, Рисунок 51), в среднем – $288 \pm 1,66$ балла, Me – 288 (287; 288).

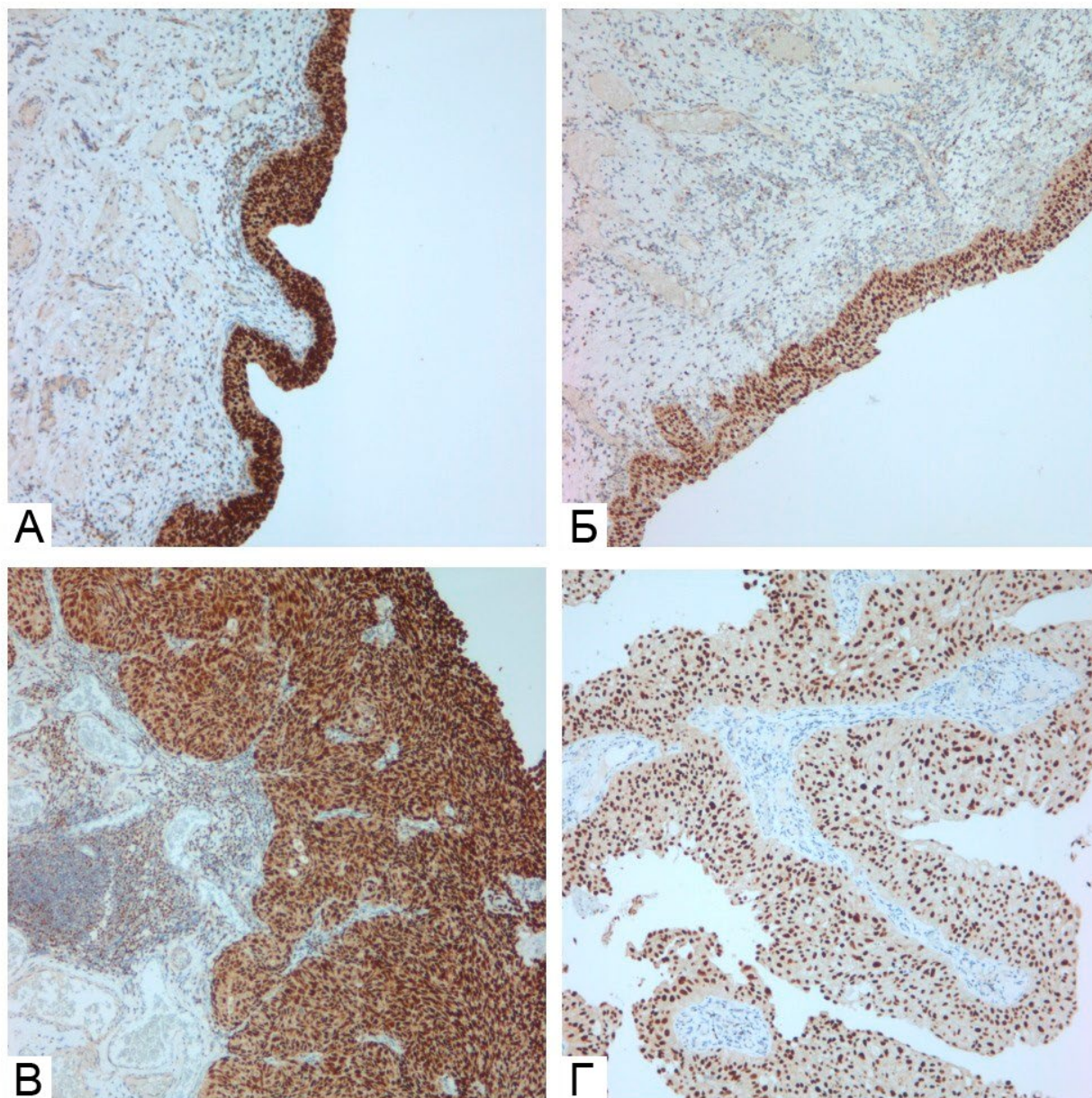


Рисунок 49 – ИГХ: экспрессия GATA3 в I-IV подгруппах: а – подгруппа I, $\times 100$; б – подгруппа II, $\times 100$; в – подгруппа III, $\times 100$; г – подгруппа IV, $\times 100$

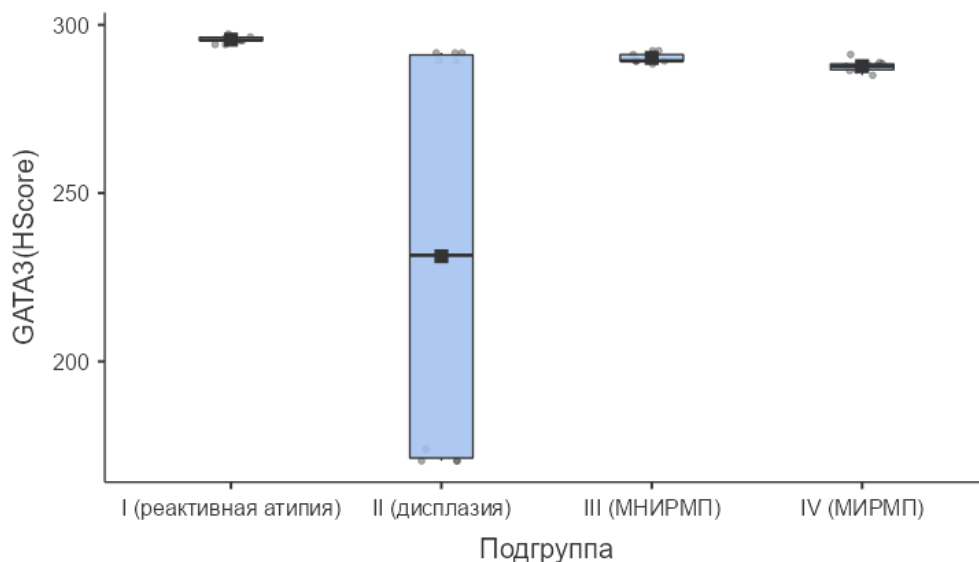


Рисунок 50 – Экспрессия ИГХ-маркера GATA3 в I-IV подгруппах (коробчатая диаграмма)

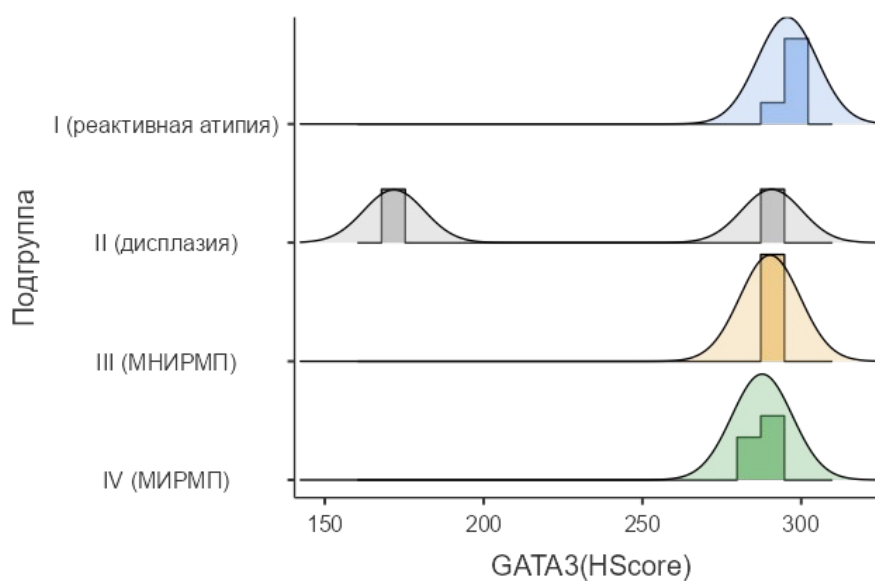


Рисунок 51 – Экспрессия ИГХ-маркера GATA3 в I-IV подгруппах (гистограмма)

Для определения значимости различий ИГХ-экспрессии маркеров CK7, CK20, Ki-67, p53, CD44, Vcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3, PTEN, GATA3 между подгруппами исследования (I-IV) мы воспользовались Н-критерием Краскела—Уоллиса, который показал значимые различия во всех исследуемых подгруппах (Таблица 8).

Таблица 8 – 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
СК7 (HScore)	18,97	3	< 0,001	0,486
СК20 (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
Bcl-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 СК20 ($Me_I = 285$; $Me_{II} = 1,8$; $W = -4,079$; $p = 0,021$), p53 ($Me_I = 3,26$; $Me_{II} = 101$; $W = 4,15$; $p = 0,018$), Bcl-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.

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). В подгруппе МИРМП отмечалась отрицательная реакция с маркерами CK20, CD44, HER2, Uroplakin III, сниженный уровень экспрессии GATA3, но более яркие показатели маркеров CK7 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 CK20, CD44, HER2, Uroplakin III и GATA3, экспрессия p53 была слабой. Отличия с наибольшей значимостью наблюдались у маркеров CK20, Ki-67, p53, CD44 и Uroplakin III.

В заключение, выявленные значимые различия между исследованными подгруппами отображены в таблице 9. Стоит отметить, что в нашем исследовании значимых различий между I-IV подгруппами в экспрессии ИГХ-маркера PTEN не было обнаружено.

Таблица 9 – Попарные сравнения экспрессии ИГХ-маркеров в I-IV подгруппах, имевших значимые результаты (апостериорные сравнения методом Двасса—Стила—Кричлоу—Флигнера)

Попарное 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

Глава 3.7. Результаты иммуногистохимического исследования в I-IV подгруппах (терцильные значения)

Для дальнейшего анализа и более практического 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 перцентилья, от 33 до 66 перцентилья и от 66 до 100 перцентилья). Полученные числовые значения были округлены до десятых (Таблица 10).

Таблица 10 – Перцентили распределения ИГХ-маркеров

ИГХ-маркер	Минимум (0-й перцентиль)	33-й перцентиль	66-й перцентиль	Максимум (100-й перцентиль)
CK7	182,4	278,6	290,3	298,0
CK20	0,0	1,8	180,9	291,9
Ki-67	0,0	8,1	23,0	55,0
p53	3,3	16,6	117,3	159,2
CD44	1,6	24,4	175,6	278,9
Bcl-2	0,0	0,0	17,2	150,0
HER2	0,0	0,0	1,0	2,0

Uroplakin III	0,0	0,0	21,0	46,9
FGFR3	104,9	174,5	248,2	254,5
PTEN	151,8	182,0	209,9	292,8
GATA3	170,4	288,5	291,7	297,3

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 11).

Таблица 11 – Терцильные значения ИГХ-маркеров

ИГХ-Маркер	Low(низкие)- значения	Moderate(средние)- значения	High(высокие)- значения
CK7	182,4–278,6	278,7–290,3	290,4–298,0
CK20	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

Терцильные значения для маркера CK7 составили: Low-HScore = 182,4–278,6 балла; Moderate-HScore = 278,7–290,3 балла; High-HScore = 290,4–298,0 балла.

Терцильные значения для маркера CK20 составили: Low-HScore = 0–1,8 балла; Moderate-HScore = 1,9–180,9 балла; High-HScore = 181,0–291,9 балла.

Терцильные значения для маркера p53 составили: Low-HScore = 3,23–16,6 балла; Moderate-HScore = 16,7–117,3 балла; High-HScore = 117,4–159,2 балла.

Терцильные значения для маркера CD44 составили: Low-HScore = 1,6–24,4 балла; Moderate-HScore = 24,5–175,6 балла; High-HScore = 175,7–278,9 балла.

Терцильные значения для маркера Vcl-2 составили: Low-HScore = 0,0 балла; Moderate-HScore = 0,1–17,2 балла; High-HScore = 17,3–150,0 балла.

Терцильные значения для маркера Uroplakin III составили: Low-HScore = 0,0 балла; Moderate-HScore = 0,1–21,0 балла; High-HScore = 21,1–46,9 балла.

Терцильные значения для маркера FGFR3 составили: Low-HScore = 104,9–174,5 балла; Moderate-HScore = 174,6–248,2 балла; High-HScore = 248,3–254,5 балла.

Терцильные значения для маркера PTEN составили: Low-HScore = 151,8–182,0 балла; Moderate-HScore = 182,1–209,9 балла; High-HScore = 210,0–292,8 балла.

Терцильные значения для маркера GATA3 составили: Low-HScore = 170,4–288,5 балла; Moderate-HScore = 288,6–291,7 балла; High-HScore = 291,8–297,3 балла.

Терцильные значения для маркера Ki-67 составили: Low-Ki-67-индекс = 0,0–8,1%; Moderate-Ki-67-индекс = 8,2–23,0%; High-Ki-67-индекс = 23,1–55,0%.

Терцильные значения для маркера HER2 составили: Low-HER2 = 0 баллов; Moderate-HER2 = 0,1–1,0 балла; High-HER2 = 1,0–2,0 баллов.

Глава 3.7.1. Результаты иммуногистохимического исследования в I и II подгруппах (терцильные значения)

Далее мы произвели сравнение номинальных данных (HScore, индекса Ki-67, балльной оценки HER2) с помощью критерия Хи-квадрат (χ^2) Пирсона и точного критерия Фишера. Для оценки силы взаимосвязи между номинальными переменными использовался критерий V Крамера.

СК7. Как в подгруппе реактивной атипии (60%, n = 6), так и в подгруппе дисплазии (60%, n = 6) чаще всего выявлялись средние (Moderate) значения HScore маркера СК7. Различий в частоте встречаемости показателей HScore СК7 между подгруппами не было выявлено ($\chi^2 = 0,533$; p = 0,766; Таблица 12, Рисунок 52).

Таблица 12 – Таблица сопряженности по параметру HScore (СК7) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

			Терцили HScore (СК7)			Всего
			Low	Moderate	High	
Подгруппа	Реактивная атипия (I)	Количество	3	6	1	10
		% в Подгруппе	30,0%	60,0%	10,0%	100,0%
		% общего итога	15,0%	30,0%	5,0%	50,0%
	Дисплазия (II)	Количество	2	6	2	10
		% в Подгруппе	20,0%	60,0%	20,0%	100,0%
		% общего итога	10,0%	30,0%	10,0%	50,0%
Всего		Количество	5	12	3	20
		% в Подгруппах	25,0%	60,0%	15,0%	100,0%
		% общего итога	25,0%	60,0%	15,0%	100,0%

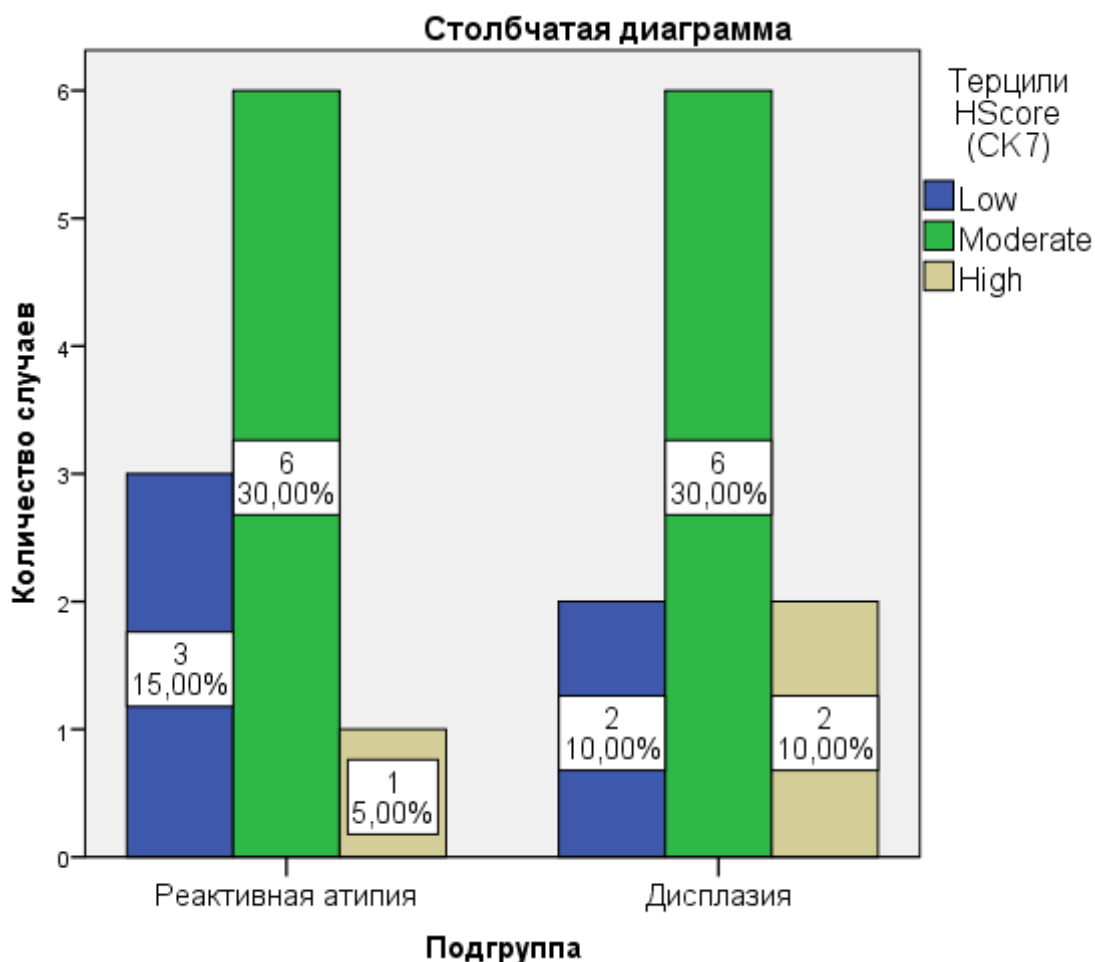


Рисунок 52 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (CK7) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

СК20. В подгруппе реактивной атипии выявлено, что в 40% ($n = 4$) случаев наблюдались средние показатели HScore маркера СК20, а в 60% ($n = 6$) – высокие показатели. Поражений с низким показателем HScore в I подгруппе выявлено не было (Таблица 13, Рисунок 53).

Таблица 13 – Таблица сопряженности по параметру HScore (СК20) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

		Терцили HScore (СК20)			Всего	
		Low	Moderate	High		
Подгруппа	Реактивная атипия (I)	Количество	0	4	6	10
		% в Подгруппе	0,0%	40,0%	60,0%	100,0%
		% общего итога	0,0%	20,0%	30,0%	50,0%

	Дисплазия (II)	Количество	7	3	0	10
		% в Подгруппе	70,0%	30,0%	0,0%	100,0%
		% общего итога	35,0%	15,0%	0,0%	50,0%
Всего		Количество	7	7	6	20
		% в Подгруппах	35,0%	35,0%	30,0%	100,0%
		% общего итога	35,0%	35,0%	30,0%	100,0%

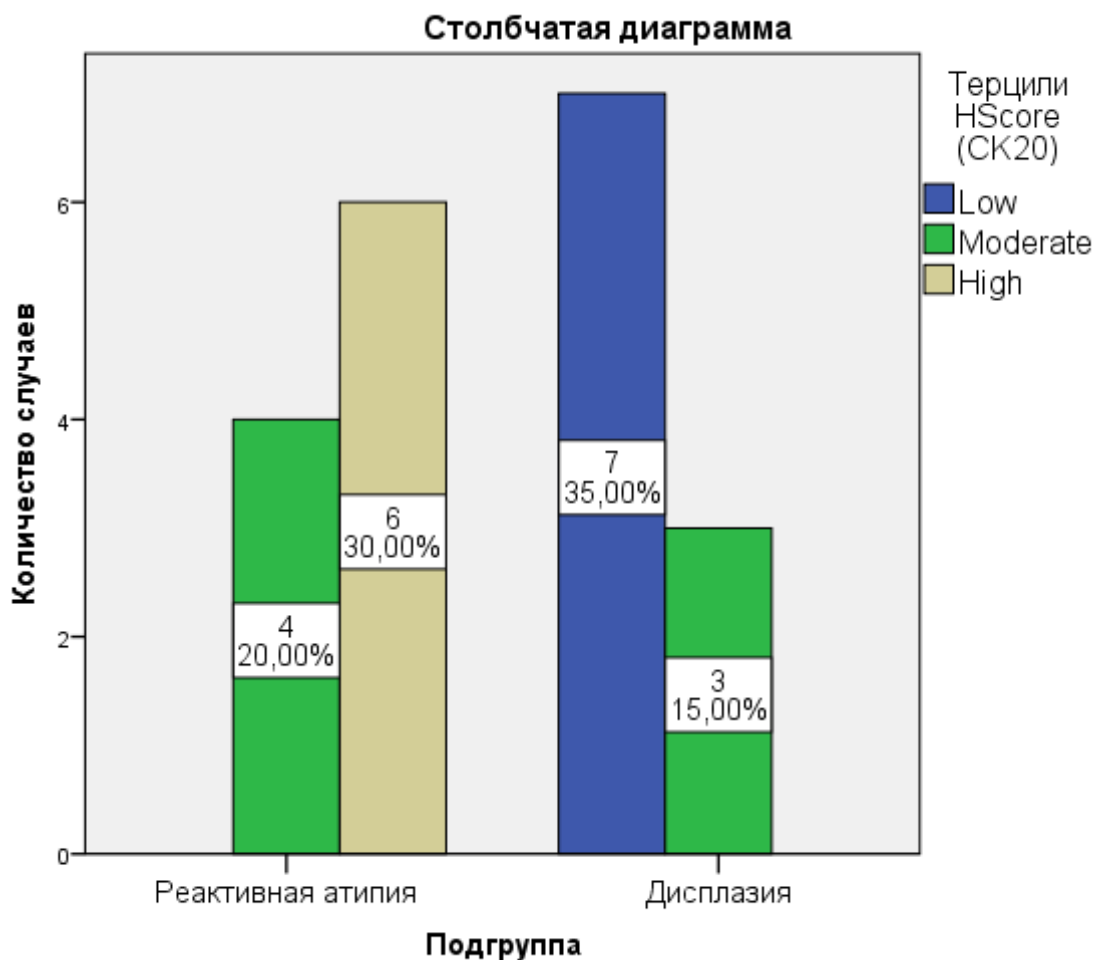


Рисунок 53 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (CK20) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

Большая часть поражений II подгруппы (70%, $n = 7$), напротив, имела низкие показатели HScore CK20, оставшаяся часть наблюдений (30%, $n = 3$) имела умеренный показатель HScore (Таблица 13, Рисунок 53). Поражений с высоким показателем HScore во II подгруппе выявлено не было.

При сравнении частоты встречаемости низких, средних и высоких показателей HScore CK20 в обеих подгруппах выявлены значимые различия: для реактивной атипии характерны более высокие показатели HScore, чем для подгруппы дисплазии ($\chi^2 = 13,14$; $p = 0,001$). При этом выявлена очень сильная связь терцильных значений HScore CK20 и типа поражения уротелия (V Крамера = 0,811).

Ki-67. В подгруппе реактивной атипии терцильные значения индекса пролиферации Ki-67 в большинстве случаев (70%, $n = 7$) были умеренными (от 8,2 до 23%). В трети случаев (30%, $n = 3$) были выявлены низкие значения Ki-67 (< 8,2%; Таблица 14, Рисунок 54).

Таблица 14 – Таблица сопряженности по параметру Ki-67 (%) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

			Терцили, % (Ki-67)			Всего
			Low	Moderate	High	
Подгруппа	Реактивная атипия (I)	Количество	3	7	0	10
		% в Подгруппе	30,0%	70,0%	0,0%	100,0%
		% общего итога	15,0%	35,0%	0,0%	50,0%
	Дисплазия (II)	Количество	8	0	2	10
		% в Подгруппе	80,0%	0,0%	20,0%	100,0%
		% общего итога	40,0%	0,0%	10,0%	50,0%
Всего		Количество	11	7	2	20
		% в Подгруппах	55,0%	35,0%	10,0%	100,0%
		% общего итога	55,0%	35,0%	10,0%	100,0%

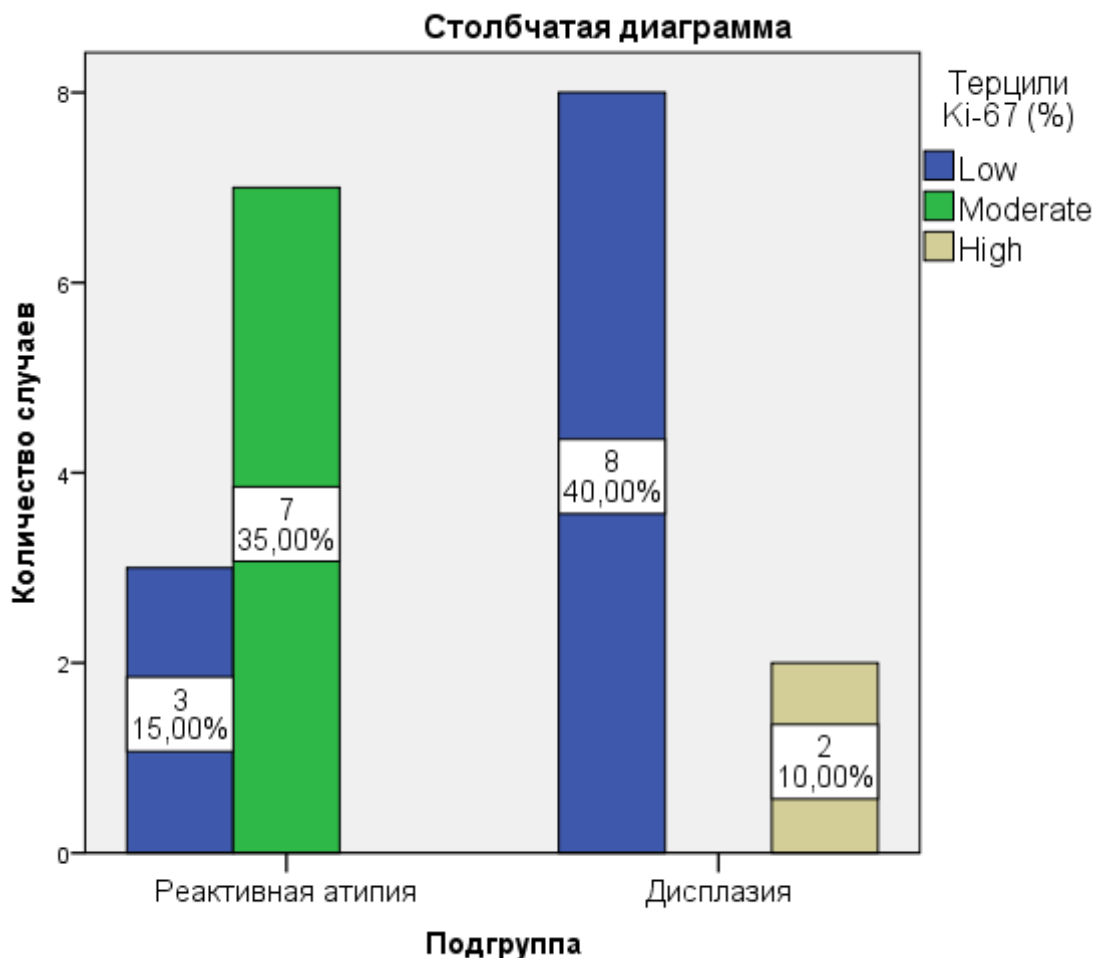


Рисунок 54 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-Ki-67-индекса (%) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

В подгруппе дисплазии в 80% случаев ($n = 8$) выявлены низкие значения индекса пролиферации Ki-67, в двух оставшихся (20%) – высокие (от 23,1 до 55%).

При сравнении частот значений Ki-67 в I и II подгруппах выявлены значимые различия: при дисплазии чаще выявлялись низкие значения индекса пролиферации ($\chi^2 = 11,27$; $p = 0,004$). Сила связи экспрессии Ki-67 с типом поражения уротелия была сильной (V Крамера = 0,751).

p53. Касаемо экспрессии маркера p53, в I подгруппе чаще выявлялись случаи с низкими показателями HScore (60%, $n = 6$), в остальных случаях был выявлен средний уровень экспрессии (40%, $n = 4$; Таблица 15, Рисунок 55).

Таблица 15 – Таблица сопряженности по параметру HScore (p53) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

			Терцили HScore (p53)			Всего
			Low	Moderate	High	
Подгруппа	Реактивная атипия (I)	Количество	6	4	0	10
		% в Подгруппе	60,0%	40,0%	0,0%	100,0%
		% общего итога	30,0%	20,0%	0,0%	50,0%
	Дисплазия (II)	Количество	3	3	4	10
		% в Подгруппе	30,0%	30,0%	40,0%	100,0%
		% общего итога	15,0%	15,0%	20,0%	50,0%
Всего		Количество	9	7	4	20
		% в Подгруппах	45,0%	35,0%	20,0%	100,0%
		% общего итога	45,0%	35,0%	20,0%	100,0%

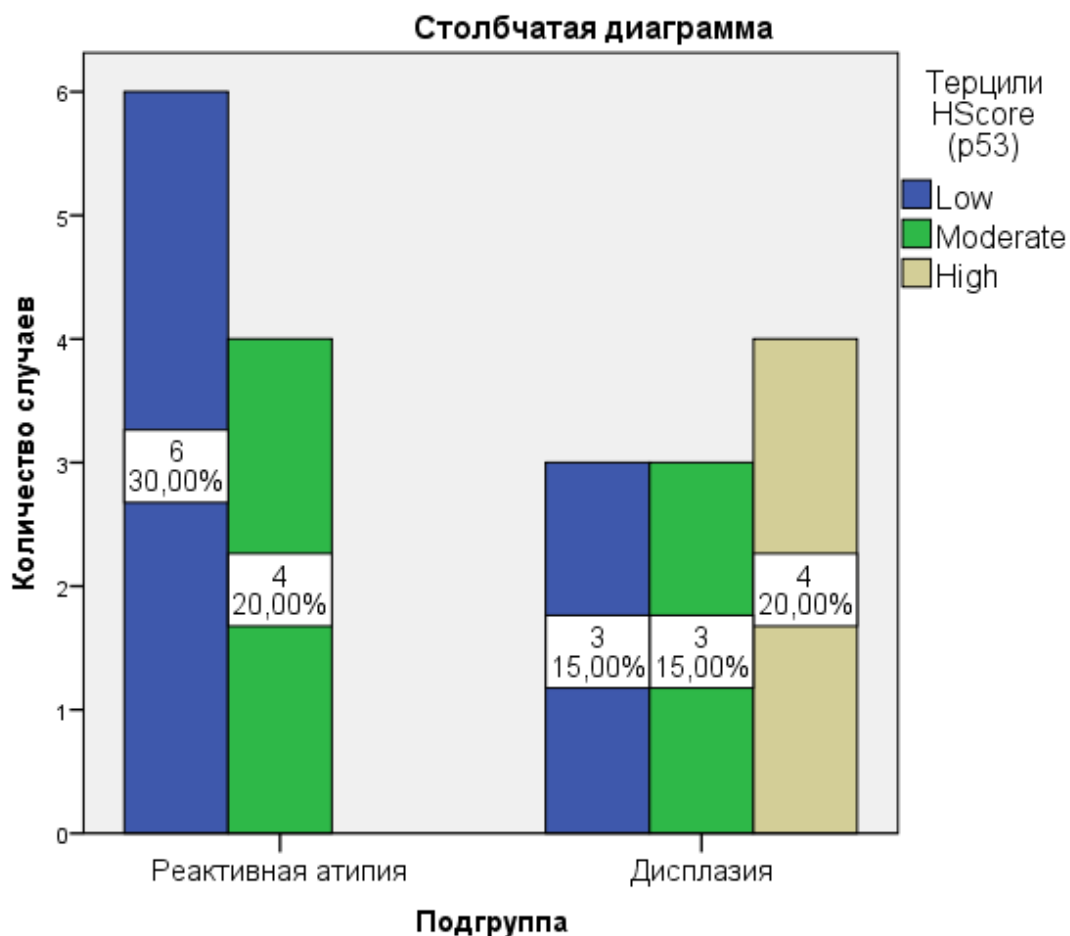


Рисунок 55 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (p53) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

Во II подгруппе в 40% случаев (n = 4) выявлен высокий показатель HScore, в 30% (n = 3) – средний и в оставшихся 30% (n = 3) – низкий HScore. При этом различий в частоте встречаемости показателей HScore p53 между подгруппами не было выявлено ($\chi^2 = 5,143$; p = 0,076; Таблица 15, Рисунок 55).

CD44. В подгруппе реактивной атипии выявлено, что в 60% случаев (n = 6) наблюдались средние показатели HScore маркера CD44, в 20% (n = 2) – высокие и в оставшихся 20% (n = 2) – низкие HScore (Таблица 16, Рисунок 56).

Таблица 16 – Таблица сопряженности по параметру HScore (CD44) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

			Терцили HScore (CD44)			Всего
			Low	Moderate	High	
Подгруппа	Реактивная атипия (I)	Количество	2	6	2	10
		% в Подгруппе	20,0%	60,0%	20,0%	100,0%
		% общего итога	10,0%	30,0%	10,0%	50,0%
	Дисплазия (II)	Количество	3	3	4	10
		% в Подгруппе	30,0%	30,0%	40,0%	100,0%
		% общего итога	15,0%	15,0%	20,0%	50,0%
Всего		Количество	5	9	6	20
		% в Подгруппах	25,0%	45,0%	30,0%	100,0%
		% общего итога	25,0%	45,0%	30,0%	100,0%

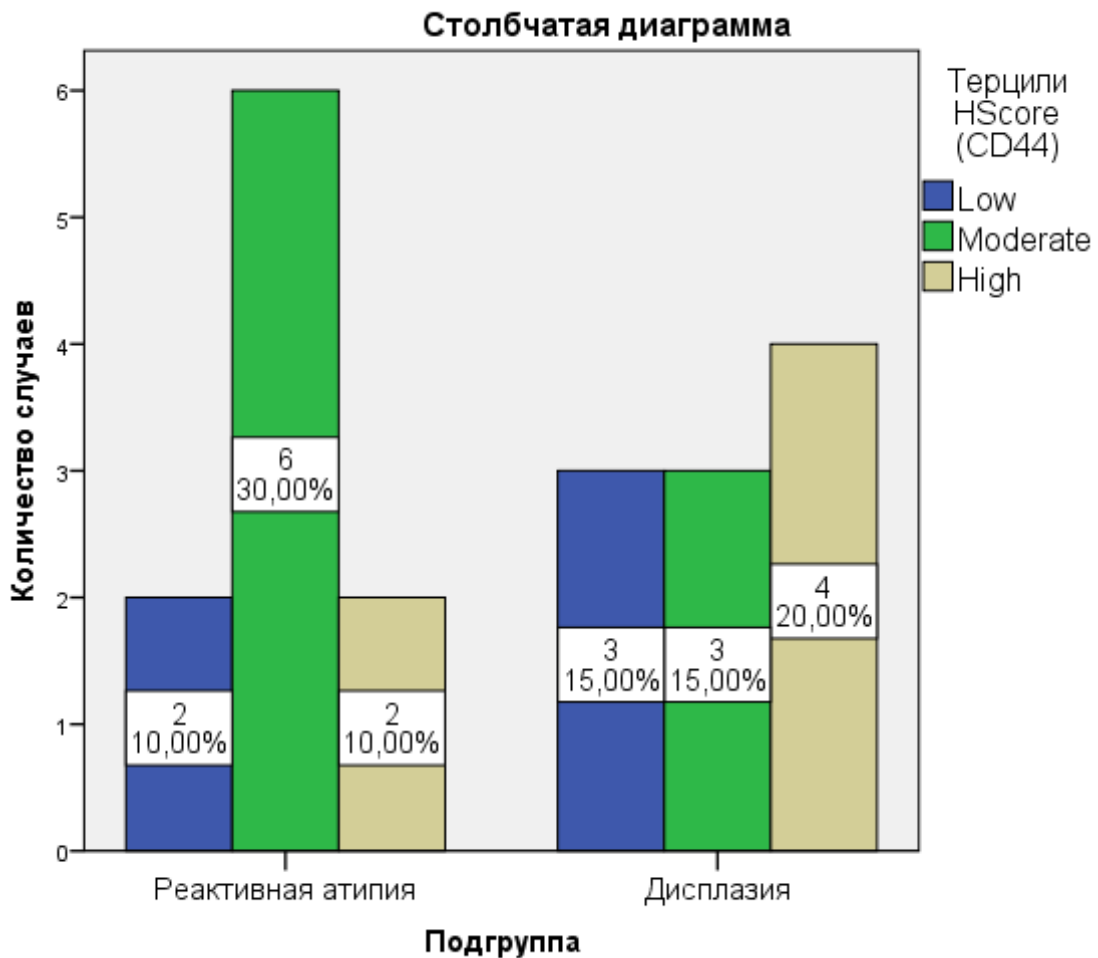


Рисунок 56 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (CD44) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

Большая часть поражений II подгруппы (40%, $n = 4$) имела высокие показатели HScore CD44, 30% ($n = 3$) – средние и оставшиеся 30% ($n = 3$) – низкие HScore. При этом различий в частоте встречаемости показателей HScore маркера CD44 между подгруппами не было выявлено ($\chi^2 = 1,867$; $p = 0,393$; Таблица 16, Рисунок 56).

Vcl-2. В подавляющем большинстве случаев реактивной атипии (80%, $n = 8$) выявлены высокие значения HScore маркера Vcl-2, в оставшихся 20% ($n = 2$) – низкий HScore (отрицательная экспрессия; Таблица 17, Рисунок 57). Средних показателей экспрессии в данной подгруппе не было обнаружено.

Таблица 17 – Таблица сопряженности по параметру HScore (Bcl-2) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

			Терцили HScore (Bcl-2)			Всего
			Low	Moderate	High	
Подгруппа	Реактивная атипия (I)	Количество	2	0	8	10
		% в Подгруппе	20,0%	0,0%	80,0%	100,0%
		% общего итога	10,0%	0,0%	40,0%	50,0%
	Дисплазия (II)	Количество	6	4	0	10
		% в Подгруппе	60,0%	40,0%	0,0%	100,0%
		% общего итога	30,0%	20,0%	0,0%	50,0%
Всего		Количество	8	4	8	20
		% в Подгруппах	40,0%	20,0%	40,0%	100,0%
		% общего итога	40,0%	20,0%	40,0%	100,0%

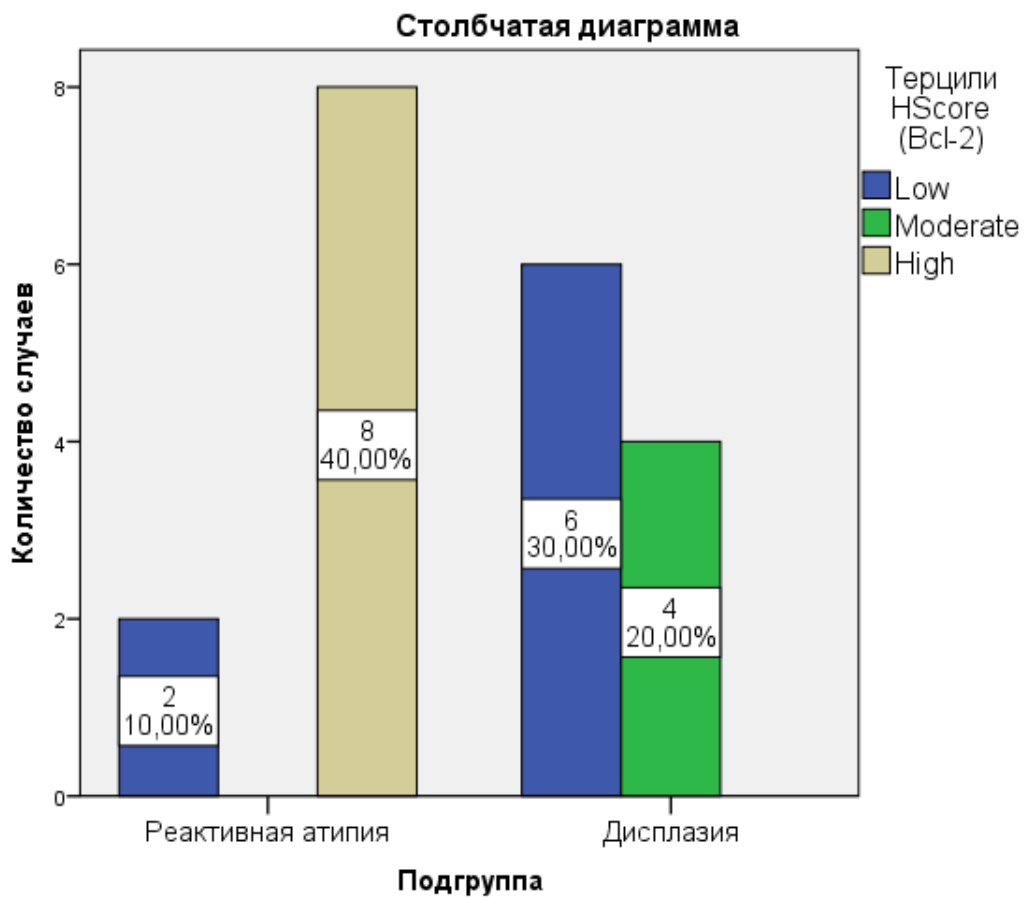


Рисунок 57 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (Bcl-2) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

Большая часть поражений II подгруппы (60%, n = 6) имела низкие показатели HScore (отрицательную экспрессию Vcl-2), а в 40% (n = 4) наблюдались умеренные показатели (Таблица 17, Рисунок 57).

При сравнении частот значений Vcl-2 в I и II подгруппах выявлены значимые различия: при реактивной атипии чаще выявлялись высокие значения HScore Vcl-2, а для дисплазии было характерно отсутствие экспрессии Vcl-2 ($\chi^2 = 14,000$; p = 0,001). Сила связи экспрессии Vcl-2 с типом поражения уротелия была очень сильной (V Крамера = 0,837).

HER2. Все случаи реактивной атипии (100%, n = 10) имели средний балльный показатель HER2 (1 балл); напротив, 100% (n = 10) диспластичных поражений имели отрицательную экспрессию HER2 (0 баллов; Таблица 18, Рисунок 58).

Таблица 18 – Таблица сопряженности по параметру HER2 (баллы) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

			Терцили баллов (HER2)		Всего
			Low	Moderate	
Подгруппа	Реактивная атипия (I)	Количество	0	10	10
		% в Подгруппе	0,0%	100,0%	100,0%
		% общего итога	0,0%	50,0%	50,0%
	Дисплазия (II)	Количество	10	0	10
		% в Подгруппе	100,0%	0,0%	100,0%
		% общего итога	50,0%	0,0%	50,0%
Всего		Количество	10	10	20
		% в Подгруппах	50,0%	50,0%	100,0%
		% общего итога	50,0%	50,0%	100,0%

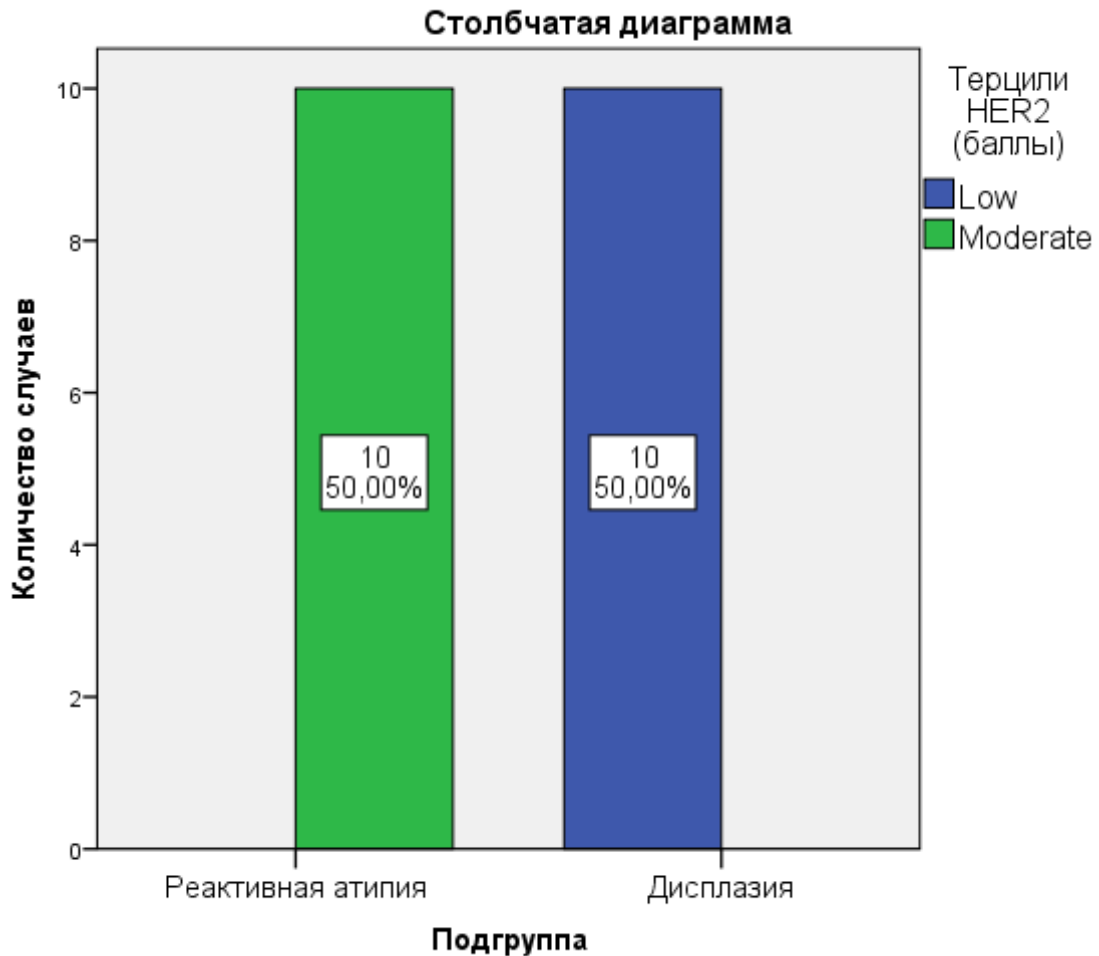


Рисунок 58 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-HER2 (баллы) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

При сравнении частот балльных значений HER2 в I и II подгруппах выявлены значимые различия: при реактивной атипии чаще выявлялись умеренные терцильные значения HER2, а для дисплазии было характерно отсутствие экспрессии HER2 (уровень значимости p при использовании точного теста Фишера составил 0,0001). Сила связи экспрессии HER2 с типом поражения уротелия была очень сильной (V Крамера = 0,837).

Uroplakin III. Все случаи реактивной атипии (100%, $n = 10$) имели высокие показатели HScore Uroplakin III; напротив, 100% ($n = 10$) диспластичных поражений имели низкие терцильные значения (отрицательную экспрессию Uroplakin III; Таблица 19, Рисунок 59).

Таблица 19 – Таблица сопряженности по параметру HScore (Uroplakin III) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

			Терцили Hscore (Uroplakin III)		Всего
			Low	High	
Подгруппа	Реактивная атипия (I)	Количество	0	10	10
		% в Подгруппе	0,0%	100,0%	100,0%
		% общего итога	0,0%	50,0%	50,0%
	Дисплазия (II)	Количество	10	0	10
		% в Подгруппе	100,0%	0,0%	100,0%
		% общего итога	50,0%	0,0%	50,0%
Всего		Количество	10	10	20
		% в Подгруппах	50,0%	50,0%	100,0%
		% общего итога	50,0%	50,0%	100,0%

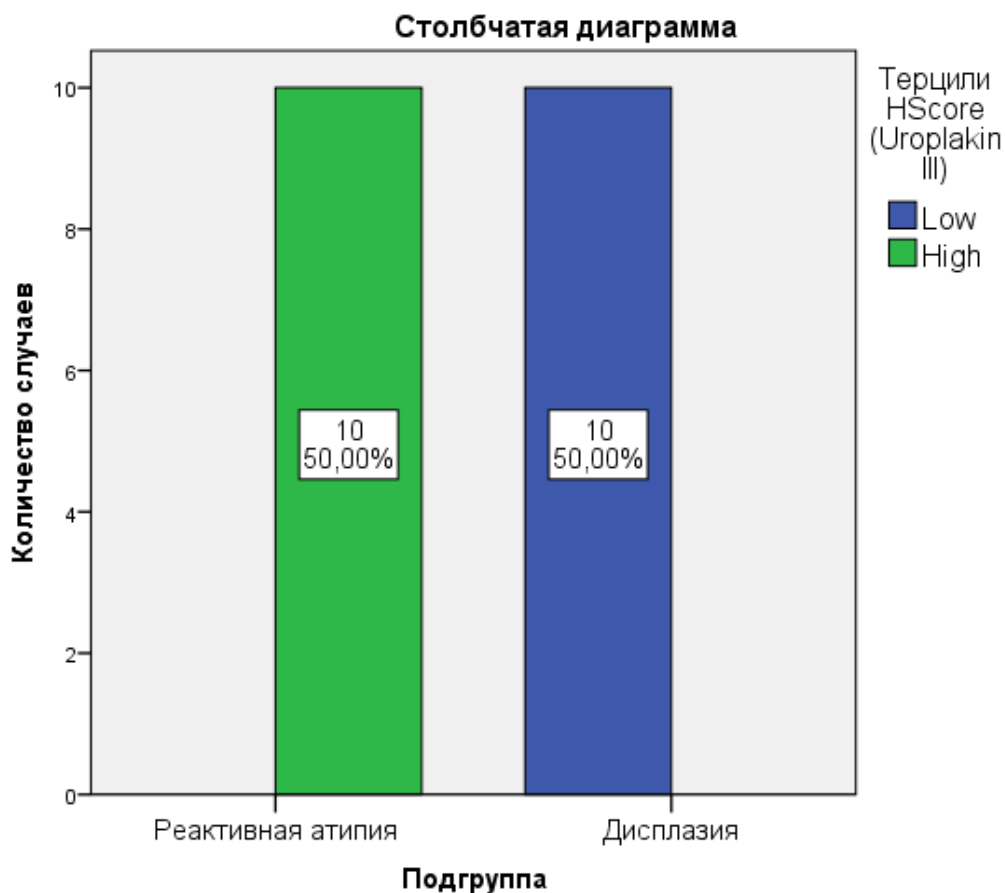


Рисунок 59 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, High-HScore (Uroplakin III) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

При сравнении частот терцильных значений HScore Uroplakin III в I и II подгруппах выявлены значимые различия: при реактивной атипии чаще выявлялись высокие показатели Uroplakin III, а для дисплазии было характерно отсутствие экспрессии (уровень значимости p при использовании точного теста Фишера составил 0,0001). Сила связи экспрессии Uroplakin III с типом поражения уротелия была очень сильной (V Крамера = 1,000).

FGFR3. В подгруппе реактивной атипии выявлено, что в 40% ($n = 4$) случаев наблюдались средние показатели HScore маркера FGFR3, а в 60% ($n = 6$) – высокие показатели. Поражений с низким показателем HScore в I подгруппе выявлено не было (Таблица 20, Рисунок 60).

Таблица 20 – Таблица сопряженности по параметру HScore (FGFR3) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

			Терцили HScore (FGFR3)			Всего
			Low	Moderate	High	
Подгруппа	Реактивная атипия (I)	Количество	0	4	6	10
		% в Подгруппе	0,0%	40,0%	60,0%	100,0%
		% общего итога	0,0%	20,0%	30,0%	50,0%
	Дисплазия (II)	Количество	6	2	2	10
		% в Подгруппе	60,0%	20,0%	20,0%	100,0%
		% общего итога	30,0%	10,0%	10,0%	50,0%
Всего		Количество	6	6	8	20
		% в Подгруппах	30,0%	30,0%	40,0%	100,0%
		% общего итога	30,0%	30,0%	40,0%	100,0%

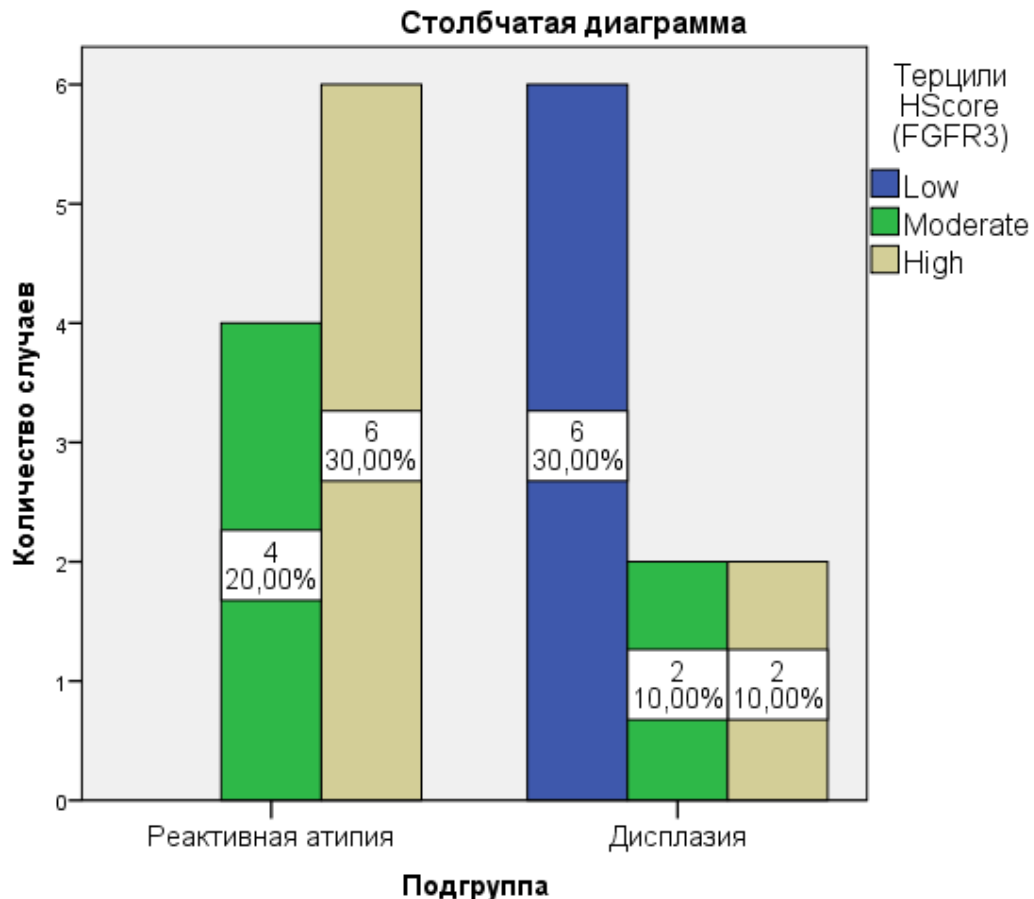


Рисунок 60 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (FGFR3) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

Напротив, большая часть поражений II подгруппы (60%, n = 6) имела низкие показатели HScore FGFR3, 20% (n = 2) случаев – средний и оставшиеся 20% (n = 3) – высокий HScore (Таблица 20, Рисунок 60).

При сравнении частоты встречаемости низких, средних и высоких показателей HScore маркера FGFR3 в обеих подгруппах выявлены значимые различия: для реактивной атипии характерны более высокие показатели HScore, чем в подгруппе дисплазии ($\chi^2 = 8,666$; $p = 0,013$). При этом выявлена сильная связь терцильных значений HScore FGFR3 и типа поражения уротелия (V Крамера = 0,658).

PTEN. В подгруппе I выявлено, что в 20% (n = 2) случаев наблюдались низкие показатели HScore маркера PTEN, а в 80% (n = 8) – высокие показатели. Поражений с умеренным показателем HScore в подгруппе реактивной атипии выявлено не было (Таблица 21, Рисунок 61).

Таблица 21 – Таблица сопряженности по параметру HScore (PTEN) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

			Терцили HScore (PTEN)			Всего
			Low	Moderate	High	
Подгруппа	Реактивная атипия (I)	Количество	2	0	8	10
		% в Подгруппе	20,0%	0,0%	80,0%	100,0%
		% общего итога	10,0%	0,0%	40,0%	50,0%
	Дисплазия (II)	Количество	6	2	2	10
		% в Подгруппе	60,0%	20,0%	20,0%	100,0%
		% общего итога	30,0%	10,0%	10,0%	50,0%
Всего		Количество	8	2	10	20
		% в Подгруппах	40,0%	10,0%	50,0%	100,0%
		% общего итога	40,0%	10,0%	50,0%	100,0%

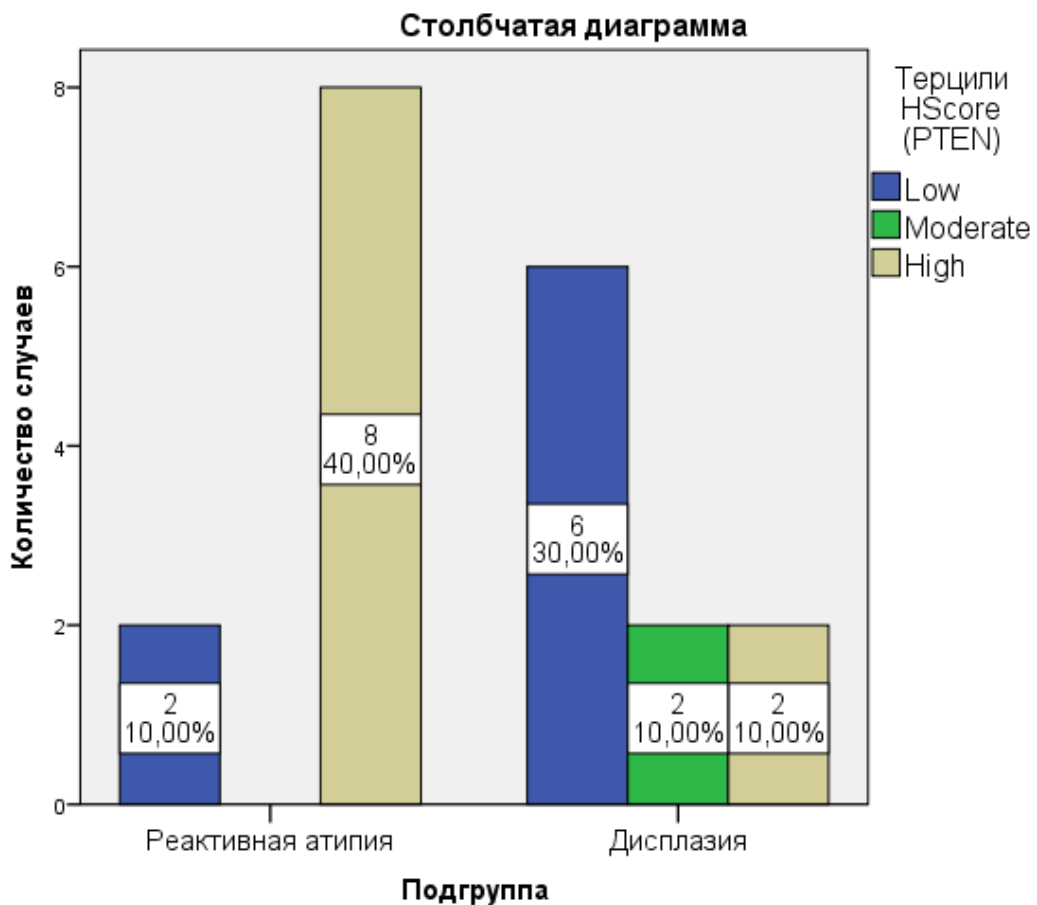


Рисунок 61 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (PTEN) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

Напротив, большая часть поражений II подгруппы (60%, n = 6) имела низкие показатели HScore PTEN, 20% (n = 2) случаев – средний и оставшиеся 20% (n = 3) – высокий HScore (Таблица 21, Рисунок 61).

При сравнении частоты встречаемости низких, средних и высоких показателей HScore маркера PTEN в обеих подгруппах выявлены значимые различия: для реактивной атипии характерны более высокие показатели HScore, чем в подгруппе дисплазии ($\chi^2 = 7,600$; p = 0,022). При этом выявлена сильная связь терцильных значений HScore PTEN и типа поражения уротелия (V Крамера = 0,616).

GATA3. Все случаи реактивной атипии (100%, n = 10) имели высокие показатели HScore маркера GATA3; в диспластичных поражениях, напротив, не было выявлено высоких значений HScore: 50% (n = 5) имели средние показатели, другая половина (50%, n = 5) имела низкие значения HScore (Таблица 22, Рисунок 62).

Таблица 22 – Таблица сопряженности по параметру HScore (GATA3) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

			Терцили HScore (GATA3)			Всего
			Low	Moderate	High	
Подгруппа	Реактивная атипия (I)	Количество	0	0	10	10
		% в Подгруппе	0,0%	0,0%	100,0%	100,0%
		% общего итога	0,0%	0,0%	50,0%	50,0%
	Дисплазия (II)	Количество	5	5	0	10
		% в Подгруппе	50,0%	50,0%	0,0%	100,0%
		% общего итога	25,0%	25,0%	0,0%	50,0%
Всего		Количество	5	5	10	20
		% в Подгруппах	25,0%	25,0%	50,0%	100,0%
		% общего итога	25,0%	25,0%	50,0%	100,0%

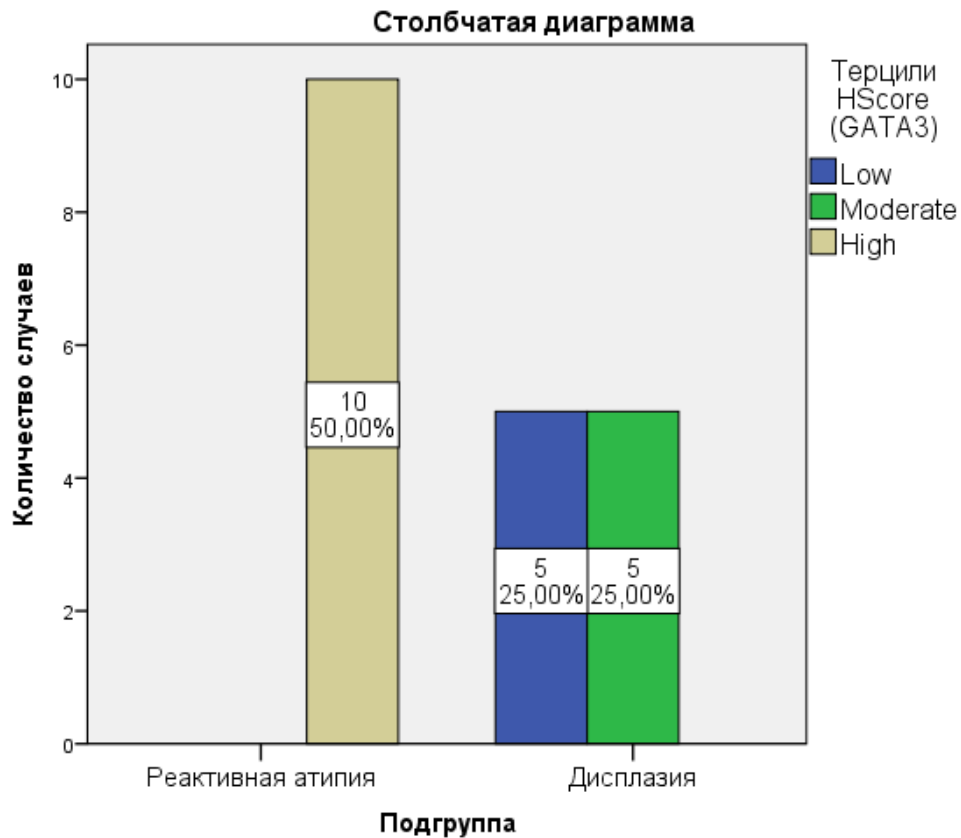


Рисунок 62 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (GATA3) в подгруппах реактивной атипии и дисплазии

При сравнении частоты встречаемости низких, средних и высоких показателей HScore маркера GATA3 в обеих подгруппах выявлены значимые различия: для реактивной атипии характерны более высокие показатели HScore, чем в подгруппе дисплазии ($\chi^2 = 20,000$; $p = 0,0001$). При этом выявлена очень сильная связь терцильных значений HScore GATA3 и типа поражения уротелия (V Крамера = 1,000).

Глава 3.7.2. Результаты иммуногистохимического исследования в III и IV подгруппах (терцильные значения)

СК7. В подгруппе МНИРМП выявлено, что в 20% ($n = 2$) случаев наблюдались высокие показатели HScore маркера СК7, а в 80% ($n = 8$) – низкие

значения. Карцином с умеренным показателем HScore в III подгруппе выявлено не было (Таблица 23, Рисунок 63).

Таблица 23 – Таблица сопряженности по параметру HScore (СК7) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

			Терцили HScore (СК7)			Всего
			Low	Moderate	High	
Подгруппа	МНИРМП (III)	Количество	8	0	2	10
		% в Подгруппе	80,0%	0,0%	20,0%	100,0%
		% общего итога	40,0%	0,0%	10,0%	50,0%
	МИРМП (IV)	Количество	0	2	8	10
		% в Подгруппе	0,0%	20,0%	80,0%	100,0%
		% общего итога	0,0%	10,0%	40,0%	50,0%
Всего		Количество	8	2	10	20
		% в Подгруппах	40,0%	10,0%	50,0%	100,0%
		% общего итога	40,0%	10,0%	50,0%	100,0%

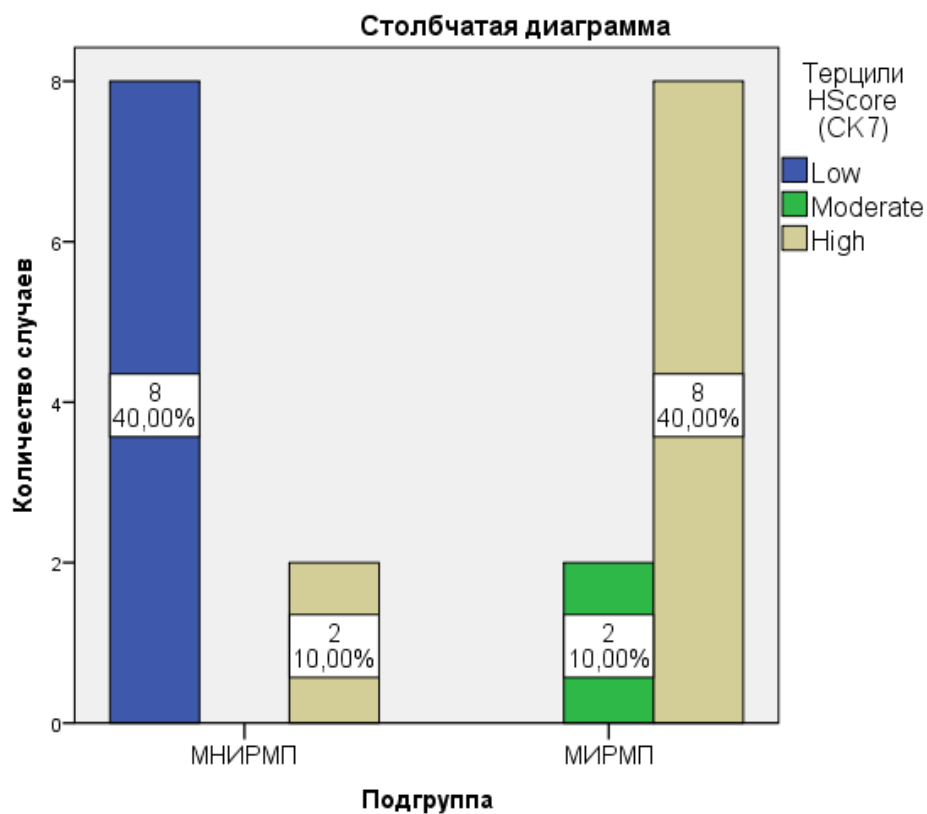


Рисунок 63 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (СК7) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

Напротив, большая часть МИРМП (80%, n = 8) имела высокие показатели HScore СК7, оставшаяся часть наблюдений (20%, n = 2) имела умеренный показатель HScore (Таблица 23, Рисунок 63). Нами не было выявлено опухолей с низким показателем HScore в IV подгруппе.

При сравнении частоты встречаемости низких, средних и высоких показателей HScore СК7 в обеих подгруппах выявлены значимые различия: для мышечно-инвазивных карцином характерны более высокие показатели HScore, чем для подгруппы МНИРМП ($\chi^2 = 13,600$; $p = 0,001$). При этом выявлена очень сильная связь терцильных значений HScore СК7 и типа опухолевого поражения (V Крамера = 0,825).

СК20. В подгруппе III выявлено, что в 40% (n = 4) случаев наблюдались средние показатели HScore маркера СК20, а в 60% (n = 6) – высокие показатели. Поражений с низким показателем HScore в I подгруппе выявлено не было (Таблица 24, Рисунок 64).

Таблица 24 – Таблица сопряженности по параметру HScore (СК20) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

			Терцили HScore (СК20)			Всего
			Low	Moderate	High	
Подгруппа	МНИРМП (III)	Количество	0	4	6	10
		% в Подгруппе	0,0%	40,0%	60,0%	100,0%
		% общего итога	0,0%	20,0%	30,0%	50,0%
	МИРМП (IV)	Количество	9	1	0	10
		% в Подгруппе	90,0%	10,0%	0,0%	100,0%
		% общего итога	45,0%	5,0%	0,0%	50,0%
Всего		Количество	9	5	6	20
		% в Подгруппах	45,0%	25,0%	30,0%	100,0%
		% общего итога	45,0%	25,0%	30,0%	100,0%

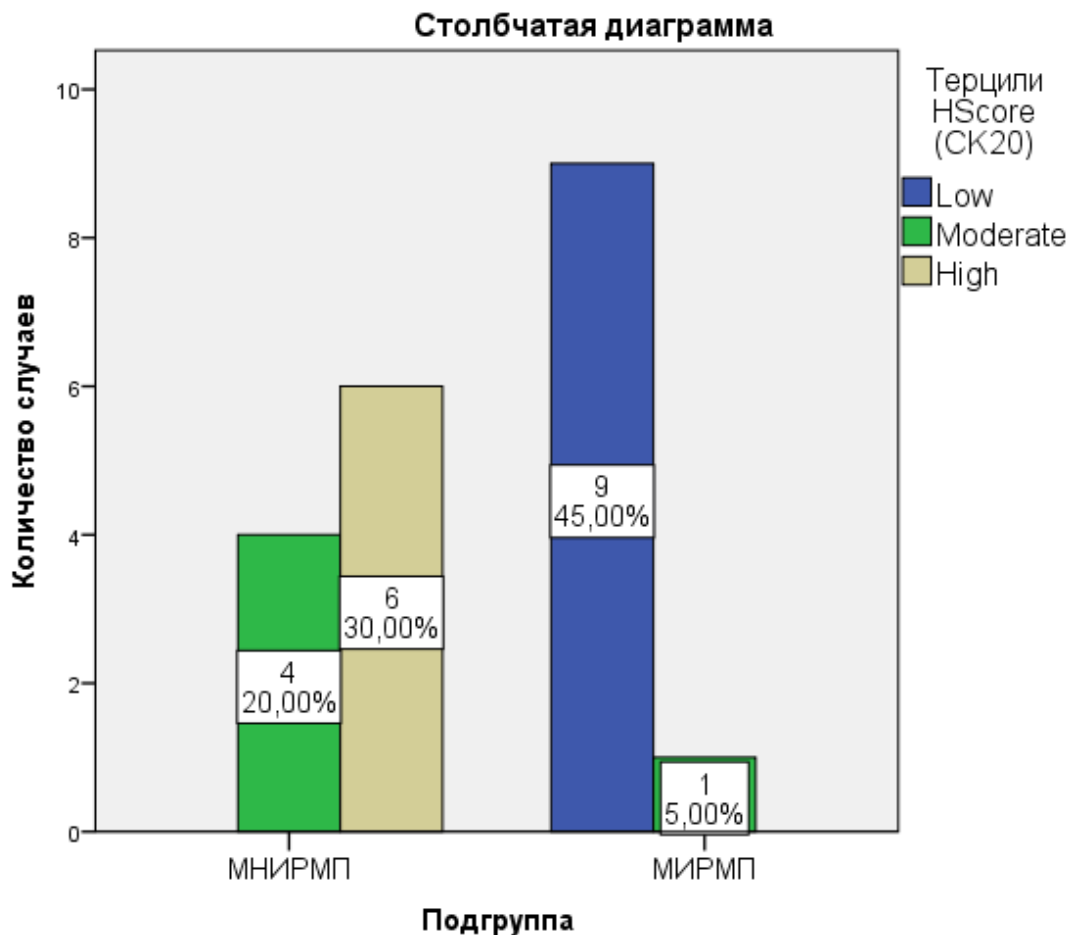


Рисунок 64 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (CK20) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

Напротив, большая часть поражений IV подгруппы (90%, $n = 9$) имела низкие показатели HScore CK20, в единичном наблюдении (10%, $n = 1$) отмечен умеренный показатель HScore (Таблица 24, Рисунок 64). Поражений с высоким показателем HScore в IV подгруппе выявлено не было.

При сравнении частоты встречаемости низких, средних и высоких показателей HScore CK20 в обеих подгруппах выявлены значимые различия: для МНИРМП характерны более высокие показатели HScore, чем для МИРМП ($\chi^2 = 16,800$; $p = 0,0001$). При этом выявлена очень сильная связь терцильных значений HScore CK20 и типа опухолевого поражения (V Крамера = 0,917).

Ki-67. В подгруппе МНИРМП значения индекса пролиферации Ki-67 в большинстве случаев (80%, $n = 8$) были умеренными (от 8,2 до 23%). В 20% случаев ($n = 2$) были выявлены низкие значения Ki-67 (< 8,2%; Таблица 25, Рисунок 65).

Таблица 25 – Таблица сопряженности по параметру Ki-67 (%) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

			Терцили, % (Ki-67)			Всего
			Low	Moderate	High	
Подгруппа	МНИРМП (III)	Количество	2	8	0	10
		% в Подгруппе	20,0%	80,0%	0,0%	100,0%
		% общего итога	10,0%	40,0%	0,0%	50,0%
	МИРМП (IV)	Количество	0	0	10	10
		% в Подгруппе	0,0%	0,0%	100,0%	100,0%
		% общего итога	0,0%	0,0%	50,0%	50,0%
Всего		Количество	2	8	10	20
		% в Подгруппах	10,0%	40,0%	50,0%	100,0%
		% общего итога	10,0%	40,0%	50,0%	100,0%

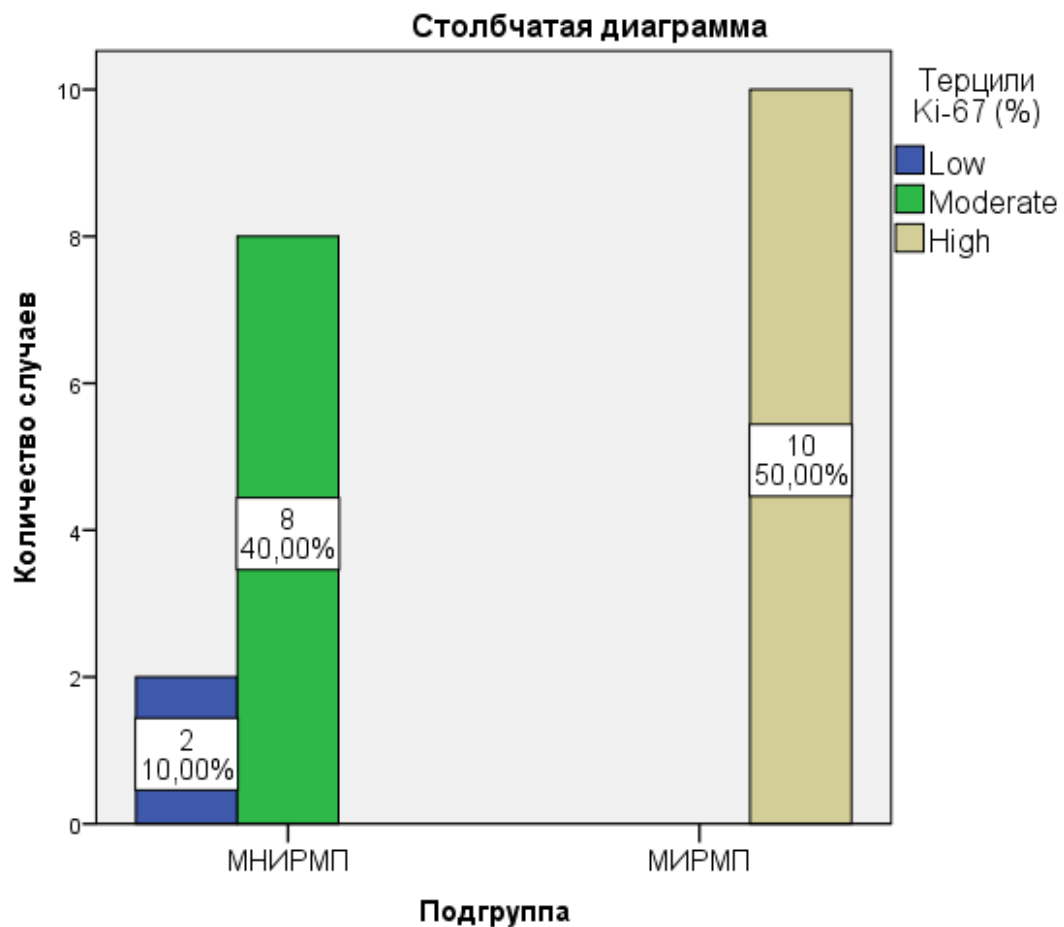


Рисунок 65 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-Ki-67-индекса (%) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

Все случаи IV подгруппы (100%, n = 10) имели высокие значения индекса пролиферации Ki-67 (от 23,1 до 55%; Таблица 25, Рисунок 65).

При сравнении частот значений Ki-67 в III и IV подгруппах выявлены значимые различия: при МИРМП чаще выявлялись высокие значения индекса пролиферации ($\chi^2 = 20,000$; $p = 0,0001$). Сила связи экспрессии Ki-67 с типом опухолевого поражения уротелия была очень сильной (V Крамера = 1,000).

p53. Касаясь экспрессии маркера p53, в III подгруппе чаще выявлялись случаи с умеренными показателями HScore (60%, n = 6), в остальных случаях был выявлен низкий уровень экспрессии (40%, n = 4; Таблица 26, Рисунок 66).

Таблица 26 – Таблица сопряженности по параметру HScore (p53) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

			Терцили HScore (p53)			Всего
			Low	Moderate	High	
Подгруппа	МНИРМП (III)	Количество	4	6	0	10
		% в Подгруппе	40,0%	60,0%	0,0%	100,0%
		% общего итога	20,0%	30,0%	0,0%	50,0%
	МИРМП (IV)	Количество	0	1	9	10
		% в Подгруппе	0,0%	10,0%	90,0%	100,0%
		% общего итога	0,0%	5,0%	45,0%	50,0%
Всего		Количество	4	7	9	20
		% в Подгруппах	20,0%	35,0%	45,0%	100,0%
		% общего итога	20,0%	35,0%	45,0%	100,0%

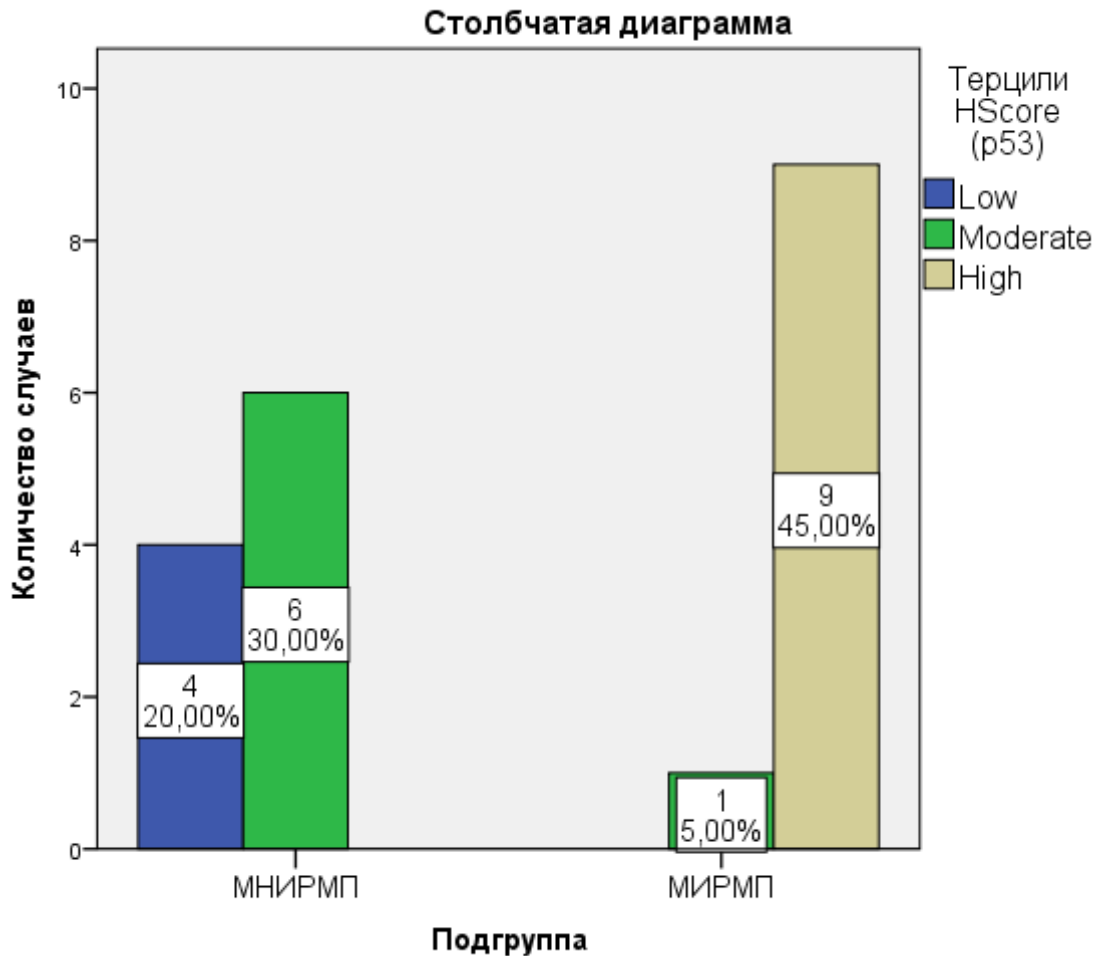


Рисунок 66 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (p53) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

В IV подгруппе в 1 наблюдении (10%) выявлен умеренный показатель HScore p53 и в большинстве случаев (90%, n = 9) выявлен высокий HScore (Таблица 26, Рисунок 66).

При сравнении частот значений p53 в III и IV подгруппах выявлены значимые различия: при МИРМП чаще выявлялись высокие значения HScore p53 ($\chi^2 = 16,571$; $p = 0,0001$). Сила связи экспрессии p53 с типом опухолевого поражения уротелия была очень сильной (V Крамера = 0,910).

CD44. В подгруппе МНИРМП выявлено, что в 30% (n = 3) случаев наблюдались средние показатели HScore маркера CD44, при этом в большинстве случаев (70%, n = 7) – высокий HScore (Таблица 27, Рисунок 67).

Таблица 27 – Таблица сопряженности по параметру HScore (CD44) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

			Терцили HScore (CD44)			Всего
			Low	Moderate	High	
Подгруппа	МНИРМП (III)	Количество	0	3	7	10
		% в Подгруппе	0,0%	30,0%	70,0%	100,0%
		% общего итога	0,0%	15,0%	35,0%	50,0%
	МИРМП (IV)	Количество	6	4	0	10
		% в Подгруппе	60,0%	40,0%	0,0%	100,0%
		% общего итога	30,0%	20,0%	0,0%	50,0%
Всего		Количество	6	7	7	20
		% в Подгруппах	30,0%	35,0%	35,0%	100,0%
		% общего итога	30,0%	35,0%	35,0%	100,0%

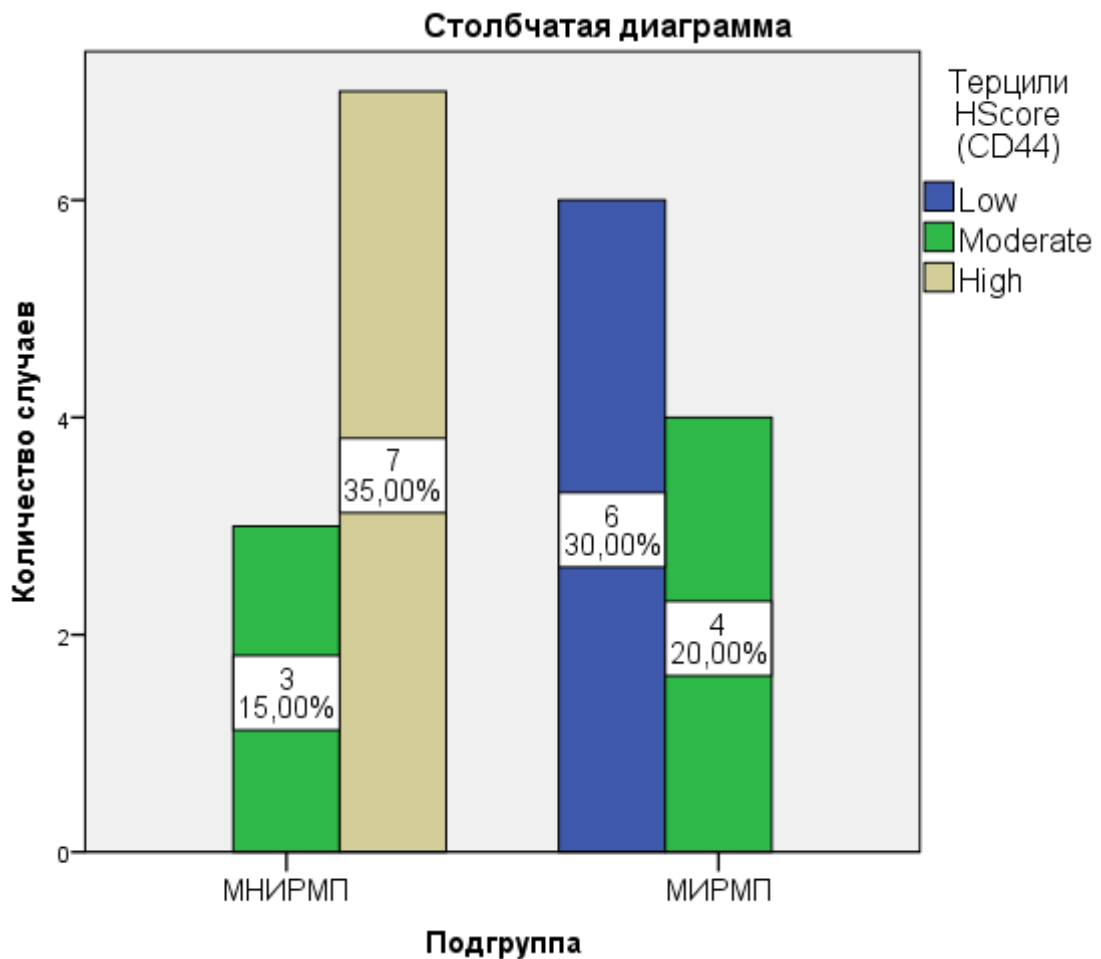


Рисунок 67 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (CD44) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

Большая часть поражений IV подгруппы (60%, n = 6) имела низкие показатели HScore CD44, оставшиеся случаи (40%, n = 4) – умеренные значения HScore (Таблица 27, Рисунок 67).

При сравнении частот значений CD44 в III и IV подгруппах выявлены значимые различия: при МНИРМП чаще выявлялись высокие значения HScore CD44 ($\chi^2 = 13,143$; p = 0,001). Сила связи экспрессии CD44 с типом опухолевого поражения уротелия была очень сильной (V Крамера = 0,811).

Vcl-2. В III подгруппе было выявлена равная доля (50%) случаев с низкими (отрицательными) и высокими значения HScore маркера Vcl-2 (Таблица 28, Рисунок 68). Средних показателей экспрессии в данной подгруппе не было обнаружено.

Таблица 28 – Таблица сопряженности по параметру HScore (Vcl-2) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

			Терцили HScore (Vcl-2)		Всего
			Low	High	
Подгруппа	МНИРМП (III)	Количество	5	5	10
		% в Подгруппе	50,0%	50,0%	100,0%
		% общего итога	25,0%	25,0%	50,0%
	МИРМП (IV)	Количество	10	0	10
		% в Подгруппе	100,0%	0,0%	100,0%
		% общего итога	50,0%	0,0%	50,0%
Всего		Количество	15	5	20
		% в Подгруппах	75,0%	25,0%	100,0%
		% общего итога	75,0%	25,0%	100,0%

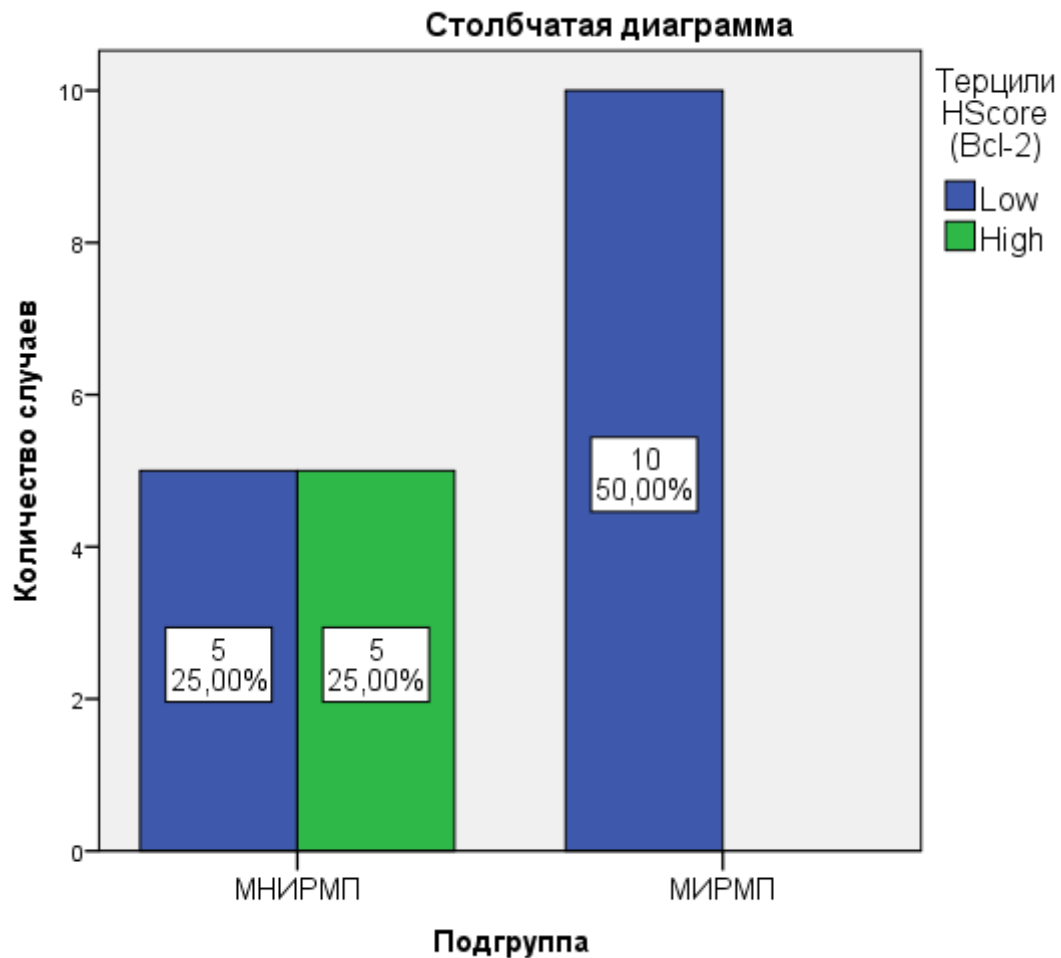


Рисунок 68 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, High-HScore (Vcl-2) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

Все мышечно-инвазивные карциномы имели низкий (нулевой) показатель HScore (100%, n = 10; Таблица 28, Рисунок 68).

При сравнении частот значений Vcl-2 в III и IV подгруппах выявлены значимые различия: для МИРМП была характерна отрицательная экспрессия Vcl-2 (уровень значимости $p = 0,032$ (точный критерий Фишера)). Сила связи экспрессии Vcl-2 с типом карциномы была относительно сильной (V Крамера = 0,577).

HER2. В III подгруппе было выявлена равная доля (50%) случаев со средним и высоким балльными показателями HER2 (1-2 балла; Таблица 29, Рисунок 69).

Таблица 29 – Таблица сопряженности по параметру HER2 (баллы) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

			Терцили баллов (HER2)			Всего
			Low	Moderate	High	
Подгруппа	МНИРМП (III)	Количество	0	5	5	10
		% в Подгруппе	0,0%	50,0%	50,0%	100,0%
		% общего итога	0,0%	25,0%	25,0%	50,0%
	МИРМП (IV)	Количество	7	3	0	10
		% в Подгруппе	70,0%	30,0%	0,0%	100,0%
		% общего итога	35,0%	15,0%	0,0%	50,0%
Всего		Количество	7	8	5	20
		% в Подгруппах	35,0%	40,0%	25,0%	100,0%
		% общего итога	35,0%	40,0%	25,0%	100,0%

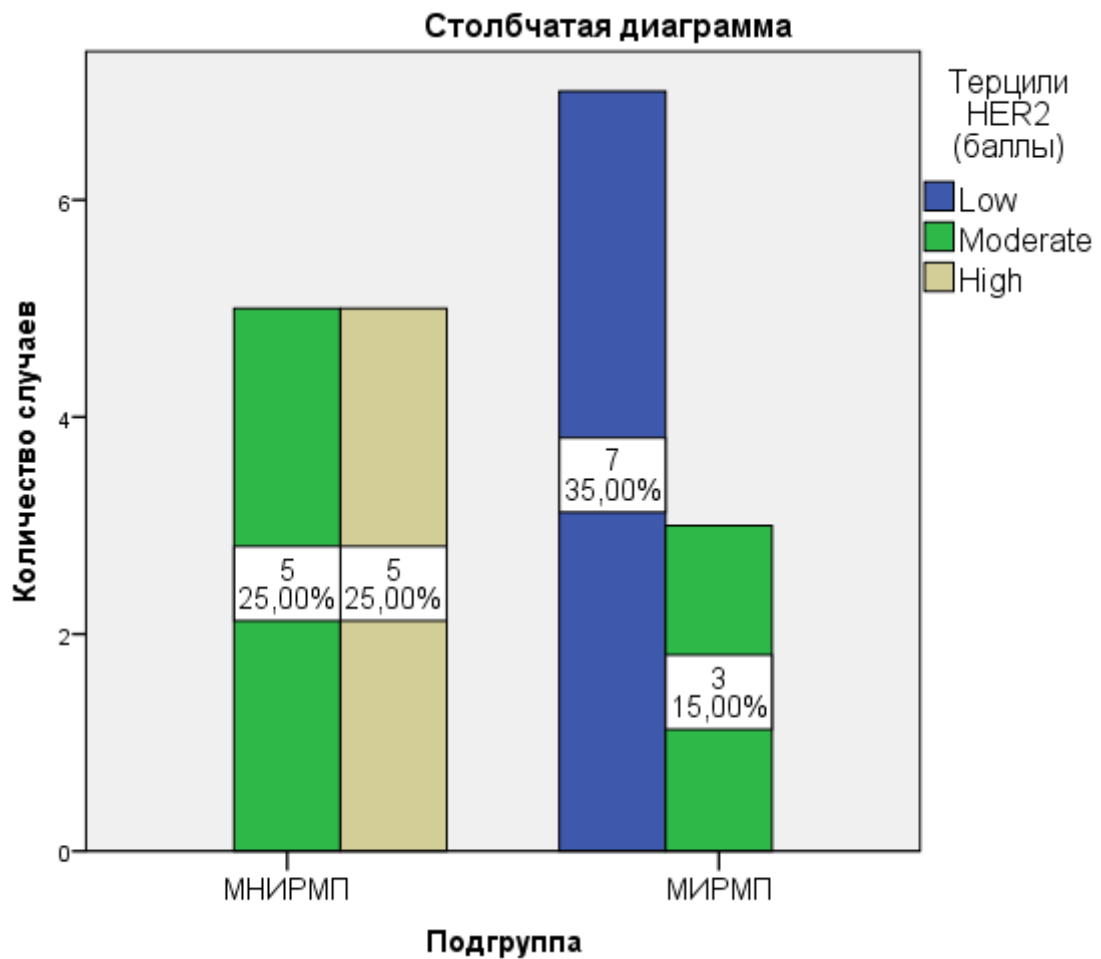


Рисунок 69 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HER2 (баллы) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

Напротив, в большинстве случаев МИРМП (70%, n = 7) выявлена отрицательная экспрессия HER2 (0 баллов), оставшаяся доля случаев (30%, n = 3) имела умеренный балльный показатель HER2 (1 балл; Таблица 29, Рисунок 69).

При сравнении частот балльных значений HER2 в III и IV подгруппах выявлены значимые различия: при МНИРМП чаще выявлялись более высокие терцильные значения HER2, а для МИРМП было характерно отсутствие экспрессии HER2 ($\chi^2 = 12,500$; p = 0,002). Сила связи экспрессии HER2 с типом поражения уротелия была сильной (V Крамера = 0,791).

Uroplakin III. Большая часть карцином III подгруппы (70%, n = 7) имела умеренные показатели HScore Uroplakin III, в 30% (n = 3) случаев выявлен высокий HScore (Таблица 30, Рисунок 70).

Таблица 30 – Таблица сопряженности по параметру HScore (Uroplakin III) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

			Терцили HScore (Uroplakin III)			Всего
			Low	Moderate	High	
Подгруппа	МНИРМП (III)	Количество	0	7	3	10
		% в Подгруппе	0,0%	70,0%	30,0%	100,0%
		% общего итога	0,0%	35,0%	15,0%	50,0%
	МИРМП (IV)	Количество	10	0	0	10
		% в Подгруппе	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%
		% общего итога	50,0%	0,0%	0,0%	50,0%
Всего		Количество	10	7	3	20
		% в Подгруппах	50,0%	35,0%	15,0%	100,0%
		% общего итога	50,0%	35,0%	15,0%	100,0%

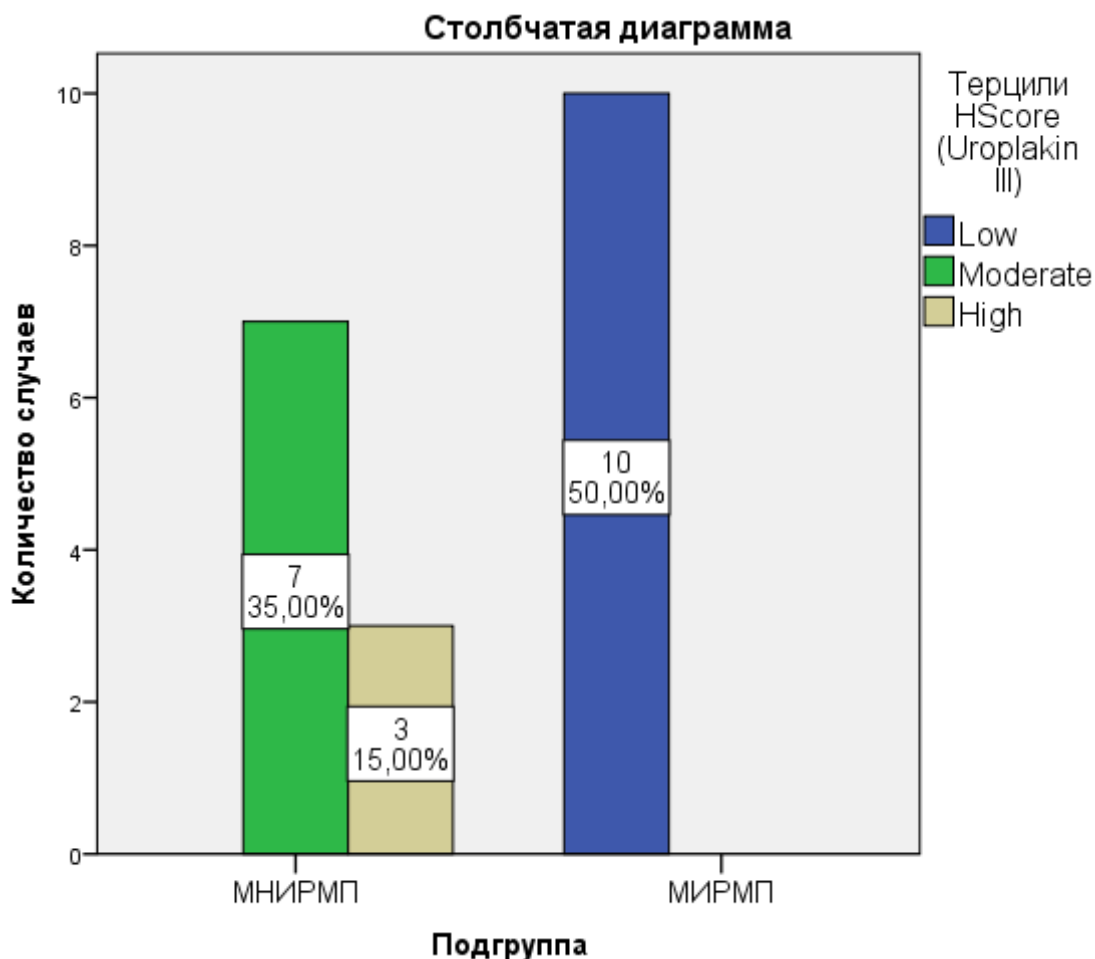


Рисунок 70 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (Uroplakin III) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

Напротив, все случаи МИРМП (100%, $n = 10$) имели низкие показатели HScore Uroplakin III (отрицательную экспрессию Uroplakin III; Таблица 30, Рисунок 70).

При сравнении частот терцильных значений HScore Uroplakin III в III и IV подгруппах выявлены значимые различия: при МИРМП чаще выявлялись низкие (отрицательные) показатели Uroplakin III ($\chi^2 = 20,000$; $p = 0,0001$). Сила связи экспрессии Uroplakin III с типом карциномы уротелия была очень сильной (V Крамера = 1,000).

FGFR3. В подгруппе МНИРМП выявлено, что в 80% ($n = 8$) случаев наблюдались низкие показатели HScore маркера FGFR3, а в 20% ($n = 2$) – высокие показатели. Поражений с умеренным показателем HScore в III подгруппе выявлено не было (Таблица 31, Рисунок 71).

Таблица 31 – Таблица сопряженности по параметру HScore (FGFR3) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

			Терцили HScore (FGFR3)			Всего
			Low	Moderate	High	
Подгруппа	МНИРМП (III)	Количество	8	0	2	10
		% в Подгруппе	80,0%	0,0%	20,0%	100,0%
		% общего итога	40,0%	0,0%	10,0%	50,0%
	МИРМП (IV)	Количество	0	7	3	10
		% в Подгруппе	0,0%	70,0%	30,0%	100,0%
		% общего итога	0,0%	35,0%	15,0%	50,0%
Всего		Количество	8	7	5	20
		% в Подгруппах	40,0%	35,0%	25,0%	100,0%
		% общего итога	40,0%	35,0%	25,0%	100,0%

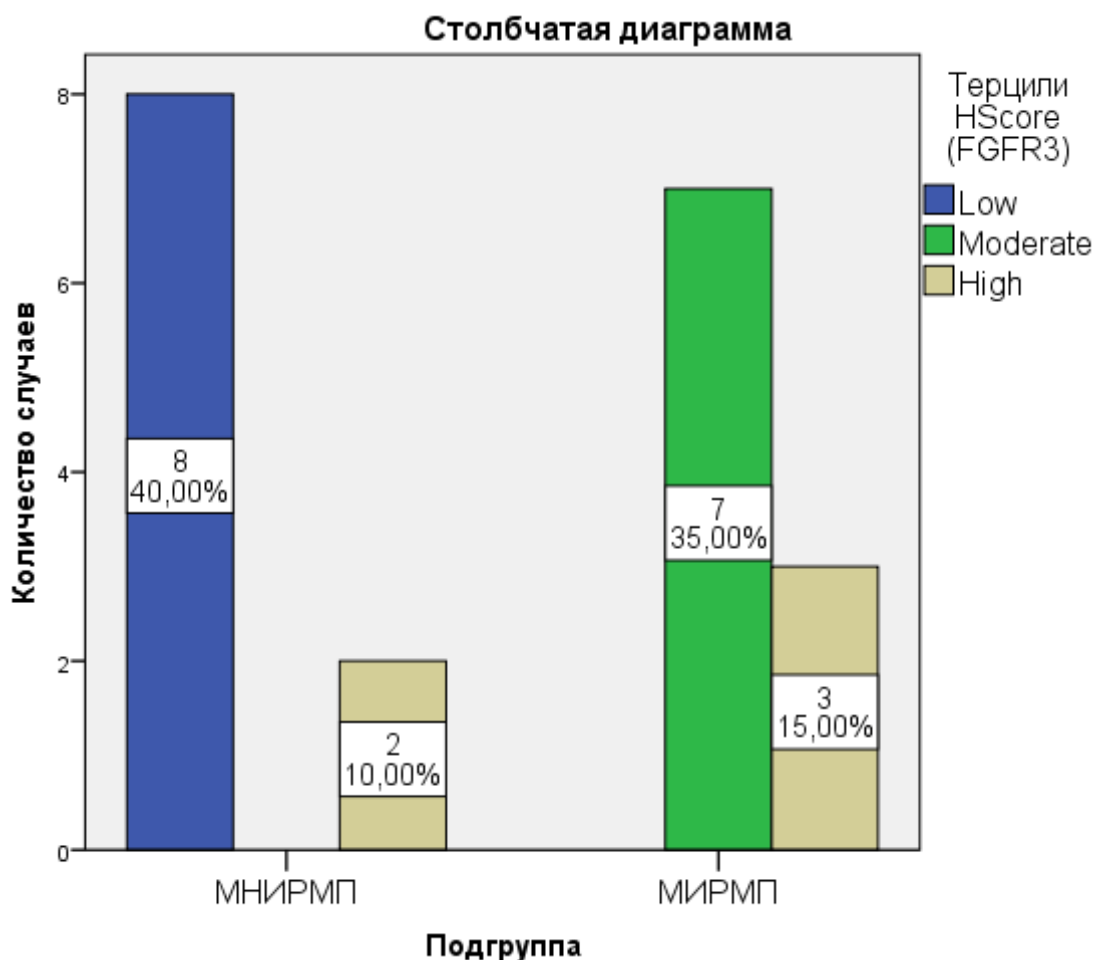


Рисунок 71 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (FGFR3) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

Напротив, большая часть поражений IV подгруппы (70%, n = 7) имела средние показатели HScore FGFR3, а 30% (n = 3) случаев – высокий HScore (Таблица 31, Рисунок 71).

При сравнении частоты встречаемости низких, средних и высоких показателей HScore маркера FGFR3 в обеих подгруппах выявлены значимые различия: для МИРМП характерны более высокие показатели HScore, чем для подгруппы МНИРМП ($\chi^2 = 15,200$; p = 0,001). При этом выявлена очень сильная связь терцильных значений HScore FGFR3 и типа карциномы уротелия (V Крамера = 0,872).

PTEN. В подгруппе III выявлено, что в 60% (n = 6) случаев наблюдались средние показатели HScore маркера PTEN, в 20% (n = 2) – высокие значения и в оставшихся 2 случаях (20%) – низкие показатели (Таблица 32, Рисунок 72).

Таблица 32 – Таблица сопряженности по параметру HScore (PTEN) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

			Терцили HScore (PTEN)			Всего
			Low	Moderate	High	
Подгруппа	МНИРМП (III)	Количество	2	6	2	10
		% в Подгруппе	20,0%	60,0%	20,0%	100,0%
		% общего итога	10,0%	30,0%	10,0%	50,0%
	МИРМП (IV)	Количество	0	9	1	10
		% в Подгруппе	0,0%	90,0%	10,0%	100,0%
		% общего итога	0,0%	45,0%	5,0%	50,0%
Всего		Количество	2	15	3	20
		% в Подгруппах	10,0%	75,0%	15,0%	100,0%
		% общего итога	10,0%	75,0%	15,0%	100,0%

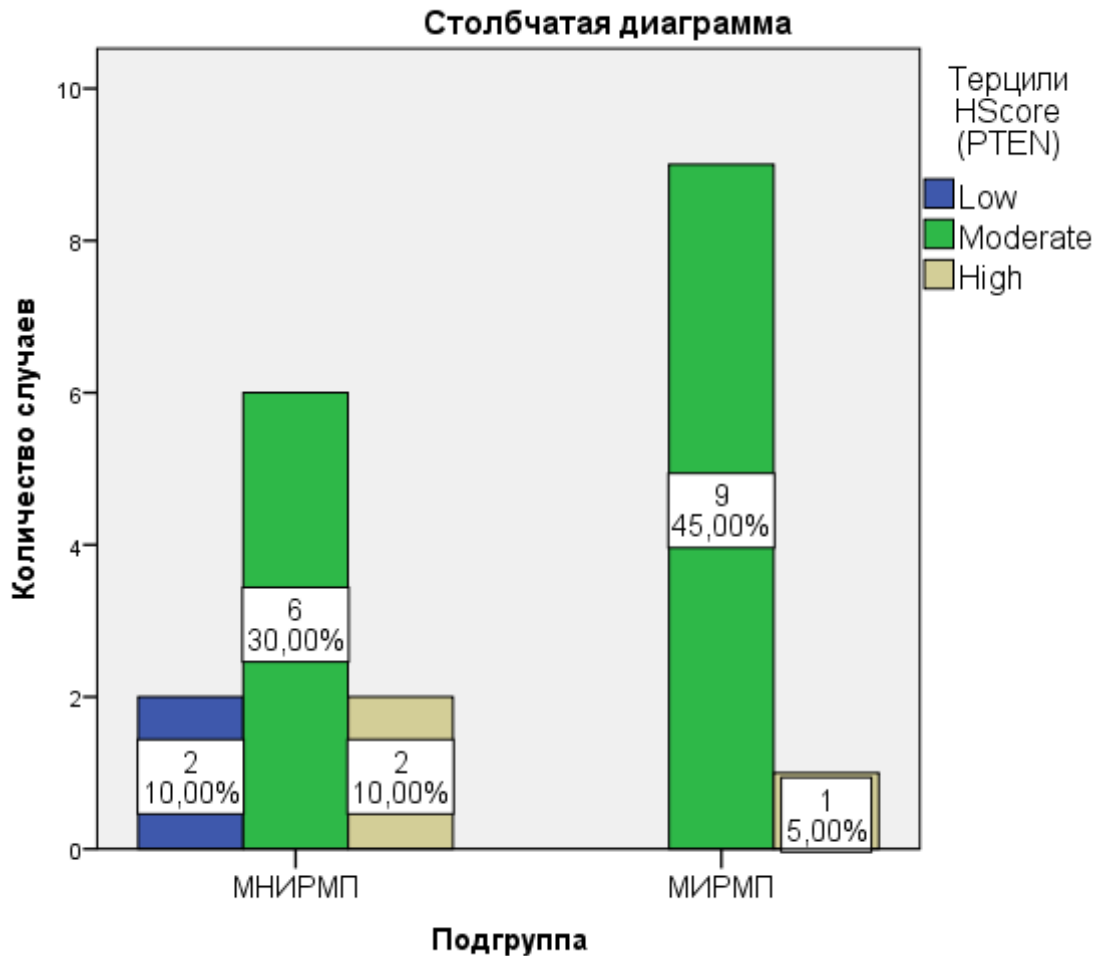


Рисунок 72 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (PTEN) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

В 90% карцином IV подгруппы ($n = 9$) наблюдался умеренный показатель HScore PTEN, в 1 случае (10%) – высокий HScore (Таблица 32, Рисунок 72).

Различий в частоте встречаемости показателей HScore маркера PTEN между подгруппами не было выявлено ($\chi^2 = 2,933$; $p = 0,231$).

GATA3. В III подгруппе в 70% ($n = 7$) случаев выявлен умеренный показатель HScore GATA3, в 20% ($n = 2$) – высокий и в 1 наблюдении (10%) – низкий HScore (Таблица 33, Рисунок 73).

Таблица 33 – Таблица сопряженности по параметру HScore (GATA3) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

			Терцили HScore (GATA3)			Всего
			Low	Moderate	High	
Подгруппа	МНИРМП (III)	Количество	1	7	2	10
		% в Подгруппе	10,0%	70,0%	20,0%	100,0%
		% общего итога	5,0%	35,0%	10,0%	50,0%
	МИРМП (IV)	Количество	7	3	0	10
		% в Подгруппе	70,0%	30,0%	0,0%	100,0%
		% общего итога	35,0%	15,0%	0,0%	50,0%
Всего		Количество	8	10	2	20
		% в Подгруппах	40,0%	50,0%	10,0%	100,0%
		% общего итога	40,0%	50,0%	10,0%	100,0%

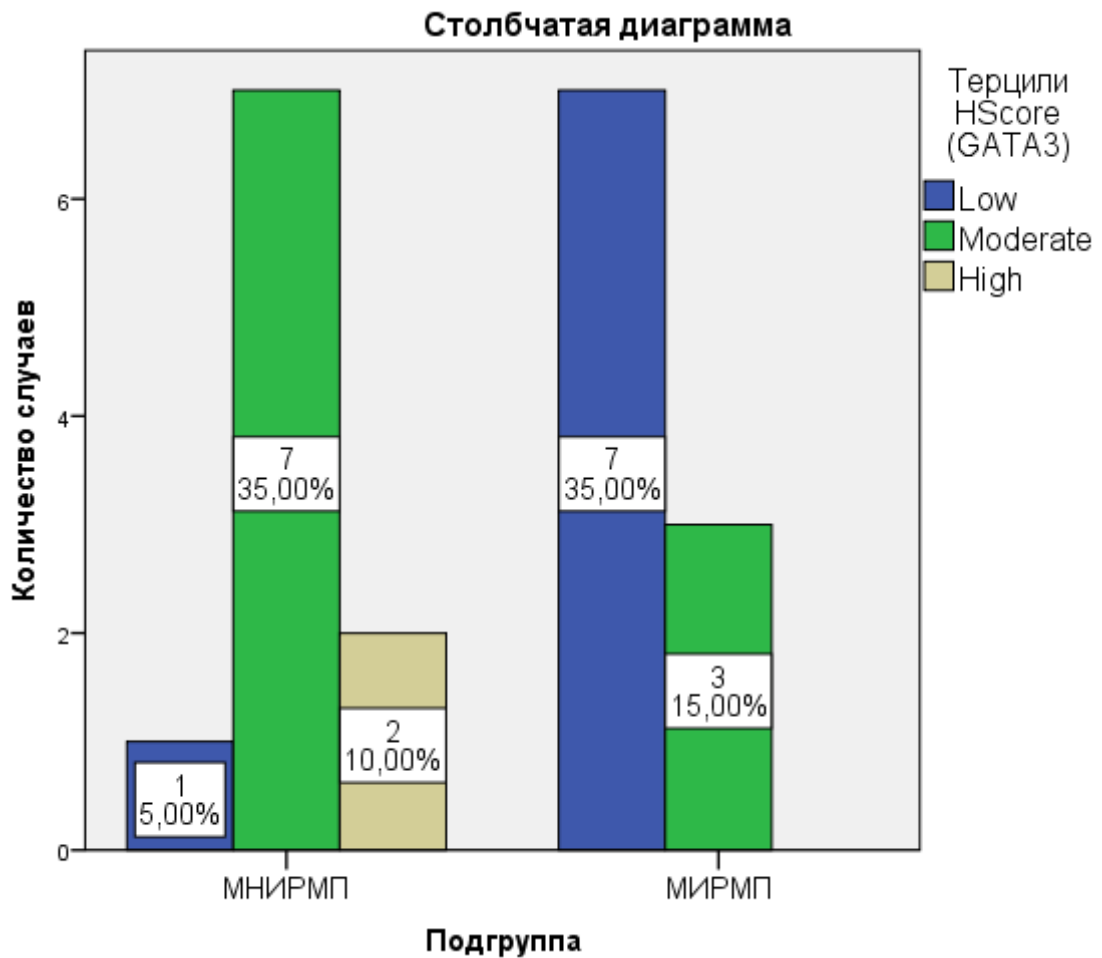


Рисунок 73 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (GATA3) в подгруппах МНИРМП и МИРМП

В мышечно-инвазивных карциномах не было выявлено высоких значений HScore: 70% (n = 7) имели низкие показатели, в другой части опухолей (30%, n = 3) наблюдались умеренные значения HScore (Таблица 33, Рисунок 73).

При сравнении частоты встречаемости низких, средних и высоких показателей HScore маркера GATA3 в обеих подгруппах выявлены значимые различия: для МНИРМП характерны более высокие показатели HScore, чем для МИРМП ($\chi^2 = 8,100$; $p = 0,017$). При этом выявлена сильная связь терцильных значений HScore GATA3 и типа опухоли уротелия (V Крамера = 0,636).

Полученные результаты отражены на Рисунке 74.

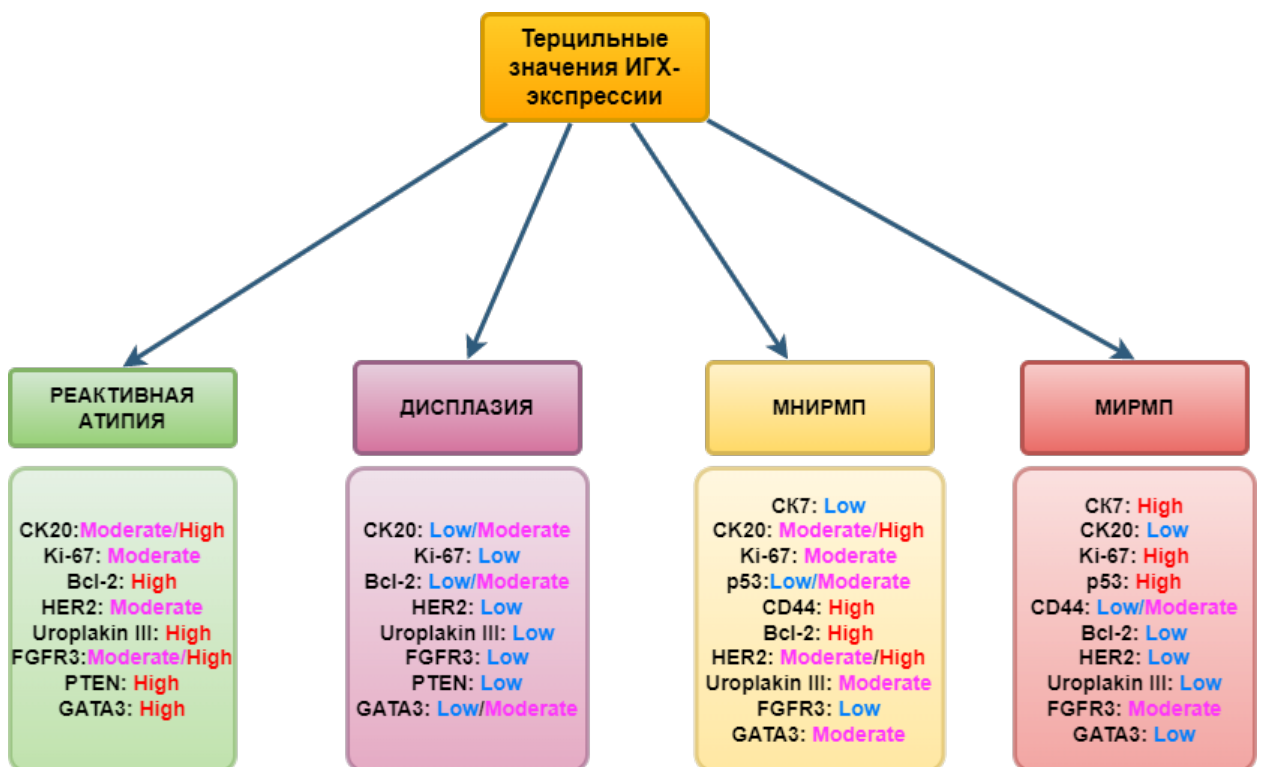


Рисунок 74 – ИГХ-характеристика воспалительных, предраковых и раковых поражений уротелия

Глава 3.7.3. Результаты иммуногистохимического исследования в группах по степеням дифференцировки (количественные значения HistoScore)

Дальнейшим этапом нашей работы была проверка гипотезы о наличии различий в экспрессии ИГХ-маркеров в опухолях мочевого пузыря с различной степенью дифференцировки.

В подгруппе МНИРМП для проведения ИГХ-исследования были отобраны 10 случаев, из них 8 случаев имели степень дифференцировки G1 (ВОЗ 1973 г.) и low-grade профиль (ВОЗ 2022 г.), 2 случая – степень дифференцировки G2 и high-grade профиль.

В подгруппе МИРМП все 10 случаев имели степень дифференцировки G3 и high-grade профиль.

Для III подгруппы показатели HScore в группах по степеням дифференцировки распределились следующим образом:

а) в подгруппе G1 карцином медианы HScore составили: CK7 – 259 баллов; CK20 – 148 баллов; Ki-67 – 21%; p53 – 17,1 балла; CD44 – 230 баллов; Vcl-2 – 68,8 балла; HER2 – 1 балл; Uroplakin III – 18,1 балла; FGFR3 – 151 балл; PTEN – 182 балла; GATA3 – 289 баллов;

б) в подгруппе G2 карцином медианы HScore составили: CK7 – 293 балла; CK20 – 290 баллов; Ki-67 – 23%; p53 – 6,24 балла; CD44 – 211 баллов; Vcl-2 – 33,6 балла; HER2 – 2 балла; Uroplakin III – 20,8 балла; FGFR3 – 130 баллов; PTEN – 152 балла; GATA3 – 291 балл.

В IV подгруппе показатели HScore для карцином G3/high-grade составили: CK7 – 294 балла; CK20 – 0,2 балла; Ki-67 – 53,6%; p53 – 119 баллов; CD44 – 23 балла; Vcl-2 – 0 баллов; HER2 – 0 баллов; Uroplakin III – 0 баллов; FGFR3 – 246 баллов; PTEN – 204 балла; GATA3 – 288 баллов.

Для определения значимости различий ИГХ-экспрессии маркеров CK7, CK20, Ki-67, p53, CD44, Vcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3, PTEN, GATA3 между опухолями с различной степенью дифференцировки по классификации ВОЗ 1973

г. мы воспользовались Н-критерием Краскела—Уоллиса, который показал значимые различия (Таблица 34).

Таблица 34 – Сравнение экспрессии ИГХ-маркеров в опухолях с различной степенью дифференцировки по классификации ВОЗ 1973 г. (Н-критерий Краскела—Уоллиса)

ИГХ-маркер (метод подсчета)	Критерий согласия Пирсона χ^2	df (степеней свободы)	р-уровень значимости	Размер эффекта ϵ^2
СК7 (HScore)	13,94	2	< 0,001	0,734
СК20 (HScore)	14,79	2	< 0,001	0,779
Ki-67 (%)	15,72	2	< 0,001	0,828
p53 (HScore)	15,71	2	< 0,001	0,827
CD44 (HScore)	14,60	2	< 0,001	0,768
Bcl-2 (HScore)	6,29	2	0,043	0,331
HER2 (баллы)	12,59	2	0,002	0,663
Uroplakin III (HScore)	16,46	2	< 0,001	0,866
FGFR3 (HScore)	5,46	2	0,065	0,287
PTEN (HScore)	7,86	2	0,020	0,414
GATA3 (HScore)	9,59	2	0,008	0,505

Для интерпретации результатов однофакторного дисперсионного анализа Краскела—Уоллиса нами были проведены апостериорные попарные сравнения методом (тестом) Двасса—Стила—Кричлоу—Флигнера.

В ходе исследования не выявлено значимых различий в экспрессии ИГХ-маркеров между группами G1 и G2, однако выявлены значимые различия по

параметру HScore между исследуемыми подгруппами G1 и G3 с маркерами CK7 ($Me_{G1} = 259$; $Me_{G3} = 294$; $W = 5,08$; $p < 0,001$), CK20 ($Me_{G1} = 148$; $Me_{G3} = 0,2$; $W = -5,08$; $p < 0,001$), Ki-67 ($Me_{G1} = 21\%$; $Me_{G3} = 53,6\%$; $W = 5,09$; $p < 0,001$), p53 ($Me_{G1} = 17,1$; $Me_{G3} = 119$; $W = 5,09$; $p < 0,001$), CD44 ($Me_{G1} = 230$; $Me_{G3} = 23$; $W = -5,082$; $p < 0,001$), Bcl-2 ($Me_{G1} = 68,8$; $Me_{G3} = 0$; $W = -3,451$; $p = 0,039$), HER2 ($Me_{G1} = 1$; $Me_{G3} = 0$; $W = -4,43$; $p = 0,005$), Uroplakin III ($Me_{G1} = 18,1$; $Me_{G3} = 0$; $W = -5,535$; $p < 0,001$) и GATA3 ($Me_{G1} = 289$; $Me_{G3} = 288$; $W = -4,07$; $p = 0,011$). Опухоли со степенью дифференцировки G1 имели выраженную экспрессию CK20, CD44, Bcl-2, HER2, Uroplakin III, GATA3, а карциномы G3 – CK7, Ki-67, p53. Значимых различий экспрессии FGFR3 и PTEN в вышеописанных группах не обнаружено.

В отношении подгрупп G2 и G3 выявлены значимые различия только в уровне экспрессии HER2 ($Me_{G2} = 2$; $Me_{G3} = 0$; $W = -3,43$; $p = 0,041$) и Uroplakin III ($Me_{G2} = 20,8$; $Me_{G3} = 0$; $W = -4,671$; $p = 0,003$). Получено, что умереннодифференцированные опухоли имели выраженную экспрессию HER2 и Uroplakin III в сравнении с низкодифференцированными опухолями.

Выявленные значимые различия между исследованными подгруппами отображены в Таблице 35.

Таблица 35 – Парные сравнения экспрессии ИГХ-маркеров в опухолях с различной степенью дифференцировки по классификации ВОЗ 1973 г., (апостериорные сравнения методом Двасса—Стила—Кричлоу—Флигнера)

Попарное сравнение подгрупп	ИГХ-маркер	W-критерий Вилкоксона	p-уровень значимости
G1 и G2	CK7	3,17	0,064
	CK20	1,48	0,549
	Ki-67	3,17	0,064
	p53	-3,17	0,064
	CD44	-0,755	0,855

	Bcl-2	-0,788	0,843
	HER2	2,12	0,291
	Uroplakin III	0,750	0,857
	FGFR3	0,00	1,000
	PTEN	-3,17	0,064
	GATA3	1,59	0,501
G1 и G3	CK7	5,08	< 0,001
	CK20	-5,08	< 0,001
	Ki-67	5,09	< 0,001
	p53	5,09	< 0,001
	CD44	-5,082	< 0,001
	Bcl-2	-3,451	0,039
	HER2	-4,43	0,005
	Uroplakin III	-5,535	< 0,001
	FGFR3	2,52	0,176
	PTEN	2,54	0,170
	GATA3	-4,07	0,011
G2 и G3	CK7	0,00	1,000
	CK20	-3,15	0,067
	Ki-67	3,06	0,078
	p53	3,05	0,078
	CD44	-3,127	0,069
	Bcl-2	-3,162	0,065
	HER2	-3,43	0,041
	Uroplakin III	-4,671	0,003
	FGFR3	3,04	0,080
	PTEN	3,06	0,078
	GATA3	-2,43	0,197

Для определения значимости различий ИГХ-экспрессии маркеров CK7, CK20, Ki-67, p53, CD44, Vcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3, PTEN, GATA3 между опухолями low- и high-grade (ВОЗ 2022 г.) нами был использован U-критерий Манна—Уитни. Получены значимые различия в отношении маркеров CK7 ($p < 0,001$), CK20 ($p = 0,006$), Ki-67 ($p < 0,001$), p53 ($p = 0,014$), CD44 ($p < 0,001$), Vcl-2 ($p = 0,029$), HER2 ($p = 0,026$), Uroplakin III ($p = 0,002$) и GATA3 ($p = 0,032$). Карциномы низкой степени злокачественности имели выраженную экспрессию CK20, CD44, Vcl-2, HER2, Uroplakin III, GATA3, а опухоли high-grade – CK7, Ki-67, p53. Значимых различий экспрессии FGFR3 и PTEN в вышеописанных группах не обнаружено.

Глава 3.7.4. Результаты иммуногистохимического исследования в подгруппах по степеням дифференцировки (терцильные значения HistoScore)

CK7. В подгруппе G1 в 100% ($n = 8$) случаев наблюдались низкие показатели HScore маркера CK7 (Рисунок 75). Напротив, все карциномы G2 (100%, $n = 2$) имели высокие значения HScore CK7, а опухоли G3 – средние (20%, $n = 2$) и высокие (80%; $n = 8$) показатели (Рисунок 75).

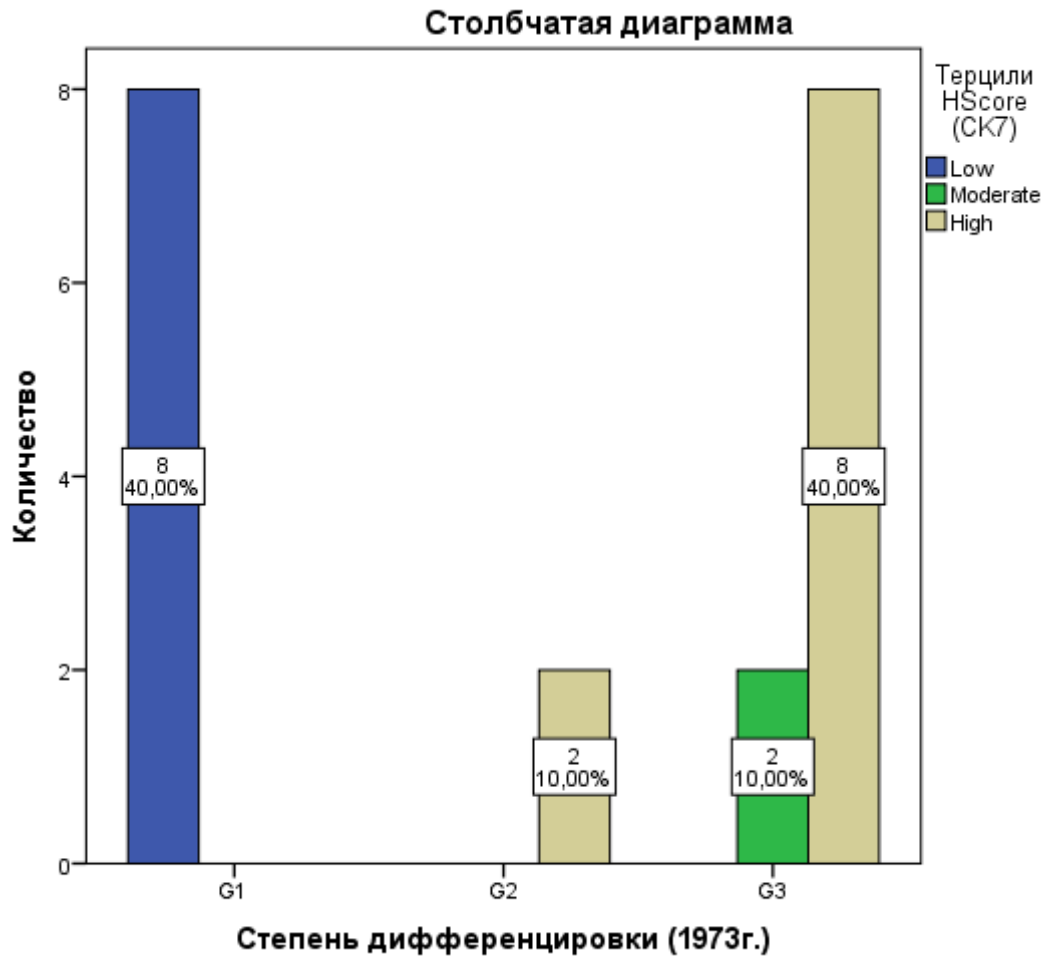


Рисунок 75 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (СК7) в подгруппах по степеням дифференцировки (1973 г.)

В low-grade карциномах выявлен Low-HScore СК7 (100%, n = 8), в опухолях high-grade Moderate- (16,7%, n = 2) и High-HScore (83,3%, n = 10; Рисунок 76).

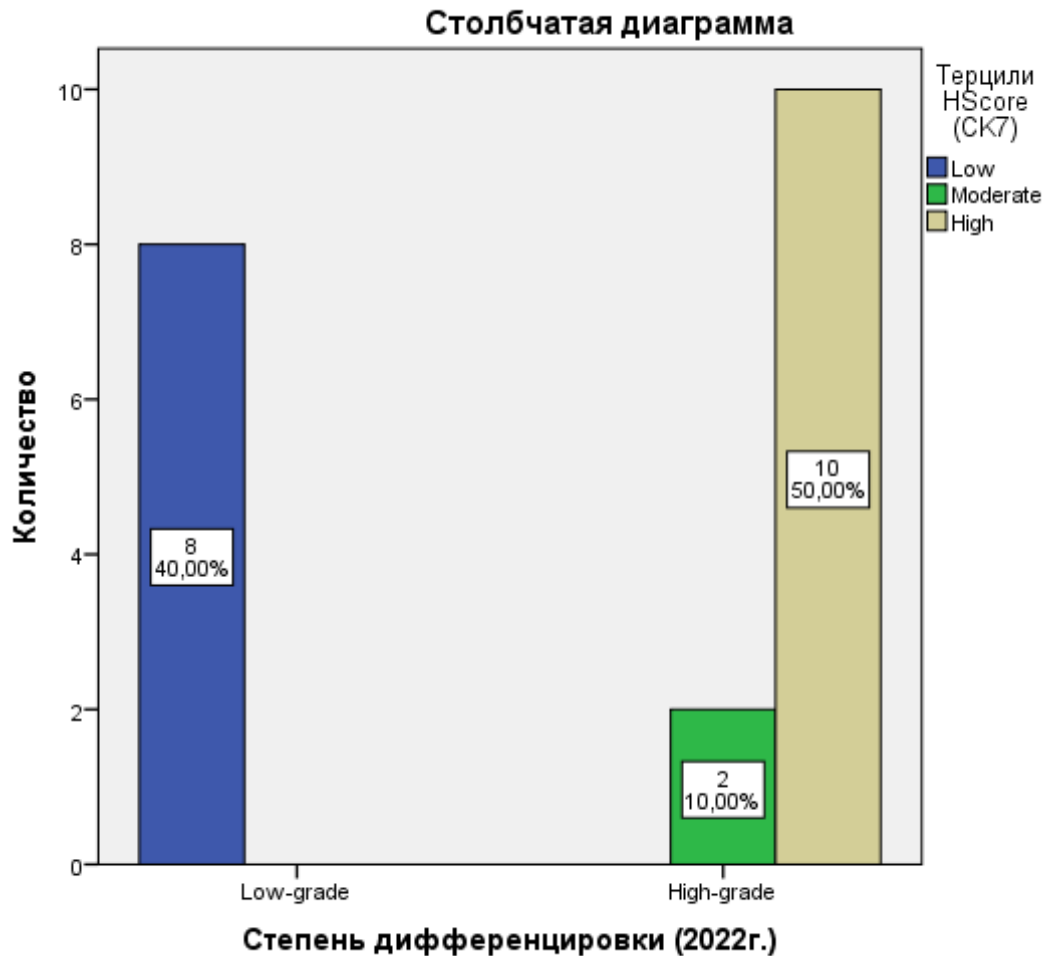


Рисунок 76 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (СК7) в подгруппах по степеням дифференцировки (2022 г.)

При сравнении частот терцильных значений HScore СК7 в подгруппах карцином с высокой (G1), умеренной (G2) и низкой (G3) степенями дифференцировки выявлены достоверные различия: в G1 опухолях чаще выявлялись низкие показатели СК7 ($\chi^2 = 20,800$; $p = 0,0001$). Сила связи экспрессии СК7 со степенью дифференцировки опухоли была сильной (V Крамера = 0,721).

При сравнении частоты встречаемости низких, средних и высоких показателей HScore маркера СК7 в подгруппах low- и high-grade карцином также выявлены значимые различия: для опухолей низкой степени злокачественности были характерны низкие показатели HScore ($\chi^2 = 20,000$; $p = 0,0001$). При этом выявлена сильная связь терцильных значений HScore СК7 и градации карциномы по классификации ВОЗ от 2022 г. (V Крамера = 1,000).

СК20. В подгруппе G1 в 50% (n = 4) случаев наблюдались средние показатели HScore маркера СК20, в оставшихся 50% случаев (n = 4) – высокие показатели (Рисунок 77). Все карциномы G2 (100%, n = 2) имели высокие значения HScore СК20; в опухолях G3, напротив, выявлены преимущественно низкие значения HScore (90%, n = 9), в 1 наблюдении (10%) – средние показатели (Рисунок 77).

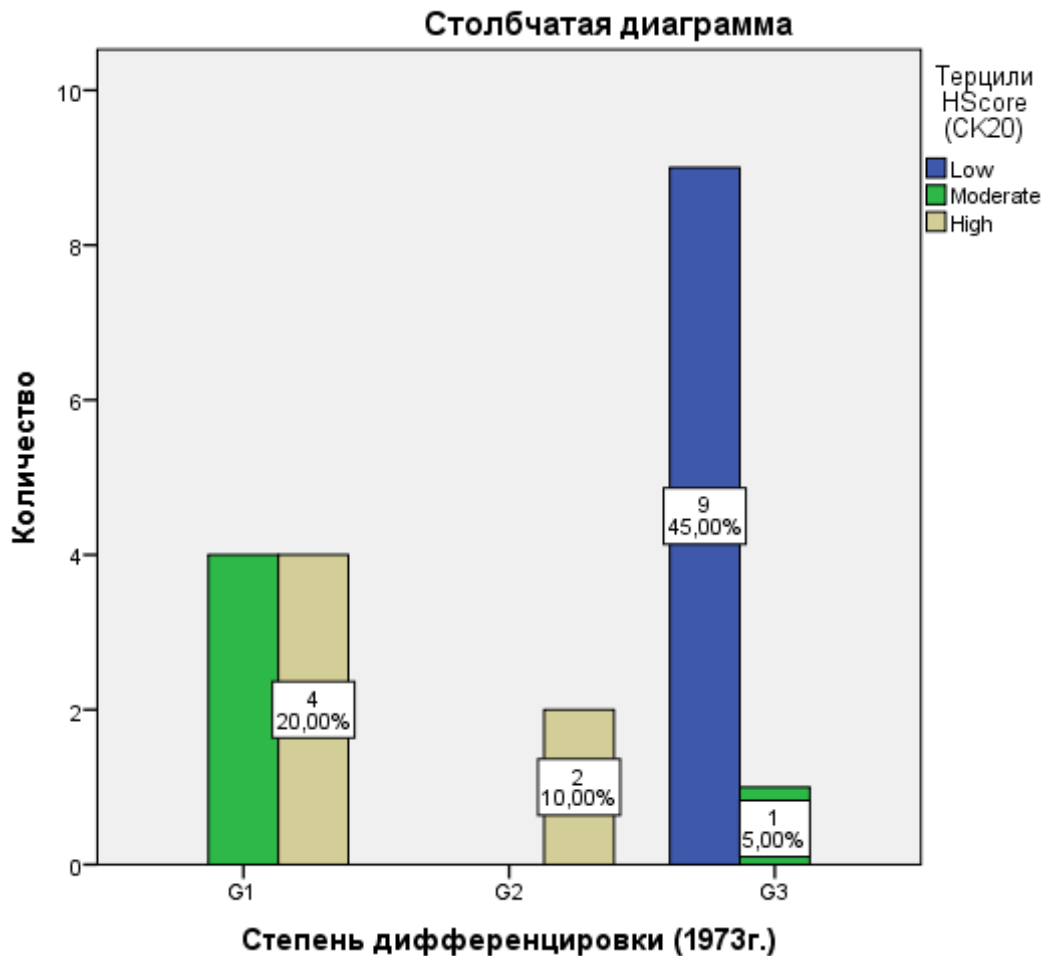


Рисунок 77 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (СК20) в подгруппах по степеням дифференцировки (1973 г.)

В 50% low-grade карцином выявлен Moderate-HScore СК20 (n = 4), в оставшихся 50% случаев (n = 4) – High-HScore (Рисунок 78). Опухоли высокой степени злокачественности в подавляющем большинстве случаев (75%, n = 9) имели низкие значения HScore СК20, в 16,7% (n = 2) наблюдений средние и в 1 наблюдении (8,3%) – низкие показатели HScore (Рисунок 78).

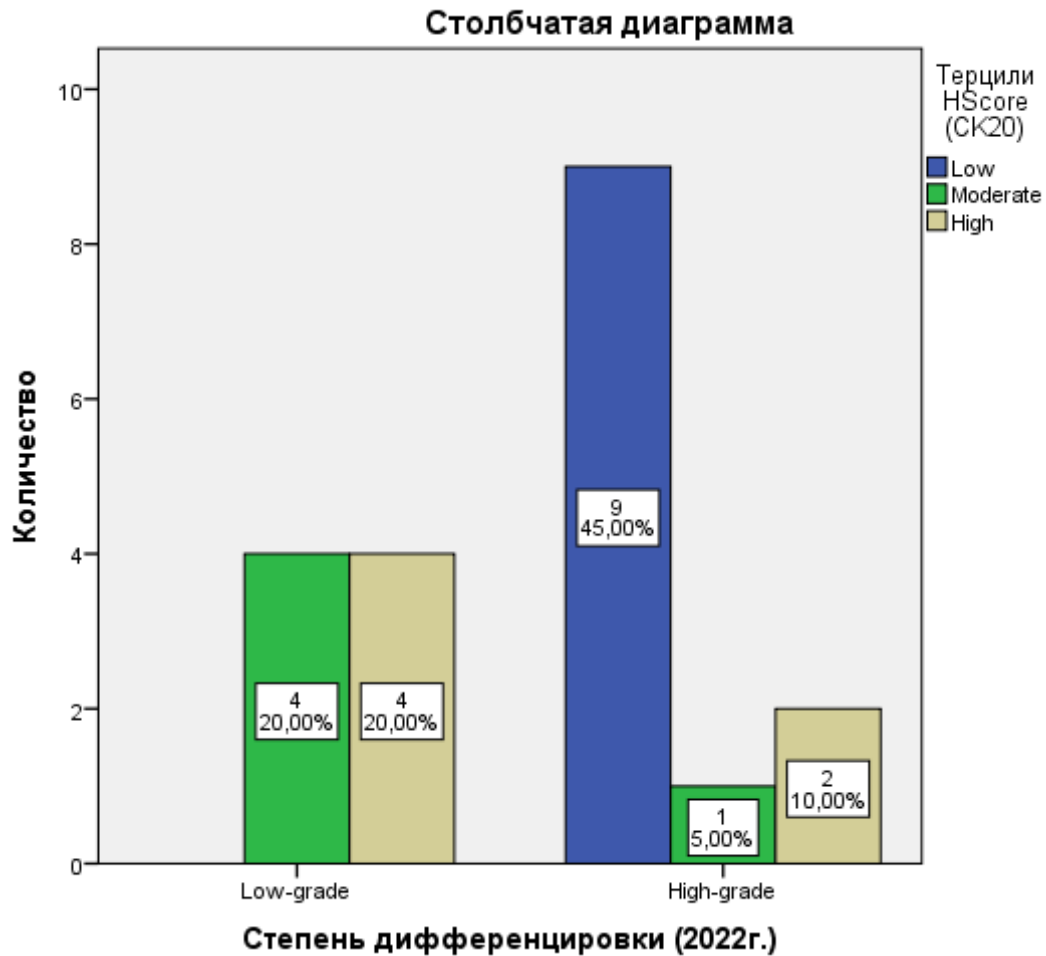


Рисунок 78 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (СК20) в подгруппах по степеням дифференцировки (2022 г.)

При сравнении частот терцильных значений HScore СК20 в G1-G3 подгруппах карцином выявлены достоверные различия: в G3 опухолях чаще выявлялись низкие показатели СК20 ($\chi^2 = 19,733$; $p = 0,001$). Сила связи экспрессии СК20 со степенью дифференцировки опухоли была сильной (V Крамера = 0,702).

При сравнении частоты встречаемости низких, средних и высоких показателей HScore маркера СК20 в подгруппах low- и high-grade карцином также выявлены значимые различия: для опухолей высокой степени злокачественности были характерны низкие показатели HScore ($\chi^2 = 11,111$; $p = 0,004$). При этом выявлена сильная связь терцильных значений HScore СК20 и градации карциномы по классификации ВОЗ от 2022 г. (V Крамера = 0,745).

Ki-67. В подгруппе G1 значения индекса пролиферации Ki-67 в большинстве случаев (75%, n = 6) были умеренными (от 8,2 до 23%). В 25% случаев (n = 2) были выявлены низкие значения Ki-67 (< 8,2%; Рисунок 79). Все карциномы G2 (100%, n = 2) имели умеренные показатели, а 100% опухолей G3 (n = 10) – высокие значения индекса.

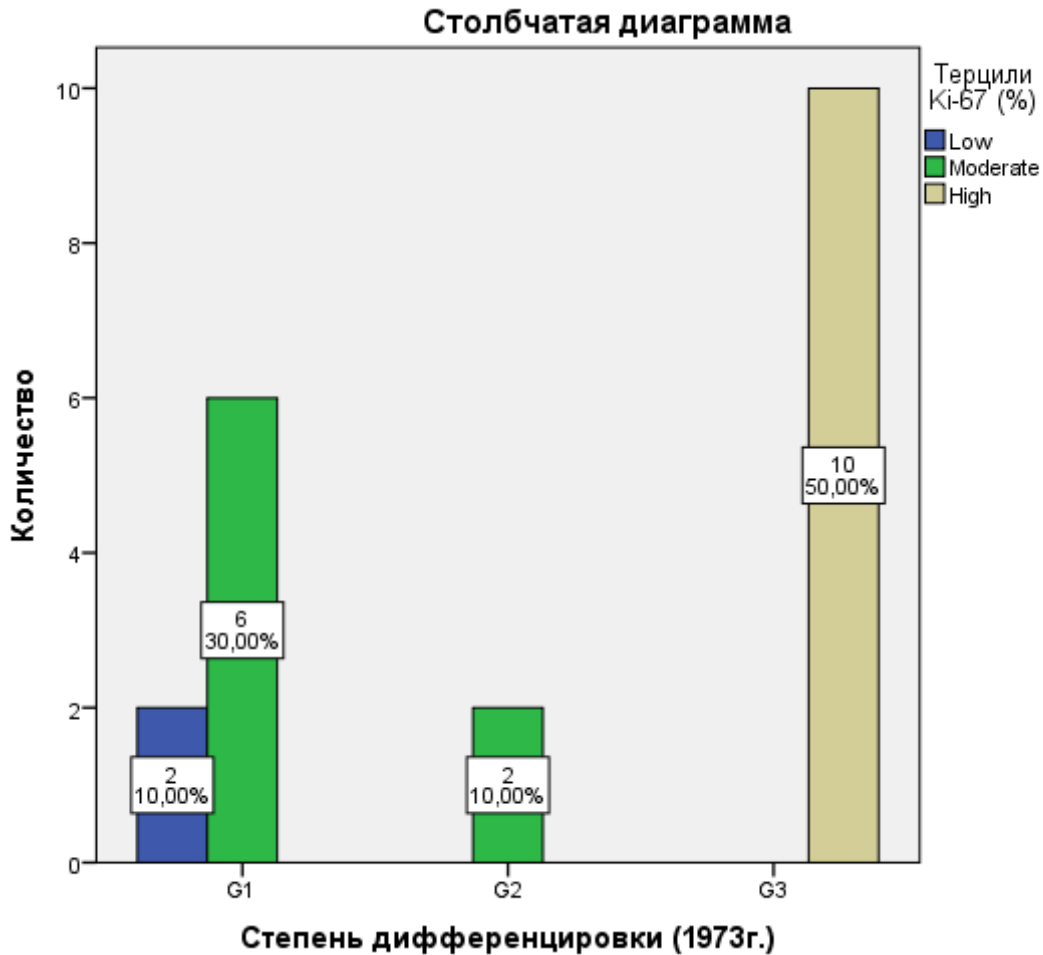


Рисунок 79 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-Ki-67-индекса (%) в подгруппах по степеням дифференцировки (1973 г.)

В 75% low-grade карцином (n = 6) выявлены умеренные значения индекса пролиферации Ki-67, а в 25% (n = 2) случаев – низкие показатели (Рисунок 80). Опухоли высокой степени злокачественности в большинстве случаев (83,3%, n = 10) имели высокие показатели индекса, в 16,7% (n = 2) случаев значения были умеренными.

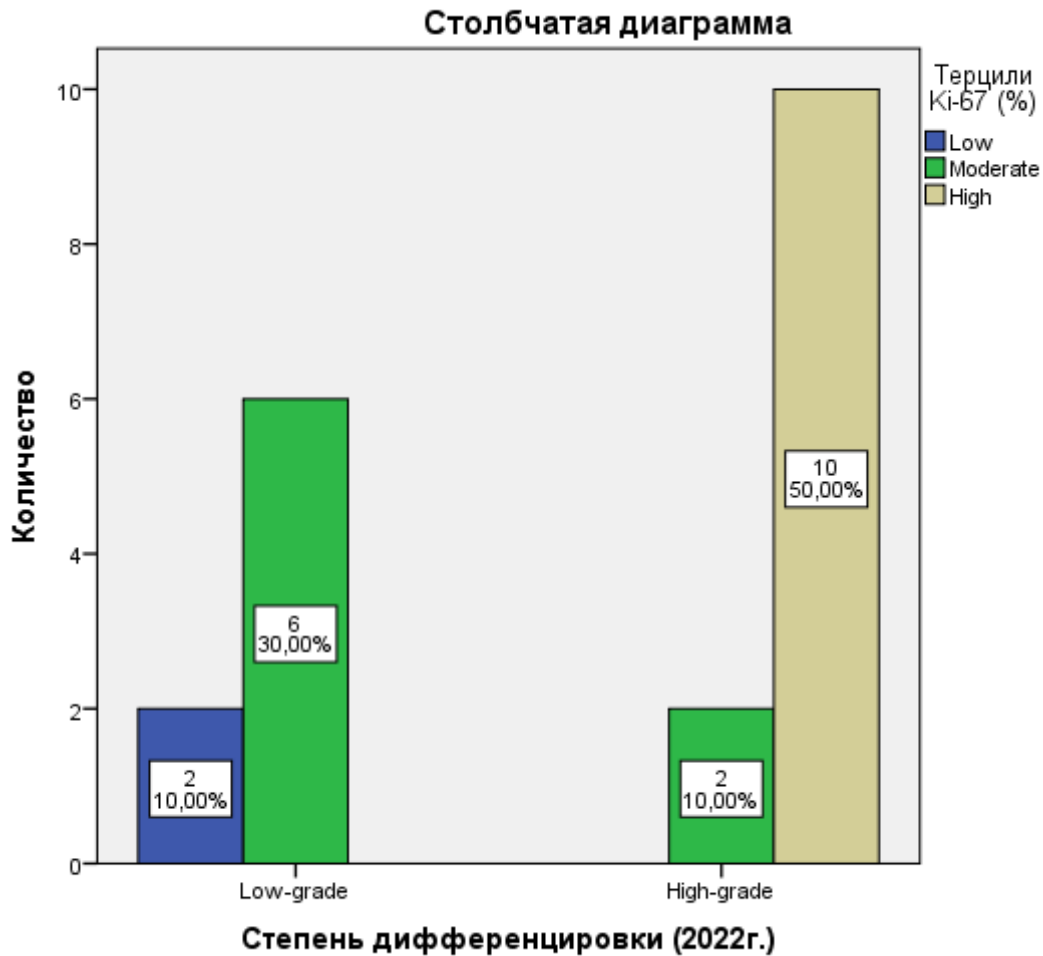


Рисунок 80 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-Ki-67-индекса (%) в подгруппах по степеням дифференцировки (2022 г.)

При сравнении частот значений Ki-67 в G1-G3 подгруппах выявлены значимые различия: в низкодифференцированных опухолях чаще выявлялись высокие значения индекса пролиферации ($\chi^2 = 21,250$; $p = 0,0001$). Сила связи экспрессии Ki-67 с со степенью дифференцировки (1973 г.) была сильной (V Крамера = 0,729).

При сравнении частоты встречаемости низких, средних и высоких показателей HScore маркера Ki-67 в подгруппах low- и high-grade карцином также выявлены значимые различия: для опухолей высокой степени злокачественности был характерен высокий показатель индекса пролиферации ($\chi^2 = 13,750$; $p = 0,001$). При этом выявлена очень сильная связь терцильных значений Ki-67 и градации карциномы по классификации ВОЗ от 2022 г. (V Крамера = 0,829).

p53. Касаемо экспрессии маркера p53, в подгруппе G1 карцином чаще выявлялись случаи со средними показателями HScore (75%, n = 6), в остальных случаях был выявлен низкий уровень экспрессии (25%, n = 2; Рисунок 81). У всех карцином G2 (100%, n = 2) выявлен низкий уровень экспрессии p53; большинство карцином G3 (90%, n = 9), напротив, имели высокий уровень экспрессии маркера, только в 1 (10%) случае низкодифференцированной карциномы обнаружен умеренный показатель HScore.

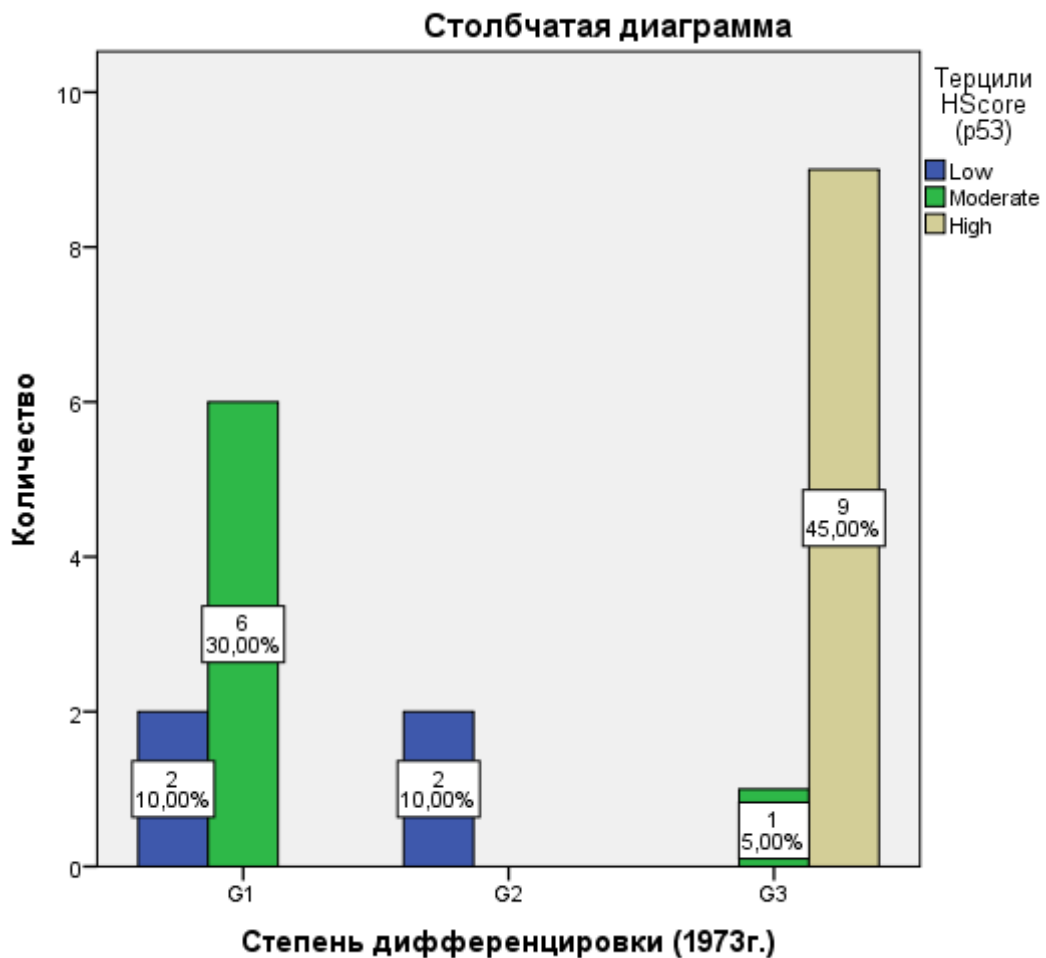


Рисунок 81 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (p53) в подгруппах по степеням дифференцировки (1973 г.)

В 75% low-grade карцином выявлен Moderate-HScore p53 (n = 6), в оставшихся 25% случаях (n = 2) – High-HScore (Рисунок 82). Опухоли высокой степени злокачественности преимущественно (75%, n = 9) имели высокие значения

HScore p53, в 16,7% (n = 2) наблюдений – низкие и в 1 наблюдении (8,3%) – средние показатели HScore (Рисунок 82).

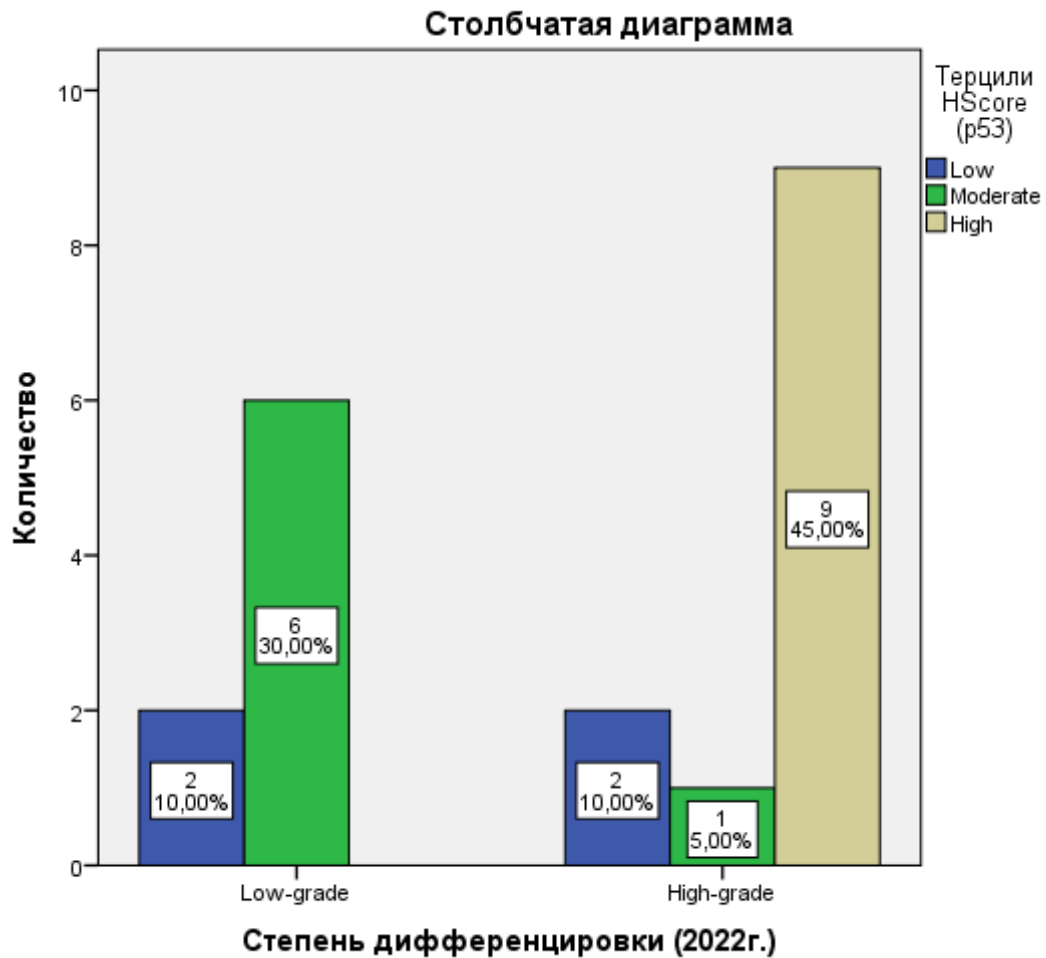


Рисунок 82 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (p53) в подгруппах по степеням дифференцировки (2022 г.)

При сравнении частот терцильных значений HScore p53 в подгруппах карцином с высокой (G1), умеренной (G2) и низкой (G3) степенями дифференцировки выявлены достоверные различия: в G3 опухолях чаще выявлялись высокие показатели p53 ($\chi^2 = 23,643$; $p = 0,0001$). Сила связи экспрессии p53 со степенью дифференцировки опухоли была сильной (V Крамера = 0,769).

При сравнении частоты встречаемости низких, средних и высоких показателей HScore маркера p53 в подгруппах low- и high-grade карцином также выявлены значимые различия: для опухолей высокой степени злокачественности были характерны высокие показатели HScore ($\chi^2 = 12,262$; $p = 0,002$). При этом

выявлена сильная связь терцильных значений HScore p53 и градации карциномы по классификации ВОЗ от 2022 г. (V Крамера = 0,783).

CD44. В подгруппе G1 в 62,5% ($n = 5$) случаев наблюдались высокие, а в 37,5% ($n = 3$) – умеренные показатели HScore маркера CD44 (Рисунок 83). Все карциномы G2 (100%, $n = 2$) имели высокие значения HScore CD44, а опухоли G3 – средние (40%, $n = 4$) и низкие (60%; $n = 5$) показатели (Рисунок 83).

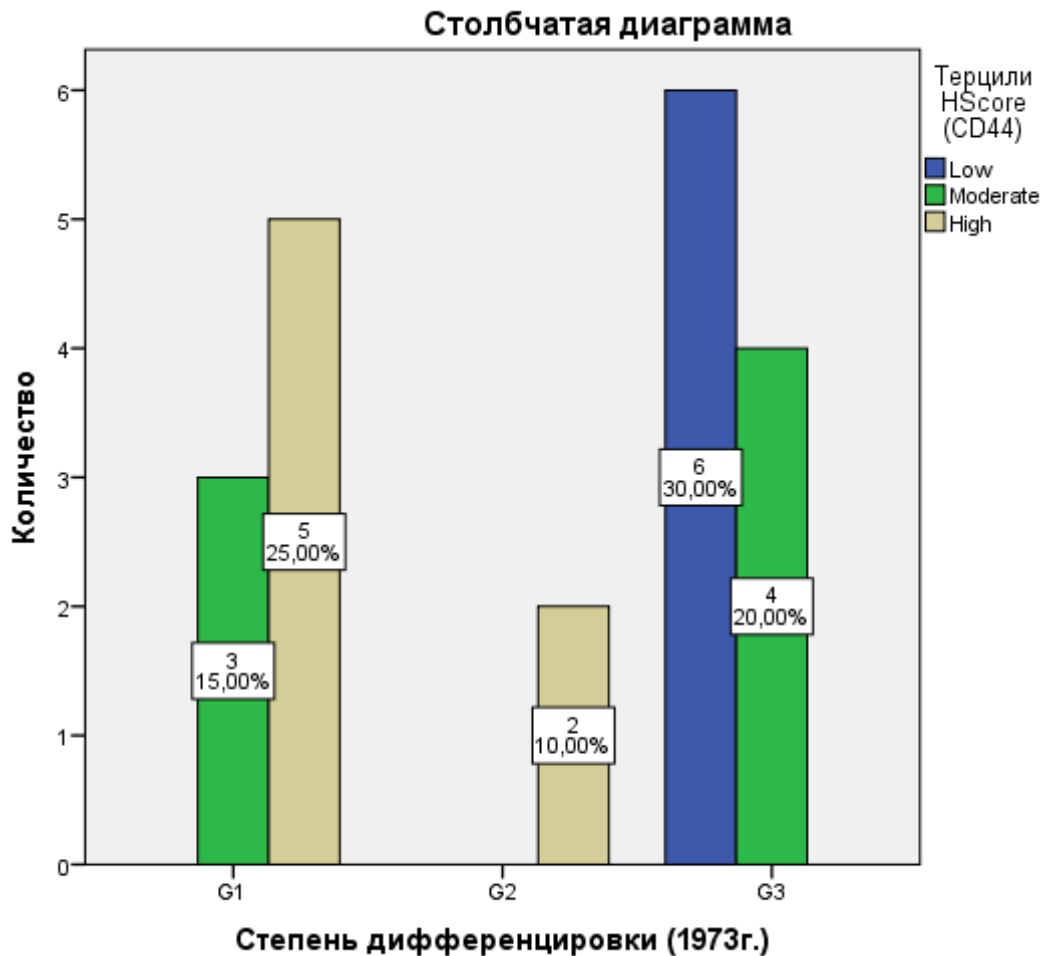


Рисунок 83 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (CD44) в подгруппах по степеням дифференцировки (1973 г.)

В low-grade карциномах 62,5% случаев ($n = 5$) имели High-HScore CD44, а 37,5% ($n = 3$) – Moderate-HScore. Половина опухолей high-grade (50%, $n = 6$) имела низкий показатель HScore, 33,3% ($n = 4$) – умеренный и 16,7% ($n = 2$) – высокий HScore (Рисунок 84).

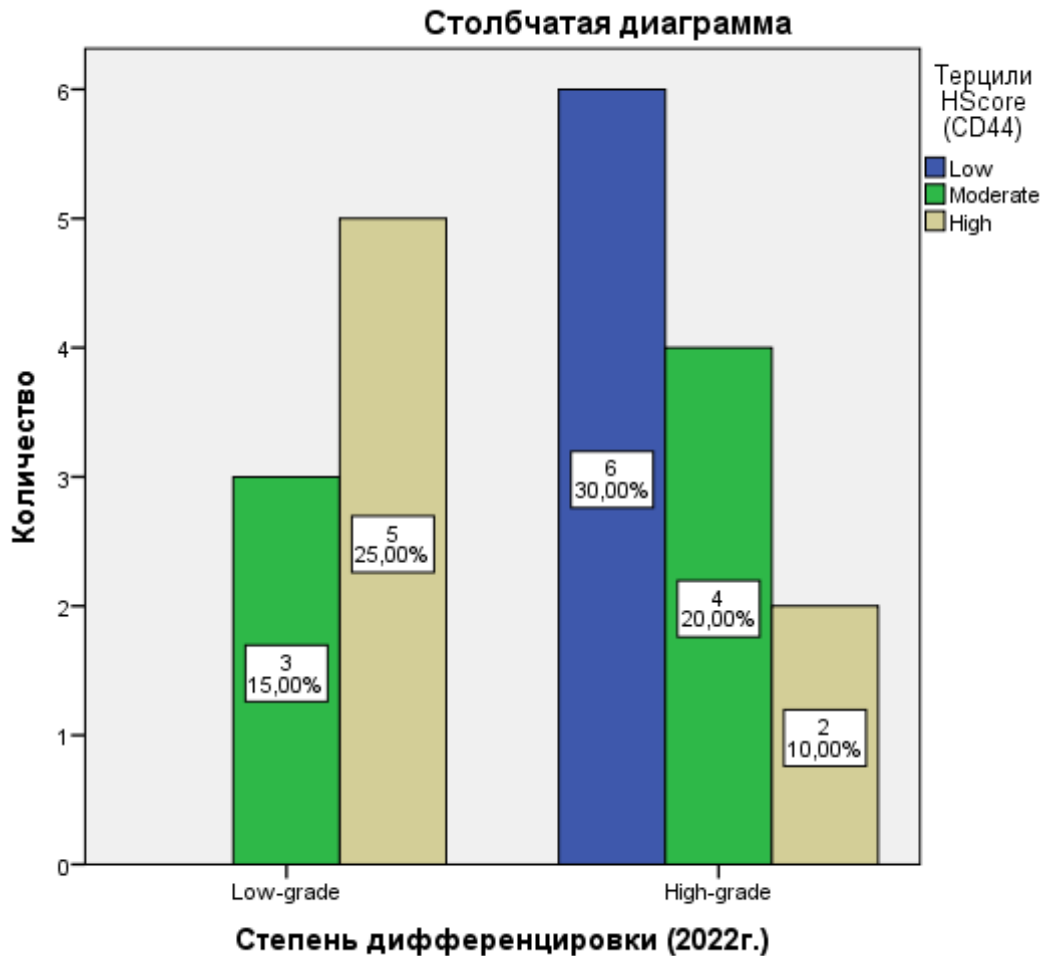


Рисунок 84 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (CD44) в подгруппах по степеням дифференцировки (2022 г.)

При сравнении частот терцильных значений HScore CD44 в G1-G3 подгруппах карцином выявлены достоверные различия: в G3 опухолях чаще выявлялись низкие показатели CD44, в отличие от карцином G1, где преобладал высокий HScore ($\chi^2 = 14,425$; $p = 0,006$). Сила связи экспрессии CD44 со степенью дифференцировки опухоли была сильной (V Крамера = 0,601).

При сравнении частоты встречаемости низких, средних и высоких показателей HScore маркера CD44 в подгруппах low- и high-grade карцином также выявлены значимые различия: для опухолей высокой степени злокачественности были характерны низкие показатели HScore ($\chi^2 = 6,905$; $p = 0,032$). При этом выявлена относительно сильная связь терцильных значений HScore CD44 и градации карциномы по классификации ВОЗ от 2022 г. (V Крамера = 0,588).

Bcl-2. В подгруппе G1 в 50% (n = 5) случаев наблюдались низкие показатели HScore маркера Bcl-2 (Рисунок 85), в оставшейся половине (50%, n = 5) высокие. Таким же образом распределились и карциномы G2: выявлена 1 карцинома с высоким HScore, другая опухоль – с низким (50% / 50%). Все опухоли G3 имели высокие (100%; n = 10) показатели (Рисунок 85). Средних показателей экспрессии в данных подгруппах не было обнаружено.

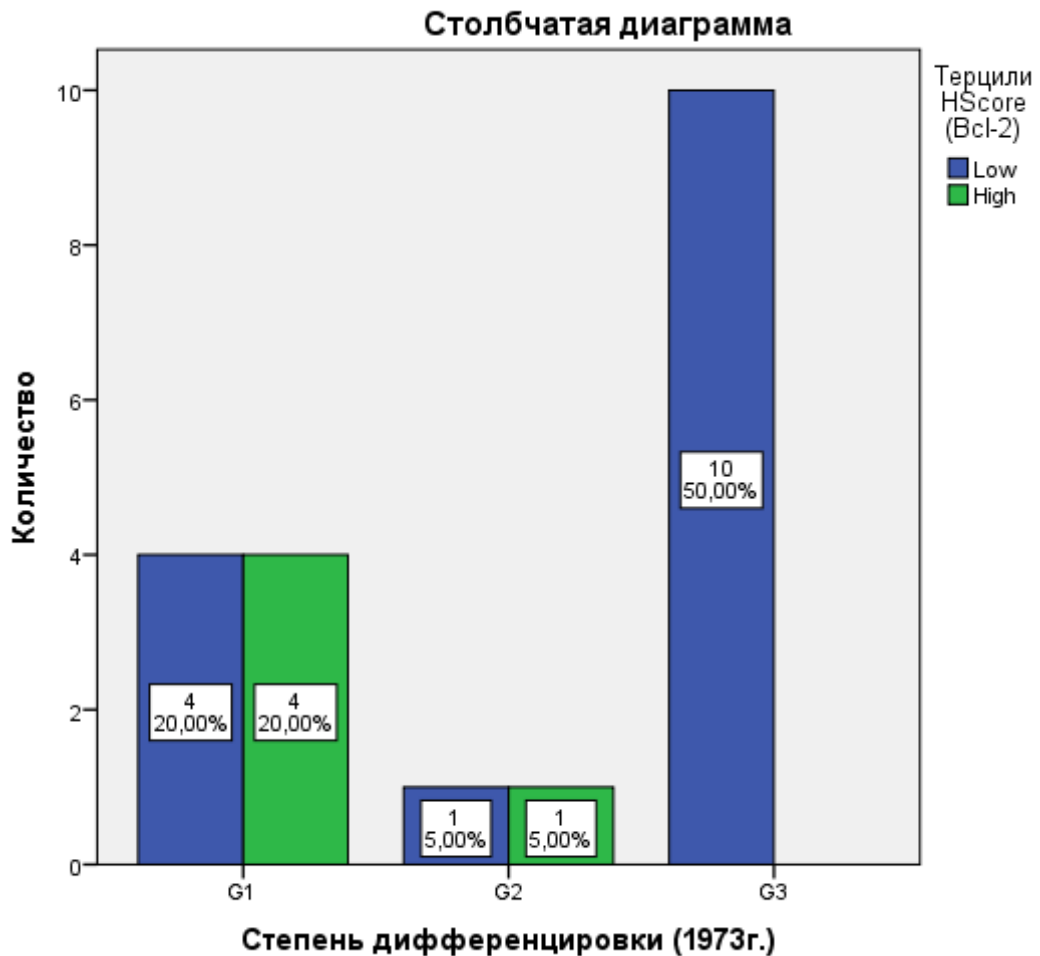


Рисунок 85 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, High-HScore (Bcl-2) в подгруппах по степеням дифференцировки (1973 г.)

В половине low-grade карцином (50%, n = 4) отмечался Low-HScore Bcl-2, в оставшейся части – High-HScore (50%, n = 4). В опухолях high-grade доминировал Low-HScore паттерн (91,7%, n = 11; Рисунок 86), в 1 случае (8,3%) отмечен высокий уровень экспрессии.

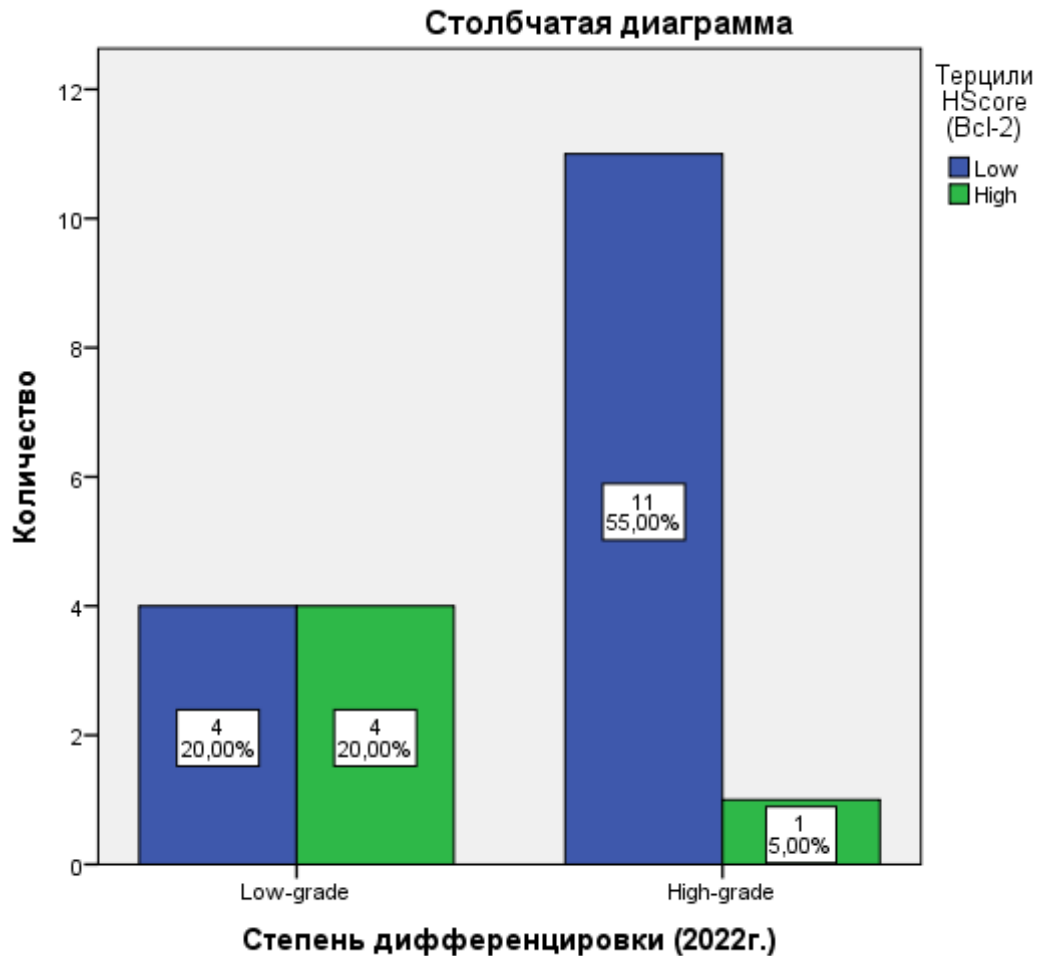


Рисунок 86 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, High-HScore (Vcl-2) в подгруппах по степеням дифференцировки (2022 г.)

При сравнении частот терцильных значений HScore Vcl-2 в подгруппах карцином с высокой (G1), умеренной (G2) и низкой (G3) степенями дифференцировки выявлены достоверные различия: в G3 опухолях чаще выявлялись низкие показатели Vcl-2 ($\chi^2 = 6,667$; $p = 0,036$). Сила связи экспрессии Vcl-2 со степенью дифференцировки опухоли была относительно сильной (V Крамера = 0,577).

При сравнении частоты встречаемости низких, средних и высоких показателей HScore маркера Vcl-2 в подгруппах low- и high-grade карцином также выявлены значимые различия: для опухолей высокой степени злокачественности были характерны низкие показатели HScore ($\chi^2 = 4,444$; $p = 0,035$). При этом

выявлена относительно сильная связь терцильных значений HScore Vcl-2 и градации карциномы по классификации ВОЗ от 2022 г. (V Крамера = 0,471).

HER2. Касаемо экспрессии маркера Her2, в подгруппе G1 карцином чаще выявлялись случаи со средним (62,5%, $n = 5$) и высоким (37,5%, $n = 3$) балльным показателем (Рисунок 87). 100% ($n = 2$) умереннодифференцированных карцином имели высокий уровень экспрессии маркера. Напротив, большинство карцином G3 (70%, $n = 7$) имели отрицательную экспрессию HER2 (0 баллов), только в 3 (30%) случаях низкодифференцированной карциномы обнаружен умеренный балльный показатель HER2.

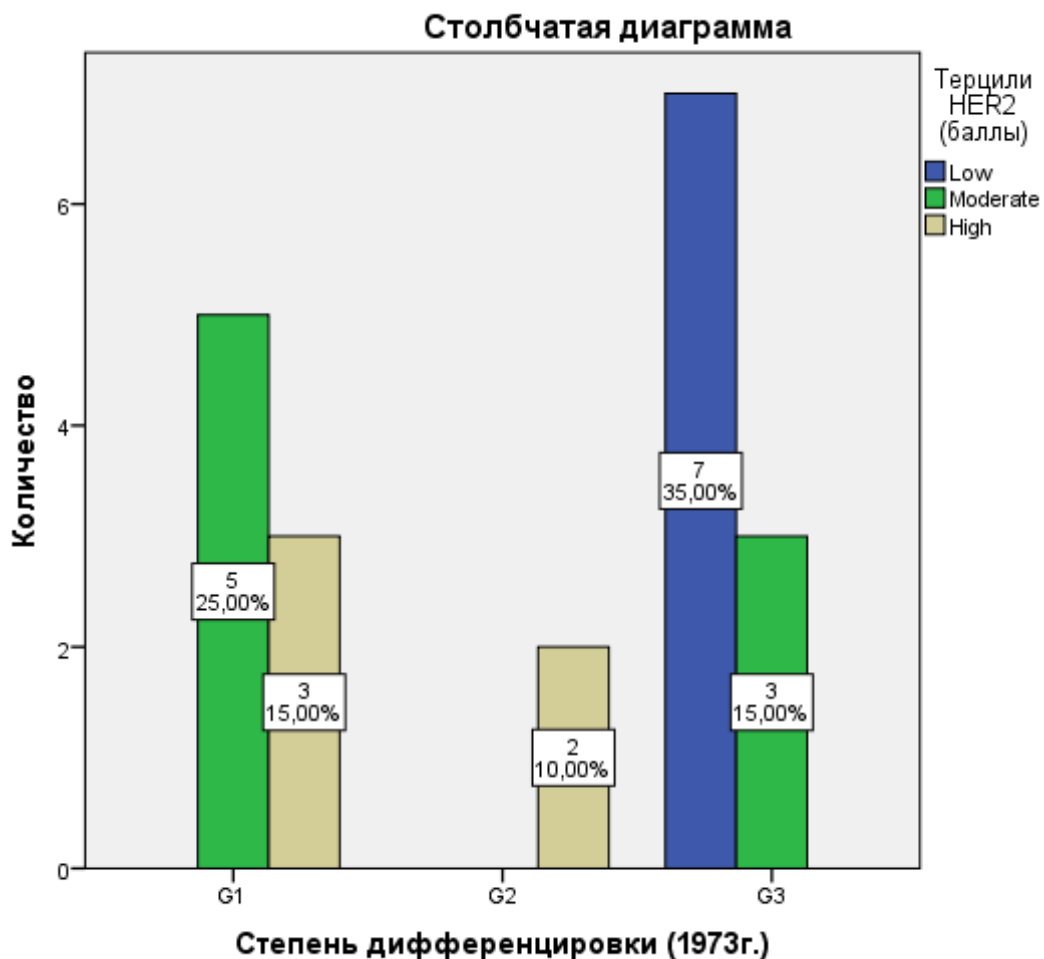


Рисунок 87 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HER2 (баллы) в подгруппах по степеням дифференцировки (1973 г.)

В low-grade карциномах 62,5% ($n = 5$) случаев имели Moderate-HER2 показатель, а 37,5% ($n = 3$) – High-HER2. Более половины опухолей high-grade

(58,3%, n = 7) имели низкий балльный счет HER2, 25% (n = 3) – умеренный и 16,7% (n = 2) – высокий балльный счет HER2 (Рисунок 88).

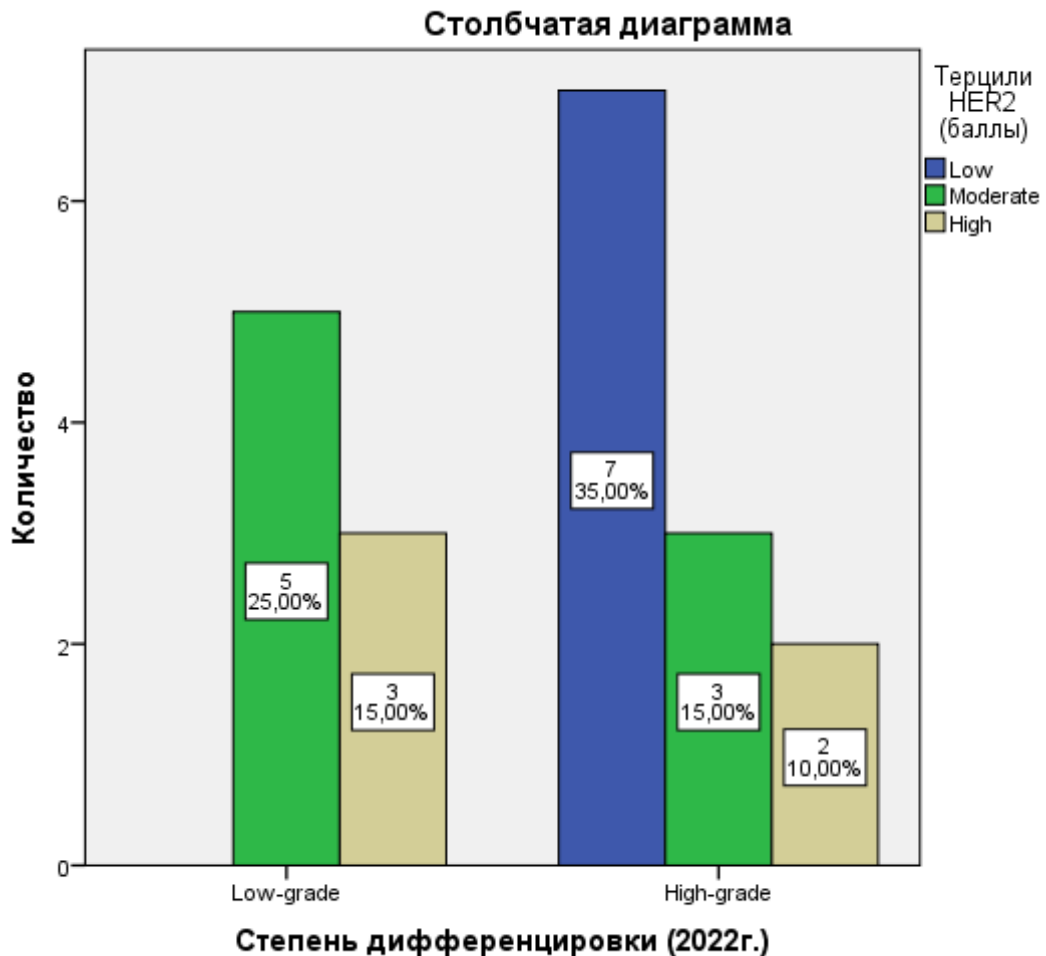


Рисунок 88 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HER2 (баллы) в подгруппах по степеням дифференцировки (2022 г.)

При сравнении частот терцильных значений балльного счета HER2 в подгруппах карцином с высокой (G1), умеренной (G2) и низкой (G3) степенями дифференцировки выявлены достоверные различия: в G3 опухолях экспрессия HER2 была отрицательной чаще, чем в других подгруппах ($\chi^2 = 16,536$; $p = 0,002$). Сила связи экспрессии HER2 со степенью дифференцировки опухоли была сильной (V Крамера = 0,643).

При сравнении частот балльных значений HER2 в low- и high-grade подгруппах выявлены значимые различия: при опухолях высокой степени злокачественности было характерно отсутствие экспрессии HER2 ($\chi^2 = 7,188$; $p =$

0,027). Сила связи экспрессии HER2 с типом поражения уротелия была относительно сильной (V Крамера = 0,599).

Uroplakin III. В подгруппе G1 в 62,5% ($n = 5$) случаев наблюдались умеренные, а в 37,5% ($n = 3$) – высокие показатели HScore маркера Uroplakin III (Рисунок 89). Все карциномы G2 (100%, $n = 2$) имели умеренные значения HScore, а опухоли G3 – низкие (100%; $n = 10$) показатели (Рисунок 89).

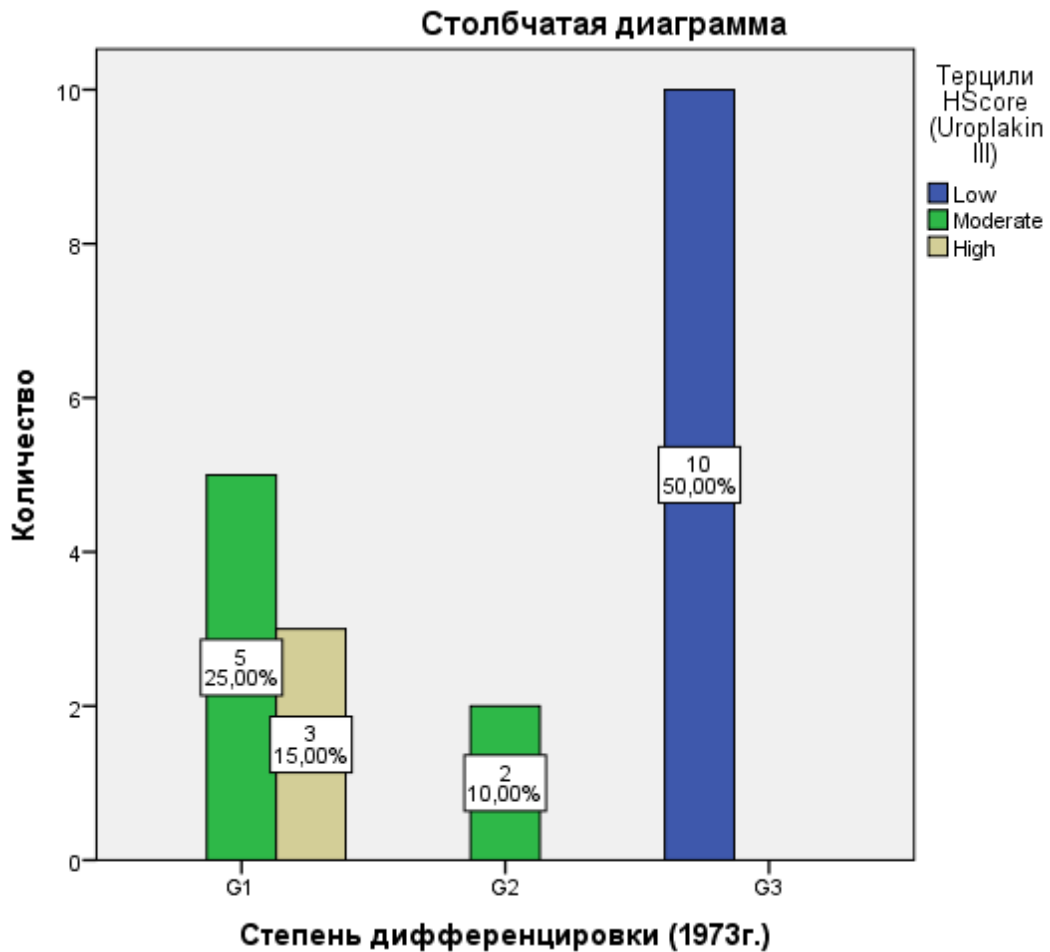


Рисунок 89 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (Uroplakin III) в подгруппах по степеням дифференцировки (1973 г.)

В low-grade карциномах 62,5% ($n = 5$) случаев имели Moderate-HScore Uroplakin III, а 37,5% ($n = 3$) – High-HScore. Большинство опухолей high-grade (83,3%, $n = 10$) имели низкий показатель HScore, 16,7% ($n = 2$) – умеренный HScore (Рисунок 90).

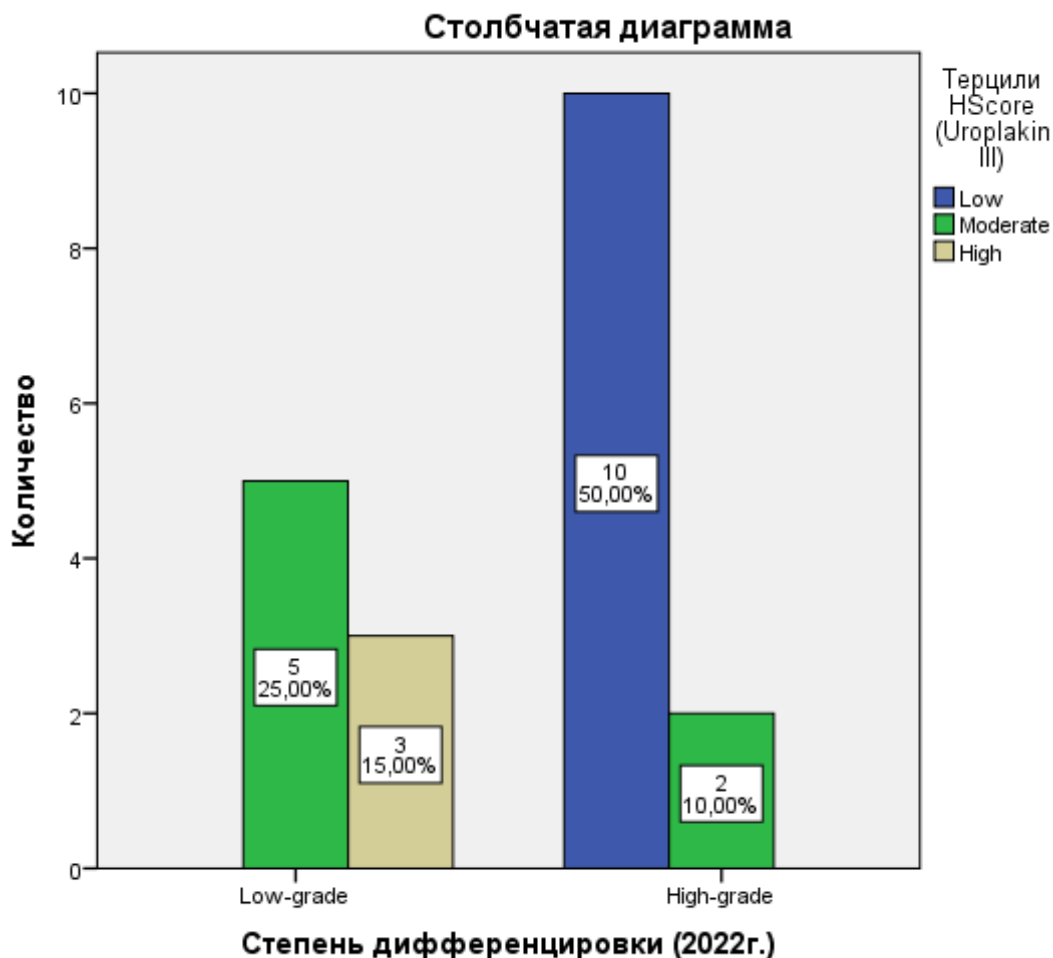


Рисунок 90 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (Uroplakin III) в подгруппах по степеням дифференцировки (2022 г.)

При сравнении частот терцильных значений HScore Uroplakin III в G1-G3 подгруппах карцином выявлены достоверные различия: в G3 опухолях чаще выявлялись низкие показатели Uroplakin III, в отличие от карцином G1-G2 ($\chi^2 = 22,123$; $p = 0,0001$). Сила связи экспрессии Uroplakin III со степенью дифференцировки опухоли была сильной (V Крамера = 0,744).

При сравнении частоты встречаемости низких, средних и высоких показателей HScore маркера Uroplakin III в подгруппах low- и high-grade карцином также выявлены значимые различия: для опухолей высокой степени злокачественности были характерны низкие показатели HScore ($\chi^2 = 14,048$; $p = 0,001$). При этом выявлена очень сильная связь терцильных значений HScore

Uroplakin III и градации карциномы по классификации ВОЗ от 2022 г. (V Крамера = 0,838).

FGFR3. Касаемо экспрессии маркера FGFR3, в подгруппе G1 карцином чаще выявлялись случаи с низкими показателями HScore (75%, n = 6), в остальных случаях был выявлен высокий уровень экспрессии (25%, n = 2; Рисунок 91). У всех карцином G2 (100%, n = 2) выявлен низкий уровень экспрессии FGFR3; большинство карцином G3 (70%, n = 7), напротив, имели умеренный уровень экспрессии маркера; в 3 (30%) случаях низкодифференцированной карциномы обнаружен высокий показатель HScore.

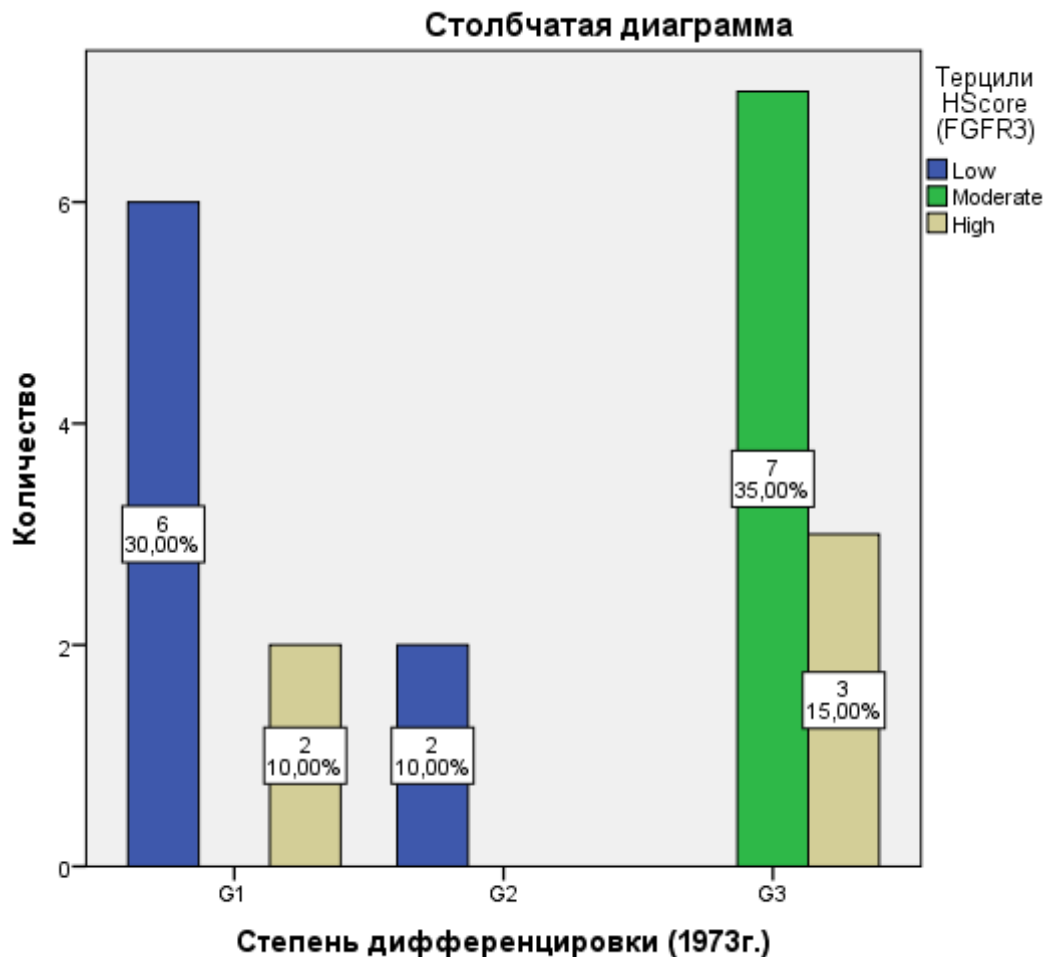


Рисунок 91 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (FGFR3) в подгруппах по степеням дифференцировки (1973 г.)

В 75% low-grade карцином выявлен Moderate-HScore FGFR3 (n = 6), в оставшихся 25% случаях (n = 2) – High-HScore (Рисунок 92). Опухоли высокой

степени злокачественности преимущественно (58,3%, n = 7) имели умеренные значения HScore FGFR3, в 16,7% (n = 2) наблюдений низкие и в 3 наблюдениях (25%) – высокие показатели HScore (Рисунок 92).

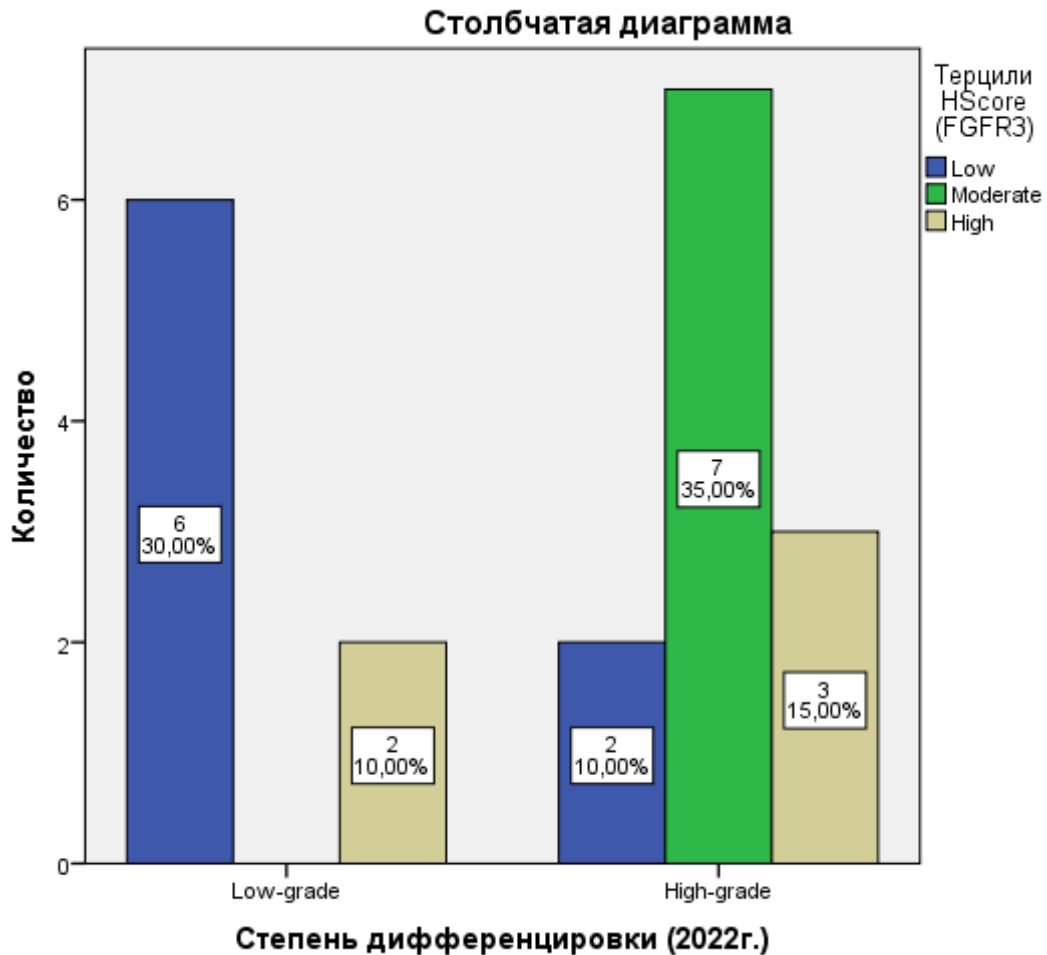


Рисунок 92 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (FGFR3) в подгруппах по степеням дифференцировки (2022 г.)

При сравнении частот терцильных значений HScore FGFR3 в подгруппах карцином с высокой (G1), умеренной (G2) и низкой (G3) степенями дифференцировки выявлены достоверные различия: в G3 опухолях чаще выявлялись умеренные и высокие показатели маркера ($\chi^2 = 15,850$; $p = 0,003$). Сила связи экспрессии FGFR3 со степенью дифференцировки опухоли была сильной (V Крамера = 0,629).

При сравнении частоты встречаемости низких, средних и высоких показателей HScore маркера FGFR3 в подгруппах low- и high-grade карцином также

выявлены значимые различия: для опухолей высокой степени злокачественности были характерны умеренные и высокие показатели HScore ($\chi^2 = 8,750$; $p = 0,013$). При этом выявлена сильная связь терцильных значений HScore FGFR3 и градации карциномы по классификации ВОЗ от 2022 г. (V Крамера = 0,661).

PTEN. В подгруппе G1 карцином чаще выявлялись случаи с умеренными показателями HScore маркера PTEN (75%, $n = 6$), в остальных случаях был выявлен высокий уровень экспрессии (25%, $n = 2$; Рисунок 93). У всех карцином G2 (100%, $n = 2$) выявлен умеренный уровень экспрессии PTEN; большинство карцином G3 (90%, $n = 9$), напротив, имели умеренный уровень экспрессии маркера, а в 1 случае (10%) низкодифференцированной карциномы обнаружен высокий показатель HScore.

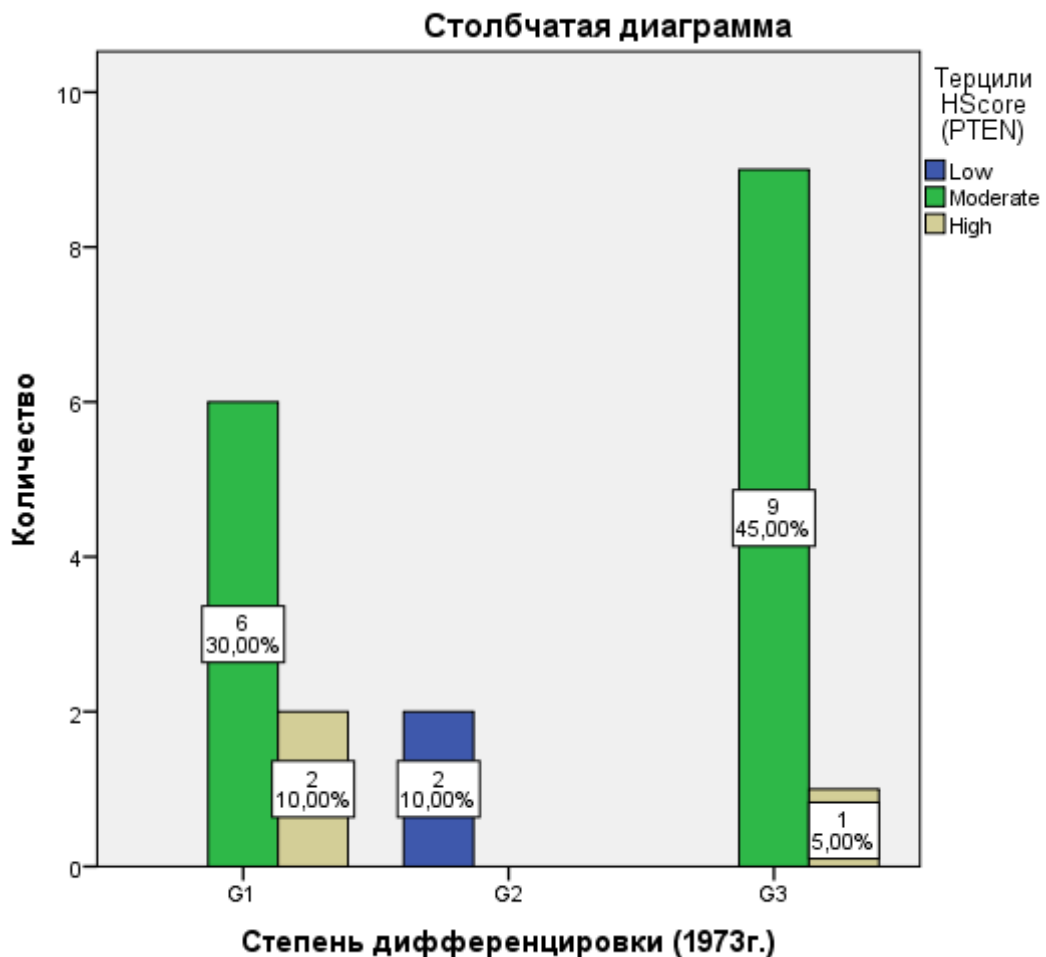


Рисунок 93 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (PTEN) в подгруппах по степеням дифференцировки (1973 г.)

В 75% low-grade карцином выявлен Moderate-HScore PTEN ($n = 6$), в оставшихся 25% случаев ($n = 2$) High-HScore (Рисунок 94). Опухоли высокой степени злокачественности преимущественно (75%, $n = 9$) имели умеренные значения HScore PTEN, в 16,7% ($n = 2$) наблюдений низкие и в 1 наблюдении (8,3%) – высокие показатели HScore (Рисунок 94).

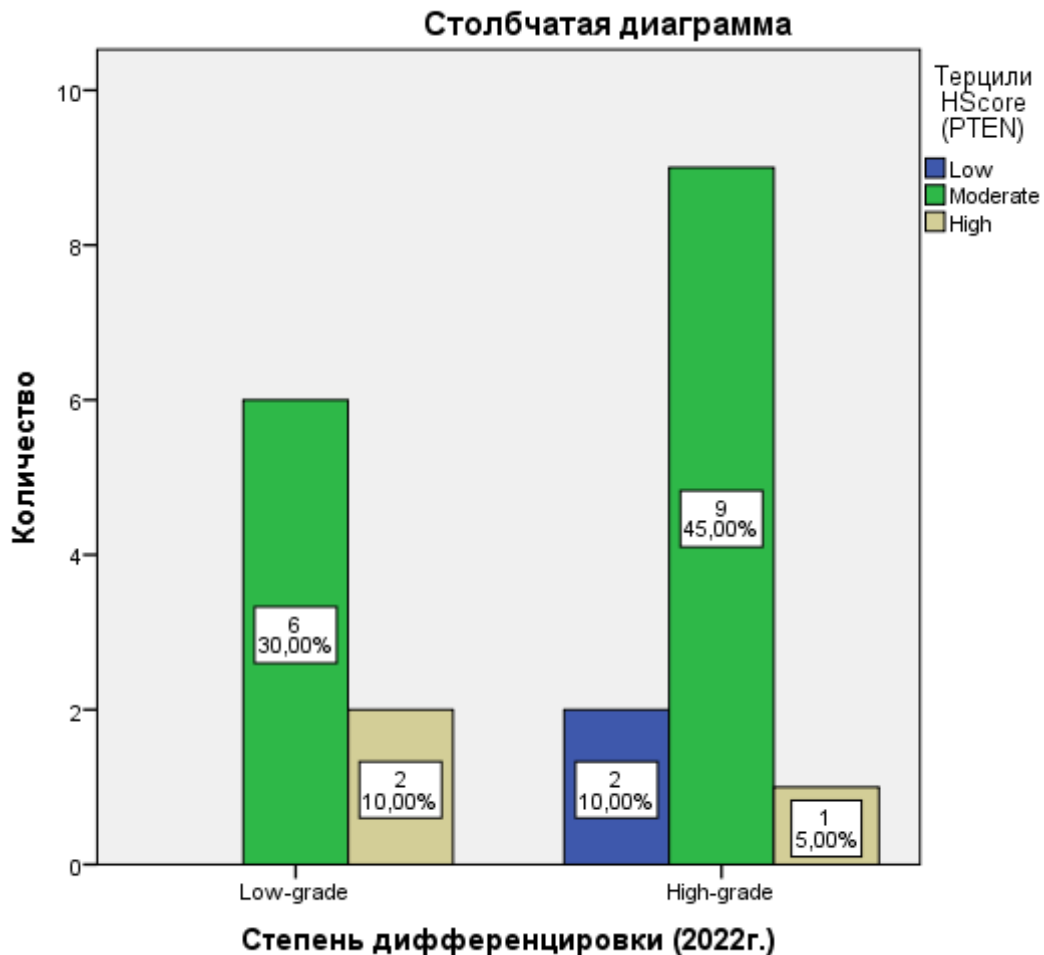


Рисунок 94 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (PTEN) в подгруппах по степеням дифференцировки (2022 г.)

При сравнении частот терцильных значений HScore PTEN в подгруппах карцином с высокой (G1), умеренной (G2) и низкой (G3) степенями дифференцировки выявлены достоверные различия: в G2 опухолях чаще выявлялись умеренные показатели маркера ($\chi^2 = 20,800$; $p = 0,0001$). Сила связи экспрессии PTEN со степенью дифференцировки опухоли была сильной (V Крамера = 0,721).

При сравнении частоты встречаемости низких, средних и высоких показателей HScore маркера PTEN в подгруппах low- и high-grade карцином достоверных различий не выявлено ($p = 0,329$).

GATA3. Касаемо экспрессии маркера GATA3, в подгруппе G1 карцином чаще выявлялись случаи с умеренными показателями HScore (62,5%, $n = 5$); в остальных случаях был выявлен высокий уровень экспрессии (25%, $n = 2$) и низкий (12,5%, $n = 1$; Рисунок 95). У всех карцином G2 (100%, $n = 2$) выявлен умеренный уровень экспрессии GATA3. Большинство карцином G3 (70%, $n = 7$) имели низкий уровень экспрессии маркера; в 3 (30%) случаях низкодифференцированной карциномы обнаружен умеренный показатель HScore.

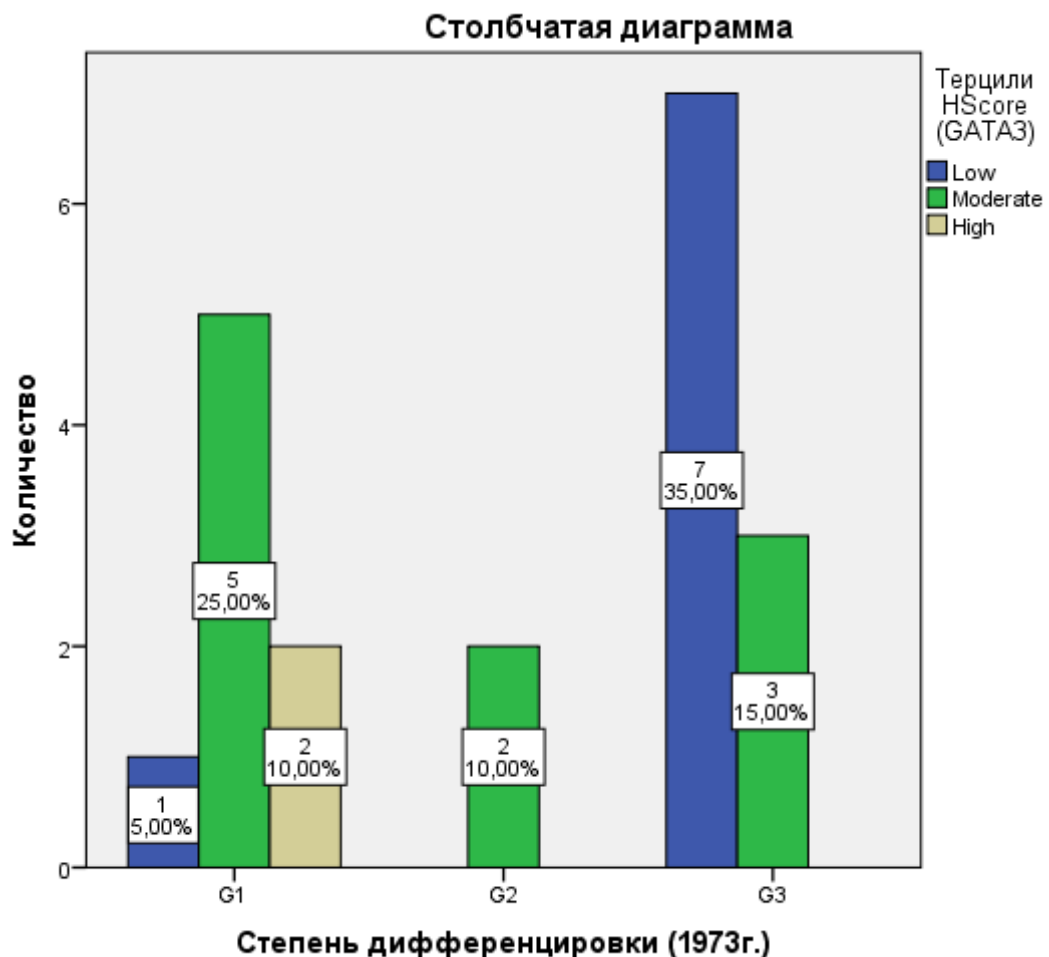


Рисунок 95 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (GATA3) в подгруппах по степеням дифференцировки (1973 г.)

В 62,5% low-grade карцином выявлен Moderate-HScore GATA3 (n = 5), в 25% случаев (n = 2) – High-HScore, в 12,5% (n = 1) – Low-HScore (Рисунок 96). Опухоли высокой степени злокачественности преимущественно (58,3%, n = 7) имели низкие значения HScore GATA3, в 41,7% (n = 5) наблюдений умеренные показатели HScore (Рисунок 96).

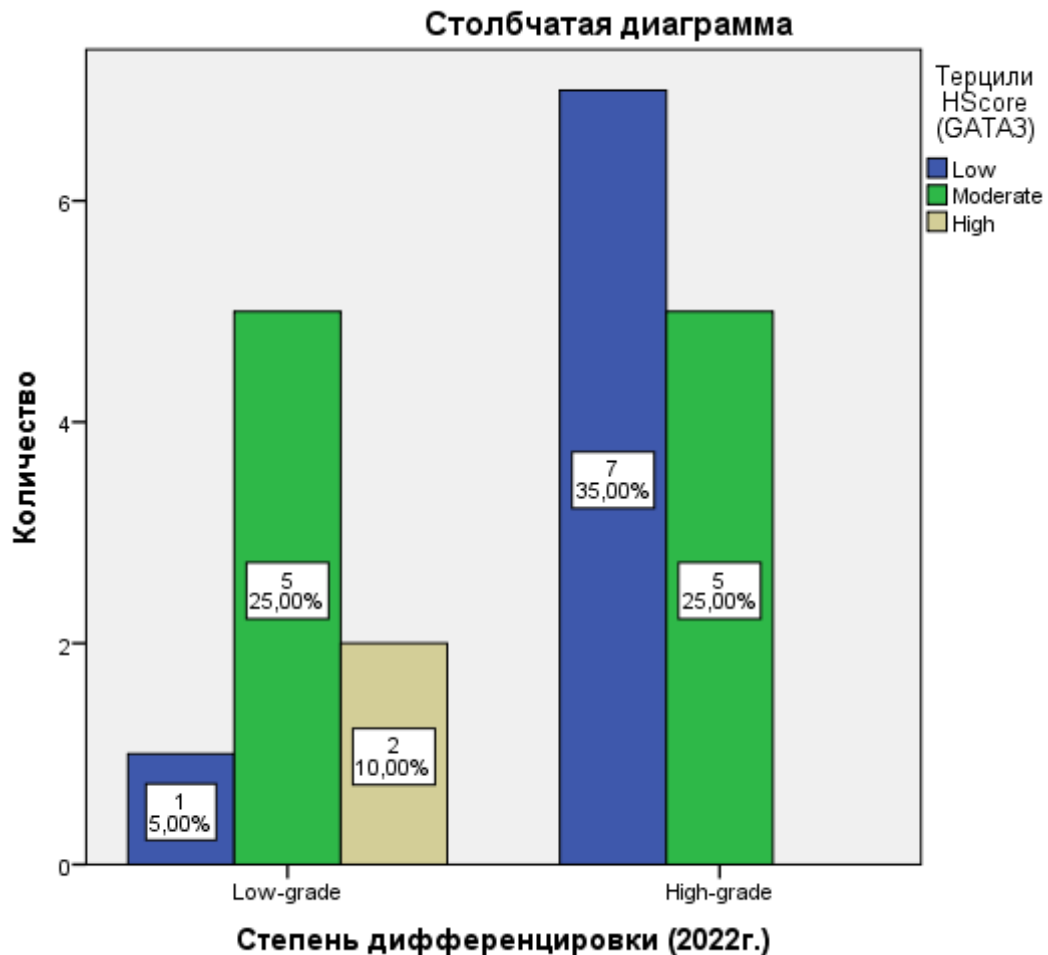


Рисунок 96 – Столбчатая диаграмма показателей Low-, Moderate-, High-HScore (GATA3) в подгруппах по степеням дифференцировки (2022 г.)

При сравнении частот терцильных значений HScore GATA3 в подгруппах карцином с высокой (G1), умеренной (G2) и низкой (G3) степенями дифференцировки выявлены достоверные различия: в G1-G2 опухолях чаще выявлялись умеренные показатели маркера ($\chi^2 = 9,612$; $p = 0,047$). Сила связи экспрессии GATA3 со степенью дифференцировки опухоли была относительно сильной (V Крамера = 0,490).

При сравнении частоты встречаемости низких, средних и высоких показателей HScore маркера GATA3 в подгруппах low- и high-grade карцином также выявлены значимые различия: для опухолей высокой степени злокачественности были характерны низкие показатели HScore ($\chi^2 = 5,937$; $p = 0,051$). При этом выявлена относительно сильная связь терцильных значений HScore GATA3 и градации карциномы по классификации ВОЗ от 2022 г. (V Крамера = 0,545).

Глава 4. Обсуждение результатов исследования

Глава 4.1. Клинико-морфологические особенности воспалительных, предраковых и раковых поражений уротелия

Полученные нами результаты в отношении заболеваемости РМП у пациентов обоего пола соответствуют данным литературы – как в России, так и во всем мире мужчины страдают РМП чаще, чем женщины [4; 123]. Точные причины этого явления пока неясны [47]. Ранее указанную особенность связывали с распространенностью табакокурения в мужской популяции, однако в исследованиях было показано, что риск развития РМП у некурящих мужчин также намного выше, чем у некурящих женщин [35]. Одно из объяснений этой разницы в заболеваемости связано с половыми гормонами и их рецепторами. Эпидемиологическое исследование показало, что женщины в постменопаузе имеют больший риск развития РМП, чем женщины, находящиеся в пременопаузе [169]. Экспериментальные работы продемонстрировали, что частота возникновения спонтанного и химически индуцированного РМП значительно выше у самцов крыс, чем у самок [52; 89; 213], а лечение самцов крыс с депривацией андрогенов снижает развитие химически индуцированного РМП [89; 212; 213]. Недавние исследования показывают, что один из генов, связанный с X-хромосомой (*KDM6A*), может иметь большое значение в объяснении причин сниженной заболеваемости в женской популяции [152]. Данный ген имеет свойства онкосупрессора и более выражен у женщин (с хромосомами XX) по сравнению с мужчинами (с хромосомами XY) [152].

Клинические и патоморфологические особенности РМП крайне важны и дают прогностическую информацию о поведении опухоли. Существующие оценочные системы рисков для прогнозирования МНИРМП рассматривают пожилой возраст и мультифокальность поражения как прогностически

неблагоприятные в отношении последующего рецидива и прогрессия [198][7]. Влияние данных факторов на исход заболевания подтверждается в многих научных работах. В частности, S. Naukaas et al. продемонстрировано, что множественное поражение связано с более коротким безрецидивным периодом заболевания [250]. В исследовании R. V. Nerli et al. также показано, что пациенты с множественными low-grade поражениями Ta стадии имеют высокий риск развития рецидивов и прогрессии [168]. Однако нами найдена только одна работа, демонстрирующая связь числа опухолей и возраста пациентов: I. Ozbey et al. установили, что у более молодых пациентов чаще встречались одиночные опухоли мочевого пузыря, чем множественные [261]. При этом стоит отметить, что авторы оценивали данные пациентов моложе 40 лет – пациенты более старшего возраста в исследование включены не были. В нашей работе установлено, что с увеличением возраста множественные поражения при МНИРМП встречаются чаще. Мы полагаем, что этот факт может еще больше усугубить дальнейший прогноз заболевания. В данной группе пациентов нам видится целесообразным более пристальное внимание к процедуре ТУР, а также их длительное последующее наблюдение ввиду крайне высокой вероятности прогрессии и рецидива опухоли.

Согласно результатам научных исследований, прогнозирование течения РМП у пациентов молодого/пожилого возраста порой вызывает большие затруднения, поскольку стандартное определение молодого возраста для пациентов с опухолевыми поражениями мочевого пузыря отсутствует. Часть исследователей считают возрастной медианой отсечения 40 лет [260; 271], в то время как в других работах за пороговое значение принимается отметка в 70 лет [38; 148]. Эпидемиологически, как уже было описано ранее, средний возраст пациентов в России с впервые выявленным РМП составил 65,7 лет [4], тогда как в США – 73 года [227], поэтому есть основания предполагать, что для РМП критерием молодого возраста может считаться диапазон от 55 до 65 лет или возраст меньше 70 лет. В нашей работе медиана возраста пациентов в IV подгруппе (МИРМП) со степенью дифференцировки опухоли G2 составила 77 лет (65; 80), а при опухолях G3 – 61 год (58; 71). Китайскими учеными на основании

исследования базы данных Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) показана корреляция возраста и наличия метастазов в лимфатических узлах: по сравнению с контрольной группой (возраст более 80 лет) у пациентов со стадиями T2 и T4 в возрасте меньше 50 лет чаще определялись метастатически пораженные лимфатические узлы, вероятность была наибольшей в возрастной подгруппе 50–59 лет [282].

Лимфодиссекция является неотъемлемой частью радикальной цистэктомии при МИРМП. Доказано, что разумный подход к лимфодиссекции помогает точно определить патолого-анатомическую стадию заболевания и последующее лечение [247]. В ретроспективном исследовании молодые пациенты с радикальной цистэктомией и лимфодиссекцией внутритазовых лимфатических узлов демонстрировали лучшую выживаемость, чем пациенты с только радикальной цистэктомией [82]. Другое ретроспективное исследование показало, что прогноз выживаемости в группе с расширенной лимфодиссекцией лучше, чем в группе со стандартной лимфодиссекцией [87]. При этом стоит отметить, что, по данным южнокорейских исследователей, расширенная или сверхрасширенная лимфодиссекция по сравнению со стандартной может не иметь значительного влияния на местный рецидив опухоли, отдаленные метастазы, выживаемость при заболевании и общую выживаемость [145], поэтому вопрос, может ли лимфодиссекция тазовых лимфатических узлов положительно влиять на прогноз заболевания, остается спорным и требует дальнейшего изучения. Учитывая описанные выше данные и полученные нами результаты в группе МИРМП, мы предполагаем, что у пациентов с МИРМП требуется тщательное определение статуса лимфатических узлов, особенно в возрасте ниже среднего.

К моменту написания данной работы научные результаты по размеру дисплазии уротелия в литературе отсутствовали, что оставляет перспективы для дальнейшего изучения и сопоставления с прогнозом и исходом заболевания.

Глава 4.2. Иммуногистохимические особенности воспалительных, предраковых и раковых поражений уротелия

Глава 4.2.1. Иммуногистохимические особенности реактивной атипии и уротелиальной дисплазии

Уротелиальная дисплазия и карцинома *in situ* являются прекурсорами МИРМП и связаны с повышенным риском прогрессии и рецидива заболевания [85]. Наличие уротелиальной дисплазии или карциномы *in situ* после проведенного лечения указывают на его неэффективность, что в дальнейшем может привести к радикальной цистэктомии у пациента. Поэтому разграничение дисплазии и карциномы *in situ* от реактивной атипии очень важно при воспалении или реактивных состояниях уротелия после проведенного лечения (например, ТУР, внутрипузырная химиотерапия) [85]. Для реактивной атипии гистологически характерны: нормальная толщина уротелия или небольшое его утолщение, сохранность зонтичных клеток, сохранение клеточной полярности, нормальный или слегка увеличенный размер ядра, небольшое количество митозов в базальных клетках уротелия, а также наличие воспалительного инфильтрата в собственной пластинке; в анамнезе у данных пациентов могут отмечаться перенесенные ранее состояния, такие как ИМП, мочекаменная болезнь, травма мочевого пузыря, предшествующие урологические вмешательства. Однако в случаях реактивной атипии не характерен клеточный плеоморфизм или неправильный паттерн хроматина [85].

Дисплазия представляет собой раннее морфологическое проявление прогрессирующих изменений между нормальным уротелием и карциномой *in situ*. Гистологически толщина диспластического уротелия обычно нормальная, но может быть увеличена или уменьшена. Зонтичные клетки, как правило, сохранены, и большая часть цитологических изменений ограничена промежуточными и

базальными клетками уротелия (то есть атипия прослеживается не на всю толщину уротелиальной выстилки, как при карциноме *in situ*). Кроме того, наблюдается потеря ядерной полярности, увеличение ядер и появление видимых ядрышек, неравномерность ядерной мембраны и ядерная гиперхромазия. О потере полярности свидетельствует «скупенность» ядер и наличие вытянутых ядер, которые становятся параллельными базальной мембране [106; 182; 185]. Недавние исследования показали, что потеря ядерной полярности является одним из самых ранних изменений, наблюдаемых при неоплазии [245]. Митотическая активность клеток переменна, но обычно наблюдается только в базальном слое уротелия. *Lamina propria* (собственная пластинка), как правило, не изменена, в отличие от реактивной атипии, хотя может содержать рассеянные воспалительные клетки и большое количество новообразованных сосудов. Переход от нормального уротелия к дисплазии обычно малозаметен.

Ввиду большого количества пересекающихся между собой гистологических признаков, дифференциальная диагностика реактивной атипии и дисплазии остается одной из самых больших тем для споров в урологической патологии. В литературе изучалась польза ИГХ-исследования при неинвазивных поражениях уротелия, особенно при атипии и дисплазии, чтобы определить, какую роль оно может занять в постановке соответствующего диагноза. Однако, несмотря на большое количество исследований о применении ИГХ в диагностике уротелиальных поражений, вопрос о целесообразности данного метода до сих пор является неоднозначным [224].

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 [124; 141].

CK20 окрашивает внутриклеточные промежуточные филаменты цитоскелета эпителиальных клеток, которые обнаруживаются в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта, мочевого пузыря, а также в клетках Меркеля, и в

нормальном уротелии обычно окрашивает только зонтичные клетки. p53 представляет собой ген-супрессор опухоли, участвующий в канцерогенезе многих злокачественных новообразований, включая карциному мочевого пузыря [187]; в нормальных условиях экспрессия p53 в уротелии слабая или вовсе отсутствует. Наконец, CD44 является иммунным маркером, играющим важную роль в межклеточных взаимодействиях, клеточной адгезии и миграции, который ранее изучался как возможный прогностический фактор папиллярных уротелиальных новообразований. Показано, что при нормальных условиях его экспрессия наблюдается в базальных слоях уротелия [187].

При дисплазии аномальная (аберрантная) экспрессия CK20 наблюдается в более глубоких слоях уротелия. Повышенная экспрессия CD44 во всех слоях уротелия чаще наблюдается при реактивной атипии, чем при уротелиальной дисплазии. Экспрессия p53 в реактивных поражениях не прослеживается, но отмечается в случаях дисплазии и рака [272].

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 [30; 224].

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* [107]. Данная публикация и результаты нашей работы показывают, что экспрессия маркера CD44 в реактивных и предраковых поражениях является вариабельной.

Важно понимать, что ИГХ-панель антител из CK20, CD44 и p53 не является абсолютной. При интерпретации результатов ИГХ-исследования следует проявлять особую осторожность и обязательно сравнивать полученные данные с гистологической картиной, которая имеет решающее значение. В сомнительных случаях предлагается консервативный подход с повторной ТУР после разрешения воспаления [272].

Vcl-2 является белком, ингибирующим индукцию апоптоза в клетках, то есть является протоонкогеном [8; 12; 25; 43; 277].

В нескольких исследованиях показана роль позитивной экспрессии Vcl-2 как негативного прогностического фактора у пациентов с РМП [21; 39; 203]; напротив, в других работах связь между прогнозом РМП и экспрессией данного маркера не была выявлена [55; 121; 137; 251].

Например, по данным Lipponen P. K. et al., существует связь между экспрессией Vcl-2 и стадией РМП по категориям «Т» и «М» (классификация TNM), степенью дифференцировки опухоли, митотическим индексом и прогнозом заболевания [163].

Тем не менее, роль Vcl-2 в дифференциальной диагностике воспалительных и предраковых поражений уротелия до конца не изучена и требует рассмотрения.

В работе Vilim V. N. et al. была выявлена выраженная экспрессия Vcl-2 в доброкачественных поражениях уротелия (гнезда Фон Брунна, инвертированные папилломы) [276], при этом окрашивание было локализовано в базальных клетках уротелия. В то же время часть уротелиальных карцином (16%) также экспрессировала Vcl-2, что коррелировало со стадией и степенью дифференцировки опухоли. Однако авторы не рассматривали вопрос экспрессии Vcl-2 в воспалительных и предраковых поражениях уротелия.

Li B. et al. [216] оценили экспрессию данного маркера в норме, при дисплазии, МНИРМП и МИРМП. Авторы выявили, что в нормальном и диспластичном уротелии Vcl-2 экспрессировался в базальных клетках уротелия (при этом более выраженная экспрессия наблюдалась при дисплазии, которая также прямо коррелировала с тяжестью атипии). Недостатком работы является отсутствие наблюдений со случаями реактивной атипии.

Chaudhary K. S. et al. [101] исследовали экспрессию онкобелка Vcl-2 при уротелиальном и плоскоклеточном раке мочевого пузыря, ассоциированном с шистосомозом. Стоит отметить, что в раковых биоптатах авторы также оценивали прилежащую к карциноме слизистую мочевого пузыря, где были выявлены поражения по типу гиперплазии, метаплазии и дисплазии. В работе отмечено, что, в нормальном уротелии обнаруживалась гетерогенная цитоплазматическая экспрессия Vcl-2. Однако в некоторых случаях уротелиальной гиперплазии наблюдалось более выраженное окрашивание, распространяющееся на супрабазальные клетки. Этот паттерн окрашивания чаще наблюдался вблизи хронических воспалительных клеточных инфильтратов. ИГХ-реакция с Vcl-2 в образцах дисплазии была негативной. Недостатком данного исследования явилось то, что для оценки ИГХ-экспрессии Vcl-2 использовались случаи карцином, поэтому все описанные гиперпластические, метапластические и диспластические поражения являлись вторичными по отношению к раку. Во-вторых, нельзя исключать влияние шистосоматоза на результаты исследования. В-третьих, как и в других работах, авторами не было описано случаев атипии уротелия.

В нашем исследовании отмечена экспрессия Vcl-2 в случаях реактивной атипии (в базальных слоях уротелия); напротив, в случаях дисплазии экспрессия отсутствовала.

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 [40; 160]. 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.

В работе Chaudhary K. S. et al. [101] Vcl-2 экспрессировался на более высоких уровнях уротелиального пласта в областях с тяжелой лимфоцитарной инфильтрацией, что позволяет нам предположить, что факторы, связанные с воспалением, могут быть вовлечены в активацию Vcl-2. Поскольку Vcl-2 защищает клетки от гибели в условиях стресса, повышенная экспрессия Vcl-2 в базальных клетках этих воспалительных областей может отражать защитную реакцию, обеспечивающую выживание этих клеток в неблагоприятной среде, что, как нам кажется, объясняет положительную экспрессию данного маркера в случае реактивной атипии.

Стоит отметить, что, по данным литературы, Vcl-2 выражено экспрессируется в некоторых предраковых поражениях других органов, например, при гиперплазии эндометрия [42] и дисплазии эпителия желудка [159]. В кожных поражениях Vcl-2 экспрессируется при актиническом кератозе, болезни Боуэна и плоскоклеточной карциноме [41]. В отличие от вышеприведенных публикаций, крайне слабая экспрессия Vcl-2 была обнаружена нами только в небольших очагах уротелиальной дисплазии, что не являлось артефактом фиксации или окрашивания ткани, так как окружающие лимфоциты окрашивались положительно. Поэтому мы заключаем, что повышенная экспрессия Vcl-2 не является неотъемлемой чертой предраковых поражений уротелия, на примере нашего исследования.

Рецептор эпидермального фактора роста человека, тип 2 (HER2, также известный как ERBB2 и HER2/neu) является независимым предиктором безрецидивной выживаемости пациентов с МИРМП [31; 128; 130; 208]. Однако его роль в дифференциальной диагностике реактивной атипии от дисплазии в литературных источниках практически не уточняется. Нами было решено рассмотреть до сих пор игнорируемое диагностическое значение экспрессии белка HER2 при воспалительных и предраковых поражениях слизистой оболочки мочевого пузыря.

В нашем исследовании была выявлена статистически значимое различие в уровне экспрессии маркера HER2 между I и II подгруппами: в случаях уротелиальной дисплазии экспрессия была отрицательная; напротив, при реактивной атипии уротелия наблюдалось слабое окрашивание, преимущественно в верхних слоях уротелиального пласта (1 балл).

Schwarz S. et al. [275] провели анализ образцов нормального уротелия и плоских поражений (гиперплазия, реактивная атипия, дисплазия, карцинома *in situ*) мочевого пузыря с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* (ДНК-зонд к HER2) и ИГХ. С помощью ИГХ-метода авторы выявили, что существуют значимые различия в экспрессии HER2 между нормальным уротелием и предопухолевыми поражениями. Экспрессия HER2 в нормальном уротелии обычно ограничивалась апикальными зонтичными клетками. Аномальный/абберрантный паттерн экспрессии (который был определен авторами как окрашивание HER2 уротелиальных клеток, помимо зонтичных) наблюдался в 5 из 19 образцов нормального уротелия пациентов с опухолями (26%), в 2 из 7 случаев уротелиальной гиперплазии (29%) и в 7 из 20 образцов реактивной атипии (35%). Напротив, во всех случаях инвазивной карциномы мочевого пузыря ($n = 7$) и в большинстве случаев карциномы *in situ* (27 из 33) наблюдалась экспрессия HER2 во всех слоях уротелиальных клеток. В общей сложности 43% случаев уротелиальной дисплазии (6 из 14) показали абберрантный паттерн экспрессии HER2. Недостатком данного исследования было то, что все использованные в работе случаи были отобраны от пациентов с РМП, то есть все вышеописанные поражения были вторичными по отношению к раку.

В другой работе [80] были изучены ИГХ-профили HER2 в 32 образцах карциномы *in situ*, 5 – дисплазии и 26 – реактивной атипии. Морфологическая оценка производилась 2 специалистами-патологами (А и В), при этом учитывался как балльный счет, так и область окрашивания (нижняя (базальная) половина уротелия или верхняя (люминальная) половина уротелия). Авторами показано, что во всех поражениях, не являющихся карциномой *in situ*, в базальной половине клеток окрашивание HER2 отсутствовало или было слабым, тогда как при

карциноме была выявлена умеренная или выраженная интенсивность окрашивания HER2. Различия в экспрессии HER2 в верхней половине уротелия также значительно различались между карциномой и всеми другими поражениями: рак *in situ* демонстрировал более выраженное окрашивание, но стоит отметить, что окрашивание при других состояниях также присутствовало. В 5 случаях дисплазии экспрессия HER2 в базальном слое уротелия не наблюдалась, а в верхнем слое отмечался паттерн окрашивания, характерный для реактивной атипии. Однако при балльной оценке случаев дисплазии (в общей совокупности по всем половинам уротелия) специалист А определял показатель HER2 в клетках как 0-1 балл; те же случаи специалист В оценил на 2-3 балла. Данный аспект говорит о большой субъективности оценки HER2 в данном исследовании, что является его недостатком. Также авторы отмечают, что количество случаев дисплазии не является оптимальным для формирования полноценных выводов касательно дифференциальной диагностики описанных поражений.

Обе вышеуказанные работы подтверждают наши данные в отношении экспрессии HER2 в реактивной атипии, однако противоречат результатам оценки диспластичных поражений.

Учитывая скудный объем данных по использованию HER2 в дифференциальной диагностике воспалительных и предраковых поражений, мы можем рекомендовать использование HER2 в дополнение к ранее описанной панели антител (CK20, CD44, p53) с осторожностью, так как требуется бóльший объем исследований для убедительного ответа на вопрос о HER2-статусе уротелиальной дисплазии. На наш взгляд, одним из путей решения данной проблемы является подтверждение результатов ИГХ-исследования с маркером HER2 с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ*.

Уроплакины (Uroplakin) представляют собой семейство трансмембранных белков (Uroplakin Ia, Ib, II и III).

Уроплакины экспрессируются исключительно в нормальном уротелии и не обнаруживаются в не-уротелиальных тканях [267; 268]. 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.

По данным исследователей, более половины инвазивных и метастатических карцином продолжают экспрессировать уроплакины [270]. Последующие исследования нескольких независимых исследовательских групп показали, что уроплакины экспрессируются исключительно в уротелиальных карциномах [161; 193; 267].

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

В работе Kuprasertkul A. et al. [219] 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. [67] использовались животные мышинные 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. [281] 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. [67], однако исследователи проводили исследование на животных моделях. Недостатком работы Xu X. et al. [281] 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.

По данным Romanenko A. M. et al. [264], анализировавших ИГХ-экспрессию FGFR3 при уротелиальной дисплазии и карциноме *in situ* до и после аварии на Чернобыльской АЭС, у пациентов, живущих в контаминированных радиацией регионах, наблюдалась выраженная положительная экспрессия FGFR3 в биоптатах мочевого пузыря с дисплазией и карциномой мочевого пузыря. У пациентов, оперированных по поводу дисплазии и карциномы мочевого пузыря до аварии на АЭС, напротив, наблюдалась сниженная экспрессия FGFR3.

В недавней публикации [237] Musangile F. Y. et al. 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. [237], 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.

GATA3 является фактором транскрипции, который играет важную роль в регуляции пролиферации клеток, развития и дифференцировки многих типов клеток и тканей [116]. В нормальном уротелии наблюдается выраженное позитивное окрашивание данного маркера [115; 116]. Также экспрессия *GATA3* наблюдается и в карциномах мочевого пузыря [114; 116], при этом потеря экспрессии *GATA3* характерна для низкодифференцированного МИРМП [166].

Учитывая существующую теорию о непосредственной связи уротелиальной дисплазии и МИРМП [99], которая расценивает дисплазию как прекурсор инвазивной карциномы, нами была предпринята попытка оценки изменений в

экспрессии GATA3 между случаями I и II подгруппы, ранее не описанной в литературе. Экспрессия GATA3 в подгруппе дисплазии, по данным нашего исследования, была сниженной в сравнении с подгруппой атипии.

По данным многих исследователей, экспрессия GATA3 снижена или отсутствует в случаях МИРМП [34; 115; 117; 218]. Мы можем опосредованно предполагать, что прекурсор МИРМП – дисплазия – отличается в интенсивности экспрессии GATA3 от атипии именно по этой причине, но для более обоснованного вывода требуется проверка данного положения на большой выборке. Как и в случае с FGFR3, мы можем рекомендовать использование GATA3 в дифференцирующей панели антител с крайней осторожностью, учитывая положительное окрашивание в обеих подгруппах, хоть и различной степени интенсивности.

Глава 4.2.2. Иммуногистохимические особенности МНИРМП и МИРМП

Стадирование опухоли является единственным наиболее важным прогностическим фактором уротелиальной карциномы мочевого пузыря [234]. МИРМП соответствует патолого-анатомической стадии pT2, что является важным показанием к цистэктомии у подходящих пациентов [186] ввиду высокой вероятности метастатического распространения опухоли. Однако существует когорта пациентов с МНИРМП высокого риска прогрессии в МИРМП, зависящего, по данным различных исследователей, от количества, размера, уровня инвазии и степени дифференцировки опухоли [150].

Целью нашего исследования было выявить иммунофенотипы, характеризующие МНИРМП и МИРМП, что в дальнейшем может стать дополнительным инструментом в определении МНИРМП с наихудшим прогнозом заболевания у пациентов.

Как нами уже было сказано ранее, мышечно-неинвазивные карциномы и МИРМП различны по своему молекулярному профилю, от которого зависит

прогноз заболевания [9; 14; 81; 146; 147; 175; 180; 238]. Опухоли люминального подтипа отличаются менее агрессивным течением, тогда как прогноз для пациентов с базальными злокачественными новообразованиями крайне неблагоприятный [10; 11; 28; 45; 100; 122; 136; 162; 166; 170; 171; 216; 262]. В литературе есть публикации, касающиеся применения ИГХ-метода для опосредованной идентификации молекулярных подтипов РМП. Например, в исследовании Dadhania V. et al. [170] люминальному подтипу опухоли соответствовала выраженная экспрессия GATA3, базальному – CK5/6; подобный результат отмечен и в работе Guo C. C. et al. [33]. Hardy C. S. C. et al. [138] выявили 2 ИГХ-панели, разграничивающих молекулярные подтипы РМП: первая панель (антитела к GATA3, CK5 и p16) обладала 86–95% точностью; вторая (CK14 и RB1) – точностью 93–96%.

Для определения иммунопрофиля МНИРМП и МИРМП, которые помогут разграничить молекулярные подтипы и определить вероятность опухолевой прогрессии, нами были избраны маркеры CK7, CK20, Ki-67, p53, CD44, Vcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3, PTEN и GATA3.

Традиционно в уротелиальном РМП опухоль имеет положительное ИГХ-окрашивание маркерами CK7 и CK20. Тем не менее, общие показатели экспрессии CK20 сильно различаются в разных исследованиях [78; 86; 142; 183; 235].

Dum D. et al. [183] проанализировали 15424 случаев карцином различных локализаций для определения диагностического потенциала экспрессии маркеров CK7 и CK20 в опухолях. Авторы показали, что понижение экспрессии CK7 было связано с увеличением степени злокачественности МНИРМП (то есть со снижением опухолевой дифференцировки). В нашем исследовании выявлено снижение интенсивности окрашивания CK7 в мышечно-инвазивных опухолях по сравнению с МНИРМП. Это наблюдение подтверждает концепцию того, что aberrantная экспрессия промежуточных филаментов может быть суррогатным признаком де-дифференцировки раковых клеток, который сопровождается агрессивным поведением опухоли и неблагоприятным прогнозом у пациентов. Поэтому мы считаем, что сниженная или отрицательная реакция CK7 в РМП может

свидетельствовать о базальном подтипе опухоли. С другой стороны, Dum D. et al. [183] утверждают, что повышенные уровни экспрессии СК20 связано с дедифференцировкой МНИРМП, что не подтверждается данными нашего исследования.

Michel F. et al. [19], анализируя 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. [236] обнаружили повышенный уровень экспрессии p53 в high-grade папиллярных и инвазивных карциномах, однако авторы не уточнили уровень инвазии опухоли в своей работе.

Kalantari M. и Ahmadnia H. [151] оценивали экспрессию p53 в уротелиальной карциноме. Как в случаях папиллярных low-grade карцином, так и в случаях инвазивных high-grade опухолей наблюдалась выраженная экспрессия p53 (75 и 85% позитивных случаев соответственно). В выводе работы Kalantari M. и Ahmadnia H. предположили, что связь между p53 и развитием уротелиальной неоплазии отсутствует. К сожалению, в своем исследовании авторы также не уточнили глубину инвазии карциномы, что является недостатком данной работы.

Shigeta K. et al. [201] исследовали пациентов с опухолями верхних мочевыводящих путей, у которых в последующем периоде наблюдения развивались внутрипузырные рецидивы уротелиальной опухоли. У части пациентов с внутрипузырными рецидивами (опухолями) происходила прогрессия заболевания до мышечно-инвазивной формы. По данным ИГХ-исследования (с помощью методики HScore) данной группы пациентов, экспрессия p53 нарастала по мере прогрессии заболевания в мышечно-инвазивный рак (только у 16%

пациентов с pTа стадией была выявлена выраженная экспрессия p53 и у 61% со стадией \geq T2); экспрессия CK20, напротив, менялась с выраженной на слабую. Авторы также проанализировали первичные случаи МИРМП, где был выявлен схожий паттерн экспрессии p53 и CK20. Недостатком данного исследования является отсутствие точных показателей HScore, в работе данные были отображены в виде High- и Low-HScore. Однако стоит отметить, что мы полностью подтверждаем данные Shigeta K. et al. как в отношении p53, так и в отношении CK20. Наиболее вероятно, что выраженная положительная экспрессия CK20 характерна для высокодифференцированных, люминальных МНИРМП [197], а такого же типа реакция с p53 – для базальных МИРМП.

Ki-67 был впервые идентифицирован как антиген в ядрах клеток лимфомы Ходжкина [200], который выраженно экспрессируется в митотически активны клетках, но сильно подавляется в покоящихся клетках G0 [200]. Эта особенность сделала Ki-67 клинически важным маркером пролиферации для классификации различных типов рака [32; 206] с хорошо установленной прогностической ценностью в крупных исследованиях [64; 155; 215; 242]. Несмотря на эту ранее установленную клиническую ценность, молекулярным функциям Ki-67 уделялось гораздо меньше внимания. Поэтому в нашем исследовании была предпринята попытка оценки маркера пролиферации в различных типах РМП.

Chen et al. [17] подтвердили, что Ki-67 был независимым предиктором прогрессии опухоли в исследовании 72 случаев МНИРМП. Схожий результат получили Makboul и Gontero et al. [103; 204], Wang L. et al. [210]. Напротив, Acikalin et al. [199] сообщили об отсутствии корреляции между Ki-67 и прогрессированием опухоли в исследовании 68 пациентов со стадией T1 после выполненной ТУР.

Результаты мета-анализа Tian Y. et al. [65] 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 бóльшим размером опухоли.

В работе Culpan M. et al. [202] 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.

Кластер дифференцировки 44 (CD44) – сложный трансмембранный гликопротеин, является рецептором гиалуроновой кислоты и расположен на хромосоме 11p13 [57; 59]. CD44 участвует во многих важных функциях, таких как рост, выживание, дифференцировка и подвижность клеток, межклеточная адгезия, регуляция ЭМТ, устойчивость к апоптозу, метастазирование и инвазия опухолевых клеток [60; 91; 126; 284]. CD44 играет решающую роль в опухолевой прогрессии, метастазировании и химиорезистентности [181]. Экспрессия CD44 связана с худшим прогнозом при раке желудка [253], плоскоклеточном раке головы и шеи [66] и остеосаркоме [58]. Однако экспрессия CD44 связана с благоприятным прогнозом при раке предстательной железы [134]. В некоторых исследованиях сообщается, что CD44 часто экспрессируется при РМП [158; 211].

По данным литературы, положительное окрашивание CD44 характерно для базального фенотипа опухолей [28; 136]. Однако ситуация с маркером CD44 на данный момент не является однозначной. Ну Y. et al. [244] 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 T опухоли.

В 3 других исследованиях [83; 102; 211] сообщается, что экспрессия CD44, напротив, отрицательно коррелирует с прогрессирующей T-стадией, то есть в МИРМП уровень экспрессии был ниже по сравнению с МНИРМП. В работе Османова Ю. И. и соавт. [13] в инвазивных опухолях отмечена тенденция к снижению экспрессии CD44 по мере увеличения стадии заболевания и степени клеточной анаплазии.

Коллектив Hedegaard J. et al. [71] заявили о том, что существуют 3 подтипа МНИРМП, один из которых схож с МИРМП базального типа по причине выраженной положительной реакции с маркерами CD44 и CK5/6. Однако клиническая применимость данных сведений авторами не рассматривалась. Rodriguez Pena M. D. C et al. [139] попытались создать двойной классификатор на основе ИГХ для определения исходов МНИРМП: CD44 и CK5/6 для базального подтипа, а CK20 и Uroplakin II – для люминального. Что интересно, данная панель не принесла должных результатов и была признана не рабочей для поставленной задачи. Одним из факторов неудачи данного исследования может быть малоизученная на настоящий момент опухолевая гетерогенность.

В нашем исследовании выявлено положительное окрашивание CD44 в МНИРМП и отсутствие ИГХ-реакции в случаях МИРМП. Мы подтверждаем данные, полученные Sugino T. et al. [211], Gadalla H. A. et al. [102], Kong Q. Y. et al. [83], Османовым Ю. И. и соавт. [13], и считаем, что снижение экспрессии CD44 как раз связано с накоплением опухолью агрессивного потенциала. Однако, если принимать во внимание данные Hedegaard J. et al. [71], мы можем объяснить выраженную экспрессию CD44 в МНИРМП тем, что существует большее количество молекулярных подтипов в РМП, чем люминальный и базальный [24], 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.

Касаемо результатов нашего исследования в отношении маркера HER2, нами был выявлен более высокий балльный счет HER2 в группе МНИРМП.

В литературе сообщалось, что гиперэкспрессия белка HER2 является маркером неблагоприятного прогноза при РМП. Несмотря на противоречивые

результаты в работах различных исследователей, тот факт, что метастазы РМП постоянно демонстрируют сверхэкспрессию HER2 по сравнению с первичной опухолью, подтверждает эту гипотезу [127; 129], хотя это может быть связано и с гетерогенностью первичного поражения. Соответственно, более высокая балльная оценка HER2 была описана несколькими авторами как связанная с более запущенной стадией заболевания, а также с плохой выживаемостью при мышечно-инвазивных опухолях и новообразованиях с метастазами [125; 128; 190; 207–209]. В МНИРМП гиперэкспрессия HER2, наоборот, не имела корреляции с рецидивом и прогрессией заболевания [252].

В нашем исследовании как в подгруппе МНИРМП, так и в подгруппе МИРМП не было выявлено гиперэкспрессии (3 балла) маркера HER2.

Большая часть исследователей относит HER2 к люминальному маркеру, однако в то же время существуют работы, указывающие, что HER2 экспрессируется и в базальном типе опухолей [140]. Для прояснения роли HER2-статуса в молекулярном субтипировании опухолей требуется больший объем исследований по данной проблеме.

Резюмируя, мы рекомендуем использование маркера HER2 в качестве дифференцирующего с осторожностью, несмотря на полученные результаты. Оценка HER2-статуса опухоли должна производиться в совокупности с общей панелью, рекомендованной в нашем исследовании.

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

Например, одни авторы [79] 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. [270] описали экспрессию уроплакинов как в МНИРМП (88%), так и в МИРМП (53%).

Matsumoto K. et al. [165] пришли к выводу, что потеря экспрессии Uroplakin III характерна для МИРМП и низкодифференцированных опухолей. В последующей работе данного коллектива авторов [133] 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 [27; 269].

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.

Экспрессия GATA3 с МИРМП нами уже обсуждалась в главе 4.2.2, поэтому мы не будем подробно на ней останавливаться ввиду совпадения результатов текущего исследования с данными литературы [34; 115; 117; 218].

Однако стоит отметить, что сниженный уровень экспрессии данного маркера в МИРМП по сравнению с МНИРМП, на наш взгляд, объясняется тем, что в нашем исследовании все случаи МИРМП (100%) были отнесены к высокой степени злокачественности (high-grade). GATA3 выполняет особую роль в развитии и дифференцировке клеток, а также в ингибировании уротелиального канцерогенеза и прогрессирования рака [218]. Поэтому паттерн экспрессии GATA3 с уменьшением интенсивности окрашивания в МИРМП является закономерным, что подтверждается рядом публикаций [113; 115; 218; 256]. ИГХ-исследование с маркером GATA3 правомочно использовать для дифференциальной диагностики МНИРМП и МИРМП, при этом, вероятнее всего, в рутинной практике следует использовать контрольный препарат (например, нормальный уротелий) для оценки изменений интенсивности окрашивания уротелиальных клеток.

Недавно несколько исследований были сосредоточены на хромосоме 10q23, новой локализации частых мутаций в некоторых опухолях [167; 191]. Ген *PTEN* расположен на хромосоме 10q23 и кодирует белок, который действует как фосфатидилинозитол-фосфатаза. В литературе сообщается о частых мутациях или делециях гена *PTEN* при РМП, в то время как исследований, в которых *PTEN* оценивался как клинический прогностический фактор МНИРМП, немного, плюс,

мутации чаще встречаются при инвазивном, а не поверхностном раке [191]. Однако существует небольшое количество исследований, в которых PTEN оценивался как прогностический фактор неинвазивного РМП [84]. В нашем исследовании мы оценили изменения в экспрессии белка PTEN у пациентов с МНИРМП и МИРМП, однако не получили значимых отличий в результатах. Стоит отметить, что часть авторов выявила снижение экспрессии PTEN в опухолях с мышечной инвазией [63; 191; 194; 231], поэтому нам кажется, что использование данного маркера перспективно в будущих исследованиях. Однако на данный момент мы не можем подтвердить важность данного маркера в дифференциальной диагностике уротелиальных поражений.

Касаемо маркера апоптоза Bcl-2, при сравнении количественных данных параметра HScore нами не было выявлено значимых различий между подгруппами III и IV, однако при использовании трехуровневого деления численных значений (терцили) продемонстрированы высокие значения HScore в МНИРМП, а также низкие показатели в подгруппе МИРМП. По выводам диссертационной работы Андреевой Ю. Ю. [2], фактор апоптоза Bcl-2 не может являться самостоятельным прогностическим фактором прогноза РМП. Таким образом, оценка роли Bcl-2 в прогнозе течения РМП представляется интересным вопросом, требующим дальнейшего изучения.

Подводя итоги, нами были сформулированы алгоритмы ИГХ-диагностики пациентов с воспалительными, предраковыми и раковыми поражениями уротелия, представленные на Рисунке 97 и 98. Первый алгоритм (Рисунок 97) основывается на статистически значимых данных количественных показателей ИГХ-маркеров, второй (Рисунок 98) – на статистически значимых данных терцильных значений ИГХ-маркеров.

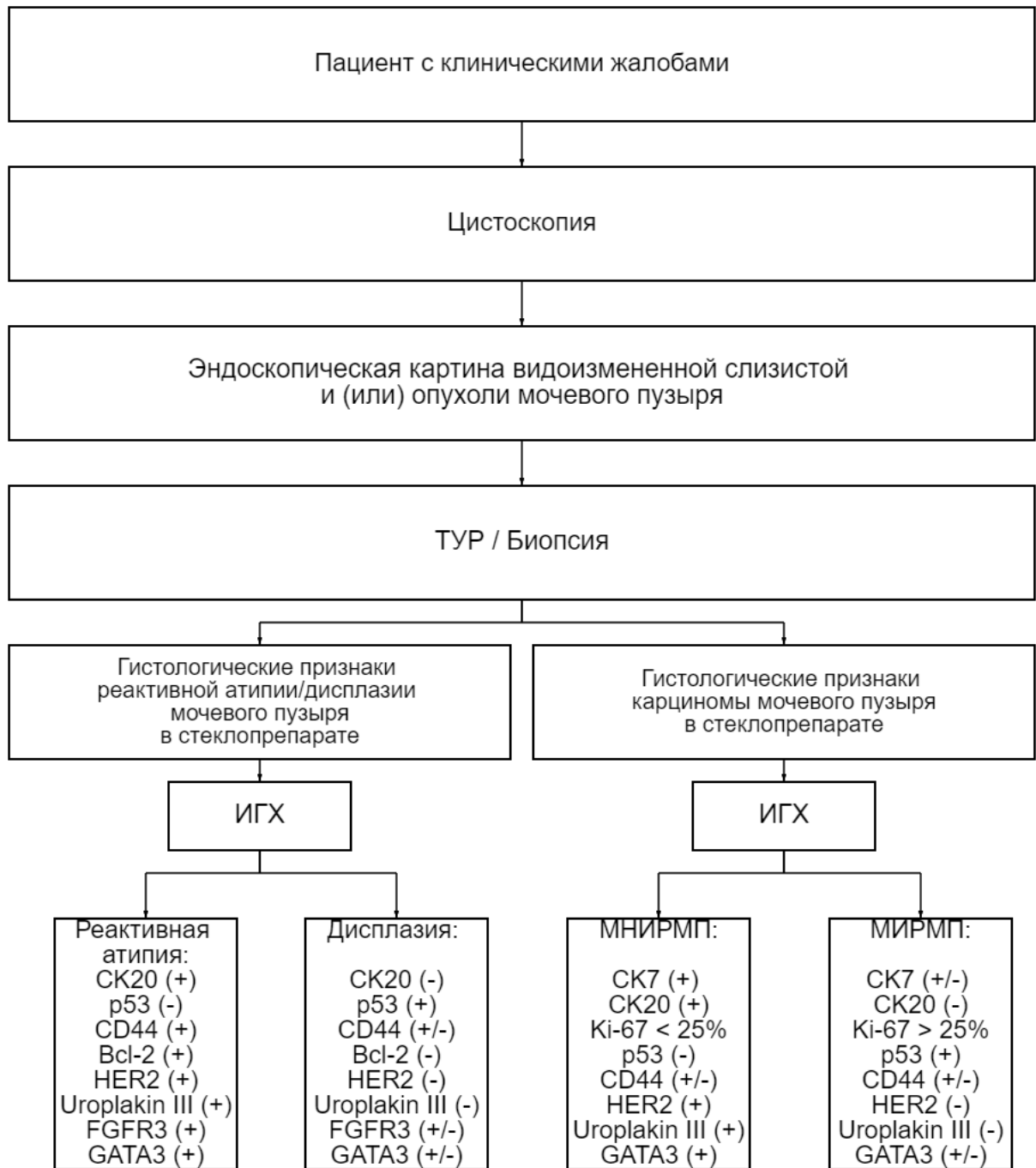


Рисунок 97 – Алгоритм ИГХ-диагностики пациентов с воспалительными, предраковыми и раковыми поражениями уротелия при использовании количественных данных ИГХ-маркеров

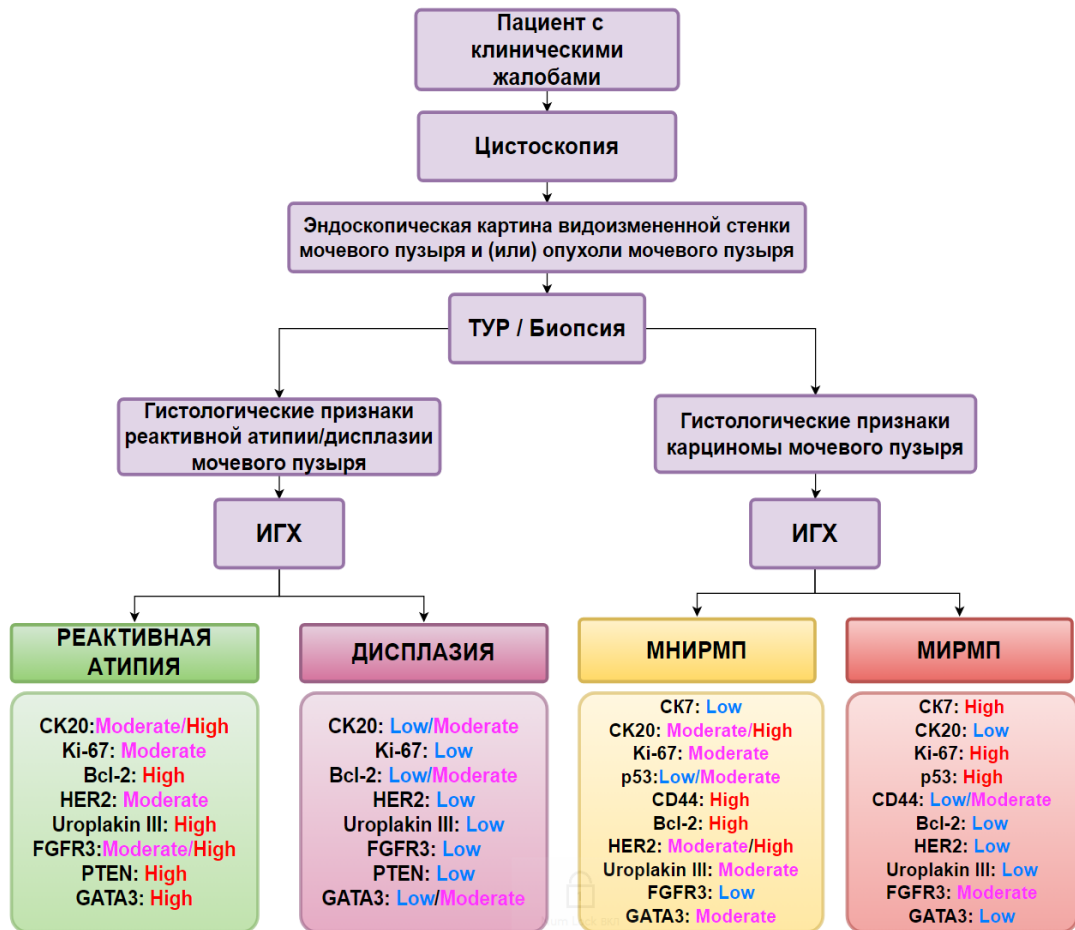


Рисунок 98 – Алгоритм ИГХ-диагностики пациентов с воспалительными, предраковыми и раковыми поражениями уротелия при использовании терцильных значений ИГХ-маркеров

Заключение

Рак мочевого пузыря – злокачественное новообразование, которое обладает большим генетическим полиморфизмом, вследствие чего имеет различные клинические, морфологические 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.

В нашем исследовании были изучены такие факторы, как пол и возраст пациентов, размер, локализация и количество поражений, а также степень дифференцировки опухоли (в случаях карцином). В нашей работе показано, что мышечно-неинвазивные карциномы мочевого пузыря более характерны для женщин более позднего возраста, чем для пациентов мужского пола. Данная особенность диктует потребность в прицельной онконастороженности к пациенткам пожилого возраста врачами-урологами, онкологами, патологоанатомами. Нами выявлено, что возраст пациентов значимо влияет на

клинико-морфологические параметры уротелиальных карцином: для пациентов пожилого возраста с МНИРМП крайне важна тщательная последующая интравезикальная диагностика ввиду большой частоты наличия множественных метакронных фокусов рака в мочевом пузыре. У пациентов молодого возраста с мышечно-инвазивными карциномами при выполнении цистэктомии следует рассмотреть расширенную лимфодиссекцию тазовых лимфатических узлов, так как, по данным нашего исследования, у данной группы больных выявляются менее дифференцированные и более агрессивные поражения.

Нами была продемонстрирована иммуногистохимическая панель антител для дифференциальной диагностики реактивной атипии и уротелиальной дисплазии (с маркерами CK20, 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 CK7, CK20, 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 поспособствует 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 CK20, Vcl-2, HER2, Uroplakin III, FGFR3 и GATA3, негативная реакция с маркером p53. При уротелиальной дисплазии характерна негативная реакция с маркерами Vcl-2, HER2, Uroplakin III, низкая экспрессия с CK20, FGFR3 и GATA3, выраженная иммуногистохимическая реакция с маркером p53. Различий в показателях HistoScore для маркеров CK7, 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 CK20, CD44, HER2, Uroplakin III и GATA3, слабая экспрессия p53. В мышечно-инвазивных карциномах выявлена отрицательная реакция с маркерами CK20, CD44, HER2, Uroplakin III, слабая экспрессия GATA3, а также выраженная иммуногистохимическая реакция с маркерами CK7 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 Vcl-2, FGFR3 и PTEN между двумя подгруппами не обнаружено.

Практические рекомендации

1. При выявлении в биоптате мочевого пузыря признаков атипии уротелиальных клеток и неоднозначной гистологической картины в отношении дисплазии уротелия показано проведение иммуногистохимического исследования. Реактивная атипия 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 сокращений

- БЦЖ – Бацилла Кальмета—Герена
- ВАК – Высшая аккредитационная комиссия
- ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения
- ВПЧ – вирус папилломы человека
- ВПЧ16, 18, 33, 39 – вирус папилломы человека 16, 18, 33, 39 типов
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ЗППП – заболевания, передающиеся половым путем
- ИГХ – иммуногистохимия
- ИМП – инфекции мочевыводящих путей
- МИРМП – мышечно-инвазивный рак мочевого пузыря
- МНИРМП – мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря
- МП – мочевой пузырь
- мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота
- РМП – рак мочевого пузыря
- РФ – Российская Федерация
- США – Соединенные Штаты Америки
- ТУР – трансуретральная резекция
- ЭМТ – эпителиально-мезенхимальная трансформация
- AKT* – Protein kinase B gene (ген протеинкиназы B)
- ASCO – American Society of Clinical Oncology (Американское общество клинической онкологии)
- Bcl-2 – регулятор апоптоза Bcl-2, внутриклеточный белковый фактор
- CA-125 – Cancer antigen 125 (раковый антиген 125)
- CAP – The College of American Pathologists (Коллегия американских патологов)
- CD147 – кластер дифференцировки 147 (Басигин), внеклеточная металлопротеиназа матрикса

CD44 – кластер дифференцировки 44, интегральный клеточный гликопротеин

CDH1 – Cadherin 1 gene (ген, кодирующий белок кадгерин-1)

CDKN2A – Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A gene (ген *CDKN2A*, ингибитор циклин-зависимой киназы 2A)

CDX2 – Caudal type homeobox 2 (каудально-связанный гомеобоксный транскрипционный фактор 2)

CIS – carcinoma in situ (карцинома in situ)

CK5/6, 7, 14, 18, 20 – цитокератины 5/6, 7, 14, 18, 20

CTLA4 – Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Protein 4 (Гликопротеин цитотоксических Т-лимфоцитов 4)

CUETO – Club Urologico Espanol de Tratamiento Oncologico (Испанский урологический клуб лечения рака)

CyclinD1 – циклин D1

DSC3 – Desmocollin 3 gene (ген, кодирующий белок десмоколлин-3)

EAU – European Association of Urology (Европейская ассоциация урологии)

EORTC – European Organisation for Research and Treatment of Cancer (Европейская организация по исследованию и лечению рака)

EPIC – European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (Европейское Проспективное Исследование Рака и Питания)

ER – estrogen receptor (эстрогеновый рецептор)

ERBB2 – Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 2 gene (ген рецептора человеческого эпидермального фактора роста 2)

ERBB3 – Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 3 gene (ген рецептора человеческого эпидермального фактора роста 3)

FGFR3 – Fibroblast growth factor receptor 3 gene (ген рецептора фактора роста фибробластов 3)

FOXA1 – Forkhead Box A1 gene (ген, кодирующий белок FOXA1 (ядерный фактор гепатоцитов 3-альфа))

G1 – grade 1 (высокодифференцированный)

G2 – grade 2 (умереннодифференцированный)

G3 – grade 3 (низкодифференцированный)

GATA3 – GATA binding protein 3 (ген, кодирующий белок фактор транскрипции GATA3)

GSTM1 – glutathione S-transferase mu 1 (ген, кодирующий белок глутатион-S-трансферазы мю 1)

GWAS – genome-wide association studies (полногеномный поиск ассоциаций)

Н-критерий – непараметрический статистический критерий Краскела—Уоллиса

HER2, HER2/neu – Human epidermal growth factor receptor 2 (мембранный белок, рецептор эпидермального фактора роста, тип 2)

HRAS – Harvey Rat sarcoma virus gene, GTPase HRas gene (ген, кодирующий белок ГТФазы HRas)

HScore – HistoScore, методика оценки иммуногистохимической реакции

ISUP – International Society of Urological Pathology (Международное общество урологической патологии)

KDM6A – Lysine Demethylase 6A (ген, кодирующий лизин-специфическую деметилазу 6A)

Ki-67 – маркер клеточной пролиферации Ki-67

KRAS – Kirsten Rat Sarcoma virus gene, GTPase K-Ras (ген, кодирующий белок ГТФазы K-Ras)

KRT5, 6A, 14, 15, 20 – Keratin 5, 6A, 14, 15, 20 genes (гены, кодирующие цитокератины 5, 6A, 14, 15, 20)

L – нижний квартиль (25%)

M – mean (среднее арифметическое)

МАРК – mitogen-activated protein kinase (митоген-активируемая протеинкиназа, сигнальный путь МАРК)

MCT1 – монокарбокисильный транспортер 1

Me – median (медиана)

miR-100-5p – MicroRNA 100-5p (микроРНК 100-5p)

miR-200 – MicroRNA 200 (микроРНК 200)

miR-99a-5p – MicroRNA 99a (микроРНК 99a-5p)

mTOR – the mammalian target of rapamycin (мишень рапамицина млекопитающих, протеинкиназа серин-треониновой специфичности)

n – число случаев (наблюдений или записей)

NAT2 – N-acetyltransferase 2 (N-ацетилтрансфераза 2)

NRAS – Neuroblastoma RAS viral oncogene homolog (ген, кодирующий белок ГТФазы NRas)

p – уровень значимости

p53 – белок p53

p63 – белок p63

PAX8 – Paired box gene 8 protein (белок PAX8)

PD-L1 – Programmed death-ligand 1 (первый лиганд белка программируемой смерти клеток)

PIK3 – Phosphoinositide 3-kinase gene (ген, кодирующий белок фосфоинозитид-3-киназы)

PIK3CA – Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha gene (ген PIK3CA, каталитическая субъединица фосфатидилинозит-4,5-бисфосфат-3-киназы альфа).

pRb – белок ретинобластомы

PSA – Prostate-specific antigen (простатспецифический антиген)

PTEN – Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase gene (ген, кодирующий белок PTEN, гомолог фосфатазы и тензина)

Q1 – first quartile (первый квартиль)

Q3 – third quartile (третий квартиль)

R – непараметрический коэффициент корреляции Спирмена

RAS – Retrovirus Associated DNA Sequences (семейство генов RAS)

RBI – retinoblastoma gene (ген ретинобластомы)

RKIP – RAF kinase inhibitor protein (белок-ингибитор RAF-киназы)

SD – standart deviation (стандартное отклонение)

SEER – Surveillance, Epidemiology, and End Results (программа SEER: течение, распространенность и исходы злокачественных новообразований)

SHH – Sonic Hedgehog Signaling Molecule (сигнальная молекула ежа Соника; ген, кодирующий белок SHH)

SLC14A1 – Solute Carrier Family 14 Member 1 (ген, кодирующий белок транспортер мочевины 1 (UT-1))

SNX31 – Sorting Nexin 31 gene (ген, кодирующий белок SNX31)

T1 – опухоль мочевого пузыря с инвазией в подэпителиальную соединительную ткань (собственную пластинку)

T2 – опухоль мочевого пузыря с инвазией в мышечный слой

T2a – опухоль мочевого пузыря с инвазией в поверхностные отделы мышечного слоя (внутренняя половина)

T2b – опухоль мочевого пузыря с инвазией в глубокие отделы мышечного слоя (наружная половина)

T4 – опухоль мочевого пузыря с инвазией стромы предстательной железы, семенных пузырьков, матки, влагалища, стенки малого таза, брюшной стенки

T4b – опухоль мочевого пузыря с инвазией стенки малого таза либо брюшной стенки

Ta – неинвазивная папиллярная карцинома мочевого пузыря

TACC3 – *Transforming Acidic Coiled-Coil Containing Protein 3 gene*

TCGA – The Cancer Genome Atlas (Атлас ракового генома)

TGM1 – Transglutaminase-1, protein-glutamine gamma-glutamyltransferase K (ген, кодирующий белок-глутамин гамма глутамилтрансферазу K)

Tis – карцинома in situ

TNM – tumor, nodus, metastasis (международная классификация стадий злокачественных новообразований)

TP53 – Tumor protein p53 gene (ген, кодирующий белок p53)

U – верхний квартиль (75%)

U-критерий – непараметрический статистический критерий Манна—Уитни

UPK1A – Uroplakin 1A gene (ген, кодирующий белок уроплакин 1A)

UPK2 – Uroplakin 2 gene (ген, кодирующий белок уроплакин 2)

Uroplakin Ia, Ib, II, III (1a, 1б, 2, 3) – белок уроплакин Ia, Ib, II, III (1a, 1б, 2, 3)

W-критерий – непараметрический статистический критерий Вилкоксона

Список литературы

1. 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.
2. Андреева, Ю. Ю. Морфологические и молекулярно-биологические факторы прогноза рака мочевого пузыря : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Ю. Ю. Андреева. – М., 2009. – 40 с.
3. Каприн, А. Д. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность) / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, Г. В. Петрова. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019. – 4-6 с.
4. Каприн, А. Д. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность) / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, А. О. Шахзадова. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020. – 252 с.
5. Каприн, А. Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2021 году / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, А. О. Шахзадова. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022. – 239 с.
6. 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.
7. Клинико-морфологические особенности немышечноинвазивного 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.
8. Клиническое значение маркеров пролиферации и апоптоза у больных

светлоклеточным почечно-клеточным раком / Н. А. Горбань, С. В. Иванова, О. Б. Карякин [и др.] // Онкоурология. – 2014. – № 1. – С. 10-15.

9. Молекулярные основы внутриопухолевого гетерогенности уротелиальных карцином мочевыделительной системы / Ю. И. Османов, Ж. А. Гаيبов, Е. А. Коган, Л. М. Рапопорт // Урология. – 2019. – № 1. – С. 126-130.

10. Обновленные рекомендации 2018 г. ASCO/CAP по определению рецептора эпидермального фактора роста человека 2-го типа (HER2) при раке молочной железы / Л. Э. Завалишина, Ю. Ю. Андреева, Е. М. Олюшина [и др.] // Архив патологии. – 2019. – Т. 81. – № 6. – С. 82-85.

11. 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.

12. Роль антигенов Ki-67, p53 и bcl-2 в прогнозировании клинического течения переходного-клеточного рака мочевого пузыря / Е. С. Завьялова, А. С. Аль-Шукри, И. А. Корнеев, О. Д. Ягмуров // Нефрология. – 2009. – Т. 13. – № 1. – С. 90-94.

13. Сравнительная морфологическая характеристика и иммунофенотип уротелиальных карцином почечной лоханки и мочевого пузыря / Ю. И. Османов, Ж. А. Гаيبов, Е. А. Коган [и др.] // Архив патологии. – 2018. – Т. 80. – № 5. – С. 23-32.

14. A Consensus Molecular Classification of Muscle-invasive Bladder Cancer. / A. Kamoun [et al.] // European urology. – 2020. – Vol. 77. – № 4. – P. 420-433.

15. A molecular taxonomy for urothelial carcinoma. / G. Sjö Dahl [et al.] // Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. – 2012. – Vol. 18. – № 12. – P. 3377-3386.

16. A multi-stage genome-wide association study of bladder cancer identifies multiple susceptibility loci / N. Rothman [et al.] // Nature genetics. – 2010. – Vol. 42. – № 11. – P. 978-984.

17. A novel molecular grading model: combination of Ki67 and VEGF in predicting tumor recurrence and progression in non-invasive urothelial bladder cancer / J. X. Chen

- [et al.] // Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP. – 2012. – Vol. 13. – № 5. – P. 2229-2234.
18. A sequence variant at 4p16.3 confers susceptibility to urinary bladder cancer / L. A. Kiemeny [et al.] // Nature genetics. – 2010. – Vol. 42. – № 5. – P. 415-419.
 19. A study of the immunohistochemical profile of bladder cancer in neuro-urological patients by the French Association of Urology / F. Michel [et al.] // World journal of urology. – 2022. – Vol. 40. – № 8. – P. 1939-1947.
 20. A validation and extended description of the Lund taxonomy for urothelial carcinoma using the TCGA cohort / N. A. Marzouka [et al.] // Scientific reports. – 2018. – Vol. 8. – № 1. – P. 3737.
 21. Abnormal bcl-2 and pRb expression are independent correlates of radiation response in muscle-invasive bladder cancer / A. Pollack [et al.] // Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. – 1997. – Vol. 3. – № 10. – P. 1823-1829.
 22. Accuracy of the CUETO, EORTC 2016 and EAU 2021 scoring models and risk stratification tables to predict outcomes in high-grade non-muscle-invasive urothelial bladder cancer / W. Krajewski [et al.] // Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations. – 2022. – Vol. 40. – № 11. – P. 491.e11-491.e19.
 23. Accuracy of the EORTC risk tables and of the CUETO scoring model to predict outcomes in non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder / E. Xylinas [et al.] // British Journal of Cancer. – 2013. – Vol. 109. – № 6. – P. 1460-1466.
 24. An integrated multi-omics analysis identifies prognostic molecular subtypes of non-muscle-invasive bladder cancer / S. V. Lindskrog [et al.] // Nature communications. – 2021. – Vol. 12. – № 1. – P. 2301.
 25. Apoptosis and its clinical significance for bladder cancer therapy / J. D. Kelly [et al.] // BJU international. – 1999. – Vol. 83. – № 1. – P. 1-10.
 26. Are We Ready to Implement Molecular Subtyping of Bladder Cancer in Clinical Practice? Part 1: General Issues and Marker Expression / F. Sanguedolce [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2022. – Vol. 23. – № 14. – P. 7819.
 27. Are We Ready to Implement Molecular Subtyping of Bladder Cancer in Clinical

- Practice? Part 2: Subtypes and Divergent Differentiation / F. Sanguedolce [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2022. – Vol. 23. – № 14. – P. 7844.
28. Are We Ready to Implement Molecular Subtyping of Bladder Cancer in Clinical Practice? Part 1: General Issues and Marker Expression / F. Sanguedolce [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2022. – Vol. 23. – № 14. – P. 7819.
29. ASCO/CAP 2018 breast cancer HER2 testing guidelines: summary of pertinent recommendations for practice in Australia / G. Farshid [et al.] // Pathology. – 2019. – Vol. 51. – № 4. – P. 345-348.
30. Asgari, M. Differential diagnosis of urothelial carcinoma in situ from non-neoplastic urothelia: Analysis of CK20, CD44, P53 and Ki67 / M. Asgari, M. Nabi Maybodi, M. Abolhasani // Medical journal of the Islamic Republic of Iran. – 2016. – Vol. 30. – P. 400.
31. Assessing HER2 gene amplification as a potential target for therapy in invasive urothelial bladder cancer with a standardized methodology: results in 1005 patients / M. Laé [et al.] // Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology. – 2010. – Vol. 21. – № 4. – P. 815-819.
32. Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer working group / M. Dowsett [et al.] // Journal of the National Cancer Institute. – 2011. – Vol. 103. – № 22. – P. 1656-1664.
33. Assessment of Luminal and Basal Phenotypes in Bladder Cancer / C. C. Guo [et al.] // Scientific reports. – 2020. – Vol. 10. – № 1. – P. 9743.
34. Association Between Estrogen Receptors and GATA3 in Bladder Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis of Their Clinicopathological Significance. Vol. 12 / C. Bernardo [et al.] // Frontiers in endocrinology. – 2021. – Vol. 12. – P. 684140.
35. Association between smoking and risk of bladder cancer among men and women / N. D. Freedman [et al.] // JAMA. – 2011. – Vol. 306. – № 7. – P. 737-745.
36. Association of arsenic with recurrence of urinary bladder cancer / D. K. Pal, A. Agrawal, S. Ghosh, A. Ghosh // Tropical doctor. – 2020. – Vol. 50. – № 4. – P. 325-330.
37. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy:

- a single-arm, multicentre, phase 2 trial / J. E. Rosenberg [et al.] // *Lancet* (London, England). – 2016. – Vol. 387. – № 10031. – P. 1909-1920.
38. Barriers to enrollment of elderly adults in early-phase cancer clinical trials / M. Basche [et al.] // *Journal of oncology practice*. – 2008. – Vol. 4. – № 4. – P. 162-168.
39. Bcl-2 and p53 expressions in invasive bladder cancers / G. Kong [et al.] // *Acta oncologica* (Stockholm, Sweden). – 1998. – Vol. 37. – № 7-8. – P. 715-720.
40. Bcl-2 expression in adult and embryonic non-haematopoietic tissues / Q. L. Lu, R. Poulson, L. Wong, A. M. Hanby // *The Journal of pathology*. – 1993. – Vol. 169. – № 4. – P. 431-437.
41. bcl-2 expression in epidermal keratinocytic diseases / K. Nakagawa, K. Yamamura, S. Maeda, M. Ichihashi // *Cancer*. – 1994. – Vol. 74. – № 6. – P. 1720-1724.
42. Bcl-2 expression in normal endometrium during the menstrual cycle / A. Gompel [et al.] // *The American journal of pathology*. – 1994. – Vol. 144. – № 6. – P. 1195-1202.
43. bcl-2 inhibits multiple forms of apoptosis but not negative selection in thymocytes / C. L. Sentman [et al.] // *Cell*. – 1991. – Vol. 67. – № 5. – P. 879-888.
44. Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in urologic pathology: report from the International Society of Urological Pathology consensus conference / M. B. Amin [et al.] // *The American journal of surgical pathology*. – 2014. – Vol. 38. – № 8. – P. 1017-1022.
45. Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in the bladder lesions: report from the International Society of Urologic Pathology consensus conference / M. B. Amin, K. Trpkov, A. Lopez-Beltran, D. Grignon // *The American journal of surgical pathology*. – 2014. – Vol. 38. – № 8. – P. e20-34.
46. Bladder cancer: epidemiology, staging and grading, and diagnosis / Z. Kirkali [et al.] // *Urology*. – 2005. – Vol. 66. – № 6 Suppl 1. – P. 4-34.
47. 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.
48. Bladder cancer / A. M. Kamat [et al.] // *Lancet* (London, England). – 2016. – Vol. 388. – № 10061. – P. 2796-2810.

49. Bladder cancer / O. Sanli [et al.] // Nature reviews. Disease primers. – 2017. – Vol. 3. – P. 17022.
50. Bladder Cancer (NMIBC) in a population-based cohort from Stockholm County with long-term follow-up; A comparative analysis of prediction models for recurrence and progression, including external validation of the updated 2021 E.A.U. model / Z. Dovey [et al.] // Urologic oncology. – 2022. – Vol. 40. – № 3. – P. 106.e1-106.e10.
51. Bladder Cancer Molecular Taxonomy: Summary from a Consensus Meeting / S. P. Lerner [et al.] // Bladder cancer (Amsterdam, Netherlands). – 2016. – Vol. 2. – № 1. – P. 37-47.
52. Boorman, G. A. Animal model of human disease: carcinoma of the ureter and urinary bladder / G. A. Boorman // The American journal of pathology. – 1977. – Vol. 88. – № 1. – P. 251-254.
53. Bosch, S. van den. Long-term cancer-specific survival in patients with high-risk, non-muscle-invasive bladder cancer and tumour progression: a systematic review / S. van den Bosch, J. Alfred Witjes // European urology. – 2011. – Vol. 60. – № 3. – P. 493-500.
54. Brierley, J. D. TNM Classification of Malignant Tumours / J. D. Brierley, M. K. Gospodarowicz, C. Wittekind. – Wiley, 2017. – 272 p.
55. Can p53 nuclear over-expression, Bcl-2 accumulation and PCNA status be of prognostic significance in high-risk superficial and invasive bladder tumours? / D. Plastiras [et al.] // European journal of surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology. – 1999. – Vol. 25. – № 1. – P. 61-65.
56. Cancer statistics, 2007 / A. Jemal [et al.] // CA: a cancer journal for clinicians. – 2007. – Vol. 57. – № 1. – P. 43-66.
57. CD44 activation in mature B-cell malignancies by a novel recurrent IGH translocation / X. T. Hu [et al.] // Blood. – 2010. – Vol. 115. – № 12. – P. 2458-2461.
58. CD44 enhances tumor formation and lung metastasis in experimental osteosarcoma and is an additional predictor for poor patient outcome / A. Gvozdenovic [et al.] // Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research. – 2013. – Vol. 28. – № 4. – P. 838-847.

59. CD44 participates in IP-10 induction in cells in which hepatitis C virus RNA is replicating, through an interaction with Toll-like receptor 2 and hyaluronan / T. Abe [et al.] // *Journal of virology*. – 2012. – Vol. 86. – № 11. – P. 6159-6170.
60. CD44 regulates cell proliferation, migration, and invasion via modulation of c-Src transcription in human breast cancer cells / K. Nam [et al.] // *Cellular signalling*. – 2015. – Vol. 27. – № 9. – P. 1882-1894.
61. Cell-cycle markers do not improve discrimination of EORTC and CUETO risk models in predicting recurrence and progression of non-muscle-invasive high-grade bladder cancer / N. Passoni [et al.] // *Urologic oncology*. – 2016. – Vol. 34. – № 11. – P. 485.e7-485.e14.
62. Characterization of a human, sex steroid-responsive transitional cell carcinoma maintained as a tumor line (R198) in athymic nude mice / L. M. Reid [et al.] // *Cancer research*. – 1984. – Vol. 44. – № 10. – P. 4560-4573.
63. Clinical value of PTEN in patients with superficial bladder cancer / K. S. Han [et al.] // *Urologia internationalis*. – 2008. – Vol. 80. – № 3. – P. 264-269.
64. Clinicopathological and prognostic significance of high Ki-67 labeling index in hepatocellular carcinoma patients: a meta-analysis / Y. Luo [et al.] // *International journal of clinical and experimental medicine*. – 2015. – Vol. 8. – № 7. – P. 10235-10247.
65. Clinicopathological and Prognostic Value of Ki-67 Expression in Bladder Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis / Y. Tian [et al.] // *PloS one*. – 2016. – Vol. 11. – № 7. – P. e0158891.
66. Combined CD44, c-MET, and EGFR expression in p16-positive and p16-negative head and neck squamous cell carcinomas / A. M. Baschnagel [et al.] // *Journal of oral pathology & medicine: official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*. – 2017. – Vol. 46. – № 3. – P. 208-213.
67. Comparison of uroplakin expression during urothelial carcinogenesis induced by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine in rats and mice / K. Ogawa [et al.] // *Toxicologic pathology*. – 1999. – Vol. 27. – № 6. – P. 645-651.
68. Complex systems analysis of bladder cancer susceptibility reveals a role for

- decarboxylase activity in two genome-wide association studies / S. Cheng, A. S. Andrew, P. C. Andrews, J. H. Moore // *BioData mining*. – 2016. – Vol. 9. – P. 40.
69. Comprehensive Molecular Characterization of Muscle-Invasive Bladder Cancer / A. G. Robertson [et al.] // *Cell*. – 2017. – Vol. 171. – № 3. – P. 540-556.e25.
70. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma / J. N. Weinstein [et al.] // *Nature*. – 2014. – Vol. 507. – № 7492. – P. 315-322.
71. Comprehensive Transcriptional Analysis of Early-Stage Urothelial Carcinoma / J. Hedegaard [et al.] // *Cancer cell*. – 2016. – Vol. 30. – № 1. – P. 27-42.
72. Constructing prognostic model incorporating the 2004 WHO/ISUP classification for patients with non-muscle-invasive urothelial tumours of the urinary bladder / C. C. Pan [et al.] // *Journal of clinical pathology*. – 2010. – Vol. 63. – № 10. – P. 910-915.
73. Contemporary Molecular Classification of Urinary Bladder Cancer / D. Goutas [et al.] // *In vivo (Athens, Greece)*. – 2021. – Vol. 35. – № 1. – P. 75-80.
74. Cortesi, E. Neoadjuvant treatment for locally advanced bladder cancer: a randomized prospective clinical trial (meeting abstract) / E. Cortesi // *Proc Am Soc Clin Oncol*. – 1995. – Vol. 14. – № 237. – P. Abstract 623.
75. Cyclophosphamide-induced cystitis and bladder cancer in patients with Wegener granulomatosis / C. Talar-Williams [et al.] // *Annals of internal medicine*. – 1996. – Vol. 124. – № 5. – P. 477-484.
76. Dalkilic, A. A Comparison of EORTC And CUETO Risk Tables in Terms of the Prediction of Recurrence and Progression in All Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer Patients / A. Dalkilic, G. Bayar, M. F. Kilinc // *Urology journal*. – 2019. – Vol. 16. – № 1. – P. 37-43.
77. Diabetes and risk of bladder cancer: evidence from a case-control study in New England / T. MacKenzie [et al.] // *Cancer*. – 2011. – Vol. 117. – № 7. – P. 1552-1556.
78. Diagnostic and prognostic roles of CK20 in the pathology of urothelial lesions. A systematic review / F. Sanguedolce [et al.] // *Pathology, research and practice*. – 2019. – Vol. 215. – № 6. – P. 152413.
79. Differences in expression of uroplakin III, cytokeratin 7, and cyclooxygenase-2 in canine proliferative urothelial lesions of the urinary bladder / D. G. Sledge [et al.] //

Veterinary pathology. – 2015. – Vol. 52. – № 1. – P. 74-82.

80. Different HER2 protein expression profiles aid in the histologic differential diagnosis between urothelial carcinoma in situ (CIS) and non-CIS conditions (dysplasia and reactive atypia) of the urinary bladder mucosa / S. Gunia [et al.] // American journal of clinical pathology. – 2011. – Vol. 136. – № 6. – P. 881-888.

81. Different Responses to Neoadjuvant Chemotherapy in Urothelial Carcinoma Molecular Subtypes / G. Sjö Dahl [et al.] // European urology. – 2022. – Vol. 81. – № 5. – P. 523-532.

82. Differential effect on survival of pelvic lymph node dissection at radical cystectomy for muscle invasive bladder cancer / A. Larcher [et al.] // European journal of surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology. – 2015. – Vol. 41. – № 3. – P. 353-360.

83. Differential expression patterns of hyaluronan receptors CD44 and RHAMM in transitional cell carcinomas of urinary bladder / Q. Y. Kong [et al.] // Oncology reports. – 2003. – Vol. 10. – № 1. – P. 51-55.

84. Differential PTEN protein expression profiles in superficial versus invasive bladder cancers / I. T. Koksäl [et al.] // Urologia internationalis. – 2005. – Vol. 75. – № 2. – P. 102-106.

85. Discriminatory immunohistochemical staining of urothelial carcinoma in situ and non-neoplastic urothelium: an analysis of cytokeratin 20, p53, and CD44 antigens / J. K. McKenney, S. Desai, C. Cohen, M. B. Amin // The American journal of surgical pathology. – 2001. – Vol. 25. – № 8. – P. 1074-1078.

86. Distinct genetic alterations and luminal molecular subtype in nested variant of urothelial carcinoma / V. Weyerer [et al.] // Histopathology. – 2019. – Vol. 75. – № 6. – P. 865-875.

87. Does the extent of lymphadenectomy in radical cystectomy for bladder cancer influence disease-free survival? A prospective single-center study / H. Abol-Enein [et al.] // European urology. – 2011. – Vol. 60. – № 3. – P. 572-577.

88. EAU Guidelines on Non-Muscle-invasive Urothelial Carcinoma of the Bladder: Update 2016 / M. Babjuk [et al.] // European urology. – 2017. – Vol. 71. – № 3. – P. 447-

461.

89. Effects of sex hormones on development of urinary bladder tumours in rats induced by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine / E. Okajima [et al.] // *Urological research*. – 1975. – Vol. 3. – № 2. – P. 73-79.
90. Eich, M. L. Toward personalized management in bladder cancer: the promise of novel molecular taxonomy / M. L. Eich, L. Dyrskjøt, G. J. Netto // *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. – 2017. – Vol. 471. – № 2. – P. 271-280.
91. Enhanced membrane-type 1 matrix metalloproteinase expression by hyaluronan oligosaccharides in breast cancer cells facilitates CD44 cleavage and tumor cell migration / C. I. Kung [et al.] // *Oncology reports*. – 2012. – Vol. 28. – № 5. – P. 1808-1814.
92. EORTC Risk Model to Predict Progression in Patients With Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer: Is It Safe to Use in Clinical Practice? / W. F. S. Busato Júnior [et al.] // *Clinical genitourinary cancer*. – 2016. – Vol. 14. – № 2. – P. 176-182.
93. Epidemiological characteristics of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the bladder / A. F. Kantor, P. Hartge, R. N. Hoover, J. F. Jr. Fraumeni // *Cancer research*. – 1988. – Vol. 48. – № 13. – P. 3853-3855.
94. Epidemiology and risk factors of urothelial bladder cancer / M. Burger [et al.] // *European urology*. – 2013. – Vol. 63. – № 2. – P. 234-241.
95. Ernster, V. L. Trends in smoking, cancer risk, and cigarette promotion. Current priorities for reducing tobacco exposure / V. L. Ernster // *Cancer*. – 1988. – Vol. 62. – № 8 Suppl. – P. 1702-1712.
96. Ethnic differences in bladder cancer survival / D. S. Yee [et al.] // *Urology*. – 2011. – Vol. 78. – № 3. – P. 544-549.
97. Ethnicity and cancer risk in São Paulo, Brazil / C. Bouchardy [et al.] // *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. – 1991. – Vol. 1. – № 1. – P. 21-27.
98. European association of urology guidelines on non-muscle-invasive bladder cancer (TaT1 and carcinoma in situ)-2019 update / M. Babjuk [et al.] // *European urology*. – 2019. – Vol. 76. – № 5. – P. 639-657.

99. Evolution of Urothelial Bladder Cancer in the Context of Molecular Classifications / M. Minoli [et al.] // *International journal of molecular sciences*. – 2020. – Vol. 21. – № 16. – P. 5670.
100. Evolving hallmarks in urothelial bladder cancer: unveiling potential biomarkers / J. Afonso [et al.] // *Acta Urológica Portuguesa*. – 2015. – Vol. 32. – № 1. – P. 1-11.
101. Expression of bcl-2 and p53 oncoproteins in schistosomiasis-associated transitional and squamous cell carcinoma of urinary bladder / K. S. Chaudhary [et al.] // *British journal of urology*. – 1997. – Vol. 79. – № 1. – P. 78-84.
102. Expression of CD44 protein in bilharzial and non-bilharzial bladder cancers / H. A. H. Gadalla, N. A. H. Kamel, F. A. M. Badary, F. G. Elanany // *BJU international*. – 2004. – Vol. 93. – № 1. – P. 151-155.
103. Expression of survivin in squamous cell carcinoma and transitional cell carcinoma of the urinary bladder: a comparative immunohistochemical study / R. Makboul [et al.] // *Korean journal of urology*. – 2015. – Vol. 56. – № 1. – P. 31-40.
104. FGFR3, HRAS, KRAS, NRAS and PIK3CA Mutations in Bladder Cancer and Their Potential as Biomarkers for Surveillance and Therapy / L. C. Kompier [et al.] // *PLOS ONE*. – 2010. – Vol. 5. – № 11. – P. 1-13.
105. FGFR3 and Ras gene mutations are mutually exclusive genetic events in urothelial cell carcinoma / A. H. Jebar [et al.] // *Oncogene*. – 2005. – Vol. 24. – № 33. – P. 5218-5225.
106. Flat intraepithelial lesions of the urinary bladder / L. Cheng, J. C. Cheville, R. M. Neumann, D. G. Bostwick // *Cancer*. – 2000. – Vol. 88. – № 3. – P. 625-631.
107. Flat Urothelial Lesions With Atypia: Interobserver Concordance and Added Value of Immunohistochemical Profiling / M. E. Lawless, M. S. Tretiakova, L. D. True, F. Vakar-Lopez // *Applied immunohistochemistry & molecular morphology: AIMM*. – 2018. – Vol. 26. – № 3. – P. 180-185.
108. Fluid intake and the risk of tumor recurrence in patients with superficial bladder cancer / S. M. Donat, S. Bayuga, H. W. Herr, M. Berwick // *The Journal of urology*. – 2003. – Vol. 170. – № 5. – P. 1777-1780.
109. Fluid intake and the risk of urothelial cell carcinomas in the European Prospective

Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) / M. M. Ros [et al.] // International journal of cancer. – 2011. – Vol. 128. – № 11. – P. 2695-2708.

110. FOXA1, GATA3 and PPAR γ Cooperate to Drive Luminal Subtype in Bladder Cancer: A Molecular Analysis of Established Human Cell Lines / J. I. Warrick [et al.] // Scientific reports. – 2016. – Vol. 6. – P. 38531.

111. Frequent activating mutations of FGFR3 in human bladder and cervix carcinomas / D. Cappellen [et al.] // Nature genetics. – 1999. – Vol. 23. – № 1. – P. 18-20.

112. Frequent genetic alterations in flat urothelial hyperplasias and concomitant papillary bladder cancer as detected by CGH, LOH, and FISH analyses / E. C. Obermann [et al.] // The Journal of pathology. – 2003. – Vol. 199. – № 1. – P. 50-57.

113. GATA-3 Expression in all Grades and Different Variants of Primary and Metastatic Urothelial Carcinoma / M. Naik [et al.] // Indian journal of surgical oncology. – 2021. – Vol. 12. – № Suppl 1. – P. 72-78.

114. GATA-3 expression in male and female breast cancers: comparison of clinicopathologic parameters and prognostic relevance / R. S. Gonzalez [et al.] // Human pathology. – 2013. – Vol. 44. – № 6. – P. 1065-1070.

115. GATA binding protein 3 is down-regulated in bladder cancer yet strong expression is an independent predictor of poor prognosis in invasive tumor / H. Miyamoto [et al.] // Human pathology. – 2012. – Vol. 43. – № 11. – P. 2033-2040.

116. GATA3: a multispecific but potentially useful marker in surgical pathology: a systematic analysis of 2500 epithelial and nonepithelial tumors / M. Miettinen [et al.] // The American journal of surgical pathology. – 2014. – Vol. 38. – № 1. – P. 13-22.

117. GATA3 expression loss is linked to stage progression but is unrelated to prognosis in muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder / H. Plage [et al.] // Human pathology. – 2022. – Vol. 130. – P. 10-17.

118. Genetic susceptibility to distinct bladder cancer subphenotypes / L. T. Guey [et al.] // European urology. – 2010. – Vol. 57. – № 2. – P. 283-292.

119. Genetic variation in the prostate stem cell antigen gene PSCA confers susceptibility to urinary bladder cancer / X. Wu [et al.] – 2009. – Vol. 41. – № 9. – P. 991-995.

120. Genomic predictors of survival in patients with high-grade urothelial carcinoma of

the bladder / P. H. Kim [et al.] // *European urology*. – 2015. – Vol. 67. – № 2. – P. 198-201.

121. Glick, S. H. Relationship of p53 and bcl-2 to prognosis in muscle-invasive transitional cell carcinoma of the bladder / S. H. Glick, L. P. Howell, R. W. White // *The Journal of urology*. – 1996. – Vol. 155. – № 5. – P. 1754-1757.

122. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray [et al.] // *CA: a cancer journal for clinicians*. – 2018. – Vol. 68. – № 6. – P. 394-424.

123. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries / H. Sung [et al.] // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 2021. – Vol. 71. – № 3. – P. 209-249.

124. Goebell, P. J. p53 immunohistochemistry in bladder cancer--a new approach to an old question / P. J. Goebell, S. G. Groshen, B. J. Schmitz-Dräger // *Urologic oncology*. – 2010. – Vol. 28. – № 4. – P. 377-388.

125. Grivas, P. D. Urothelial carcinomas: a focus on human epidermal receptors signaling / P. D. Grivas, M. Day, M. Hussain // *American journal of translational research*. – 2011. – Vol. 3. – № 4. – P. 362-373.

126. Haynes, B. F. The transmembrane hyaluronate receptor (CD44): multiple functions, multiple forms / B. F. Haynes, H. X. Liao, K. L. Patton // *Cancer cells (Cold Spring Harbor, N.Y. : 1989)*. – 1991. – Vol. 3. – № 9. – P. 347-350.

127. Her-2/neu overexpression in muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: prognostic significance and comparative analysis in primary and metastatic tumors / R. E. Jimenez [et al.] // *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. – 2001. – Vol. 7. – № 8. – P. 2440-2447.

128. HER2/neu gene amplification and protein overexpression in G3 pT2 transitional cell carcinoma of the bladder: a role for anti-HER2 therapy? / Z. Latif [et al.] // *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. – 2004. – Vol. 40. – № 1. – P. 56-63.

129. Her2 amplification is significantly more frequent in lymph node metastases from urothelial bladder cancer than in the primary tumours / A. Fleischmann [et al.] // *European urology*. – 2011. – Vol. 60. – № 2. – P. 350-357.

130. HER2 overexpression and amplification in urothelial carcinoma of the bladder is associated with MYC coamplification in a subset of cases / D. E. Hansel, E. Swain, R. Dreicer, R. R. Tubbs // *American journal of clinical pathology*. – 2008. – Vol. 130. – № 2. – P. 274-281.
131. Herr, H. W. Routine CT scan in cystectomy patients: does it change management? / H. W. Herr // *Urology*. – 1996. – Vol. 47. – № 3. – P. 324-325.
132. Heterarchy of transcription factors driving basal and luminal cell phenotypes in human urothelium / C. Fishwick [et al.] // *Cell death and differentiation*. – 2017. – Vol. 24. – № 5. – P. 809-818.
133. High expression level of preoperative serum Uroplakin III is associated with biologically aggressive bladder cancer / H. Tsumura [et al.] // *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*. – 2015. – Vol. 16. – № 4. – P. 1539-1543.
134. High stromal hyaluronan level is associated with poor differentiation and metastasis in prostate cancer / P. Lipponen [et al.] // *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. – 2001. – Vol. 37. – № 7. – P. 849-856.
135. Histological typing of urinary bladder tumours / F. K. Mostofi [et al.] – Geneva : World Health Organization, 1973. – 36 p.
136. Identification of distinct basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer with different sensitivities to frontline chemotherapy / W. Choi [et al.] // *Cancer cell*. – 2014. – Vol. 25. – № 2. – P. 152-165.
137. Immunohistochemical analysis of bcl-2 expression in transitional cell carcinoma of the bladder / H. Shiina [et al.] // *Journal of clinical pathology*. – 1996. – Vol. 49. – № 5. – P. 395-399.
138. Immunohistochemical Assays for Bladder Cancer Molecular Subtyping: Optimizing Parsimony and Performance of Lund Taxonomy Classifiers / C. S. C. Hardy [et al.] // *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*. – 2022. – Vol. 70. – № 5. – P. 357-375.
139. Immunohistochemical assessment of basal and luminal markers in non-muscle invasive urothelial carcinoma of bladder / M. D. C. Rodriguez Pena [et al.] // *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. – 2019. – Vol. 475. – № 3. – P. 349-356.

140. Immunohistochemical based molecular subtypes of muscle-invasive bladder cancer: association with HER2 and EGFR alterations, neoadjuvant chemotherapy response and survival / D. S. Helal [et al.] // *Diagnostic pathology*. – 2023. – Vol. 18. – № 1. – P. 11.
141. Immunohistochemical expression of p63, p53 and MIB-1 in urinary bladder carcinoma. A tissue microarray study of 158 cases / E. Compérat [et al.] // *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. – 2006. – Vol. 448. – № 3. – P. 319-324.
142. Immunohistochemical subtyping using CK20 and CK5 can identify urothelial carcinomas of the upper urinary tract with a poor prognosis / D. Sikic [et al.] // *PloS one*. – 2017. – Vol. 12. – № 6. – P. e0179602.
143. Immunohistochemistry-Based Taxonomical Classification of Bladder Cancer Predicts Response to Neoadjuvant Chemotherapy / A. Font [et al.] // *Cancers*. – 2020. – Vol. 12. – № 7. – P. 1784.
144. Impact of arsenic exposure on clinicopathological characteristics of bladder cancer: A comparative study between patients from an arsenic-exposed region and nonexposed reference sites / M. I. Fernández [et al.] // *Urologic oncology*. – 2020. – Vol. 38. – № 2. – P. 40.e1-40.e7.
145. Impact of lymph node dissection in radical cystectomy for bladder cancer: How many vs how far? / S. Y. Choi [et al.] // *Surgical oncology*. – 2019. – Vol. 30. – P. 109-116.
146. Impact of Molecular Subtypes in Muscle-invasive Bladder Cancer on Predicting Response and Survival after Neoadjuvant Chemotherapy / R. Seiler [et al.] // *European urology*. – 2017. – Vol. 72. – № 4. – P. 544-554.
147. Impact of Molecular Subtyping and Immune Infiltration on Pathological Response and Outcome Following Neoadjuvant Pembrolizumab in Muscle-invasive Bladder Cancer / A. Necchi [et al.] // *European urology*. – 2020. – Vol. 77. – № 6. – P. 701-710.
148. Inclusion of frail elderly patients in clinical trials: solutions to the problems / L. Hempenius [et al.] // *Journal of geriatric oncology*. – 2013. – Vol. 4. – № 1. – P. 26-31.
149. Increased lung and bladder cancer incidence in adults after in utero and early-life arsenic exposure / C. Steinmaus [et al.] // *Cancer epidemiology, biomarkers &*

prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology. – 2014. – Vol. 23. – № 8. – P. 1529-1538.

150. Isharwal, S. Non-muscle invasive bladder cancer risk stratification / S. Isharwal, B. Konety // Indian journal of urology : IJU : journal of the Urological Society of India. – 2015. – Vol. 31. – № 4. – P. 289-296.

151. Kalantari, M. R. P53 overexpression in bladder urothelial neoplasms: new aspect of World Health Organization/International Society of Urological Pathology classification / M. R. Kalantari, H. Ahmadnia // Urology journal. – 2007. – Vol. 4. – № 4. – P. 230-233.

152. Kaneko, S. X chromosome protects against bladder cancer in females via a KDM6A-dependent epigenetic mechanism / S. Kaneko, X. Li // Science advances. – 2018. – Vol. 4. – № 6. – P. eaar5598.

153. Kaufman, D. S. Bladder cancer / D. S. Kaufman, W. U. Shipley, A. S. Feldman // Lancet (London, England). – 2009. – Vol. 374. – № 9685. – P. 239-249.

154. Ki-67 is an independent indicator in non-muscle invasive bladder cancer (NMIBC); combination of EORTC risk scores and Ki-67 expression could improve the risk stratification of NMIBC / W. Ding [et al.] // Urologic oncology. – 2014. – Vol. 32. – № 1. – P. 42.e13-42e4.2E19.

155. Ki-67 prognostic and therapeutic decision driven marker for pancreatic neuroendocrine neoplasms (PNENs): A systematic review / R. Pezzilli [et al.] // Advances in medical sciences. – 2016. – Vol. 61. – № 1. – P. 147-153.

156. Kim, T. J. Current Status and Future Perspectives of Immunotherapy for Locally Advanced or Metastatic Urothelial Carcinoma: A Comprehensive Review / T. J. Kim, K. S. Cho, K. C. Koo // Cancers. – 2020. – Vol. 12. – № 1. – P. 192.

157. Knowles, M. A. Molecular biology of bladder cancer: new insights into pathogenesis and clinical diversity / M. A. Knowles, C. D. Hurst // Nature reviews. Cancer. – 2015. – Vol. 15. – № 1. – P. 25-41.

158. Kuncová, J. Expression of CD44s and CD44v6 in transitional cell carcinomas of the urinary bladder: comparison with tumour grade, proliferative activity and p53

- immunoreactivity of tumour cells / J. Kuncová, M. Urban, V. Mandys // *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. – 2007. – Vol. 115. – № 11. – P. 1194-1205.
159. Lauwers, G. Y. Immunohistochemical evidence of aberrant bcl-2 protein expression in gastric epithelial dysplasia / G. Y. Lauwers, G. V Scott, J. Hendricks // *Cancer*. – 1994. – Vol. 73. – № 12. – P. 2900-2904.
160. LeBrun, D. P. Expression of bcl-2 in fetal tissues suggests a role in morphogenesis / D. P. LeBrun, R. A. Warnke, M. L. Cleary // *The American journal of pathology*. – 1993. – Vol. 142. – № 3. – P. 743-753.
161. Lewis, S. A. Incorporation of cytoplasmic vesicles into apical membrane of mammalian urinary bladder epithelium / S. A. Lewis, J. L. de Moura // *Nature*. – 1982. – Vol. 297. – № 5868. – P. 685-688.
162. Light, J. K. Le bag: total replacement of the bladder using an ileocolonic pouch / J. K. Light, U. H. Engelmann // *The Journal of urology*. – 1986. – Vol. 136. – № 1. – P. 27-31.
163. Lipponen, P. K. Expression of the apoptosis suppressing bcl-2 protein in transitional cell bladder tumours / P. K. Lipponen, S. Aaltomaa, M. Eskelinen // *Histopathology*. – 1996. – Vol. 28. – № 2. – P. 135-140.
164. Long-Term Impact of Arsenic in Drinking Water on Bladder Cancer Health Care and Mortality Rates 20 Years After End of Exposure / M. I. Fernández, J. F. López, B. Vivaldi, F. Coz // *The Journal of Urology*. – 2012. – Vol. 187. – № 3. – P. 856-861.
165. Loss expression of uroplakin III is associated with clinicopathologic features of aggressive bladder cancer / K. Matsumoto [et al.] // *Urology*. – 2008. – Vol. 72. – № 2. – P. 444-449.
166. Loss of GATA3 in bladder cancer promotes cell migration and invasion / Y. Li [et al.] // *Cancer biology & therapy*. – 2014. – Vol. 15. – № 4. – P. 428-435.
167. Loss of heterozygosity and microsatellite instability at chromosomal sites 1Q and 10Q in morphologically distinct regions of late stage prostate lesions / J. M. Latini [et al.] // *The Journal of urology*. – 2001. – Vol. 166. – № 5. – P. 1931-1936.
168. Low-Grade, Multiple, Ta Non-muscle-Invasive Bladder Tumors: Tumor

Recurrence and Worsening Progression / R. B. Nerli [et al.] // *Indian journal of surgical oncology*. – 2018. – Vol. 9. – № 2. – P. 157-161.

169. McGrath, M. Hormonal and reproductive factors and the risk of bladder cancer in women / M. McGrath, D. S. Michaud, I. De Vivo // *American journal of epidemiology*. – 2006. – Vol. 163. – № 3. – P. 236-244.

170. Meta-Analysis of the Luminal and Basal Subtypes of Bladder Cancer and the Identification of Signature Immunohistochemical Markers for Clinical Use / V. Dadhania [et al.] // *EBioMedicine*. – 2016. – Vol. 12. – P. 105-117.

171. Metastatic pattern of bladder cancer: correlation with the characteristics of the primary tumor / A. B. Shinagare [et al.] // *AJR. American journal of roentgenology*. – 2011. – Vol. 196. – № 1. – P. 117-122.

172. Mitra, A. P. p53 and retinoblastoma pathways in bladder cancer / A. P. Mitra, M. Birkhahn, R. J. Cote // *World journal of urology*. – 2007. – Vol. 25. – № 6. – P. 563-571.

173. Mitra, A. P. Molecular pathogenesis and diagnostics of bladder cancer / A. P. Mitra, R. J. Cote // *Annual review of pathology*. – 2009. – Vol. 4. – P. 251-285.

174. Molecular classification of urothelial carcinoma: global mRNA classification versus tumour-cell phenotype classification / G. Sjö Dahl, P. Eriksson, F. Liedberg, M. Höglund // *The Journal of pathology*. – 2017. – Vol. 242. – № 1. – P. 113-125.

175. Molecular correlates of cisplatin-based chemotherapy response in muscle invasive bladder cancer by integrated multi-omics analysis / A. Taber [et al.] // *Nature communications*. – 2020. – Vol. 11. – № 1. – P. 4858.

176. Molecular genetics of bladder cancer: Emerging mechanisms of tumor initiation and progression / D. J. McConkey [et al.] // *Urologic oncology*. – 2010. – Vol. 28. – № 4. – P. 429-440.

177. Molecular grade (FGFR3/MIB-1) and EORTC risk scores are predictive in primary non-muscle-invasive bladder cancer / B. W. G. van Rhijn [et al.] // *European urology*. – 2010. – Vol. 58. – № 3. – P. 433-441.

178. Molecular pathology of the luminal class of urothelial tumors / C. Bernardo [et al.] // *The Journal of pathology*. – 2019. – Vol. 249. – № 3. – P. 308-318.

179. Molecular profiling in muscle-invasive bladder cancer: more than the sum of its

- parts / G. Sjö Dahl [et al.] // *The Journal of pathology*. – 2019. – Vol. 247. – № 5. – P. 563-573.
180. Molecular Subtyping of Clinically Localized Urothelial Carcinoma Reveals Lower Rates of Pathological Upstaging at Radical Cystectomy Among Luminal Tumors / Y. Lotan [et al.] // *European urology*. – 2019. – Vol. 76. – № 2. – P. 200-206.
181. Morath, I. CD44: More than a mere stem cell marker / I. Morath, T. N. Hartmann, V. Orian-Rousseau // *The international journal of biochemistry & cell biology*. – 2016. – Vol. 81. – № Pt A. – P. 166-173.
182. Morphological classification and definition of benign, preneoplastic and non-invasive neoplastic lesions of the urinary bladder / R. Montironi [et al.] // *Histopathology*. – 2008. – Vol. 53. – № 6. – P. 621-633.
183. mRNA-Expression of KRT5 and KRT20 Defines Distinct Prognostic Subgroups of Muscle-Invasive Urothelial Bladder Cancer Correlating with Histological Variants / M. Eckstein [et al.] // *International journal of molecular sciences*. – 2018. – Vol. 19. – № 11. – P. 3396.
184. Multiple Myeloma, Version 3.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology / S. K. Kumar [et al.] // *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN*. – 2017. – Vol. 15. – № 2. – P. 230-269.
185. Natural history of urothelial dysplasia of the bladder / L. Cheng, J. C. Cheville, R. M. Neumann, D. G. Bostwick // *The American journal of surgical pathology*. – 1999. – Vol. 23. – № 4. – P. 443-447.
186. NCCN Guidelines Insights: Bladder Cancer, Version 5.2018 / T. W. Flaig [et al.] // *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN*. – 2018. – Vol. 16. – № 9. – P. 1041-1053.
187. Netto, G. J. Immunohistology of the Prostate, Bladder, Kidney, and Testis in / G. J. Netto, J. I. Epstein // *Diagnostic Immunohistochemistry* / D. J. Dabbs. – Philadelphia : Saunders, 2010. – P. 593-661.
188. Non-invasive urothelial tumours / G. Sauter [et al.] // *World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs* / – Lyon, France: IARC Press, 2004. – P. 37.

189. Occurrence of chromosome 9 and p53 alterations in multifocal dysplasia and carcinoma in situ of human urinary bladder / A. Hartmann [et al.] // *Cancer research*. – 2002. – Vol. 62. – № 3. – P. 809-818.
190. Overexpression of c-erbB-2 oncoprotein in muscle-invasive bladder carcinoma: relationship with gene amplification, clinicopathological parameters and prognostic outcome / S. Krüger [et al.] // *International journal of oncology*. – 2002. – Vol. 21. – № 5. – P. 981-987.
191. Oxford, G. The role of Ras superfamily proteins in bladder cancer progression / G. Oxford, D. Theodorescu // *The Journal of urology*. – 2003. – Vol. 170. – № 5. – P. 1987-1993.
192. p53 nuclear protein accumulation correlates with mutations in the p53 gene, tumor grade, and stage in bladder cancer / D. Esrig [et al.] // *The American journal of pathology*. – 1993. – Vol. 143. – № 5. – P. 1389-1397.
193. Persistent uroplakin expression in advanced urothelial carcinomas: implications in urothelial tumor progression and clinical outcome / H. Y. Huang [et al.] // *Human pathology*. – 2007. – Vol. 38. – № 11. – P. 1703-1713.
194. Point mutation and homozygous deletion of PTEN/MMAC1 in primary bladder cancers / P. Cairns [et al.] // *Oncogene*. – 1998. – Vol. 16. – № 24. – P. 3215-3218.
195. Population based survival data on urachal tumors / J. H. Pinthus [et al.] // *The Journal of urology*. – 2006. – Vol. 175. – № 6. – P. 2042-2047.
196. Predicting nonmuscle invasive bladder cancer recurrence and progression in patients treated with bacillus Calmette-Guerin: the CUETO scoring model / J. Fernandez-Gomez [et al.] // *The Journal of urology*. – 2009. – Vol. 182. – № 5. – P. 2195-2203.
197. Predicting outcomes in non-muscle invasive (Ta/T1) bladder cancer: the role of molecular grade based on luminal/basal phenotype / J. Rebola [et al.] // *Virchows Archiv*. – 2019. – Vol. 475. – № 4. – P. 445-455.
198. 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 / R. J. Sylvester [et al.] // *European urology*. – 2006. – Vol. 49. – № 3. – P. 466-467.

199. Predictive value of maspin and Ki-67 expression in transurethral resection specimens in patients with T1 bladder cancer / D. Acikalin [et al.] // *Tumori*. – 2012. – Vol. 98. – № 3. – P. 344-350.
200. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation / J. Gerdes, U. Schwab, H. Lemke, H. Stein // *International journal of cancer*. – 1983. – Vol. 31. – № 1. – P. 13-20.
201. Profiling the Biological Characteristics and Transitions through Upper Tract Tumor Origin, Bladder Recurrence, and Muscle-Invasive Bladder Progression in Upper Tract Urothelial Carcinoma / K. Shigeta [et al.] // *International journal of molecular sciences*. – 2022. – Vol. 23. – № 9. – P. 5154.
202. Prognostic and clinicopathologic value of ki-67 and profilin 1 immunohistochemical expression in primary pT1 urothelial bladder cancer / M. Culpan [et al.] // *Journal of cancer research and therapeutics*. – 2021. – Vol. 17. – № 2. – P. 434-442.
203. Prognostic factors in transitional cell cancer of the bladder: an emerging role for Bcl-2 and p53 / F. Ong [et al.] // *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*. – 2001. – Vol. 61. – № 2. – P. 169-175.
204. Prognostic factors of «high-grade» Ta bladder cancers according to the WHO 2004 classification: are these equivalent to «high-risk» non-muscle-invasive bladder cancer? / P. Gontero [et al.] // *Urologia internationalis*. – 2014. – Vol. 92. – № 2. – P. 136-142.
205. Prognostic Impact of a 12-gene Progression Score in Non-muscle-invasive Bladder Cancer: A Prospective Multicentre Validation Study / L. Dyrskjøt [et al.] // *European urology*. – 2017. – Vol. 72. – № 3. – P. 461-469.
206. Prognostic relevance of tumour-cell growth fraction in malignant non-Hodgkin's lymphomas / J. Gerdes [et al.] // *Lancet (London, England)*. – 1987. – Vol. 2. – № 8556. – P. 448-449.
207. Prognostic role of HER2 expression in bladder cancer: a systematic review and meta-analysis / J. Zhao [et al.] // *International urology and nephrology*. – 2015. – Vol. 47. – № 1. – P. 87-94.

208. Prognostic significance of Her2/neu overexpression in patients with muscle invasive urinary bladder cancer treated with radical cystectomy / S. B. Kolla [et al.] // *International urology and nephrology*. – 2008. – Vol. 40. – № 2. – P. 321-327.
209. Prognostic value of HER2 status in bladder transitional cell carcinoma revealed by both IHC and BDISH techniques / T. Nedjadi [et al.] // *BMC cancer*. – 2016. – Vol. 16. – P. 653.
210. Prognostic value of Ki67 and p63 expressions in bladder cancer patients who underwent radical cystectomy / L. Wang [et al.] // *International urology and nephrology*. – 2016. – Vol. 48. – № 4. – P. 495-501.
211. Progressive loss of CD44 gene expression in invasive bladder cancer / T. Sugino [et al.] // *The American journal of pathology*. – 1996. – Vol. 149. – № 3. – P. 873-882.
212. Promoting effects and mechanisms of action of androgen in bladder carcinogenesis in male rats / S. Imada [et al.] // *European urology*. – 1997. – Vol. 31. – № 3. – P. 360-364.
213. Promotion of bladder cancer development and progression by androgen receptor signals / H. Miyamoto [et al.] // *Journal of the National Cancer Institute*. – 2007. – Vol. 99. – № 7. – P. 558-568.
214. Prospective study of FGFR3 mutations as a prognostic factor in nonmuscle invasive urothelial bladder carcinomas / S. Hernández [et al.] // *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. – 2006. – Vol. 24. – № 22. – P. 3664-3671.
215. Pyo, J. S. Ki-67 labeling index can be used as a prognostic marker in gastrointestinal stromal tumor: a systematic review and meta-analysis / J. S. Pyo, G. Kang, J. H. Sohn // *The International journal of biological markers*. – 2016. – Vol. 31. – № 2. – P. e204-e210.
216. Reciprocal expression of bcl-2 and p53 oncoproteins in urothelial dysplasia and carcinoma of the urinary bladder / B. Li [et al.] // *Urological research*. – 1998. – Vol. 26. – № 4. – P. 235-241.
217. Recurrence and progression of disease in non-muscle-invasive bladder cancer: from epidemiology to treatment strategy / B. W. G. van Rhijn [et al.] // *European urology*.

– 2009. – Vol. 56. – № 3. – P. 430-442.

218. Reduced expression of GATA3 predicts progression in non-muscle invasive urothelial carcinoma of the urinary bladder / N. A. Kamel, E. Abdelzaher, O. Elgebaly, S. A. Ibrahim // *Journal of histotechnology*. – 2020. – Vol. 43. – № 1. – P. 21-28.

219. Reduced urothelial expression of uroplakin-IIIa in cystitis areas in bladders of postmenopausal women with recurrent urinary tract infections: pilot study / A. Kuprasertkul [et al.] // *World journal of urology*. – 2022. – Vol. 40. – № 7. – P. 1723-1730.

220. Risk factor assessment in high-risk, bacillus Calmette-Guérin-treated, non-muscle-invasive bladder cancer / S. Holz [et al.] // *Research and reports in urology*. – 2017. – Vol. 9. – P. 195-202.

221. Risk of Bladder Cancer Among Diabetic Patients Treated With Pioglitazone / J. D. Lewis [et al.] // *Diabetes Care*. – 2011. – Vol. 34. – № 4. – P. 916-922.

222. Risk of urothelial bladder cancer in Lynch syndrome is increased, in particular among MSH2 mutation carriers / R. S. van der Post [et al.] // *Journal of medical genetics*. – 2010. – Vol. 47. – № 7. – P. 464-470.

223. Risk Stratification Tools and Prognostic Models in Non-muscle-invasive Bladder Cancer: A Critical Assessment from the European Association of Urology Non-muscle-invasive Bladder Cancer Guidelines Panel / V. Soukup [et al.] // *European urology focus*. – 2020. – Vol. 6. – № 3. – P. 479-489.

224. Sanfrancesco, J. Diagnostically challenging cases: what are atypia and dysplasia? / J. Sanfrancesco, J. S. Jones, D. E. Hansel // *The Urologic clinics of North America*. – 2013. – Vol. 40. – № 2. – P. 281-293.

225. Sequence variant on 8q24 confers susceptibility to urinary bladder cancer / L. A. Kiemeny [et al.] // *Nature genetics*. – 2008. – Vol. 40. – № 11. – P. 1307-1312.

226. Sheffield, B. S. Immunohistochemistry as a Practical Tool in Molecular Pathology / B. S. Sheffield // *Archives of pathology & laboratory medicine*. – 2016. – Vol. 140. – № 8. – P. 766-769.

227. Siegel, R. L. Cancer statistics, 2019 / R. L. Siegel, K. D. Miller, A. Jemal // *CA: a cancer journal for clinicians*. – 2019. – Vol. 69. – № 1. – P. 7-34.

228. Significance of a minor high-grade component in a low-grade noninvasive papillary urothelial carcinoma of bladder / L. O. Reis [et al.] // *Human pathology*. – 2016. – Vol. 47. – № 1. – P. 20-25.
229. Sjödahl, G. Molecular Subtype Profiling of Urothelial Carcinoma Using a Subtype-Specific Immunohistochemistry Panel / G. Sjödahl // *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.). – 2018. – Vol. 1655. – P. 53-64.
230. Soft tissue tumors of the urinary bladder Part II: malignant neoplasms / S. Lott [et al.] // *Human pathology*. – 2007. – Vol. 38. – № 7. – P. 963-977.
231. Somatic mutation of PTEN in bladder carcinoma / J. S. Aveyard, A. Skilleter, T. Habuchi, M. A. Knowles // *British Journal of Cancer*. – 1999. – Vol. 80. – № 5. – P. 904-908.
232. Squamous cell carcinoma of the urinary bladder: Systematic review of clinical characteristics and therapeutic approaches / J. W. Martin [et al.] // *Arab journal of urology*. – 2016. – Vol. 14. – № 3. – P. 183-191.
233. Stage progression in Ta papillary urothelial tumors: relationship to grade, immunohistochemical expression of tumor markers, mitotic frequency and DNA ploidy / S. Holmäng [et al.] // *The Journal of urology*. – 2001. – Vol. 165. – № 4. – P. 1124-1130.
234. Staging and reporting of urothelial carcinoma of the urinary bladder / L. Cheng, R. Montironi, D. D. Davidson, A. Lopez-Beltran // *Modern Pathology*. – 2009. – Vol. 22. – № 2. – P. S70-S95.
235. Stratification of urinary bladder carcinoma based on immunohistochemical expression of CK5, CK14 and CK20 / D. R. Al-Sharaky [et al.] // *Journal of immunoassay & immunochemistry*. – 2021. – Vol. 42. – № 3. – P. 236-251.
236. Study of mutated p53 protein by immunohistochemistry in urothelial neoplasm of urinary bladder / A. Roychowdhury [et al.] // *Journal of the Indian Medical Association*. – 2012. – Vol. 110. – № 6. – P. 393-396.
237. Targeted Next-Generation Sequencing of Flat Urothelial Lesions Reveals Putative Pathobiological Pathways, Potential Biomarkers, and Rational Therapeutic Targets / F. Y. Musangile [et al.] // *Modern pathology : an official journal of the United States and*

Canadian Academy of Pathology, Inc. – 2023. – Vol. 36. – № 5. – P. 100120.

238. TGF β attenuates tumour response to PD-L1 blockade by contributing to exclusion of T cells / S. Mariathasan [et al.] // *Nature*. – 2018. – Vol. 554. – № 7693. – P. 544-548.

239. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours / H. Moch [et al.] // *European urology*. – 2016. – Vol. 70. – № 1. – P. 93-105.

240. The 2022 World Health Organization Classification of Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs-Part B: Prostate and Urinary Tract Tumors / G. J. Netto [et al.] // *European urology*. – 2022. – Vol. 82. – № 5. – P. 469-482.

241. The application of immunohistochemical biomarkers in urologic surgical pathology / M. L. Wilkerson, F. Lin, H. Liu, L. Cheng // *Archives of pathology & laboratory medicine*. – 2014. – Vol. 138. – № 12. – P. 1643-1665.

242. The assessment of Ki-67 as a prognostic marker in neuroendocrine tumours: a systematic review and meta-analysis / S. Richards-Taylor [et al.] // *Journal of clinical pathology*. – 2016. – Vol. 69. – № 7. – P. 612-618.

243. The characteristics of bladder cancer after radiotherapy for prostate cancer / M. R. Abern, A. M. Dude, M. Tsivian, C. L. Coogan // *Urologic oncology*. – 2013. – Vol. 31. – № 8. – P. 1628-1634.

244. The clinicopathological and prognostic value of CD44 expression in bladder cancer: a study based on meta-analysis and TCGA data / Y. Hu [et al.] // *Bioengineered*. – 2020. – Vol. 11. – № 1. – P. 572-581.

245. The control of tissue architecture over nuclear organization is crucial for epithelial cell fate / G. Chandramouly, P. C. Abad, D. W. Knowles, S. A. Lelièvre // *Journal of cell science*. – 2007. – Vol. 120. – № 9. – P. 1596-1606.

246. The FGFR3 mutation is related to favorable pT1 bladder cancer / B. W. G. van Rhijn [et al.] // *The Journal of urology*. – 2012. – Vol. 187. – № 1. – P. 310-314.

247. The impact of the extent of lymphadenectomy on oncologic outcomes in patients undergoing radical cystectomy for bladder cancer: a systematic review / H. M. Bruins [et al.] // *European urology*. – 2014. – Vol. 66. – № 6. – P. 1065-1077.

248. The importance of the depth of invasion in stage T1 bladder carcinoma: a

- prospective cohort study / S. Holmäng [et al.] // *The Journal of urology*. – 1997. – Vol. 157. – № 3. – P. 800-804.
249. The invasion depth measurement of bladder cancer using T2-weighted magnetic resonance imaging / Y. Liu [et al.] // *BioMedical Engineering OnLine*. – 2020. – Vol. 19. – № 1. – P. 92.
250. The long-term outcome in patients with superficial transitional cell carcinoma of the bladder: a single-institutional experience / S. Haukaas, L. Daehlin, H. Maartmann-Moe, N. M. Ulvik // *BJU international*. – 1999. – Vol. 83. – № 9. – P. 957-963.
251. The prevalence of bcl-2, p53, and Ki-67 immunoreactivity in transitional cell bladder carcinomas and their clinicopathologic correlates / L. Nakopoulou [et al.] // *Human pathology*. – 1998. – Vol. 29. – № 2. – P. 146-154.
252. The prognostic significance of p53, p63 and her2 expression in non-muscle-invasive bladder cancer in relation to treatment with bacille Calmette-Guerin / R. Hegazy [et al.] // *Arab journal of urology*. – 2015. – Vol. 13. – № 3. – P. 225-230.
253. The prognostic value of CD44 expression in gastric cancer: a meta-analysis / Y. Chen [et al.] // *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*. – 2014. – Vol. 68. – № 6. – P. 693-697.
254. The role of adjuvant chemotherapy following cystectomy for invasive bladder cancer: a prospective comparative trial / D. G. Skinner [et al.] // *The Journal of urology*. – 1991. – Vol. 145. – № 3. – P. 457-459.
255. The Role of Tobacco Smoke in Bladder and Kidney Carcinogenesis: A Comparison of Exposures and Meta-analysis of Incidence and Mortality Risks / M. G. Cumberbatch, M. Rota, J. W. F. Catto, C. La Vecchia // *European urology*. – 2016. – Vol. 70. – № 3. – P. 458-466.
256. The utility of p63, p40, and GATA-binding protein 3 immunohistochemistry in diagnosing micropapillary urothelial carcinoma / X. Lin [et al.] // *Human pathology*. – 2014. – Vol. 45. – № 9. – P. 1824-1829.
257. Toll, A. D. Invasive low-grade papillary urothelial carcinoma: a clinicopathologic analysis of 41 cases / A. D. Toll, J. I. Epstein // *The American journal of surgical pathology*. – 2012. – Vol. 36. – № 7. – P. 1081-1086.

258. Total and specific fluid consumption as determinants of bladder cancer risk / C. M. Villanueva [et al.] // *International journal of cancer*. – 2006. – Vol. 118. – № 8. – P. 2040-2047.
259. Total fluid and water consumption and the joint effect of exposure to disinfection by-products on risk of bladder cancer / D. S. Michaud [et al.] // *Environmental health perspectives*. – 2007. – Vol. 115. – № 11. – P. 1569-1572.
260. Transitional cell bladder carcinoma in patients younger than 40 years of age / F. J. Madrid García [et al.] // *Archivos espanoles de urologia*. – 1998. – Vol. 51. – № 10. – P. 991-994.
261. Transitional cell carcinoma of the bladder in patients under 40 years of age / I. Ozbey [et al.] // *International urology and nephrology*. – 1999. – Vol. 31. – № 5. – P. 655-659.
262. Trihalomethanes in Drinking Water and Bladder Cancer Burden in the European Union / I. Evlampidou [et al.] // *Environmental health perspectives*. – 2020. – Vol. 128. – № 1. – P. 17001.
263. Update for the practicing pathologist: The International Consultation On Urologic Disease-European association of urology consultation on bladder cancer / M. B. Amin [et al.] // *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* – 2015. – Vol. 28. – № 5. – P. 612-630.
264. Upregulation of fibroblast growth factor receptor 3 and epidermal growth factor receptors, in association with Raf-1, in urothelial dysplasia and carcinoma in situ after the Chernobyl accident / A. M. Romanenko [et al.] // *Cancer science*. – 2006. – Vol. 97. – № 11. – P. 1168-1174.
265. Urachal tumour: case report of a poorly understood carcinoma / S. Scabini [et al.] // *World journal of surgical oncology*. – 2009. – Vol. 7. – P. 82.
266. Urinary tract infections and risk of squamous cell carcinoma bladder cancer: A Danish nationwide case-control study / A. Pottegård [et al.] // *International journal of cancer*. – 2020. – Vol. 146. – № 7. – P. 1930-1936.
267. Uroplakin gene expression by normal and neoplastic human urothelium / E. D. Lobban [et al.] // *The American journal of pathology*. – 1998. – Vol. 153. – № 6. – P.

1957-1967.

268. Uroplakin gene expression in normal human tissues and locally advanced bladder cancer / J. Olsburgh [et al.] // *The Journal of pathology*. – 2003. – Vol. 199. – № 1. – P. 41-49.

269. Uroplakin II as a single marker for luminal versus basal molecular subtypes in muscle invasive urothelial carcinoma / C. Pryma [et al.] // *Virchows Archiv: an international journal of pathology*. – 2022. – Vol. 481. – № 3. – P. 397-403.

270. Uroplakins, specific membrane proteins of urothelial umbrella cells, as histological markers of metastatic transitional cell carcinomas / R. Moll, X. R. Wu, J. H. Lin, T. T. Sun // *The American journal of pathology*. – 1995. – Vol. 147. – № 5. – P. 1383-1397.

271. Urothelial Carcinoma of the Urinary Bladder in Young Adults: Presentation, Clinical behavior and Outcome / M. Nomikos [et al.] // *Advances in urology*. – 2011. – Vol. 2011. – P. 480738.

272. Urothelial dysplasia and other flat lesions of the urinary bladder: clinicopathologic and molecular features / K. B. Hodges [et al.] // *Human pathology*. – 2010. – Vol. 41. – № 2. – P. 155-162.

273. Utility of EORTC and CUETO Scoring Models in the Estimation of Recurrence and Progression of Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer / C. Alaoui [et al.] // *Eurasian Journal of Medicine and Oncology*. – 2022. – Vol. 6. – № 2. – P. 121-129.

274. Validation of EORTC, CUETO, and EAU risk stratification in prediction of recurrence, progression, and death of patients with initially non-muscle-invasive bladder cancer (NMIBC): A cohort analysis / M. Jobczyk, K. Stawiski, W. Fendler, W. Różański // *Cancer medicine*. – 2020. – Vol. 9. – № 11. – P. 4014-4025.

275. Value of multicolour fluorescence in situ hybridisation (UroVysion) in the differential diagnosis of flat urothelial lesions / S. Schwarz [et al.] // *Journal of clinical pathology*. – 2008. – Vol. 61. – № 3. – P. 272-277.

276. Variable Bcl-2 phenotype in benign and malignant lesions of urothelium / V. N. Bilim [et al.] // *Cancer letters*. – 1998. – Vol. 128. – № 1. – P. 87-92.

277. Verheij, M. Radiation-induced apoptosis / M. Verheij, H. Bartelink // *Cell and*

tissue research. – 2000. – Vol. 301. – № 1. – P. 133-142.

278. Wang, C. C. Biological significance of GATA3, cytokeratin 20, cytokeratin 5/6 and p53 expression in muscle-invasive bladder cancer / C. C. Wang, Y. C. Tsai, Y. M. Jeng // *PloS one*. – 2019. – Vol. 14. – № 8. – P. e0221785.

279. WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs / H. Moch [et al.] – Lyon : International Agency for Research on Cancer, 2016. – 400 p.

280. Wu, X. R. Urothelial tumorigenesis: a tale of divergent pathways / X. R. Wu // *Nature reviews. Cancer*. – 2005. – Vol. 5. – № 9. – P. 713-725.

281. Xu, X. Differential immunocytochemical staining patterns of uroplakin observed on neoplastic and nonneoplastic tissue fragments obtained from upper urinary tract brush specimens / X. Xu, E. M. Genega, J. F. Nasuti // *Acta cytologica*. – 2002. – Vol. 46. – № 4. – P. 684-689.

282. Young age increases the risk of lymph-node metastasis in patients with muscle-invasive bladder urothelial carcinoma / Z. Tian [et al.] // *BMC cancer*. – 2020. – Vol. 20. – № 1. – P. 851.

283. Zaghloul, M. S. Bladder cancer and schistosomiasis / M. S. Zaghloul // *Journal of the Egyptian National Cancer Institute*. – 2012. – Vol. 24. – № 4. – P. 151-159.

284. Zöller, M. CD44: can a cancer-initiating cell profit from an abundantly expressed molecule? / M. Zöller // *Nature reviews. Cancer*. – 2011. – Vol. 11. – № 4. – P. 254-267.