

*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

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва — 2023

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

**Научные руководители:**

член-корреспондент РАН, директор, заведующая лабораторией  
клинической морфологии «НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына»  
ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского»,  
доктор медицинских наук, профессор

**Михалева  
Людмила Михайловна**

научный сотрудник отдела урологии  
и андрологии Медицинского научно-образовательного  
центра ФГБОУ ВО «Московский государственный  
университет им. М.В. Ломоносова»,  
доктор медицинских наук

**Пшихачев  
Ахмедхан Мухамедович**

**Официальные оппоненты:**

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

**Андреева  
Юлия Юрьевна**

заведующий кафедрой урологии и андрологии ЛФ,  
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России,  
доктор медицинских наук, профессор

**Котов  
Сергей Владиславович**

заведующая кафедрой патологической анатомии  
ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского  
Минздрава России,  
доктор медицинских наук, профессор

**Маслякова  
Галина Никифоровна**

Защита диссертации состоится 28 июня 2023 года на заседании диссертационного совета ПДС 0300.006 на базе федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Макля, д. 6).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Макля, д. 6) и на сайте <http://dissovet.rudn.ru>.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета ПДС 0300.006  
кандидат медицинских наук, доцент

**Горячев  
Вячеслав Александрович**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** В структуре онкологической заболеваемости рак мочевого пузыря (РМП) по разным данным занимает 9–11 место в мире (Halaseh S. A. et al., 2022 ; Miller K. D. et al., 2021). В 2021 г. в РФ диагностировано около 14,9 тыс. первичных случаев РМП (Каприн А. Д., 2022).

Наиболее частой формой РМП является мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря (МНРМП), который сопровождается высокой частотой рецидивов и прогрессии заболевания (Abdollah F. et al., 2013). Поэтому одной из главных проблем здравоохранения является выявление факторов риска рецидива и неблагоприятного течения МНРМП.

**Степень разработанности темы.** 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 (ВОЗ) 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 диагностики 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 дает многообещающие результаты в различных клинических условиях. Однако на настоящий момент данные иммуногистохимических исследований малочисленны и требуют последующей валидации.

Все вышеизложенное определило актуальность и выбор темы настоящего исследования.

**Цель исследования:** определить влияние клиничко-морфологических и иммуногистохимических особенностей мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря на рецидив опухоли и прогноз заболевания.

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

1. Провести оценку и сопоставление клиничко-морфологических параметров мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря.

2. Проанализировать заболеваемость мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря у пациентов разных полов и возраста, а также оценить влияние размера и множественности мышечно-неинвазивной злокачественной опухоли мочевого пузыря на течение заболевания.

3. Установить влияние степени дифференцировки, глубины инвазии (патологоанатомической стадии T) мышечно-неинвазивной злокачественной опухоли мочевого пузыря на прогноз заболевания.

4. Представить иммунофенотип мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря и создать оптимальную панель иммуногистохимических антител для оценки степени злокачественности опухоли.

5. Продемонстрировать иммуногистохимические особенности молекулярных подтипов мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря и оптимизировать панель иммуногистохимических антител для диагностики молекулярного подтипа опухоли.

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

**Научная новизна исследования.** На основании проведенного клинико-морфологического исследования проанализирована заболеваемость мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря у пациентов разных полов и возраста. Проведена комплексная клинико-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 определением 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 клинико-морфологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических особенностей опухоли.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** 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 клиничко-морфологической картины заболевания, иммунофенотипа и молекулярно-генетического подтипа опухоли.

**Методология и методы исследования.** В ретроспективное нерандомизированное исследование было включено 100 пациентов с верифицированным уротелиальным мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря, проходивших лечение в ГБУЗ ГКБ №31 ДЗМ в период с 2015 по 2020 год, из них – 69 мужчин и 31 женщина 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 внутривезикулярными инстилляциями митомицином С (6 курсов). После проведения внутривезикулярной 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.

Дизайн исследования и сформированные группы для клиничко-морфологического анализа представлены на Рисунке 1.

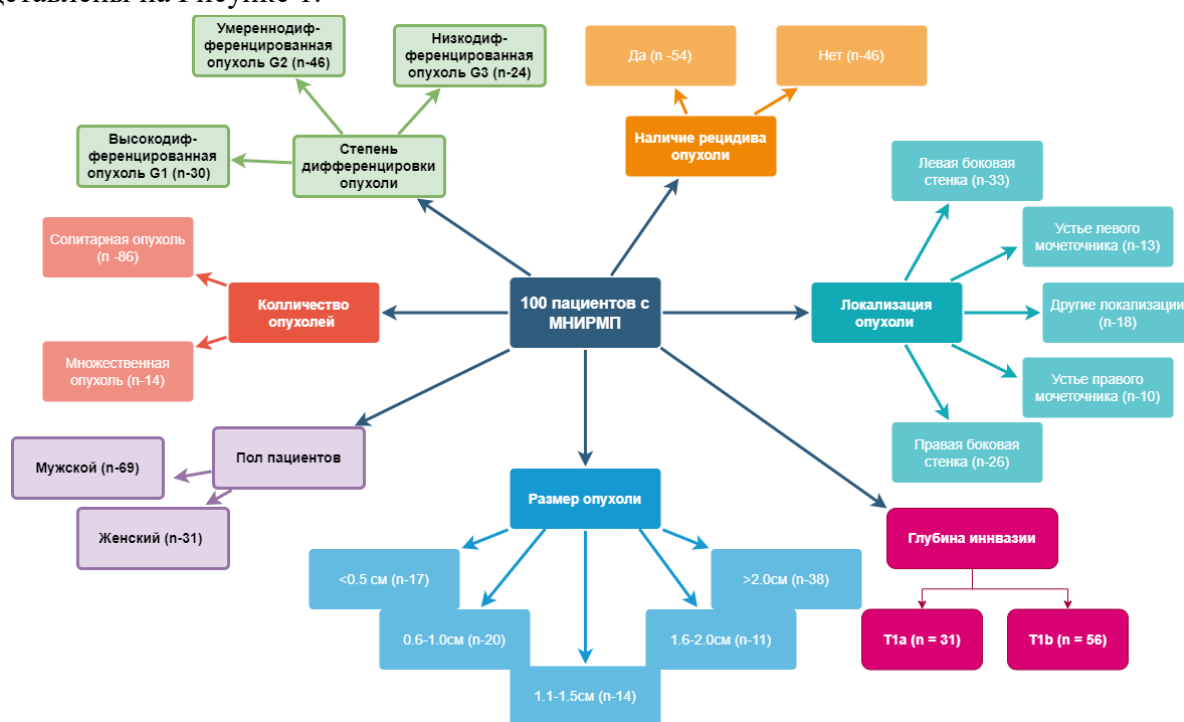


Рисунок 1 – Дизайн исследования

В ходе выполнения диссертационной работы были использованы следующие методы исследования:

1. Клиничко-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 учетом 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-тест 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  $p < 0,05$ .

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. 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 ( $p < 0,001$ ), и, 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.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Достоверность результатов подтверждается достаточностью наблюдений, использованием корректных статистических методов обработки исследованных данных, критическим анализом полученных результатов и сопоставлением их с литературными данными.

Апробация диссертационной работы состоялась на заседании межлабораторной конференции «Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына» Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» 28 декабря 2022 года, протокол № 6. Материалы и основные положения диссертации были доложены и обсуждались на следующих конференциях: 33rd European Congress of Pathology (август 2021 г.), Региональная конференция РООУ в Северо-Кавказском федеральном округе (июнь 2022 г.), XVII Международный Конгресс РООУ (сентябрь 2022 г.).

Результаты исследования внедрены в работу патологоанатомического и урологического отделений Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 31 Департамента здравоохранения города Москвы».

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. Все научные положения, выводы и практические рекомендации сформированы автором лично.

Результаты исследования изложены в 7 научных публикациях, 4 из которых опубликованы в журналах Web of Science (1) и Scopus (3), входящих в перечень рецензируемых научных изданий ВАК, где должны быть размещены основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

Диссертация изложена на 139 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 29 рисунками и 20 таблицами. Список литературы включает 241 источник, из них 10 отечественных и 231 зарубежный.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Результаты и их обсуждение.** На первом этапе нашего исследования нами оценивалось влияние пола и возраста пациентов на течение и рецидив МНРМП. В нашем исследовании нами отмечена повышенная частота выявления МНРМП у пациентов мужского пола (69% мужчин против 31% женщин), однако, нами не выявлено влияния пола пациентов на рецидив заболевания при использовании модели логистической регрессии (МЛР; Таблица 1).

Таблица 1 – Модель логистической регрессии (МЛР) для оценки значимости размера поражения на возникновение рецидива МНРМП

Параметр	Отношение шансов	ДИ = 2,5%	ДИ = 97,5%	p-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 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 (Palou J. et al., 2012), другие авторы склонны полагать, что прогноз либо слабо, либо вовсе не зависит (Sylvester R. J. et al., 2006) от полового признака.

Касательно 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,  $p = 0,03$ ). Немаловажным является факт, что симптомы, связанные с наличием РМП у женщин, могут быть некорректно интерпретированы как воспалительные заболевания мочевыводящих путей, что, в свою очередь, приводит к задержке диагностики РМП у женщин по сравнению с мужчинами (Henning A. et al., 2013). Поэтому для врача-уролога крайне важно проявлять онкологическую настороженность к пациенткам пожилого возраста. В нашем исследовании при использовании МЛР (Таблица 1) не было выявлено прямого влияния возраста пациентов на рецидив опухоли, однако нами была выявлена связь степени дифференцировки и рецидивного течения. Возраст пациентов с высокодифференцированным МНРМП (среднее значение –  $64,67 \pm 9,41$  лет, медиана – 66 (58,5; 71,5)) был значимо меньше, чем у пациентов с умеренно- (среднее значение –  $71,41 \pm 9,6$  лет, медиана – 70 (66,25; 79);  $p = 0,02$ ) и низкодифференцированными (среднее значение –  $70,12 \pm 13,07$  лет, медиана – 72,5 (64,75; 78,25);  $p = 0,03$ ) опухолями. Поэтому нам кажется, что включение возраста в расчет риска рецидива МНРМП целесообразно.



На следующем этапе нами был выполнен точный тест Фишера для оценки частоты рецидива в зависимости от количества опухолей мочевого пузыря: по данным нашего исследования мультифокальное поражение при МНРМП в 1,95 раз чаще встречалось у пациентов с рецидивным течением заболевания ( $p = 0,001$ ). Более того, по данным регрессионной модели Кокса риск рецидива при солитарных опухолях был ниже, чем при мультифокальном поражении (95% ДИ = 0,20–0,72;  $p = 0,00295$ ).

На третьем этапе нашего исследования мы оценивали значимость влияния размеров опухоли на наступление рецидива с помощью МЛР (Таблица 1). 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: шанс рецидива при опухолях размером 1–1,5 см (3 категория) в 15,71 раз выше ( $p = 0,01$ ), чем при опухолях <0,5 см (1 категория), при опухолях 1,6–2 см (4 категория) – в 7,87 раз выше ( $p = 0,047$ ), а при поражениях размером более 2 см (5 категория) - в 20,63 раз ( $p = 0,0005$ ).

На четвертом этапе исследования для оценки роли степени дифференцировки опухоли в прогнозе течения и определении риска рецидива МНРМП нами было принято решение использовать классификацию уротелиальных поражений от 1973 г. По результатам нашей работы показано, что 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 ( $p = 0,0463$ ) и 4,78 раз ( $p = 0,0101$ ) соответственно – по сравнению с высокодифференцированными (G1) опухолями (Таблица 2).

Таблица 2 – МЛР для оценки значимости степени дифференцировки опухоли на возникновение рецидива МНРМП

Параметр	Отношение шансов	ДИ = 2,5%	ДИ = 97,5%	p-значение
G2/G1	2,79	1,04	7,90	0,0463
G3/G1	4,78	1,50	16,62	0,0101

Следующим этапом нашего исследования послужила оценка параметра глубины инвазии опухоли (патологоанатомической стадии T) в прогнозе течения и определении риска 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 (Рисунок 2), пациенты со стадией T1b (инвазия в МПСО) – 56 случаев (Рисунок 3).

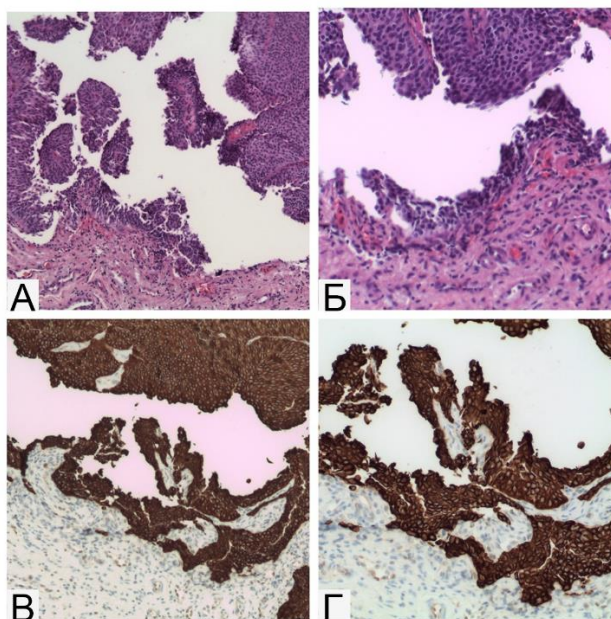


Рисунок 2 – МНРМП стадии T1a (инвазия опухоли до уровня МПСО): А – окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ ; Б – окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$ ; В – ИГХ-экспрессия СК20 в МНРМП для подтверждения наличия инвазии и оценки глубины инвазии,  $\times 100$ ; Г – ИГХ-экспрессия СК20 в МНРМП для подтверждения наличия инвазии и оценки глубины инвазии,  $\times 200$

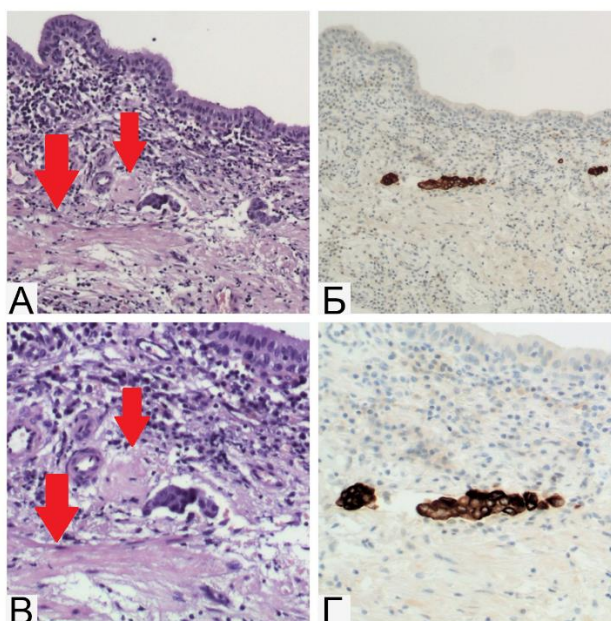


Рисунок 3 – МНРМП стадии T1b (инвазия опухоли в МПСО (МПСО обозначена красными стрелками)): А – окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ ; Б – ИГХ-экспрессия СК20 в МНРМП для подтверждения наличия инвазии и оценки глубины инвазии,  $\times 100$ ; В – окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$ ; Г – ИГХ-экспрессия СК20 в МНРМП для подтверждения наличия инвазии и оценки глубины инвазии,  $\times 200$

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. В случае стадии T1b, у 34 из 56 пациентов (60,71%) выявлено рецидивирующее поражение, рецидив не наблюдался у 22 пациентов (39,2%). 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.

Следующим этапом нашего исследования была оценка роли экспрессии СК20, Ki-67, p53 и CD44 в диагностике степени дифференцировки опухоли (Таблица 3).

Таблица 3 – Результаты иммуногистохимического исследования в группах по степеням дифференцировки опухоли G1, G2 и G3

Иммуногистохимический маркер	Значения M±SD по группам			p-значения
	G1 (n = 9)	G2 (n = 10)	G3 (n = 11)	
СК20	177,53±36,80	157,18±74,65	62,32±4,19	p <sub>G1/2</sub> = 0,360 p <sub>G1/3</sub> < 0,001 p <sub>G2/3</sub> < 0,001
Ki-67	8,19±4,75	24,12±12,65	66,48±6,82	p <sub>G1/2</sub> < 0,001 p <sub>G1/3</sub> < 0,001 p <sub>G2/3</sub> < 0,001
p53	42,19±19,33	56,42±21,50	79,43±7,21	p <sub>G1/2</sub> = 0,080 p <sub>G1/3</sub> < 0,001 p <sub>G2/3</sub> = 0,008
CD44	221,08±29,55	90,56±44,25	50,75±1,38	p <sub>G1/2</sub> < 0,001 p <sub>G1/3</sub> < 0,001 p <sub>G2/3</sub> = 0,006

В ряду высокодифференцированных – низкодифференцированных мышечно-неинвазивных карцином мочевого пузыря выявлено достоверное увеличение экспрессии двух маркеров – Ki-67 и p53, с 8,19±4,75 до 66,48±6,82 и с 42,19±19,33 до 79,43±7,21 соответственно, и достоверное снижение двух маркеров – СК20 и CD44, с 177,53±36,8 до 62,32±4,19 и с 221,08±29,55 до 50,75±1,38. В другом исследовании отмечено, что для определения степени дифференцировки опухоли целесообразно использовать маркер Ki-67, однако маркеры p53 и СК20 не показали существенных результатов (Shim J. W. et al., 2008).

Прогнозирование течения РМП тесно связано с молекулярным подтипом злокачественного новообразования. На последнем этапе нашего исследования была проведена оценка экспрессии иммуногистохимических маркеров СК20, Uroplakin III, GATA3, СК5/6, CD44, p53 для определения молекулярного подтипа МНРМП (Таблица 4).

Таблица 4 – Результаты иммуногистохимического исследования в группах по молекулярным подтипам МНРМП (люминальный/базальный)

Иммуногистохимический маркер	Значения M±SD по группам		p-значения
	люминальный (n = 17)	базальный (n = 13)	
СК20	231,45±21,80	60,47±4,27	p < 0,001
Uroplakin III	158,18±74,65	51,23±6,72	p < 0,001
GATA3	210,45±18,93	204,89±11,73	p > 0,050
СК5/6	62,32±4,12	178,51±40,32	p < 0,001

CD44	50,75±1,38	222,13±24,58	p < 0,001
p53	25,12±6,32	110,76±7,93	p < 0,001

В ходе исследования выявлено, что для люминального молекулярного подтипа МНРМП (Рисунок 4) характерна выраженная экспрессия маркеров СК20 (p < 0,001) и Uroplakin III (p < 0,001), тогда, как базальный подтип опухолей (Рисунок 5) отличается яркой экспрессией маркеров СК5/6 (p < 0,001), CD44 (p < 0,001) и p53 (p < 0,001). Экспрессия маркера GATA3 не являлась дифференцирующей для молекулярных подтипов.

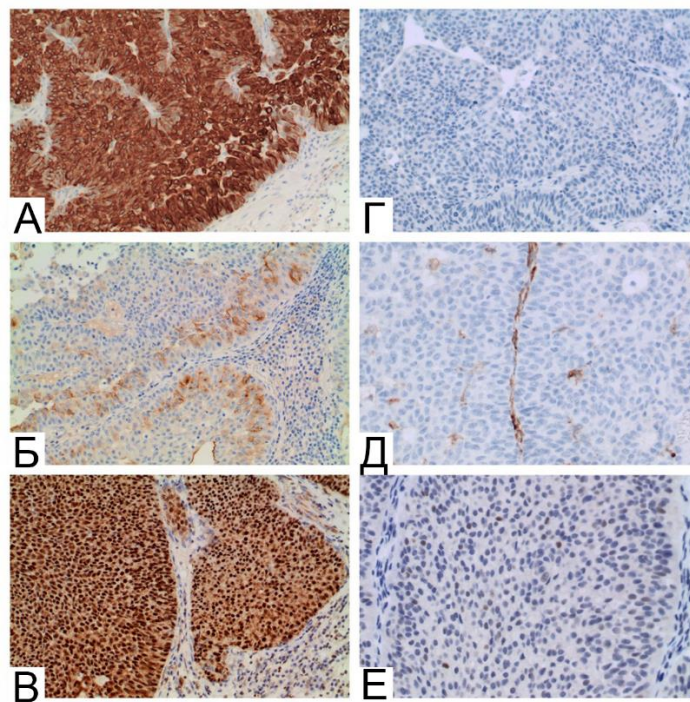


Рисунок 4 – ИГХ-экспрессия иммуногистохимических маркеров при люминальном молекулярном подтипе МНИРМП: А – СК20, ×200; Б – Uroplakin III, ×200; В – GATA3, ×200; Г – СК5/6, ×200; Д – CD44, ×200; Е – p53, ×200

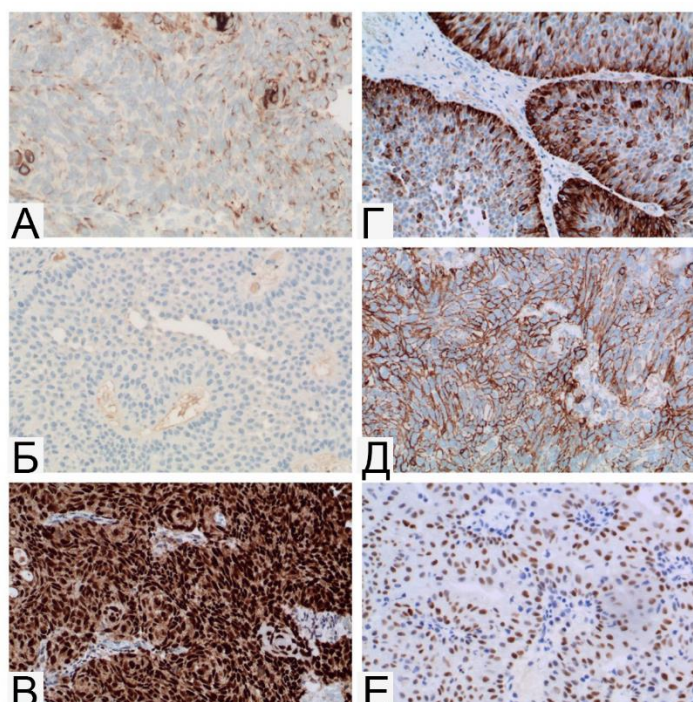


Рисунок 5 – ИГХ-экспрессия иммуногистохимических маркеров при базальном молекулярном подтипе МННРМП: А – CK20, ×200; Б – Uroplakin III, ×200; В – GATA3, ×200; Г – CK5/6, ×200; Д – CD44, ×200; Е – p53, ×200

В работе других авторов в качестве наиболее достоверных маркеров, разграничивающих люминальный и базальные подтипы, были выбраны маркеры GATA3 и CK5/6 соответственно (Dadhania V. et al., 2016). Мы также подтверждаем наличие выраженной экспрессии CK20 в люминальном подтипе опухолей и CK5/6 – в базальном. Однако в нашем исследовании мы наблюдали выраженную экспрессию маркеров GATA3 в обеих молекулярных подгруппах. Возможно, GATA3 не является настолько высокоспецифичным маркером для люминального подтипа опухолей. Следовательно, утверждение молекулярно-генетических типов РМП все еще требует подробного изучения, а дальнейшее использование маркера GATA3 для определения молекулярных подтипов МННРМП должно валидироваться большим объемом исследований.

Подводя итоги исследования, нами был сформулирован алгоритм ведения пациентов с морфологически подтвержденным МННРМП в зависимости от степени риска рецидива (Рисунок 6).

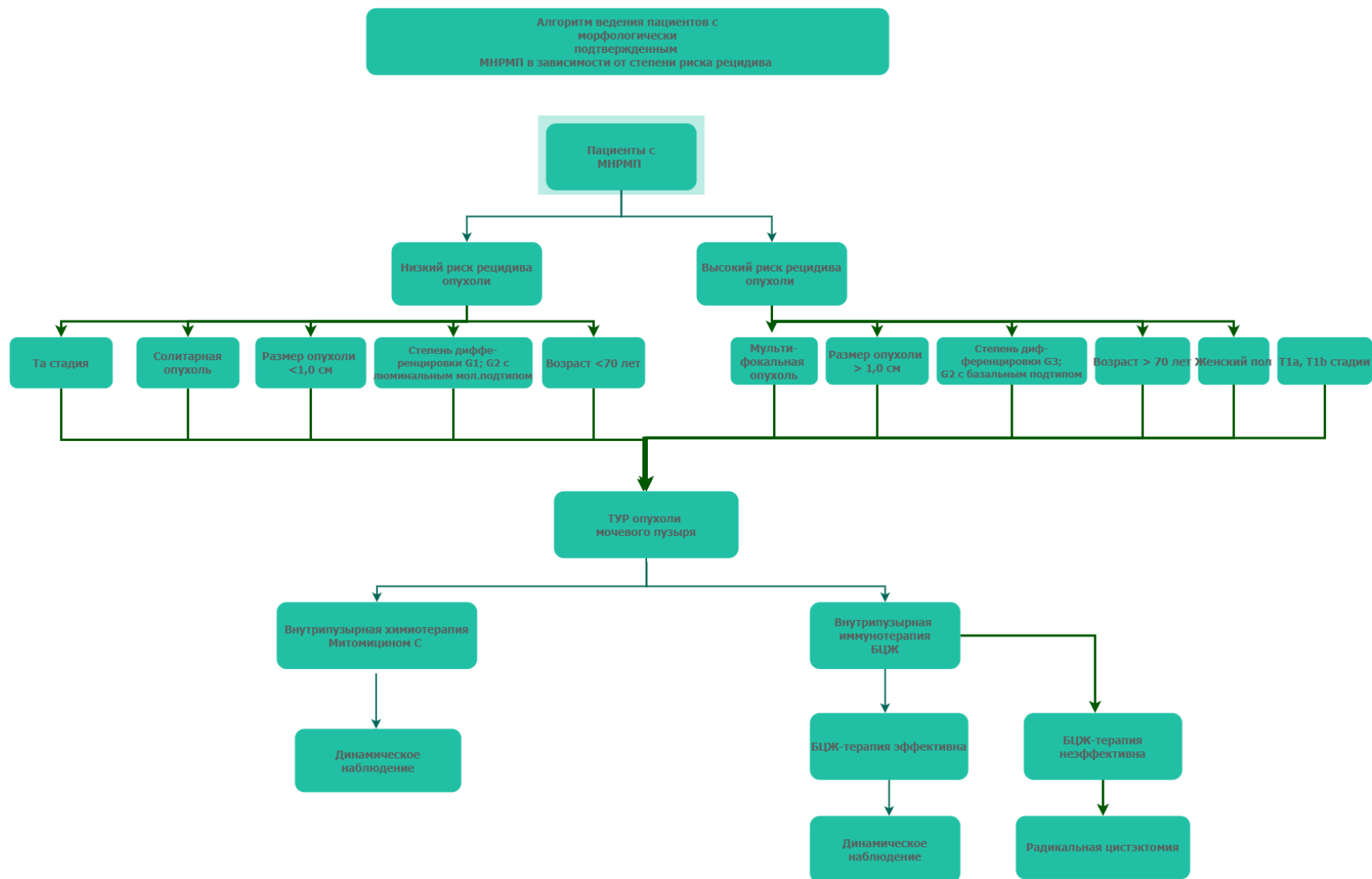


Рисунок 6 – Алгоритм ведения пациентов с морфологически подтвержденным мышечно-неинвазивным раком в зависимости от степени риска рецидива

## 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-неинвазивная, 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. 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 аномалии в опухолевых клетках, однако это не всегда является простой задачей. Отсутствие общепринятого консенсуса между врачами-патологоанатомами в определении степени дифференцировки опухоли, разнородность имеющихся 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 патологоанатомические 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 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.

Проведенное исследование позволяет сделать следующие **выводы**:

1. Установлено, что 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. Показано, что женщины подвержены мышечно-неинвазивному раку мочевого пузыря в более позднем возрасте, чем мужчины ( $p = 0,03$ ). Установлена обратная корреляция между возрастом пациентов и степенью дифференцировки мышечно-неинвазивной опухоли мочевого пузыря, и прямая корреляция между возрастом и размером опухоли. При мультифокальном поражении рецидив заболевания встречается в 1,95 раз чаще, чем при солитарном ( $p = 0,001$ ). Риск рецидива при солитарных опухолях ниже, чем при мультифокальном поражении ( $p = 0,003$ ).

3. Умеренная (G2) и низкая (G3) степени дифференцировки злокачественных опухолей мочевого пузыря ассоциированы с более высокими шансами рецидива – в 2,79 раз ( $p = 0,0463$ ) и 4,78 раз ( $p = 0,0101$ ) соответственно, по сравнению с высокодифференцированными (G1) опухолями. Выявлено, что рецидив заболевания при опухолях T1b встречается в 2,83 раза чаще, чем при опухолях T1a стадии ( $p = 0,003$ ).

4. В ряду высокодифференцированных – низкодифференцированных мышечно-неинвазивных карцином мочевого пузыря выявлено достоверное увеличение экспрессии двух маркеров – Ki-67 и p53, при одновременном достоверном снижении двух других маркеров – CK20 и CD44. Полученные данные демонстрируют оптимальный выбор данных маркеров для точной иммуногистохимической диагностики степени злокачественности мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря.

5. Установлено, что выраженная иммуногистохимическая реакция характерна для люминального молекулярного подтипа мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря с маркерами CK20 ( $p < 0,001$ ) и Uroplakin III ( $p < 0,001$ ), а для базального подтипа опухоли – с CK5/6 ( $p < 0,001$ ), CD44 ( $p < 0,001$ ) и p53 ( $p < 0,001$ ). Экспрессия маркера GATA3 не являлась дифференцирующей для молекулярных подтипов.

6. При определении тактики лечения пациентов с мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря ведущую роль играет патологоанатомическое и иммуногистохимическое исследование с определением степени дифференцировки опухоли, в соответствии с трехступенчатой классификацией ВОЗ (1973 г.). По данным нашего исследования, 60% злокачественных опухолей G2 относятся к люминальному молекулярному подтипу, а 40% – к базальному, что демонстрирует необходимость персонализированного подхода у пациентов с мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря.

7. Лечебно-диагностическая тактика ведения пациентов определяется риском рецидива мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря. При низком риске рецидива злокачественной опухоли после первичной трансуретральной резекции мочевого пузыря пациентам рекомендуется проведение внутривезикулярной химиотерапии (Митомицин С) с последующим динамическим наблюдением. При высоком риске рецидива опухоли после первичного хирургического лечения следует применить внутривезикулярную иммунотерапию БЦЖ: при успешной терапии пациенту рекомендовано дальнейшее динамическое наблюдение, при ее неэффективности следует рассматривать радикальную цистэктомию у пациента.

Полученные результаты дают возможность сформулировать следующие **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 Ta). 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 T1a/T1b) (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 внутрипузырной химиотерапией Митомидином С. Дальнейшую лечебно-диагностическую тактику (выбор препарата для внутрипузырной терапии, частота и длительность выполнения контрольных цистоскопий) необходимо определить в зависимости от риска рецидива заболевания по результатам клинико-морфологического и иммуногистохимического исследования.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук:

1. Анализ факторов риска рецидива немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря после его комбинированного лечения / М. А. Гусниев [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2022. – Т. 17. – № 3. – С. 264-268. (МЦБ)

2. Клинико-морфологические особенности немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря: влияние на лечение, прогноз и рецидив заболевания (обзор литературы) / А. М. Пшихачев [и др.] // Онкоурология. – 2021. – Т. 17. – № 1. – С. 134-141. (МЦБ)

3. Клинико-морфологические особенности мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря, влияющие на рецидив заболевания / М. А. Гусниев [и др.] // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2021. – Т. 10. – № 3. – С. 39-46. (МЦБ)

4. Bladder Cancer: Update on Risk Factors, Molecular and Ultrastructural Patterns / L. M. Mikhaleva [et al.] // Current medicinal chemistry. – 2021. – Vol. 28. – № 41. – P. 8517-8533. (МЦБ)

Другие публикации:

1. Гусниев, М. А. Роль иммуногистохимического исследования в оценке степени дифференцировки мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря / М. А. Гусниев, В. В. Печникова, Л. М. Михалева // Материалы XVII международного конгресса российского общества онкоурологов. Санкт-Петербург. – 2022. – С. 81.

2. Клинико-морфологические особенности рецидивирования одиночного и множественного поражения мочевого пузыря при мышечно-неинвазивном раке: влияние количества образований и их размеров на прогноз и рецидив заболевания / М. А. Гусниев, А. М. Пшихачев, Л. М. Михалева, В. В. Печникова // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2020. – Т. 10. – № 3. – С. 89.

3. Clinical and pathohistological risk factors of relapse in non-muscleinvasive bladder cancer / L. M. Mikhaleva [et al.] // Virchows Arch. – 2021. – Vol. 479 (Suppl1). – № S1–S320. – P. S176.

# **КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЫШЕЧНО-НЕИНВАЗИВНОГО РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ: ВЛИЯНИЕ НА ЛЕЧЕНИЕ, ПРОГНОЗ И РЕЦИДИВ ЗАБОЛЕВАНИЯ**

Гусниев Магомед Абдурагимович  
(РОССИЯ)

Диссертационное исследование посвящено выявлению клинико-морфологических особенностей мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря, имеющих прогностическое значение для определения прогноза заболевания и последующей тактики лечения пациентов. Получены приоритетные данные, расширяющие представления о факторах риска рецидива мышечно-неинвазивного рака и вкладе таких параметров, как размер опухоли, локализация опухолей, количество опухолей, глубина инвазии опухоли на вероятность развития рецидива рака мочевого пузыря. В работе дана морфологическая и иммуногистохимическая характеристика мышечно-неинвазивных опухолей различной степени дифференцировки (G1, G2, G3), а также подтверждена связь степени дифференцировки опухолей с экспрессией маркеров CK20, Ki-67, p53 и CD44. На основании выявленного иммунофенотипа образований была разработана панель иммуногистохимических маркеров, оптимизирующая диагностику степени дифференцировки мышечно-неинвазивных опухолей. Дополнена иммуногистохимическая характеристика молекулярных подтипов мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря с определением люминального подтипа опухоли при помощи маркеров CK20 и Uroplakin III, а также базального подтипа – с маркерами CK5/6, CD44, p53. Практическому здравоохранению предложен научно обоснованный персонализированный алгоритм ведения пациентов с мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря в зависимости от клинико-морфологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических особенностей опухоли.

## **CLINICAL AND MORPHOLOGICAL FEATURES OF NON-MUSCLE-INVASIVE BLADDER CANCER: EFFECT ON TREATMENT, PROGNOSIS AND RELAPSE OF THE DISEASE**

Gusniev Magomed Abduragimovich  
(RUSSIA)

The dissertation research is devoted to the identification of clinical and morphological features of non-muscle-invasive bladder cancer, which have a prognostic value for determining the prognosis of the disease and the subsequent tactics of treating patients. Data obtained expands the understanding of the non-muscle-invasive bladder cancer recurrence risk factors and the contribution of such parameters as tumor size, tumor localization, number of tumors, depth of tumor invasion to the likelihood of bladder cancer recurrence. The paper presents the morphological and immunohistochemical characteristics of non-muscle-invasive tumors of various grades of differentiation (G1, G2, G3), and also confirms the relationship between the grade of tumor differentiation and the expression of CK20, Ki-67, p53, and CD44 markers. Based on the identified immunophenotype of lesions, a panel of immunohistochemical markers was developed to optimize the diagnosis of the tumor grade of non-muscle-invasive tumors. The immunohistochemical characterization of molecular subtypes of non-muscle-invasive bladder cancer was supplemented with the determination of the luminal subtype of the tumor using markers CK20 and Uroplakin III and the basal subtype with markers CK5/6, CD44, p53. A science-based personalized algorithm for managing patients with non-muscle-invasive bladder cancer has been proposed for practical healthcare, depending on the clinical, morphological, immunohistochemical, and molecular genetic features of the tumor.