

«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

ГУСНИЕВ

Магомед Абдурагимович

Клинико-морфологические особенности мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря: влияние на лечение, прогноз и рецидив заболевания

3.3.2 – Патологическая анатомия

3.1.13 – Урология и андрология

Диссертация

на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

Член-корреспондент РАН, профессор

Михалева Людмила Михайловна

д.м.н. Пшихачев Ахмедхан Мухамедович

Москва, 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

	ВВЕДЕНИЕ	3
1	Глава 1. Клинико-морфологические особенности мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря: влияние на лечение, прогноз и рецидив заболевания. Обзор литературы.	17
1.1	Механизмы развития рака мочевого пузыря	17
1.2	Патоморфологические особенности течения рака мочевого пузыря	17
1.3	Современные критерии прогноза рака мочевого пузыря	21
1.4	Заключение	28
2	Глава 2. Материалы и методы исследования	30
2.1	Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование	30
2.2	Патоморфологический и иммуногистохимический методы	31
2.3	Оценка экспрессии иммуногистохимических маркеров	32
2.4	Статистическая обработка данных	33
3	Глава 3. Результаты собственного исследования	37
3.1	Общая характеристика исследуемой группы	37
3.2	Анализ клинических и морфологических данных	39
3.3	Анализ вероятности наступления рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря в зависимости от клинических и морфологических параметров	52
3.4	Патоморфологическое и иммуногистохимическое исследование мышечно-неинвазивных опухолей мочевого пузыря	65
4	Глава 4. Обсуждение результатов исследования	88
5	Заключение	107
6	ВЫВОДЫ	110
	Практические рекомендации	112
	Список сокращений	114
	Список литературы	117

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В структуре онкологической заболеваемости рак мочевого пузыря (РМП) по разным данным занимает 9-11 место в мире [1–7]: от 4 до 9 места у мужчин и от 9 до 17 места у женщин [8–11]. При этом, РМП является доминирующим злокачественным новообразованием мочевыводящих путей [12–14].

Частота заболеваемости РМП в мире составляет 10,1 на 100 000 для мужчин и 2,5 на 100 000 для женщин [15]. Распространенность РМП в России в период с 2008 по 2018 гг. выросла с 51,6 до 77,1 на 100 000 населения [16], а с 2011 по 2021 гг. с 58,4 до 80,0 на 100 000 населения [17]. В 2017 г. в РФ диагностировано около 17,2 тыс. первичных случаев РМП [18]. В 2021 г. в РФ диагностировано около 14,9 тыс. первичных случаев РМП [17].

В развитых странах заболеваемость РМП выше, что связывают, в первую очередь, с высокими диагностическими возможностями. Эпидемиологические исследования показали, что в развитых странах около 70-75% случаев РМП являются мышечно-неинвазивным [8,19,20], а в странах Африки, в частности, в Нигерии и Эфиопии, этот показатель достигал 85% [21].

Как известно, мышечно-неинвазивный РМП (МНРМП) определяется как поверхностная неоплазия, ограниченная слизистой оболочкой (включая рак *in situ* (Tis), стадию T_a, которая представляет собой неинвазивный папиллярный рак и стадию T₁, при которой опухоль ограничена подэпителиальной соединительной тканью) по классификации TNM [22]. Стадия T_a составляет большую часть МНРМП (60%), тогда как T₁ и Tis составляют 30% и 10% соответственно [20]. Это заболевание отягощено прогрессией в 10–30% случаев и рецидивом в 60–80% случаев, в зависимости от стадии опухоли [23,24].

Для облегчения ведения пациентов было разработано несколько систем классификации рисков рецидива и прогрессии МНРМП [25–29], включающие клинические и морфологические характеристики опухолевого поражения. Однако, по данным научных исследований [30–36], в случае персонализированного подхода к лечению ни одна модель (например, системы оценки риска EORTC и CUETO), не

может предсказать точное время рецидива или прогрессии МНРМП, и, что более важно, данные классификации рисков имеют существенную вероятность ошибки в определении рецидива заболевания. Прогностическое значение моделей оценки риска в отношении рецидива МНРМП у пациентов также зависит от выбранного метода лечения и универсальной модели, на данный момент, не существует. Поэтому особенную актуальность представляет определение универсальных факторов риска рецидива МНРМП для создания модели, имеющей лучшую прогностическую точность и имеющей более персонализированный подход к расчету риска неблагоприятного течения заболевания у пациентов.

Одним из важных факторов риска рецидива МНРМП является степень дифференцировки опухоли [28,37–40]. Патоморфологическая диагностика степени дифференцировки опухоли представляет значительные трудности ввиду субъективности оценки поражений врачами-патологоанатомами и отсутствия консенсуса между экспертами в трактовании морфологических особенностей опухоли [41–45].

Учитывая вышеописанные разногласия в оценке степени дифференцировки опухоли, предполагается, что применение иммуногистохимического (ИГХ) исследования позволит комплексно представить иммунофенотип МНРМП для определения прогноза заболевания и вероятности рецидива опухолевого поражения.

Молекулярно-генетическое типирование РМП является многообещающим подходом для стратификации риска неблагоприятного течения заболевания, однако, подобный метод требует больших финансовых затрат для системы здравоохранения. В настоящее время, ИГХ-исследование, как опосредованный стандартизированный метод, активно исследуется для внедрения молекулярных подтипов в качестве прогностического инструмента в повседневную практику, ввиду легкодоступности, относительной дешевизны и простоты в интерпретации. Однако, для достоверного молекулярного субтипирования опухолей и дальнейшей стратификации РМП по степеням риска требуется валидация научных данных и панелей ИГХ-антител [46].

Комплексный подход в изучении МНРМП позволит выявить объективные факторы риска рецидива опухоли, влияющие на дальнейший прогноз заболевания у пациентов, что, несомненно, имеет важное значение как для фундаментальной, так и для практической медицины.

Степень разработанности темы исследования

Клинические и патоморфологические параметры мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря значимо влияют на риск прогрессии и рецидива заболевания, однако, по данным литературы и многочисленных классификаций риска существует неоднозначность в выборе критериев, являющихся прогностическими в отношении неблагоприятного течения заболевания, особенно при применении различных методов лечения.

Другой важной проблемой является патоморфологическая диагностика степени дифференцировки опухоли. В ряде исследований отмечается, что воспроизводимость гистологических классификаций Всемирной Организации Здравоохранения не является оптимальной ввиду неоднозначности морфологических критериев степени дифференцировки опухоли, что, в свою очередь, влияет на уровень согласия между экспертами-патологоанатомами в интерпретации опухолевых поражений. Применение иммуногистохимического исследования, в дополнение к рутинному гистологическому методу, показало эффективность при диагностике степени клеточной анаплазии мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря, но, в настоящее время, не существует разработанной иммуногистохимической панели антител, которая позволяет точно определить степень дифференцировки опухоли. Существует небольшое количество работ, посвященных определению иммунофенотипа мышечно-неинвазивной опухоли для определения степени клеточной анаплазии. Именно уточнение иммунофенотипа мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря позволяет более точно определить последующий прогноз онкологического заболевания у пациентов.

Молекулярное типирование опухоли является перспективным методом оценки риска агрессивного течения рака мочевого пузыря, однако, на данный момент существуют значительные трудности внедрения результатов молекулярно-генетического тестирования в клиническую практику: тестирование является сложным и малодоступным методом, занимает большое количество времени и требует больших финансовых затрат. Иммуногистохимическое исследование, напротив, является широкораспространенным методом, который опосредованно используется для определения молекулярного подтипа опухоли и, который дает многообещающие результаты в различных клинических условиях. Однако, на настоящий момент данные иммуногистохимических исследований малочисленны и требуют последующей валидации.

Цель исследования

Определить влияние клинико-морфологических и иммуногистохимических особенностей мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря на рецидив опухоли и прогноз заболевания.

Задачи исследования

1. Провести оценку и сопоставление клинико-морфологических параметров мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря.
2. Проанализировать заболеваемость мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря у пациентов разных полов и возраста.
3. Оценить влияние размера мышечно-неинвазивной злокачественной опухоли мочевого пузыря на течение заболевания.
4. Выявить значимость солитарной и мультифокальной мышечно-неинвазивной злокачественной опухоли мочевого пузыря на течение и прогноз заболевания.

5. Установить влияние степени дифференцировки (патоморфологического типа) мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря на рецидив и исход заболевания.
6. Определить влияние глубины инвазии (патологоанатомической стадии T) опухоли на течение заболевания.
7. Представить иммунофенотип мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря и создать оптимальную панель иммуногистохимических антител для оценки степени злокачественности опухоли.
8. Продемонстрировать иммуногистохимические особенности молекулярных подтипов мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря и оптимизировать панель иммуногистохимических антител для диагностики молекулярного подтипа опухоли.
9. Разработать алгоритм ведения пациентов с мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря в зависимости от клинικο-морфологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических особенностей опухоли.

Научная новизна

На основании проведенного клинικο-морфологического исследования проанализирована заболеваемость мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря у пациентов разных полов и возраста. Проведена комплексная клинικο-морфологическая оценка влияния размера опухоли, локализации опухолей, количества (солитарное/мультифокальное поражение) опухолей, глубины инвазии опухоли (T1a/T1b) на вероятность развития рецидива рака мочевого пузыря.

Дана морфологическая и иммуногистохимическая характеристика мышечно-неинвазивных опухолей различной степени дифференцировки (G1, G2, G3), а также показана связь степени дифференцировки опухолей с экспрессией маркеров CK20, Ki-67, p53 и CD44.

Разработана панель иммуногистохимических маркеров, оптимизирующая диагностику степени дифференцировки (G1, G2, G3) мышечно-неинвазивных опухолей.

Дана иммуногистохимическая характеристика молекулярных подтипов мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря, с определенем люминального подтипа опухоли при помощи маркеров CK20 и Uroplakin III, а также базального подтипа - с маркерами CK5/6, CD44, p53.

Разработан алгоритм ведения пациентов с мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря в зависимости от клиничко-морфологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических особенностей опухоли.

Теоретическая и практическая значимость

- Результаты проведенного комплексного клиничко-морфологического, морфометрического и иммуногистохимического исследования способствуют расширению представлений о мышечно-неинвазивном раке мочевого пузыря, определению критериев прогноза неблагоприятного течения болезни и уточнению риска рецидива заболевания.
- Установлена диагностическая значимость пола, возраста, размера опухоли, количества поражений, степени дифференцировки образования, глубины инвазии опухоли в определении вероятности рецидива при мышечно-неинвазивном раке мочевого пузыря.
- Разработана панель иммуногистохимических маркеров (CK20, Ki-67, p53, CD44), которая повышает точность диагностики степени дифференцировки мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря, что позволяет объективно оценить риск рецидива заболевания.
- Оптимизирована панель иммуногистохимических маркеров для определения молекулярных подтипов рака мочевого пузыря: CK20 и Uroplakin III

– для люминального подтипа; CK5/6, CD44 и p53 – для базального. Полученная панель позволяет достоверно оценить злокачественный потенциал опухоли.

- Разработан алгоритм ведения пациентов с мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря на основании клинико-морфологической картины заболевания, иммунофенотипа и молекулярно-генетического подтипа опухоли.

Положения, выносимые на защиту

1. Прогноз мышечно-неинвазивного рака зависит от пола, возраста и размера опухоли. Вероятность рецидива мышечно-неинвазивного рака нарастает с увеличением размера опухоли: шанс рецидива при опухолях размером 1-1,5 см в 15,71 раз выше ($p = 0,01$), при опухолях 1,6-2 см – в 7,87 раз выше ($p = 0,047$), а при поражениях размером более 2 см - в 20,63 раз выше ($p = 0,0005$), чем при опухолях $<0,5$ см.

2. Неблагоприятное течение болезни (рецидив) тесно ассоциировано со снижением степени дифференцировки опухоли. Вероятность рецидива мышечно-неинвазивного рака умеренной (G2) степени дифференцировки в 2,79 раз ($p = 0,0463$) выше, а для низкодифференцированного (G3) рака в 4,78 раз ($p = 0,0101$) выше, по сравнению с высокодифференцированными (G1) опухолями. При этом, размер поражения тесно коррелирует со степенью дифференцировки опухоли: более крупный размер образования характерен для опухолей умеренной и низкой степени дифференцировки ($p = 0,002$ и $p = 0,0017$, соответственно).

3. Наибольшее значение для оценки злокачественного потенциала опухоли имеет определение молекулярного подтипа мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря: опухоли с благоприятным течением, соответствующие люминальному подтипу, экспрессируют маркеры CK20 и Uroplakin III ($p < 0,001$), напротив, агрессивные злокачественные новообразования соответствуют базальному подтипу и экспрессируют маркеры CK5/6, CD44 и p53 ($p < 0,001$). Для оптимизации диагностики степени дифференцировки опухоли при мышечно-

неинвазивном раке мочевого пузыря целесообразно применение иммуногистохимического исследования с маркерами Ki-67 и p53, которые градуально нарастают в ряду высокодифференцированных (G1) – умереннодифференцированных (G2) – низкодифференцированных (G3) карцином, а также с маркерами CK20 и CD44, которые градуально снижаются для этого же ряда опухолей.

Методология и методы исследования

В ретроспективное нерандомизированное исследование было включено 100 пациентов с верифицированным уротелиальным мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря, проходивших лечение в ГБУЗ ГKB №31 ДЗМ в период с 2015 по 2020 год, из них - 69 мужчин и 31 женщин в возрасте от 32 до 94 лет. Средний возраст пациентов составил $69,7 \pm 10,7$ лет. Каждому пациенту выполнялась трансуретральная резекция мочевого пузыря (ТУР) с патоморфологической диагностикой послеоперационного материала и с последующими внутрипузырными инстилляциями митомицином С (6 курсов). После проведения внутрипузырной химиотерапии пациентам выполнялись контрольные цистоскопии, частота и сроки которых определялись в зависимости от степени риска и выявленных при контрольной цистоскопии изменений. Пациентам с низким онкологическим риском первая цистоскопия выполнялась через 3 месяца. При отсутствии рецидива следующая цистоскопия выполнялась через 9 месяцев, а затем ежегодно в течение 4 лет. Пациентам с высоким онкологическим риском цистоскопии выполнялись каждые 3 месяца в течение 2 лет, затем – каждые 6 месяцев в течение 3 лет, затем ежегодно. Частота выполнения цистоскопии у пациентов промежуточного онкологического риска определялась индивидуально.

Для проведения клинико-морфологического сравнительного анализа были сформированы следующие группы (рис.1):

1. Пациенты с наличием рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря ($n = 54$).

2. Пациенты с отсутствием рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря ($n = 46$).

Для проведения взаимосвязи между полом пациентов и вероятностью рецидивирующего течения опухоли были сформированы следующие группы:

1. Пациенты мужского пола ($n = 69$).
2. Пациенты женского пола ($n = 31$).

Для выявления взаимосвязи между размером опухоли и вероятностью рецидивирующего течения мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря были сформированы следующие группы:

1. Пациенты с размером опухоли $<0,5$ см (1 категория, $n = 17$).
2. Пациенты с размером опухоли от 0,6 до 1 см (2 категория, $n = 20$).
3. Пациенты с размером опухоли от 1,1 до 1,5 см (3 категория, $n = 14$).
4. Пациенты с размером опухоли от 1,6 до 2 см (4 категория, $n = 11$).
5. Пациенты с размером опухоли более 2 см (5 категория, $n = 38$).

Для выявления взаимосвязи между локализацией опухоли и риском рецидивного течения мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря были сформированы следующие группы:

1. Пациенты с локализацией мышечно-неинвазивной опухоли в левой боковой стенке мочевого пузыря ($n = 33$).
2. Пациенты с локализацией мышечно-неинвазивной опухоли в правой боковой стенке мочевого пузыря ($n = 26$).
3. Пациенты с локализацией мышечно-неинвазивной опухоли в устье левого мочеточника (с вовлечением устья мочеточника, $n = 13$).
4. Пациенты с локализацией мышечно-неинвазивной опухоли в устье правого мочеточника ($n = 10$).
5. Пациенты с мышечно-неинвазивными опухолями других уточненных локализаций (область дна с переходом на заднюю стенку, верхушка, передняя стенка, шейка; $n = 18$).

Для выявления взаимосвязи между количеством опухолей и рецидивом мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря были сформированы следующие группы:

1. Пациенты с солитарной опухолью (n = 86).
2. Пациенты с мультифокальной опухолью (n = 14).

Для выявления взаимосвязи между степенью дифференцировки опухоли и рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря, а также для уточнения степени дифференцировки опухоли (в соответствии с классификацией ВОЗ от 1973г) с помощью иммуногистохимического исследования были сформированы следующие группы:

1. Пациенты с высокодифференцированным (G1) мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря (n = 30).
2. Пациенты с умереннодифференцированным (G2) мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря (n = 46).
3. Пациенты с низкодифференцированным (G3) мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря (n = 24).

Для выявления взаимосвязи между глубиной инвазии (патологоанатомической стадии T) опухоли и риском рецидивного течения мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря были сформированы следующие группы:

1. Пациенты с опухолями субстадии T1a (n = 31).
2. Пациенты с опухолями субстадии T1b (n = 56).

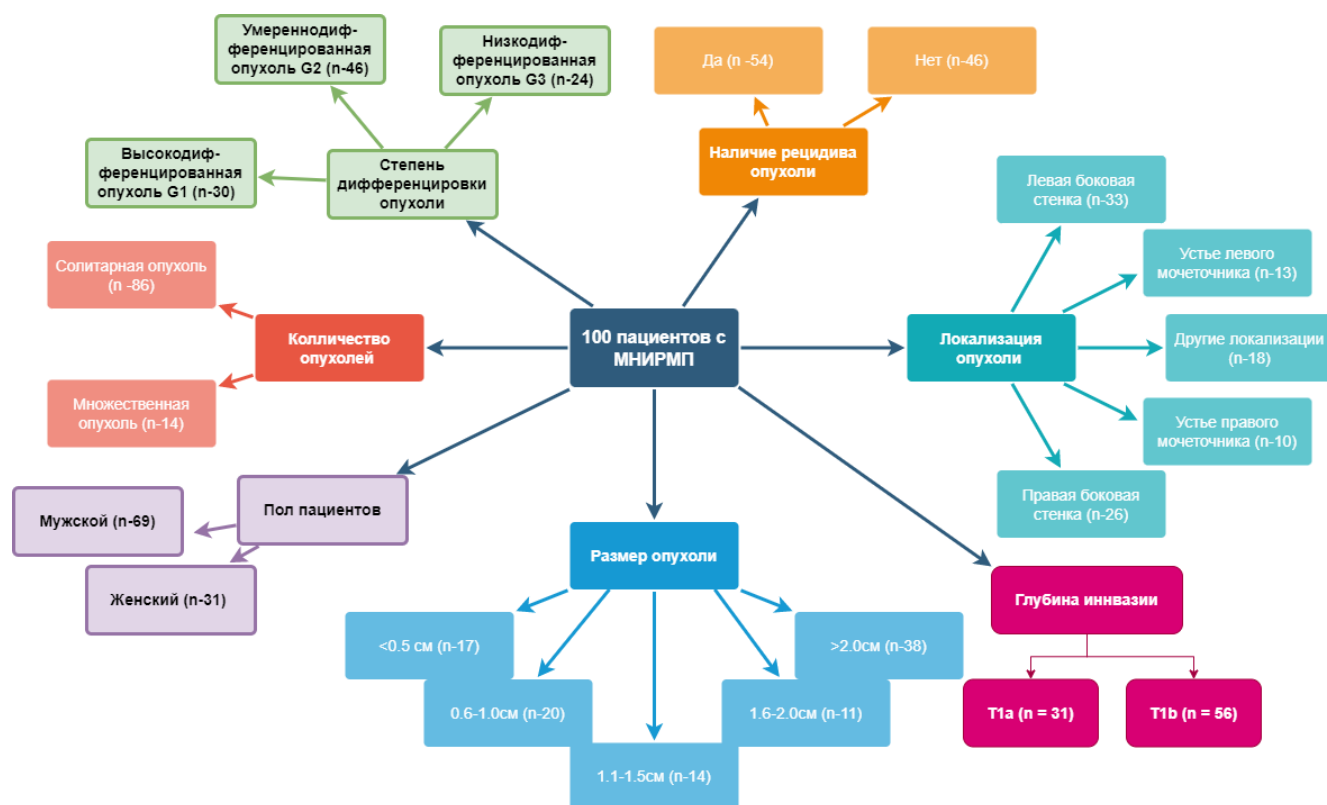


Рисунок 1. Дизайн исследования

Методы исследования

1. Клинико-эндоскопический метод:

– Оценка пола и возраста пациентов, клинической картины и данных цистоскопии мочевого пузыря (локализация опухоли, размер опухоли, количество опухолей).

2. Гистологический метод:

– Окраска срезов биопсийного материала опухоли мочевого пузыря с окраской гематоксилином и эозином для определения степени дифференцировки опухоли, глубины инвазии поражения.

3. Иммуногистохимический метод:

– Оценка экспрессии маркеров CK20, Ki-67, p53, CD44 для уточнения степени дифференцировки опухоли.

– Оценка экспрессии маркеров CK20, p53, CD44, Uroplakin III, GATA3 и CK 5/6 для определения молекулярного подтипа опухоли.

4. Морфометрический метод:

– количественная оценка полученных иммуногистохимических реакций с использованием методики HistoScore (HScore).

5. Статистический метод:

– Статистическая обработка данных производилась с учётом типа переменных и характера распределения непараметрическими методами. Для сравнения частот категориальных переменных (таблиц сопряженности) в группах использовался точный тест Фишера. Для сравнения непрерывных величин с нормальным распределением применялся t-тест Стьюдента (t-test Уэлча при неодинаковой дисперсии). Для сравнения величин с распределением отличным от нормального использовался U-критерий Манна – Уитни. Для моделирования вероятности наступления исследуемого события (рецидива рака мочевого пузыря) без временной структуры применялась модель множественной логистической регрессии, качество выбранного набора параметров и самой модели оценивалось при помощи ROC-анализа. Для анализа событий с временной структурой использовались методы анализа выживаемости/дожития (Survival analysis). Для оценки доли объектов наблюдения (пациентов), у которых событие (рецидив) не произошло (функция выживания, выживаемость), для любого момента времени в течение всего периода наблюдения использовалась оценка Каплан-Мейера. Для прогнозирования рисков наступления события и оценки влияния заранее определенных независимых факторов на этот риск использовалась регрессия Кокса для модели пропорциональных рисков. Описательная статистика для количественных данных представлялась с использованием следующих параметров: арифметическое среднее (Mean, M), стандартное отклонение (SD), медиана (Me), 1-й и 3-й квартили (Q1, Q3), минимальное значение (Min), максимальное значение (Max). Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Внедрение результатов в практику

Результаты исследования внедрены в работу патологоанатомического отделения Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 31 Департамента здравоохранения города Москвы». Разработанная панель иммуногистохимических маркеров применяется для диагностики степени дифференцировки мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря. Для диагностики степени дифференцировки мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря при неоднозначной морфологической картине используется иммуногистохимическое исследование с антителами CK20, Ki-67, p53, CD44. Для определения молекулярного подтипа опухоли и оценки злокачественного потенциала поражения используется иммуногистохимическое исследование с антителами CK20, p53, CD44, Uroplakin III, CK 5/6.

Степень достоверности работы

Достоверность результатов обеспечивается достаточным количеством наблюдений в исследуемой группе, выбором современных методов исследования, которые соответствуют цели работы и поставленным задачам, применением методов математической статистики, критической оценкой полученных результатов при сравнении их с литературными данными.

Материалы и основные положения диссертации были доложены и обсуждались на следующих конференциях: 33rd European Congress of Pathology (август 2021), Региональная конференция РООУ в Северо-Кавказском федеральном округе (июнь 2022), XVII Международный Конгресс РООУ (сентябрь 2022).

Личный вклад автора

Личный вклад автора заключался в сборе литературных данных, проведении их анализа и обобщения, отборе материала исследования, сборе клинических и анамнестических данных, проведении морфометрического исследования

иммуногистохимических реакций, проведении статистической обработки, обобщении и анализе полученных результатов, подготовке публикаций.

Публикации по теме работы

Результаты исследования изложены в 8 работах, 4 из которых опубликованы в журналах Web of Science (1), Scopus (3), 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 133 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, глав материалы и методы, результатов собственного исследования, обсуждения результатов исследования, заключения, практических рекомендаций, выводов и списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 28 рисунками и 20 таблицами. Список литературы включает 239 источников, из них 7 отечественных и 232 зарубежных.

Диссертация соответствует паспорту специальности:

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

3.1.13 – Урология и андрология в пп. 2, 3, 4.

Глава 1. Клинико-морфологические особенности мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря: влияние на лечение, прогноз и рецидив заболевания. Обзор литературы

1.1 Механизмы развития рака мочевого пузыря

Исторически сложилось, что механизмы развития РМП описаны на основании гистологических и цитогенетических исследований. Показано, что папиллярный МНРМП возникает при делеции участка или всей 9-й хромосомы [47–57] и сопровождается эпителиальной гиперплазией на ранних этапах, тогда как мышечно-инвазивный РМП (МИРМП) развивается из-за дисплазии, связанной с генетической нестабильностью [52,58–60]. Хотя между этими двумя механизмами в действительности может быть связь, однако, считается, что МНРМП и МИРМП развиваются вторично на фоне различных молекулярных изменений [61]. Используя многосторонние исследования профилирования экспрессии РНК, было идентифицировано как минимум 5 подтипов РМП [62–77]. Наиболее частыми являются базальный и люминальный [78–83]. Эти подтипы имеют разные прогнозы, клиническое течение и реакцию на системное лечение: люминальные подтипы при гистологическом исследовании демонстрируют папиллярные признаки, имеют лучший прогноз и хорошо реагируют на химиотерапевтическое лечение, в то время как базальные подтипы, как правило, дебютируют агрессивнее, имеют худший прогноз и резистентны к химиотерапии [61].

1.2 Патоморфологические особенности течения рака мочевого пузыря

До 1998 года классификация плоских образований уротелия с атипией страдала от недостатка общепринятой номенклатуры - многочисленные авторы и исследователи использовали различную терминологию [84], что привело к невозможности сравнивать данные. Классификация 1998 года, предложенная Международным обществом урологической патологии (International Society of Urological Pathology, ISUP), сохранялась в течение 20 лет, и до сих пор остается системой, рекомендованной Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ),

Американской урологической ассоциацией (American Urological Association, AUA), Международной ассоциацией по отчетности о раке (International Collaboration on Cancer Reporting, ICCR) и Американский объединенным комитетом по раку (American Joint Committee on Cancer, AJCC). В исследованиях неоднократно показано разнообразие возможных плоских мышечно-неинвазивных образований мочевого пузыря, вызывающих сложности в диагностике и требующих иммуногистохимических и флуоресцентных исследований [85]. В 2016 году ВОЗ еще раз подтвердила прогностическую важность гистологических исследований при РМП. Помимо папилломы уротелия и папиллярной неоплазии уротелия с низким злокачественным потенциалом, которые были введены в предыдущей классификации, современная классификация также добавила новые категории, такие как: уротелиальная пролиферация с неопределенным злокачественным потенциалом и дисплазия уротелия. Уротелиальная пролиферация с неопределенным злокачественным потенциалом прогрессирует чаще (исключительно в отношении неинвазивных карцином), дисплазия уротелия, в свою очередь, ассоциируется с высоким риском прогрессирования инвазивного рака [84]. В классификацию гистологических типов также была включена категория «инвазивный уротелиальный рак с дивергентной дифференцировкой», которая рассматривается как рак уротелия с наличием других морфологических типов дифференцировки [85]. Эта классификация включает в себя «уротелиальный» и «неуротелиальный» варианты, выделенные на основе патоморфологической оценки.

К неуротелиальным типам относится, прежде всего, плоскоклеточный рак, который часто встречается в странах Ближнего Востока (около 30% всех случаев РМП) из-за распространения шистосоматоза в этих областях [86–89]. Микроскопически характеризуется наличием кератиновых жемчужин, межклеточных мостиков и кератогиалиновых гранул [90]. Макроскопически это обычно монофокальные опухоли большого размера, сходные с лейкоплакией и преимущественно расположенные в треугольнике мочевого пузыря [91].

Железистый тип является вторым наиболее распространенным уротелиальным морфологическим вариантом [92] и включает пять подтипов опухоли (кишечный, муцинозный, перстневидно-клеточный, смешанный и аденокарциному, без других указаний) [93]. Нейроэндокринный вариант [94–99] подразделяется на четыре подгруппы (мелкоклеточные, крупноклеточные, высокодифференцированные и параганглиомы): из них мелкоклеточный является наиболее частым, но встречается редко и составляет только около 1% от всех случаев РМП [100].

Существуют и более редкие виды РМП, часть из них представлена саркоматоидными подтипами, их распространенность составляет 0,3–0,6% [101] среди всех опухолей мочевого пузыря. При макроскопической оценке они представлены образованиями в виде полиповидной формы с геморрагическими или некротизированными участками [102]. Микропапиллярный вариант имеет распространенность около 0,6–2,0% среди всех РМП [103]: микроскопически характеризуется небольшими гнездами и скоплениями опухолевых клеток в лакунах. Плазмацитоидный вариант [104–108] встречается редко, имеет очень агрессивное течение и, в большинстве случаев, проявляется экстравезикальным распространением с отдаленными метастазами [109]. Как и в случае с плазмоцитоидным типом рака, прогноз у карциномы «гнездного» типа крайне неблагоприятный [110]. Морфологически она характеризуется сливающимися маленькими гнездами и абортивными канальцами, состоящих из клеток уротелия и проникающих в собственную пластинку слизистой оболочки [111,112].

Следует отметить ряд диагностических трудностей, возникающих при оценке операционного и биопсийного материала. В первую очередь это касается дифференциальной диагностики следующих состояний.

“Плоская” неинвазивная уротелиальная карцинома (т.е., лишенная папиллярных структур) - уротелиальная карцинома *in situ* [113] – обладает высокой степенью злокачественности и является предшественником инвазивной уротелиальной карциномы [114]. До 25% пациентов, перенесших раннюю

цистэктомии по поводу рака *in situ*, имеют микроинвазивные образования мочевого пузыря. Кроме того, наличие многоочагового рака *in situ* ассоциируется с более высоким риском поражения верхних отделов мочевыводящих путей и уретры. При этом имеются существенные сложности в дифференциальной диагностике между раком *in situ* и реактивной атипией, а также рядом других плоских образований слизистой мочевого пузыря. Публикация Yang Z. и Epstein J. в 2018 году представила редкие формы уротелиального рака *in situ* с железистой дифференцировкой [115].

Также, ввиду сходной морфологии, может быть затруднена дифференциальная диагностика первичной аденокарциномы мочевого пузыря [116–120] и вторичной инвазивной аденокарциномы (особенно колоректальной аденокарциномы), при этом тактика лечения и прогноз могут значительно различаться [121]. Несколько первичных опухолей в различных анатомических местоположениях могут морфологически симулировать метастатические поражения. Их неверное толкование может привести к ненужным дообследованиям, которые нацелены на выявление предполагаемого злокачественного новообразования в другом месте. Что еще более важно, ошибки этого типа могут лишить пациентов возможности проведения эффективных хирургических вмешательств [122].

Дисплазия уротелия – “плоское” атипичное поражение с заметными цитологическими и архитектурными изменениями, которые считаются предраковыми, но не достигают диагностически значимого порога рака уротелия *in situ*. Морфологически состояние проявляется как потеря столбчатой архитектоники и порядка клеток уротелия, характеризуется неравномерностью распределения содержимого ядра и уменьшением его в размерах. В настоящее время недостаточно данных по долгосрочному прогнозу данного поражения: по разным данным вероятность прогрессирования дисплазии уротелия варьируется от

15 до 19% [123]. В ряде исследований до 2010 года дисплазия расценивалась как рак *in situ* [124].

Определение предшественников опухолевых заболеваний мочевого пузыря – это ещё более сложная и тонкая тема для обсуждения и изучения. Тщательное знание морфологии, иммунофенотипических и молекулярных особенностей может значительно облегчить распознавание и дифференциальную диагностику данных состояний [125].

1.3 Современные критерии прогноза рака мочевого пузыря

В настоящее время крайне остро стоит проблема разработки высокочувствительных маркеров и универсальной оценочной системы для прогнозирования исходов МНРМП [40,126–128]. После выполнения трансуретральной резекции (ТУР) первичной опухоли при МНРМП, рецидив возникает в 30–60 % случаев, и в дальнейшем у около 10–15 % пациентов заболевание прогрессирует до мышечно-инвазивной формы в течение 5 лет после верификации диагноза [129]. Помимо высокой частоты рецидивов отмечается риск возможного прогрессирования заболевания в виде снижения степени дифференцировки опухоли, что является неблагоприятным прогностическим признаком. Ряд исследований показали клиническую ценность повторной ТУР, выполненной через 2–6 недель после первичной ТУР, особенно для опухолей высокого риска [130]. Однако, по данным ретроспективного когортного исследования пациентов с диагнозом «мышечно-неинвазивный РМП низкого риска», отобранных с 2005 по 2011 гг. с последующим наблюдением до 2014 года, показано, что частая цистоскопия среди данной группы пациентов была связана с вдвое большим количеством выполненных ТУР, при этом риск прогрессии опухоли не снижался [131].

На данный момент не существует единой классификации факторов прогноза течения опухолевого процесса при РМП, поэтому условно можно разделить их на

несколько групп: морфологический тип опухоли, мультифокальность поражения, степень дифференцировки, характер роста новообразования, распространенность опухолевого процесса, молекулярно-генетические характеристики, особенности проведенного ранее лечения, клинические данные пациента [132].

Известно, что существует ряд оценочных систем для прогнозирования исходов лечения МНРМП. Так, с целью определения тактики лечения и наблюдения за пациентами с РМП, Европейской организацией по исследованию и лечению рака (European Organization for Research and Treatment of Cancer, EORTC) была разработана система оценки рисков рецидивирования и прогрессирования [40]. Данная система оценки основана на клинко-морфологических параметрах опухоли. Однако разделение по морфологическим характеристикам отражает клинический потенциал РМП не полностью.

В работе Simon M. с соавт. (2019) проводилась оценка прогностической ценности EORTC для определения множественных рецидивов по риску прогрессирования для РМП низкого и промежуточного уровня. В исследовании из 470 пациентов у 251 был рецидив, у 34 заболевание прогрессировало до стадии T_a / T₁ и у 17 пациентов - до мышечно-инвазивного заболевания, при том, что у 4 из 17 первично был диагностирован МНРМП. Медиана наблюдения составила 7,2 года (межквартильный интервал: 4,2-10,9). В половине случаев прогрессирования ранее не наблюдалось. Никакой связи между количеством рецидивов и риском прогрессирования не обнаружено. Даже после 5 лет у пациентов без рецидивов заболевания сохранялся 15% риск рецидива по шкале. История двух или более рецидивов увеличила риск последующего рецидива в 4,5 раза. Время между двумя рецидивами меньше шести месяцев и мультифокальной локализацией увеличивало риск рецидива [133].

Целью другого исследования была оценка корреляции между показателем риска EORTC и соотношением нейтрофилов-лимфоцитов у пациентов с МНРМП и взаимосвязью между соотношением нейтрофилов-лимфоцитов и группами риска.

Авторы ретроспективно рассмотрели данные 212 пациентов с МНРМП. Была продемонстрирована сильная корреляция между соотношением нейтрофилов-лимфоцитов и высокой степенью множественной опухоли, опухолью > 3 см и группой высокого риска EORTC у пациентов с МНРМП. Также выявлена положительная корреляция между показателями рецидивов и прогрессирования РМП и данными EORTC и соотношением нейтрофилов-лимфоцитов [134], однако, данные методы также не нашли пока применения в клинической практике. Для МНРМП показатель 5-летний выживаемости составил около 80%, при этом с прорастанием в мышечный слой этот показатель падал до 50% и ниже [135].

Помимо балльной системы EORTC для анализа клинических исходов РМП у пациентов с низким риском рецидива опухоли была предложена стратификация по размеру первоначального новообразования. Так в исследование Lee A. с соавт. (2019) включались пациенты с первичными, единичными опухолями, относящимися к стадии T_a, опухолями размерами до 3 см. Авторы выделили две группы наблюдения в зависимости от размера опухоли ($\leq 1,0$ см против $> 1,0$ см). Данные о выживаемости двух групп сравнивались по рецидивам, прогрессированию и смертности. В общей сложности 165 пациентов находились под наблюдением в течение среднего периода 79 месяцев (межквартильный интервал 47-118 месяцев), при этом 45% (75/165) исследуемой когорты имели опухоли $\leq 1,0$ см. Рецидивы были обнаружены в 40% (66/165) случаев. У пациентов с размером опухоли $< 1,0$ см было значительно больше времени до рецидива ($p < 0,001$). Только размер опухоли $> 1,0$ см был достоверно связан с более коротким временем рецидива ($p = 0,004$). При этом не было никаких существенных различий в вероятности развития прогрессирования заболевания или общей смертности в зависимости от размера опухоли или глубины поражения [136].

Известно, что на прогноз МНРМП влияет патоморфологическая стадия (глубина инвазии) заболевания. Неинвазивные папиллярные поражения со стадией

pTa имеют низкий риск прогрессии до инвазивной формы заболевания; однако их биологическое поведение зависит от степени дифференцировки опухоли [137].

Как уже было сказано ранее, почти 75% неинвазивных папиллярных опухолей относятся к стадии pTa [138]. Остальные 25% поражений имеют стадию pT1 (опухоли с инвазией в подэпителиальную соединительную ткань). Несмотря на общие многие генетические и эпигенетические факторы, присущие МИРМП, он классифицируется как мышечно-неинвазивный [139]. Общий показатель смертности пациентов с pT1 стадией РМП составляет 33%, а канцер-специфическая смертность — 14% (через три года после установления диагноза) [140]. По данным других авторов, примерно от 31 до 78% поражений pT1 рецидивируют, либо на той же стадии, что и исходная опухоль, либо на более поздней стадии [141].

Данные исследований позволяют предположить, что у пациентов со стадией pT1 повышенный риск рецидива и прогрессии РМП, и, следовательно, пациенты этой группы требуют более тщательного наблюдения.

В 1990г. М. Younes et al. [142] высказали предположение о прогностической важности инвазии РМП в мышечную пластинку слизистой оболочки (МПСО). При этом, авторы выделили субстадии стадии pT1: под субстадией pT1a принималась инвазия опухоли в подэпителиальную соединительную ткань (собственную пластинку), которая не достигала МПСО; опухоли с инвазией МПСО классифицировались как pT1b; при субстадии pT1c отмечалась инвазия опухоли за пределы МПСО, но не в собственную мышечную оболочку мочевого пузыря (детрузор, *muscularis propria*) [142]. Исследование показало [142], что 5-летняя выживаемость пациентов с субстадиями pT1a и pT1b составила 75%, а с субстадией pT1c - 11%, что было сопоставимо с выживаемостью пациентов при мышечно-инвазивной форме заболевания. Другими исследователями используется упрощенная субклассификация, включающая pT1a и pT1b субстадии [143], при которой субстадия T1c интегрируется с pT1b. Несмотря на то, что субстадирование

опухолей T1 пока еще не рекомендовано ВОЗ/ISUP и не включено в 8 издание TNM, врачи клинической практики часто запрашивают оценку глубины инвазии собственной пластинки опухолью в патолого-анатомическом заключении, как упоминается у Amin M.B. et al [144]. Резюмируя, использование субстадирования опухолей T1 является перспективным морфологическим методом, который способен прогнозировать прогрессию и рецидив опухоли, а также, который позволит повлиять на выбор клинической тактики у пациентов.

Стоит отметить, что клинические и морфологические данные не являются единственными предикторами РМП: перспективными считаются новые направления, позволяющие избавить пациента от инвазивных процедур, которые, также будут обладать высокой чувствительностью и специфичностью к обнаружению рецидива РМП. В результате обширных лабораторных исследований были разработаны различные методы диагностики РМП, основанные на определении растворимых или клеточно-ассоциированных маркеров в моче. Некоторые из таких маркеров стали применяться в клинической практике, однако на данный момент ни один из них не был признан стандартным диагностическим в урологической практике или внедрен в клинические рекомендации [145].

Так, в исследованиях предлагают диагностировать рецидивы РМП с помощью FISH-метода на клетках осадка мочи. В выборке из 63 больных РМП оценивали информативность неинвазивного UroVysion-теста, проводившегося до цистоскопии на клетках осадка мочи, при диагностике рецидивов заболевания. У 19 пациентов в разные сроки после лечения первичного РМП (1–36 мес) были выявлены рецидивы либо обоими методами (цистоскопия и FISH), либо одним из них. При этом методом цистоскопии выявлено 13 случаев рецидивов РМП, FISH-анализом – 17 и в более ранние сроки. Общая чувствительность FISH-метода составила 84,6 %. На выборке из 20 «FISH-положительных» первичных больных обнаружена прямая корреляция между стадией заболевания, степенью злокачественности опухоли и количеством аномальных клеток в осадке мочи [146].

В настоящее время большое внимание уделяется молекулярно-генетическому исследованию РМП. Многочисленные научные работы показывают, что молекулярные подтипы при МИРМП могут предсказывать клинический исход. Независимо от классификации, подтипы обладают чувствительностью и специфичностью от 50 до 60% для прогнозирования общей и безрецидивной выживаемости [145].

Как было указано ранее, РМП можно разделить на два молекулярных подтипа: люминальный и базальный. Каждый подтип может по-разному реагировать на текущую химиотерапию или иммунотерапию. Технология, необходимая для комплексного молекулярного анализа, является дорогостоящей и еще не применима для обычной клинической диагностики. Поэтому было высказано предположение, что для идентификации молекулярных подтипов РМП может быть использован иммуногистохимический метод. В работе Dadhania V. с соавт. (2016) была выбрана серия из 89 случаев РМП для проведения иммуногистохимического исследования. В качестве люминальных иммуногистохимических маркеров использовались GATA3, CK18, CK20, Uroplakin 2, cyclin D1 и HER2, в качестве базальных - CK5/6, CK14 и p63. Анализ полученных данных определил, что наилучшими иммуногистохимическими маркерами явились CK5/6 (базальный) и GATA3 (люминальный), которые позволили разграничить молекулярные подтипы РМП с 91% точностью. При анализе 5-летней выживаемости данной группы пациентов базальный фенотип опухоли имел более агрессивное течение, в то время как люминальный фенотип прогностически был более благоприятен. Таким образом, авторы предполагают, что РМП следует разделять на биологически и клинически разные подгруппы с помощью иммуногистохимического анализа, что облегчит прогнозирование заболевания и позволит сделать терапию более персонафицированной [147].

Молекулярные маркеры повышают точность групп риска по прогрессированию МНРМП в уже имеющихся классификациях, в этой связи

разные исследователи изучают чувствительность и специфичность различных биомаркеров и дополняют полученными сведениями уже имеющиеся оценочные системы. Так, авторы проспективно включили в наблюдение 1239 пациентов с МНРМП из 6 европейских стран. Образцы свежемороженой опухоли исследовали на метилирование *GATA2*, *TBX2*, *TBX3* и *ZIC4*, а также на состояние мутаций *FGFR3*, *TERT*, *PIK3CA* и *RAS*. Добавление биомаркеров в классификации риска повышает ее точность и позволяет выявить многочисленных пациентов с МНРМП с очень высоким риском прогрессирования [148].

В серии работ показано, что экспрессия переносчика глюкозы GLUT1 была значительно повышена у пациентов с РМП. По мнению авторов, белок GLUT1 может быть вспомогательным средством для прогнозирования и оценки выживаемости у пациентов с опухолями мочевого пузыря с конкретными клиническими и морфологическими характеристиками [149].

В ретроспективной работе японских авторов оценивалась корреляция между рецидивом МНРМП и экспрессией мРНК андрогенового рецептора. Многофакторный анализ показал, что женский пол, размер опухоли >3 см и низкая экспрессия мРНК андрогенового рецептора были независимыми предикторами более короткого периода безрецидивной выживаемости [150].

Кадгерин-11 (CDH11) является кадгерином типа II и, как сообщается, функционирует в качестве онкогена при различных раковых заболеваниях. Кадгерин имеет более высокий уровень экспрессии в тканях МИРМП, чем в МНРМП, что согласуется с данными как на уровне мРНК, так и на уровне белка. Иммуногистохимический анализ показал, что избыточная экспрессия CDH11 тесно связана с морфологическим типом опухоли, категорией T, размером опухоли и плохим прогнозом у пациентов с РМП. CDH11 имел лучшую прогностическую ценность, чем E-кадгерин и сопоставимую ценность с балльной системой Европейской организации по исследованию и лечению рака (European Organization for Research and Treatment of Cancer, EORTC) в оценке потенциального

рецидива и прогрессирования МНРМП. Более того, использование комбинации систем CDH11 и EORTC позволяло с наибольшей точностью предсказать рецидив РМП [151].

Перспективным методом в оценке рецидива МНРМП являются работы по изучению теломеразной обратной транскриптазы (TERT), которая часто реактивируется промоторными мутациями. В настоящее время проводятся исследования, изучающие значение обнаружения мутации TERT в моче в качестве предиктора рецидива РМП, и сравнение полученных результатов с данными цитологии/цистоскопии пациентов. Активация TERT, определяемая после первичного оперативного вмешательства, коррелировала с остаточным раком *in situ*. Выявление TERT в моче оказалось надежным и динамическим предиктором рецидива МНРМП ($P < 0,0001$). В однофакторном анализе положительный статус TERT после первичной операции увеличил риск рецидива в 5,34 раза ($P = 0,0004$). Положительный статус TERT также коррелировал с рецидивом в подгруппе пациентов с отрицательной цистоскопией ($P = 0,034$). Таким образом, дальнейшее изучение мутации TERT в моче может быть эффективно для раннего выявления рецидива именно МНРМП [152].

Целью мета-анализа He Y. с соавт. было изучение прогностической ценности иммуногистохимического маркера Ki-67 у пациентов с МНРМП, получавших внутривезикулярную БЦЖ-терапию. Сверхэкспрессия маркера Ki-67 была фактором риска для показателей выживаемости без прогрессирования, и связь между экспрессией Ki-67 и безрецидивной выживаемостью не была статистически значимой у пациентов с МНРМП, получавших терапию БЦЖ [153].

1.4 Заключение

МНРМП остается важной медицинской и социальной проблемой, а также приводит к значительной финансовой нагрузке на систему здравоохранения по причине высоких затрат на лечение. Частично такая высокая стоимость объясняется необходимостью долгосрочного наблюдения и регулярных

обследований, при этом, основные затраты обусловлены частым прогрессированием заболевания до мышечно-инвазивной формы, требующей дорогостоящей терапии. Несмотря на то, что опухоли с низким риском имеют высокую остаточную вероятность рецидива в течение 5 лет, общая доля затрат на рецидив составила 8%, тогда как на прогрессирование заболевания составил 71%. Регулярная цистоскопия вносит свой вклад в расходы, связанные с МНРМП, однако, мало влияет на адекватную своевременную оценку риска прогрессирования [154]. Неинвазивные методики в этой связи открывают большие перспективы не только за счет высокой специфичности и чувствительности, но и экономической стоимости исследований с учетом предупреждения повторных вмешательств.

Понимание биологического характера и правильная дифференциальная диагностика в случаях неинвазивных поражений мочевого пузыря также имеет важное значение для установления прогнозов результатов для будущих пациентов. Наиболее перспективными считаются методы, связанные с идентификацией новых молекулярных маркеров, играющих важную роль в реализации сигнальных путей в трансформированных опухолевых клетках. Интерес представляют и генетические исследования, позволяющие получить наиболее полную характеристику образования. Без сомнения, при анализе прогноза следует учитывать клинические факторы, сопутствующую патологию и ятрогенные осложнения, возникающие в процессе терапии рецидивов заболевания.

Новые маркеры ранней диагностики рецидивов РМП будет способствовать быстрой и эффективной дифференциальной диагностике в случаях неинвазивных поражений мочевого пузыря, своевременному лечению и минимализации затрат на ведение пациента.

Глава 2. Материалы и методы исследования

В настоящее ретроспективное нерандомизированное исследование было включено 100 пациентов с верифицированным МНРМП. Для выполнения работы были использованы следующие методы: клинический (сбор анамнеза, физикальный осмотр), лабораторный (клинический и биохимический анализы крови, общий анализ мочи), инструментальный (трансуретральная биопсия мочевого пузыря, ультразвуковое исследование, рентгенография легких, остеосцинтиграфия скелета, компьютерная томография/магнитно-резонансная томография), патоморфологический (гистологическое исследование биопсийного материала с окраской гематоксилином и эозином) и иммуногистохимический (ИГХ исследование биопсийного материала с антителами к CK20, Ki-67, p53, CD44, Uroplakin III, GATA3 и CK5/6).

2.1 Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование

В исследование вошли 100 пациентов, из них - 69 мужчин и 31 женщины в возрасте от 32 до 94 лет, средний возраст составил $69,7 \pm 10,7$ лет. Каждому пациенту выполнялась трансуретральная резекция мочевого пузыря (ТУР) с последующими инстилляциями митомицином С (6 курсов) в период с 2015 по 2020 год. После проведения химиотерапии пациенты повторно являлись с целью контроля эффективности проводимого лечения. Частота выполнения контрольных цистоскопий зависела от онкологического риска, полученного в результате первичного клинико-инструментального обследования, цистоскопии и морфологического исследования. По результатам контрольной явки пациенты были разделены на две группы в зависимости от наличия или отсутствия рецидива

заболевания. Внутри каждой группы сравнивали пол, возраст пациентов, наличие клинических проявлений (макрогематурия), были оценены размеры опухолевого поражения (<0,5 см; 0,6-1 см; 1,1-1,5 см; 1,6-2 см; >2 см), локализация новообразований по отношению к стенкам мочевого пузыря, число злокачественных фокусов, глубина инвазии опухоли как при первичном, так и повторном обращении (рис.1). В группе с прогрессирующим течением заболевания учитывался временной промежуток наступления рецидива.

2.2 Патоморфологический и иммуногистохимический методы

Для патоморфологического исследования фрагменты тканей мочевого пузыря фиксировались в 10% нейтральном растворе формалина в течение 72 часов с дальнейшей гистологической проводкой материала в автоматическом гистопроцессоре Leica ASP 300S (Германия). После заливки материала в парафин на станции Leica EG 1160 (Германия), изготавливали гистологические срезы толщиной 3-4 микрометра с помощью микротомы LeicaRM 2125 RTS (Германия) с последующей их окраской гематоксилином и эозином.

Для патоморфологического анализа степени дифференцировки опухоли у пациентов были выделены следующие группы: высоко-, умеренно-, низкодифференцированные (G1; G2; G3 соответственно).

Для патоморфологического анализа глубины инвазии (патологоанатомической стадии T) опухоли были выделены группы T_a – папиллярные неинвазивные поражения, T_{1a} – опухоли с инвазией подэпителиальной соединительной ткани/собственной пластинки до кровня МПСО, T_{1b} – опухоли с инвазией МПСО и выходящей за ее пределы (до мышечного слоя).

ИГХ исследование антител к CK20, Ki-67, p53, CD44, Uroplakin III, GATA3 и CK 5/6 проводилось с помощью иммуностейнеров «Leica Biosystems Bond» (Германия), Ventana и Ventana Confirm» (США; Табл. 1).

Таблица 1. ИГХ маркеры, применявшиеся в исследовании.

№ п/п	Наименование	Клон	Разведение	Фирма производитель
1	CK20	SP33 790-4431	Ready to use	Ventana Confirm
2	Ki-67	30-9	Ready to use	Ventana Confirm
3	p53	D0-7	Ready to use	Leica Biosystems Bond
4	CD44	SP37	Ready to use	Ventana
5	Uroplakin III	SP73	Ready to use	Ventana
6	GATA3	L50-823 760-4897	Ready to use	Ventana
7	CK5/6	D5/16B4	Ready to use	Ventana

2.3 Оценка экспрессии иммуногистохимических маркеров

Оценку ИГХ – реакции к CK20, Ki-67, p53, CD44, Uroplakin III, GATA3, CK5/6 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 CK20, p53, CD44, Uroplakin III, GATA3, CK5/6 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 выражался 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.

2.4 Статистическая обработка данных

При статистической обработке данных использовалась программная среда R версии 3. 6. 1 для Windows.

Описательная статистика для количественных данных представлялась с использованием следующих параметров:

- Арифметическое среднее (Mean, M);
- Стандартное отклонение (SD);
- Медиана (Me);
- 1-й и 3-й квартили (Q1, Q3);
- Минимальное значение (Min);
- Максимальное значение (Max).

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 использовалась медиана и квартили (Me (Q1; Q3)).

Проверка на нормальность распределения непрерывных переменных производилась с помощью критерия Шапиро-Уилка.

Для сравнения частот категориальных переменных (таблиц сопряженности) в группах использовался точный тест Фишера. Для сравнения непрерывных величин с нормальным распределением применялся t-тест Стьюдента (t-test Уэлча при неодинаковой дисперсии). Для сравнения величин с распределением отличным

от нормального использовался U-критерий Манна – Уитни. Результаты считались значимыми при $p < 0,05$.

Для моделирования вероятности наступления исследуемого события (рецидива МНРМП) без временной структуры применялась модель множественной логистической регрессии [155]. В основе такой модели происходит оценивание коэффициентов $b_0, b_1, b_2, \dots, b_m$ линейной формы:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_mX_m$$

в логит-функции:

$$f(Y) = 1/(1-\exp(-Y))$$

которая показывает вероятность наступления данного события при наборе факторов X_1, X_2, \dots, X_m . Для этих коэффициентов определялась их статистическая значимость (вычисление p-значений для проверки гипотез $H_{j0}: b_j = 0, j = 0, 1, 2, \dots, m$), которая показывала значимость влияния соответствующих факторов на вероятность события.

При этом $\exp\{b_j\}$ определяла отношение шансов (Odds ratio) наступления события при изменении параметра $X_j, j = 1, 2, \dots, m$. К отношениям шансов рассчитывались их 95% доверительные интервалы. Отношение шансов для изменения некоторого параметра являлось статистически значимым, если такой доверительный интервал не содержал внутри себя значение равное 1.

Качество выбранного набора параметров и самой модели оценивалось при помощи ROC-анализа.

Для анализа событий с временной структурой использовались методы анализа выживаемости/дожития (Survival analysis) [156].

Для оценки доли объектов наблюдения (пациентов), у которых событие (рецидив) не произошло (функция выживания, выживаемость), для любого момента времени в течение всего периода наблюдения использовалась оценка Каплан-Мейера. Оценка функции выживания вычислялась по формуле:

$$\hat{S}(t) = \prod_{i=0}^T \frac{R_i - d_i}{R_i},$$

где R_i - число объектов, доживающих до момента времени t_i , исключая выбывших;

d_i - число объектов, для которых произошёл исход в момент времени t_i ;

d_i/R_i - вероятность исхода.

Сравнение оценок Каплан-Мейера для различных групп производилась с помощью лог-ранк теста.

Для прогнозирования рисков наступления события и оценки влияния заранее определенных независимых факторов на этот риск использовалась регрессия Кокса для модели пропорциональных рисков. В основе такой модели три базовых предположения:

- Все объясняющие переменные независимы.
- Все объясняющие переменные линейно влияют на риск наступления события.
- Риски наступления события для любых двух объектов в любой отрезок времени пропорциональны.

Исходя из этого, выводится формула, по которой риск наступления события для i -того объекта имеет вид:

$$h_i(t) = h_0(t) * \exp\{ b_1 X_{i1} + b_2 X_{i2} + \dots + b_m X_{im} \},$$

где $h_0(t)$ — базовый риск, одинаковый для всех объектов;

b_1, \dots, b_m — коэффициенты;

X_1, \dots, X_m — независимые переменные, предикторы.

Базовый риск $h_0(t)$ — риск наступления события для объекта из референтной группы (при этом все независимые переменные X_1, \dots, X_m равны нулю).

Коэффициенты b_1, \dots, b_m показывают влияние каждого предиктора на функцию риска: $\exp \{b_j\}$ определяет отношение рисков (hazard ratio) при изменении параметра X_j . К отношениям рисков рассчитываются их 95% доверительные интервалы. Отношение рисков для изменения некоторого параметра является статистически значимым, если такой доверительный интервал не содержит внутри себя значение 1.

Результаты считались значимыми при $p < 0,05$.

Глава 3. Результаты собственного исследования

3.1 Общая характеристика исследуемой группы

В ходе работы были обработаны истории болезни 100 пациентов с МНРМП. В исследовании были включены 69 мужчин (69%) и 31 женщина (31%) в возрасте от 32 до 94 лет. Средний возраст выборки составил $69,7 \pm 10,7$ лет.

Размер МНРМП варьировал от 0,2 см до 11,5 см. Средняя величина новообразований составила $2,27 \pm 1,8$ см. Далее, все МНРМП были разделены на 5 категорий в зависимости от их размера: менее 0,5 см (1 категория); от 0,6 до 1 см (2 категория); от 1,1 до 1,5 см (3 категория); от 1,6 до 2 см (4 категория); более 2 см (5 категория). Частота встречаемости данных категорий составила 17%; 20%; 14%; 11% и 38%, соответственно (Табл. 2).

По локализации МНРМП подразделялись следующим образом: 33% поражений приходилось на левую боковую стенку мочевого пузыря, 26% - на правую боковую стенку, 13% - на устье левого мочеточника, 10% - на устье правого мочеточника. Другие локализации, такие как: область дна мочевого пузыря с переходом на заднюю стенку, верхушка, передняя стенка и шейка были объединены и, в общей сложности, количественно составили 18% (Табл. 2).

Степень дифференцировки (патоморфологический тип) опухолей преимущественно был умеренным (G2) и составил 46% от всей выборки. Новообразования высокой степени дифференцировки (G1) выявлены в 30% случаев, 24% составили низкодифференцированные опухоли (G3) (Табл. 2).

По патологоанатомической стадии T (глубине инвазии) опухоли подразделялись следующим образом: неинвазивные поражения, соответствующие стадии pTa были выявлены в 13% случаев. У 87% пациентов была определена инвазия опухоли в подэпителиальную соединительную ткань/собственную пластинку (стадия pT1), при этом инвазия до уровня МПСО была выявлена в 31%

случаев (стадия pT1a), а инвазия в толщу МПСО (стадия pT1b) была выявлена у 56% пациентов.

У 86% пациентов было одиночное поражение органа опухолью, у 14% – множественное.

Клинически, примесь крови в моче была выявлена у 54% пациентов, у 46% - отсутствовала.

В ходе последующего наблюдения рецидив МНРМП был установлен в 54% наблюдений, у 46% пациентов рецидивного течения заболевания не наблюдалось.

Общая характеристика исследуемой группы отражена в таблице 2.

Таблица 2. Сравнительная клинко-морфологическая характеристика пациентов с МНРМП

Параметр	Значение параметра
Всего пациентов, n	100
Пол, n (%)	
мужской	69 (69%)
женский	31 (31%)
Средний возраст, лет	69,08±10,78034
Средний размер МНРМП, см	2,273±1,816749
Размер МНРМП по категориям, n (%)	
<0,5 см (1 категория)	17 (17%)
0,6-1 см (2 категория)	20 (20%)
1,1-1,5 см (3 категория)	14 (14%)
1,6-2 см (4 категория)	11 (11%)
>2 см (5 категория)	38 (38%)
Локализация МНРМП, n (%)	
левая боковая стенка	33%
правая боковая стенка	26%
устье левого мочеточника	13%
устье правого мочеточника	10%
другие локализации (область дна с переходом на заднюю стенку, верхушка, передняя стенка, шейка))	18%

Гистологический тип, n (%)	
G1	30 (30%)
G2	46 (46%)
G3	24 (24%)
Количество поражений, n (%)	
одиночное	86 (86%)
множественное	14 (14%)
Глубина инвазии (патологоанатомическая стадия T), n (%)	
pTa	13 (13%)
pT1a	31 (31%)
pT1b	56 (56%)
Примесь крови в моче, n (%)	
да	54 (54%)
нет	46 (46%)
Наличие рецидива, n (%)	
да	54 (54%)
нет	46 (46%)

3.2 Анализ клинических и морфологических данных

Распределение пациентов с МНРМП в группах по возрасту и полу.

Возраст мужчин варьировал от 32 до 90 лет, в среднем - $67,36 \pm 11,25$ лет, медиана – 69 лет (61; 75). Возраст женщин – 58-94 лет, в среднем - $72,9 \pm 8,65$ лет, медиана – 72 (68; 79,5).

Сравнение групп с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни показало, что женщины в среднем старше мужчин (уровень значимости 95%, $p=0,03$). Полученные данные отражены в таблице 3. Характер распределения показан на рисунке 2.

Таблица 3. Распределение пациентов с МНРМП в группах по возрасту и полу

	Мужчины	Женщины
n	69	31
Mean	67,36	72,9
SD	11,25	8,65
Median	69	72
Q1	61	68
Q3	75	79,5
Min	32	58
Max	90	94
р-значение при сравнении групп по возрасту	0,02966	

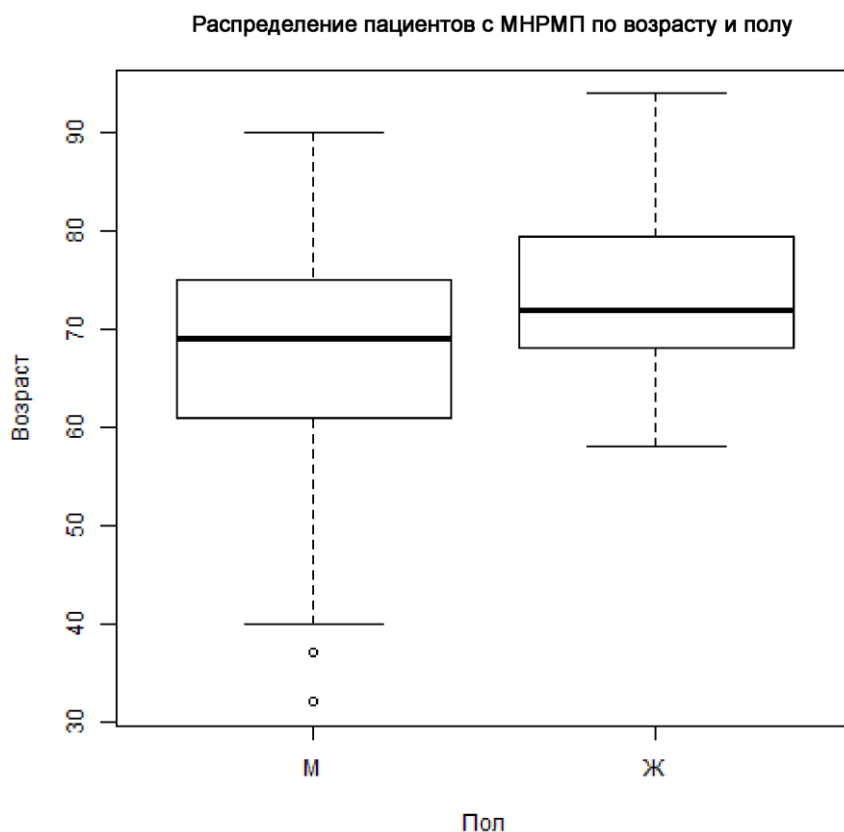


Рисунок 2. Распределение пациентов с МНРМП в группах по возрасту и полу

Распределение пациентов с МНРМП в группах по возрасту и размеру уротелиальной опухоли.

Возраст пациентов с МНРМП 1 категории (менее 0,5 см) варьировал от 40 до 86 лет, средний возраст составил $65,65 \pm 10,55$ лет, медиана – 67 (61; 70). Возраст пациентов с опухолями 2 категории (от 0,6 см до 1 см) составил 55-88 лет, средний возраст - $67,4 \pm 8,73$ лет, медиана – 67,5 (61,25; 73,25). Возраст пациентов с МНРМП 3 категории (от 1,1 см до 1,5 см) варьировал от 37 до 83 лет, средний возраст - $66,5 \pm 12,89$ лет, медиана – 67 (61,5; 76,75). Возраст пациентов с опухолями 4 категории (от 1,6 см до 2 см) составил 53-85 лет, средний возраст - $72,73 \pm 9,69$ лет, медиана – 76 (66,5; 80). Возраст пациентов с МНРМП 5 категории (более 2 см) варьировал от 32 до 94 лет, средний возраст составил $71,39 \pm 11$ лет, медиана – 71 (68; 78).

Полученные данные отражены в таблице 4. Характер распределения продемонстрирован на рисунке 3. Как видно из таблицы 4, средний возраст пациентов с МНРМП размерами $\leq 1,5$ см был меньше 70 лет, а при опухолях $\geq 1,6$ см – старше 70.

Таблица 4. Распределение пациентов с МНРМП в группах по возрасту и размеру уротелиальной опухоли

	Размер МНРМП, см				
	<0,5 см	0,6-1 см	1,1-1,5 см	1,6-2 см	>2 см
n	17	20	14	11	38
Mean	65,65	67,4	66,5	72,73	71,39
SD	10,55	8,73	12,89	9,69	11
Median	67	67,5	67	76	71
Q1	61	61,25	61,5	66,5	68
Q3	70	73,25	76,75	80	78
Min	40	55	37	53	32
Max	86	88	83	85	94

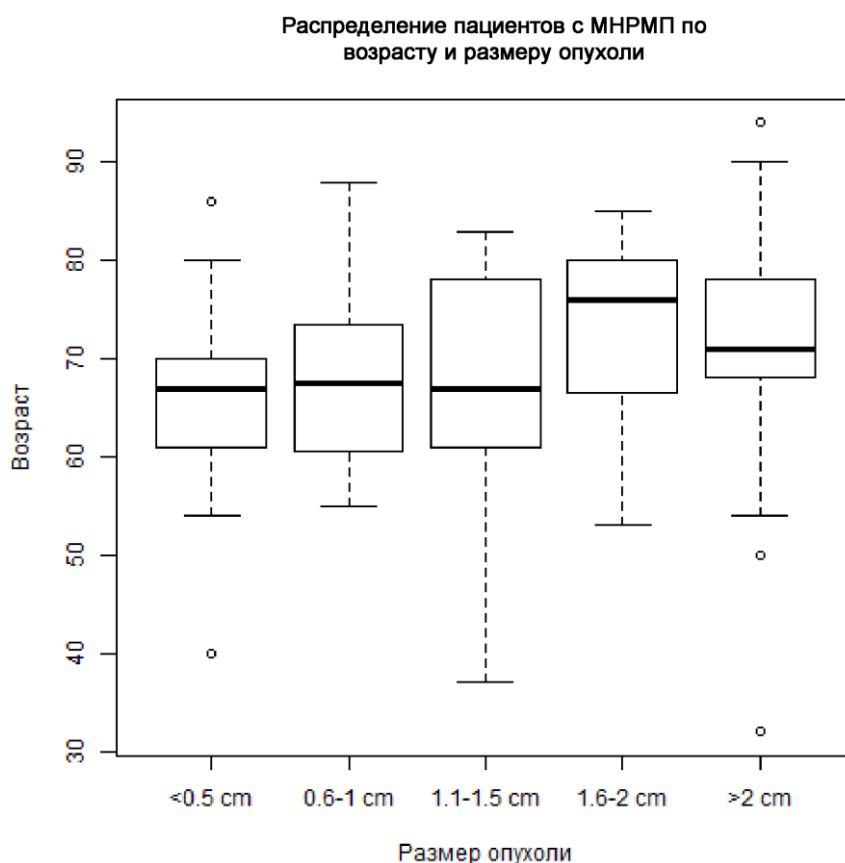


Рисунок 3. Распределение пациентов с МНРМП в группах по возрасту и размеру уротелиальной опухоли

Распределение пациентов с МНРМП в группах по возрасту и локализации уротелиальной опухоли.

Возраст пациентов по локализации МНРМП распределялся следующим образом. У пациентов с локализацией МНРМП в левой боковой стенке возраст варьировал от 40 до 90 лет, средний возраст составил $71,33 \pm 10,8$ лет, медиана – 70 (66; 79). Возраст пациентов с МНРМП в правой боковой стенке составил 32-86 лет, средний возраст - $66,69 \pm 11,63$ лет, медиана – 67 (61; 75,5). При МНРМП в устье левого мочеточника возраст варьировал от 47 до 83 лет, средний возраст составил $68,85 \pm 9,26$ лет, медиана – 69 (68; 73). Возраст пациентов с МНРМП в устье правого мочеточника составил 54-79 лет, средний возраст - $65,8 \pm 7,18$ лет, медиана – 65,5

(61,25; 69,75). У пациентов с МНРМП других локализаций возраст варьировал от 37 до 94 лет, средний возраст составил $70,39 \pm 11,99$ лет, медиана – 71 (65; 78).

Полученные данные отображены в таблице 5. На рисунке 4 указан характер распределения пациентов с МНРМП по возрасту и локализации опухолевого поражения.

Таблица 5. Распределение пациентов с МНРМП по возрасту и локализации уротелиальной опухоли

	Левая боковая стенка	Правая боковая стенка	Устье левого мочеточника	Устье правого мочеточника	Другие локализации
n	33	26	13	10	18
Mean	71,33	66,69	68,85	65,8	70,39
SD	10,8	11,63	9,26	7,18	11,99
Median	70	67	69	65,5	71
Q1	66	61	68	61,25	65
Q3	79	75,5	73	69,75	78
Min	40	32	47	54	37
Max	90	86	83	79	94

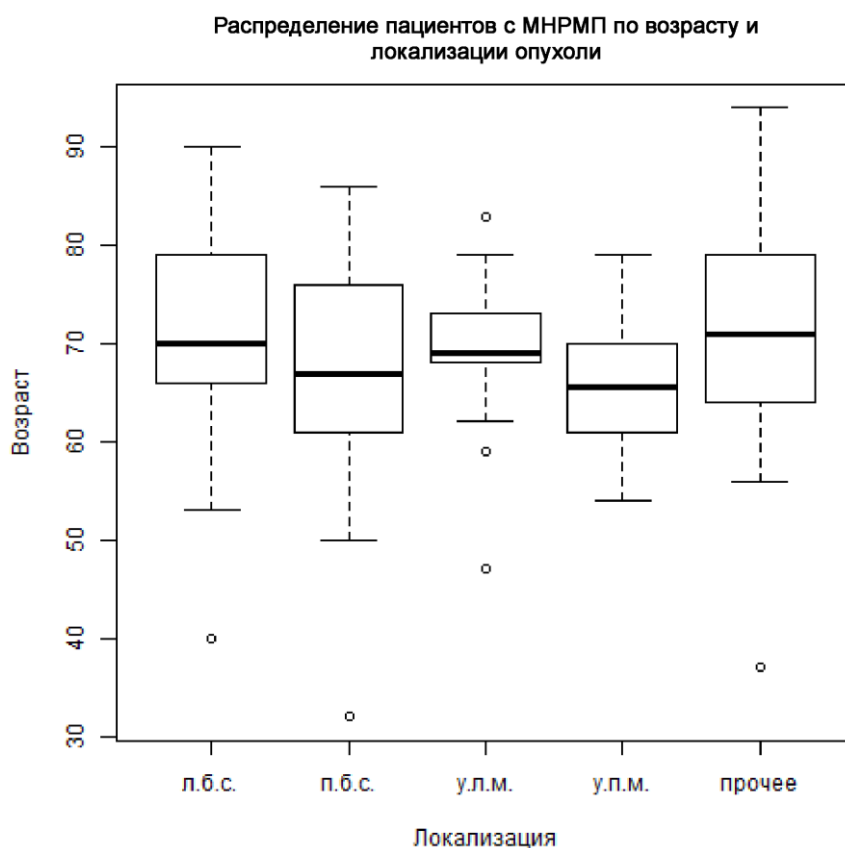


Рисунок 4. Распределение пациентов с МНРМП по возрасту и локализации уротелиальной опухоли

Л.б.с – левая боковая стенка, п.б.с – правая боковая стенка, у.л.м – устье левого мочеточника, у.п.м – устье правого мочеточника, прочее – опухоли других локализаций.

При сравнении средних и медианных размеров МНРМП, а также локализации опухолевого поражения относительно возраста пациентов статистическая значимость не была обнаружена ($p > 0,05$).

Оценка частоты встречаемости МНРМП в зависимости от размера опухоли в группах по полу.

Размер МНРМП у мужчин и женщин распределялся следующим образом: 14 мужчин (20,3%) и 3 женщины (9,7%) с образованиями 1 категории, 13 мужчин (18,8%) и 7 женщин (22,5%) с опухолями 2 категории, 10 мужчин (14,5%) и 4 женщины (12,9%) с образованиями 3 категории, 8 мужчин (11,6%) и 3 женщины

(9,7%) с образованиями 4 категории, а также 24 мужчины (34,8%) и 14 женщин (45,2%) с образованиями 5 категории. Данные отображены в таблице 6.

Таблица 6. Частота встречаемости МНРМП в группах по размеру опухоли и полу

	<0,5 см	0,6-1 см	1,1-1,5 см	1,6-2 см	>2 см	р-значение
Мужчины	14 (20,3%)	13 (18,8%)	10 (14,5%)	8 (11,6%)	24 (34,8%)	0,7043
Женщины	3 (9,7%)	7 (22,5%)	4 (12,9%)	3 (9,7%)	14 (45,2%)	

Оценка частоты встречаемости МНРМП в зависимости от локализации опухоли в группах по полу

Частота встречаемости МНРМП по различным локализациям у мужчин и у женщин: у 18 мужчин (26,1%) и 15 женщин (48,4%) опухоль локализовалась в левой боковой стенке, у 21 мужчины (30,5%) и 5 женщин (16,1%) – в правой боковой стенке, у 11 мужчин (15,9%) и 2 женщин (6,4%) в устье левого мочеточника, у 7 мужчин (10,1%) и 3 женщин (9,7%) в устье правого мочеточника. У 12 мужчин (17,4%) и 6 женщин (19,4%) опухоли приходились на другие локализации. Полученные результаты показаны в таблице 7.

Таблица 7. Частота встречаемости МНРМП в группах по локализации опухоли и полу

	Левая боковая стенка	Правая боковая стенка	Устье левого мочеточника	Устье правого мочеточника	Другие локализации	р-значение

Мужчины	18 (26,1%)	21 (30,5%)	11 (15,9%)	7 (10,1%)	12 (17,4%)	0,1797
Женщины	15 (48,4%)	5 (16,1%)	2 (6,4%)	3 (9,7%)	6 (19,4%)	

Анализ частоты рецидивов МНРМП в группах по полу

Частота рецидивов по полу распределялась следующим образом: рецидив МНРМП был выявлен у 34 мужчин (49,3%) и 20 женщин (64,5%), рецидив отсутствовал у 35 мужчин (50,7%) и 11 женщин (35,5%). Данные отображены в таблице 8.

Таблица 8. Оценка частоты рецидивов МНРМП в группах по полу

	Рецидив	Отсутствие рецидива	р-значение
Мужчины	34 (49,3%)	35 (50,7%)	0,1952
Женщины	20 (64,5%)	11 (35,5%)	

При сравнении частоты встречаемости размеров МНРМП ($p=0,70$), локализации опухолевого поражения ($p = 0,1797$) и наступления рецидива ($p = 0,1952$) для мужчин и женщин с помощью точного теста Фишера не было выявлено значимого различия. Полученные данные отображены в таблицах 7 и 8.

Распределение размера и степени дифференцировки МНРМП.

Для МНРМП со степенью дифференцировки G1 размер поражений варьировал от 0,3 см до 5 см, среднее значение - $1,36 \pm 1,15$ см, медиана – 1 см (0,5; 1,88). Размер опухолей G2 – 0,2-11,5 см, среднее значение – $2,6 \pm 2,1$ см, медиана – 2 см (1;3,5). Размер МНРМП со степенью дифференцировки G3 – 0,8-5 см, среднее

– $2,79 \pm 1,52$ см, медиана – 3 см (0,8; 4). Распределение размера опухоли и степени дифференцировки отражено на рисунке 5.

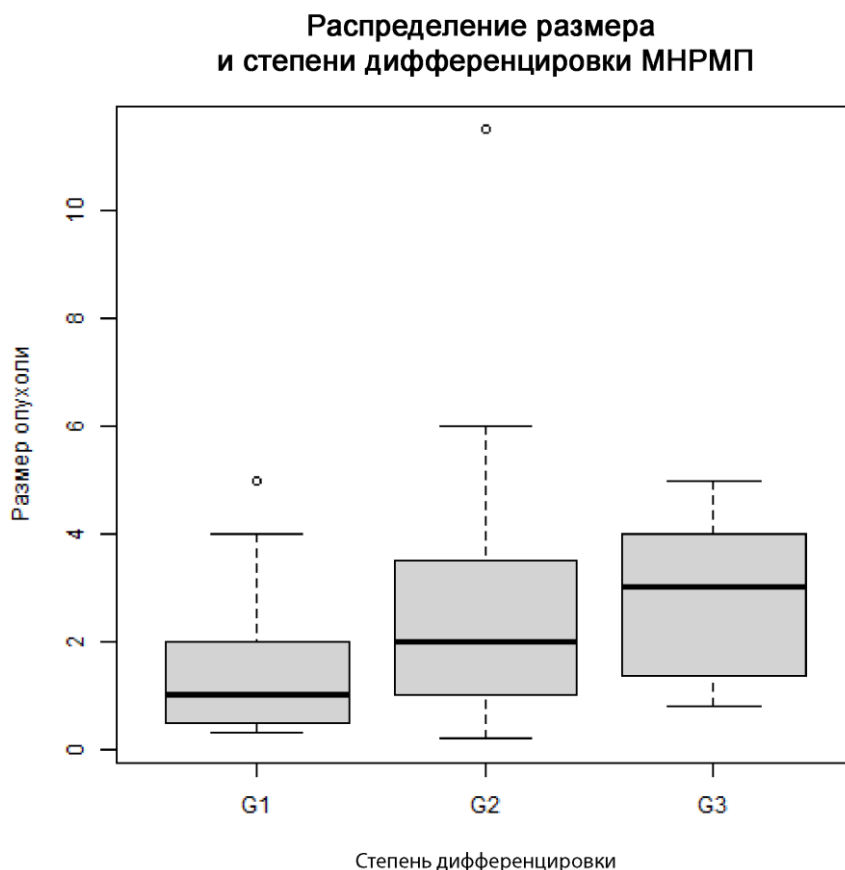


Рисунок 5. Распределение размера и степени дифференцировки МНРМП

Попарное сравнение средних размеров опухоли в группах по степеням дифференцировки (обобщенная линейная модель для гамма-распределения) выявило значимые различия между группой G1 и группами G2 и G3. Средний размер опухолей со степенью дифференцировки G1 значительно меньше среднего размера образований с патоморфологическим типом G2 и G3 (уровень значимости составил 0,002 и 0,0017, соответственно). Значимых различий между группами G2 и G3 не было обнаружено (р-значение = 0,697). Полученные данные приведены в таблице 9.

Таблица 9. Сравнение размеров МНРМП в зависимости от степени дифференцировки опухоли

	G1	G2	G3
n	30	46	24
Mean	1,36	2,6	2,79
Sd	1,15	2,1	1,52
Median	1	2	3
Q1	0,5	1	1,43
Q3	1,88	3,5	4
Min	0,3	0,2	0,8
Max	5	11,5	5
p-значение (при сравнении групп G2 и G3 с G1)		0,00221	0,00173

Распределение частоты размеров опухолей (категории) и степень дифференцировки МНРМП отражены в таблице 10.

Таблица 10. Оценка частоты встречаемости МНРМП в зависимости от размера и степени дифференцировки опухоли

	<0,5 cm	0,6-1 cm	1,1-1.5 cm	1,6-2 cm	>2 cm	p-значение
G1	10 (33,3%)	9 (30%)	4 (13,4%)	2 (6,7%)	5 (16,6%)	0,00915
G2	7 (15,2%)	6 (13%)	6 (13%)	7 (15,2%)	20 (43,6%)	
G3	0 (0%)	5 (20,8%)	4 (16,7%)	2 (8,3%)	13 (54,2%)	

Сравнение частоты точным тестом Фишера показало значимое различие частот в группах (p -значение = 0,00915). По данным статистического анализа 63,3% МНРМП со степенью дифференцировки G1 имели размер ≤ 1 см, в то время, как 43,6% образований G2 и 54,2% опухолей G3 имели размер более 2 см.

Следовательно, МНРМП со степенью дифференцировки G1 имеют в среднем меньший размер, чем образования с патоморфологическим типом G2 и G3. При сравнении размеров и частоты категорий размеров для G2 и G3 различий не выявлено.

Распределение степени дифференцировки МНРМП в зависимости от возраста пациентов.

Возраст пациентов с МНРМП степени дифференцировки G1 составил 40-81 лет, среднее значение – $64,67 \pm 9,41$ лет, медиана – 66 (58,5; 71,5). У пациентов с патоморфологическим типом опухоли G2 возраст варьировался от 50 до 94 лет, в среднем - $71,41 \pm 9,6$ лет, медиана – 70 (66,25; 79). Возраст пациентов с опухолями G3 составил 32-88 лет, среднее значение - $70,12 \pm 13,07$ лет, медиана - 72,5 (64,75; 78,25). Характер распределения возраста пациентов и степени дифференцировки уротелиальной опухоли отражен на рисунке 6.

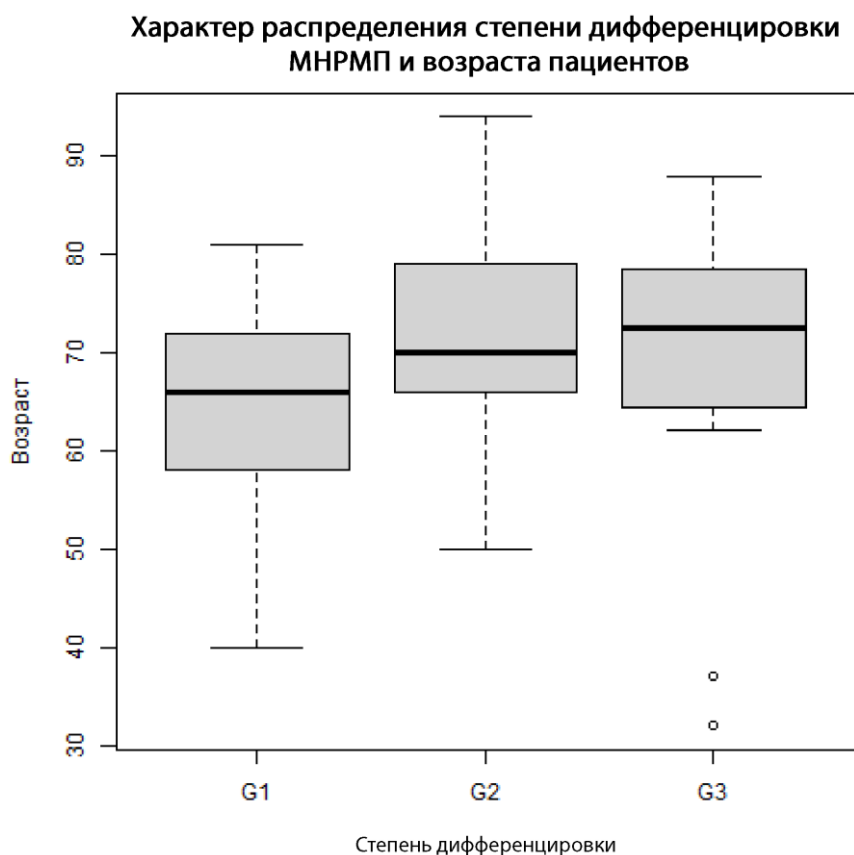


Рисунок 6. Характер распределения степени дифференцировки МНРМП и возраста пациентов

Сравнение средних возрастов пациентов в группах по степени дифференцировки (попарное тестирование с помощью U-критерия Манна – Уитни и поправкой Бонферрони на множественное тестирование) выявило значимые различия в возрасте между группой G1 и группами G2 и G3. Возраст пациентов с высокодифференцированным РМП был значимо меньше, чем у пациентов с умеренно- ($p=0,02$) и низкодифференцированными ($p=0,03$) опухолями. Значимых различий между G2 и G3 не найдено ($p>0,05$). Полученные данные отображены в таблице 11.

Таблица 11. Распределение пациентов по степени дифференцировки МНРМП и возрасту

	G1	G2	G3

n	30	46	24
Mean	64,67	71,41	70,12
SD	9,41	9,6	13,07
Median	66	70	72,5
Q1	58,5	66,25	64,75
Q3	71,5	79	78,25
Min	40	50	32
Max	81	94	88
р- значение <i>сравнение групп G2 и G3 с G1</i>		0,021648	0,03462

3.3 Анализ вероятности наступления рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря в зависимости от клинических и морфологических параметров

Как следует из описательной характеристики исследуемой группы, рецидив МНРМП наступил у 54% пациентов в течение периода от полугода до 5 лет.

Нами была предпринята попытка выявить факторы риска развития рецидива МНРМП. Для этого, на первом этапе, нами была оценена значимость влияния размеров опухоли на наступление рецидива (первого рецидива, если были повторные, и без учета времени наступления рецидива) с коррекцией на возможное влияние возраста и пола пациентов, количество поражений и локализацию опухоли. Для этого мы использовали модель логистической регрессии (МЛР). Результаты приведены в таблице 12:

Таблица 12. Модель логистической регрессии для оценки значимости размера поражения на возникновение рецидива МНРМП

Параметр	Отношение шансов	ДИ = 2.5 %	ДИ = 97.5 %	р-значение
Категория размера 2 (0,6-1 см) / Категория размера 1 (<0,5 см)	3,56	0,65	28,37	0,169949
Категория размера 3 (1,1-1,5 см / Категория размера 1 (<0.5 см)	15,71	2,17	165,88	0,010696
Категория размера 4 (1,6-2 см) / Категория размера 1 (<0,5 см)	7,87	1,14	76,30	0,047219
Категория размера 5 (>2 см) / Категория размера 1 (<0,5 см)	20,63	4,36	156,35	0,000576
Солитарная опухоль / мультифокальная опухоль	0,14	0,01	0,90	0,083083
Правая боковая стенка / левая боковая стенка	0,61	0,15	2,27	0,459145
Устье левого мочеточника / левая боковая стенка	0,31	0,05	1,64	0,172767
Устье правого мочеточника / левая боковая стенка	0,82	0,13	5,30	0,832040
Другие локализации / левая боковая стенка	0,88	0,20	3,99	0,868833
Женщины / мужчины	1,39	0,45	4,32	0,566130
Возраст (при изменении на единицу)	1,01	0,96	1,06	0,661371

По данным модели продемонстрировано, что при увеличении размеров МНРМП (категории 3, 4 и 5) достоверно увеличивался шанс рецидива ($p = 0,01$,

0,047 и 0,0005, соответственно), однако, у пациентов, попавших во вторую категорию, результаты оказались незначимыми. Шанс рецидива при МНРМП размерами 1-1,5 см (3 категория) в 15,71 раз выше, чем при опухолях <0,5 см (1 категория), при опухолях размерами 1,6-2 см (4 категория) – в 7,87 раз выше, а при поражениях размером более 2 см (5 категория) - в 20,63 раз.

Для анализа качества выбора параметров МЛР и ее предикативности использовался ROC-анализ, на основании тестирования данной модели была построена ROC-кривая (рис.7).

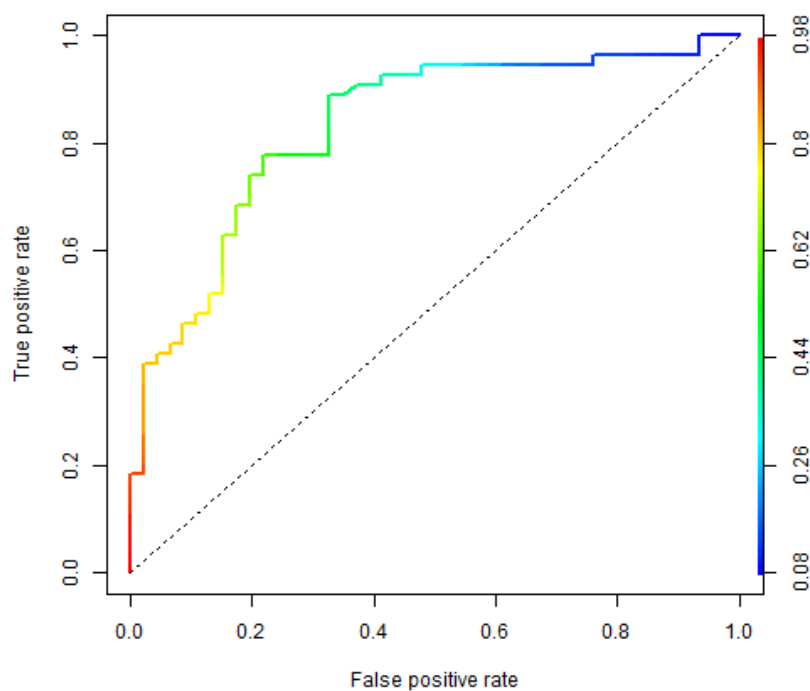


Рисунок 7. ROC-кривая для прогностической точности модели логистической регрессии

ROC-кривая для МЛР имеет площадь под кривой (AUC) равную 0,83, что говорит о хорошей предикативной способности МЛР.

Для анализа безрецидивного дожития построены оценки Каплан-Мейера кривых безрецидивного дожития в группах по размерам опухоли (рис.8). У пациентов с размерами МНРМП от 1,1 см и более (категории размеров 3, 4 и 5) продемонстрировано меньшее безрецидивное дожитие, чем у пациентов с

размером опухоли менее 1 см (категории размеров 1 и 2). При сравнении групп безрецидивного дожития с помощью лог-ранк теста (log-rank test) получено значимое различие (p -значение $<0,001$).

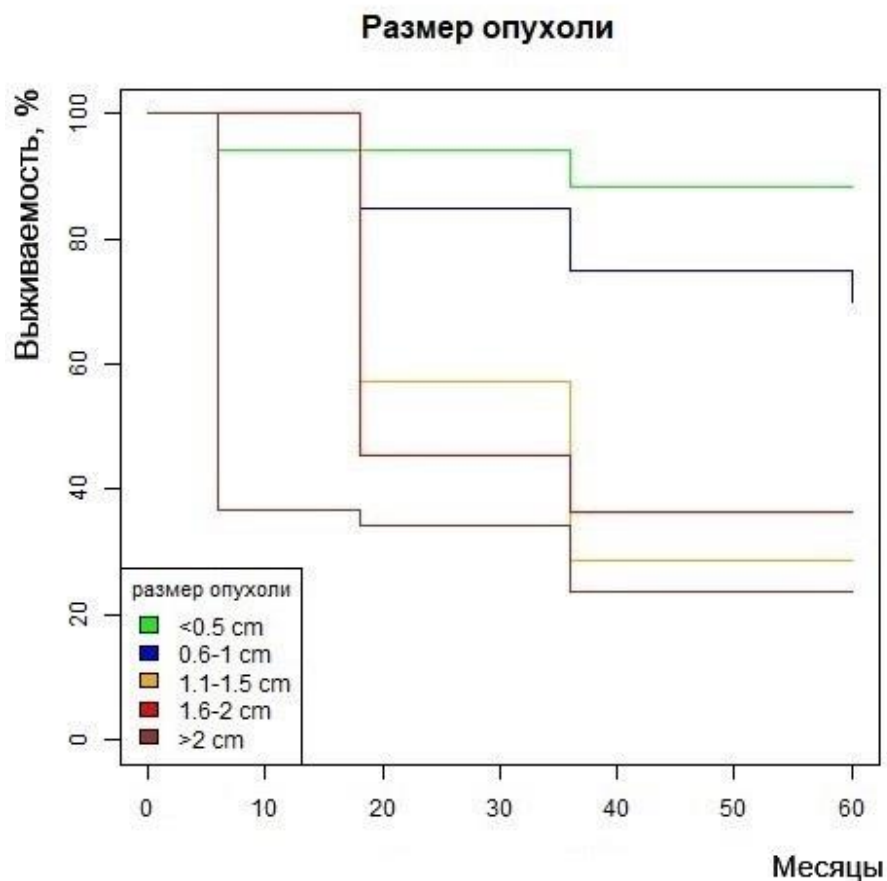


Рисунок 8. Кривые Каплана-Мейера оценки безрецидивной выживаемости пациентов с МНРМП при различном размере опухоли

Для сравнения рисков наступления рецидива также оценивалось отношение рисков (hazard ratio) с помощью регрессионной модели Кокса для пропорциональных рисков (Cox proportional hazards regression analysis). В модель были включены те же переменные, что и в МЛР (с коррекцией на возможное влияние возраста и пола пациентов, количество поражений и локализацию опухоли). При использовании модели, выявлено, что риск рецидива при увеличении размеров МНРМП (категории 3, 4 и 5) достоверно увеличивался ($p = 0,01$, $p = 0,03$ и $p = 0,001$, соответственно). Полученные данные отражены в таблице 13:

Таблица 13. Регрессионная модель Кокса для пропорциональных рисков рецидива МНРМП в зависимости от размера поражения

Параметр	Отношение рисков	ДИ = 2.5 %	ДИ = 97.5 %	р-значение
Категория размера 2 (0,6-1 см) / Категория размера 1 (<0,5 см)	2,74	0,55	13,8	0,22089
Категория размера 3 (1,1-1,5 см / Категория размера 1 (<0.5 см)	6,71	1,38	32,57	0,01828
Категория размера 4 (1,6-2 см) / Категория размера 1 (<0,5 см)	5,62	1,13	27,99	0,03519
Категория размера 5 (>2 см) / Категория размера 1 (<0,5 см)	10,30	2,38	44,54	0,00179
Солитарная опухоль / мультифокальная опухоль	0,68	0,33	1,39	0,28959
Правая боковая стенка / левая боковая стенка	0,94	0,44	1,98	0,86230
Устье левого мочеточника / левая боковая стенка	0,56	0,20	1,60	0,27861
Устье правого мочеточника / левая боковая стенка	0,69	0,25	1,91	0,47782
Другие локализации / левая боковая стенка	1,06	0,51	2,22	0,86850
Женщины / мужчины	1,09	0,60	1,98	0,76866
Возраст (при изменении на единицу)	1,01	0,99	1,04	0,55680

Влияние количества поражений (солитарной/мультифокальной опухоли) на наступление рецидива МНРМП

На первом этапе нами был выполнен точный тест Фишера для оценки частоты рецидива в зависимости от количества опухолей мочевого пузыря. При солитарном поражении рецидив МНРМП наблюдался в 41 случае (47,7%), у 45 (52,3%) пациентов, в ходе последующего наблюдения, рецидива не было обнаружено (таблица 14). В случае мультифокальной опухоли, у 13 из 14 пациентов (92,9%), выявлено рецидивирующее поражение. Частоты наступления рецидива для множественных и одиночных опухолей имели значимое различие ($p = 0,001$).

Таблица 14. Определение частоты рецидива в зависимости от числа опухолевых поражений

Тип опухоли	Отсутствие рецидива	Рецидив	p*
Солитарная (одиночная)	45 (52,3%)	41 (47,7%)	0,001
Мультифокальная (множественная)	1 (7,1%)	13 (92,9%)	

*p – уровень статистической значимости различий, обнаруженных при сравнении показателей в группе сравнения (критерий Фишера).

Для анализа безрецидивного дожития в группах при солитарном/мультифокальном поражении построены кривые Каплан-Мейера (рис.9). Выявлено, что период безрецидивного дожития у пациентов с мультифокальными опухолями меньше, чем у пациентов с солитарной опухолью. Лог-ранк тест для кривых безрецидивного дожития при мультифокальных и солитарных опухолях выявил значимое различие (p -значение = 0,003).

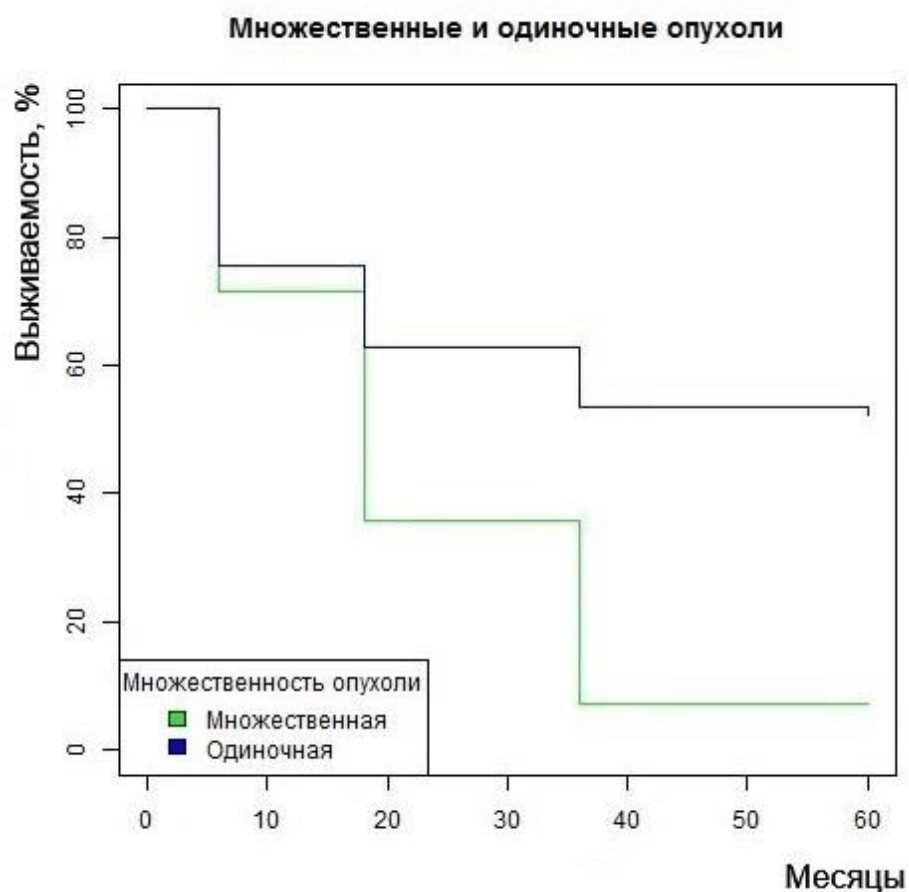


Рисунок 9. Кривые Каплана-Мейера оценки безрецидивной выживаемости пациентов с МНРМП при солитарной (одиночной)/мультифокальной (множественной) опухоли

При этом отношение рисков из регрессионной модели Кокса составило 0,38 (2,5% ДИ = 0,20; 97,5% ДИ = 0,72; $p=0,00295$). Полученные данные отражены в таблице 15.

Таблица 15. Регрессионная модель Кокса для солитарных/мультифокальных опухолей мочевого пузыря

Параметр	Отношение рисков	ДИ = 2.5 %	ДИ = 97.5 %	р-значение
Солитарная (одиночная) опухоль / мультифокальная (множественная) опухоль	0,38	0,20	0,72	0,00295

Однако, в общей МЛР (Табл. 12) с учетом размеров опухоли, мультифокальная (множественная) локализация опухоли не является значимой на уровне 95%, а лишь на уровне 90%. Это обуславливается тем, что суммарный размер мультифокальной опухоли значимо больше размера одиночных опухолей.

Влияние степени дифференцировки опухоли на наступление рецидива МНРМП.

Для оценки влияния параметра степени дифференцировки опухоли на возникновение рецидива также была использована МЛР (Табл. 16). Отношение шансов группы G2 к группе G1 составило 2,79 ($p=0,05$), а отношение шансов группы G3 к группе G1 составило 4,78 ($p=0,01$). Таким образом, умеренная и низкая степень дифференцировки злокачественных опухолей мочевого пузыря были ассоциированы с более высокими шансами рецидива – в 2,79 раз и 4,78 раз, соответственно.

Таблица 16. Модель логистической регрессии для оценки значимости степени дифференцировки опухоли на возникновение рецидива МНРМП

Параметр	Отношение шансов	ДИ = 2.5 %	ДИ = 97.5 %	р-значение
G2/G1	2,79	1,04	7,90	0,0463
G3/G1	4,78	1,50	16,62	0,0101
Женщины / Мужчины	1,87	0,74	4,91	0,1936
Возраст (при изменении на единицу)	1,01	0,96	1,05	0,7774

Для анализа качества выбора параметра степени дифференцировки в МЛР и для ее предикативности была построена ROC-кривая (рис.10).

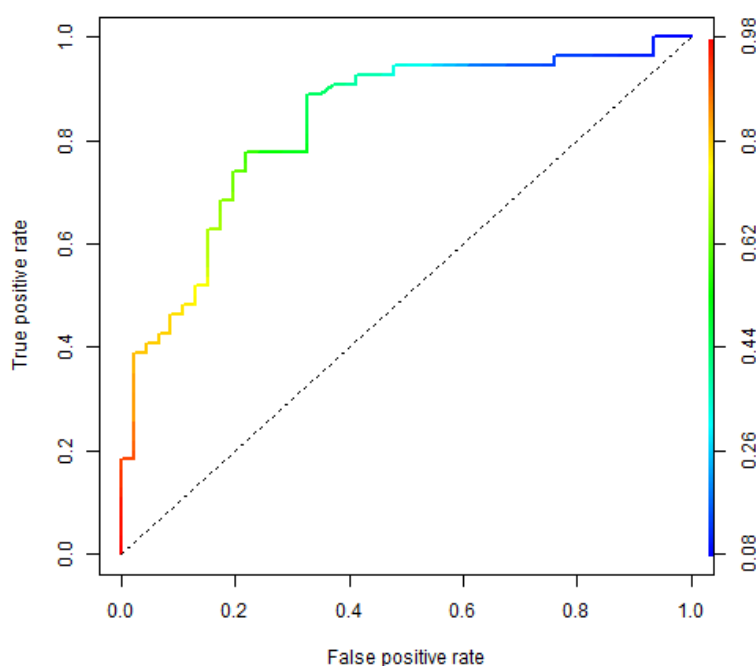


Рисунок 10. ROC-кривая для прогностической точности модели логистической регрессии

Площадь ROC-кривой оказалась равной 0,69, что говорит о среднем предикативном качестве модели (стоит отметить, что интервал от 0,7 до 0,8 говорит о хорошем качестве модели).

При сравнении кривых безрецидивной выживаемости (рис. 11) по степени дифференцировки опухоли с помощью логарифмического рангового критерия было выявлено значимое различие между группами G1, G2 и G3 ($p = 0,009$). Так, период безрецидивного дожития пациентов с высокодифференцированными опухолями был больше, чем с умеренно- и низкодифференцированными опухолями.

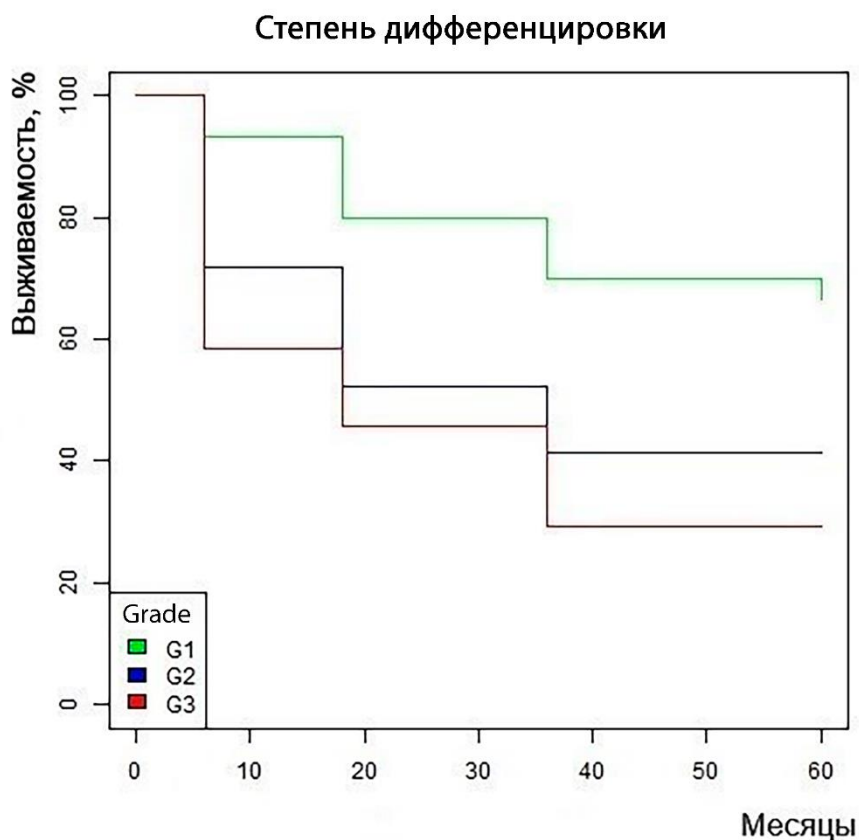


Рисунок 11. Кривые Каплана-Мейера оценки безрецидивной выживаемости пациентов с МНРМП при различной степени дифференцировки опухоли

При оценке отношения рисков с помощью регрессии Кокса (Табл. 17) выявлено, что отношение рисков группы G2 к группе G1 составило 2,28 (2,5% ДИ = 1,06; 97,5% ДИ = 4,88; $p = 0,03459$), а отношение рисков группы G3 к группе G1 - 3,06 (2,5% ДИ = 1,36; 97,5% ДИ = 6,89; $p = 0,00693$). Полученные данные указывают на наличие взаимосвязи между типом опухоли и вероятностью неблагоприятного течения болезни.

Таблица 17. Регрессионная модель Кокса для одиночных/множественных опухолей мочевого пузыря

Параметр	Отношение рисков	ДИ = 2.5 %	ДИ = 97.5 %	p-значение

G2/G1	2,28	1,06	4,88	0,03459
G3/G1	3,06	1,36	6,89	0,00693
Женщины / Мужчины	1,42	0,80	2,52	0,22948
Возраст (при изменении на единицу)	1,01	0,99	1,04	0,73041

Влияние глубины инвазии опухоли (патологоанатомической стадии T: T1a/T1b) на наступление рецидива МНРМП

Всего нами было выявлено 87 пациентов со стадией опухоли T1, из них: пациенты со стадией T1a (опухоли с инвазией до уровня МПСО) – 31 случай (рис. 12), пациенты со стадией T1b (инвазия в МПСО) – 56 случаев (рис. 13).

Рисунок 12. МНРМП стадии T1a (инвазия опухоли до уровня МПСО): А – окраска гематоксилином и эозином, ×100; Б – окраска гематоксилином и эозином, ×200; В – ИГХ-экспрессия СК20 в МНРМП для подтверждения наличия инвазии и оценки глубины инвазии, ×100; Г – ИГХ-экспрессия СК20 в МНРМП для подтверждения наличия инвазии и оценки глубины инвазии, ×200

Рисунок 13. МНРМП стадии T1b (инвазия опухоли в МПСО (МПСО обозначена красными стрелками)): А – окраска гематоксилином и эозином, ×100; Б – ИГХ-экспрессия СК20 в МНРМП для подтверждения наличия инвазии и оценки глубины инвазии, ×100; В – окраска гематоксилином и эозином, ×200; Г – ИГХ-экспрессия СК20 в МНРМП для подтверждения наличия инвазии и оценки глубины инвазии, ×200

Нами был выполнен точный тест Фишера для оценки частоты рецидива МНРМП в зависимости от глубины инвазии опухоли: при стадии T1a рецидив

МНРМП наблюдался в 12 случаях (38,7%), у 19 (61,3%) пациентов, в ходе последующего наблюдения, рецидива не было обнаружено (таблица 18). В случае стадии T1b, у 34 из 56 пациентов (60,71%), выявлено рецидивирующее поражение, рецидив не наблюдался у 22 пациентов (39,2%). Частоты наступления рецидива для опухолей стадии T1a и T1b имели значимое различие ($p = 0,003$).

Таблица 18. Определение частоты рецидива в зависимости от глубины инвазии опухоли

Глубина инвазии опухоли	Отсутствие рецидива	Рецидив	p*
T1a	19 (61,3%)	12 (38,7%)	0,003
T1b	22 (39,2%)	34 (60,71%)	

*p – уровень статистической значимости различий, обнаруженных при сравнении показателей в группе сравнения (критерий Фишера).

3.4 Патоморфологическое и иммуногистохимическое исследование мышечно-неинвазивных опухолей мочевого пузыря

В ходе патоморфологического исследования МНРМП для высокодифференцированных поражений (G1) было характерно отсутствие выраженного полиморфизма (ядра униформные, вытянутые, полярность клеток сохранена) и митозов. Опухоли со степенью дифференцировки G2 (умереннодифференцированные) имели среднюю выраженность изменений полярности клеток, наблюдалось увеличение размеров и формы ядер. Патоморфологический тип G3 отличается выраженной дезорганизацией архитектоники клеток, значительной ядерной атипией и полиморфизмом, в опухоли также наблюдалось большое количество митозов. Морфологические особенности опухолей отображены на рисунке 13.

Рисунок 13. Патоморфологические типы МНРМП: а – высокодифференцированный (G1) МНРМП – отсутствие выраженного полиморфизма (ядра uniformные, вытянутые, полярность клеток сохранена) и митозов (окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$); б – высокодифференцированный (G1) МНРМП (окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$); в – умереннодифференцированный (G2) МНРМП - умеренно-выраженные изменения полярности клеток, увеличение размеров и формы ядер (окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$); г - умереннодифференцированный (G2) МНРМП (окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$); д – низкодифференцированный (G3) МНРМП – выраженная дезорганизация цитоархитектоники клеток, значительная ядерная атипия и полиморфизм, грубый хроматин, большое количество митозов (окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$); е - низкодифференцированный (G3) МНРМП (окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$)

Результаты оценки экспрессии иммуногистохимических маркеров в группах по степени дифференцировки МНРМП.

В опухолях со степенью дифференцировки G1 ($n = 9$) показатель HScore для маркера CK20 варьировал от 111 до 285, в среднем – $177,53 \pm 36,8$ (Табл. 19, Рис. 14).

Рисунок 14. ИГХ: экспрессия CK20 в высокодифференцированном (G1) МНРМП: а – $\times 100$; б – $\times 200$; в, г – $\times 400$

Показатели маркера пролиферации Ki-67 составили 3%-23%, среднее значение – $8,19 \pm 4,75\%$ (Табл. 19, Рис. 15).

Рисунок 15. ИГХ: индекс пролиферации Ki-67 в высокодифференцированном (G1) МНРМП: а – $\times 100$; б – $\times 200$; в, г – $\times 400$

HScore для p53 в высокодифференцированных опухолях находился в пределах от 9 до 84, в среднем – $42,19 \pm 19,33$ (Табл. 19, Рис. 16).

Рисунок 16. ИГХ: экспрессия p53 в высокодифференцированном (G1) МНРМП: а – $\times 100$; б – $\times 200$; в, г – $\times 400$

Для маркера CD44 показатель HScore составил 148-286, среднее значение – $221,08 \pm 29,55$ (Табл. 19, Рис. 17).

Рисунок 17. ИГХ: экспрессия CD44 в высокодифференцированном (G1) МНРМП: а – $\times 100$; б – $\times 200$; в, г – $\times 400$

В опухолях со степенью дифференцировки G2 (n = 10) показатель HScore для маркера СК20 варьировал от 73 до 300, в среднем – $157,18 \pm 74,65$. (Табл. 19, Рис. 18).

Рисунок 18. ИГХ: экспрессия СК20 в умереннодифференцированном (G2) МНРМП: а – $\times 100$; б – $\times 200$; в, г – $\times 400$

Показатели маркера пролиферации Ki-67 составили 10,5%-53%, среднее значение – $24,12 \pm 12,65\%$ (Табл. 19, Рис. 18).

Рисунок 19. ИГХ: индекс пролиферации Ki-67 в умереннодифференцированном (G2) МНРМП: а – ×100; б – ×200; в, г – ×400

НScore для p53 в умереннодифференцированных опухолях находился в пределах от 0 до 87, в среднем – $56,42 \pm 21,5$ (Табл. 19, Рис. 20).

Рисунок 20. ИГХ: экспрессия p53 в умереннодифференцированном (G2) МНРМП: а – ×100; б – ×200; в, г – ×400

Для маркера CD44 показатель НScore составил 6-140, среднее значение – $90,56 \pm 44,25$ (Табл. 19, Рис. 21).

Рисунок 21. ИГХ: экспрессия CD44 в умереннодифференцированном (G2) МНРМП: а – ×100; б – ×200; в, г – ×400

В опухолях со степенью дифференцировки G3 (n = 11) показатель НScore для маркера СК20 варьировал от 48 до 78, в среднем – $62,32 \pm 4,19$ (Табл. 19, Рис. 22).

Рисунок 22. ИГХ: экспрессия СК20 в низкодифференцированном (G3) МНРМП: а – ×100; б, в, г – ×400

Показатели маркера пролиферации Ki-67 составили 35%-80%, среднее значение – $66,48 \pm 6,82\%$ (Табл. 19, Рис. 23).

Рисунок 23. ИГХ: индекс пролиферации Ki-67 в низкодифференцированном (G3) МНРМП: а – ×100; б – ×200; в, г – ×400

HScore для p53 в низкодифференцированных опухолях находился в пределах от 44 до 95, в среднем – $79,43 \pm 7,21$ (Табл. 19, Рис. 24).

Рисунок 24. ИГХ: экспрессия p53 в низкодифференцированном (G3) МНРМП: а – ×100; б – ×200; в, г – ×400

Для маркера CD44 показатели составили 44-60, среднее значение – $50,75 \pm 1,38$. (Табл. 19, Рис. 25).

Рисунок 25. ИГХ: экспрессия CD44 в низкодифференцированном (G3) МНРМП: а – ×100; б – ×200; в, г – ×400

Для сравнения групп производился попарный t-тест Уэлча (вариант t-теста Стьюдента для групп с разной дисперсией). Однако, учитывая множественность проводимого тестирования, было принято решение применить поправку Холма-Бонферрони. В ходе статистического анализа групп G1, G2, G3 по экспрессии иммуногистохимических маркеров CK20, Ki-67, p53 и CD44 были выявлены следующие результаты (Табл. 19):

Таблица 19. Результаты иммуногистохимического исследования в группах по степеням дифференцировки опухоли G1, G2 и G3

Иммуногистохимический маркер	Значения $M \pm SD$ по группам			
	G1 (n = 9)	G2 (n = 10)	G3 (n = 11)	p-значения
CK20	$177,53 \pm 36,8$	$157,18 \pm 74,65$	$62,32 \pm 4,19$	$p_{G1/2} = 0,36$ $p_{G1/3} < 0,001$ $p_{G2/3} < 0,001$
Ki-67	$8,19 \pm 4,75$	$24,12 \pm 12,65$	$66,48 \pm 6,82$	$p_{G1/2} < 0,001$

				$p_{G1/3} < 0,001$ $p_{G2/3} < 0,001$
p53	42,19±19,33	56,42±21,5	79,43±7,21	$p_{G1/2} = 0,08$ $p_{G1/3} < 0,001$ $p_{G2/3} = 0,008$
CD44	221,08±29,55	90,56±44,25	50,75±1,38	$p_{G1/2} < 0,001$ $p_{G1/3} < 0,001$ $p_{G2/3} = 0,006$

По результатам тестирования можно сделать следующие выводы:

1) Для параметра СК20 средние значения HScore в группах G1 (177,53±36,8) и G2 (157,18±74,65) статистически значимо больше среднего значения в группе G3 (62,32±4,19; уровень значимости в обеих группах - $p < 0,001$). Следовательно, в низкодифференцированных МНРМП (G3) отмечается менее выраженная экспрессия маркера СК20 или полное отсутствие экспрессии.

2) При иммуногистохимическом исследовании с маркером Ki-67 установлено, что между всеми тремя группами имеются статистически значимые различия средних значений ($Ki-67_{G1} = 8,19 \pm 4,75$; $Ki-67_{G2} = 24,12 \pm 12,65$; $Ki-67_{G3} = 66,48 \pm 6,82$; уровень значимости во всех группах - $p < 0,001$). Показано, что со снижением степени дифференцировки МНРМП отмечается рост показателя индекса пролиферации. При этом, значения Ki-67 при умереннодифференцированных (G2) МНРМП превосходят показатели высокодифференцированных (G1) поражений в 2,94 раз, а значения экспрессии низкодифференцированных (G3) опухолей - в 8,11 раз.

3) Для параметра CD44 средние значения HScore во всех трех группах ($CD44_{G1} = 221,08 \pm 29,55$; $CD44_{G2} = 90,56 \pm 44,25$; $CD44_{G3} = 66,48 \pm 6,82$ 50,75±1,38) статистически значимо различались между собой (уровень значимости во всех

группах – $p < 0,001$). Отмечено снижение показателей HScore со снижением степени дифференцировки МНРМП, при этом экспрессия CD44 в низкодифференцированных (G3) опухолях была наименее выраженной или полностью отсутствовала.

4) При иммуногистохимическом исследовании с маркером p53 значения в группах G1 ($42,19 \pm 19,33$) и G2 ($56,42 \pm 21,5$) статистически значимо меньше среднего значения в группе G3 ($79,43 \pm 7,21$; уровни значимости - $p_{G1/3} < 0,001$; $p_{G2/3} = 0,008$), между группами G1 и G2 статистически значимое различие не обнаружено ($p_{G1/2} = 0,08$). Следовательно, в низкодифференцированных МНРМП (G3) отмечается более выраженная экспрессия маркера p53 по сравнению с высоко- (G1) и умереннодифференцированными (G2) опухолями.

Результаты оценки экспрессии иммуногистохимических маркеров в группах по молекулярному подтипу МНРМП.

По результатам исследования, из 30 случаев МНРМП, 17 (56,67%) опухолей относились к люминальному подтипу, а 13 (43,3%) – к базальному.

В опухолях с люминальным молекулярным подтипом показатель HScore для маркера CK20 варьировал от 210 до 285, в среднем – $231,45 \pm 21,8$ (Табл. 20, Рис. 26).

Показатели маркера Uroplakin III составили 139-168, среднее значение – $158,18 \pm 74,65$ (Табл. 20, Рис. 26).

HScore для GATA3 в люминальных опухолях находился в пределах от 185 до 248, в среднем – $210,45 \pm 18,93$ (Табл. 20, Рис. 26).

Показатели HScore маркера CK5/6 составили 42-78, среднее значение – $62,32 \pm 4,12$ (Табл. 20, Рис. 26).

Для маркера CD44 показатель HScore составил 0 до 78, среднее значение – $50,75 \pm 1,38$ (Табл. 20, Рис. 26).

HScore для p53 в люминальных опухолях находился в пределах от 0 до 37, в среднем – $25,12 \pm 6,32$ (Табл. 20, Рис. 26).

Рисунок 26. ИГХ-экспрессия иммуногистохимических маркеров при люминальном молекулярном подтипе МНИРМП: А – CK20, $\times 200$; Б – Uroplakin III, $\times 200$; В – GATA3, $\times 200$; Г – CK5/6, $\times 200$; Д – CD44, $\times 200$; Е – p53, $\times 200$

В опухолях с базальным молекулярным подтипом показатель HScore для маркера CK20 варьировал от 39 до 82, в среднем – $60,47 \pm 4,27$ (Табл. 20, Рис. 27).

Показатели маркера Uroplakin III составили 0-68, среднее значение – $51,23 \pm 6,72$ (Табл. 20, Рис. 26).

HScore для GATA3 в базальных опухолях находился в пределах от 179 до 250, в среднем – $204,89 \pm 11,73$ (Табл. 20, Рис. 27).

Показатели HScore маркера CK5/6 составили 116-212, среднее значение – $178,51 \pm 40,32$ (Табл. 20, Рис. 27).

Для маркера CD44 показатель HScore составил 153 до 267, среднее значение – $222,13 \pm 24,58$ (Табл. 20, Рис. 27).

HScore для p53 в базальных опухолях находился в пределах от 78 до 132, в среднем – $110,76 \pm 7,93$ (Табл. 20, Рис. 27).

Рисунок 27. ИГХ-экспрессия иммуногистохимических маркеров при базальном молекулярном подтипе МНРМП: А – СК20, $\times 200$; Б – Uroplakin III, $\times 200$; В – GATA3, $\times 200$; Г – СК5/6, $\times 200$; Д – CD44, $\times 200$; Е – p53, $\times 200$

Для сравнения групп производился t-тест Стьюдента. В ходе статистического анализа групп люминального и базального молекулярных подтипов МНРМП по экспрессии иммуногистохимических маркеров СК20, Uroplakin III, GATA3, СК5/6, CD44, p53 были выявлены следующие результаты (Табл. 20):

Таблица 20. Результаты иммуногистохимического исследования в группах по молекулярным подтипам МНРМП (люминальный/базальный)

Иммуногистохимический маркер	Значения $M \pm SD$ по группам		p-значения
	люминальный (n = 17)	базальный (n = 13)	
СК20	231,45 \pm 21,8	60,47 \pm 4,27	p < 0,001
Uroplakin III	158,18 \pm 74,65	51,23 \pm 6,72	p < 0,001
GATA3	210,45 \pm 18,93	204,89 \pm 11,73	p > 0,05
СК5/6	62,32 \pm 4,12	178,51 \pm 40,32	p < 0,001
CD44	50,75 \pm 1,38	222,13 \pm 24,58	p < 0,001
p53	25,12 \pm 6,32	110,76 \pm 7,93	p < 0,001

По результатам тестирования можно сделать следующие выводы:

1) Для параметра СК20 средние значения HScore в группе люминальных МНРМП (231,45 \pm 21,8) статистически значимо больше среднего значения в группе базальных МНРМП (60,47 \pm 4,27; уровень значимости p < 0,001). Следовательно, для

МНРМП с базальным подтипом отмечается менее выраженная экспрессия маркера СК20 или полное отсутствие экспрессии.

2) При иммуногистохимическом исследовании с маркером Uroplakin III установлено, что между группами имеются статистически значимые различия средних значений: люминальные МНРМП = $158,18 \pm 74,65$, базальные - $51,23 \pm 6,72$, уровень значимости $p < 0,001$). Показано, что для люминальных карцином характерная умеренная и выраженная экспрессия Uroplakin III.

3) Экспрессия маркера GATA3 в обеих группах была схожей: статистически значимого различия не было выявлено ($p > 0,05$).

4) При иммуногистохимическом исследовании с маркером СК5/6 установлено, что между группами имеются статистически значимые различия средних значений: HScore люминальных опухолей в среднем составил $62,32 \pm 4,12$, а базальных - $178,51 \pm 40,32$. Следовательно, в люминальных опухолях наблюдается слабая экспрессия СК5/6, или полное отсутствие экспрессии маркера. Напротив, при базальном подтипе МНРМП экспрессия ярковыраженная.

5) Для параметра CD44 средние значения HScore в группах ($CD44_{luminal} = 50,75 \pm 1,38$; $CD44_{basal} = 222,13 \pm 24,58$) статистически значимо различались между собой (уровень значимости $p < 0,001$). Отмечены низкие показатели HScore в люминальных опухолях, в базальных опухолях показатели экспрессии были значимо выше.

6) При иммуногистохимическом исследовании с маркером p53 значения в группах люминальных МНРМП ($25,12 \pm 6,32$) статистически значимо меньше среднего значения в группе базальных опухолей ($110,76 \pm 7,93$; уровень значимости $p < 0,001$). Следовательно, в базальных МНРМП отмечается более выраженная экспрессия маркера p53 по сравнению с люминальными опухолями.

Дополнительно, нами выявлено, что 8 случаев (90%) карцином G1 относились к люминальному подтипу, 1 случай (10%) к базальному. 6 карцином (60%) G2 имели люминальный подтип, 4 опухоли (40%) – базальный. У опухолей G3 базальный иммунофенотип был выявлен в 8 случаях (72,7%), люминальный подтип был выявлен в 3 случаях (27,3 %).

Глава 4. Обсуждение результатов исследования

Роль пола и возраста пациентов в прогнозе течения и определении риска рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря.

В литературе существует большое количество данных о связи пола пациентов с РМП. Доказано, что у мужчин РМП встречается в несколько раз чаще, чем у женщин [157–167], при этом, у женщин чаще диагностируется более запущенная стадия заболевания и выше летальность от РМП [157,168]. Однако, данные о влиянии пола пациентов на рецидив МНРМП остаются достаточно противоречивыми.

По данным программы The Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER), изучающая течение, распространённость и исходы злокачественных новообразований, у женщин отмечается большая частота прогрессирования МНРМП, чем у мужчин через 2, 5 и 10 лет после установления диагноза РМП [168]. Выявлено, что женский пол значимо влияет на риск прогрессии заболевания и смертность, но не на риск рецидива МНРМП [168].

В похожем исследовании, включавшем 1303 пациентов с МНРМП, Thomas et al. [169] отметили, что у женщин был повышенный риск прогрессии МНРМП и смертности.

Напротив, в работе Kluth et al. [170], на основании данных 916 пациентов с первичным МНРМП, женский пол не был связан с прогрессией заболевания или смертностью, однако, выявлена прямая корреляция между женским полом и риском рецидива заболевания (OR = 1,36; p = 0,01).

Sylvester RJ. et al. [25] проанализировали данные 2956 пациентов в ходе 7 исследований EORTC и пришли к выводу, что пол пациентов не оказывает значимого влияния ни на прогрессию (OR = 0,92; p= 0,58), ни на рецидив заболевания (OR = 1,00; p= 0,99). Поэтому, таблицы EORTC не расценивают

половую принадлежность пациентов как фактор риска рецидива и прогрессии МНРМП [25].

В модели CUETO, которая включала пациентов с проведенной БЦЖ-терапией, напротив, женский пол рассматривался как фактор риска рецидива МНРМП ($OR = 1,7$, $p < 0,001$), но не прогрессии в мышечно-инвазивную форму заболевания ($OR = 1,01$, $p = 0,98$) [26].

Работа Palou J. et al.[171], схожим образом доказала большую вероятность рецидива у женщин ($p < 0,001$), но, также, и опухолевой прогрессии ($p = 0,001$).

Однако, исследование Boorjian SA et al.[172], анализировавшее результаты лечения БЦЖ у мужчин и женщин, не подтвердило влияние женского пола на рецидив ($p = 0,51$) и прогрессию МНРМП ($p = 0,08$).

В нашем исследовании нами отмечена повышенная частота выявления МНРМП у пациентов мужского пола (69% мужчин против 31% женщин; табл. 2), однако нами не выявлено влияния пола заболевания (табл. 12, табл. 13). По всей видимости, половой фактор может быть прогностическим, но научные данные, в отношении данного вопроса, остаются противоречивыми: часть авторов считает фактор пола значимым в течении заболевания, другие авторы склонны полагать, что прогноз либо слабо, либо вовсе не зависит от полового признака. Поэтому исследования на тему влияния пола пациентов на рецидив МНРМП и исходы лечения требуют дальнейшего изучения и уточнения.

Касаемо возраста пациентов, нами получено, что женщины подвержены РМП в более позднем возрасте ($M \pm SD = 72,9 \pm 8,65$ лет), чем мужчины ($M \pm SD = 67,36 \pm 11,25$ лет, $p = 0,03$). В схожем исследовании Kocan H. и Kadihasanoglu M. [173], напротив, показали, средний возраст пациентов-мужчин с МНРМП был равен 59,03 годам, а женщин - 58,13.

Немаловажным является факт, что симптомы, связанные с наличием РМП (гематурия, учащенное мочеиспускание, никтурия и др.) у женщин, могут быть некорректно интерпретированы как воспалительные заболевания мочевыводящих путей (инфекционные и неинфекционные), опущение тазовых органов, мочекаменная болезнь и т.п., что в свою очередь приводит к задержке диагностики РМП у женщин по сравнению с мужчинами [174]. Как следствие, прогноз заболевания у пациенток женского пола чаще намного хуже, чем у мужского [158]. Поэтому для врача-уролога крайне важно проявлять онкологическую настороженность к пациенткам пожилого возраста.

В нашем исследовании при использовании МЛР и регрессионной модели Кокса не было выявлено прямого влияния возраста пациентов на рецидив опухоли, однако, нами была выявлена связь степени дифференцировки и рецидивного течения. Нами было доказано, что степень дифференцировки опухоли (G1, G2, G3) прямо коррелирует с возрастом: чем старше пациент, тем больше вероятность наличия низкодифференцированной опухоли. Поэтому, нам кажется, что включение возраста в расчет риска рецидива МНРМП целесообразно при использовании не однофакторного, а многофакторного анализа, включающего как клинические, так и морфологические данные пациентов.

Роль количества опухолевых образований в прогнозе течения и определении риска рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря.

По данным нашего исследования установлено, что мультифокальное поражение при МНРМП в 1,95 раз чаще встречалось у пациентов с рецидивным течением заболевания ($p = 0,001$), при этом, риск рецидива при солитарных опухолях был ниже, чем при мультифокальном поражении (95% ДИ = 0,20-0,72; $p=0,00295$). В литературе нами не было обнаружено публикаций, которые бы не выделяли фактор множественности опухоли как неблагоприятный. В широкоиспользуемых классификациях EORTC, CUETO, EAU солитарные опухоли

характерны для пациентов с низким риском рецидива, а мультифокальные – с высоким, что полностью подтверждает и валидирует полученные нами данные [25][26][28].

Роль размера опухоли в прогнозе течения и определении риска рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря.

Для прогнозирования риска рецидива МНРМП широко используется параметр размера опухоли. Зарубежные коллеги, например, Lee et al. [136] и Miyake et al. [175] в своих работах описали взаимосвязь размеров опухоли и времени наступления рецидива. Аналогичные результаты были получены и другими исследователями [25,176–181].

Большинство экспертов сходится во мнении, что больший размер опухоли является неблагоприятным фактором в оценке риска рецидива МНРМП [182], однако, медиана отсечения размера новообразования, которая стратифицирует пациентов по группам риска, является вариабельной.

von Landenberg et al. [183], в ретроспективном многоцентровом исследовании на 1245 пациентов с МНРМП с использованием двухступенчатой классификации размера поражений, выявили, что размер опухоли ≥ 3 см был связан с повышенным риском рецидива после ТУР. Стоит отметить, что, по данным работы, ОР рецидива на момент ТУР при опухолях ≥ 3 см, равнялся 1,86. В нашем исследовании, ОР рецидива опухоли с наибольшим размером (5 категория: >2 см) был равен 10,3 ($p = 0,00179$), то есть риск рецидива был намного выше (в 10 раз).

Как и von Landenberg et al. [183], Tully KH et al. [184] и Kim HS. Et al. [185], получили схожие данные в отношении ОР рецидива при использовании двух категорий размеров опухоли (<3 см и >3 см).

В многофакторном анализе Zachos I. et al. [179] также использовали двухступенчатую систему и продемонстрировали, что размер опухоли >3 см

является независимым неблагоприятным фактором рецидива МНРМП ($OR = 11,99$, $p < 0,001$). При этом, полученные результаты в отношении риска рецидива более сопоставимы с данными нашего исследования.

В моделях EORTC [25], CUETO [26] и EAU [28] для расчета риска рецидива также используется размер поражения, однако, модели EORTC и EAU под медианой отсечения принимают размер опухоли равный 3 см, а в модели CUETO [26] используется трехступенчатая классификация размеров новообразований: ≤ 1 см, 1-3 см и более 3 см.

Мы оценивали значимость влияния размеров опухоли на наступление рецидива с коррекцией на возможное влияние возраста и пола пациентов, а также множественности и локализации образования с помощью МЛР и регрессионной модели Кокса (табл. 12, табл. 13).

При этом, нами была предпринята попытка разделения опухолей на большее количество категорий ($n = 5$) с шагом по 0,5 см, чтобы более подробно оценить влияние размеров опухоли на рецидив.

Нами получено, что при увеличении размеров МНРМП достоверно увеличивался шанс рецидива, однако у пациентов, попавших во вторую категорию (0,6-1 см), результаты оказались незначимыми, вероятно, ввиду разнородности выборки. Данный аспект требует более углубленного изучения в будущих проспективных и ретроспективных исследованиях. Возможно, при отсутствии значимых результатов в дальнейших научных разработках, 1 и 2 категории размеров новообразований следует объединить в одну (а именно, опухоли размером < 1 см), так как каждая из оставшихся категорий (3, 4, 5) имеют значимое влияние на рецидив ($p = 0,01828$; $p = 0,03519$ и $p = 0,00179$, соответственно). Мы считаем, что на данный момент целесообразно использование нашей пятиступенчатой модели для прогнозирования рисков рецидива МНРМП после

ТУР, или последующее интегрирование нашей классификации в широкоиспользуемые номограммы.

Стоит отметить, что прогностическое значение размера опухоли у пациентов также зависит от выбранного метода лечения. Так, у пациентов, получавших БЦЖ-терапию после ТУР, прогнозирование риска является предметом споров: часть исследователей считает, что больший размер образования влияет на ранний рецидив МНРМП [179,186] в то время, как другие исследователи не выявили корреляцию между данными факторами [187,188]. В нашей работе, после ТУР мочевого пузыря в качестве метода лечения был выбран митомицин С, поэтому в дальнейшей перспективе требуется анализ риска рецидива при различных подходах к лечению пациентов.

Роль степени дифференцировки опухоли в прогнозе течения и определении риска рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря.

Степень дифференцировки опухоли является важным прогностическим фактором при РМП [129,189]. Классификация Всемирной организации здравоохранения (World Health Organization, WHO) от 1973 года включает в себя уротелиальную папиллому и карциномы 1-3 степени дифференцировки (grade 1 или G1; grade 2 или G2; and grade 3 или G3) [190]. Данная классификация широко использовалась и применялась врачами клинических специальностей для прогноза течения РМП на протяжении многих лет, однако, по данным различных исследователей, степень согласия между патоморфологами в интерпретации уротелиальных поражений не является оптимальной (не является достаточно высокой) [43,45].

Поэтому в 1998 году Всемирная Организация Здравоохранения, Международное общество урологической патологии (International Society of Urological Pathology, ISUP) и Канадская академия патологии (Canadian Academy of

Pathology) выполнили пересмотр классификации уротелиальных опухолей, которая была принята ВОЗ в 2004 г. взамен системы классификации ВОЗ 1973 г [191]. Классификация от 2004 г. включает в себя уротелиальную папиллomu, папиллярную опухоль уротелия с низким злокачественным потенциалом (papillary urothelial neoplasm of low malignant potential, PUNLMP), папиллярную уротелиальную карциному низкой степени злокачественности/low-grade (low-grade urothelial carcinoma, LGPUC) и высокой степени злокачественности/high-grade (high-grade urothelial carcinoma, HGPUC).

Классификация уротелиальных карцином ВОЗ от 2016г. также рекомендует придерживаться использования системы low- и high-grade карцином принятой в 1998 году [85].

Новая система классификации карцином мочевого пузыря обсуждалась в большом ряде публикаций. Однако, ее диагностическое и прогностическое значение до сих пор является предметом дискуссий [192–194].

van Rhijn et al. [195] показали, что значимое различие в степени согласия между экспертами-патологоанатомами при использовании классификации от 1973г. и 2004г. отсутствует.

По данным Mangrud OM et al. [196] ни одна из предложенных классификаций (1973 г. и 2004 г.) не имела преимуществ в прогнозировании течения РМП. При этом, исследователи пришли к выводу, что воспроизводимость и чувствительность данных классификаций в отношении прогрессирования стадии заболевания являлись неудовлетворительными и требовали доработки.

В исследовании May M. et al. [45] установлено, что обе классификации ВОЗ являются несовершенными по причине вариабельности согласия между экспертами-патоморфологами в оценке РМП, которое, скорее всего, связано со сложностью и субъективной применимостью диагностических критериев. В работе показано, что уровень согласия экспертов при использовании классификации ВОЗ

от 2004 г. выше по сравнению с системой ВОЗ 1973 г. Однако, исследователи также обратили внимание на удобство и пользу классификационной системы от 1973 г. для врачей-клиницистов, ввиду простоты выявления и дальнейшего ведения группы пациентов с наиболее агрессивными опухолями.

В работе Chen Z. et al. [197] были обработаны данные 348 пациентов с МНРМП для оценки прогностических способностей классификаций ВОЗ от 1973г и 2004 г. По данным проведенного исследования, отмечено, что обе классификации являются эффективными в оценке риска опухолевой прогрессии, однако, классификация от 1973г имеет большую эффективность в оценке риска рецидива опухоли.

Более современный систематический обзор литературы и мета-анализ прогностической способности и воспроизводимости классификаций ВОЗ также не выявил превосходства классификации от 2004/2016г над моделью 1973г [42]. Авторами показано, что каждая классификация по-разному определяла группы риска пациентов с МНРМП, что в дальнейшем влияло на дальнейшую клиническую тактику. Для каждой категории классификации ВОЗ от 1973 г. (G1, G2 и G3), риск рецидива и прогрессирования МНРМП был выше, чем у соответствующей ей категории классификации ВОЗ от 2004/2016 гг. (PUNLMP, LG и HG). Отмечено, что уязвимость классификации от 2004/2016 г. состоит в том, что она практически не дает прогностической информации для пациентов с T1 стадией РМП, при этом почти все пациенты с данной стадией заболевания имеют поражения высокой степени злокачественности/high-grade [42].

Учитывая вышеописанные разногласия в оценке роли степени дифференцировки опухоли в прогнозе течения и определении риска рецидива МНРМП в рекомендациях Европейской ассоциации урологов (The European Association of Urology, EAU) врачам-патологоанатомам предложено использовать обе классификации ВОЗ до тех пор, пока не будут проведены испытания для подтверждения прогностической ценности классификации ВОЗ 2004/2016г [27,28].

В нашем исследовании для построения МЛР, регрессионной модели Кокса и анализа выживаемости пациентов было принято решение использовать классификацию уротелиальных поражений от 1973 г. на основании исследований, указывающих на ее лучшую предиктивную способность в отношении рецидива МНРМП [197]. По результатам нашей работы риск рецидива опухоли увеличивался с уменьшением степени дифференцировки МНРМП. Напротив, Sezgin Okçelik et al. [198], показали, что степень дифференцировки опухоли, количество образований и размер опухоли не являются фактором риска рецидива МНРМП.

Схожие данные были получены Но Р. et al. [199] с использованием регрессионной модели Кокса. Авторами выявлено, что для опухолей высокой степени злокачественности/high-grade ОР составило 0,7 (95% ДИ: 0,3-1,5; $P < 0,34$), что говорит об отсутствии влияния низкой степени дифференцировки опухоли на риск рецидива МНРМП. Однако, в нашем исследовании показано, что риск рецидива для умеренно- и низкодифференцированных МНРМП > 1 , следовательно, данный параметр является значимым в оценке неблагоприятного течения заболевания.

В работе Lu M. et al. [182] только степень дифференцировки МНРМП G3 (High-grade) существенно влияла на риск рецидива опухоли (ОР: 3,114; 95% ДИ: 1,976–6,194; $p < 0,001$), при этом, группы G1 и G2 были объединены исследователями в единую референтную группу. Мы провели более подробное исследование, рассчитав ОР также для степени дифференцировки G2 (ОР: 2,28; 95% ДИ: 1,06-4,88; $p = 0,03459$), что более полно отражает влияние исследованного параметра на рецидив опухоли.

Широкораспространенные в клинической практике таблицы рисков рецидива РМП EORTC [26], а также рекомендации европейской ассоциации урологов (European Association of Urology, EAU) [28] сходятся во мнении, что степень дифференцировки опухоли оказывает непосредственное влияние на риск рецидива МНРМП.

Различными авторами [30,200] отмечено, что каждая из моделей имеет свою, отличную от других, прогнозирующую способность и имеет определенные недостатки. Так, Jobczyk M. Et al. [30] заявляют о трудности применения классификаций EORTC, CUETO и EAU в случае персонализированного подхода к лечению – ни одна из доступных номограм, по мнению авторов, не может предсказать точное время рецидива или прогрессии РМП и, следовательно, не могут рассматриваться в качестве прогностических тестов у конкретных пациентов. Коллективом также отмечается 38% вероятность ошибки при расчете вероятности рецидива через 1 год и 5 лет при использовании классификации EORTC [30].

По мнению Soukup V. et al. [200], классификации риска основаны на исследовании популяций, лечение которых отличалось от современного стандарта, что является важным недостатком прогностических моделей. Так, любые изменения в плане лечения пациентов, например, повторная ТУР; незамедлительная постоперативная инстиляция химиотерапии; БЦЖ-терапия могут улучшить прогноз заболевания, поэтому прогностические модели могут переоценивать риск рецидива и прогрессии, согласно современным рекомендациям. Недостатком классификаций также является субъективность при оценке некоторых параметров МНРМП, в том числе - размер опухоли и количество поражений во время ТУР, вариабельность заключений у различных экспертов-патоморфологов при диагностике стадии заболевания и степени дифференцировки образования [200]. Любой из приведенных факторов в последствии может привести к неправильной классификации опухоли. Поэтому, в перспективе каждая модель может быть доработана и улучшена с помощью обновления и пересчета устаревших данных, либо с помощью поиска факторов, дополняющих классификацию. Одним из таких перспективных факторов является ИГХ-исследование.

Passoni N. Et. al. [201] предприняли попытку проанализировать экспрессию ИГХ-маркеров клеточного цикла (а именно, p21, p27, p53, KI-67, cyclin E1) в группе пациентов с МНРМП высокого риска рецидива. Авторами получено, что выбранная панель не имела предикативной способности в отношении рецидива опухоли, а также что добавление ИГХ-панели к классификациям EORTC и CUETO не имеет существенного влияния на прогнозирование рецидива.

Несмотря на то, что классификации риска рецидива МНРМП не являются оптимальными, наше исследование подтверждает целесообразность использования степени дифференцировки опухоли как фактора риска рецидива МНРМП. Также интеграция результатов нашего ИГХ-исследования с моделями EORTC и CUETO может повысить прогностический потенциал классификаций, что будет играть существенную роль в исходе заболевания.

Роль глубины инвазии опухоли (патологоанатомической стадии T) в прогнозе течения и определении риска рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря.

По данным нашего исследования установлено, что частота рецидива МНРМП напрямую связана с инвазией МПСО, и, что рецидив опухоли со стадией pT1b встречается почти в 3 раза чаще, чем при стадии pT1a.

По данным мета-анализа Parizi M.K. et al. [139] в 7 исследованиях, включавших 899 пациентов, и в 6 исследованиях, включавших 930 пациентов инвазия МПСО была связана с прогрессией (OR = 2,61; 95% ДИ: 1,61–4,23) [202–208] и рецидивом МНРМП (OR = 1,23; 95% ДИ: 1,01–1,49), соответственно [180,202–204,208,209].

В исследовании Ульянина М. Ю. и др. наличие поражения МПСО (стадии T1b и T1c) более в 2 раза увеличивало частоту рецидивов МНРМП ($p < 0,05$), а также наличие стадии T1c сокращало время до наступления рецидива заболевания в 2,5 раза ($p < 0,05$) [210].

В работе Angulo J.C. et al. [211], на основании 99 случаев МНРМП, была продемонстрирована различная пятилетняя выживаемость у пациентов со стадией T1A и T1B: 86% против 52%, соответственно (log-rank тест, $p < 0,02$). Принципом данной работы являлось объединение опухолей T1b и T1c стадий в единую группу T1B. Исследователями также выявлена связь между глубиной инвазии (T1A-B) и степенью дифференцировки злокачественного новообразования (G1, G2, G3), при этом, опухоли с инвазией МПСО (T1B) имели более высокую степень клеточной анаплазии, чем поражения T1A (с инвазией собственной пластинки до уровня МПСО; $\chi^2 = 6,33$, $p = 0,04$) [211]. Интересной особенностью исследования [211] являлось то, что 45% опухолей G2 имели стадию T1A, а 60% - T1B, что дополнительно подтверждает факт различного прогноза у пациентов с данной степенью дифференцировки опухолей.

В работе Holmäng S. et al. [143] также использовали двухступенчатое стадирование опухолей T1 (под T1a – принималась инвазия опухоли до МПСО, под T1b – за пределы МПСО). Образования со степенью дифференцировки G3 достоверно чаще встречались у пациентов со стадией заболевания T1b (79% против 40%, $p < 0,001$) [143]. Также, отмечено, что у пациентов с карциномами G3 был более высокий темп прогрессии заболевания (58% по сравнению с 36%, $p > 0,05$) и удвоенный риск смерти от РМП по сравнению с пациентами со стадией T1aG3 (45% против 23%, $p > 0,05$) [143]. Дополнительно, у половины (52%) пациентов со степенью дифференцировки G2 была установлена T1a стадия заболевания, в 10% случаев умереннодифференцированных опухолей выявлена T1b стадия [143]. Исследователи пришли к выводу, что пациенты с опухолями T1bG2 имели такой же неудовлетворительный прогноз, как и пациенты с опухолями pT1aG3 [143].

Полученные нами данные в отношении субстадий стадии pT1 полностью соотносятся с научными работами, представленными в литературе, и, будущие исследования по подобной теме могут привести к интеграции субстадирования РМП в будущую классификацию TNM.

В заключение, основываясь на данных нашего исследования и данных литературы, мы не исключаем, что любая глубина инвазии опухоли сопряжена с высоким риском рецидива заболевания. Нам видится целесообразным расценивание обеих субстадий pT1 (pT1a, pT1b) факторами высокого риска рецидива МНРМП.

Роль иммуногистохимического исследования в диагностике степени дифференцировки опухоли и прогнозе заболевания.

Учитывая важность степени клеточной анаплазии в прогнозировании рецидива РМП, чрезвычайно актуальным вопросом является точная диагностика степени дифференцировки опухоли, которая при рутинном патоморфологическом исследовании может вызывать затруднения. Для этого могут использоваться дополнительные методы исследования, а именно ИГХ.

С целью уточнения степени дифференцировки опухоли исследователями предпринимались попытки нахождения маркеров, способных точно определить степень анаплазии РМП.

Так, Moradi Tabriz H. et al. [212] проанализировали экспрессию маркеров Her2 и сурвивина при РМП высокой и низкой степени злокачественности, однако, авторы не нашли связи между выбранными маркерами и степенью дифференцировки опухоли.

В литературе также имеются сведения о прямой связи экспрессии MMP-28 со степенью дифференцировки опухоли [213]. Подобную связь обнаружили Jalali Nadoushan M. Et.al. [214] в отношении MDM2, а Enache M. et al. [215] в отношении EGFR.

В нашем исследовании было решено оценить роль экспрессии СК20, Ki-67, p53 и CD44 в диагностике степени дифференцировки опухоли.

В работе Roychowdhury et al. [216] показано, что положительное окрашивание с антителом к p53 отмечалось у карцином высокой и низкой степени злокачественности, однако недостатком их исследования является отсутствие подробного уточнения характера экспрессии p53 в группах по степени дифференцировки.

Shim et al. [217] оценивали связь экспрессии Ki-67, p53, СК20 и клинко-морфологических параметров опухоли, а также влияние экспрессии ИГХ-маркеров на вероятность возникновения рецидива РМП. Авторы отметили, что диагностически и прогностически целесообразно использовать маркер Ki-67, однако маркеры p53 и СК20 не показали существенных результатов [217].

В нашем исследовании показано, что все из предложенных нами маркеров (СК20, Ki-67, p53 и CD44) целесообразны для уточнения степени дифференцировки МНРМП.

Mumtaz et al. [218] проанализировали экспрессию p53 и СК20 в папиллярных карциномах как высокой, так и низкой степени злокачественности, где сообщалось о значительной связи между степенью дифференцировки опухоли и ИГХ-экспрессией маркеров, однако, в исследование были включены не только МНРМП, но и МИРМП. Похожее исследование провели Thakur V. et al. [219], где авторы показали связь степени дифференцировки РМП (МНРМП и МИРМП) с экспрессией маркеров p53 и Ki-67. Стоит отметить, что исследования Mumtaz et al. [218] и Thakur V. et al. [219] не акцентировались только на подгруппе МНРМП, что не дает возможности более детальной и точной интерпретации экспрессии ИГХ-маркеров, так как нельзя исключить влияние такого фактора, как инвазия опухоли в мышечную оболочку на общую ИГХ картину.

В исследовании Muilwijk T. et. al. [220] оценивалась экспрессия ИГХ-маркеров CK5, P40, P63, GATA3 и CK20 на предмет связи со степенью дифференцировки опухоли. Авторы показали, что со снижением степени дифференцировки опухоли снижаются показатели экспрессии CK5 и возрастают показатели CK20 [220]. В нашем исследовании, напротив, при опухолях высокой степени злокачественности экспрессия CK20 менее выражена, чем при опухолях низкой степени злокачественности.

Иммунореактивность маркеров CD44 и CK20 при МНРМП была изучена в исследовании Desai S. Et. al. [221], где выявлено что потеря экспрессии CD44 и последовательное повышение экспрессии CK20 связано со снижением степени дифференцировки опухоли. Характер экспрессии CD44 в вышеописанной работе совпадает с полученными в нашем исследовании данными, однако при оценке маркера CK20 нами получены противоположные результаты.

Yin H. и Leong AS. [222] предприняли попытку иммунотипирования МНРМП с маркерами Ki-67, p53, CK20, используя классификации ВОЗ от 1973 и 1998 гг. Несмотря на выраженные различия в экспрессии маркеров при использовании двухступенчатой классификации (1998г), для трехступенчатой классификации (1973г), окрашивание с маркером Ki-67 не позволяло разграничить группы G2 и G3 ($p > 0.05$), а окрашивание с маркером p53 - группы G1 и G2 ($p > 0.05$). В нашей работе для каждой группы (степени дифференцировки) и маркера получены значимые различия в характере экспрессии.

Роль иммуногистохимического исследования в диагностике молекулярного подтипа опухоли и дальнейшем прогнозе заболевания.

Прогнозирование течения РМП тесно связано с молекулярным подтипом злокачественного новообразования [78,223–228]. Как было сказано ранее, опухоли базального подтипа отличаются агрессивным клиническим поведением и плохим прогнозом для пациентов, тогда как люминальные новообразования

ассоциированы с улучшенной выживаемостью [63,64,78,81,147,229–236]. Для идентификации молекулярных подтипов РМП может быть использован ИГХ-метод, при этом, в клинической практике, идеальные биологические маркеры должны отражать явные и подтип-специфичные отличия в уровне экспрессии, которые будут понятны для врачей-патологоанатомов без опоры на компьютеризированный количественный анализ [237].

Ранее, нами упоминалась работа Dadhania V. et al. [147], где в качестве наиболее достоверных маркеров (точность = 91%), разграничивающих люминальный и базальные подтипы, были выбраны маркеры GATA3 и CK5/6, соответственно. Мы также подтверждаем наличие выраженной экспрессии CK20 в люминальном подтипе опухолей и CK5/6 – в базальном. Однако, в отличие от нашего исследования, работа Dadhania V. et al. [147] была выполнена на основе образцов, как МНРМП, так и МИРМП, что может снижать точность определения молекулярных подтипов в группе МНРМП, более того, в работе использовался маркер Uroplakin II, а не III, поэтому мы не можем доподлинно сравнивать данные антитела в отношении принадлежности к люминальному подтипу. Также, в нашем исследовании мы наблюдали выраженную экспрессию маркеров GATA3 в обеих молекулярных подгруппах. Данная находка является неоднозначной: во-первых, она может свидетельствовать о наличии большего количества молекулярных подтипов, чем мы определяем в нашем исследовании, что, отчасти, подтверждается существованием нескольких молекулярных классификаций РМП [63,65,238]; во-вторых, возможно, GATA3 не является настолько высокоспецифичным маркером для люминального подтипа опухолей, заявленном в исследовании Dadhania V. et al. [147]. Следовательно, утверждение молекулярно-генетических типов РМП все еще требует подробного изучения, а дальнейшее использование маркера GATA3 для определения молекулярных подтипов МНРМП должно валидироваться большим объемом исследований.

В схожей работе Guo C.C. et al. [81], анализировавших панель ИГХ-антител для выявления молекулярных подтипов РМП, было отмечено, что CK20 и Uroplakin II имели перекрестный характер экспрессии между люминальным и базальным подтипом. Исследователи установили, что наилучшими маркерами (точность = 89,1%) для субтипирования карцином является GATA3, для выявления люминального подтипа, и CK5/6 - для базального. Мы также соглашаемся с выводами данной работы в отношении CK5/6, но подвергаем сомнению заключение относительно маркеров CK20 и GATA3.

Исследование Hardy C.S.C. et al. [237], продемонстрировало два ИГХ-алгоритма: первый, с маркерами GATA3, CK5 и p16, который классифицировал молекулярные подтипы с 86%–95% точностью; и, второй, использующий маркеры CK14 и RB1 с точностью 93%–96%. Недостатком работы является использование образцов МИРМП, а также небольшой объем выборки. Однако, полученные панели [237] представляются многообещающими и требуют дальнейшего изучения, ввиду достоверности полученных данных и широты доступности выбранных ИГХ-антител в повседневной патолого-анатомической практике.

Nedegaard et al. [65], проанализировав 460 случаев МНРМП (опухоли T_a, T₁, C_{is}), идентифицировали три различных биологических класса опухолей, с базально- и люминальноподобными чертами. Было установлено, низкая степень дифференцировки, более поздняя стадия заболевания, сопутствующая C_{is}, высокая сумма баллов по шкале рецидивов EORTC и прогрессия в МИРМП наблюдалась чаще в опухолях 2 и 3 классов. Таким образом, опухоли 2 и 3 классов имели более агрессивное течение, а показатели выживаемости пациентов в отношении рецидива и прогрессии были ниже, чем в опухолях 1 класса. Крайне интересной особенностью исследования является сравнение трехступенчатой классификации МНРМП [65] с классификацией Лундского университета в отношении МИРМП [63]: авторы обнаружили значимое наложение 3 классов неинвазивных опухолей на таксономию, предложенную университетом для инвазивных карцином. Выводы

работы Hedegaard et al.[65], основанные на молекулярных и клинических особенностях, показали, что 1 и 2 классы карцином имели люминально-подобные характеристики, но демонстрировали различный уровень опухолевой агрессии, тогда как 3 класс образований имел базально-подобные черты. Также авторами [65] отдельно отмечено сходство 2 класса неинвазивных опухолей с МИРМП.

Секвенирование РНК в работе Chandrasekar T. et al. [239] выявило 3 класса МНРМП с различными рисками прогрессии в МИРМП, по сравнению с гистологическим определением степени дифференцировки. Авторы обозначили названия классов, как “molecular grade risk index” (MGRI, индекс риска молекулярной степени дифференцировки). При этом опухоли MGRI1 практически исключительно имели высокую степень дифференцировки (low-grade), тогда как опухоли MGRI3 кластеризовались вместе с опухолями МИРМП [239]. Исследование мутационных профилей опухолей показало, что все 3 класса происходят из 2 молекулярных подтипов (MGRI1 и MGRI3), при этом карциномы MGRI2 класса отражали смесь двух подтипов. MGRI1, MGRI2 и MGRI3 коррелировали с патоморфологическими степенями дифференцировки опухоли G1, G2 и G3 (классификация ВОЗ от 1973 г.), при этом уровень согласия между экспертами-патологоанатомами обладал существенной изменчивостью (коэффициент Каппа Коэна = 0,41) [239]. Более того, 5-летняя выживаемость пациентов без прогрессии заболевания значительно отличалась во всех трех группах: MGRI1 – 100%, MGRI2 – 92,2%, MGRI3 – 73,5%, $p = 1,99 \times 10^{-05}$ [239].

Хотелось бы отметить, что результаты сторонних исследований подтверждают нашу гипотезу в отношении умереннодифференцированных (G2) опухолей. Представляется, что трехступенчатая морфологическая классификация поражений не перестает быть актуальной в наше время, учитывая различное клиническое поведение опухолей G2. По данным нашего исследования, опухоли G2 имеют отличные (от других степеней дифференцировки) признаки. Четко прослеживается связь умереннодифференцированных карцином с определенными

шансами и рисками рецидива, отличными от других групп, с молекулярными подтипами (опухоли со степенью дифференцировки G2 могут принадлежать как к базальному, так и люминальному подтипу), а также, по данным научной литературы с субстадией pT1 [143,211].

Подводя итоги, нами был сформулирован алгоритм ведения пациентов с морфологически подтвержденным МНРМП в зависимости от степени риска рецидива, представленный на Рисунке 28.

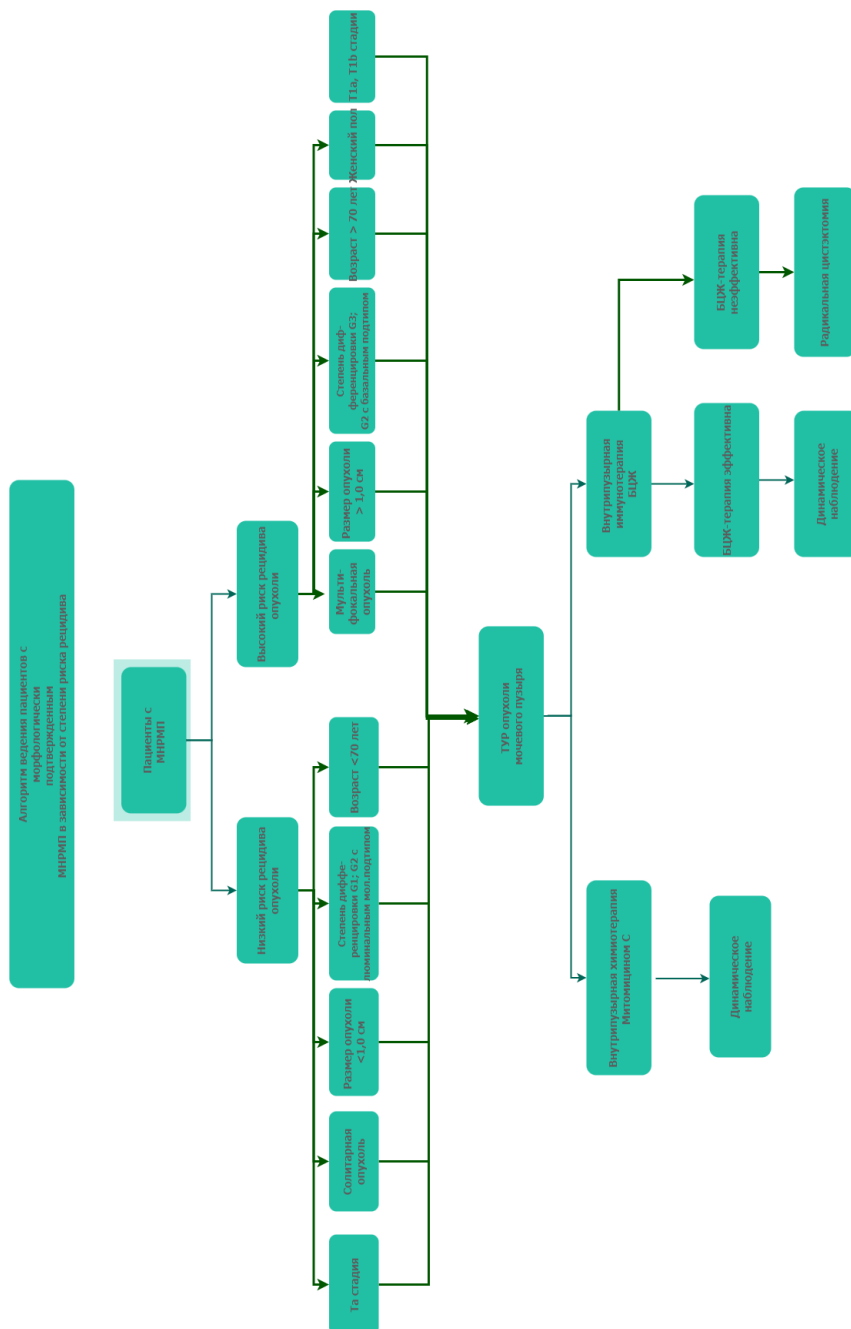


Рисунок 28. Алгоритм ведения пациентов с морфологически подтвержденным мышечно-неинвазивным раком в зависимости от степени риска рецидива

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рак мочевого пузыря является полиэтиологичным злокачественным новообразованием, которое имеет различные клинические, генетические, морфологические и иммуногистохимические свойства.

Наиболее часто встречающейся формой рака мочевого пузыря является мышечно-неинвазивной, которая имеет различный потенциал злокачественности в зависимости от клинико-морфологических и иммуногистохимических параметров опухоли. К сожалению, на настоящий момент большая часть мышечно-неинвазивных карцином имеет рецидивирующее течение, поэтому принципиальную важность имеет определение параметров, ответственных за неблагоприятное течение болезни.

В нашем исследовании были изучены такие факторы как: пол и возраст пациентов, размер опухоли, количество новообразований, степень дифференцировки поражений и глубина инвазии опухоли. Нами выявлено, что заболеваемость мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря отмечается у женщин более позднего возраста, чем у мужчин, что диктует потребность в прицельной онконастороженности к пациенткам пожилого возраста врачами-урологами, онкологами, патологоанатомами.

Доказано, что при увеличении размеров мышечно-неинвазивной опухоли достоверно увеличивался шанс рецидива заболевания. При этом, нами

использовалась пятиступенчатая градация размера рака мочевого пузыря, что более точно отражает взаимосвязь данного параметра с неблагоприятным течением болезни. Мы считаем целесообразным интегрирование использованной градации в существующие классификации риска или создание новой модели риска, с полученными нами результатами.

Патоморфологическая диагностика мышечно-неинвазивной уротелиальной карциномы требует определения степени клеточной анаплазии в опухолевых клетках, однако, это не всегда является простой задачей. Отсутствие общепринятого консенсуса между врачами-патологоанатомами в определении степени дифференцировки опухоли, разнородность, имеющих на данный момент, классификаций, а также возможные искусственные изменения и малый объем материала в гистологических препаратах затрудняют точную оценку степени злокачественности новообразования.

Оценка глубины инвазии опухоли, а именно, выявление субстадий стадии pT1 является важным фактором исхода заболевания у пациентов. В нашей работе выявлено, что частота встречаемости рецидивов мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря у пациентов резко повышается (почти в 3 раза) при наличии инвазии опухоли в мышечную пластинку слизистой оболочки. Нам видится целесообразным интегрирование субстадирования в патолого-анатомические и клинические классификации для повышения их прогностической точности.

В нашем исследовании была определена иммуногистохимическая панель антител (CK20, Ki-67, p53, CD44), которая позволяет не только разрешить спорные диагностические вопросы в отношении определения степени злокачественности мышечно-неинвазивного рака, но и позволяет оценить дальнейшее клиническое течение болезни, что в свою очередь модифицирует подход к лечению пациентов.

Нами была оптимизирована иммуногистохимическая панель антител для диагностики молекулярных подтипов мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря. Так, для люминального подтипа опухолей оптимальным является

использование маркеров CK20 и Uroplakin III, тогда как для базального - применение маркеров CK5/6, CD44 и p53.

Проведенное нами исследование и полученные данные могут привлечь большее внимание врачей-урологов, онкологов и патоморфологов к проблеме злокачественных новообразований мочевого пузыря, что в дальнейшем поспособствует снижению риска рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря у пациентов, а также позволит оптимизировать диагностику данного заболевания.

ВЫВОДЫ

1. На течение, прогноз и исход мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря влияют следующие параметры: пол, возраст, размер опухоли, мультифокальность (множественность) поражения, степень дифференцировки новообразования и иммуногистохимический фенотип опухоли.

2. Женщины подвержены мышечно-неинвазивному раку мочевого пузыря в более позднем возрасте ($M \pm SD = 72,9 \pm 8,65$ лет), чем мужчины ($M \pm SD = 67,36 \pm 11,25$ лет; уровень значимости $p = 0,03$).

3. Степень злокачественности мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря у пациентов разных возрастных групп различный: высокодифференцированный рак (G1 - $64,67 \pm 9,41$ лет) встречается у пациентов более молодого возраста, чем у пациентов с умеренно (G2 - $71,41 \pm 9,6$ лет, $p = 0,02$) и низкодифференцированными (G3 - $70,12 \pm 13,07$ лет, $p = 0,03$) опухолями. Значимого влияния пола и возраста пациентов на рецидив мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря не выявлено.

4. Размер опухоли статистически значимо увеличивается со снижением степени дифференцировки: средний размер опухолей со степенью дифференцировки G1 ($1,36 \pm 1,15$ см) значимо меньше по сравнению с патоморфологическим типом G2 ($2,6 \pm 2,1$ см) и G3 ($2,79 \pm 1,52$ см; уровень значимости составил 0,002 и 0,0017, соответственно). При этом, 63,3% опухолей

G1 имели размер ≤ 1 см, в то время, как 43,6% образований G2 и 54,2% опухолей G3 имели размер более 2 см ($p = 0,0119$).

5. При увеличении размеров опухоли (опухоль более 1 см) достоверно увеличивается шанс рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря (по данным модели логистической регрессии). Шанс рецидива при опухолях размером 1-1,5 см (3 категория) в 15,71 раз выше (ДИ 95% = 2,17-165,88; $p = 0,01$), чем при опухолях $<0,5$ см (1 категория), при опухолях 1,6-2 см (4 категория) – в 7,87 раз выше (ДИ 95% = 1,14-76,30; $p = 0,047$), а при поражениях размером более 2 см (5 категория) - в 20,63 раз (ДИ 95% = 4,36-156,35; $p = 0,0005$). Аналогичные результаты получены при использовании регрессионной модели Кокса (ДИ 95%₃ = 1,38-32,57, $p_3 = 0,01$; ДИ 95%₄ = 1,13-27,99, $p_4 = 0,03$; ДИ 95%₅ = 2,38-44,54, $p_5 = 0,001$, соответственно).

6. При оценке частоты рецидива опухоли точным тестом Фишера выявлено, что при мультифокальном поражении злокачественной опухолью мочевого пузыря рецидив заболевания встречается в 1,95 раз чаще, чем при солитарном ($p = 0,001$). При использовании регрессионной модели Кокса выявлено, что риск рецидива при солитарных опухолях ниже, чем при мультифокальном поражении (95% ДИ = 0,20-0,72; $p=0,00295$). Период безрецидивного дожития у пациентов с мультифокальной опухолью меньше, чем у пациентов с солитарной опухолью: лог-ранк тест для кривых безрецидивного дожития при мультифокальных и солитарных опухолях выявил значимое различие (p -значение = 0,003).

7. Степень дифференцировки опухоли значимо влияет на возникновение рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря, при этом, умеренная (G2) и низкая (G3) степени дифференцировки злокачественных опухолей мочевого пузыря ассоциированы с более высокими шансами рецидива – в 2,79 раз (ДИ 95% = 1,04-7,90, $p = 0,0463$) и 4,78 раз (ДИ 95% = 1,50-16,62, $p = 0,0101$), соответственно, по сравнению с высокодифференцированными (G1) опухолями при использовании модели логистической регрессии. Аналогичные результаты получены при

использовании регрессионной модели Кокса (ДИG2 95% = 1,06-4,88, pG2 = 0,03459; ДИ 95%G3 = 1,36-6,89; pG3 = 0,00693).

8. Наличие опухолевой инвазии в мышечную пластинку слизистой оболочки (стадия pT1b) сопряжено с большей частотой рецидивов у пациентов с мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря. При оценке частоты рецидива опухоли точным тестом Фишера выявлено, что рецидив заболевания при опухолях T1b встречается в 2,83 раза чаще, чем при опухолях T1a стадии (p = 0,003). Нами не было выявлено случаев рецидива у пациентов с опухолями Ta стадии.

9. В ряду высокодифференцированных – низкодифференцированных мышечно-неинвазивных карцином мочевого пузыря выявлено достоверное увеличение экспрессии двух маркеров - Ki-67 и p53, с $8,19 \pm 4,75$ до $66,48 \pm 6,82$ и с $42,19 \pm 19,33$ до $79,43 \pm 7,21$, соответственно, и достоверное снижение двух маркеров - CK20 и CD44, с $177,53 \pm 36,8$ до $62,32 \pm 4,19$ и с $221,08 \pm 29,55$ до $50,75 \pm 1,38$. Полученные данные демонстрируют оптимальный выбор данных маркеров для точной иммуногистохимической диагностики степени злокачественности мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря.

10. Для люминального молекулярного подтипа мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря характерна выраженная экспрессия маркеров CK20 (HScore = $231,45 \pm 21,8$; p<0,001) и Uroplakin III (HScore = $158,18 \pm 74,65$; p<0,001), тогда, как базальный подтип опухолей отличается яркой экспрессией маркеров CK5/6 (Hscore = $178,51 \pm 40,32$; p<0,001), CD44 (Hscore = $222,13 \pm 24,58$; p<0,001) и p53 (Hscore = $110,76 \pm 7,93$; p<0,001). Экспрессия маркера GATA3 не являлась дифференцирующей для молекулярных подтипов.

Практические рекомендации

1. Для определения степени риска рецидива у пациентов с мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря требуется учет следующих клинических и

морфологических данных: пол, возраст, размер опухоли, количество поражений, степень дифференцировки опухоли, глубина инвазии опухоли. При этом, низкому риску рецидива соответствуют: возраст пациента менее 70 лет, размер опухоли менее 1 см, степень дифференцировки опухоли G1 (высокодифференцированная), степень дифференцировки опухоли G2 (умереннодифференцированная) с люминальным молекулярным подтипом, солитарная опухоль, опухоль без инвазии в подэпителиальную соединительную ткань (стадия T_a). Высокий риск рецидива опухоли характеризуется женским полом, возрастом более 70 лет, размером поражения более 1 см, степенью дифференцировки опухоли G2 (умереннодифференцированной) с базальным молекулярным подтипом и G3 (низкодифференцированной), мультифокальной опухолью, а также вращением опухоли в подэпителиальную соединительную ткань без/с инвазией в мышечную пластинку слизистой оболочки (стадии T_{1a}/T_{1b}) (см. Алгоритм ведения пациентов с морфологически подтвержденным мышечно-неинвазивным раком в зависимости от степени риска рецидива).

2. Для уточнения степени дифференцировки (G1, G2, G3) мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря при неоднозначной морфологической картине целесообразно проведение иммуногистохимического исследования с маркерами CK20, Ki-67, p53, и CD44.

3. Для определения молекулярного подтипа мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря целесообразно проведение иммуногистохимического исследования с маркерами CK20, p53, CD44, Uroplakin III и CK 5/6.

4. Вне зависимости от риска рецидива при впервые выявленном мышечно-неинвазивном раке мочевого пузыря пациентам показано проведение трансуретральной резекции мочевого пузыря с последующей внутривезикулярной химиотерапией Митомицином С. Дальнейшую лечебно-диагностическую тактику (выбор препарата для внутривезикулярной терапии, частота и длительность выполнения контрольных цистоскопий) необходимо определить в зависимости от риска рецидива заболевания по результатам клинико-морфологического и иммуногистохимического исследования.

Список сокращений

БЦЖ – бацилла Кальметта–Герена

ВАК – Высшая аккредитационная комиссия

ВОЗ - Всемирная Организация Здравоохранения

ДИ – доверительный интервал

ИГХ - иммуногистохимия

МИРМП – мышечно-инвазивный рак мочевого пузыря

МЛР – модель логистической регрессии

МНРМП – мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря

МПСО – мышечная пластинка слизистой оболочки

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

ОР – отношение рисков (Hazard ratio)

ОШ – отношение шансов (Odds Ratio)

РМП – рак мочевого пузыря

РФ – Российская Федерация

США – Соединенные Штаты Америки

ТУР – трансуретральная резекция

ТУР МП - трансуретральная резекция мочевого пузыря

AJCC - American Joint Committee on Cancer (Американский объединенный комитет по Раку)

AUA - American Urological Association (Американская урологическая ассоциация)

AUC – area under curve (площадь под кривой)

CD44 – трансмембранный гликопротеин CD44

CDH11 – кадгерин-11

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

CUETO - Club Urologico Espanol de Tratamiento Oncologico (Испанский урологический клуб онкологического лечения)

CyclinD1 - циклин D1

CyclinE1 – циклин E1

EAU - European Association of Urology (Европейская ассоциация урологов)

EGFR – трансмембранный рецептор (белок) эпидермального фактора роста

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

FGFR3 – ген *FGFR3*, рецептор фактора роста фибробластов 3

FISH - флуоресцентная гибридизация *in situ*

G1 – grade 1 (высокодифференцированный)

G2 - grade 2 (умереннодифференцированный)

G3 - grade 3 (низкодифференцированный)

GATA2 - ген, кодирующий белок фактор транскрипции *GATA2*

GATA2, 3 – белок транскрипционный фактор 2, 3

GLUT1 – глюкозный транспортер тип 1, белок-переносчик глюкозы

HER2 – белок, рецептор эпидермального фактора роста, тип 2

HGPUC – high-grade papillary urothelial carcinoma (папиллярная уротелиальная карцинома высокой степени злокачественности)

HScore – HistoScore, методика оценки иммуногистохимической реакции

ICCR - International Collaboration on Cancer Reporting (Международная ассоциация по отчетности о раке)

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

Ki-67 - маркер клеточной пролиферации Ki-67

LGPUC – low-grade papillary urothelial carcinoma (папиллярная уротелиальная карцинома низкой степени злокачественности)

M – mean (арифметическое среднее)

Max – maximum (максимальное значение)

Me – median (медиана)

MDM2 (Mouse double minute 2 homolog) - убиквитин-протеинлигаза E3

Min – minimum (минимальное значение)

MMP-28 – матриксная металлопротеиназа 28

p21 – белок-ингибитор циклин-зависимой киназы 1А

p27 – белок-ингибитор циклин-зависимой киназы 1Б

p40 – белок p40

p53 – белок p53

p63 – белок p63

PIK3CA – ген *PIK3CA*, каталитическая субъединица фосфатидилинозит-4,5-бисфосфат-3-киназы альфа.

PUC - papillary urothelial carcinoma (папиллярная уротелиальная карцинома)

PUNLMP – papillary urothelial neoplasm of low malignant potential (папиллярная неоплазия уротелия с низким злокачественным потенциалом)

Q1 – first quartile (первый квартиль)

Q3 – third quartile (третий квартиль)

RAS (Retrovirus Associated DNA Sequences) – семейство генов RAS

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

SD – standart deviation (стандартное отклонение)

T1 – опухоль с инвазией в подэпителиальную соединительную ткань

T1a – опухоль с инвазией в подэпителиальную соединительную ткань до мышечной пластинки слизистой оболочки

T1b – опухоль с инвазией в подэпителиальную соединительную ткань и в мышечную пластинку слизистой оболочки

TBX2, 3 – ген-фактор транскрипции *TBX2, 3*

TERT – ген обратной теломеразной транскриптазы

Tis – tumor in situ (рак in situ)

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

Uroplakin2 – белок уроплакин-2

ZIC4 – ген *Zic4*

Список литературы

1. Halaseh S.A. и др. A Review of the Etiology and Epidemiology of Bladder Cancer: All You Need To Know. // *Cureus*. 2022. Т. 14, № 7. С. e27330.
2. Antoni S. и др. Bladder Cancer Incidence and Mortality: A Global Overview and Recent Trends. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2017. Т. 71, № 1. С. 96–108.
3. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2019. // *CA. Cancer J. Clin. United States*, 2019. Т. 69, № 1. С. 7–34.
4. Ferlay J. и др. *Global cancer Observatory: cancer today*. Lyon, France: international agency for research on cancer. 2018.
5. Miller K.D. и др. Cancer statistics for the US Hispanic/Latino population, 2021. // *CA. Cancer J. Clin. United States*, 2021. Т. 71, № 6. С. 466–487.
6. Rubio-Briones J. и др. Recent Advances in the Management of Patients with Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer Using a Multidisciplinary Approach: Practical Recommendations from the Spanish Oncology Genitourinary (SOGUG) Working Group. // *Cancers (Basel)*. 2021. Т. 13, № 19.
7. Cathomas R. и др. The 2021 Updated European Association of Urology Guidelines on Metastatic Urothelial Carcinoma. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2022. Т. 81, № 1. С. 95–103.
8. Kamat A.M., Bağcıoğlu M., Huri E. What is new in non-muscle-invasive bladder cancer in 2016? // *Turkish J. Urol.* 2017. Т. 43, № 1. С. 9.
9. Ploeg M., Aben K.K.H., Kiemeny L.A. The present and future burden of urinary bladder cancer in the world. // *World J. Urol.* 2009. Т. 27, № 3. С. 289–293.

10. Didkowska J. и др. Cancer incidence and mortality in Poland in 2019. // *Sci. Rep.* 2022. Т. 12, № 1. С. 10875.
11. Jemal A. и др. Cancer statistics, 2005. // *CA. Cancer J. Clin. United States*, 2005. Т. 55, № 1. С. 10–30.
12. Miyazaki J., Nishiyama H. Epidemiology of urothelial carcinoma. // *Int. J. Urol. Off. J. Japanese Urol. Assoc. Australia*, 2017. Т. 24, № 10. С. 730–734.
13. Sung H. и др. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries // *CA. Cancer J. Clin. American Cancer Society*, 2021. Т. 71, № 3. С. 209–249.
14. Liu S., Chen X., Lin T. Lymphatic metastasis of bladder cancer: Molecular mechanisms, diagnosis and targeted therapy. // *Cancer Lett. Ireland*, 2021. Т. 505. С. 13–23.
15. Anastasiadis A., de Reijke T.M. Best practice in the treatment of nonmuscle invasive bladder cancer // *Ther. Adv. Urol.* 2012. Т. 4, № 1. С. 13–32.
16. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году. 2019.
17. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Состояние онкологической помощи населению России в 2021 году. Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022. 239 с.
18. Аксель Е.М, Матвеев В.Б. . Статистика злокачественных новообразований мочевых и мужских половых органов в России и странах бывшего СССР // *Онкоурология.* 2019. Т. 15, № 2. С. 15–24.
19. Hendricksen K., Witjes J.A. Treatment of Intermediate-Risk Non–Muscle-Invasive Bladder Cancer (NMIBC) // *Eur. Urol. Suppl.* 2007. Т. 6, № 14. С. 800–808.
20. Kassouf W. и др. CUA guidelines on the management of non-muscle invasive bladder cancer // *Can. Urol. Assoc. J.* 2015. Т. 9, № 9–10. С. E690.
21. Biluts H., Minas E. Bladder Tumours at Tikur Anbessa Hospital in Ethiopia. // *East Cent. African J. Surg.* 2011. Т. 16, № 1.
22. Shen P., Hong Y., He X. Bladder preservation approach versus radical cystectomy for high-grade non-muscle-invasive bladder cancer: a meta-analysis of cohort studies // *World J. Surg. Oncol.* 2018. Т. 16, № 1. С. 1–15.
23. Abdollah F. и др. Incidence, survival and mortality rates of stage-specific bladder cancer in United States: a trend analysis. // *Cancer Epidemiol. Netherlands*, 2013. Т. 37, № 3. С. 219–225.
24. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2017 // *CA. Cancer J. Clin. American*

- Cancer Society, 2017. Т. 67, № 1. С. 7–30.
25. Sylvester R.J. и др. Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2006. Т. 49, № 3. С. 466–467.
 26. Fernandez-Gomez J. и др. Predicting nonmuscle invasive bladder cancer recurrence and progression in patients treated with bacillus Calmette-Guerin: the CUETO scoring model. // *J. Urol. United States*, 2009. Т. 182, № 5. С. 2195–2203.
 27. Babjuk M. и др. EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder, the 2011 update. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2011. Т. 59, № 6. С. 997–1008.
 28. Babjuk M. и др. EAU Guidelines on Non-Muscle-invasive Urothelial Carcinoma of the Bladder: Update 2016. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2017. Т. 71, № 3. С. 447–461.
 29. Chang S.S. и др. Diagnosis and Treatment of Non-Muscle Invasive Bladder Cancer: AUA/SUO Guideline // *J. Urol.* 2016. Т. 196, № 4. С. 1021–1029.
 30. Jobczyk M. и др. 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. // *Cancer Med.* 2020. Т. 9, № 11. С. 4014–4025.
 31. Xylinas E. и др. Accuracy of the EORTC risk tables and of the CUETO scoring model to predict outcomes in non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder // *Br. J. Cancer.* 2013. Т. 109, № 6. С. 1460–1466.
 32. Krajewski W. и др. 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 // *Urol. Oncol. Semin. Orig. Investig.* 2022. Т. 40, № 11. С. 491.e11-491.e19.
 33. Dovey Z. и др. 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. // *Urol. Oncol. United States*, 2022. Т. 40, № 3. С. 106.e1-106.e10.
 34. Busato Júnior W.F.S. и др. EORTC Risk Model to Predict Progression in Patients With Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer: Is It Safe to Use in Clinical Practice? // *Clin. Genitourin. Cancer. United States*, 2016. Т. 14, № 2. С. 176–182.
 35. Holz S. и др. Risk factor assessment in high-risk, bacillus Calmette-Guérin-treated, non-muscle-invasive bladder cancer. // *Res. reports Urol.* 2017. Т. 9. С. 195–202.
 36. Dalkilic A., Bayar G., Kilinc M.F. 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. // *Urol. J. Iran*, 2019. Т. 16, № 1. С. 37–43.

37. R. R.C. и др. Use and Validation of the AUA/SUO Risk Grouping for Nonmuscle Invasive Bladder Cancer in a Contemporary Cohort // *J. Urol.* WoltersKluwer, 2020. Т. 203, № 3. С. 505–511.
38. Matulewicz R.S., Steinberg G.D. Non-muscle-invasive Bladder Cancer: Overview and Contemporary Treatment Landscape of Neoadjuvant Chemoablative Therapies. // *Rev. Urol.* 2020. Т. 22, № 2. С. 43–51.
39. Babjuk M. и др. European Association of Urology Guidelines on Non-muscle-invasive Bladder Cancer (Ta, T1, and Carcinoma in Situ). // *Eur. Urol. Switzerland*, 2022. Т. 81, № 1. С. 75–94.
40. Babjuk M. и др. European association of urology guidelines on non-muscle-invasive bladder cancer (TaT1 and carcinoma in situ)-2019 update // *Eur. Urol.* 2019. Т. 76, № 5. С. 639–657.
41. Bosschieter J. и др. Reproducibility and Prognostic Performance of the 1973 and 2004 World Health Organization Classifications for Grade in Non-muscle-invasive Bladder Cancer: A Multicenter Study in 328 Bladder Tumors. // *Clin. Genitourin. Cancer. United States*, 2018. Т. 16, № 5. С. e985–e992.
42. Soukup V. и др. Prognostic Performance and Reproducibility of the 1973 and 2004/2016 World Health Organization Grading Classification Systems in Non-muscle-invasive Bladder Cancer: A European Association of Urology Non-muscle Invasive Bladder Cancer Guidelines Panel Sys // *Eur. Urol. Switzerland*, 2017. Т. 72, № 5. С. 801–813.
43. Tosoni I. и др. Clinical significance of interobserver differences in the staging and grading of superficial bladder cancer. // *BJU Int. England*, 2000. Т. 85, № 1. С. 48–53.
44. van Rhijn B.W.G. и др. Molecular grading of urothelial cell carcinoma with fibroblast growth factor receptor 3 and MIB-1 is superior to pathologic grade for the prediction of clinical outcome. // *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol. United States*, 2003. Т. 21, № 10. С. 1912–1921.
45. May M. и др. Prognostic accuracy of individual uropathologists in noninvasive urinary bladder carcinoma: a multicentre study comparing the 1973 and 2004 World Health Organisation classifications. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2010. Т. 57, № 5. С. 850–858.
46. Sanguedolce F. и др. Are We Ready to Implement Molecular Subtyping of Bladder Cancer in Clinical Practice? Part 1: General Issues and Marker Expression. // *Int. J. Mol. Sci. Switzerland*, 2022. Т. 23, № 14.
47. Simoneau M. и др. Chromosome 9 deletions and recurrence of superficial bladder cancer: identification of four regions of prognostic interest // *Oncogene*. 2000. Т. 19, № 54. С. 6317–6323.
48. Нопман А.Н. и др. Numerical chromosome 1, 7, 9, and 11 aberrations in bladder cancer

- detected by in situ hybridization. // *Cancer Res. United States*, 1991. Т. 51, № 2. С. 644–651.
49. Aboukassim T.O. и др. Alteration of the PATCHED locus in superficial bladder cancer. // *Oncogene*. England, 2003. Т. 22, № 19. С. 2967–2971.
 50. Wadhwa N. и др. Genetic instability in urinary bladder cancer: An evolving hallmark. // *J. Postgrad. Med. India*, 2013. Т. 59, № 4. С. 284–288.
 51. Zhang Z.F. и др. Cigarette smoking and chromosome 9 alterations in bladder cancer. // *Cancer Epidemiol. biomarkers Prev. a Publ. Am. Assoc. Cancer Res. cosponsored by Am. Soc. Prev. Oncol. United States*, 1997. Т. 6, № 5. С. 321–326.
 52. Jones P.A., Droller M.J. Pathways of development and progression in bladder cancer: new correlations between clinical observations and molecular mechanisms. // *Semin. Urol. United States*, 1993. Т. 11, № 4. С. 177–192.
 53. Cairns P., Shaw M.E., Knowles M.A. Initiation of bladder cancer may involve deletion of a tumour-suppressor gene on chromosome 9. // *Oncogene*. England, 1993. Т. 8, № 4. С. 1083–1085.
 54. Richter J. и др. Marked genetic differences between stage pTa and stage pT1 papillary bladder cancer detected by comparative genomic hybridization. // *Cancer Res. United States*, 1997. Т. 57, № 14. С. 2860–2864.
 55. Höglund M. и др. Identification of cytogenetic subgroups and karyotypic pathways in transitional cell carcinoma. // *Cancer Res. United States*, 2001. Т. 61, № 22. С. 8241–8246.
 56. Williamson M.P. и др. p16 (CDKN2) is a major deletion target at 9p21 in bladder cancer. // *Hum. Mol. Genet.* England, 1995. Т. 4, № 9. С. 1569–1577.
 57. Knowles M.A. и др. Mutation spectrum of the 9q34 tuberous sclerosis gene TSC1 in transitional cell carcinoma of the bladder. // *Cancer Res. United States*, 2003. Т. 63, № 22. С. 7652–7656.
 58. Cordon-Cardo C. Molecular alterations associated with bladder cancer initiation and progression // *Scand. J. Urol. Nephrol.* Taylor & Francis, 2008. Т. 42, № sup218. С. 154–165.
 59. Knowles M.A. The genetics of transitional cell carcinoma: progress and potential clinical application. // *BJU Int.* England, 1999. Т. 84, № 4. С. 412–427.
 60. Kang H.W. и др. Tumor heterogeneity in muscle-invasive bladder cancer. // *Transl. Androl. Urol.* 2020. Т. 9, № 6. С. 2866–2880.
 61. Audenet F., Attalla K., Sfakianos J.P. The evolution of bladder cancer genomics: What have we learned and how can we use it? // *Urol. Oncol. Semin. Orig. Investig.* 2018. Т. 36, № 7. С. 313–320.
 62. Tan T.Z. и др. Molecular Subtypes of Urothelial Bladder Cancer: Results from a Meta-cohort

- Analysis of 2411 Tumors. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2019. Т. 75, № 3. С. 423–432.
63. Sjö Dahl G. и др. A molecular taxonomy for urothelial carcinoma. // *Clin. cancer Res. an Off. J. Am. Assoc. Cancer Res. United States*, 2012. Т. 18, № 12. С. 3377–3386.
 64. Sjö Dahl G. и др. Molecular classification of urothelial carcinoma: global mRNA classification versus tumour-cell phenotype classification. // *J. Pathol.* 2017. Т. 242, № 1. С. 113–125.
 65. Hedegaard J. и др. Comprehensive Transcriptional Analysis of Early-Stage Urothelial Carcinoma. // *Cancer Cell. United States*, 2016. Т. 30, № 1. С. 27–42.
 66. Robertson A.G. и др. Comprehensive Molecular Characterization of Muscle-Invasive Bladder Cancer. // *Cell.* 2017. Т. 171, № 3. С. 540-556.e25.
 67. Choi W. и др. Identification of distinct basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer with different sensitivities to frontline chemotherapy. // *Cancer Cell.* 2014. Т. 25, № 2. С. 152–165.
 68. Marzouka N.-A.-D. и др. A validation and extended description of the Lund taxonomy for urothelial carcinoma using the TCGA cohort. // *Sci. Rep.* 2018. Т. 8, № 1. С. 3737.
 69. Weinstein J.N. и др. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma // *Nature.* 2014. Т. 507, № 7492. С. 315–322.
 70. Lindgren D. и др. Combined gene expression and genomic profiling define two intrinsic molecular subtypes of urothelial carcinoma and gene signatures for molecular grading and outcome. // *Cancer Res. United States*, 2010. Т. 70, № 9. С. 3463–3472.
 71. Dyrskjøt L. и др. Identifying distinct classes of bladder carcinoma using microarrays. // *Nat. Genet. United States*, 2003. Т. 33, № 1. С. 90–96.
 72. Blaveri E. и др. Bladder cancer outcome and subtype classification by gene expression. // *Clin. cancer Res. an Off. J. Am. Assoc. Cancer Res. United States*, 2005. Т. 11, № 11. С. 4044–4055.
 73. Volkmer J.-P. и др. Three differentiation states risk-stratify bladder cancer into distinct subtypes. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2012. Т. 109, № 6. С. 2078–2083.
 74. Rebouissou S. и др. EGFR as a potential therapeutic target for a subset of muscle-invasive bladder cancers presenting a basal-like phenotype. // *Sci. Transl. Med. United States*, 2014. Т. 6, № 244. С. 244ra91.
 75. Damrauer J.S. и др. Intrinsic subtypes of high-grade bladder cancer reflect the hallmarks of breast cancer biology. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2014. Т. 111, № 8. С. 3110–3115.
 76. Hurst C.D. и др. Genomic Subtypes of Non-invasive Bladder Cancer with Distinct Metabolic Profile and Female Gender Bias in KDM6A Mutation Frequency. // *Cancer Cell.* 2017. Т. 32, № 5. С. 701-715.e7.

77. Mo Q. и др. Prognostic Power of a Tumor Differentiation Gene Signature for Bladder Urothelial Carcinomas. // *J. Natl. Cancer Inst.* 2018. Т. 110, № 5. С. 448–459.
78. Kamoun A. и др. A Consensus Molecular Classification of Muscle-invasive Bladder Cancer. // *Eur. Urol.* 2020. Т. 77, № 4. С. 420–433.
79. Siracusano S., Rizzetto R., Porcaro A.B. Bladder cancer genomics. // *Urologia. United States*, 2020. Т. 87, № 2. С. 49–56.
80. Lai H. и др. Single-cell RNA sequencing reveals the epithelial cell heterogeneity and invasive subpopulation in human bladder cancer. // *Int. J. cancer. United States*, 2021. Т. 149, № 12. С. 2099–2115.
81. Guo C.C. и др. Assessment of Luminal and Basal Phenotypes in Bladder Cancer. // *Sci. Rep.* 2020. Т. 10, № 1. С. 9743.
82. McConkey D.J., Choi W. Molecular Subtypes of Bladder Cancer. // *Curr. Oncol. Rep. United States*, 2018. Т. 20, № 10. С. 77.
83. Choi W. и др. Intrinsic basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer. // *Nat. Rev. Urol. England*, 2014. Т. 11, № 7. С. 400–410.
84. Amin M.B., McKenney J.K. An Approach to the Diagnosis of Flat Intraepithelial Lesions of the Urinary Bladder Using the World Health Organization/ International Society of Urological Pathology Consensus Classification System // *Adv. Anat. Pathol.* 2002. Т. 9, № 4.
85. Humphrey P.A. и др. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part B: Prostate and Bladder Tumours. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2016. Т. 70, № 1. С. 106–119.
86. Felix A.S. и др. The changing patterns of bladder cancer in Egypt over the past 26 years // *Cancer Causes Control.* 2008. Т. 19, № 4. С. 421–429.
87. Efared B. и др. Urinary bladder *Schistosoma haematobium*-related squamous cell carcinoma: a report of two fatal cases and literature review. // *Trop. Dis. Travel Med. vaccines.* 2022. Т. 8, № 1. С. 3.
88. Madureira A.C. Programmed Cell Death-Ligand-1 expression in Bladder Schistosomal Squamous Cell Carcinoma - There's room for Immune Checkpoint Blockage? // *Front. Immunol.* 2022. Т. 13. С. 955000.
89. Oladipo E.K. и др. Immunoinformatics design of multi-epitope peptide for the diagnosis of *Schistosoma haematobium* infection. // *J. Biomol. Struct. Dyn. England*, 2022. С. 1–8.
90. Manunta A. и др. Non-transitional cell bladder carcinomas // *BJU Int. John Wiley & Sons, Ltd*, 2005. Т. 95, № 4. С. 497–502.
91. Abol-Enein H., Kava B.R., Carmack A.J.K. Nonurothelial Cancer of the Bladder // *Urology*.

- Elsevier, 2007. Т. 69, № 1. С. 93–104.
92. EL-Mekresh и др. Primary adenocarcinoma of the urinary bladder: a report of 185 cases // Br. J. Urol. John Wiley & Sons, Ltd, 1998. Т. 82, № 2. С. 206–212.
 93. Grignon D.J. и др. Primary adenocarcinoma of the urinary bladder. A clinicopathologic analysis of 72 cases // Cancer. John Wiley & Sons, Ltd, 1991. Т. 67, № 8. С. 2165–2172.
 94. Li Z. и др. Primary small-cell neuroendocrine carcinoma of the urinary bladder: A rare case and a review of the literature. // Mol. Clin. Oncol. 2018. Т. 9, № 3. С. 335–338.
 95. Wang G. и др. Urinary Large Cell Neuroendocrine Carcinoma: A Clinicopathologic Analysis of 22 Cases. // Am. J. Surg. Pathol. 2021. Т. 45, № 10. С. 1399–1408.
 96. Watson G.A. и др. Unusual Sites of High-Grade Neuroendocrine Carcinomas: A Case Series and Review of the Literature. // Am. J. Case Rep. 2018. Т. 19. С. 710–723.
 97. Virarkar M. и др. Neuroendocrine Neoplasms of the Female Genitourinary Tract: A Comprehensive Overview. // Cancers (Basel). 2022. Т. 14, № 13.
 98. Kawahara T. и др. Neuroendocrine Carcinoma of the Bladder. // Case reports in oncology. 2010. Т. 3, № 1. С. 54–58.
 99. Sehgal S.S. и др. Neuroendocrine tumor of the bladder. // Rev. Urol. 2010. Т. 12, № 4. С. e197-201.
 100. Sved P. и др. Small cell carcinoma of the bladder // BJU Int. John Wiley & Sons, Ltd, 2004. Т. 94, № 1. С. 12–17.
 101. Hansel D.E. и др. A Contemporary Update on Pathology Standards for Bladder Cancer: Transurethral Resection and Radical Cystectomy Specimens // Eur. Urol. 2013. Т. 63, № 2. С. 321–332.
 102. Cheng L. и др. Sarcomatoid Carcinoma of the Urinary Bladder: The Final Common Pathway of Urothelial Carcinoma Dedifferentiation // Am. J. Surg. Pathol. 2011. Т. 35, № 5.
 103. Amin M.B. и др. Micropapillary Variant of Transitional Cell Carcinoma of the Urinary Bladder Histologic Pattern Resembling Ovarian Papillary Serous Carcinoma // Am. J. Surg. Pathol. 1994. Т. 18, № 12.
 104. Charalampos F. и др. [Plasmacytoid variant of urothelial bladder cancer. A single center experience.]. // Arch. Esp. Urol. Spain, 2020. Т. 73, № 6. С. 564–567.
 105. Kimura H. и др. [A Case of PT1 Plasmacytoid Variant Bladder Cancer Treated by Bladder Conserving Therapy]. // Hinyokika Kyo. Japan, 2018. Т. 64, № 9. С. 369–372.
 106. Manini C., López J.I. Unusual Faces of Bladder Cancer. // Cancers (Basel). 2020. Т. 12, № 12.
 107. Kohada Y. и др. Progressive plasmacytoid variant bladder cancer with retroperitoneal dissemination: An autopsy case report. // IJU case reports. 2020. Т. 3, № 5. С. 166–169.

108. Telfah M. и др. Metastatic Plasmacytoid Bladder Cancer Harboring a CDH-1 Mutation and Producing High Levels of CA 19-9. A Case Report and Literature Review. // *Am. J. Case Rep.* 2020. Т. 21. С. e923130.
109. Moschini M. и др. Incidence and effect of variant histology on oncological outcomes in patients with bladder cancer treated with radical cystectomy // *Urol. Oncol. Semin. Orig. Investig.* 2017. Т. 35, № 6. С. 335–341.
110. Beltran A.L. и др. Clinicopathological characteristics and outcome of nested carcinoma of the urinary bladder // *Virchows Arch.* 2014. Т. 465, № 2. С. 199–205.
111. Talbert M.L., Young R.H. Carcinomas of the urinary bladder with deceptively benign-appearing foci. A report of three cases. // *Am. J. Surg. Pathol. United States*, 1989. Т. 13, № 5. С. 374–381.
112. Young R.H., Oliva E. Transitional Cell Carcinomas of the Urinary Bladder that may be Underdiagnosed: A Report of Four Invasive Cases Exemplifying the Homology between Neoplastic and Non-neoplastic Transitional Cell Lesions // *Am. J. Surg. Pathol.* 1996. Т. 20, № 12.
113. McKenney J.K. Urothelial carcinoma in situ: diagnostic update. // *Pathology. England*, 2021. Т. 53, № 1. С. 86–95.
114. Gofrit O.N. и др. The natural history of bladder carcinoma in situ after initial response to bacillus Calmette-Guérin immunotherapy // *Urol. Oncol. Semin. Orig. Investig.* 2009. Т. 27, № 3. С. 258–262.
115. Yang Z., Epstein J.I. Urothelial Carcinoma In Situ of the Bladder With Glandular Differentiation: Report of 92 Cases // *Am. J. Surg. Pathol.* 2018. Т. 42, № 7.
116. Jones D. и др. Primary adenocarcinoma of the bladder lacks mismatch repair deficiency and demonstrates PD-L1 expression in tumor-infiltrating immune cells, with implications in both diagnosis and therapeutics. // *Hum. Pathol. United States*, 2019. Т. 94. С. 58–63.
117. Nambiyar K. и др. Adenocarcinoma of the colon and urinary bladder: A fortuitous or an embryological phenomenon? // *Indian J. Pathol. Microbiol. India*, 2021. Т. 64, № 1. С. 132–135.
118. Karikalan B., Pasupati T., George S.M. Primary Mucinous Adenocarcinoma of the Urinary Bladder: A Rare Entity. // *West African journal of medicine. Nigeria*, 2021. Т. 38, № 6. С. 604–606.
119. Uhlig A. и др. Primary bladder adenocarcinoma: Case report with long-term follow-up. // *Urology case reports.* 2018. Т. 18. С. 64–66.
120. Tejeda-Mariaca J.E. и др. Case Report: Bladder adenocarcinoma: primary or urachal? //

- F1000Research. 2019. Т. 8. С. 1717.
121. Reis H. и др. Biomarkers in Urachal Cancer and Adenocarcinomas in the Bladder: A Comprehensive Review Supplemented by Own Data // *Dis. Markers* / под ред. Todenhöfer T. Hindawi, 2018. Т. 2018. С. 7308168.
 122. Wick M.R. Primary lesions that may imitate metastatic tumors histologically: A selective review // *Semin. Diagn. Pathol.* 2018. Т. 35, № 2. С. 123–142.
 123. Cheng L. и др. Flat intraepithelial lesions of the urinary bladder. // *Cancer. United States*, 2000. Т. 88, № 3. С. 625–631.
 124. Murata S. и др. Molecular and Immunohistologic Analyses Cannot Reliably Solve Diagnostic Variation of Flat Intraepithelial Lesions of the Urinary Bladder // *Am. J. Clin. Pathol.* 2010. Т. 134, № 6. С. 862–872.
 125. McKenney J.K. Precursor lesions of the urinary bladder // *Histopathology*. John Wiley & Sons, Ltd, 2019. Т. 74, № 1. С. 68–76.
 126. Lodewijk I. и др. Liquid Biopsy Biomarkers in Bladder Cancer: A Current Need for Patient Diagnosis and Monitoring. // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. Т. 19, № 9.
 127. Humayun-Zakaria N. и др. Trends in urine biomarker discovery for urothelial bladder cancer: DNA, RNA, or protein? // *Transl. Androl. Urol.* 2021. Т. 10, № 6. С. 2787–2808.
 128. Piao X.-M. и др. Prominence of urinary biomarkers for bladder cancer in the COVID-19 era: From the commercially available to new prospective candidates. // *Investig. Clin. Urol.* 2021. Т. 62, № 5. С. 500–519.
 129. Kirkali Z. и др. Bladder cancer: epidemiology, staging and grading, and diagnosis. // *Urology*. United States, 2005. Т. 66, № 6 Suppl 1. С. 4–34.
 130. Dobruch J., Borówka A., Herr H.W. Clinical value of transurethral second resection of bladder tumor: systematic review // *Urology*. 2014. Т. 84, № 4. С. 881–885.
 131. Schroeck F.R. и др. The impact of frequent cystoscopy on surgical care and cancer outcomes among patients with low-risk, non–muscle-invasive bladder cancer // *Cancer*. 2019. Т. 125, № 18. С. 3147–3154.
 132. Семенов Э.В., Мазаев А.В., Зуков Р.А., Куртасова Л.М. . Факторы прогноза у больных раком мочевого пузыря // *Сибирское медицинское обозрение*. 2015. № 5. С. 13–22.
 133. Simon M. и др. Multiple recurrences and risk of disease progression in patients with primary low-grade (TaG1) non–muscle-invasive bladder cancer and with low and intermediate EORTC-risk score // *PLoS One*. 2019. Т. 14, № 2. С. e0211721.
 134. Aydın M. и др. Correlación entre el índice neutrófilo/linfocito y las puntuaciones de riesgo en el cáncer de vejiga no músculo-invasivo // *Actas Urológicas Españolas*. 2019. Т. 43, № 9. С. 503–

- 508.
135. Синицина О.В., Чонкина А.А., Илюшкина М.В. и др. . Молекулярно-генетическая методика оценки риска неблагоприятного течения заболевания при поверхностном раке мочевого пузыря // Медицинский алфавит. 2014. Т. 3, № 15. С. 56–57.
 136. Lee A. и др. Low-risk non-muscle-invasive bladder cancer: Further prognostic stratification into the “very-low-risk” group based on tumor size // *Int. J. Urol.* 2019. Т. 26, № 4. С. 481–486.
 137. Netto G. The lower urinary tract and male genital system // *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease* / под ред. Kumar, V, Abbas, A, Aster, J, Robbins S.. . 2021. С. 953–983.
 138. Quarles J. и др. Educational Case: Bladder Urothelial Cell Carcinoma TNM Stage, Prognosis and Management. // *Acad. Pathol. United States*, 2021. Т. 8. С. 23742895211022256.
 139. Kardoust Parizi M. и др. Prognostic value of T1 substaging on oncological outcomes in patients with non-muscle-invasive bladder urothelial carcinoma: a systematic literature review and meta-analysis. // *World J. Urol. Germany*, 2020. Т. 38, № 6. С. 1437–1449.
 140. Kluth L.A. и др. Obesity is associated with worse outcomes in patients with T1 high grade urothelial carcinoma of the bladder. // *J. Urol. United States*, 2013. Т. 190, № 2. С. 480–486.
 141. Flaig T.W. и др. Bladder Cancer, Version 3.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. // *J. Natl. Compr. Canc. Netw. United States*, 2020. Т. 18, № 3. С. 329–354.
 142. Younes M., Sussman J., True L.D. The usefulness of the level of the muscularis mucosae in the staging of invasive transitional cell carcinoma of the urinary bladder. // *Cancer. United States*, 1990. Т. 66, № 3. С. 543–548.
 143. Holmäng S. и др. The importance of the depth of invasion in stage T1 bladder carcinoma: a prospective cohort study. // *J. Urol. United States*, 1997. Т. 157, № 3. С. 800–803; discussion 804.
 144. Amin M.B. и др. ICUD-EAU International Consultation on Bladder Cancer 2012: Pathology. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2013. Т. 63, № 1. С. 16–35.
 145. Morera D.S. и др. Clinical Parameters Outperform Molecular Subtypes for Predicting Outcome in Bladder Cancer: Results from Multiple Cohorts, Including TCGA. // *J. Urol.* 2020. Т. 203, № 1. С. 62–72.
 146. Воробцова И.Е. и др. Диагностика рецидивов рака мочевого пузыря с помощью FISH-метода, осуществляемого на клетках осадка мочи // *Онкоурология*. 2013. № 2.
 147. Dadhania V. и др. Meta-Analysis of the Luminal and Basal Subtypes of Bladder Cancer and the Identification of Signature Immunohistochemical Markers for Clinical Use. // *EBioMedicine*. 2016. Т. 12. С. 105–117.
 148. van Kessel K.E.M. и др. Molecular Markers Increase Precision of the European Association of

- Urology Non–Muscle-Invasive Bladder Cancer Progression Risk Groups // *Clin. Cancer Res.* 2018. Т. 24, № 7. С. 1586–1593.
149. Al-Maghrabi J.A., Qureshi I.A., Khabaz M.N. Immunohistochemical expression of GLUT1 is associated with low grade and low stage of urinary bladder cancer // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2019. Т. 12, № 8. С. 3049.
 150. Yasui M. и др. Androgen receptor mRNA expression is a predictor for recurrence-free survival in non-muscle invasive bladder cancer // *BMC Cancer.* 2019. Т. 19, № 1. С. 331.
 151. Chen M. и др. Predictive value of cadherin-11 for subsequent recurrence and progression in non-muscle invasive bladder cancer // *Jpn. J. Clin. Oncol.* 2020. Т. 50, № 4. С. 456–464.
 152. Descotes F. и др. Non-invasive prediction of recurrence in bladder cancer by detecting somatic TERT promoter mutations in urine // *Br. J. Cancer.* 2017. Т. 117, № 4. С. 583–587.
 153. He Y. и др. Prognostic value of ki67 in BCG-treated non-muscle invasive bladder cancer: a meta-analysis and systematic review // *BMJ Open.* 2018. Т. 8, № 4. С. e019635.
 154. Mossanen M. и др. Evaluating the cost of surveillance for non-muscle-invasive bladder cancer: an analysis based on risk categories // *World J. Urol.* 2019. Т. 37, № 10. С. 2059–2065.
 155. Hilbe J.M. *Logistic Regression Models.* CRC Press, 2009.
 156. Collett D. *Modelling Survival Data in Medical Research.* Chapman & Hall/CRC, 2003.
 157. Lucca I., Fajkovic H., Klatt T. Sex steroids and gender differences in nonmuscle invasive bladder cancer. // *Curr. Opin. Urol. United States,* 2014. Т. 24, № 5. С. 500–505.
 158. Horstmann M. и др. Gender-specific differences in bladder cancer: a retrospective analysis. // *Gend. Med. United States,* 2008. Т. 5, № 4. С. 385–394.
 159. Michel F. и др. Incidence of bladder cancer in neuro-urological patients in France: a nationwide study. // *World J. Urol. Germany,* 2022. Т. 40, № 8. С. 1921–1927.
 160. Fajkovic H. и др. Impact of gender on bladder cancer incidence, staging, and prognosis // *World J. Urol.* 2011. Т. 29, № 4. С. 457–463.
 161. Kluth L.A. и др. Gender-specific Differences in Clinicopathologic Outcomes Following Radical Cystectomy: An International Multi-institutional Study of More Than 8000 Patients // *Eur. Urol.* 2014. Т. 66, № 5. С. 913–919.
 162. Mungan N.A. и др. Gender differences in stage distribution of bladder cancer // *Urology.* 2000. Т. 55, № 3. С. 368–371.
 163. Soave A. и др. Gender-specific outcomes of bladder cancer patients: A stage-specific analysis in a contemporary, homogenous radical cystectomy cohort // *Eur. J. Surg. Oncol.* 2015. Т. 41, № 3. С. 368–377.
 164. Mitra A.P. и др. Effect of gender on outcomes following radical cystectomy for urothelial

- carcinoma of the bladder: a critical analysis of 1,994 patients // *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*. Elsevier, 2014. Т. 32, № 1. С. 52-e1.
165. Mallin K. и др. Transitional Cell Carcinoma of the Bladder: Racial and Gender Disparities in Survival (1993 to 2002), Stage and Grade (1993 to 2007) // *J. Urol.* 2011. Т. 185, № 5. С. 1631–1636.
 166. Dobruch J. и др. Gender and Bladder Cancer: A Collaborative Review of Etiology, Biology, and Outcomes. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2016. Т. 69, № 2. С. 300–310.
 167. Forsell K. и др. Cancer incidence in a cohort of Swedish merchant seafarers between 1985 and 2011. // *Int. Arch. Occup. Environ. Health*. 2022. Т. 95, № 5. С. 1103–1111.
 168. Chamie K. и др. Recurrence of high-risk bladder cancer: a population-based analysis. // *Cancer*. 2013. Т. 119, № 17. С. 3219–3227.
 169. Thomas F. и др. Comparative outcomes of primary, recurrent, and progressive high-risk non-muscle-invasive bladder cancer. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2013. Т. 63, № 1. С. 145–154.
 170. Kluth L.A. и др. Female gender is associated with higher risk of disease recurrence in patients with primary T1 high-grade urothelial carcinoma of the bladder. // *World J. Urol. Germany*, 2013. Т. 31, № 5. С. 1029–1036.
 171. Palou J. и др. Female gender and carcinoma in situ in the prostatic urethra are prognostic factors for recurrence, progression, and disease-specific mortality in T1G3 bladder cancer patients treated with bacillus Calmette-Guérin. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2012. Т. 62, № 1. С. 118–125.
 172. Boorjian S.A., Zhu F., Herr H.W. The effect of gender on response to bacillus Calmette-Guérin therapy for patients with non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder. // *BJU Int. England*, 2010. Т. 106, № 3. С. 357–361.
 173. Kocan H., Kadihasanoglu M. Age and sex do not affect first year recurrence in patients with non-muscle invasive bladder cancer. // *Folia Med. (Plovdiv). Bulgaria*, 2021. Т. 63, № 2. С. 242–246.
 174. Henning A. и др. Do differences in clinical symptoms and referral patterns contribute to the gender gap in bladder cancer? // *BJU Int. England*, 2013. Т. 112, № 1. С. 68–73.
 175. Miyake M. и др. A new risk stratification model for intravesical recurrence, disease progression, and cancer-specific death in patients with non-muscle invasive bladder cancer: the J-NICE risk tables // *Int. J. Clin. Oncol.* 2020. Т. 25, № 7. С. 1364–1376.
 176. Jancke G., Rosell J., Jahnsen S. Impact of tumour size on recurrence and progression in Ta/T1 carcinoma of the urinary bladder // *Scand. J. Urol. Nephrol. Taylor & Francis*, 2011. Т. 45, № 6. С. 388–392.

177. Kashif Khan M., Ahmed I., Raza S.J. Factors effecting recurrence and progression of high grade non invasive bladder cancer treated by intravesical BCG. // *Pakistan J. Med. Sci.* 2014. Т. 30, № 2. С. 326–330.
178. Su X. и др. The Influence of Tumor Size on Oncologic Outcomes for Patients with Upper Tract Urothelial Carcinoma after Radical Nephroureterectomy // *Biomed Res. Int.* / под ред. Na R. Hindawi Publishing Corporation, 2016. Т. 2016. С. 4368943.
179. Zachos I. и др. Tumor size and T stage correlate independently with recurrence and progression in high-risk non-muscle-invasive bladder cancer patients treated with adjuvant BCG // *Tumor Biol.* 2014. Т. 35, № 5. С. 4185–4189.
180. Smits G. и др. Microstaging of pT1 transitional cell carcinoma of the bladder: identification of subgroups with distinct risks of progression. // *Urology.* United States, 1998. Т. 52, № 6. С. 1004–1009.
181. Bernardini S. и др. The predictive value of muscularis mucosae invasion and p53 over expression on progression of stage T1 bladder carcinoma. // *J. Urol.* United States, 2001. Т. 165, № 1. С. 42–46; discussion 46.
182. Lu M. и др. Predicting recurrence of nonmuscle-invasive bladder cancer (Ta-T1): A study based on 477 patients. // *Medicine (Baltimore).* 2019. Т. 98, № 28. С. e16426.
183. von Landenberg N. и др. Conditional analyses of recurrence and progression in patients with TaG1 non–muscle-invasive bladder cancer // *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations.* Elsevier, 2018. Т. 36. С. 238. e19-238. e27.
184. Tully K.H. и др. Impact of tumor size on the oncological outcome of high-grade nonmuscle invasive bladder cancer – examining the utility of classifying Ta bladder cancer based on size // *Urol. Oncol. Semin. Orig. Investig.* 2020. Т. 38, № 11. С. 851.e19-851.e25.
185. Kim H.S. и др. Prognostic Factors for Recurrence and Progression in Korean Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer Patients: A Retrospective, Multi-Institutional Study. // *Yonsei Med. J.* 2016. Т. 57, № 4. С. 855–864.
186. Hurle R. и др. Low dose Pasteur bacillus Calmette-Guerin regimen in stage T1, grade 3 bladder cancer therapy. // *J. Urol.* United States, 1996. Т. 156, № 5. С. 1602–1605.
187. Ali-El-Dein B. и др. Construction of predictive models for recurrence and progression in >1000 patients with non-muscle-invasive bladder cancer (NMIBC) from a single centre. // *BJU Int.* England, 2013. Т. 111, № 8. С. E331-41.
188. Martínez-Piñeiro J.A. и др. Long-term follow-up of a randomized prospective trial comparing a standard 81 mg dose of intravesical bacille Calmette-Guérin with a reduced dose of 27 mg in superficial bladder cancer. // *BJU Int.* England, 2002. Т. 89, № 7. С. 671–680.

189. Montie J.E. Histologic Grading of Noninvasive Papillary Urothelial Tumors. Validation of the 1998 WHO/ISUP System by Immunophenotyping and Follow-Up. // *J. Urol. United States*, 2005. Т. 173, № 4. С. 1172–1173.
190. Mostofi F.K. и др. Histological typing of urinary bladder tumours / F. K. Mostofi, in collaboration with L. H. Sobin, H. Torloni and pathologists in fourteen countries. Geneva PP - Geneva: World Health Organization, 1973.
191. Epstein J.I. и др. The World Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification of urothelial (transitional cell) neoplasms of the urinary bladder. Bladder Consensus Conference Committee. // *Am. J. Surg. Pathol. United States*, 1998. Т. 22, № 12. С. 1435–1448.
192. Pan C.-C. и др. Prognostic significance of the 2004 WHO/ISUP classification for prediction of recurrence, progression, and cancer-specific mortality of non-muscle-invasive urothelial tumors of the urinary bladder: a clinicopathologic study of 1,515 cases. // *Am. J. Clin. Pathol. England*, 2010. Т. 133, № 5. С. 788–795.
193. MacLennan G.T., Kirkali Z., Cheng L. Histologic grading of noninvasive papillary urothelial neoplasms. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2007. Т. 51, № 4. С. 888–889.
194. Pavone-Macaluso M. и др. The pathology of bladder cancer: An update on selected issues. // *BJU Int. England*, 2006. Т. 98, № 6. С. 1161–1165.
195. van Rhijn B.W.G. и др. The pathologist's mean grade is constant and individualizes the prognostic value of bladder cancer grading. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2010. Т. 57, № 6. С. 1052–1057.
196. Mangrud O.M. и др. Reproducibility and prognostic value of WHO1973 and WHO2004 grading systems in TaT1 urothelial carcinoma of the urinary bladder // *PLoS One. Public Library of Science San Francisco, USA*, 2014. Т. 9, № 1. С. e83192.
197. Chen Z. и др. The 1973 WHO Classification is more suitable than the 2004 WHO Classification for predicting prognosis in non-muscle-invasive bladder cancer. // *PLoS One*. 2012. Т. 7, № 10. С. e47199.
198. Okcelik S. и др. Factors predicting recurrence in non-muscle invasive bladder cancers // *Gulhane Med. J.* 2021. Т. 63. С. 175–180.
199. Ho P. и др. The effect of tumor grade heterogeneity on recurrence in non-muscle invasive bladder cancer. // *Urol. Oncol. United States*, 2022. Т. 40, № 2. С. 60.e11-60.e16.
200. Soukup V. и др. 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. // *Eur. Urol. Focus. Netherlands*, 2020. Т. 6,

- № 3. С. 479–489.
201. Passoni N. и др. 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. // *Urol. Oncol. United States*, 2016. Т. 34, № 11. С. 485.e7-485.e14.
 202. Soukup V. и др. Does the expression of fascin-1 and tumor subclassification help to assess the risk of recurrence and progression in t1 urothelial urinary bladder carcinoma? // *Urol. Int. Switzerland*, 2008. Т. 80, № 4. С. 413–418.
 203. Brimo F. и др. Prognostic factors in T1 bladder urothelial carcinoma: the value of recording millimetric depth of invasion, diameter of invasive carcinoma, and muscularis mucosa invasion. // *Hum. Pathol. United States*, 2013. Т. 44, № 1. С. 95–102.
 204. Lee J.Y. и др. Prognostic Significance of Substaging according to the Depth of Lamina Propria Invasion in Primary T1 Transitional Cell Carcinoma of the Bladder. // *Korean J. Urol. Korea (South)*, 2012. Т. 53, № 5. С. 317–323.
 205. Lim S.D. и др. Clinical Significance of Substaging and HER2 Expression in Papillary Nonmuscle Invasive Urothelial Cancers of the Urinary Bladder. // *J. Korean Med. Sci. Korea (South)*, 2015. Т. 30, № 8. С. 1068–1077.
 206. Orsola A. и др. Initial high-grade T1 urothelial cell carcinoma: feasibility and prognostic significance of lamina propria invasion microstaging (T1a/b/c) in BCG-treated and BCG-non-treated patients. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2005. Т. 48, № 2. С. 231–238; discussion 238.
 207. Soukup V. и др. The prognostic value of T1 bladder cancer substaging: a single institution retrospective study. // *Urol. Int. Switzerland*, 2014. Т. 92, № 2. С. 150–156.
 208. van Rhijn B.W.G. и др. A new and highly prognostic system to discern T1 bladder cancer substage. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2012. Т. 61, № 2. С. 378–384.
 209. Bertz S. и др. Substaging by estimating the size of invasive tumour can improve risk stratification in pT1 urothelial bladder cancer-evaluation of a large hospital-based single-centre series. // *Histopathology. England*, 2011. Т. 59, № 4. С. 722–732.
 210. Ульянин М.Ю. и др. Роль собственной мышечной пластинки слизистой оболочки в прогнозе рецидивирования и прогрессирования при поверхностном раке мочевого пузыря // *Онкоурология. Общество с ограниченной ответственностью «Издательский дом «АБВ-пресс»*, 2015. № 4. С. 42–50.
 211. Angulo J.C. и др. Muscularis mucosa differentiates two populations with different prognosis in Stage T1 bladder cancer // *Urology*. 1995. Т. 45, № 1. С. 47–53.
 212. Moradi Tabriz H. и др. Survivin and Her2 Expressions in Different Grades of Urothelial Neoplasms of Urinary Bladder. // *Iran. J. Pathol.* 2021. Т. 16, № 2. С. 154–161.

213. Wang H. и др. Expression and Clinical Significance of MMP-28 in Bladder Cancer. // *Technol. Cancer Res. Treat.* 2020. Т. 19. С. 1533033820974017.
214. Jalali Nadoushan M.R., Ghorbanian E., Taheri T. Relationship between grade and MDM2 oncoprotein overexpression in transitional cell carcinoma of the urinary bladder // *Iran. J. Pathol. Dept. Pathology, School of Medicine, Shahed University, Tehran*, 2006. Т. 1, № 1. С. 17–20.
215. Enache M., Simionescu C.E., Stepan A. EGFR and Her2/neu immunoexpression in papillary urothelial bladder carcinomas. // *Rom. J. Morphol. Embryol. = Rev. Roum. Morphol. Embryol. Romania*, 2013. Т. 54, № 1. С. 137–141.
216. Roychowdhury A. и др. Study of mutated p53 protein by immunohistochemistry in urothelial neoplasm of urinary bladder. // *J. Indian Med. Assoc. India*, 2012. Т. 110, № 6. С. 393–396.
217. Shim J.-W. и др. Diagnostic algorithm for papillary urothelial tumors in the urinary bladder. // *Virchows Arch.* 2008. Т. 452, № 4. С. 353–362.
218. Mumtaz S. и др. Diagnostic utility of p53 and CK20 immunohistochemical expression grading urothelial malignancies. // *Int. Arch. Med.* 2014. Т. 7. С. 36.
219. Thakur B. и др. Role of p53 and Ki-67 immunomarkers in carcinoma of urinary bladder. // *Indian J. Pathol. Microbiol. India*, 2017. Т. 60, № 4. С. 505–509.
220. Muilwijk T. и др. Cytokeratin 5 and cytokeratin 20 inversely correlate with tumour grading in Ta non-muscle-invasive bladder cancer. // *J. Cell. Mol. Med.* 2021. Т. 25, № 16. С. 7890–7900.
221. Desai S. и др. Relationship of cytokeratin 20 and CD44 protein expression with WHO/ISUP grade in pTa and pT1 papillary urothelial neoplasia. // *Mod. Pathol. an Off. J. United States Can. Acad. Pathol. Inc. United States*, 2000. Т. 13, № 12. С. 1315–1323.
222. Yin H., Leong A.S.Y. Histologic grading of noninvasive papillary urothelial tumors: validation of the 1998 WHO/ISUP system by immunophenotyping and follow-up. // *Am. J. Clin. Pathol. England*, 2004. Т. 121, № 5. С. 679–687.
223. Seiler R. и др. Impact of Molecular Subtypes in Muscle-invasive Bladder Cancer on Predicting Response and Survival after Neoadjuvant Chemotherapy. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2017. Т. 72, № 4. С. 544–554.
224. Lotan Y. и др. Molecular Subtyping of Clinically Localized Urothelial Carcinoma Reveals Lower Rates of Pathological Upstaging at Radical Cystectomy Among Luminal Tumors. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2019. Т. 76, № 2. С. 200–206.
225. Taber A. и др. Molecular correlates of cisplatin-based chemotherapy response in muscle invasive bladder cancer by integrated multi-omics analysis. // *Nat. Commun. England*, 2020. Т. 11, № 1. С. 4858.

226. Necchi A. и др. Impact of Molecular Subtyping and Immune Infiltration on Pathological Response and Outcome Following Neoadjuvant Pembrolizumab in Muscle-invasive Bladder Cancer. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2020. Т. 77, № 6. С. 701–710.
227. Mariathasan S. и др. TGF β attenuates tumour response to PD-L1 blockade by contributing to exclusion of T cells. // *Nature. England*, 2018. Т. 554, № 7693. С. 544–548.
228. Sjö Dahl G. и др. Different Responses to Neoadjuvant Chemotherapy in Urothelial Carcinoma Molecular Subtypes. // *Eur. Urol. Switzerland*, 2022. Т. 81, № 5. С. 523–532.
229. Bernardo C. и др. Molecular pathology of the luminal class of urothelial tumors. // *J. Pathol. England*, 2019. Т. 249, № 3. С. 308–318.
230. Warrick J.I. и др. FOXA1, GATA3 and PPAR γ Cooperate to Drive Luminal Subtype in Bladder Cancer: A Molecular Analysis of Established Human Cell Lines. // *Sci. Rep. England*, 2016. Т. 6. С. 38531.
231. Fishwick C. и др. Heterarchy of transcription factors driving basal and luminal cell phenotypes in human urothelium. // *Cell Death Differ. England*, 2017. Т. 24, № 5. С. 809–818.
232. Sjö Dahl G. и др. Molecular profiling in muscle-invasive bladder cancer: more than the sum of its parts. // *J. Pathol. England*, 2019. Т. 247, № 5. С. 563–573.
233. Lerner S.P. и др. Bladder Cancer Molecular Taxonomy: Summary from a Consensus Meeting. // *Bl. cancer (Amsterdam, Netherlands). Netherlands*, 2016. Т. 2, № 1. С. 37–47.
234. Wang C.-C., Tsai Y.-C., Jeng Y.-M. Biological significance of GATA3, cytokeratin 20, cytokeratin 5/6 and p53 expression in muscle-invasive bladder cancer. // *PLoS One. United States*, 2019. Т. 14, № 8. С. e0221785.
235. Font A. и др. Immunohistochemistry-Based Taxonomical Classification of Bladder Cancer Predicts Response to Neoadjuvant Chemotherapy. // *Cancers (Basel). Switzerland*, 2020. Т. 12, № 7.
236. Sjö Dahl G. Molecular Subtype Profiling of Urothelial Carcinoma Using a Subtype-Specific Immunohistochemistry Panel. // *Methods Mol. Biol. United States*, 2018. Т. 1655. С. 53–64.
237. Hardy C.S.C. и др. Immunohistochemical Assays for Bladder Cancer Molecular Subtyping: Optimizing Parsimony and Performance of Lund Taxonomy Classifiers. // *J. Histochem. Cytochem. Off. J. Histochem. Soc. United States*, 2022. Т. 70, № 5. С. 357–375.
238. Wang T., Niu X., Zhong B. Molecular classification of patients with NMIBC predicts the efficacy of intravesical chemotherapy with pirarubicin, pharmorubicin and gemcitabine-immunohistochemistry-based classification. // *Jpn. J. Clin. Oncol. England*, 2022. Т. 52, № 6. С. 642–649.
239. Chandrasekar T. и др. RNA-sequencing to identify three different molecular grades and

immune checkpoint cascades with distinct clinical behaviour in NMIBC. // *J. Clin. Oncol.* 2018. T. 36. C. 412.