

На правах рукописи

АЛЛИНА ДАРЬЯ ОЛЕГОВНА

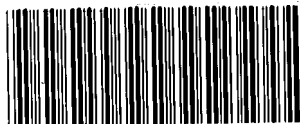
**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ, ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ И
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ В
ДИАГНОСТИКЕ ПРОСТАТИЧЕСКОЙ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ
НЕОПЛАЗИИ ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ**

14.03.02 – патологическая анатомия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

16 АПР 2018



008707011

Москва – 2018

Работа выполнена на кафедре патологической анатомии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук **Андреева Юлия Юрьевна**

Научный консультант:

Доктор биологических наук **Завалишина Лариса Эдуардовна**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Маслякова Галина Никифоровна

доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой общей и клинической патологии: патологическая анатомия, патологическая физиология Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Федорина Татьяна Александровна

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «30» мая 2018 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 212.203.06 при Российском университете дружбы народов по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке и на сайте ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (адрес: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6; сайт: <http://dissovet.rudn.ru>)

Автореферат разослан «5» апреля 2018г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 212.203.06
кандидат медицинских наук

Горячев Вячеслав Александрович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Рак предстательной железы занимает второе место в структуре онкологической заболеваемости среди мужчин и пятое место в структуре онкологической смертности. В 2012 году число впервые диагностированных случаев в мире составило 1,1 миллион и представляло собой 15% от всех впервые выявленных злокачественных новообразований у мужчин (GLOBOCAN, 2012). Золотым стандартом диагностики рака предстательной железы является патологоанатомическое исследование биопсийного материала. Тем не менее, существует ряд диагностических трудностей, наибольшую из которых представляет дифференциальный диагноз предраковых изменений – простатической интраэпителиальной неоплазии высокой степени (ВПИН) – с доброкачественными и злокачественными процессами, способными её имитировать. Согласно современным представлениям, ВПИН является наиболее значимым прогностическим маркером развития аденокарциномы предстательной железы. Возникновение ВПИН связано с прогрессивным накоплением аномалий генотипа и фенотипа, по совокупности которых она занимает промежуточное положение между нормальным эпителием простаты и карциномой: наблюдаются признаки клеточной атипии, потеря или приобретение определённых биомаркеров, включая маркеры дифференцировки, факторы роста и их рецепторы; изменяется экспрессия онкогенов, генов – супрессоров опухолевого роста, а также число и структура хромосом (Qian J. et al, 1995; Hughes S. et al., 2006). Так, согласно данным Ashida S. et al. (2004), проводивших сравнительную гибридизацию на микрочипах, карцинома простаты и ВПИН обнаруживают сходства в профилях экспрессии в виде 21 общих генов с повышенной экспрессией и 63 – с пониженной. Изменения в профиле экспрессии генов при переходе ВПИН в рак заключаются в повышении экспрессии ещё 41 гена и понижении 98. Список с повышенным профилем экспрессии включает в себя *PTOVI*, *CDKN2C*, *EPHA4*, *APOD*, *FASN* и *VWF*, с пониженным – *ITGB2*, *LAMB2*, *PLAU* и *TIMP1* которые, вероятно, вовлечены в регуляцию процессов клеточной адгезии и инвазивного роста.

Согласно исследованию Bostwick D.G и Ma J. (2007) гипердиагностика ВПИН оставляет 23,9%. Повторная биопсия, безусловно, увеличивает диагностическую точность и снижает количество ложноположительных и ложноотрицательных результатов, но является финансово затратной, а также неприятной, а иногда и весьма болезненной для пациента процедурой.

Другой не менее важной проблемой в диагностике новообразований предстательной железы является оценка агрессивности опухоли и определение прогноза заболевания. По результатам многих исследований к прогностическим факторам при аденокарциноме предстательной железы относят клиническую

стадию, в том числе местную распространенность процесса (наличие инвазии за пределы капсулы железы или в семенные пузырьки), размер опухолевого узла (узлов), степень дифференцировки опухоли по шкале Глисона и уровень простатического специфического антигена (ПСА) в сыворотке крови. Ни один из параметров не является достаточным, подход к оценке прогноза должен быть комплексным.

В настоящее время перспективным для изучения также является химерный ген *TMPRSS2/ERG* и его продукт – белок ERG. По данным метаанализа существует взаимосвязь между наличием *TMPRSS2/ERG* и более поздними стадиями заболеваний (Pettersson A., 2012), также показана возможность практического применения обнаружения данной перестройки для дифференциальной диагностики вПИН и внутрипротоковой карциномы (Нап В., 2010).

Все вышеперечисленные факты, а также несовершенство используемой в настоящий момент панели антител для дифференциальной диагностики вПИН и состояний, её имитирующих, диктуют необходимость поиска новых маркеров, ассоциированных с высоким риском наличия рака предстательной железы для прицельного отбора пациентов, действительно нуждающихся в повторной биопсии и более тщательном наблюдении.

Степень разработанности проблемы

Рекомендованная в настоящее время панель для дифференциальной диагностики вПИН, доброкачественных процессов и рака включает три маркера – AMACR (альфа-метилацетил-коэнзим А рацемаза, P504S), p63 и 34betaE12 (цитокератины высокого молекулярного веса), при этом ведущими мировыми экспертами было показано несовершенство данной панели (Brimo F., Epstein J.I., 2012; Olai B.R., Kahane H., Epstein J.I., 2002; Varma M., Linden M.D., Amin M.V., 1999).

На основе опубликованных данных транскриптомного и геномного анализа нормальной ткани предстательной железы, вПИН и рака, нами был отобран ряд белков, различие в экспрессии которых потенциально может быть использовано для дифференциальной диагностики новообразований предстательной железы и процессов, их имитирующих. В частности, для анализа были выбраны белок – продукт гена PTOV1 (Prostate Tumor Overexpressed Gene 1), белок APOD (Apolipoprotein D), фермент FASN (Fatty Acid Synthase), белок EPHA4 (Ephrin receptor A4) и белок ERG – продукт химерного гена *TMPRSS2/ERG*.

Аполипопротеин D (APOD) – гликопротеин, ассоциированный с липопротеинами высокой плотности. Экспрессия APOD обнаруживается в опухолях из желез с апокриновым типом секреции, а также на многих клеточных культурах было показано, что экспрессия APOD регулируется эстрогенами и андрогенами и обратно коррелирует с пролиферацией клеток (Simard J. et al., 1990, 1992).

Экспрессия белка PTOV1 изучена крайне мало. Ген *PTOV1* был клонирован в 2001 году Benedit P. et al. и этой же группой исследователей была описана его гиперэкспрессия в 9 из 11 образцов с раком предстательной железы (методами RT-PCR и иммуногистохимии) (Benedit P. et al., 2001). Повышение экспрессии данного гена при переходе от вПИН к раку было отмечено также в публикации S. Ashida с соавторами (2004).

FASN – андроген-регулируемый фермент – синтаза жирных кислот, необходимый для *de novo* липогенеза, принимающий участие на последнем этапе синтеза эндогенных жирных кислот – образовании пальмитата из малонил-КоА и ацетил-КоА. В быстро пролиферирующих опухолевых клетках жирные кислоты могут быть синтезированы *de novo*, что проявляется гиперэкспрессией FASN. Гиперэкспрессия данного белка отмечена в ряде опухолей, включая рак предстательной железы (Cui Y. et al., 2017, Saab J. et al., 2017, Nishi K. et al., 2016, Zhou Y., et al., 2016, Li H.E. et al., 2015).

EPHA4 – член семейства рецепторных тирозинкиназ, играющий ключевую роль в развитии нервной системы и ангиогенезе, участвуя в регуляции подвижности и формы клеток (Kullander K., Klein R., 2002). Повышение экспрессии гена, кодирующего данный белок, при переходе от ПИН к раку было также описано в статье S. Ashida с соавторами (2004). Кроме того, с помощью малых интерферирующих РНК этой же группой авторов было показано, что гиперэкспрессия EPHA4 при переходе вПИН в рак оказывает существенное влияние на рост аденокарциномы, а подавление его экспрессии снижает жизнеспособность клеток.

Оценка диагностической значимости белков APOD, PTOV1, FASN, EPHA4 в нашей работе проводится впервые.

Аномальная гиперэкспрессия белка ERG в предстательной железе, как было сказано выше, связана с образованием химерного гена *TMPRSS2/ERG*. Считается, что данное генетическое событие происходит на ранних стадиях канцерогенеза и играет роль в переходе вПИН в рак (Carver B.S. et al., 2009), что дает основания рассматривать ERG как потенциальный маркер для дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных процессов в предстательной железе. Однако данные на этот счет противоречивы и, несмотря на исследования, доказывающие, что образование данного химерного гена, и, следовательно, гиперэкспрессия ERG наблюдаются уже на стадии предракового процесса, в последней классификации ВОЗ опухолей предстательной железы, белок ERG рекомендован как вспомогательный маркер в дифференциальном диагнозе вПИН и внутрипротоковой карциномы (Moch H. et al., 2016).

Таким образом, изучение экспрессии белков ERG, APOD, EPHA4, PTOV1 в вПИН, доброкачественных процессах и аденокарциноме, а также сопоставимости иммуногистохимического и молекулярно-генетического анализа является актуальной проблемой и соответствует общему направлению поиска дифференциально-диагностических маркеров предракового процесса в

предстательной железе, а также разработки более доступных с экономической точки зрения методов в клинической практике.

Цель исследования

Выявление морфологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических особенностей простатической интраэпителиальной неоплазии высокой степени для улучшения её дифференциальной диагностики с доброкачественными гиперпластическими процессами и раком.

Задачи исследования

1. Изучить морфологические особенности простатической интраэпителиальной неоплазии высокой степени, доброкачественных гиперпластических процессов и рака предстательной железы
2. Выявить отличительные особенности иммуногистохимических характеристик простатической интраэпителиальной неоплазии высокой степени, доброкачественных процессов и аденокарциномы предстательной железы
3. Изучить молекулярно-генетические особенности простатической интраэпителиальной неоплазии высокой степени, доброкачественных процессов и ацинарной аденокарциномы, развивающейся на их фоне
4. Оценить сопоставимость иммуногистохимического и молекулярно-генетического методов в диагностике предрака и рака предстательной железы
5. Проанализировать взаимосвязь иммуногистохимического профиля и морфологических факторов прогноза неоплазий предстательной железы
6. Разработать алгоритм дифференциальной диагностики простатической интраэпителиальной неоплазии высокой степени с доброкачественными гиперпластическими процессами и раком

Методология и методы исследования

Методология работы построена на системном и комплексном анализе данных. Методы, использованные в работе: морфологический анализ, иммуногистохимическое исследование, молекулярно-генетические методы, статистическая обработка результатов.

Предмет исследования: морфологические, иммуногистохимические и молекулярно-генетические особенности простатической интраэпителиальной неоплазии высокой степени.

Объект исследования: операционный материал ткани простаты от пациентов с раком предстательной железы, перенесших радикальную простатэктомию, фиксированный в 10% растворе забуференного нейтрального формалина и залитый в парафиновые блоки. Фрагменты предстательной

железы с раком, вПИН и доброкачественными процессами анализировали отдельно. Объем выборки составил 100 пациентов.

Научная новизна

В результате проделанной работы описаны морфологические особенности вПИН: критерии постановки диагноза, варианты строения, проведена их сравнительная характеристика с доброкачественными процессами (базальноклеточной гиперплазией, ПИН низкой степени, железистой гиперплазией, светлоклеточной крибриформной гиперплазией, реактивными изменениями эпителия при хроническом простатите, уротелиальной метаплазией, семенными пузырьками) и раком. Определено, что выделение различных архитектурных паттернов вПИН не имеет клинического и прогностического значения в связи с высокой частотой комбинаций из различных вариантов строения.

Впервые методом иммуногистохимии на большой выборке проведено сравнение экспрессии белков ERG, APOD, ERNA4, PTOV1, FASN в нормальной ткани предстательной железы, вПИН и аденокарциноме предстательной железы. В результате проведенного исследования установлено, что APOD и FASN целесообразно использовать как дополнительные маркеры для дифференциального диагноза между вПИН и доброкачественными процессами. Кроме того, высокая частота гиперэкспрессии APOD, FASN и маркера из стандартной панели – AMACR – в предраке и раке предстательной железы свидетельствуют о роли нарушения метаболизма жирных кислот в канцерогенезе. В работе была показана ограниченная роль ERG в дифференциальном диагнозе между вПИН и доброкачественными процессами, а также отсутствие диагностической значимости данного маркера в дифференциальном диагнозе между вПИН и внутрипротоковой карциномой. Доказана сопоставимость результатов иммуногистохимического анализа и ОТ-ПЦР при оценке ERG-статуса опухолей предстательной железы.

Практическая и теоретическая значимость

Охарактеризованы основные морфологические дифференциально-диагностические признаки вПИН, разработана новая иммуногистохимическая панель, которая позволяет улучшить дифференциальную диагностику вПИН, доброкачественных процессов и рака. Показана сопоставимость результатов иммуногистохимического и молекулярно-генетического методов в определении ERG-статуса опухолей предстательной железы, что позволяет оптимизировать экономическую составляющую диагностического процесса. Полученные данные о наличии в пределах одной опухоли участков с различным иммуногистохимическим профилем подтверждает мультицентричный рост аденокарциномы предстательной железы, объясняет высокую частоту расхождений клинической и патологоанатомической стадии,

различия в определении степени дифференцировки опухоли по результатам пункционной биопсии и радикальной простатэктомии. На основании проведенного морфологического и иммуногистохимического исследования предложен алгоритм дифференциальной диагностики вПИН с доброкачественными и злокачественными процессами.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Определено, что выделение различных вариантов строения вПИН не имеет клинического и прогностического значения.
2. Установлено, что белки APOD и FASN целесообразно использовать как дополнительные маркеры для дифференциальной диагностики между вПИН и доброкачественными процессами.
3. Выявлено, что вПИН характеризуется идентичным иммуногистохимическим профилем с внутрипротоковой карциномой, диагноз должен основываться только на морфологических критериях.
4. Доказано, что иммуногистохимический метод может использоваться в качестве альтернативы молекулярно-генетическим методам при определении ERG-статуса опухолей предстательной железы.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Область настоящего диссертационного исследования соответствует п.2 ("прижизненная диагностика и прогнозная оценка болезней на основе исследований биопсийных материалов, научный анализ патологического процесса, лежащего в основе заболевания") паспорта специальности 14.03.02 - "патологическая анатомия".

Внедрение в практику и учебный процесс

Результаты исследования внедрены в практическую деятельность патологоанатомического отделения Рязанского областного онкологического диспансера, клинико-диагностической лаборатории Клиники Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, а также в учебный процесс кафедры патологической анатомии Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования.

Степень достоверности и апробация результатов

Выводы соответствуют задачам и логически следуют из результатов, полученных в ходе исследования. Достоверность результатов обоснована изучением достаточного объема материала и использованием методов, отвечающих поставленным задачам.

Материалы исследования доложены на 29 Конгрессе Европейского общества патологов, Нидерланды (29th European Congress of Pathology, 2017, Амстердам), 27 Конгрессе Европейского общества патологов, Сербия (27th European Congress of Pathology, 2015, Белград), 3 Конгрессе патологов Боснии и Герцеговины с международным участием (3rd Congress of Pathologists of Bosnia and Herzegovina with international participation, 2016, Сараево), XX Российском онкологическом конгрессе (Москва, 2016), Конференции молодых специалистов «Актуальные вопросы фундаментальной, экспериментальной и клинической морфологии» (Рязань, 2017). Работа заняла 1 место в конкурсе проектов по приоритетным направлениям развития медицинской науки в рамках общероссийского научно-практического мероприятия «Эстафета вузовской науки-2014» на научной платформе «Онкология» (на базе Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова).

Личный вклад автора заключался в планировании и проведении исследования, обработке полученных данных, их представлении, подготовке публикаций и написании текста диссертации.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, из них 4 статьи в журналах, входящих в перечень рецензируемых ВАК РФ научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, и 5 публикаций в материалах всероссийских и международных научных конференций.

Объем и структура диссертации

Объем диссертации составляет 121 страницу и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов, 2 главы собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы. Список литературы представлен 150 источниками отечественных и иностранных авторов. Работа иллюстрирована 49 рисунками и 11 таблицами.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материалы и методы

За период с 2011 по 2012 гг. было последовательно отобрано 100 пациентов с раком предстательной железы, перенесших радикальную простатэктомию и проходивших лечение или консультированных в Клинике Российской медицинской академии непрерывного профессионального

образования. Материалом исследования послужил операционный материал ткани простаты, фиксированный в 10% растворе забуференного нейтрального формалина и залитый в парафиновые блоки. Средний возраст пациентов составил 62 года (от 41 до 76 лет). Наличие в образцах аденокарциномы и вПИН подтверждалось иммуногистохимическими реакциями с антителами к AMACR и цитокератинам высокого молекулярного веса 34betaE12.

Проведение диссертационного исследования одобрено Комитетом по этике научных исследований ФГБОУ ДПО РМАНПО (13.10.2014, протокол №10).

Морфологическими факторами прогноза заболевания были выбраны размер и распространенность опухоли (pT), наличие метастазов в регионарные лимфатические узлы и степень дифференцировки по шкале Глисона.

Основные характеристики исследуемой когорты приведены в таблице 1.

Таблица 1

Основные характеристики исследуемой когорты пациентов

	Все образцы
Возраст пациентов (средний), лет	41-76 (62)
Распространенность первичной опухоли (pT)	
pT2	65
pT3	34
Степень дифференцировки опухоли	
3+2, 3+3	43
3+4	36
4+3	11
4+4	1
4+5, 5+4, 5+5	5
Не оценивалась (в связи с наличием данных о проведении неoadъювантной терапии)*	3
N0**, II-III стадии	87
N1***, IV стадия	12
Всего****: 99	
Примечания: *Пациенты, получившие в неoadъювантном режиме 1 дозу Гозерелина, без признаков гормонального патоморфоза **Опухоли без метастазов в регионарные лимфатические узлы *** Опухоли с метастазами в регионарные лимфатические узлы ****Один пациент из 100 был исключен из анализа после проведения иммуногистохимического исследования в связи с отсутствием инвазивной аденокарциномы в выбранном для работы блоке.	

С выбранных парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 3 мкм и монтировали на высокоадгезивные стекла (Superfrostplus «ThermoScientific»). Депарафинирование, регидратация и демаскировка антигенов проводились при помощи специализированной системы EnVision Flex (Dako, Дания) по стандартному протоколу в модуле предобработки (PT-Module) к автостейнеру AutostainerPlus (Dako, Дания). Постановку ИГХ-реакций осуществляли в автоматическом режиме с помощью автостейнера Autostainer Plus (Dako). В качестве системы детекции использовали набор EnVision Flex (Dako, Дания) с DAB-хромогеном. В каждой серии препаратов присутствовали соответствующие положительный и отрицательный контроли. В качестве первичных антител использовали моноклональные кроличьи антитела в готовом разведении к белку ERG, клон EP111 Flex (Dako, Дания), к белку AMACR, клон 13H4 Flex (Dako, Дания), моноклональные мышинные антитела к цитокератинам высокого молекулярного веса, клон 34betaE12 Flex (Dako, Дания), концентрированные моноклональные кроличьи антитела к аполиipoproteinу D (Abcam, ab108191 в разведении 1:250), поликлональные кроличьи антитела к белку PTOV1 (Abcam, ab81173 в разведении 1:100), к белку ERHA4 (Abcam, ab5396 в разведении 1:100), белку FASN (Abcam, ab22759 в разведении 1:500). Результаты реакции экспрессии AMACR, 34betaE12 и ERG оценивали качественно. Интенсивность реакции APOD, ERHA4, PTOV1, FASN оценивалась как «отсутствие экспрессии», экспрессия «слабой интенсивности», «умеренной интенсивности» и «выраженная».

По результатам иммуногистохимического исследования было отобрано по 15 образцов с выраженной гиперэкспрессией ERG и с её отсутствием в опухолевой ткани. Анализ химерного транскрипта *TMPRSS2/ERG* проводился на соседних блоках, отобранных по принципу наличия не менее 40% опухолевой ткани. РНК из парафиновых блоков выделяли с использованием набора "RNeasy FFPE Kit" (Qiagen, Германия) по фирменному протоколу. Обратную транскрипцию РНК проводили методом случайного праймирования с использованием High-Capacity cDNA Archive kit (Applied Biosystems, США) по протоколу фирмы-производителя в термоциклере (ДНК-технология, Россия) по следующей температурной схеме: 60°C – 20 мин, 37°C – 120 мин. Образцы кДНК хранили при температуре -20°C.

Перед анализом экспрессии целостность и количество выделенной РНК оценивали по экспрессии гена *GAPDH*. Анализ химерных генов *TMPRSS2/ERG* осуществляли с праймерами, последовательность которых описана ранее (Кекеева Т.В., 2008). ПЦР проводили по следующей схеме: к 0.1 мкг геномной ДНК добавляли 0.05 мкМ каждого олигопраймера, 200 мкМ каждого дезоксинуклеотидтрифосфата, 1-2 ед. Taq-полимеразы, 5 мкл однократного буфера для ПЦР следующего состава: 50 мМ KCl, 10 мМ Tris-HCl (pH 8,4), 5 мМ MgCl₂. Затем добавляли 30 мкл вазелинового масла, прогревали смесь при 95°C в течение 10 мин и проводили 33 цикла по следующей программе: денатурация при 95°C – 30 с, отжиг и элонгация при 60°C – 2 мин 30 с. Продукты ПЦР разделяли в 6%-ном денатурирующем полиакриламидном геле

и окрашивали нитратом серебра. Секвенирование осуществляли по протоколам ABI Prism 310 Genetic Analyzer Kits (Applied Biosystems, США). Анализ хроматограмм секвенированных последовательностей проводили с помощью программы Chromas. Компьютерный анализ кДНК проводили с использованием баз данных Blast и Blat.

Оценку статистической значимости результатов исследования выполняли с помощью критерия χ^2 , критерия χ^2 с поправкой Йейтса и методом точного теста Фишера. Уровень значимости (p) приняли равным 0,05. Расчеты выполнены в программе Statistica 13.3.

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ морфологических особенностей вПИН

В настоящее время вПИН рассматривается как наиболее вероятный предшественник инвазивной аденокарциномы предстательной железы и характеризуется пролиферацией внутри предрасполагающих протоков и ацинусов клеток с цитологическими характеристиками рака, включая увеличение ядер и появление заметных ядрышек. Цитологические характеристики вПИН однотипны и являются критерием постановки диагноза, при этом вПИН различается по своим архитектурным паттернам, среди которых выделяют 4 основных: плоское поражение, пролиферация эпителия с образованием микрососочков, кривозных структур или розеток (Bostwick D.G., 1993). В ходе настоящей работы при анализе морфологических вариантов строения вПИН были выявлены все четыре основных архитектурных паттерна, но в большинстве случаев (95%), они встречались не изолированно, а в сочетании, с преобладанием одного или двух вариантов строения или без такового. Значимой зависимости преобладания того или иного варианта от степени дифференцировки или стадии аденокарциномы не обнаружено. Это позволяет сделать вывод об отсутствии клинической значимости в выделении вариантов строения вПИН и отражения этого в морфологическом заключении.

В исследованной группе пациентов очаги вПИН наблюдались как при высокодифференцированных аденокарциномах предстательной железы, так и при низкодифференцированных и были выявлены в 100% случаев. Таким образом, имеется основание предполагать, что инвазивная аденокарцинома вне зависимости от степени дифференцировки развивается не de novo, а на фоне имеющихся предопухолевых процессов. Это важно для биопсийной диагностики вПИН, т.к. выявление изолированной вПИН диктует необходимость повторной биопсии.

Дифференциальную диагностику вПИН необходимо проводить с множеством доброкачественных и злокачественных процессов в предстательной железе. Частота встречаемости в исследуемой когорте доброкачественных состояний, способных имитировать вПИН составила: базальноклеточная гиперплазия – 25% случаев, крибриформная гиперплазия –

1%, реактивная атипия – 2%, уротелиальная метаплазия – 5%, ПИН низкой степени была выявлена во всех исследованных образцах. Кроме того, за вПИН могут быть приняты и нормальные структуры семенных пузырьков и железистая гиперплазия.

Частота встречаемости в исследуемой когорте всех вышеописанных доброкачественных состояний, способных имитировать вПИН, приведена на Рис. 1.

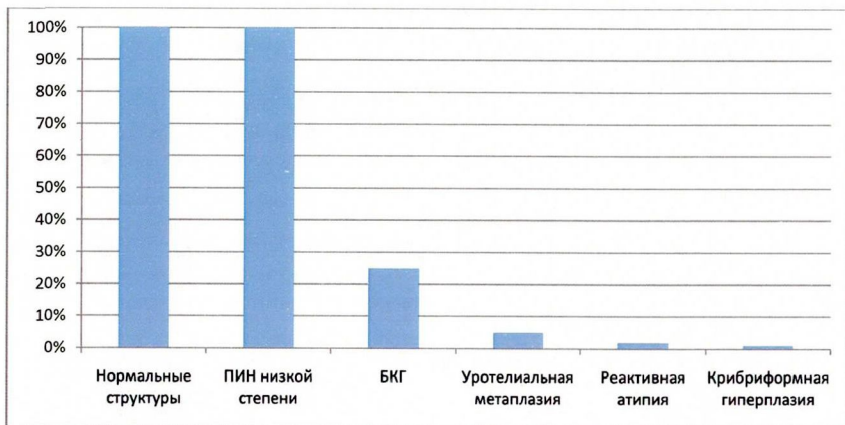


Рисунок 1. Частота встречаемости в исследуемой когорте доброкачественных состояний, способных имитировать вПИН. К нормальным структурам отнесены железистая гиперплазия и семенные пузырьки.

Для базальноклеточной гиперплазии характерна округлая форма ядер, небольшой диаметр ацинусов и сохранение слоя люминальных клеток. Последний признак также помогает дифференцировать с вПИН уротелиальную метаплазию. Для переходноклеточной метаплазии, кроме того, характерна монотипность пролиферирующих клеток и небольшой размер ядер, как правило, вытянутых. Для клеток в крибриформной гиперплазии также характерны ядра небольшого размера с незаметными или едва заметными ядрышками, выявляется хорошо выраженный слой базальных клеток, окружающий комплексы из крибриформных структур. Основными критериями, позволяющими дифференцировать доброкачественную гиперплазию и ПИН низкой степени с ПИН высокой степени, являются слабая выраженность клеточной атипии и отсутствие заметных ядрышек. Ключевой признак, помогающий заподозрить реактивный характер клеточной атипии, - выраженная инфильтрация стромы и эпителия воспалительными элементами. Наличие уродливых полиморфных клеток, а также цитоплазматического

пигмента характерно для структур семенных пузырьков и не свойственны вПИН.

Из злокачественных состояний основную трудность в настоящем исследовании вызвал дифференциальный диагноз вПИН и внутрипротоковой карциномы. Ключевым признаком интрадуктальной карциномы является присутствие атипичных эпителиальных клеток, заполняющих крупные ацинусы и протоки, с сохранением слоя базальных клеток. Кроме того, для постановки диагноза необходимо наличие солидного или плотного крибриформного роста с заполнением более 50% просвета, либо выраженной ядерной атипии с увеличением размеров ядер, не менее чем в 6 раз превосходящими нормальные, а также комедонекроза. Руководствуясь данными критериями, наличие внутрипротоковой карциномы было отмечено в 6 случаях из 99, во всех из них вблизи инвазивной аденокарциномы с градацией по шкале Глисона 4 балла, а в двух случаях – с градацией 5 баллов. Дифференциальный диагноз между вПИН и внутрипротоковой карциномой имеет большое прогностическое значение, поскольку последняя часто ассоциирована с поздними стадиями аденокарциномы и является независимым предиктором клинического исхода заболевания, в связи с чем при обнаружении изолированной внутрипротоковой карциномы в игольных биоптатах рекомендовано проведение повторной биопсии в ближайшие сроки. Кроме того, интрадуктальная аденокарцинома может быть принята не только за вПИН, но и за инвазивный рак, что может приводить к ошибочному завышению градации опухоли.

Анализ иммуногистохимических особенностей вПИН

В клинической практике небольшой объем материала, получаемый при пункционных биопсиях, а также различная степень выраженности выше описанных признаков, не всегда позволяют достоверно провести дифференциальную диагностику доброкачественных и злокачественных процессов с вПИН, основываясь исключительно на морфологических критериях. Рекомендованный перечень иммуногистохимических маркеров для дифференциальной диагностики вПИН, доброкачественных состояний и рака включает три антитела – AMACR, p63 и 34betaE12. Доброкачественные процессы характеризуются отсутствием экспрессии AMACR и сохранением экспрессии маркеров базальных клеток p63 и 34betaE12, вПИН – наличием экспрессии AMACR при сохранении маркеров базальных клеток, а аденокарцинома, в свою очередь, экспрессией AMACR при отсутствии экспрессии маркеров базальных клеток. Однако данная панель является несовершенной, поскольку все из перечисленных антител могут давать как ложноположительное, так и ложноотрицательное окрашивание. Так в нашем исследовании в двух случаях аденокарцинома и вПИН характеризовались слабой экспрессией AMACR вплоть до полного отсутствия в отдельных структурах, и в двух случаях экспрессия AMACR отсутствовала в вПИН при умеренной экспрессии в раке.

В ходе настоящей работы были изучены особенности экспрессии белков – потенциальных маркеров для дифференциальной диагностики вПИН, доброкачественных процессов и рака, в частности, был проведен анализ экспрессии PTOV1, APOD, ERHA4, FASN и ERG.

Экспрессия ERG была отмечена в 46% аденокарцином и 26% вПИН, во всех структурах – в ядерном локусе (Рис. 2). На наш взгляд, относительно низкая частота ERG-положительной вПИН свидетельствует в пользу ограниченной роли данного маркера в дифференциальном диагнозе между вПИН и имитирующими ее доброкачественными процессами. Согласно рекомендациям, приведенным в последнем пересмотре ВОЗ классификации новообразований предстательной железы, ERG может использоваться как дополнительный маркер при дифференциальном диагнозе между вПИН и внутритроковой карциномой, однако полученные в ходе настоящего исследования данные показывают, что аномальная гиперэкспрессия данного белка наблюдается при обоих процессах и не является диагностически значимой.

Следует отметить, что во всех наблюдениях ERG-положительной вПИН, экспрессия белка выявлена в структурах вПИН, расположенных вблизи ERG+ аденокарциномы, что служит свидетельством образования химерного гена *TMPRSS2/ERG* на раннем этапе канцерогенеза и подтверждает теорию опухолевого поля Уиллиса.

У 8 пациентов (8%) отмечена гетерогенная экспрессия ERG: выраженная экспрессия в одних участках сочеталась с полным её отсутствием в других. В доброкачественных структурах экспрессия ERG не была отмечена ни в одном из случаев. Во всех 6 наблюдениях с наличием внутритроковой карциномы была выявлена диффузная выраженная экспрессия ERG.

При оценке зависимости экспрессии ERG и морфологических факторов прогноза было отмечено равномерное распределение EGR+ и ERG- опухолей по стадии процесса и распространенности первичной опухоли (pT). Различия между группами ERG+ и ERG- опухолей по наличию метастазов в регионарные лимфатические узлы и объемом поражения оказались статистически незначимыми ($p > 0,05$, критерий χ^2 и критерий χ^2 с поправкой Йейтса соответственно), прогностическое значение экспрессии ERG выявить не удалось. Оценка взаимосвязи экспрессии ERG и степени дифференцировки опухоли оказалась невозможной в связи с небольшим количеством наблюдений низкодифференцированной аденокарциномы.

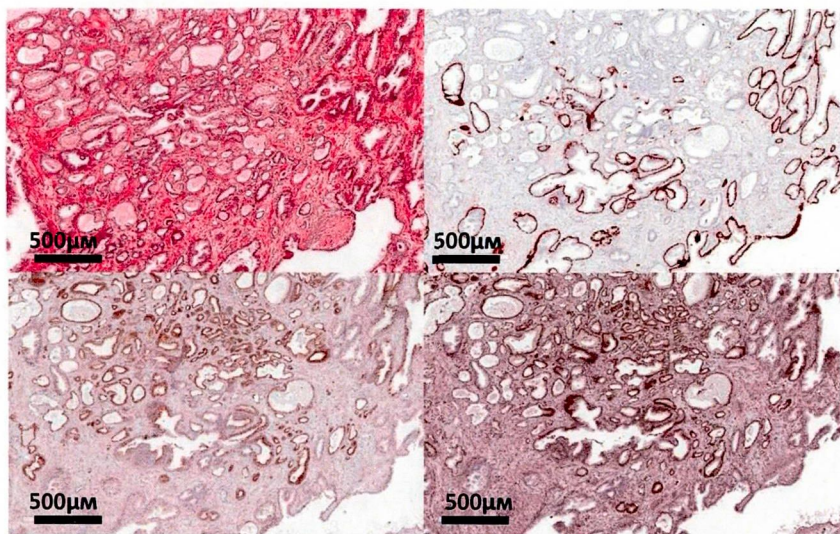


Рисунок 2. Положительная экспрессия ERG в аденокарциноме и прилежащих очагах вПИН. А – окраска гематоксилином и эозином. Б – ИГХ-реакция с антителами к 34betaE12. В – ИГХ-реакция с антителами к AMACR. Г – ИГХ-реакция с антителами к ERG.

Экспрессия APOD (вне зависимости от интенсивности) в 76% случаев была отмечена и в раке и в вПИН, в 4% – только в раке и в 7% – только в вПИН (Рис. 3). В 2% случаев была отмечена гетерогенная экспрессия APOD, сочетавшаяся с гетерогенной экспрессией ERG. В морфологически нормальной ткани предстательной железы лишь в 2 случаях наблюдалась умеренная экспрессия APOD, при этом в данных структурах отсутствовала экспрессия AMACR, а при реакции с 34betaE12 отмечалась прерывистость слоя базальных клеток (данные структуры были расценены как AMACR-негативные очаги вПИН). Положительная экспрессия APOD была отмечена и во внутрипротоковой карциноме.

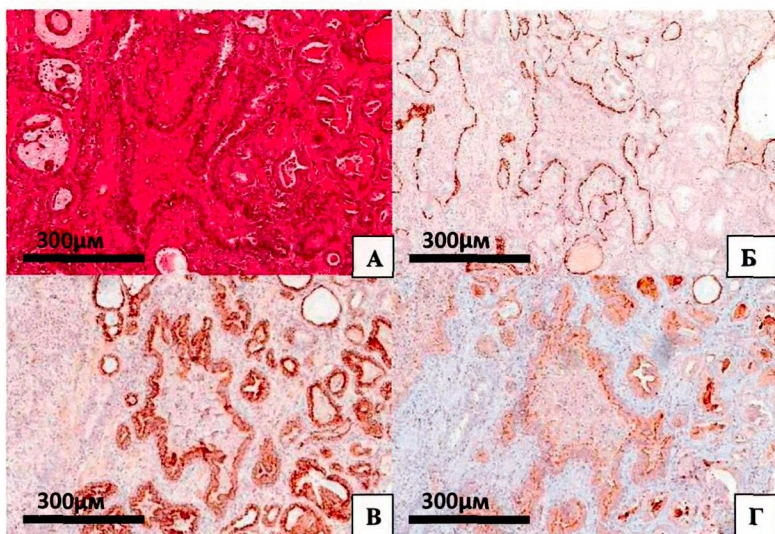


Рисунок 3. Положительная экспрессия APOD в аденокарциноме и вПИН. А – окраска гематоксилином и эозином. Б – ИГХ-реакция с антителами к 34betaE12. В – ИГХ-реакция с антителами к AMACR. Г - ИГХ-реакция с антителами к APOD.

При оценке зависимости экспрессии APOD и морфологических факторов прогноза было отмечено равномерное распределение APOD+ и APOD-опухолей по стадии процесса и распространенности первичной опухоли (pT). Различия между группами по наличию метастазов в регионарные лимфатические узлы и объему поражения оказались статистически незначимыми ($p > 0,05$, метод точного теста Фишера и критерий χ^2 с поправкой Йейтса соответственно), таким образом, прогностическое значение экспрессии APOD также выявить не удалось. Оценка взаимосвязи экспрессии APOD и степени дифференцировки опухоли оказалась невозможной в связи с небольшим числом наблюдений низкодифференцированной аденокарциномы.

Также в нашей работе в исследованных образцах в раке и вПИН было отмечено значительное снижение цитоплазматической экспрессии PTOV1 (отсутствие экспрессии или слабая интенсивность) по сравнению с морфологически нормальными железами (умеренная интенсивность или выраженная экспрессия) (Рис.4). В 3% отмечалось отсутствие экспрессии PTOV1 и в ряде морфологически нормальных желез.

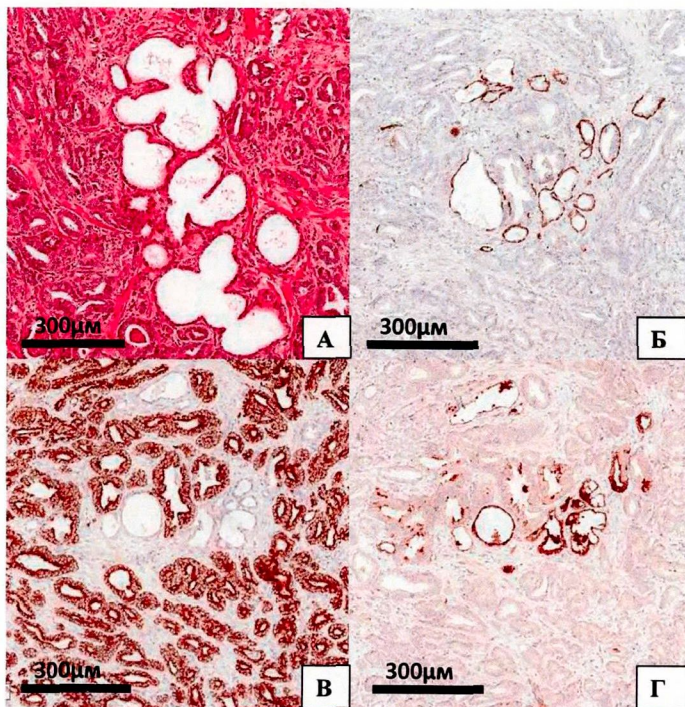


Рисунок 4. Отсутствие экспрессии PTOV1 в аденокарциноме и значительное снижение экспрессии в структурах вПИН. А – окраска гематоксилином и эозином. Б – ИГХ-реакция с антителами к 34betaE12. В – ИГХ-реакция с антителами к AMACR. Г - ИГХ-реакция с антителами к PTOV1.

Экспрессия FASN была отмечена в аденокарциноме и вПИН во всех исследованных образцах в мембранно-цитоплазматическом локусе (умеренной интенсивности или выраженная), при этом зависимости интенсивности окрашивания от степени дифференцировки опухоли не наблюдалось (Рис.5). В 2 случаях (2%) в аденокарциноме и вПИН была выявлена выраженная экспрессия FASN при отсутствии или слабой экспрессии AMACR. В 3 наблюдениях (3%) была выявлена слабая экспрессия данного белка в ПИН низкой степени и очагах железистой гиперплазии, в остальных случаях в доброкачественных поражениях и нормальных структурах экспрессия FASN отсутствовала, либо отмечалась на уровне фоновой.

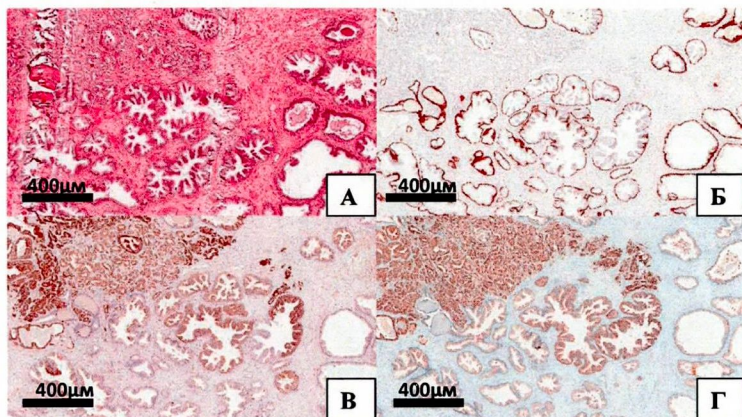


Рисунок 5. Положительная экспрессия FASN в аденокарциноме и вПИН при очаговой слабой экспрессии AMACR. А – окраска гематоксилином и эозином. Б – ИГХ-реакция с антителами к 34betaE12. В – ИГХ-реакция с антителами к AMACR. Г - ИГХ-реакция с антителами к FASN.

Разница экспрессии ERNA4 в морфологически нормальных железах, вПИН и раке в нашем исследовании была отмечена лишь в 2 % случаев, что не позволяет говорить о данном белке, как потенциальном дифференциально-диагностическом маркере. В остальных 98% как в доброкачественных структурах, так и в злокачественных поражениях наблюдалась положительная мембранно-цитоплазматическая реакция одинаковой интенсивности.

В результате проведенного исследования нами было также отмечено, что высокая частота экспрессии APOD и FASN в вПИН и раке, а также отсутствие их экспрессии в подавляющем большинстве морфологически нормальных желез согласуется с данными транскриптомного анализа [Ashida S., 2004] и позволяет использовать данные белки в качестве дополнительных маркеров в дифференциальной диагностике новообразований предстательной железы. Кроме того, полученные данные согласуются с данными литературы о гиперэкспрессии APOD и FASN не только на уровне РНК, но и на уровне белков в аденокарциномах, в том числе аденокарциноме предстательной железы (Rodriguez J.C., 2000, Epstein J.I., 1995).

APOD – гликопротеин, ассоциированный с липопротеинами высокой плотности, AMACR – фермент, катализирующий обращение R в S изомеры жирных кислот, что способствует дальнейшему пероксисомальному окислению с образование пероксида водорода, обладающего проканцерогенным эффектом, FASN – фермент, также участвующий в жировом обмене, вовлеченный в метаболизм глюкозы до жирных кислот, в частности, необходимый на последнем этапе синтеза эндогенных жирных кислот и образовании пальмитата. И APOD и FASN являются компонентами путей активации

LXR/RXR и FXR/RXR. Фарнезоидный X рецептор (FXR), печеночный X рецептор (LXR) и ретиноидный X рецептор (RXR) относятся к семейству активируемых лигандами факторов транскрипции и играют ключевую роль в большом спектре физиологических процессов. На клеточном уровне данные рецепторы осуществляют свои функции через взаимодействие с другими сигнальными путями, участвуя в контроле роста, дифференцировки, выживаемости и смерти клеток (Altucci L., 2007). В свою очередь к активаторам FXR относятся желчные кислоты и их метаболиты, а участником сигнального пути биосинтеза желчных кислот является AMACR. Всё это демонстрирует тесную взаимосвязь AMACR, FASN и APOD в сигнальных и метаболических путях. Таким образом, опубликованные ранее данные совместно с полученными в ходе настоящего исследования результатами позволяют предполагать, что нарушение процессов метаболизма жирных кислот и гиперэкспрессия FASN и APOD в частности играют важную роль в канцерогенезе в предстательной железе. Косвенным доказательством участия данных белков в развитии злокачественных процессов является высокая частота экспрессии в предопухолевых и опухолевых поражениях и отсутствие экспрессии в нормальной ткани железы.

Кроме того, ранее было показано, что подавление экспрессии FASN приводит к снижению синтеза ДНК и блокирует переход клетки в S фазу клеточного цикла (Li J.N., 2001, Pizer E.S., 1998), что послужило основанием для разработки таргетных препаратов (Flavin R., 2010).

Учитывая наличие публикаций, указывающих на связь APOD с гормональной чувствительностью, в частности чувствительностью к андрогенам (Arragi M., 2009), целесообразно проведение дальнейших исследований взаимосвязи его экспрессии с кастрационной резистентностью опухолей предстательной железы.

Полученные данные относительно экспрессии PTOV1 не подтверждают опубликованные в литературе результаты исследования Benedit P. et al., согласно которым для вПИН и аденокарциномы предстательной железы характерна гиперэкспрессия данного белка и одноименного гена (Benedit P., 2001). В этой связи считаем, что наметившиеся тенденции в разнице в экспрессии PTOV1 в морфологически нормальной ткани предстательной железы, вПИН и раке требуют дальнейшего исследования на большей выборке.

Разница экспрессии ERNA4 в доброкачественных образованиях, вПИН и раке в нашем исследовании была отмечена лишь в 2 % случаев, что не позволяет говорить о данном белке, как потенциальном дифференциально-диагностическом маркере. ERNA4 – член семейства рецепторных тирозинкиназ, однако в литературе относительно экспрессии данного белка в новообразованиях предстательной железы данные отсутствуют.

Таким образом, согласно результатам проведенного исследования, APOD, FASN и ERG возможно использовать как дополнительные маркеры к существующей панели для дифференциального диагноза между вПИН и доброкачественными процессами. Прогностического значения экспрессии

изученных маркеров выявить не удалось. Анализ полученных в ходе работы результатов позволяет предложить алгоритм дифференциальной диагностики вПИН с доброкачественными и злокачественными состояниями, в основу которого положены данные как о морфологических, так и о иммуногистохимических особенностях (Рис. 6).

Анализ химерного транскрипта *TMPRSS2/ERG*

Для оценки сопоставимости иммуногистохимического метода и молекулярно-генетического анализа предрака и рака предстательной железы по результатам иммуногистохимического исследования было отобрано по 15 образцов с выраженной гиперэкспрессией *ERG* и с её отсутствием в вПИН и раке. Анализ химерного транскрипта *TMPRSS2/ERG* проводился на соседних блоках, отобранных по принципу наличия не менее 40% опухолевой ткани.

Частота перестройки *TMPRSS2/ERG* в образцах составила 57% (17/30). Подлинность химерного гена *TMPRSS2/ERG* подтверждена секвенированием исследуемого фрагмента кДНК. При этом перестройка была обнаружена во всех 15 случаях с наличием гиперэкспрессии *ERG* в опухоли и в двух случаях с отсутствием гиперэкспрессии. В двух наблюдениях с несовпадающими результатами при повторном пересмотре препаратов было сделано предположение, что в связи с мультицентричным характером роста опухоли в образцах для иммуногистохимического анализа и для ПЦР оказались разные очаги опухоли, при этом в одном из случаев с одинаковой градацией по шкале Глисона, в другом – с различной. Для подтверждения гипотезы о причине несоответствия результатов было повторно проведено иммуногистохимическое исследование на срезах с блоков, с которых проводилось выделение РНК для ПЦР, в ходе которого была выявлена выраженная экспрессия *ERG* в анализируемых образцах. Таким образом, полученные данные о согласованности результатов иммуногистохимического анализа и ОТ-ПЦР позволяют при оценке *ERG* статуса использовать иммуногистохимический метод в качестве альтернативы молекулярно-генетическим методам в клинической практике.

ВЫВОДЫ

1. Дифференциально-диагностическими морфологическими критериями вПИН и доброкачественных процессов являются выраженная пролиферация люминального эпителия с вариабельностью размеров и стратификации клеток, укрупнение ядер с появлением заметных ядрышек. Выделение различных архитектурных паттернов вПИН не имеет клинического и прогностического значения.

2. вПИН характеризуется идентичным иммуногистохимическим профилем с внутрипротоковой карциномой (Альфа-метилацил-коэнзим А рацемеза (AMACR)+, 34betaE12+, p63+, ETS-связанный ген (*ERG*)+, Синтаза жирных кислот (*FASN*)+, Аполипопротеин D (*APOD*)+, в связи с чем диагноз

должен основываться только на морфологических критериях: выраженная ядерная атипия (размер ядра в 6 или более раз превосходит нормальный), нефокальный комедонекроз, солидный или плотный крибриформный паттерн роста.

3. ВПИН характеризуется сходным иммуногистохимическим профилем с аденокарциномой предстательной железы – AMACR+, APOD+, FASN+, ERG+, что является дополнительным подтверждением того, что ВПИН по своей сути представляет облигатный предрак.

4. Выявлена диагностическая значимость маркеров APOD и FASN, что позволяет их использовать для дифференциального диагноза ВПИН и доброкачественных процессов.

5. Согласованность результатов ИГХ и ОТ-ПЦР при определении ERG статуса позволяет использовать иммуногистохимический метод в качестве альтернативы молекулярно-генетическим методам в клинической практике.

6. Зависимость между ERG-статусом и наличием метастазов в регионарные лимфатические узлы, а также объемом поражения в настоящем исследовании не выявлена ($p > 0,05$). По данным признакам также не наблюдалось статистически значимого различия между APOD-позитивными и APOD-негативными опухолями ($p > 0,05$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью дифференциального диагноза между ВПИН и доброкачественными процессами целесообразно дополнение стандартной панели антител (AMACR, 34betaE12, p63) иммуногистохимическим исследованием с APOD и FASN. Это помогает избежать ошибок при мозаичности базального слоя клеток в структурах ВПИН и некоторых доброкачественных процессах, а также отсутствию экспрессии AMACR в ВПИН.
2. Наличие внутрипротоковой карциномы в биопсиях необходимо обязательно отмечать в морфологическом заключении, т.к. она ассоциирована с агрессивными вариантами инвазивного рака, что может отразиться на тактике лечения. При проведении дифференциальной диагностики между ВПИН и внутрипротоковой аденокарциномой необходимо руководствоваться морфологическими критериями, иммуногистохимическое исследование в данном случае нецелесообразно.
3. Для дифференциальной диагностики ВПИН с доброкачественными гиперпластическими процессами и раком рекомендуется использовать предложенный алгоритм.

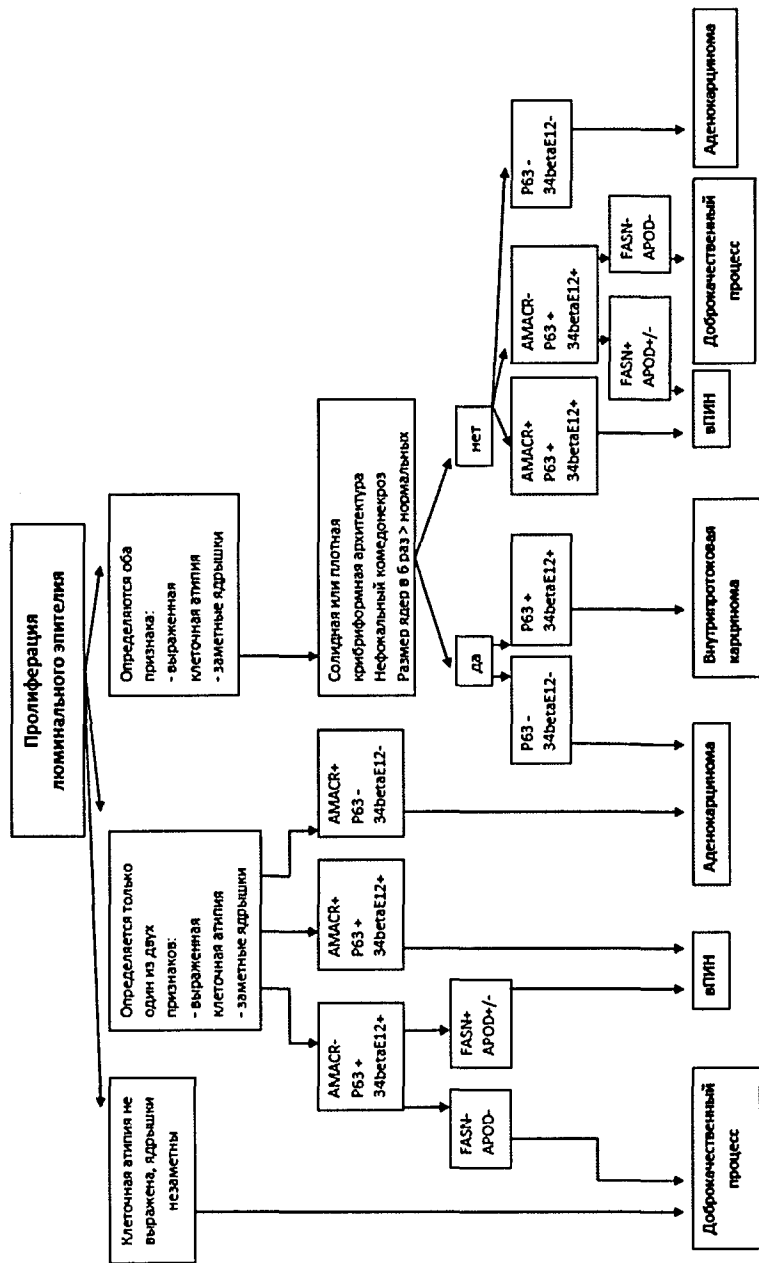


Рисунок 6. Алгоритм дифференциальной диагностики ВПИН с доброкачественными и злокачественными процессами

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Аллина Д.О., Кекеева Т.В., Москвина Л.В., Шикеева А.А., Андреева Ю.Ю., Завалишина Л.Э., Франк Г.А. Диагностическая значимость оценки экспрессии ERG в аденокарциноме предстательной железы и простатической интраэпителиальной неоплазии высокой степени// Архив патологии. 2015. 77(5). С. 36-42.
2. Аллина Д.О., Андреева Ю.Ю., Завалишина Л.Э., Москвина Л.В., Франк Г.А. Оценка диагностического потенциала APOD, PTOV1 и EPNA4 для новообразований предстательной железы// Архив патологии. 2016. 78(5). С. 9-14.
3. Аллина Д.О., Андреева Ю.Ю., Завалишина Л.Э., Москвина Л.В., Франк Г.А. FASN в диагностике новообразований предстательной железы// Архив патологии. 2017. 79(2). С. 10-14.
4. Аллина Д.О., Андреева Ю.Ю., Завалишина Л.Э., Кекеева Т.В., Франк Г.А. Простатическая интраэпителиальная неоплазия высокой степени: современное состояние проблемы// Архив патологии. 2015. 77(1). С. 69-74.
5. Allina D., Andreeva Y., Zavalishina L., Moskvina L., Frank G. Utility of ERG in prostate cancer and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia// Virchows Arch. 2015. 467 (Supl.1). P. 20.
6. Andreeva Y., Zavalishina L., Moskvina L., Frank G., Allina D. Utility of APOD and PTOV1 for differential diagnosis of prostate neoplasms and benign mimickers// Folia Medica Facultatis Medicinae Universitatis Saraeviensis. 2016. 51 (Supl. 1). P. 50.
7. Аллина Д.О., Андреева Ю.Ю., Завалишина Л.Э., Москвина Л.В., Франк Г.А. APOD, PTOV1 и FASN в диагностике новообразований предстательной железы// Злокачественные опухоли. 2016. 4 (Supl. 1). С. 310.
8. Frank G., Andreeva Y., Zavalishina L., Moskvina L., Allina D. Novel markers for differential diagnosis of prostate cancer and benign mimics// Virchows Arch. 2017. 471 (Supl.1). P. 279.
9. Аллина Д.О. Новые иммуногистохимические маркеры для диагностики новообразований предстательной железы// Актуальные вопросы фундаментальной, экспериментальной и клинической морфологии: сборник материалов. 2017. С. 135.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БКГ – базальноклеточная гиперплазия
вПИН – простатическая
интраэпителиальная неоплазия высокой
степени
кДНК – комплиментарная ДНК
мРНК – матричная РНК
ОТ-ПЦР – полимеразная цепная реакция
с обратной транскрипцией
ПИН – простатическая
интраэпителиальная неоплазия
ПЦР – полимеразная цепная реакция

Аббревиатуры генов и белков приведены
в соответствии с номенклатурой,
утвержденной HGNC (HUGO Gene
Nomenclature Committee – Комитет по
Номенклатуре Генов)
PTOV1 - Prostate Tumor Overexpressed
Gene 1
APOD - Apolipoprotein D
FASN - Fatty Acid Synthase
EPNA4 - Ephrin receptor A4
ERG - ETS-related gene

РЕЗЮМЕ

диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
Д.О. Аллиной

"Морфологические, иммуногистохимические и молекулярно-генетические особенности в диагностике простатической интраэпителиальной неоплазии высокой степени"

В настоящем диссертационном исследовании охарактеризованы основные морфологические дифференциально-диагностические признаки простатической интраэпителиальной неоплазии высокой степени (вПИН), впервые методом иммуногистохимии на большой выборке проведено сравнение экспрессии белков ERG, APOD, EPHA4, PTOV1, FASN в нормальной ткани предстательной железы, вПИН и аденокарциноме предстательной железы. В результате проведенного исследования установлено, что APOD и FASN целесообразно использовать как дополнительные маркеры для дифференциального диагноза между вПИН и доброкачественными процессами. В работе была показана ограниченная роль ERG в дифференциальном диагнозе между вПИН и доброкачественными процессами, а также отсутствие диагностической значимости данного маркера в дифференциальном диагнозе между вПИН и внутрипротоковой карциномой. Доказана сопоставимость результатов иммуногистохимического анализа и ОТ-ПЦР при оценке ERG-статуса опухолей предстательной железы. На основании проведенного морфологического и иммуногистохимического исследования предложен алгоритм дифференциальной диагностики вПИН с доброкачественными и злокачественными процессами.

PhD thesis Abstract

Morphological, immunohistochemical and molecular features in the diagnosis of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia
by Daria O. Allina

In this study the main morphological diagnostic criteria of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN) were characterized. For the first time, expressions of the ERG, APOD, EPHA4, PTOV1 and FASN proteins via immunohistochemistry were compared in benign lesions, HGPIN and prostate cancer. The study has established the usefulness of APOD and FASN as additional markers for the differential diagnosis of HGPIN and benign mimickers. The limited role of ERG in the differential diagnosis of HGPIN and benign lesions as well as the absence of diagnostic value in the differential diagnosis of HGPIN and intraductal carcinoma were shown. Concordance between immunohistochemistry and RT-PCR for ERG status of prostate neoplasms detection was proven. By morphological and immunohistochemical studies, an algorithm for differential diagnosis of HGPIN with benign and malignant lesions is proposed.

-25-

Подписано в печать 29.03.2018

Заказ № 16

Тираж 100 экземпляров

1 Печатный лист

Отпечатано в ООО «Копимастер»

ИНН 7721282097

КПП 772121001

Г. Москва, Рязанский пр., дом №10

+7(495)229-56-62

