

¹Национальный институт рака, Киев

²Государственный патологоанатомический центр Украины, Хмельницкий

УРОТЕЛИАЛЬНЫЙ РАК МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ: ИНФОРМАТИВНОСТЬ И ДОСТАТОЧНОСТЬ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ



А. Н. Грабовой¹, А. Д. Великошапко²

Адрес:

Грабовой Александр Николаевич
03022, Киев, ул. Ломоносова, 33/43
Национальный институт рака
E-mail: agrabovoy@yandex.ru

Ключевые слова: уротелиальный рак мочевого пузыря, патоморфология, диагностика.

Для выбора оптимальной тактики лечения уротелиального рака мочевого пузыря, помимо типирования его по системам TNM и G, также используется выявление ряда свойств опухоли, позволяющих прогнозировать ее развитие и эффективность лечения. Однако в значительной части случаев результаты терапии не совпадают с ожидаемыми. Стало очевидным, что для прогнозирования течения заболевания и эффективности лечения установления одного или нескольких маркеров не достаточно. Сегодня принципиальной задачей является не просто определение отдельных маркеров, но и многофакторная оценка признаков данных опухолей, выявляемых морфологическими, молекулярными и генетическими методами.

Уротелиальный рак мочевого пузыря (РМП) является частой онкологической патологией [23, 47], в связи с чем представляет собой значимую социальную проблему. В большинстве случаев (70–80%) переходо-клеточный РМП диагностируют на неинвазивных стадиях. 30–85% «поверхностных» опухолей рецидивируют после проведенного лечения, причем 10–30% прогрессируют в инвазивные и метастатические карциномы. Остальные 20–30% новообразований характеризуются инфильтративным ростом уже на стадии выявления заболевания [16, 23].

В настоящее время выбор метода лечения и прогнозирование дальнейшего течения РМП базируются на его принадлежности к определенной классификационной категории по системам TNM и G. Эти признаки являются ведущими, так как определяют распространение злокачественного процесса и позволяют косвенно судить о его вероятной агрессивности. В то же время отдаленные результаты лечения больных, относящихся к одним и тем же классификационным подгруппам и получавших одинаковое лечение, существенно различаются. Таким образом, для полноценного прогнозирования при РМП необходима дополнительная информация о свойствах опухоли [6, 9, 65], то есть, кроме стадии, степени дифференцировки, гистологического варианта, следует брать во внимание индивидуальные факторы, определяющие клиническое поведение и биологическую агрессивность новообразования.

Сегодня общепризнано, что рак — генетическое заболевание. Опухолевые клетки появляются благодаря накоплению мутаций в критичных протоонкогенах и генах-супрессорах опухолевого роста. В соответствии с центральной догмой молекулярной биологии [32], реализация наследственной информации осуществляется в цепи ДНК→РНК→белок. Множественные же изменения в геноме при онкогенезе приводят к нарушению многочисленных внутриклеточных процессов, накладывающихся друг на друга, что проявляется формированием нового, «опухолевого», фенотипа с рядом характерных признаков, лежащих в основе типирования опухолей. Следует также отметить, что генетические нарушения, приводящие к возникновению опухоли, сопровождаются изменениями молекулярных сигнальных каскадов, являющихся в определенной степени специфическими для каждой конкретной опухоли и привносящих уникальные дополнения к общим механизмам опухолевого роста [72]. В связи с этим для объяснения многообразия гистологических типов уротелиальных опухолей [36] иллюстрацией послужит теория дивергенции в гистогенезе Н.Г. Хлопина [21]. При ее экстраполяции на онкогенез становится понятным разнообразие приобретаемых опухолями новых и/или утраты признаков исходной ткани, ее отличие от исходной ткани и подобие опухолям других гистогенетических типов.

В предрасположенности к РМП существенную роль играют не столько мутации, сколько нормальные вариации геномного набора [35, 51]. Учитывая то,

что повышенный риск развития РМП обусловлен наличием определенных аллельных вариантов генов ферментов прооксидантов и антиоксидантов, есть основания полагать, что цитохромы P450 и глутатионзависимые ферменты, а также гены репарации ДНК могут быть важной составной частью генетической структуры подверженности развитию РМП [86]. Наибольший риск развития РМП сопряжен с повышенной активностью ферментов CYP1A2 и NAT1, метаболизирующих ариламины, особенно в сочетании с «дефицитом» активности генов *NAT2* и *GSTM1* [8, 15, 53]. Индивидуальные различия в уровне аддуктов (участки ДНК, прочно связанные с метаболитами проканцерогенов) бенз(а)пирена с ДНК в стенке мочевого пузыря (МП) варьируют в 70 раз [25]. Частоты генотипов и аллелей полиморфного локуса Arg280His гена *XRCC1* имеют значимые различия у больных РМП и здоровых индивидов. Аллель Arg является фактором устойчивости к развитию злокачественных новообразований МП, а аллель His — генетический маркер повышенного риска их развития [30].

Следует обратить внимание на то, что 2 основных механизма эпигенетической регуляции активности генов — ДНК-метилирование и ацетилирование гистонов — способны переводить хроматин в транскрипционно неактивное состояние посредством связывания метилированной ДНК со специальными белками, в частности белком MeCP2 [23]. При РМП отмечается повышение активности ДНК-метилтрансфераз (DNMT) [29, 31, 37] и гиперметилирование генов, контролирующих процессы клеточной инвазии и архитектоники (гены *CDH1*, *CDH13* кодируют белки кадгерин-катениновой системы адгезии; ген кодирует интегральный мембранный белок CD44, а также участвует в адгезии внеклеточного матрикса (ВКМ) и передаче опосредующих внутриклеточных сигналов) [41]. Гиперметилированию при РМП подвергаются гены, отвечающие за репарацию поврежденных участков ДНК (ген, кодирующий глутатион-S-трансферазу (*GSTP1*), и ген O6-метилгуанидин-ДНК-метилтрансферазы (*MGMT*)). Опухоли, в которых не экспрессируется *MGMT*, характеризуются повышенной частотой точечных мутаций в генах, кодирующих белки p53 и K-ras [20]. При переходо-клеточном РМП отмечается гиперметилирование промоторной области и снижение экспрессии таких генов-супрессоров опухоли, как *RUNX3*, *RASSF1A*, *p16*, *RARβ*, и E-кадгерина. Метилирование *RUNX3* обеспечивает более чем 100-кратное увеличение риска развития РМП, а также связано с прогрессией и рецидивированием опухоли [62].

С другой стороны, отмечается локальное ген-специфическое гипоме-

тирование таких онкогенов и протоонкогенов, как *ras*, *c-jun*, *c-MYC* и *p52*. Уровень общего гипометилирования ДНК коррелирует с клинической стадией РМП и его метастатическим статусом [90]. Показано, что гистон-ацетилаза, индуцируя ацетилирование гистонов, активирует ряд факторов транскрипции, что облегчает доступ промоторных участков генов для последующей геновой транскрипции. И наоборот — фермент гистон-деацетилаза (HDAC), понижая степень ацетилирования гистонов, ингибирует транскрипцию генов [25].

Нарушение регуляции клеточного роста и дифференцировки при РМП связано с делецией ряда областей хромосомных локусов 10q, 13q, 3p, 4, 5q, 8, 14q, 18q [77, 82, 88, 89]. При РМП часто встречаются делеции и мутации генов *p16* и *p27*. Делеция гена, кодирующего белок p27, нередко отмечается при данном опухолевом заболевании, а уровень экспрессии p27 коррелирует со стадиями развития РМП [22, 33, 75]. Среди генетических аномалий при РМП, «закрепляющих» злокачественность, особо следует отметить утрату хромосомы 17p, несущей ген, кодирующий белок p53 [26]. Делеция хромосомы 17 с нарушением регуляторного пути ARF-MDM2-TP53 [67, 81] — распространенное явление при РМП — определяет неблагоприятный прогноз течения опухоли, ее инвазивный потенциал и раннее метастазирование. В значительной степени такой прогноз при мутациях *TP53* связан с меньшей эффективностью терапии [12, 71].

В настоящее время известны 2 области хромосомы 9, преимущественно теряющиеся при РМП, — 9p21 и 9q, что может рассматриваться как ключевое событие для развития опухоли [56]. В области 9p21 располагается кластер генов-супрессоров опухолевого роста *p14(ARF)*, *p15*, *p16*. Инактивация этих генов в результате делеции приводит к нарушению регуляторных путей RB1-p16-cyclinD и ARFMDM2-p53, вследствие чего клетка получает способность к злокачественному росту. Показано, что примерно 50% опухолей МП имеют гомозиготные делеции локуса 9p21, в результате чего отмечается полная потеря генов *p16* и *p14(ARF)* на обеих хромосомах. Мутация гена *FGFR3* достоверно чаще определяется в высокодифференцированных опухолях с хорошим прогнозом, поэтому может рассматриваться как маркер благоприятного течения поверхностного рака МП [19, 54].

Генетические изменения при уротелиальном РМП отражаются в изменении фенотипа исходной ткани, что проявляется изменением структуры, обретением опухоли способности к неограниченному и инфильтративному росту. Это обусловлено изменениями метаболи-

ческого аппарата, приобретенными опухолевыми клетками, о чем можно судить по признакам, представленным различным набором и в разной степени выраженности.

Диагностика РМП начинается с оценки морфологии опухоли, что позволяет установить ее гистологический тип (согласно классификации ВОЗ [36, 65], 12 типов инфильтративной уротелиальной карциномы и 6 типов — неинвазивной). Прогноз течения заболевания от гистологического варианта рака является необходимым, но далеко не достаточным условием при диагностике РМП (хотя существуют мнения, в соответствии с которыми морфологический вариант уротелиальной карциномы не имеет значения для инвазивного и метастатического потенциала опухоли [52]). Считается, что папиллярная уротелиальная опухоль с низким потенциалом малигнизации, как правило, не переходит в рак, однако у пациентов повышается риск возникновения новых папиллярных образований с более высоким потенциалом малигнизации [36]. Плоскоклеточная метаплазия часто встречается в карциномах высокой степени анаплазии. При веретенноклеточном варианте нередко выявляют регионарные и отдаленные метастазы. В случае превалирования лимфоэпителиомоподобного варианта прогноз относительно благоприятен. Некоторые авторы полагают, что такие варианты уротелиальной карциномы, как микропапиллярная, саркомоподобная, с железистой дифференцировкой, имеют худший прогноз [52].

Агрессивным клиническим течением отличаются мелкоклеточная, перстневидноклеточная, плоскоклеточная карциномы. Известны случаи классической веррукозной карциномы МП, не отличавшейся высоким риском прогрессирования как в связи с шистозоматозом, так и в противном случае. Мелкоклеточный рак характеризуется агрессивным клиническим течением с ранней сосудистой и мышечной инвазией. Однако его сочетание с другими типами РМП, как правило, имеет более благоприятный прогноз [36].

Увеличение числа рядов клеток в уротелии сверх 7 само по себе не является признаком неоплазии, однако обычно отмечают в сочетании с ядерной атипией и не вызывает проблем при постановке диагноза карциномы [3].

Оценку степени распространенности опухоли проводят в соответствии с классификацией РМП по системе TNM. Чаще всего предварительная клиническая стадия устанавливается по данным цистоскопии, УЗИ и гистологического исследования биопсийного материала.

При неинвазивных поражениях базальный слой уротелия сохраняет ровный четкий контур, которому подлежит не-

прерывная базальная мембрана, однако в участках инвазии он утрачивается. В области последней часто отмечаются явления фиброза и воспалительная инфильтрация. Оценивая степень распространенности опухоли на собственную пластинку слизистой, что может быть чрезвычайно трудно при тангенциальных срезах, необходимо указывать на обширную или очаговую инвазию, но не использовать характеристику «поверхностный рак», так как смешиваются 2 стадии — pTa и pT1. Считается, что опухоль, инфильтрирующая строму «широким фронтом», менее агрессивна, чем имеющая «щупальцеобразный» рост. Возможно также выделение других форм инвазивного роста опухоли: микропапиллярный, микрокистозный и гнездный. К неблагоприятным факторам прогноза инвазивных карцином относят: множественность поражения, размеры опухоли более 3 см, наличие фоновых изменений в виде карциномы *in situ*, что повышает риск развития рецидива [2]. Предполагается, что уротелиальный РМП характеризуется инфильтративным ростом уже на стадии выявления заболевания. В таком случае прогноз носит особенно неблагоприятный характер. Уротелиальный РМП принципиально отличается от прогрессирующих поверхностных карцином по своим молекулярно-патогенетическим механизмам развития [30].

Метастатическое поражение лимфатических узлов и системная диссеминация всегда связаны с плохим прогнозом заболевания. К важным прогностическим факторам относят наличие сосудистой инвазии и опухолевых комплексов в сосудах, что повышает риск развития метастазов даже на стадии pT1. Однако при оценке сосудистой инвазии патологи нередко ошибаются, принимая за сосуды щели, образовавшиеся вокруг опухолевых комплексов. В таком случае рекомендуется проводить иммуногистохимическое исследование для четкой визуализации сосудов [52].

Одним из наиболее значимых факторов прогноза после стадии заболевания, по данным большинства исследователей, является степень дифференцировки опухоли (G), прямо пропорциональная частоте рецидивирования [36, 40, 65].

Сегодня выявления тех или иных маркеров, позволяющих судить о свойствах опухоли, переходят из категории дополнительных в категорию необходимых, предоставляющих возможность выбрать наиболее эффективные методы лечения и прогнозировать развитие опухолей.

Для всех опухолей характерно изменение пролиферативных свойств их клеток. В результате нарушения функции генов-супрессоров изменяется пролиферативная активность опухолевых клеток, нарастающая по мере опухолевой

прогрессии [52]. При исследовании пролиферативной активности в опухоли обычно используют антитела к белкам Ki-67 (MIB1) и PCNA (PC10).

Ki-67 — белок, синтез которого начинается в G1-фазе и ускоряется в S- и G2-фазах клеточного цикла, достигая пика во время митотического деления, после которого он деградирует. Низкая метка ядер клеток Ki-67 (до 10%) проявляется при дисплазии и увеличивается до 45% при раке *in situ* [60]. Оценка экспрессии Ki-67 в уротелиальной карциноме способствует более точному прогнозированию клинических результатов, достоверность которого повышается при одновременном выявлении экспрессии p53 [17]. При поверхностном раке гиперэкспрессия p53 и Ki-67 была обусловлена снижением G и повышением частоты рецидивов [14, 68].

PCNA (циклин A) — белок, функционирующий в S-фазе клеточного цикла как кофактор ДНК-полимеразы, связанный с синтезом и репарацией ДНК. PCNA дольше существует в клетке, может выявляться и после фазы митоза, поэтому по сравнению с Ki-67 его экспрессия в опухолевых клетках обычно выше [30].

Рассмотрение опухолевого роста как результата дисбаланса между пролиферацией клеток и их гибелью [8] обуславливает особое внимание патологов к явлению апоптоза, нарушение механизмов которого связано с мутациями в генах, контролирующих суицидальную программу клетки [81].

Маркером, сверхвыраженным во многих злокачественных новообразованиях, в том числе при РМП, и препятствующим апоптозу, является белок сурвивин. Он вызывает изменения экспрессии генов внеклеточных матричных молекул, ведущих к появлению более агрессивных форм рака. Сурвивин также применяют в урологии как не разрушающийся в моче фактор при диагностике РМП [30].

Белок p53 — наиболее изученный и распространенный маркер, связанный со всеми новообразованиями у человека. В большинстве случаев гиперэкспрессия p53 обусловлена соматическими мутациями его гена *TP53*, возникшими либо в клетках-предшественниках непластических клонами, либо в ходе опухолевой прогрессии [67]. Мутация p53 связана со стадией и G РМП, а также является прогностически неблагоприятным фактором [5]. Недавно выяснилось, что p53 может синтезироваться в виде различных изоформ, что вносит еще большее разнообразие в его роль в развитии опухоли [27]. Показано, что средняя безрецидивная выживаемость в группе больных p53-положительными опухолями составила 30 мес, а в группе с p53-негативными — 82 мес [14, 68].

Продукты генов-супрессоров опухолевого роста *p15* и *p16* работают как негативные регуляторы клеточной пролиферации. При выявлении экспрессии p16 при РМП отмечают некоторую неоднородность, а в части работ выявлена связь гиперэкспрессии этого белка с вирусом папилломы человека 16/18 типов [33, 75]. Показано, что при опухолях Ta-T1 выявленная экспрессия p53 и p16 повышает риск развития рецидива в 14,5 раза. При инвазивном раке отмечалась связь этих показателей с G, стадией и наличием метастазов. Имеются данные о том, что коэкспрессия bcl-2 и p53 обусловлена плохими результатами лучевой терапии [14, 68].

При изучении соотношения циклинов и циклин-зависимых киназ была выявлена связь экспрессии циклина D1 с G и стадией РМП, прямая корреляция с экспрессией p21 и p27, а также обратная корреляция с индексом Ki-67 [63, 73]. Повышение цитоплазматической экспрессии циклина D1 в карциномах Ta-T1 свидетельствует об увеличении риска опухолевой прогрессии [11].

Хорошо изученным механизмом подавления апоптоза является повышение экспрессии рецепторов к ростовым факторам, возникающее в опухолевых клетках вследствие активации онкогенов.

Существует мнение, что экспрессия HER-2/neu не связана с прогнозом уротелиальной карциномы. Однако в этих исследованиях отмечено, что коэкспрессия HER-2/neu и белка p53 встречалась в опухолях с метастазами и была обусловлена снижением безрецидивной выживаемости, а в низкодифференцированных опухолях (G3) гиперэкспрессия HER-2/neu выявляется в большинстве случаев. Также выявлено повышение выработки этого белка в опухолях большого размера и множественных поражениях [78]. Была установлена связь гиперэкспрессии HER-2/neu с увеличением стадии процесса. В исследовании по изучению семейства ростовых факторов в нормальном уротелии и инвазивном раке с/без метастазов выявили увеличение экспрессии HER-2/neu в малигнизированном уротелии по сравнению с нормой, в то время как экспрессия cerb-B4 снижалась по мере нарастания малигнизации [76]. Результаты исследования, предусматривающего большую серию наблюдений, показали, что у 44% больных радикальной цистэктомией отмечается коэкспрессия HER-2/neu и Sox-2 (простогландин H2, который отсутствует в нормальном уротелии, чрезвычайно выражен в агрессивных формах уротелиальной карциномы). Сочетание выраженной экспрессии Sox-2 и амплификации гена *HER-2/neu*, выявляемой методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH), отмечалось у пациентов с наличием отдаленных метастазов. При этом экспрессия каждого из этих маркеров не зависела от стадии первичной опухоли,

состояния лимфатических узлов и G. Связи с безрецидивной выживаемостью установлено не было [30, 38].

Значение экспрессии EGFR для карцином МП изучено мало. Известно, что в норме эти рецепторы выявляют в клетках базального слоя уротелия, но при РМП определяются во всех его слоях, что является прогностически неблагоприятным маркером [17].

В уротелиальной карциноме мутационная активность рецепторов фактора роста фибробластов (FGFR) — частое явление, служащее маркером опухолей низкой степени злокачественности [45, 46]. Посредством FGFR реализуются митогенные стимулы для различных клеток нейроэктодермального и мезенхимального происхождения, стимулируется ангиогенез. Вероятная цель опухолевидных сигналов FGFR — белки Ras (низкомолекулярные глутатионтрансферазы), действующие как молекулярные переключатели, а также влияющие на пролиферацию и выживаемость клеток [48].

В настоящее время большое внимание уделяется специфическим матриксным металлопротеиназам (ММП) из класса эндопротеаз, гиперэкспрессируемым во многих злокачественных новообразованиях [39, 59] и способствующих опухолевой инвазии сквозь ВКМ [58]. Данные по экспрессии и клиническому значению ММП, а также их ингибиторов при РМП не многочисленны и противоречивы. В одних работах показана корреляция степени экспрессии ММП со стадией процесса, однако связи с G не выявлено. В других — установлена связь экспрессии ММП-2 и ММП-9 со стадией и G, но отмечено, что их роль в метастатическом потенциале опухоли нуждается в дальнейшем изучении [57, 83]. При РМП повышался уровень ММП в моче (ММП-2 и ММП-9) [55, 70].

В отличие от других ММП, ММП-10 выявляется не в строме, а в паренхиме опухоли независимо от стадии и G. Уровень ее экспрессии несколько выше на ранних стадиях развития рака, следовательно, ММП-10 не связана с агрессивностью опухоли. При изучении ММП-7 также не было отмечено различий по стадиям РМП. Сопоставление ММП-3 и ММП-1 продемонстрировало статистически достоверную связь гиперэкспрессии ММП-1 с высокой агрессивностью и низкой G уротелиальной карциномы [80, 84].

Для уротелиальных карцином, как и для других новообразований, характерно уменьшение или полная утрата клетками адгезивных свойств, связанных прежде всего с кадгеринами, сопровождаемая нарушением системы передачи межклеточных сигналов, изменением свойств прилежащих мезенхимальных клеток [43, 87]. В этом аспекте все боль-

шее внимание сегодня привлекают молекулы адгезии семейства CD44, нарушение синтеза которых и его изоформ указывают на агрессивность опухоли с высокой вероятностью метастазирования и плохим прогнозом выживаемости [42].

ВКМ претерпевает существенные изменения под воздействием опухолевых клеток, что затрагивает не только его состав, но и способность модулировать рост клеток, а также дифференцировку тканей [85]. Так, в строме инвазивных карцином МП увеличивается содержание тенасцина-С (в норме присутствует в значительных количествах в эмбриональных тканях), что прямо коррелирует с G и клинической стадией, а также может служить независимым прогностическим фактором [69]. При РМП одновременно с деградацией базальных мембран происходит накопление ламелина в строме опухоли, а экспрессия ламинина-5 выявляется достоверно выше в инвазивных опухолях, чем в неинвазивных. Данные изменения связывают с неблагоприятным прогнозом уротелиальной карциномы и высоким риском развития рецидивов поверхностного РМП [7, 34].

Для РМП, как и для многих других солидных опухолей, характерным является интенсивный ангиогенез, связанный с увеличением содержания сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) [1, 6]. Оценка ангиогенеза опухоли может помочь также выделить группы с повышенным риском возникновения метастазов, нуждающихся после оперативного вмешательства в адьювантном лечении [4].

Переходный эпителий демонстрирует уникальный цитокератиновый (СК) профиль: СК 7, 8, 13 представлены только в базальном слое, СК 18, 19 — во всех слоях уротелия, а поверхностные зонтичные клетки отличаются специфической экспрессией СК 20. Эта комбинация СК редко встречается в других гистологических типах карцином, что позволяет провести дифференциальную диагностику уротелиальной карциномы от простатической аденокарциномы и неороговевающей плоскоклеточной карциномы в случаях неизвестной первичной локализации опухоли [6, 10, 13].

Определение генетических нарушений, являющихся причиной развития опухолей и выступающих в качестве одних из наиболее достоверных маркеров злокачественной трансформации, а также характеристики опухолевого процесса, сегодня уже доступно диагностическим лабораториям [28, 49, 64].

Генная патология при РМП стала (см. начало статьи) объектом диагностических исследований прежде всего благодаря внедрению FISH-метода [66]. Работу по созданию диагностического теста для выявления РМП начала

в США в 1998 г. группа исследователей отделения лабораторной генетики «Mayo Clinic and Foundation» в сотрудничестве с фирмой «Vysis, Inc.». Был сформирован набор из 4 зондов, выявляющих наиболее характерные хромосомные нарушения для РМП: центромерных меток для хромосом 3, 7, 17 и для хромосомы 9 — пробу, специфичную локусу 9p21, где локализован ген *P16*. Эту комбинацию зондов опробовали на архивных материалах и показали ее высокую эффективность для верификации РМП, что легло в основу диагностического набора для применения в клинической практике. Разработанный набор получил название UroVysion Kit. Он прошел клинические исследования и в 2001 г. стал первым, одобренным Управлением по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами США (Food and Drug Administration), молекулярно-генетическим тестом для диагностики РМП путем выявления клеток с аномальным хромосомным набором. Этот тест можно использовать не только для верификации РМП на гистологических препаратах, но, что особенно важно, для выявления опухолевых клеток в моче пациента (является неинвазивным) [19]. Наличие 3 и более сигналов любой из CEP-проб в 25 клетках расценивается как признак малигнизации, а наличие гомозиготной делеции в участке 9p21 в 12 из 25 клеток — как ранний признак озлокачествления уротелия [10].

Результаты UroVysion Kit предназначены для использования в сочетании с, а не вместо стандартных диагностических процедур, в помощь для первичной диагностики РМП у больных гематурией и последующего контроля за рецидивами опухоли у пациентов с ранее диагностированным раком. Клиническая интерпретация полученных результатов должна проводиться в контексте истории болезни пациента и других диагностических результатов лабораторных тестов. Как показывает клинический опыт применения FISH-метода, он значительно повышает эффективность ранней диагностики РМП. Оказывается, данный метод позволяет выявлять опухолевые клетки еще до того, как наличие опухоли возможно будет определить с помощью традиционно используемых в клинической практике методов диагностики — цистоскопии, цитологии [79]. В настоящее время чувствительность FISH-метода при диагностике РМП составляет в среднем 85%, тогда как чувствительность цитологических методов не превышает 50% [18, 50, 61].

Таким образом, на сегодня технология диагностики уротелиального РМП хорошо разработана, основывается на патогенетических механизмах и предусматривает выявление комплекса морфологических, молекулярных

и генетических признаков. Для выбора оптимальной тактики лечения переходно-клеточного РМП, помимо установления его принадлежности к определенной классификационной категории по системам TNM и G, используется еще и выявление ряда свойств, позволяющих прогнозировать развитие болезни и чувствительность опухоли к лечебным воздействиям. Однако все-таки в 20–30% случаев результаты лечения не совпадают с ожидаемыми [24]. Стало очевидным, что установление одного или нескольких маркеров не обеспечивает необходимой базы для прогнозирования течения заболевания и соответственно принятия решения о дальнейшем лечении пациента [44, 74].

Естественно, первоочередная задача диагностики — выявление больных с высоким риском прогрессирования рака, нуждающихся в наиболее радикальном подходе, использовании комплекса хирургических методов в сочетании с назначением средств химиотерапии и иммунотерапии [47]. Наряду с этим сегодня принципиально важно не просто определить, но и комплексно оценить множество признаков РМП, выявляемых морфологическими, молекулярными и генетическими методами. Также необходима оценка их взаимосвязи и взаимопотенцирования. По данному аспекту диагностики уже появились отдельные работы, в которых оценивается уровень корреляции между отдельными признаками.

С нашей точки зрения, чрезвычайно перспективным является не просто суммарное выявление тех или иных признаков в опухоли, а их коэкспрессия в отдельно взятых клетках новообразования. Это позволяет выделить в составе опухоли морфофункциональные типы клеток (клоны, субпопуляции), определяющие ее потенциал развития, а также чувствительность к лечебным средствам. В связи с этим важнейшая техническая задача заключается в разработке методов выявления ряда признаков (свойств) отдельно взятой опухолевой клетки, установления степени устойчивости их взаимосвязи и выделения в составе опухоли морфофункциональных типов клеток, определяющих свойства опухоли.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аль-Шукри С.Х., Корнеев И.А., Ягмуров О.Д. и др. (2010) Роль ангиогенеза опухоли в течении переходно-клеточного рака мочевого пузыря. Актуальные вопросы патологической анатомии, 2: 37–38.
2. Андреева Ю.Ю., Завалишина Л.Э., Морозов А.А. (2008) Выявление ДНК вируса папилломы человека в поверхностной уротелиальной карциноме мочевого пузыря. Онкоурология, 1: 34–35.
3. Андреева Ю.Ю., Завалишина Л.Э., Франк Г.А. (2006) Классификация эпителиальных опухолей мочевого пузыря. Арх. патол., 68(5): 46–53.
4. Бабаян А.Ю., Башкатов С.В., Карякин О.Б. и др. (2009) Молекулярно-генетические маркеры как факторы прогноза течения поверхностного рака мочевого пузыря. Онкоурология, 3: 19–24.
5. Волгарева Г.М., Франк Г.А., Головина Д.А. и др. (2010) Вирус папилломы человека как фактор

риска при раке мочевого пузыря. Онкоурология, 4: 92–101.

6. Глыбочко П.В., Понукалин А.Н., Шахпазян Н.К. и др. (2009) Значение маркеров опухолевого роста и ангиогенеза в диагностике рака мочевого пузыря. Онкоурология, 2: 56–60.

7. Жанаева С.Я. (2010) Цистеиновые протеазы лизосом в онкогенезе. Бюллетень СО РАМН, 30(4): 101–109.

8. Имянитов Е.Н., Хансон К.П. (2007) Молекулярная онкология: клинические аспекты. СПб.: МАПО: 211.

9. Каган О.Ф., Казаров Р.Л., Казаров Л.Р. и др. (2009) Опыт проведения трансуретральной биопсии в раннем послеоперационном периоде у больных поверхностным раком мочевого пузыря. Онкоурология, 2: 48–51.

10. Каркаладзе А.И. (2009) Реакция флуорисцентной *in situ* гибридизации (FISH-реакция) в диагностике онкологических заболеваний: прил. к журналу «Архив патологии». Медицина, М., 37 с.

11. Кекеева Т.В., Попова О.П., Шегай П.В. и др. (2007) Аномальное метилирование генов p16, HIC1, N33 и GSTP1 в эпителии и стромальных клетках рака предстательной железы. Молекулярная биология, 41(1): 79–85.

12. Копнин Б.П., Копнин П.Б., Хромова Н.В. и др. (2008) Многоликий p53: разнообразие форм, функций, опухольсупрессирующих и онкогенных активностей. Онкогематология, 1(1): 2–9.

13. Магер В.О. (2006) Прогностическое значение биологических маркеров у больных поверхностным и инвазивным раком мочевого пузыря. Онкоурология, 4: 30–34.

14. Масляков Г.Н., Понукалин А.Н., Цмокалюк Е.Н. и др. (2009) Роль иммуногистохимических маркеров в диагностике рака мочевого пузыря. Саратовский научно-медицинский журнал, 5(4): 608–611.

15. Павлов В.Н., Измайлова С.М., Измайлов А.А. и др. (2008) Роль полиморфизма генов GSTM1, GSTP1, CYP1A1 в формировании злокачественных новообразований мочевого пузыря. Материалы III конгресса Российского общества онкоурологов, с. 105–106.

16. Полищук Л.А., Телегеева П.Г., Стаховский А.Э. и др. (2010) Новые специфичные молекулярные диагностические маркеры при онкоурологических заболеваниях. Лабораторная диагностика, 4(54): 46–51.

17. Проданец Н.Н., Снопина Л.Б., Бунегина Л.В. (2009) Молекулярно-биологические маркеры поверхностного и инвазивного рака мочевого пузыря. СТМ, 2: 87–91.

18. Севаньяев А.В., Лушников Е.Ф., Карякин О.Б. и др. (2008) Клиническое применение FISH-метода в ранней диагностике поверхностного рака мочевого пузыря. Онкоурология, 4: 61–65.

19. Слозина Н.М., Никифоров А.М., Неронова Е.Г. и др. (2007) Молекулярно-цитогенетическая диагностика рака мочевого пузыря. Онкология, 8: 46–60.

20. Ушакова Н.В., Маркова Е.В., Лапешин П.В. и др. (2006) Комбинированные полиморфизмы генов GSTM1, GSTT1 и P53 в ассоциации с риском развития различных гистологических типов рака легкого. Мед. генетика, 5(47): 43–46.

21. Хлопин Н.Г. (1964) Общепатологические и экспериментальные основы гистологии. Изд-во АН СССР, М., л., 468 с.

22. Basturk B. (2006) Cytokine gene polymorphisms can alter the effect of Bacillus Calmette-Guérin (BCG) immunotherapy. Cytokine, 35(1–2): 1–5.

23. Baylin S.B., Ohm J.E. (2006) Epigenetic gene silencing in cancer – a mechanism for early oncogenic pathway addiction? Nat. Rev. Cancer, 6: 107–116.

24. Bladder cancer: Diagnosis, Therapeutics, and Management (2010) Ed. Ch. T. Lee, D.P. Wood. Humana Press: 313 p.

25. Blaveri E., Simko J.P., Korkola J.E. et al. (2005) Bladder cancer outcome and subtype classification by gene expression. Clin. Cancer Res., 11: 4044–4055.

26. Borkowska E., Binka-Kowalska A., Constantinou M. et al. (2007) P53 mutations in urinary bladder cancer patients from Central Poland. J. Appl. Genet., 48(2): 177–183.

27. Bourdon J.C. (2007) p53 and its isoforms in cancer. Br. J. Cancer, 97(3): 277–282.

28. Braig M., Schmitt C.A. (2006) Oncogene-induced senescence: putting the brakes on tumor development. Cancer Res., 66: 2881–2884.

29. Catto J.W.F., Azzouzi A.R., Rehman I. et al. (2005) Promoter hypermethylation is associated with tumor location, stage, and subsequent progression in transitional cell carcinoma. J. Clin. Oncol., 23: 2903–2910.

30. Cheryl T., Lee and David P. Wood. (2009) Bladder cancer: Diagnosis, Therapeutics, and Management, 313 p.

31. Cote R.J., Laird P.W., Datar R.H. (2005) Promoter hypermethylation: a new therapeutic target emerges in urothelial cancer. J. Clin. Oncol., 23: 2879–2881.

32. Crick F. (1970) Central dogma of molecular biology. Nature, 227: 561–563.

33. Cui L., Shi Y., Qian J. et al. (2006) Deregulation of the p16 - cyclin D1/cyclin-dependent kinase 4-retinoblastoma pathway involved in the rat bladder carcinogenesis induced by terephthalic acid-calcium. Urol. Res., 34(5): 328.

34. Degen M., Brellier F., Schenk S. et al. (2008) Tenascin-W a new marker of cancer stroma is elevated in sera of colon and breast cancer patients. Int. J. Cancer, 122: 2454–2461.

35. Dudzic E., Goepel J.R., Catto J. (2011) Global epigenetic profiling in bladder cancer. Epigenomics, 3(1): 35–45.

36. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs (2004) Ed. J.N. Eble, G.S. Jonathan, I.E. Isabella et al. Lyon: IARC Press, 354 p.

37. Ellinger J., El Kassem N., Heukamp L.C. et al. (2008) Hypermethylation of cell-free serum DNA indicates worse outcome in patients with bladder cancer. J. Urology, 179, Issue 1: 346–352.

38. Eltze E., Wulff C., Von Struensee D. et al. (2005) Cox-2 and Her2/neu co-expression in invasive bladder cancer. Int. J. Oncol., 26(6): 1525–1531.

39. Escaff S., Fernandez J.M., Gonzales A. et al. (2010) Study of matrix metalloproteinases and their inhibitors in prostate cancer. British Journal of Cancer, 102: 922–929.

40. European Association of Urology. Pocket guidelines (2008): 60 p.

41. Fromont G., Roupert M., Amira N. et al. (2005) Tissue microarray analysis of the prognostic value of E-cadherin, Ki67, p53, p27, survivin and MSH2 expression in upper urinary tract transitional cell carcinoma. Eur. Urol., 48: 764–770.

42. Georgiolos A., Batistatou A., Charalabopoulos K. et al. (2006) The role of CD44 adhesion molecule in oral cavity cancer. Exp. Oncol., 28(2): 94–98.

43. Gocheva V., Joyce J.A. (2007) Cysteine cathepsins and cutting edge of cancer invasion. Cell Cycle, 6(1): 60–64.

44. Goebell P.J., Knowles M.A. (2010) Bladder cancer or bladder cancers? Genetically distinct malignant conditions on the urothelium. Urol. Oncol., 28(4): 409–428.

45. Hernandez S., Lopez-Knowles E., Lloreta J. et al. (2006) Prospects study of FGFR3 mutations as a prognosis factor in nonmuscle invasive urothelial bladder carcinomas. J. Clin. Oncol., 24: 3664–3671.

46. Hua D., Chen B., Bai M. (2009) PEA3 activates VEGF transcription in T47D and SKBR3 breast cancer cells. Acta Biochim. Sin., 41(1): 63–68.

47. Jacobs L.B., Lee T.C., Montie J.E. (2010) Bladder cancer in 2010: how far have we come? CA Cancer J. Clin., 60: 244–272.

48. Jebar A.H., Hurst C.D., Tomlinson D.S. et al. (2005) FGFR3 and Ras gene mutations are mutually exclusive genetic events in urothelial cell carcinoma. Oncogene, 24: 5218–5225.

49. Junker K., Fritsch T., Hartmann A. et al. (2006) Multicolor fluorescence *in situ* hybridization (M-FISH) on cells from urine for the detection of bladder cancer. Cytogenet. Genome Res., 114(3–4): 279–283.

50. Kang J.U., Koo S.H., Jeong T.E. et al. (2006) Multitarget fluorescence *in situ* hybridization and melanoma antigen genes analysis in primary bladder carcinoma. Cancer Genet. Cytogenet., 164(1): 32–38.

51. Koed K., Wiuf C., Christensen L.L. et al. (2005) High-density single nucleotide polymorphism array defines novel stage and location-dependent allelic imbalances in human bladder tumors. Cancer Res., 65: 34–45.

52. Kruger S., Mahnen K., Kausch I. et al. (2005) P16 immunoreactivity is an independent predictor of tumor progression in minimally invasive urothelial bladder carcinoma. Eur. Urol., 47(4): 463–467.

53. Kuznetsova O.A., Yakupova E.V. et al. (2006) Glutathione S-transferase (GSTM1, GSTT1, GSTP1) genes polymorphisms in childhood acute lymphoblastic leukemia. Med. Genetica, 1(43): 39–41.

54. Le Frere-Belda M.A., Gil Diez de M.S., Daher A. et al. (2004) Profiles of the 21NK4a gene products, p16 and p14ARF, in human reference urothelium and bladder carcinomas, according to pRb and p53 protein status. Hum. Pathol., 35: 817–824.

55. Li Y., Jia J.H., Kong S. et al. (2009) The functional polymorphisms on promoter region of matrix metalloproteinase-12, -13 genes may alter the risk of epithelial ovarian carcinoma in Chinese. Int. J. Gynecol. Cancer, 19(1): 129–133.

56. Lindgren D., Liedberg F., Andersson A. et al. (2006) Molecular characterization of early-stage bladder carcinomas by expression profiles, FGFR3 mutation status, and loss of 9q. Oncogene., 25: 2685–2696.

57. Magali V.S., Ruth O., Francis F. et al. (2010) Membrane type 1 matrix metalloproteinase detection in tumors, using the iodinated endogenous tissue inhibitor 2 of metalloproteinases as imaging agent. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 5: 511–520.
58. Mannello F., Luchetti F., Falcieri E. et al. (2005) Multiple roles of matrix metalloproteinases during apoptosis. *Apoptosis*, 10: 19–24.
59. Mannello F., Tonti G., Papa S. (2005) Matrix metalloproteinase inhibitors as targets of anticancer therapeutics. *Curr. Cancer Drug Targets*, 5: 285–298.
60. Margulis V., Shahrokh F., Raheela A. et al. (2006) Ki-67 is an independent predictor of bladder cancer outcome in patients treated with radical cystectomy for organ-confined disease. *Clin. Cancer Res.*, 12(24): p. 15.
61. Marin-Aguilera M., Mengual L., Ribal M. et al. (2007) Utility of fluorescence in situ hybridization as a non-invasive technique in the diagnosis of upper urinary tract urothelial carcinoma. *Eur. Urol.*, 51: 409–415.
62. Marsit C.J., Houseman E.A., Christensen B.C. et al. (2006) Examination of a CpG island methylator phenotype and implications of methylation profiles in solid tumors. *Cancer Res.*, 66(21): 10621–10629.
63. McColgan P., Sharma G.F., Peelen P. et al. (2007) Polymorphisms of matrix metalloproteinases 1, 2, 3 and susceptibility to lung, breast and colorectal cancer in over 30000 subjects. *Int. J. Cancer*, 125(6): 1473–1478.
64. Mhawech-Fauceglia P., Cheney R.T., Schwaller J. (2006) Genetic alterations in urothelial bladder carcinoma: an updated review. *Cancer*, 106: 1205–1216.
65. Montironi R., Lopez-Beltran A. (2005) The 2004 WHO classification of bladder tumors: a summary and commentary. *J. Surg. Pathol.*, 13(2): 143–153.
66. Moonen P.M., Merkh G.F., Peelen P. et al. (2007) UroVysion compared with cytology and quantitative cytology in the surveillance of non-muscle-invasive bladder cancer. *Eur. Urol.*, 51: 1275–1280.
67. Moonen P.M., van Balken-Ory B., Kiemeneij L.A. et al. (2007) Prognostic value of p53 for high risk superficial bladder cancer with long-term followup. *J. Urol.*, 177(1): 80–83.
68. Nakopoulou L., Mylona E., Papadaki I. et al. (2006) Study of phosphor-p-catenin subcellular distribution in invasive breast carcinomas in relation to their phenotype and the clinical outcome. *Modern Pathology*, 19: 556–563.
69. Orend G., Chiquet-Ehrismann R. (2006) Tenascin-C induced signaling in cancer. *Cancer Lett.*, 244: 143–163.
70. Peng B., Cao L., Wang W. et al. (2010) Polymorphisms in the promoter regions of matrix metalloproteinases 1 and 3 cancer risk: a meta-analysis of 50 case-control studies. *Mutagenesis*, 25(1): 45–48.
71. Petitjean A., Achatz M.L., Borresen-Dale A.L. et al. (2007) TP53 mutations in human cancers: functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes. *Oncogen.*, 26(15): 215–2165.
72. Petricoin E.F., Bichsel V.E., Calvert V.S. et al. (2005) Mapping molecular networks using proteomics: a vision for patient-tailored combination therapy. *Biochim. Biophys. Acta*, 23: 3614–3621.
73. Polak P., Oren A., Ben-Dror I. et al. (2006) The cytoskeleton network controls c-Jun translation in a UTR-dependent manner. *Oncogen.*, 25: 665–676.
74. Queipo Z.J.A., Ruiz C.J.L., Palmero M.L. et al. (2005) Prognostic value for progression of the regulating proteins of the cellular cycle in pT1G3 bladder tumors. *Actas Urol. Esp.*, 29(3): 261–268.
75. Raspollini M.R., Nesi G., Baroni G. et al. (2006) P16 (INK4a) expression in urinary bladder carcinoma. *Urol. Androl.*, 78(3): 97–100.
76. Rotterud R., Fossa S.D., Nesland J.M. (2007) Protein networking in bladder cancer: immunoreactivity for FGFR3, EGFR, ERBB2, KAI1, PTEN, and RAS in normal and malignant urothelium. *Histol. Histopathol.*, 22(4): 349–363.
77. Saal L.H., Johansson P., Holm K. et al. (2007) Poor prognosis in carcinoma is associated with a gene expression signature of aberrant PTEN tumor suppressor pathway activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104: 7564–7569.
78. San Miguel Fraile P., Gómez de María C., Donis Quintairo L. et al. (2007) Expression of E-cadherin and catenins in urothelial carcinomas. *Actas Urol. Esp.*, 31(4): 355–360.
79. Sarosdy M.F., Kahn P.R., Ziffer M.D. et al. (2006) Use of a multi target fluorescence in situ hybridization assay to diagnose bladder cancer in patients with hematuria. *Urology*, 176(1): 44–47.
80. Seargent J.M., Loadman P.M., Martin S.W. et al. (2005) Expression of matrix metalloproteinase-10 in human bladder transitional cell carcinoma. *Urology*, 65(4): 815–820.
81. Sengupta S., Harris C.C. (2005) P53: traffic cop at the cross-roads of DNA repair and recombination. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 6: 44–55.
82. Shariat S.F., Tokunaga H., Zhou J. et al. (2004) P53, p21, pRb and p16 expression predict clinical outcome in cystectomy with bladder cancer. *J. Clin. Oncol.*, 22(6): 1014–1024.
83. Shimizu Y., Kondo S., Shirai A. et al. (2008) A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 and interleukin-8 gene promoter predicts poor prognosis in tongue cancer. *Auris Nasus Larynx*, 35: 381–389.
84. Singh H., Jain M., Mittal B. (2008) MMP-7 (-181A>G) promoter polymorphisms and risk for cervical cancer. *Gynecol. Oncol.*, 110(1): 71–75.
85. Sivasankaran B., Degen M., Ghaffri A. et al. (2009) Tenascin is a novel RBP JK-induced target gene for notch signaling in gliomas. *American Association For Cancer Research*, 69: 458–465.
86. Smith S.C., Oxford G., Baras A.S. et al. (2007) The expression of rat GTPases, their effectors, and activators in human bladder cancer. *Clin. Cancer Res.*, 13: 3803–3813.
87. Tena-Suck M.L., Alarcon A., Rosl F. et al. (2010) E-cadherin expression in male urethral smears and correlation with PCR-based detection of human papillomavirus infection. *Diagnostic Cytopathology*, 38(8): 583–589.
88. Tsuruta H., Kishimoto H., Sasaki T. et al. (2006) Hyperplasia and carcinomas in Pten-deficient mice and reduced PTEN protein in human bladder cancer patients. *Cancer Res.*, 66: 8389–8396.
89. Wild P.J., Herr A., Wissmann C. et al. (2005) Gene expression profiling of progressive papillary non-invasive carcinomas of the urinary bladder. *Clin. Cancer Res.*, 11: 4415–4429.
90. Wolff E.M., Liang G., Jones P.A. (2005) Mechanisms of disease: genetic and epigenetic alterations that drive bladder cancer. *Nat. Clin. Pract. Urol.*, 2: 502–510.

Уротеліальний рак сечового міхура: інформативність і достатність морфологічної діагностики

О.М. Грабовий¹, А.Д. Великошапко²

¹Національний інститут раку, Київ
²Державний патологоанатомічний центр України, Хмельницький

Резюме. Для обрання оптимальної тактики лікування уротеліального раку сечового міхура, крім типувannya його за системами TNM і G, також використовується визначення ряду властивостей пухлини, що дозволяють прогнозувати її розвиток та ефективність лікування. Однак у значній частині випадків результати терапії не співпадають з очікуваннями. Стало очевидним, що для прогнозування перебігу хвороби та ефективності лікування встановлення одного чи декількох маркерів не достатньо. Нині принциповою задачею є не лише визначення окремих маркерів, а й багатофакторна оцінка ознак цих пухлин, що виявляються морфологічними, молекулярними й генетичними методами.

Ключові слова: уротеліальний рак сечового міхура, патоморфологія, діагностика.

Urothelial tumours of the urinary bladder: information content and sufficiency of morphological diagnostics

A.N. Grabovoy¹, A.D. Velikoshapko²

¹National cancer institute, Kiev
²State pathoanatomical centre of Ukraine, Khmelnytsky

Summary. For a choice of optimum tactics of treatment urothelial bladder cancer, besides tipping it on systems TNM and G, it is used also revealings of some properties of the tumour, allowing to predict its development and efficiency of treatment. However, in a significant part of cases results of treatment do not coincide with the expected. Became obvious, that for forecasting of a current of disease and efficiency of treatment of revealing of one or several markers is not sufficient. Today a basic problem is not simply revealing of separate markers, and a multifactorial estimation of signs of the given tumours revealed by morphological, molecular and genetic methods.

Key words: urothelial tumours of the urinary bladder, pathomorphology, diagnostics.