

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК: 616.65-006-091

ЗАХАРОВА
Виктория Алексеевна

**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ И ПРЕНЕОПЛАСТИЧЕСКИХ
ПРОЦЕССОВ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия

Минск 2011

Работа выполнена в УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Научный руководитель: **Летковская Татьяна Анатольевна**,
кандидат медицинских наук, доцент кафедры
патологической анатомии УО «Белорусский
государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Швед Иван Адамович**,
доктор медицинских наук, профессор, главный
научный сотрудник Центральной научно-
исследовательской лаборатории ГУО «Бело-
русская медицинская академия последиплом-
ного образования»

Басинский Виктор Анатольевич,
доктор медицинских наук, профессор, заве-
дующий кафедрой патологической анатомии с
курсом судебной медицины УО «Гродненский
государственный медицинский университет»

Оппонирующая организация: УО «Витебский государственный ордена
Дружбы народов медицинский универси-
тет»

Защита состоится 9 декабря 2011 г. в 14⁰⁰ часов на заседании совета
по защите диссертаций Д 03.18.02 при УО «Белорусский государственный
медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского,
83. Телефон ученого секретаря: 272-55-98.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Белорусский
государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «_____» ноября 2011 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций
кандидат медицинских наук, доцент

А.И. Герасимович

ВВЕДЕНИЕ

Морфологическая диагностика патологии предстательной железы (ПЖ) нередко представляет значительные трудности, поскольку целый ряд гиперпластических процессов, реактивных изменений и нормальных анатомических структур могут имитировать как пренеопластические процессы, так и рак (РПЖ). Развитие молекулярной биологии сделало возможным выяснение роли биомолекулярных маркеров в появлении и прогрессировании цитологической атипии от неопухолевых процессов к РПЖ. В последние годы открыт весьма перспективный молекулярный маркер злокачественной трансформации эпителия ПЖ – АМАСR (P504S) [Z. Jiang и соавт., 2001], однако отсутствуют четкие рекомендации по его использованию для дифференциальной диагностики патологии ПЖ. Полученные результаты о роли в неопластической трансформации эпителия ПЖ факторов, регулирующих клеточный цикл, работу онкогенов и генов-онкосупрессоров, касаются лишь РПЖ, реже – пренеопластических процессов, и часто оказываются противоречивыми [M. Drobnyak и соавт., 2000; D. Danielpour и соавт., 2005]. Отсутствуют данные о взаимосвязи характера экспрессии данных биомолекулярных маркеров с цитологическими признаками и гистоархитектоникой, а также не дана оценка их значимости для совершенствования морфологической диагностики патологии ПЖ.

В связи с этим, поиск новых и уточнение имеющихся морфологических критериев диагностики патологии ПЖ остаются по-прежнему актуальными и приобретают большое практическое значение, поскольку позволят увеличить долю верифицированных диагнозов РПЖ без проведения повторных биопсий, а также исключить РПЖ при наличии имитирующей его неопухолевой патологии. До сих пор биологический потенциал неопухолевых процессов ПЖ изучен недостаточно, что приводит к неполному обследованию данной группы пациентов и, вероятно, может отрицательно влиять на частоту выявления минимального и локализованного РПЖ. Изучение роли биомолекулярных маркеров в развитии и прогрессировании цитологической атипии и изменении гистоархитектоники ПЖ является важным не только для понимания фундаментальных основ канцерогенеза, но и будет иметь практическое значение для разработки таргетной терапии и профилактики РПЖ.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами, темами. Работа выполнена в рамках тем НИР: «Современные методы в диагностике и прогнозировании некоторых опухолей человека» (№ 20004080 государственной регистрации, 2001–2005 гг.), «Изучить иммуногистохимические маркеры в

прогнозировании течения рака предстательной железы для совершенствования стратегии лечения и наблюдения больных» (№ 20052544 государственной регистрации от 2005 г.), «Изучить диагностическое и прогностическое значение морфологических и молекулярно-биологических маркеров при некоторых опухолях человека для использования их в клинической практике» (№2006241 государственной регистрации, 2006–2010 гг.).

Цель и задачи исследования.

Цель исследования: усовершенствовать морфологическую дифференциальную диагностику и определить биологические свойства гиперпластических и пренеопластических процессов предстательной железы путем комплексной оценки гистоархитектоники, цитологических признаков эпителия и экспрессии биомолекулярных маркеров.

Задачи исследования:

1. Детализировать структуру патологии предстательной железы в операционном и биопсийном материале путем использования в диагностически сложных случаях иммуногистохимических маркеров базальных клеток (высокомолекулярного цитокератина (ВМЦ, клон 34 β E12) и p63) и АМАСР.

2. Оценить согласованность в вынесении заключений и ее достоверность, диагностическую чувствительность, специфичность, эффективность, прогностическую ценность положительного / отрицательного результата и медико-экономическую эффективность различных модификаций морфологического метода диагностики патологии предстательной железы.

3. Дать характеристику цитологических признаков и гистоархитектоники гиперпластических и пренеопластических процессов предстательной железы с применением морфометрического метода.

4. Оценить характер экспрессии АМАСР, циклина Д1, топоизомеразы $\text{P}\alpha$, трансформирующего фактора роста β и установить взаимосвязь уровней их экспрессии между собой, а также с гистоархитектоникой и цитологическими признаками эпителия при гиперпластических и пренеопластических процессах.

5. Установить среди исследованных морфологических параметров наиболее информативные дифференциально-диагностические признаки гиперпластических и пренеопластических процессов предстательной железы.

Объект и предмет исследования. Объект исследования – материал аденомэктомий, трансуретральных резекций и пункционных биопсий предстательной железы. Предмет исследования – морфологические и биомолекулярные признаки гиперпластических и пренеопластических процессов предстательной железы.

Положения, выносимые на защиту

1. Иммуногистохимический метод с маркерами базальных клеток (ВМЦ+p63) и АМАСР необходимо использовать в 8,9% диагностически

сложных случаев в операционном и в 19,8% – в биопсийном материале для определения природы атипичской мелкоацинарной пролиферации, что позволяет уменьшить ее удельный вес до 2,2% и 8,1% соответственно. При использовании данного метода частота других форм патологии предстательной железы в структуре операционного (биопсийного) материала составляет соответственно: доброкачественной эпителиальной гиперплазии – 98,9% (28,5%), простой атрофии – 42,1% (40,7%), предстательной интраэпителиальной неоплазии – 17,3% (22,1%), пролиферативной воспалительной атрофии – 12,6% (16,3%), постатрофической гиперплазии – 9,4% (25,6%), базальноклеточной гиперплазии – 11,2% (1,2%), аденоза – 8,9% (16,3%), рака – 6,5% (40,7%).

2. Применение маркеров базальных клеток (ВМЦ и p63) и АМАСР в виде двойного (ВМЦ+p63) и тройного (ВМЦ+p63+АМАСР) коктейлей в группе атипичской мелкоацинарной пролиферации повышает согласованность в вынесении заключений (*с 66% до 85% и 94%*) и ее достоверность и практически вдвое увеличивает диагностическую чувствительность, специфичность, эффективность, прогностическую ценность положительного / отрицательного результата и медико-экономическую эффективность морфологической диагностики.

3. Повышение агрессивности биологических свойств патологии предстательной железы характеризуется прогрессированием цитологической атипии и утраты базальных клеток ($\geq 25,8\%$ *периметра желез*), увеличением площади экспрессии АМАСР ($\geq 8,5\%$) и циклина Д1 ($\geq 22,7\%$), доли топоизомераза-III-позитивных клеток ($\geq 0,6\%$) совместно с уменьшением антипролиферативного действия трансформирующего фактора роста β (*площадь экспрессии* $< 6,1\%$).

4. Постатрофическая гиперплазия и пролиферативная воспалительная атрофия подобны пренеопластическим процессам предстательной железы по цитологическим признакам, характеру экспрессии маркеров клеточного цикла (*площадь экспрессии циклина Д1* $\geq 25,8\%$, *доля топоизомераза-III-позитивных клеток* $\geq 0,5\%$) и трансформирующего фактора роста β (*площадь экспрессии* $\leq 4\%$).

5. Наиболее диагностически значимыми признаками патологии предстательной железы являются утрата базальных клеток и площадь экспрессии трансформирующего фактора роста β . А также, в группе *с преобладанием ацинарной пролиферации* – площадь экспрессии АМАСР, доля клеток с крупными и визуализируемыми ядрышками, периметр и площадь ядер; в группе *с преобладанием внутрипротоковой пролиферации* – диаметр, периметр, площадь ядер, площадь и общая интенсивность экспрессии АМАСР, размер ядрышек, интенсивность экспрессии циклина Д1 в иммунопозитивных участках. При комплексной оценке данных признаков (в дополнение к характеру утра-

ты базальных клеток) качество дифференциальной диагностики патологии предстательной железы повышается на 24,2% и 11,5% в группах с преобладанием ацинарной или внутривнутрипротоковой пролиферации соответственно.

Личный вклад соискателя. Постановка проблемы, формулировка цели и задач исследования, положений, выносимых на защиту, проведены совместно с научным руководителем. Автором единолично выполнены анализ научной литературы, медицинской документации, исследование микропрепаратов 278 и 172 случаев операционного и биопсийного материала с использованием светового микроскопа; отработка протоколов иммуногистохимического (ИГХ) выявления циклина D1, топоизомеразы II α и трансформирующего фактора роста β ; определение методологии и проведение морфометрии, оценка экспрессии биомолекулярных маркеров (в 344 очагах патологии ПЖ), расчет и оценка точности и медико-экономической эффективности морфологического метода, статистический анализ полученных данных и их изложение в виде диссертационного материала. Совместно с научным руководителем отработаны методики ИГХ окрашивания коктейлями маркеров базальных клеток и АМАСР. Ретроспективный анализ отобранных автором микропрепаратов с подозрением на РПЖ (для анализа точности и медико-экономической эффективности) также проводился совместно с научным руководителем и тремя экспертами-онкоморфологами с вкладом автора 82%. Основные научные результаты об иммуноморфологических особенностях, структуре патологии ПЖ и результатах оценки качества ее морфологической диагностики (с долей личного участия автора соответственно) представлены в статьях в рецензируемых журналах [1] – 89%, [2] – 100%, [3, 4] – 84% и [5] – 95% (с долей личного участия в среднем 90,4%); в сборниках научных трудов [6, 10, 11] – 100%, [7, 12] – 90% и [8, 9] – 45%; в тезисах докладов и материалах конференций [13] – 100%, [14, 17, 22] – 37%, [15] – 84%, [16, 18–21, 23–25] – 90%. Вклад автора в опубликованные работы составил в среднем 72%. Также, совместно с научным руководителем выполнены (с вкладом автора соответственно) оформление инструкций по применению [26] – 45%, [27] – 65% и отчетов о НИР [28, 29] – 45%, рационализаторских предложений [30–33] – 90%, внедрение результатов исследования в практику [34–37] и учебный процесс – 90%.

Апробация результатов диссертации. Результаты диссертации доложены на научных сессиях БГМУ (2005–2007, 2010, 2011), международных конференциях студентов и молодых ученых БГМУ (2005, 2006, 2008), первом республиканском съезде патологоанатомов «Высокие технологии в морфологии, их значение в клинике и перспективы внедрения в практическое здравоохранение» (Минск, 2006), заседаниях Минского городского научно-практического общества патологоанатомов (2007, 2009), «XXVII Меж-

дународном конгрессе Международной академии патологии» (Афины, 2008), «XXII Европейском конгрессе патологии» (Флоренция, 2009), «Межконгрессной конференции Европейского общества патологии» (Краков, 2010), Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы патологической анатомии» (Гродно 2010г.).

Опубликованность результатов диссертации. По тематике исследования опубликовано 29 работ (в том числе 5 единолично), в которых изложены главные результаты диссертации. Из них 5 статей – в рецензируемых научных журналах с общим объемом публикаций 2,67 авторских листа, 7 – в сборниках статей, 13 – тезисы докладов и материалы конференций (в том числе: республиканских – 4, СНГ – 3, европейских – 4, международных – 2), 2 инструкции по применению, 2 отчёта о НИР.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, основной части, состоящей из 4 глав (включающих анализ литературы, материал и методы исследования, результаты собственного исследования и обсуждение полученных результатов), заключения, библиографического списка использованных источников и публикаций автора, 17 приложений. Работа выполнена на 236 страницах машинописного текста и содержит 23 таблицы и 87 рисунков. Список использованных источников включает 2 русскоязычных и 228 иностранных источников.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на безвыборочном архивном операционном (278 случаев за 2000 г.) и текущем биопсийном (172 случая за период: 11.2006–11.2007 гг.) материале ПЖ (УЗ «Городское клиническое патолого-анатомическое бюро» г. Минска). Классификация патологии ПЖ проводилась в соответствии с гистологическими критериями, представленными в руководстве D.G. Bostwick и соавт. (2008). Степень гистологической злокачественности РПЖ оценивалась согласно шкале Глисона в модификации Epstein и соавт. (2005). Для верификации диагноза и анализа структуры патологии ПЖ были использованы следующие модификации морфологического метода: 1) окрашивание гистологических препаратов гематоксилином и эозином (ГЭ), 2) иммуногистохимический метод (ИГХМ) с использованием двойного коктейля маркеров базальных клеток (БК) (ВМЦ+p63), 3) ИГХМ с использованием тройного коктейля маркеров БК и АМАСР (ВМЦ+p63+АМАСР). В группе атипичической мелкоацинарной пролиферации (АМАП) выполнен анализ согласованности в вынесении заключений и ее достоверности, операционных характеристик, а также разработана методика и проведен расчет медико-экономической эффективности каждой из модификаций морфологического метода.

Для морфометрического анализа отобраны случаи (таблица), в серийных срезах которых при дорезке парафиновых блоков для проведения ИГХМ сохранялись гиперпластические (аденоз, светлоклеточная крибозная гиперплазия – СККГ, постатрофическая гиперплазия – ПАГ, пролиферативная воспалительная атрофия – ПВА) и пренеопластические процессы ПЖ (предстательная интраэпителиальная неоплазия – ПИН, АМАП). Группы сравнения – доброкачественная эпителиальная гиперплазия (ДЭГ) и РПЖ (сумма Глисона 4-6).

Таблица – Структура патологии ПЖ для анализа морфометрических признаков

Нозологическая форма	Число случаев
Группы контроля	
ДЭГ	50
РПЖ	22
Пренеопластические процессы	
ПИН	54
АМАП	19
Гиперпластические процессы	
СККГ	20
Аденоз	46
ПАГ	70
ПВА	63
Всего	344

Морфологическое исследование. Для приготовления гистологических препаратов из парафиновых блоков делались срезы толщиной 4 мкм, которые депарафинировались в ксилоле, обезжировались в спиртах возрастающей концентрации и окрашивались ГЭ и ИГХМ. При светооптическом исследовании гистологических препаратов ПЖ с использованием микроскопа «Leica» оценивались гистоархитектоника (мелко-, средне- и крупноацинарные структуры с/без внутрипротоковой пролиферации эпителия, характер утраты БК), характер ядер и ядрышек эпителия, сочетание гиперпластических и пренеопластических процессов с РПЖ. С целью анализа характера утраты БК и экспрессии биомолекулярных маркеров выполнен ИГХМ с использованием моноклональных антител (Ат, производитель ДАКО) к БК (ВМЦ и р63, разведение первичных Ат 1:200), АМАСР (1:200), циклину Д1 (1:100), топоизомеразе Па (топоПа, 1:200), трансформирующему фактору роста β (ТФРβ) (СНЕМІСОН, 1:1000). Для каждого ИГХ маркера отработан протокол окрашивания с подбором оптимального режима демаскировки антигена, разведения первичных Ат, выбором визуализирующей системы («ДАКО», EnVision mouse – ВМЦ+р63, циклин Д1, топоПа и ТФРβ; EnVision universal – ВМЦ+р63+АМАСР), времени экспозиции хромогена

(диаминобензидина). Позитивный контроль – ткани и органы, рекомендованные «ДАКО», негативный – исключение первичного Ат. Дальнейшему анализу подвергались препараты с отсутствием ИГХ реакции в негативном контроле.

Морфометрическая оценка полученных результатов. Микропрепараты фотографировали в 3–4 полях зрения (объектив 20), 5–6 полях зрения (объектив 40) с разрешением 1798 на 1438 пикселей при помощи микроскопа с цифровой камерой «Leica». Площадь полей зрения составила $600,53 \times 480,29 = 288428,55 \text{ мкм}^2$ (объектив 20) и $298,47 \times 238,71 = 71247,77 \text{ мкм}^2$ (объектив 40). Характер утраты БК (визуализируемых ВМЦ и р63), размеры ядер (наибольший диаметр, периметр, площадь) и наибольший диаметр ядрышек определялись с использованием программы анализа изображений WCIF ImageJ. Степень полиморфизма ядер оценивалась согласно разработанной шкале для патологии ПЖ. Доля клеток с визуализируемыми и крупными (размером $\geq 1 \text{ мкм}$) ядрышками определялась в 5–6 полях зрения (объектив 40) с использованием WCIF ImageJ. ИГХ реакция с АМАСР, циклином Д1 и ТФРβ в цитоплазме эпителия оценивалась с использованием программы для морфометрии Aperio Image Scope, автоматически измеряющей интенсивность ИГХ реакции (коричневой окраски) и разделяющей ее на 3 уровня. Для сравнения групп патологии ПЖ по характеру экспрессии вышеназванных маркеров, рассчитывались следующие параметры (объектив 20): **позитивность** (отношение числа позитивных пикселей к общему числу пикселей $\times 100\%$), **индекс интенсивности в иммунопозитивных участках** (отношение интенсивности позитивных пикселей к числу позитивных пикселей), **общий индекс интенсивности ИГХ реакции** (отношение суммы интенсивностей негативных и позитивных пикселей к общему числу пикселей). Доля топоIIα-позитивных клеток определялась в 5–6 полях зрения (объектив 40) с использованием программы WCIF ImageJ и формулы: число иммунопозитивных клеток/общее число клеток $\times 100\%$.

Статистический анализ данных проводился с использованием программного обеспечения STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., 2001 г.), WinPepi. Полученные результаты обработаны статистически с вычислением медианы, 95% доверительного и интерквартильного интервалов, максимального и минимального значения. Статистическая мощность исследования (ИГХМ) – 95%. Характер распределения данных оценивался согласно критерию Шапиро–Уилка (W). Уровень статистической значимости устанавливался с учетом поправки Бонферрони. Сравнение независимых выборок по количественным признакам проводилось с использованием дисперсионного анализа непараметрических данных и определением критериев Краскела–Уоллиса (H-критерий) для 3 и более выборок и Манна–Уитни (U-критерий) с целью парного

сравнения выборок (различия считались достоверными (*) при $p < 0,0018$). Наиболее информативные диагностические признаки патологии ПЖ определялись с использованием дискриминантного анализа, $p < 0,05$. Корреляционные взаимосвязи между анализируемыми признаками вычислялись с использованием рангового коэффициента корреляции непараметрических данных Спирмена (ρ).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Структура изученной патологии предстательной железы представлена на рисунке 1. При исследовании гистологических препаратов, окрашенных ГЭ, в 8,9% и 19,8% случаев операционного и биопсийного материала соответственно имело место заключение о наличии АМАП, объединявшей все случаи неясного диагноза. После проведения ИГХМ диагноз в данной группе был верифицирован в 76% случаев операционного и 100% информативного биопсийного материала ПЖ, что уменьшило долю АМАП до 2,2% и 8,1% соответственно.

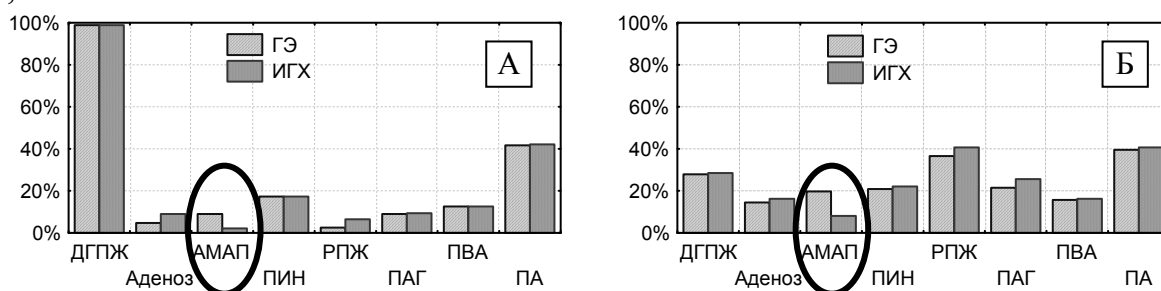
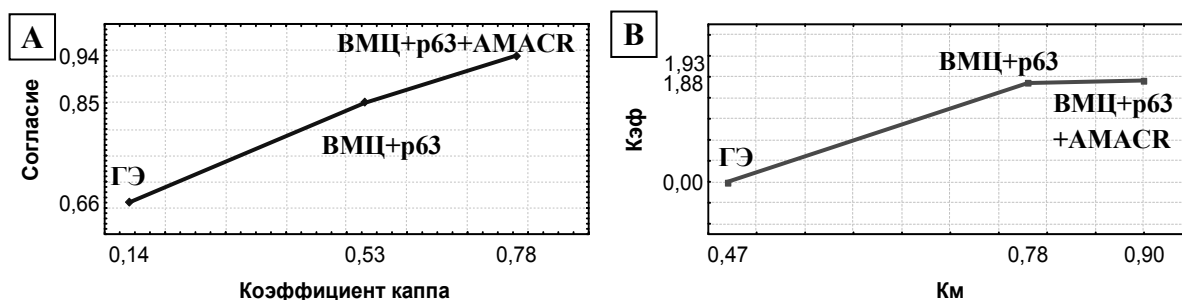


Рисунок 1 – Структура патологии ПЖ в операционном (А) и биопсийном (Б) материале ПЖ с использованием ИГХМ (ВМЦ+р63+АМАСР)

При этом под диагнозом АМАП в операционном и биопсийном материале наиболее часто скрывались и вызывали трудности в диагностике соответственно: РПЖ (44% и 20,6% случаев), аденоз (48% и 8,8% случаев), ПАГ (4% и 20,6% случаев), а также ПИН и ПВА (5,9% и 2,9% случаев в биопсийном материале соответственно). Анализ сочетания РПЖ с неопухолевыми процессами выявил в 20% случаев ПИН, 10% – ПАГ и 5,7% – ПВА ($p > 0,05$). Аденоз выявлялся перифокально от РПЖ крайне редко (1,4%, $p < 0,001*$).

Точность и медико-экономическая эффективность морфологического метода диагностики патологии предстательной железы. Использование в случаях АМАП двойного (ВМЦ+р63) и тройного (ВМЦ+р63+АМАСР) ИГХ коктейлей увеличивает согласие в заключениях и его достоверность (с крайне низкого уровня до среднего и высокого), операционные характеристики, а также медицинскую (Км) и экономическую (Кэф) эффективность морфологической диагностики (рисунок 2).



Б Операционные характеристики	ГЭ	ВМЦ+р63	ВМЦ+р63+АМАСР	
Диагностическая чувствительность	42,4%	72,7%	90,9%*	* p=0,009 в сравнении с окраской ГЭ
Диагностическая специфичность	77,8%	94,4%	94,4%*	
Диагностическая эффективность	60,1%	83,6%	92,7%*	
Прогностическая ценность положительного результата	77,8%	96%	96,8%*	
отрицательного результата	42,4%	65,4%	85%*	

Рисунок 2 – Точность (А-Б) и медико-экономическая эффективность (В) морфологической диагностики патологии ПЖ

При этом оптимальным с точки зрения операционных характеристик является тройной ИГХ коктейль, позволяющий в 97% сомнительных случаев верифицировать наличие РПЖ.

Использование маркеров БК в диагностике неопухолевой патологии ПЖ не имеет решающего значения. А вариабельность экспрессии АМАСР создает сложности для онкоморфологов в определении нозологии неопухолевых процессов и статистически незначимо, но снижает долю правильных диагнозов.

Представленные результаты свидетельствуют, что ИГХ выявление БК имеет принципиальное значение лишь для верификации диагноза РПЖ. А наличие экспрессии АМАСР, улучшая распознавание РПЖ, вызывает дополнительные трудности в диагностике неопухолевых процессов ПЖ.

Оценка медицинской и экономической эффективности (рисунок 2, В) морфологической диагностики РПЖ выявила статистически значимый рост Км (достижения результата = верификации диагноза) в направлении от стандартной окраски ГЭ (средний уровень) к использованию двойного (уровень выше среднего) и тройного (высокий уровень) ИГХ коктейлей, $p < 0,05^*$. При этом между ИГХ протоколами значимых различий в качестве диагностики не выявлено. Кэф ИГХ методик практически вдвое превышали таковой для стандартного окрашивания гистологических препаратов и составили 1,88 (ВМЦ+р63) и 1,93 (ВМЦ+р63+АМАСР).

Таким образом, представленное научное обоснование необходимости использования ИГХМ во всех случаях неясного диагноза патологии ПЖ не имеет аналогов в доступной анализу литературе и полностью соответствует принципам доказательной медицины, позволяя в каждом конкретном случае выбрать оптимальный вариант ИГХМ с точки зрения эффективности, как

диагностики, так и финансирования. Это позволит увеличить долю верифицированных диагнозов РПЖ без проведения повторных биопсий, а также исключить РПЖ при наличии имитирующей его неопухолевой патологии.

Иммуноморфологическая характеристика гиперпластических и пренеопластических процессов предстательной железы (рисунок 3).

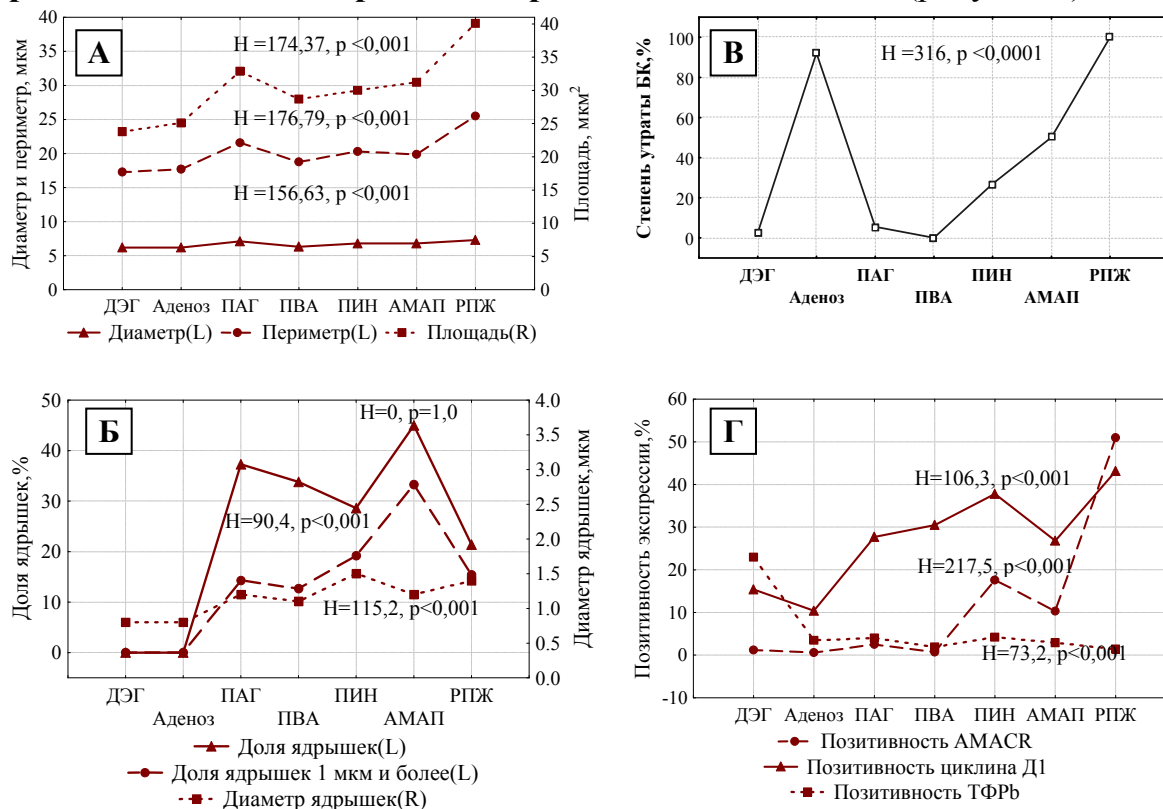


Рисунок 3 – Иммуноморфологическая характеристика гиперпластических и пренеопластических процессов ПЖ

Методология изучения цитологических признаков, степени утраты БК и экспрессии биомолекулярных маркеров патологии ПЖ заключалась в использовании морфометрического метода в отличие от ранговой или полуколичественной шкал оценки в аналогичных исследованиях. Это позволило объективно охарактеризовать и провести анализ взаимосвязи морфологических данных для определения биологических свойств неопухолевых процессов ПЖ, а также статистически обосновать различия между нозологиями для уточнения имеющихся и выделения новых дифференциально-диагностических признаков.

А именно, подтверждена взаимосвязь роста утраты БК (прямая связь слабой и умеренной силы), а также доли клеток с визуализируемыми и крупными ядрышками и их размера (прямая взаимосвязь умеренной силы) с увеличением размеров ядер, $p < 0,001^*$. Кроме того, выявлена тенденция к увеличению экспрессии АМАСР, маркеров клеточного цикла и уменьшению антипролиферативного действия ТФРβ (рисунок 3, Г) в направлении от гиперпластических

процессов к пренеопластическим и РПЖ, что характеризовалось прогрессирующим снижением степени цитологической атипии и утраты БК (рисунок 3, А–В).

Морфометрические данные групп сравнения были приняты за основу для уточнения дифференциально-диагностических признаков неопухолевых процессов ПЖ. А выявленные тенденции, в виде соотношения экспрессии маркеров клеточного цикла (G1 и S-G2-фаз) и ТФРβ позволили оценить биологические свойства и эффективность проапоптотического действия ТФРβ при гиперпластических и пренеопластических процессах ПЖ в сравнении с абсолютно доброкачественным (ДЭГ) и злокачественным (РПЖ) процессами.

Так, **ДЭГ ПЖ** характеризовалась мономорфными ядрами с незначительной вариабельностью их размеров, очаговой утратой БК (до 15,2% периметра желез) и отсутствием ядрышек в большинстве эпителиальных клеток. Также при ДЭГ выявлялась очаговая слабая цитоплазматическая (преимущественно апикальная) экспрессия АМАСР (не превышавшая 3,8% площади эпителиальных структур). А умеренно выраженная экспрессия ТФРβ при ДЭГ (определявшаяся как в цитоплазме, так и ядрах эпителиальных клеток и составившая 23% площади эпителиальных структур) в 1,5 раза превышала таковую циклина Д1 (15,4%) и характеризовалась крайне низкой долей топоIIα-позитивных клеток (до 0,06%). Данное соотношение экспрессии циклина Д1, топоIIα и ТФРβ было принято за основу для доброкачественного биологического потенциала.

При **высоко- и умеренно дифференцированном РПЖ**, наоборот, наблюдалось увеличение размеров ядер (в 1,2 раза) с выраженным их полиморфизмом, доли клеток с визуализируемыми (21,4%) и крупными (15,4%) ядрышками и полная утрата БК по периферии всех опухолевых желез. А также очаги РПЖ характеризовались экспрессией АМАСР в 51% площади эпителиальных структур с вариабельной интенсивностью от умеренной степени до выраженной. Позитивность циклина Д1 (43,1%) при РПЖ в 30 раз превышала таковую ТФРβ (1,4%) с преобладанием умеренной интенсивности экспрессии обоих маркеров, что характеризовалось наиболее вариабельной долей клеток в S-G2 фазе клеточного цикла (до 5,2%). Таким образом, снижение проапоптотического действия ТФРβ в очагах РПЖ можно считать одной из вероятных причин высокой вариабельности доли клеток, преодолевших первую сверочную точку и не нуждающихся в дополнительном стимуле для дальнейшего движения по клеточному циклу и вступлению в митоз. Поэтому данное соотношение экспрессии циклина Д1, топоIIα и ТФРβ было принято за основу для злокачественного биологического потенциала.

Пренеопластические процессы ПЖ характеризовались увеличением размеров ядер и умеренно выраженным и выраженным их полиморфизмом при ПИН и относительным мономорфизмом при АМАП. Также при ПИН и

АМАП определялись соответственно высокая доля клеток с визуализируемыми (28,6% и 45%) и крупными (19,2% и 33,3%) ядрышками и увеличение их размера (1,46 и 1,21 мкм). Степень утраты БК в группе достигала 100%, однако, в большинстве случаев ПИН не превышала 39,3%, а АМАП – 67,2%. Экспрессия АМАСР выявлялась во всех случаях пренеопластических процессов с умеренной степенью интенсивности, занимая около 17,6% (ПИН) и 10,3% (АМАП) площади эпителиальных структур. Экспрессия циклина Д1 при ПИН и АМАП характеризовалась умеренной интенсивностью, составив 37,8% и 26,8% площади эпителиальных структур соответственно, и в 9 раз превышала таковую ТФРβ (4,2% и 2,9% площади желез соответственно). При этом определялось увеличение вариабельности доли топоIIα-позитивных клеток до 3%. Таким образом, данное соотношение экспрессии циклина Д1, топоIIα и ТФРβ заняло промежуточное положение между ДЭГ и РПЖ и было принято за основу для биологического потенциала пренеопластических процессов ПЖ.

Гиперпластические процессы ПЖ, предлагаемые в литературе в качестве вероятных предраковых, согласно полученным нами результатам, характеризовались весьма противоречивыми морфологическими особенностями.

Аденоз, в соответствии с размерами ядер, отсутствием визуализируемых ($p=0,12$) и крупных ($p=0,04$) ядрышек в большинстве клеток эпителия и очаговой слабой экспрессией АМАСР (не превышавшей 2,6% площади желез, $p=0,97$) был подобен абсолютно доброкачественному процессу – ДЭГ ПЖ. Степень же утраты БК при использовании коктейля ИГХ маркеров БК в очагах аденоза составила 92,1%, уступая таковой при РПЖ (100%) и превосходя степень утраты БК как при ДЭГ, так и пренеопластических процессах ПЖ, $p<0,001^*$. Экспрессия циклина Д1 слабой интенсивности (занимавшая 10,4% площади эпителиальных структур) в случаях аденоза в 3 раза превосходила таковую ТФРβ (3,5%) и характеризовалась отсутствием топоIIα-позитивных клеток. По характеру экспрессии циклина Д1 аденоз не имел статистически значимых отличий с ДЭГ ($p=0,01$), а по позитивности экспрессии ТФРβ с пренеопластическими процессами ПЖ ($p_{\text{ПИН}}=0,297$, $p_{\text{АМАП}}=0,665$). Таким образом, соотношение экспрессии циклина Д1 и ТФРβ при аденозе заняло промежуточное положение между ДЭГ и пренеопластическими процессами ПЖ. Однако отсутствие клеток в S-G2 фазе может свидетельствовать о сохранении антипролиферативного действия ТФРβ. И, соответственно полученным результатам, аденоз имеет большее сходство с ДЭГ ПЖ, нежели с пренеопластическими процессами ПЖ.

ПАГ и ПВА, обсуждаемые в последние годы в литературе как вероятные пренеопластические процессы, не имели статистически значимых различий с ПИН и АМАП по размерам ядер, доле клеток с визуализируемыми

(37,3% и 33,8% соответственно) и крупными (14,3% и 12,7% соответственно) ядрышками и их размеру (1,2 и 1,1 мкм соответственно), $p \geq 0,01$. Также, ПАГ и ПВА не имели статистически значимых различий с пренеопластическими процессами по характеру экспрессии маркеров клеточного цикла (площадь экспрессии циклина Д1 – 27,7% и 30,5% соответственно, доля топоIIα-позитивных клеток достигала 1,5% и 1% соответственно) и ТФРβ (4% и 1,9% площади эпителиальных структур). Экспрессия циклина Д1 в случаях ПАГ и ПВА характеризовалась умеренной и слабой интенсивностью и в 2–3 раза превышала таковую ТФРβ. А относительно высокая доля топоIIα-позитивных клеток в сравнении с экспрессией ТФРβ может свидетельствовать о снижении проапоптотического действия ТФРβ. Одновременно, по степени утраты БК (до 8,3% и 1,1% соответственно) и низкой площади экспрессии АМАСР (до 9,1% и 2% соответственно), ПАГ и ПВА не имели статистически значимых различий с абсолютно доброкачественным процессом ПЖ (ДЭГ), $p > 0,01$. Таким образом, результаты анализа цитологических признаков и экспрессии биомолекулярных маркеров свидетельствуют о наличии при ПАГ и ПВА компенсаторных процессов, проявлением которых служит увеличение экспрессии циклина Д1 и наличие пула клеток в G2 фазе клеточного цикла, которые с высокой вероятностью вступят в митоз. С другой стороны, низкое отношение доли клеток G2 к G1 фазе клеточного цикла в очагах ПАГ и ПВА можно объяснить относительно эффективным действием антипролиферативных стимулов в G1 фазе (в том числе ТФРβ).

Результаты изучения морфологических и биологических признаков возможных пренеопластических процессов ПЖ, подтвердили, что аденоз является, преимущественно, доброкачественным процессом, а ПАГ и ПВА имеют более агрессивные биологические признаки, чем ДЭГ, что сближает их с пренеопластическими процессами ПЖ.

Проведенный **дискриминантный анализ гиперпластических и пренеопластических процессов ПЖ** позволил выделить наиболее значимые для дифференциальной диагностики признаки. Установлено, что наиболее информативными признаками для дискриминации групп явились степень утраты БК и позитивность экспрессии ТФРβ. А также (в порядке уменьшения значимости) *в группе процессов ПЖ с ацинарной пролиферацией* – позитивность экспрессии АМАСР, доля клеток с крупными ядрышками, периметр и площадь ядер и доля клеток с видимыми ядрышками; *в группе процессов с внутрипротоковой пролиферацией* – диаметр, периметр, площадь ядер, позитивность и общая интенсивность экспрессии АМАСР, размер ядрышек и интенсивность экспрессии циклина Д1 в иммунопозитивных участках. Использование данных признаков позволило увеличить долю правильно диагностированных форм *в группах патологии ПЖ с преобладанием ацинар-*

ной или внутривитальной пролиферации. А именно, при учете только характера утраты БК доля правильных диагнозов составила соответственно 69,8% и 70,5%, цитологических признаков – 90,7% и 77,5%, характера экспрессии АМАСР – 93,2% и 79,8%, биомолекулярных маркеров клеточного цикла – 93,5% и 81,5%, ТФРβ – 94% и 82%.

Корреляционный анализ цитологических признаков, характера утраты БК и экспрессии биомолекулярных маркеров выявил прямую взаимосвязь умеренной силы позитивности и интенсивности экспрессии АМАСР, позитивности экспрессии циклина Д1 и доли топоIIα-позитивных клеток с размерами ядер и обратную связь позитивности экспрессии ТФРβ с площадью ядер, $p < 0,001^*$. При увеличении площади и интенсивности экспрессии АМАСР, общей интенсивности экспрессии циклина Д1 (связь слабой силы) и доли топоIIα-позитивных клеток (связь умеренной силы) имело место увеличение доли клеток с визуализируемыми и крупными ядрышками и их размера, $p < 0,001^*$. Рост утраты БК характеризовался увеличением площади и интенсивности экспрессии АМАСР (связь умеренной силы) и уменьшением позитивности (связь умеренной силы) и общей интенсивности экспрессии ТФРβ (связь слабой силы).

Увеличение доли клеток в S-G2-фазах клеточного цикла было взаимосвязано с долей клеток в G1-фазе клеточного цикла (позитивностью и общей интенсивностью экспрессии циклина Д1: $\rho = 0,31$ и $\rho = 0,32$ соответственно) и уменьшением антипролиферативного действия ТФРβ ($\rho = -0,13$), $p < 0,001^*$. Позитивность и интенсивность экспрессии АМАСР имели прямую взаимосвязь умеренной силы с площадью и интенсивностью циклин Д1-позитивных участков, а также долей топоIIα-позитивных клеток и обратную слабой силы с позитивностью экспрессии ТФРβ, $p < 0,001^*$.

Таким образом, выявленная взаимосвязь экспрессии АМАСР, биомолекулярных маркеров клеточного цикла и ТФРβ между собой, цитологическими признаками и гистоархитектоникой гиперпластических и пренеопластических процессов ПЖ не имеет аналогов в изученной литературе. Полученные результаты позволяют охарактеризовать особенности прохождения эпителиальными клетками ПЖ клеточного цикла (как одного из важных аспектов биологического поведения) и проследить приобретение эпителием в очагах гиперпластических и пренеопластических процессов ПЖ морфологических признаков и биологических свойств опухолевых клеток (в зависимости от выраженности цитологической атипии, характера утраты БК и изменения соотношения экспрессии АМАСР, циклина Д1, топоIIα и ТФРβ). Кроме того, проведенное исследование имеет прикладное значение, поскольку представляет научно обоснованное подтверждение использования маркеров клеточного цикла (в качестве мишеней терапевтического действия) и антипролиферативных

стимулов G1-фазы клеточного цикла (в том числе растворимой фракции рецепторов III типа ТФРβ) в «целевой» терапии и, возможно, профилактике РПЖ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Наиболее частой формой патологии предстательной железы в операционном и биопсийном материале явились доброкачественная эпителиальная гиперплазия и РПЖ соответственно. В 8,9% и 19,8% случаев операционного и биопсийного материала соответственно в гистологических заключениях при окраске гематоксилином и эозином выявлена атипическая мелкоацинарная пролиферация, которая после ИГХМ была верифицирована в 76% случаев операционного и 100% информативных случаев биопсийного материала ПЖ как РПЖ (44% и 20,6% случаев), аденоз (48% и 8,8% случаев), постатрофическая гиперплазия (4% и 20,6% случаев), а также предстательная интраэпителиальная неоплазия и пролиферативная воспалительная атрофия (5,9% и 2,9% случаев в биопсийном материале соответственно) [6, 13].

2. Использование двойного (ВМЦ+р63) и тройного (ВМЦ+р63+АМАСР) коктейлей в группе атипической мелкоацинарной пролиферации обеспечивает оптимизацию диагностического процесса, что подтверждается повышением, соответственно, согласованности в вынесении заключений (с 66% до 85% и 94%) и ее достоверности (с крайне низкой до средней и высокой), увеличением диагностической чувствительности (с 42,4% до 72,7% и 90,9%), специфичности (с 77,8% до 94,4%), эффективности (с 60,1% до 83,6% и 92,7%), прогностической ценности положительного (с 77,8% до 96% и 96,8%) и отрицательного (с 42,4% до 65,4% и 85%) результата, а также медицинской (с 47% до 78% и 90%) и экономической (в 1,88 и 1,93 раза) эффективности морфологической диагностики [3, 4, 12, 18–20, 23, 30, 31].

3. В направлении от доброкачественной эпителиальной гиперплазии и аденоза к гиперпластическим процессам с признаками атрофии, пренеопластическим процессам и РПЖ имеет место увеличение *размеров ядер* ($N_{\text{диаметра}}=156,6$, $N_{\text{периметра}}=176,8$ и $N_{\text{площади}}=174,4$), *доли клеток с видимыми и крупными ядрышками и их размера* ($N=90,4$ и $N=115,2$ соответственно), $p<0,001$. *Наименьшая утрата базальных клеток* определяется при ПВА (0%), увеличивается в направлении ДЭГ (2,5%) и ПАГ (5,6%), пренеопластических процессов (ПИН – 26,9% и АМАП – 50,2%) и аденоза (92,1%), и базальные клетки полностью отсутствуют при РПЖ (100%), $N=316$ $p<0,001$ [1, 5, 7–10, 14–16, 24, 31].

4. Экспрессия АМАСР ($N=217,5$), циклина Д1 ($N=106,3$) и топоIIα ($N=56,2$) увеличивается, а трансформирующего фактора роста β ($N=73,2$) уменьшается в направлении от доброкачественной эпителиальной гиперплазии и аденоза к гиперпластическим процессам с признаками атрофии, пре-

неопластическим процессам и РПЖ, $p < 0,001$ [1, 2, 5, 8, 10, 11, 16, 17, 21, 22, 24, 25, 32, 33]. Увеличение доли клеток в S-G2 фазе клеточного цикла взаимосвязано с увеличением позитивности и общей интенсивности экспрессии циклина Д1 ($\rho = 0,31$ и $\rho = 0,32$ соответственно) и уменьшением антипролиферативного действия трансформирующего фактора роста β ($\rho = -0,13$), $p < 0,001$. Площадь и интенсивность экспрессии АМАСР увеличивается при увеличении таковых циклина Д1 (связь умеренной силы) и доли топоII α -позитивных клеток ($\rho = 0,31$), $p < 0,001$. [5].

5. Качество дифференциальной диагностики в *группах патологии ПЖ с преобладанием ацинарной или внутрипротоковой пролиферации* соответственно улучшается при использовании помимо степени утраты базальных клеток (69,8% и 70,5%) цитологических параметров (90,7% и 77,5%), экспрессии АМАСР (93,2% и 79,8%), маркеров клеточного цикла (93,5% и 81,5%) и трансформирующего фактора роста β (94% и 82%). При этом наиболее информативными признаками являются степень утраты базальных клеток и позитивность экспрессии трансформирующего фактора роста β , а также в *группе процессов ПЖ с ацинарной пролиферацией* – позитивность экспрессии АМАСР, доля клеток с крупными и визуализируемыми ядрышками, периметр и площадь ядер; в *группе процессов с внутрипротоковой пролиферацией* – размеры ядер, позитивность и общая интенсивность экспрессии АМАСР, размер ядрышек и интенсивность экспрессии циклина Д1 в иммунопозитивных участках [5].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. При наличии в материале ПЖ атипической мелкоацинарной пролиферации рекомендуется проведение комплексной оценки, основанной на анализе гистоархитектоники, цитологических признаков и использовании коктейлей маркеров базальных клеток и АМАСР, что в наибольшей степени будет способствовать установлению правильного диагноза [26, 27, 35, 37].

2. Методика определения медицинской и экономической эффективности диагностики патологии ПЖ внедрена в практическую работу [34] и, с учетом среднегодовой потребности, может использоваться при планировании расходования бюджетных средств для проведения ИГХМ в диагностически сложных случаях патологии ПЖ и большинства опухолей различной локализации.

3. При выявлении в гистологических препаратах постатрофической гиперплазии и пролиферативной воспалительной атрофии следует рекомендовать динамическое наблюдение за пациентами. Это обусловлено отсутствием их различий с пренеопластическими процессами ПЖ по цитологическим признакам и характеру экспрессии маркеров клеточного цикла и трансформирующего фактора роста β [36], что не позволяет исключить их вероятный пренеопластический потенциал.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ

Статьи в научных журналах

1. Захарова, В.А. Иммуноморфологические особенности мелкоацинарных структур с атрофическими изменениями в операционном материале предстательной железы / В.А. Захарова, Т.А. Летковская, П.А. Ковалев // Медицинский журнал. – 2007. – № 4. – С. 64–67.

2. Захарова, В.А. Особенности экспрессии циклина Д1 и трансформирующего фактора роста β при гиперпластических и атрофических процессах предстательной железы / В.А. Захарова // Медицинская панорама. – 2008. – № 8. – С. 96–98.

3. Захарова, В.А. Морфологическая диагностика патологии предстательной железы с позиций доказательной медицины / В.А. Захарова, Т.А. Летковская, Е.Д. Черствый, А.С. Портянко, П.Г. Киселев, П.А. Ковалев, В.П. Зубович // Медицинская панорама. – 2008. – № 9. – С. 65–68.

4. Захарова, В.А. Эффективность использования иммуногистохимических маркеров базальных клеток и онкогеназа для верификации природы патологических процессов предстательной железы с ацинарной и/или внутрипротоковой пролиферацией эпителия / В.А. Захарова, Т.А. Летковская, А.С. Портянко, Е.Д. Черствый, Е.И. Ткачева, И.Л. Масанский, Л.М. Сагальчик, М.И. Ивановская // Медицинская панорама. – 2009. – № 3. – С. 74–76.

5. Захарова, В.А. Дифференциальная морфологическая диагностика гиперпластических и пренеопластических процессов предстательной железы с использованием биомолекулярных маркеров онкогеназа (AMACR), клеточного цикла (циклин Д1 и топоизомераза II α) и трансформирующего фактора роста β / В.А. Захарова, Т.А. Летковская // Медицинский журнал. – 2011. – № 1. – С. 53–57.

Статьи в сборниках научных трудов

6. Захарова, В.А. Структура патологии предстательной железы в безвыборочном исследовании мультифокальных пункционных биопсий и операционного материала предстательной железы / В.А. Захарова // Труды молодых ученых – 2003: сборник научных работ; под ред. С.Л. Кабака. – Минск, 2003. – С. 81–84.

7. Захарова, В.А. Дифференциальная диагностика мелкоацинарных структур в операционном материале предстательной железы / В.А. Захарова, Т.А. Лековская, Е.Д. Черствый // Материалы I съезда патологоанатомов Республики Беларусь: Высокие технологии в морфологии, их значение в клинике и перспективы внедрения в практическое здравоохранение; редкол.: М.К. Недзведь [и др.]. – Минск, 12–13 июня 2006. – С. 22–24.

8. Захарова, В.А. Иммуногистохимический метод в диагностике раннего рака предстательной железы / Т.А. Летковская, В.А. Захарова, Е.Д. Черствый // Материалы I съезда патологоанатомов Республики Беларусь: Высокие технологии в морфологии, их значение в клинике и перспективы внедрения в практическое здравоохранение; редкол.: М.К. Недзьведь [и др.]. – Минск, 12–13 июня 2006. – С. 43–45.

9. Захарова, В.А. Морфологическая характеристика рака предстательной железы в материале простатэктомий / Т.А. Летковская, В.А. Захарова, Е.Д. Черствый, В.В. Барьяш // Материалы I съезда патологоанатомов Республики Беларусь: Высокие технологии в морфологии, их значение в клинике и перспективы внедрения в практическое здравоохранение; редкол.: М.К. Недзьведь [и др.]. – Минск, 12–13 июня 2006. – С. 45–47.

10. Захарова, В.А. Верификация природы мелкоацинарных структур в материале мультифокальных пункционных биопсий с использованием моноклональных антител к высокомолекулярному цитокератину (клон 34β-E12) и P504S / В.А. Захарова // Труды молодых ученых – 2007: сборник научных работ; под ред. С.Л. Кабака. – Минск, 2007. – С. 44–47.

11. Захарова, В.А. Особенности экспрессии циклина D1 и AMACR при вероятных пренеопластических процессах предстательной железы / В.А. Захарова // Труды молодых ученых – 2008: сборник научных работ; под ред. С.Л. Кабака. – Минск, 2008. – С. 66–69.

12. Захарова, В.А. Принцип доказательной медицины в морфологической диагностике гиперпластических, пренеопластических процессов и рака предстательной железы / В.А. Захарова, Т.А. Летковская, Е.Д. Черствый, Н.В. Корнев, И.Л. Масанский, Л.М. Сагальчик, М.И. Ивановская // Проблемы патоморфологической диагностики современных инфекций и других заболеваний – 2011: сборник научных статей II съезда патологоанатомов Республики Беларусь; редкол.: А.Н. Лызилов [и др.]. – Гомель, 26–27 мая 2011. – С. 92–95.

Тезисы докладов и конференций

13. Захарова, В.А. Структура рака предстательной железы в операционном материале и материале мультифокальных пункционных биопсий предстательной железы / В.А. Захарова // Материалы VIII Республиканской научно-технической конференции студентов и аспирантов «НИРС-2003» в 7-ми частях. Часть 7: Информационные технологии, компьютерные сети и системы. Математика. Биология. Медицинские и фармацевтические науки. – Минск, 9–10 декабря 2003. – С. 219–220.

14. Захарова, В.А. Морфологическая диагностика рака предстательной железы с использованием методов иммуногистохимии / Т.А. Летковская,

В.А. Захарова // Материалы III съезда онкологов и радиологов СНГ. Часть 1. – Минск, 25–28 мая 2004. – С. 311.

15. Захарова, В.А. Система Глисона в морфологической оценке рака предстательной железы / В.А. Захарова, А.С. Парфенович, С.В. Черняк // Материалы Международной научной конференции студентов и молодых ученых, посвященной 85-летию Белорусского государственного медицинского университета «Актуальные проблемы современной медицины». Часть 1. Минск, 2006. – С. 176–177.

16. Захарова, В.А. Иммуноморфологические особенности атипической аденоматозной гиперплазии, постатрофической гиперплазии и пролиферативной воспалительной атрофии предстательной железы / В.А. Захарова, Т.А. Летковская // Материалы Республиканской научно-практической конференции «Актуальные вопросы морфологической диагностики заболеваний». – Витебск: ВГМУ, 2008. – С. 93–96.

17. Захарова, В.А. Прогностическое значение ряда биомолекулярных маркеров при раке предстательной железы / Т.А. Летковская, Е.Д. Черствый, В.А. Захарова, О.Г. Суконко, А.И. Ролевич, П.А. Ковалев // Материалы Республиканской научно-практической конференции «Актуальные вопросы морфологической диагностики заболеваний». – Витебск: ВГМУ, 2008. – С. 96–99.

18. Захарова, В.А. Точность морфологического метода в установлении природы атипической мелкоацинарной пролиферации предстательной железы на основе иммуногистохимического выявления биомолекулярных маркеров базальных клеток и онкогенеза / В.А. Захарова, Т.А. Летковская, Е.Д. Черствый, П.Г. Киселев, П.А. Ковалев, В.П. Зубович // Онкоурология. – Материалы IV конгресса Российского общества онкоурологов. – Москва, 1–2 октября 2009. – С. 40–41.

19. Захарова, В.А. Медико-экономическая эффективность иммуногистохимических маркеров базальных клеток и онкогенеза для верификации диагноза атипической мелкоацинарной пролиферации предстательной железы / В.А. Захарова, Т.А. Летковская, Е.Д. Черствый, П.Г. Киселев, П.А. Ковалев, В.П. Зубович, Л.М. Сагальчик, И.Л. Масанский, М.И. Ивановская // Онкоурология. – Материалы IV конгресса Российского общества онкоурологов. – Москва, 1–2 октября 2009. – С. 42–43.

20. Захарова, В.А. Принцип доказательной медицины в морфологической диагностике гиперпластических, пренеопластических процессов и рака предстательной железы / В.А. Захарова, Т.А. Летковская // Материалы Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы патологической анатомии». – Гродно, 26 ноября 2010. – С. 46–50.

21. Zakharava V. Expression of the cyclin D1 and AMACR in the atypical adenomatous, postatrophic hyperplasia and proliferative inflammatory atrophy of the prostate / V. Zakharava, T. Liatkouskaya // *Histopathology Journal*. – Abstracts XXVII International Congress of the International Academy of Pathology. – Athens, Greece, 12–17th October 2008. – P. 293.

22. Zakharava V. Prognostic value of several biomolecular markers in the prostate cancer / T. Liatkouskaya, V. Zakharava, E. Cherstvoy, L. Pashkevich, O. Sukonko, A. Rolevich, I. Masanskiy, L. Sagalchik, M. Ivanovskaya, A. Portyanko // *Virchows Archiv* (2009). – Vol. 455. – Suppl 1:S1-S482. – Abstracts XXIIInd European Congress of Pathology. – Florence, Italy, 4–9 September 2009. – P. S138.

23. Zakharava V. Interobserver reproducibility in the diagnosis of prostate cancer / V. Zakharava, T. Liatkouskaya, E. Cherstvoy, A. Portyanko, D. Nitkin, L. Pashkevich, O. Sukonko, A. Rolevich, I. Masanskiy, L. Sagalchik, M. Ivanovskaya // *Virchows Archiv* (2009). – Vol. 455. – Suppl 1:S1-S482. – Abstracts XXIIInd European Congress of Pathology. – Florence, Italy, 4–9 September 2009. – P. S145.

24. Zakharava V. Role of the cyclin D1 and TGF β in the development of the atypia in probable precancerous lesion of the prostate / V. Zakharava, T. Liatkouskaya, E. Cherstvoy, L. Pashkevich // *Virchows Archiv* (2009). – Vol. 455. – Suppl 1:S1-S482. – Abstracts XXIIInd European Congress of Pathology. – Florence, Italy, 4–9 September 2009. – P. S228.

25. Zakharava V. Cytological features, loss of basal cells and AMACR expression in some hyperplastic and precancerous lesion of the prostate / V. Zakharava, T. Liatkouskaya, E. Cherstvoy // *Virchows Archiv* (2010). – Vol. 457:91-281. – Abstracts Intercongress meeting of the European Society of the Pathology. – Krakow, Poland, 31 August – 3 September 2010. – P. S240.

Инструкции по применению

26. Метод определения послеоперационного прогноза у больных раком предстательной железы на основе иммуногистохимического выявления в опухоли биомолекулярных маркеров: инструкция по применению № 088-1107: утв. 27.06.2008 г. / Е. Д. Черствый [и др.].

27. Метод дифференциальной морфологической диагностики патологии предстательной железы на основе иммуногистохимического выявления биомолекулярных маркеров базальных клеток и онкогенеза: инструкция по применению № 025-0310: утв. 26.03.2010 г. / В.А. Захарова [и др.].

Отчеты о НИР

28. Изучить иммуногистохимические маркеры в прогнозировании течения рака предстательной железы для совершенствования стратегии лечения и наблюдения больных: отчет о НИР (заключ.) / Бел. гос. мед. ун-т; рук. темы Е.Д. Черствый. – М., 2008. – 146 с. – № ГР2006241.

29. Изучить диагностическое и прогностическое значение морфологических и молекулярно-биологических маркеров при некоторых опухолях человека для использования их в клинической практике: отчет о НИР (заключ.) / Бел. гос. мед. ун-т; рук. темы Е.Д. Черствый. – М., 2010. – 192 с. – № ГР20052544.

СПИСОК МАТЕРИАЛОВ, ПОДТВЕРЖДАЮЩИХ ПРАКТИЧЕСКУЮ ЗНАЧИМОСТЬ

Рационализаторские предложения

30. Методика расчета и оценки согласованности и достоверности согласия заключений по гистологическим препаратам экспертов-онкоморфологов о природе атипической мелкоацинарной пролиферации предстательной железы в материале мультифокальных пункционных биопсий предстательной железы при использовании различных модификаций морфологического метода.

31. Методика расчета медицинской и экономической эффективности использования различных модификаций морфологического метода при установлении природы атипической мелкоацинарной пролиферации предстательной железы в материале мультифокальных пункционных биопсий.

32. Методика оценки степени фрагментации слоя базальных клеток и характера экспрессии онкопротеина AMACR при неопухолевых, пренеопластических процессах и раке предстательной железы в операционном материале и материале мультифокальных пункционных биопсий предстательной железы.

33. Методика оценки степени выраженности экспрессии циклина D1, трансформирующего фактора роста β и топоизомеразы II α при неопухолевых, пренеопластических процессах и раке предстательной железы в операционном материале и материале мультифокальных пункционных биопсий предстательной железы.

Акты внедрения в практическую работу УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро» г. Минска

34. «Оценка эффективности морфологической диагностики неопухолевых, пренеопластических процессов и рака предстательной железы с исполь-

зованием иммуногистохимических маркеров базальных клеток (высокомолекулярного цитокератина 34βE12 и p63) и онкогенеза в материале мультифокальных пункционных биопсий предстательной железы».

35. «Методика иммуногистохимического выявления базальных клеток и онкопротеина AMACR (P504S) в составе двойного и тройного коктейлей биомолекулярных маркеров базальных клеток и онкогенеза для верификации диагноза патологии предстательной железы».

36. «Методика иммуногистохимического выявления эпителиальных клеток в G1 и S-G2 фазах клеточного цикла при использовании биомолекулярных маркеров клеточного цикла циклина D1 и топоизомеразы IIα в операционном и биопсийном материале предстательной железы пациентов с неопухолевыми, пренеопластическими процессами и раком предстательной железы».

37. «Метод дифференциальной морфологической диагностики патологии предстательной железы на основе иммуногистохимического выявления биомолекулярных маркеров базальных клеток и онкогенеза».

РЭЗІЮМЭ

Захарава Вікторыя Аляксееўна Марфалагічная характарыстыка гіперпластычных і прэнеапластычных працэсаў прастаты

Ключавыя словы: прастата, гіперплазія, прэнеапластычныя працэсы, ВМЦ, АМАСР, топаізамераза $\Pi\alpha$, цыклін Д1, ТФР β .

Мэта даследавання: удасканаліць марфалагічную дыферэнцыяльную дыягностыку і вызначыць біялагічныя ўласцівасці гіперпластычных і прэнеапластычных працэсаў прастаты шляхам комплекснай ацэнкі гістаархітэктонікі, цыталагічных прыкмет эпітэлія і экспрэсіі біямалекулярных маркёраў.

Метады даследавання: светавая мікраскапія, імунагістахімія, марфаметрыя, статыстычны аналіз.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: постатрафічная гіперплазія і праліфератыўная запаленчая атрафія прастаты на цыталагічных прыкметах і характару экспрэсіі цыкліна Д1, топаізамеразы $\Pi\alpha$ і ТФР β падобны прэнеапластычным працэсам, адэноз – дабраякаснай эпітэліяльнай гіперплазіі. У складаных для дыягностыкі выпадках паталогіі прастаты з падазрэннем на рак выкарыстанне трайнага кактэйля маркёраў базальных клетак і АМАСР удвая павялічвае ўзгодненасць у заключэннях і яе дакладнасць, аперацыйныя характарыстыкі, медыка-эканамічную эфектыўнасць марфалагічнай дыягностыкі і дазваляе ў 97% няпэўных выпадкаў устанавіць дыягназ. Комплексная ацэнка цытагістаархітэктонікі і экспрэсіі АМАСР, біямалекулярных маркёраў клетачнага цыкла і ТФР β дазваляе дасягнуць высокай якасці распазнавання паталогіі прастаты. Найбольш інфарматыўнымі для дыскрымінацыі груп з'яўляюцца ступень страты базальных клетак, плошча экспрэсіі ТФР β , а таксама пазітыўнасць і агульная плошча экспрэсіі АМАСР, доля клетак з бачнымі і вялікімі ядзеркамі, дыяметр, перыметр і плошча ядзер, размер ядзеркаў, інтэнсіўнасць экспрэсіі цыкліна Д1.

Ступень выкарыстання: выкарыстанне кактэйля ВМЦ+p63+АМАСР дазволіць устанавіць дыягназ у выпадках паталогіі прастаты з падазрэннем на рак. Дадатковае выкарыстанне АМАСР, маркёраў клетачнага цыкла і ТФР β дапаможа не толькі ў верыфікацыі дыягназу, але і ў вызначэнні біялагічнага патэнцыялу непухлінных працэсаў.

Галіна выкарыстання: паталагічная анатомія, анкалогія, уралогія.

РЕЗЮМЕ

Захарова Виктория Алексеевна

Морфологическая характеристика гиперпластических и пренеопластических процессов предстательной железы

Ключевые слова: предстательная железа, гиперплазия, пренеопластические процессы, ВМЦ, АМАСР, топоизомеразаII α , циклинD1, ТФР β .

Цель исследования: усовершенствовать морфологическую дифференциальную диагностику и определить биологические свойства гиперпластических и пренеопластических процессов предстательной железы путем комплексной оценки гистоархитектоники, цитологических признаков эпителия и экспрессии биомолекулярных маркеров.

Методы исследования: световая микроскопия, иммуногистохимия, морфометрия, статистический анализ.

Полученные результаты и их новизна: постатрофическая гиперплазия и пролиферативная воспалительная атрофия предстательной железы по цитологическим признакам и характеру экспрессии циклина D1, топоизомеразы II α и ТФР β подобны пренеопластическим процессам, аденоз – доброкачественной эпителиальной гиперплазии. В сложных для диагностики случаях патологии предстательной железы с подозрением на рак использование тройного коктейля маркеров базальных клеток и АМАСР вдвое увеличивает согласованность в заключениях и ее достоверность, операционные характеристики, медико-экономическую эффективность морфологической диагностики и позволяет в 97% сомнительных случаев верифицировать диагноз. Комплексная оценка цитогистоархитектоники и экспрессии АМАСР, биомолекулярных маркеров клеточного цикла и ТФР β позволяет достичь высокого качества распознавания патологии предстательной железы. Наиболее информативными для дискриминации групп являются степень утраты базальных клеток, площадь экспрессии ТФР β , а также позитивность и общая интенсивность экспрессии АМАСР, доля клеток с видимыми и крупными ядрышками, диаметр, периметр и площадь ядер, размер ядрышек, интенсивность экспрессии циклина D1.

Степень использования: использование коктейля ВМЦ+p63+АМАСР позволит установить диагноз в случаях патологии предстательной железы с подозрением на рак. Дополнительное использование АМАСР, маркеров клеточного цикла и ТФР β поможет не только в верификации диагноза, но и определении биологического потенциала неопухолевых процессов.

Область применения: патологическая анатомия, онкология, урология.

SUMMARY

Zakharava Viktoryia

Morphological features of hyperplastic and precancerous lesions of the prostate

Key words: prostate, hyperplasia, precancerous lesions, HWC, AMACR, topoisomeraseII α , cyclinD1, TGF β .

Purpose of the study: to improve morphological differential diagnosis and to identify biological features of hyperplastic and precancerous lesions of the prostate by means of complex assessment of hystoarchitecture, cytological features and biomolecular markers' expression.

Methods: light microscopy, immunostaining, morphometry, statistic analysis.

Results and the main findings: postatrophic hyperplasia and proliferative inflammatory atrophy of the prostate are similar to precancerous lesions by cytological parameters and by the expression pattern of cyclin D1, topoisomerase II α and TGF β , whereas adenosis is similar to benign prostatic epithelial hyperplasia. In intricate cases of the prostate pathology suspicious for prostate cancer use of triple cocktail of basal cells and AMACR makes it possible to achieve twofold enhancement in sensitivity, specificity and reliability of morphological diagnosis and of its medico-economical efficiency as well, to attain consensus in conclusions twice as frequently and to verify the diagnosis in 97% of doubtful cases. Complex assessment of cytological parameters, cytohistoarchitecture and of the expression of AMACR, biomolecular markers of cell cycle and of TGF β ensures high quality of recognition of prostate pathology. The most significant parameters for group discrimination include degree of basal cells loss, the area of TGF β expression, positivity and the overall intensity of AMACR expression, the share of cells with visible and large nucleoli, diameter, perimeter and surface area of the nuclei, the size of the nucleoli and intensity of cyclin D1 expression.

Recommendations for usage: use of the cocktail HWC+p63+AMACR will make it possible to establish the diagnosis in case of prostate pathology suspicious for prostate cancer. Additional use of AMACR, cell cycle markers and TGF β contributes not only to diagnosis of prostate pathology but also to diagnosis and determination of the biological potential of nonneoplastic processes.

Area of application: pathology, urology, oncology.

Подписано в печать 14.10.11. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Кюм Люкс».

Печать офсетная. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 1,39. Уч.-изд. л. 1,56. Тираж 60 экз. Заказ 685.

Издатель и полиграфическое исполнение:

учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».

ЛИ № 02330/0494330 от 16.03.2009.

ЛП № 02330/0150484 от 25.02.2009.

Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.