

DOI: 10.26693/jmbs04.05.096

УДК 616.62-006.3.04-091.18-092.8-037

Яковцова И. И., Тутов Е. В., Ивахно И. В.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И СТАДИРОВАНИЕ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ МЫШЕЧНО-НЕИНВАЗИВНОГО РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ КАК КРИТЕРИИ ПРОГНОЗА РЕЦИДИВИРОВАНИЯ И ПРОГРЕССИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина

titovevgeniy@ukr.net

Эпителиально-мезенхимальная трансформация является критерием агрессивного клинического поведения раков различной локализации. Известно, что эпителиально-мезенхимальная трансформация характеризуется различной степенью выраженности, однако в научной литературе практически отсутствуют сведения о ее градации. Целью исследования явилась оценка совокупности иммуногистохимических маркеров эпителиально-мезенхимальной трансформации неинвазивных уротелиальных раков мочевого пузыря с определением её стадии, как критерия рецидивирования и прогрессии заболевания.

Неинвазивные уротелиальные раки мочевого пузыря были распределены на 3 группы по 14 случаев: раки без рецидивирования (I группа), с рецидивированием (II группа) и с рецидивированием и прогрессией (III группа). Иммуногистохимическое исследование проводилось с использованием первичных моноклональных антител к Е-кадгерину, цитокератинам 20 и 7, N-кадгерину, виментину.

Экспрессия маркеров мезенхимального фенотипа (виментина или N-кадгерина) наблюдалось в 45,2% (19/42) случаев. Появление эпителиально-мезенхимальной трансформации ассоциируется с рецидивированием опухоли ($p < 0,03$). Однако каждый из исследованных маркеров в отдельности не демонстрировали статистически значимой зависимости с принадлежностью раков к группам исследования, а, следовательно, не могут служить критерием рецидивирования или рецидивирования с прогрессией.

При разделении эпителиально-мезенхимальной трансформации на стадии выявлено, что опухоли с рецидивированием ассоциируются с 1 стадией эпителиально-мезенхимальной трансформации (преимущественно эпителиальным фенотипом раков) ($p < 0,03$), а для раков с рецидивированием и прогрессией характерна 2 стадия эпи-

телиально-мезенхимальной трансформации (промежуточным эпителиальным фенотипом раков) ($p < 0,05$).

Таким образом, градация эпителиально-мезенхимальной трансформации с учетом совокупности маркеров является ценным прогностическим критерием неинвазивных уротелиальных раков мочевого пузыря.

Ключевые слова: эпителиально-мезенхимальная трансформация, неинвазивный уротелиальный рак мочевого пузыря.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Статья является фрагментом НИР «Патогістологічна та імуногістохімічна діагностика і прогноз злоякісних пухлин різної локалізації з урахуванням їх біологічних властивостей та клінічного перебігу», № государственной регистрации 0117И000594.

Введение. Уротелиальный рак является наиболее частой формой рака мочевого пузыря (РМП), который в 75% случаев выявляется на этапе мышечно-неинвазивного роста [4]. Однако, даже неинвазивные уротелиальные РМП (НУРМП), стадии T1, рецидивируют в 30–85% случаев, а прогрессирование заболевания возникает в 10–30% [6].

НУРМП является гетерогенной злокачественной опухолью с порой различным клиническим течением и прогнозом при одинаковой стадии и дифференцировке [13]. Критерием агрессивного клинического поведения раков различной локализации, а именно рецидивирования, опухолевой прогрессии, метастазирования, отсутствия ответа на химиотерапию, низкой выживаемости пациентов, является эпителиально-мезенхимальная трансформация (ЭМТ) раковых клеток [13]. По данным ряда авторов ЭМТ в УРМП ассоциируется с опухолевой прогрессией [3], возрастанием

инвазивных свойств, устойчивостью к лучевой и химиотерапии [10, 15] и является критерием плохого прогноза [12,16].

Известно, что ЭМТ не является формированием взаимно исключающего эпителиального либо мезенхимального фенотипа раковых клеток, а зачастую характеризуется коэкспрессией как эпителиальных, так и мезенхимальных маркеров. Такого рода ЭМТ носит название неполной, или промежуточной стадии [12]. В научной литературе, как правило, не рассматривается вопрос градации ЭМТ, а учитывается самостоятельное прогностическое значение тех или иных маркеров ЭМТ [12, 13, 16], либо оценивается фенотип раковых клеток как эпителиальный, эпителиально-мезенхимальный и мезенхимальный [11]. Имеются единичные работы, в которых авторы предлагают классификацию ЭМТ на основании оценки уровня М-РНК маркеров ЭМТ путем анализа значения пороговых циклов (ct), с последующим расчетом Δct – соотношения концентрации исследуемой М-РНК и внутреннего контроля, дальнейшим расчетом разницы $-\Delta ct$ маркеров ЭМТ. Например, по данным Jörg Hånze при исследовании двух маркеров E-кадгерина и N-кадгерина в УРМП степень ЭМТ рассчитывалась как: $(-\Delta ct \text{ N-cadherin}) - (-\Delta ct \text{ E-cadherin})$. Полученные высокие числовые значения (до +10) указывают на мезенхимальный статус, а низкие (-18 и выше) – эпителиальный [10].

Целью настоящего исследования явилась оценка совокупности иммуногистохимических маркеров ЭМТ НУРМП с определением её стадии, как критерия рецидивирования и прогрессии заболевания.

Материал и методы исследования. Материалом послужили оперативно удаленные в Харьковском областном клиническом центре урологии и нефрологии им. В. И. Шаповалова уротелиальные раки мочевого пузыря стадии T1, т. е. без инвазии в мышечный слой стенки органа, числом 42 случая. Средний возраст пациентов составил $66,4 \pm 7,2$ лет, мужчин было 83,3% (35/42), женщин –16,7% (7/42).

Исследование проведено в соответствии с основными биоэтическими нормами Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения научно-медицинских исследований с поправками (2000, с поправками 2008), Универсальной декларации по биоэтике и правам человека (1997), Конвенции Совета Европы по правам человека и биомедицине (1997).

Материал был распределён на группы: неинвазивные НУРМП без рецидивирования – I группа (14 случаев), НУРМП с рецидивированием без

прогрессии – II группа (14 случаев) и НУРМП с рецидивированием и прогрессией в виде инвазии в мышечный слой стенки – III группа (14 случаев). С целью исключения влияния на результаты исследования фактора дифференцировки опухоли, в каждой из групп исследования было взято равное число случаев НУРМП высокой и низкой степени злокачественности: по 8 НУР HC3 и 6 случаев НУР BC3 в каждой из групп.

Иммуногистохимическое исследование проводилось с использованием первичных моноклональных антител (МКАТ) фирмы DAKO (Дания), Ready-to-Use к E-кадгерину, цитокератинам 20 (ЦК 20) и 7 (ЦК 7), N-кадгерину, виментину. Для оценки иммуногистохимической реакции использовали полуколичественную шкалу – учитывались процент экспрессирующих маркер клеток в поле зрения: 0 – отсутствие экспрессии, 1 – 1–33% клеток, 2 – 34–66% клеток, 3 – 67–100% клеток. Для каждого из случаев учитывались 6 полей зрения микроскопа $\times 400$, из них по 3 поля зрения в центральной зоне опухоли и по 3 – на границе со стромой.

НУРМП по степени ЭМТ были разделены на 6 категорий: 1 – раки без ЭМТ (не экспрессирующие мезенхимальные маркеры); 2 – раки с признаками ЭМТ, преимущественно эпителиальным фенотипом (экспрессия эпителиальных маркеров преобладает над экспрессией мезенхимальных, $p < 0,05$); 3 – раки с промежуточным эпителиальным фенотипом (экспрессия эпителиальных маркеров преобладает над экспрессией мезенхимальных, $p > 0,05$); 4 – раки с промежуточным мезенхимальным фенотипом; 5 – раки с преимущественно мезенхимальным фенотипом; 6 – раки с мезенхимальным фенотипом.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакета «Statistica 6.0». Учитывалось различие полученных значений между маркерами мезенхимального фенотипа (виментина и N-кадгерина) и маркерами эпителиального фенотипа (E-кадгерина, и цитокератинов), формирующих два ранжированных вариационных ряда. Методом статистической обработки послужил расчет U-критерия Манна – Уитни. Для выявления зависимости между исследуемыми показателями и их принадлежности к группам исследования использовался χ^2 квадрат Пирсона. Степень зависимости экспрессии маркеров между собой оценивали с использованием критерия Спирмана.

Результаты исследования и их обсуждение. Развитие ЭМТ в раках обусловлено влиянием различных факторов и опухолевым микроокружением, которые иницируют каскад сигнальных путей, ведущих к активации транскрипционных факторов,

таких как: Snail, Slug, ZEB1, ZEB2, TWIST, экспрессия которых может активироваться на ранних этапах ЭМТ УРМП [12]. Взаимодействие факторов транскрипции с различными ключевыми регуляторными протеинами и ферментами эпигенеза приводит к инициации или подавлению экспрессии генов ЭМТ, к которым, прежде всего, относится виментин и семейство классических кадгеринов: CDH1, кодирующий E-кадгерин, CDH2, кодирующий N-кадгерин, CDH3, кодирующий VE-кадгерин [12].

E-кадгерин является трансмембранным гликопротеином, маркером межклеточной адгезии эпителиальных тканей. По большинству мнений, снижение уровня экспрессии данного маркера ассоциируется с частичной или полной утратой эпителиального фенотипа раковыми клетками, вследствие чего ухудшается прогноз течения заболевания [1]. Но существуют противоположные данные, где потеря E-кадгерина напрямую связана с клинической стадией, но не влияет на прогноз [8]. В эпителиальных злокачественных опухолях, включая УРМП, по мере возрастания стадии и снижения опухолевой дифференцировки отмечается снижение экспрессии E-кадгерина, что часто сопровождается повышением экспрессии N-кадгерина или P-кадгерина. Этот феномен замещения экспрессии E-кадгерина, типичного для эпителия, N-кадгеринном, либо патологическим возрастанием экспрессии N-кадгерина без снижения экспрессии E-кадгерина, назван «cadherin switching» (CS) [5] или «кадгериновое переключение». В УРМП CS является маркером ЭМТ и по данным некоторых авторов ассоциируется с метастазированием и худшим прогнозом [5].

В представленной работе появление экспрессии N-кадгерина отмечалось в 28,5% (12/42) и его реакция в подавляющем числе случаев была слабой (таблица). Характерной особенностью было снижение экспрессии E-кадгерина во всех случаях УРМП, которые экспрессировали N-кадгерин, однако статистически значимая зависимость

между экспрессией этих двух маркеров отсутствовала ($r=-0,1$, $p>0,05$).

Как видно из **таблицы**, отсутствует зависимость между экспрессией как E-кадгерина, так и N-кадгерина и принадлежностью НУРМП к исследуемым группам. Это указывает на то, что E-кадгерин и N-кадгерин не могут служить критериями рецидивирования и прогрессии заболевания.

Еще одним маркером, свидетельствующим о ЭМТ, явился виментин, который является межклеточным филаментом, свойственным клеткам мезенхимальных тканей [2]. Многие исследования указывают на существование прямой связи между индексом метки виментина и степенью злокачественности опухоли, а также относят появление экспрессии данного маркера в эпителиальных раковых клетках к плохим прогностическим критериям [13, 14]. Реакция на виментин наблюдалась в 38,1% (16/42) случаев и была слабой, очаговой, не зависела от принадлежности раков к группам исследования. Клеточный цитоскелет также формируется цитокератинами, которые являются широко используемыми маркерами эпителиального фенотипа [2]. Некоторые авторы относят СК 20 к самостоятельным прогностическим маркерам и утверждают, что при снижении уровня экспрессии данного маркера повышается степень злокачественности опухоли, а также повышается ее стадия [7]. Существуют работы, подтверждающие данное

Таблица – Распределение экспрессии маркеров ЭМТ и стадий ЭМТ в НУРМП в зависимости от их принадлежности к группам исследования

Маркер	Экспрессия	Группы			Достоверность, критерий χ^2
		I группа, n=14	II группа, n=14	III группа, n=14	
виментин	0	10(71,4%)	7(50%)	9 (64,3%)	$\chi^2=1,41$, $p>0,05$
	1+	4 (28,6%)	7 (50%)	5 (35,7%)	
	2+	0	0	0	
	3+	0	0	0	
E-кадгерин	0	0	0	0	$\chi^2=1,74$, $p>0,05$
	1+	9(64,3%)	10(71,4%)	12(85,7%)	
	2+	5 (35,7%)	4 (28,6%)	5 (14,3%)	
	3+	0	0	0	
ЦК 20	0	1(7,1%)	4 (28,6%)	7(50%)	$\chi^2=7,33$, $p>0,05$
	<1/2 пласта	7 (50,0%)	5 (35,7%)	2 (14,3%)	
	>1/2 пласта	6 (42,9%)	5 (35,7%)	5 (35,7%)	
ЦК 7	0	0	0	0	$\chi^2=1,14$, $p>0,05$
	1+	6(42,8%)	6(42,8%)	4(28,6%)	
	2+	5 (35,7%)	4 (28,6%)	5 (35,7%)	
	3+	3 (21,5%)	4 (28,6%)	5 (35,7%)	
N-кадгерин	0	13 (92,8%)	8 (57,1%)	9 (64,3%)	$\chi^2=9,2$, $p>0,05$
	1+	1 (7,2%)	6 (42,8%)	3 (21,4%)	
	2+	0	0	2 (14,2%)	
	3+	0	0	0	
ЭМТ	стадия 0	10 (71,4%)	5 (35,7%)	9 (64,3%)	$\chi^2=9,6$ $p<0,05$
	стадия 1	4 (28,6%)	9 (64,3%)	3 (21,4%)	
	стадия 2	0	0	2 (14,3%)	

мнение и связывающие полное отсутствие окраски эпителиального пласта раковых клеток с высокой частотой рецидивов, но одновременно относящие и диффузное окрашивание к неблагоприятным критериям [18]. Снижение уровня экспрессии СК20 сопровождается увеличением экспрессии СК7 [9], хотя отмечено и случайное распределение уровня экспрессии СК7 в НУРМП, а снижение его экспрессии объясняют начавшимся процессом ЭМТ в опухоли [17]. Однако снижение экспрессии цитокератинов не является строго специфичным критерием ЭМТ в УРМП [13]. Эти данные подтверждаются в нашем исследовании отсутствием обратной зависимости между экспрессией цитокератинов и виментина ($p > 0,05$).

При распределении НУРМП по стадиям ЭМТ, подавляющее число случаев 54,7% (23/42) характеризовались отсутствием экспрессии маркеров мезенхимального фенотипа, т.е. иммуногистохимические признаки ЭМТ не наблюдались. 40,4% (17/42) случаев относились к 1 стадии ЭМТ за счет появления экспрессии виментина и/или N-кадгерина, однако экспрессия мезенхимальных маркеров была статистически значимой ($p < 0,05$) меньше, чем экспрессия эпителиальных. Лишь 2 случая были отнесены ко 2 стадии за счет слабой экспрессии виментина, E-кадгерина и ЦК 7 и умеренной и слабой экспрессии N-кадгерина, различия в уровне экспрессии мезенхимальных и эпителиальных маркеров не достоверны.

Как видно из **таблицы**, выявлена статистически значимая зависимость между стадией ЭМТ и принадлежностью НУРМП к группам риска ($p < 0,05$) за счет большого относительного числа случаев с ЭМТ во II группе и присутствия 2-х случаев раков с ЭМТ 2-ой стадии в III группе.

Таким образом, прослежена слабая статистически значимая зависимость между принадлежностью НУРМП к III группе исследования и 2-ой ста-

дией ЭМТ ($\chi^2=4,2$, $p < 0,05$); появление ЭМТ (1 и 2 стадий) ассоциируется с рецидивированием НУРМП (I и II группами) ($\chi^2=4,7$, $p < 0,03$); ЭМТ 1 стадии ассоциируется с принадлежностью ко II группе ($\chi^2=8,1$, $p < 0,005$).

Полученные данные статистически значимой зависимости между принадлежностью НУРМП к группам исследования и стадией ЭМТ при отсутствии зависимости между принадлежностью НУРМП к группам исследования и экспрессией каждого из исследованных маркеров ЭМТ в отдельности, указывает на клиническое значение стадирования ЭМТ.

Выводы

1. ЭМТ присутствует в 45,2% (19/42) НУРМП, что определяется появлением экспрессии виментина или N-кадгерина.
2. ЭМТ в первичных НУРМП ассоциируется с рецидивированием опухоли после ее хирургического удаления ($p < 0,03$). Однако, каждый из исследованных маркеров ЭМТ (виментин, E-кадгерин, N-кадгерин, цитокератин 20 и цитокератин 7) в отдельности не могут служить критерием рецидивирования или рецидивирования с прогрессией.
3. При разделении ЭМТ на стадии выявлено, что НУРМП с рецидивированием ассоциируются с 1 стадией ЭМТ (преимущественно эпителиальным фенотипом раков) ($p < 0,03$), а для НУРМП с рецидивированием и прогрессией характерна 2 стадия ЭМТ (промежуточным эпителиальным фенотипом раков) ($p < 0,05$).
4. ЭМТ 3-ей стадии (с промежуточным мезенхимальным фенотипом), 4-ой (с преимущественно мезенхимальным фенотипом) и 5-ой стадии (с мезенхимальным фенотипом) в НУРМП не встречается.

Перспективы дальнейших исследований.

Перспективным является дальнейшее исследование ЭМТ в УРМП для прогноза эффективности терапии и безрецидивной выживаемости пациентов.

References

1. Balci MG, Tayfur M. Loss of E-cadherin expression in recurrent non-invasive urothelial carcinoma of the bladder. *Int J Clin Exp Pathol*. 2018; 11(8): 4163–8.
2. Battaglia RA, Delic S, Herrmann H, Snider NT. Vimentin on the move: new developments in cell migration. *F1000Research*. 2018, 7: 1796. PMID: 30505430. PMCID: PMC6241562. DOI:10.12688/f1000research.15967.1
3. Baumgart E, Cohen MS, Silva Neto B, Jacobs MA, Wotkowicz C, Rieger-Christ KM, et al. Identification and prognostic significance of an epithelial-mesenchymal transition expression profile in human bladder tumors. *Clinical Cancer Research*. 2007; 13: 1685–94. PMID: 17363521. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2330
4. Bostwick DG, Cheng L. *Urologic Surgical Pathology*, 3th edition. Philadelphia: USA: ELSEVIER Sanders; 2014. 1273 p.
5. Bryan RT. 2015 Cell adhesion and urothelial bladder cancer: the role of cadherin switching and related phenomena. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2015 Feb 5; 370(1661): 20140042. PMID: 25533099. PMCID:PMC4275911. DOI: 10.1098/rstb.2014.0042
6. Choi W, Czerniak B, Ochoa A, Su X, Siefker-Radtke A, Dinney C, et al. Intrinsic basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer. *Nat Rev Urol*. 2014; 11: 400-10. PMID: 24960601. DOI: 10.1038/nrurol.2014.129
7. Ghaini MH, Esmailnejad SS, Davati A. Cytokeratin 20 in Transitional Cell Carcinoma of Bladder and Its Relation with Prognostic Factors. *Iranian J of Pathology*. 2012; 7(3): 145–50.

8. Gupta S, Cheville J, Hansel D. 218 Modeling E-Cadherin Expression Status to Predict Bladder Cancer Progression. *American Journal of Clinical Pathology*. 2018; 149(1): S93. doi: 10.1093/ajcp/aqx123.217
9. Hammam O, Wishahiz M, Khalil H, El Ganzouri H, Badawy M, Elkhquly A, et al. Expression of cytokeratin 7, 20, 14 in urothelial carcinoma and squamous cell carcinoma of the Egyptian urinary bladder cancer. *J Egypt Soc Parasitol*. 2014; 44(3): 733–40. PMID: 25643514. doi: 10.12816/0007876
10. Hänze J, Henrici M, Hegele A, Hofmann R, Olbert PJ. Epithelial mesenchymal transition status is associated with anti-cancer responses towards receptor tyrosine-kinase inhibition by dovitinib in human bladder cancer cells. *BMC Cancer*. 2013; 13: 589. PMID: 24325461. PMCID: PMC3866461. DOI: 10.1186/1471-2407-13-589
11. Markiewicz A, Topa J, Nagel A, Skokowski J, Seroczynska B, Stokowy T, et al. Spectrum of Epithelial-Mesenchymal Transition Phenotypes in Circulating Tumour Cells from Early Breast Cancer Patients. *Cancers (Basel)*. 2019 Jan 9; 11(1): pii: E59. PMID: 30634453. PMCID: PMC6356662. doi: 10.3390/cancers11010059
12. Monteiro-Reis S, Lobo J, Henrique R, Jerónimo C. Epigenetic Mechanisms Influencing Epithelial to Mesenchymal Transition in Bladder Cancer. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(297): pii: E297. PMID: 30642115. PMCID: PMC6358899. doi: 10.3390/ijms20020297
13. Paliwa P, Arora D, Mishra AK. Epithelial mesenchymal transition in urothelial carcinoma: twist in the tale. *Indian J Pathol Microbiol*. 2012 Oct-Dec; 55(4): 443-9. PMID: 23455777. DOI: 10.4103/0377-4929.107777
14. Rahmani AH, Babiker AY, Alwanian WM, Elsiddig SA, Faragalla HE, Aly SM. Association of Cytokeratin and Vimentin Protein in the Genesis of Transitional Cell Carcinoma of Urinary Bladder Patients. *Disease Markers*. 2015; 2015: 204759. PMID: 26640315. PMCID: PMC4660019. doi: 10.1155/2015/204759
15. Sayan AE, Griffiths TR, Pal R, Browne GJ, Ruddick A, Yagci T, et al. SIP1 protein protects cells from DNA damage-induced apoptosis and has independent prognostic value in bladder cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009; 106(35): 14884–9. PMID: 19706487. PMCID: PMC2736415. DOI: 10.1073/pnas.0902042106
16. Slaton JW, Millikan R, Inoue K, Karashima T, Czerniak B, Shen Y, et al. Correlation of metastasis related gene expression and relapse-free survival in patients with locally advanced bladder cancer treated with cystectomy and chemotherapy. *Journal of Urology*. 2004; 171(2 Pt 1): 570–4. PMID: 14713761. DOI: 10.1097/01.ju.0000108845.91485.20
17. Sledge DG, Patrick DJ, Fitzgerald SD, Xie Y, Kiupel M. Differences in Expression of Uroplakin III, Cytokeratin 7, and Cyclooxygenase-2 in Canine Proliferative Urothelial Lesions of the Urinary Bladder. *Veterinary Pathology*. 2015; 52(1): 74–82. PMID: 24608632. DOI: 10.1177/0300985814522819
18. Yalçın Ö, Sağlıcan Y, Özdemir S, Özkan N, Mangir N, Eren F. The Relationship of p16, Ki-67, Bcl-2, P53 and CK20 Immune Expressions with Recurrence in Superficial Bladder Tumors. *World Journal of Pathology*. 2015; 8: 44–51.

УДК 616.62-006.3.04-091.18-092.8-037

**ІМУНОГІСТОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА І СТАДИРУВАННЯ
ЕПІТЕЛІАЛЬНО-МЕЗЕНХІМАЛЬНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ
М'ЯЗОВО-НЕІНВАЗИВНОГО РАКУ СЕЧОВОГО МІХУРА
ЯК КРИТЕРІЇ ПРОГНОЗУ РЕЦИДИВУВАННЯ І ПРОГРЕСІЇ ЗАХВОРЮВАННЯ**

Яковцова І. І., Тимов Є. В., Івахно І. В.

Резюме. Епітеліально-мезенхімальна трансформація є критерієм агресивної клінічної поведінки раків різної локалізації. Відомо, що епітеліально-мезенхімальна трансформація характеризується різним ступенем вираженості, однак у науковій літературі практично відсутні відомості про її градації.

Метою дослідження стала оцінка сукупності імуногістохімічних маркерів епітеліально-мезенхімальної трансформації неінвазивних уротеліальних раків сечового міхура з визначенням її стадії, як критерію рецидивування та прогресії захворювання.

Неінвазивні уротеліальні раки сечового міхура були розподілені на 3 групи по 14 випадків: раки без рецидивування (I група), з рецидивуванням (II група) і з рецидивуванням і прогресією (III група). Імуногістохімічне дослідження проводилося з використанням первинних моноклональних антитіл до Е-кадгерину, цитокератинам 20 і 7, N-кадгерину, виментину.

Експресія маркерів мезенхімального фенотипу (виментина або N-кадгерина) спостерігалася у 45,2% (19/42) випадків. Поява епітеліально-мезенхімальної трансформації асоціюється з рецидивуванням пухлини ($p < 0,03$). Однак, кожен з досліджених маркерів окремо не демонстрували статистично значимої залежності з приналежністю раків до груп дослідження, а отже не можуть служити критерієм рецидивування або рецидивування з прогресією.

При поділі епітеліально-мезенхімальної трансформації на стадії виявлено, що пухлини з рецидивуванням асоціюються з 1 стадією епітеліально-мезенхімальної трансформації (переважно епітеліальних фенотипом раків) ($p < 0,03$), а для раків з рецидивуванням і прогресією характерна 2 стадія епітеліально-мезенхімальної трансформації (проміжним епітеліальних фенотипом раків) ($p < 0,05$).

Таким чином, градація епітеліально-мезенхімальної трансформації з урахуванням сукупності маркерів є цінним прогностичним критерієм неінвазивних уротеліальних раків сечового міхура.

Ключові слова: епітеліально-мезенхімальна трансформація, неінвазивний уротеліальний рак сечового міхура.

UDC 616.62-006.3.04-091.18-092.8-037

Immunohistochemical Features and Staging of Epithelial-Mesenchymal Transformation in Non-Muscle Invasive Bladder Cancer as the Criteria for Predicting Recurrence and Progression of the Disease

Yakovtsova I. I., Tytov Ye. V., Ivakhno I. V.

Abstract. Epithelial-mesenchymal transformation is the hallmark of the aggressive clinical behavior in cancers of different localization. It is well known that epithelial-mesenchymal transformation is characterized by different degree, but the findings of the gradation of epithelial-mesenchymal transformation in the scientific literature are practically absent.

The purpose of the study was to investigate the immunohistochemical markers of epithelial-mesenchymal transformation, considered as an aggregate, with identification its stage, as the criteria for recurrence and progression of the non-invasive urothelial bladder cancer.

Material and methods. Non-invasive urothelial bladder cancers were divided into three groups by 14 cases for each group: group I – cancers without recurrence, group II – cases with recurrence without progression, and group III – cases with recurrence and progression. The immunohistochemical research was performed with application of E-cadherin, N-cadherin, vimentin, cytokeratins 7 and 20 monoclonal antibodies. Non-invasive urothelial bladder cancer on the degree of epithelial-mesenchymal transformation was divided into 6 categories: 1) cancers without epithelial-mesenchymal transformation (not expressing mesenchymal markers); 2) cancers with signs of epithelial-mesenchymal transformation, predominantly epithelial phenotype (expression of epithelial markers was dominant over the expression of mesenchymal, $p < 0.05$); 3) cancers with intermediate epithelial phenotype (expression of epithelial markers was dominant over the expression of mesenchymal, $p > 0.05$); 4) cancers with intermediate mesenchymal phenotype; 5) cancers with a predominantly mesenchymal phenotype; 6) cancers with mesenchymal phenotype.

Results and discussion. Expression of markers of the mesenchymal phenotype (vimentin and N-cadherin) was observed in 45.2% (19/42) of non-invasive urothelial bladder cancers. The appearance of epithelial-mesenchymal transformation was associated with recurrence of the tumor ($p < 0.03$). However, investigated markers of epithelial-mesenchymal transformation variorum did not demonstrate statistical significance of belonging to any groups of research, so they cannot serve the criteria for recurrence or recurrence with progression of non-invasive urothelial bladder cancers. After distribution of epithelial-mesenchymal transformation in two stages, it was revealed that non-invasive urothelial bladder cancers with recurrence were associated with the 1st stage of epithelial-mesenchymal transformation (cancers with predominantly epithelial phenotype) ($p < 0.03$), non-invasive urothelial bladder cancers with recurrence and progression were associated with the 2nd stage of epithelial-mesenchymal transformation (cancers with intermediate epithelial phenotype) ($p < 0.05$).

Conclusion. Thus, staging of epithelial-mesenchymal transformation with calculation of markers in conjunction is the valuable prognostic criteria for non-invasive urothelial bladder cancers.

Keywords: epithelial-mesenchymal transformation, non-invasive urothelial bladder cancer.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 07.06.2019 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування