

# ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ІМУНОГІСТОХІМІЧНИХ МАРКЕРІВ ПРИ ПРОСТАТИЧНІЙ ІНТРАЕПІТЕЛІАЛЬНІЙ НЕОПЛАЗІЇ

М.П. Мельничук <sup>1</sup>, О.О. Люлько <sup>2</sup>, А.З. Журавчак <sup>1</sup>

<sup>1</sup> ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» ДУС

<sup>2</sup> Запорізька обласна клінічна лікарня

**Вступ.** Рак передміхурової залози (РПЗ) є захворюванням, яке представляє собою актуальну медичну та соціальну проблему в усьому світі. Згідно з даними ВООЗ у світі щорічно виявляється близько 1 100 000 нових випадків РПЗ та близько 300 000 померлих від цього злоякісного новоутворення (ЗН). Стандартизований показник захворюваності чоловіків на РПЗ у 2015 р. в Україні становив 26,2 на 100 тис. населення, а смертності – 11,4 на 100 тис. населення. За останні 15 років відбулося зростання показника захворюваності на 42%, а показника смертності – на 25% [2].

Одним із способів поліпшення ранньої діагностики та результатів лікування є своєчасне виявлення передракових станів, їх всебічне вивчення та розробка алгоритму діагностики, лікування та прогнозу у пацієнтів з наявністю передпухлинних захворювань. Протягом останніх років дослідники приділяють значну увагу вивченню особливостей передракових станів передміхурової залози, а саме простатичної інтраепітеліальної неоплазії (ПІН). ПІН визначають як передінвазивний патологічний процес, що виникає у результаті внутрішньозалозистої клітинної проліферації епітелію [3].

Згідно з даними різних авторів частота ПІН у скринінговій популяції складає від 0,7% до 20%. У той же час у пацієнтів із підозрою на РПЗ вірогідність виявлення ПІН є більшою та становить від 4,4% до 25%, а після трансуретральної резекції простати (ТУРП) – від 2,8% до 33% [4, 5, 6].

Стандартного гістологічного дослідження не завжди достатньо для диференційної діагностики та визначення особливостей патологічного процесу передміхурової залози [7]. Імуногістохімічні методи, на відміну від стандартної мікроскопії, забезпечують специфічну візуалізацію в тканинах різних клітин, факторів росту та їх рецепторів, ферментів, імуноглобулінів, компонентів клітин та навіть окремих генів [8, 9].

Важливим завданням є виокремлення серед загального масиву пацієнтів з ПІН підгрупи високого ризику малігнізації. Клінічна поведінка передпухлинних процесів, їх здатність до інвазії та метастазування залежать від балансу молекулярно-біологічних маркерів, факторів росту та стримуючих факторів. [10]. Впродовж останніх років вивчається як прогностичне значення відповідних маркерів, так і можливість їх використання як мішеней таргетної терапії. У той же час звертає на себе увагу недостатня кількість даних щодо клінічного значення молекулярних маркерів у пацієнтів з передпухлинними захворюваннями передміхурової залози (ПЗ). Маркер р63 експресується у тканині ПЗ виключно базальним шаром епітелію. При РПЗ експресія р63 значно знижується, що виявляється при імуногістохімічному дослідженні [11]. Для оцінки біологічної активності тканин використовується Ki-67 (проліферативна активність), який належить до регуляторних білків, його поява співпадає зі вступом клітини в мітоз, що дозволяє використовувати його як універсальний маркер проліферації та оцінку росту злоякісних пухлин. Альфа-метилацил-КоА-рацемаза (АМАСР) належить до ферментів, які підсилюють вільнорадикальні процеси в клітині і пошкодження ДНК. Цей маркер вважається позитивним у 80–100% випадків малих осередків РПЗ. Однак рацемаза, згідно з останніми літературними даними, виявляється і у 15% ПІН [12, 13].

**Мета дослідження:** визначити прогностичне значення експресії імуногістохімічних маркерів проліферації, інвазії та прогресії у пацієнтів з простатичною інтраепітеліальною неоплазією.

**Матеріали і методи дослідження.** До основи роботи покладено аналіз результатів обстеження та лікування 74 хворих на ДГПЗ І–ІІ стадій з наявністю ПІННС та ПІНВС, які перебували на лікуванні в центрі малоінвазивної хірургії ДНУ «НПЦ ПКМ» ДУС та в урологічному відділенні Запорізької обласної клінічної лікарні за період з лютого 2009 р. до травня

2014 р. Вік пацієнтів був від 55 до 72 років ( $M=66\pm 1,48$ ). Діагноз ПІН встановлювався за допомогою патогістологічного дослідження мікропрепаратів, одержаних шляхом біопсії ПЗ або ТУРП. За допомогою імуногістохімічних методів дослідження вивчалися молекулярно-біологічні властивості ПІН в аспекті її здатності до злоякісної трансформації. При цьому досліджували експресію маркера проліферативної активності Ki-67 та маркера інвазивного росту p63 імуногістохімічним методом. При оцінці імуногістохімічного забарвлення використовувався напівкількісний метод вивчення вираженості експресії маркерів Ki-67 та p63 у тканині з 4 категоріями, привласнюючи відповідній реакції значення від «+» до «++++» або від 1 до 4 балів. Оцінка «+» привласнювалася невираженій реакції, «++» – слабка забарвлення, «+++» – помірно виражене забарвлення і «++++» – інтенсивне забарвлення.

Одержані результати підлягали статистичній обробці за допомогою методів варіаційної статистики на ЕОМ «Pentium 4» за допомогою програмного пакета «Statistica» (version 6.0, StatSoft Inc, США). Для порівняльного аналізу виборок вірогідність різниці підтверджувалася за допомогою непараметричного критерію Мана-Уїтні для незалежних сукупностей.

**Результати та їх обговорення.** Імуногістохімічне дослідження з вивченням експресії маркерів p63, Ki-67 та AMACR проводилося у 74 пацієнтів з ПІН.

У подальшому пацієнти перебували під наглядом із періодичним комплексним обстеженням, включаючи біопсію ПЗ 1 раз на 6 місяців. Впродовж 3-річного періоду спостереження діагностовано 23 випадки РПЗ, усі з яких виявлено у пацієнтів з ПІН високого ступеня (ПІНВС).

Під час аналізу кореляційного зв'язку між рівнем експресії маркера проліферації Ki-67 та

частотою виявлення РПЗ у пацієнтів з ПІН встановлено, що серед аналізованих 23 випадків ПІН з прогресією в РПЗ у 14 (60,9%) хворих експресія Ki-67 була вираженою (становила «++++»), у 7 (30,4%) пацієнтів – помірна експресія («+++») та у 2 (8,7%) – слабка експресія «++». У осіб із ПІН та невираженою експресією Ki-67 («+») не було виявлено випадків аденокарциноми простати (рис. 1). Середнє значення експресії маркера Ki-67 у пацієнтів з ПІН, у яких під час спостереження виявлено РПЗ, становило 3,5.

Таким чином встановлено, що у хворих з ПІН, у яких в подальшому виявлено РПЗ, найчастіше спостерігалася інтенсивна експресія маркера проліферації Ki-67, яка зустрічалася на 30,5% частіше, ніж помірна експресія та на 52,2% частіше, ніж слабка експресія ( $p<0,05$ ). У той же час слід відзначити, що у пацієнтів з ПІН та невираженою експресією Ki-67 не діагностовано випадків аденокарциноми простати. Середнє значення експресії Ki-67 у пацієнтів зі злоякісною прогресією було на 8,6% більше, ніж середнє значення у загальної кількості хворих з ПІНВС ( $p<0,05$ ).

При вивченні кореляційного зв'язку між рівнем експресії маркера інвазивного росту p63 та частотою виявлення РПЗ у пацієнтів з ПІН встановлено, що серед пацієнтів з ПІН, у яких протягом 3-річного періоду спостереження було виявлено РПЗ, у 13 (56,5%) хворих експресія p63 була невираженою (становила «+»), у 6 (26%) пацієнтів – слабка експресія («++»), у 3 (13%) – помірна експресія («+++») та у 1 пацієнта виявлена інтенсивна експресія p63, а саме «++++» (рис. 2). Середнє значення експресії маркера p63 у пацієнтів з ПІН, у яких під час спостереження виявлено РПЗ, становило 1,5.

Під час аналізу кореляційного зв'язку між частотою РПЗ у пацієнтів з ПІН та рівнем експресії

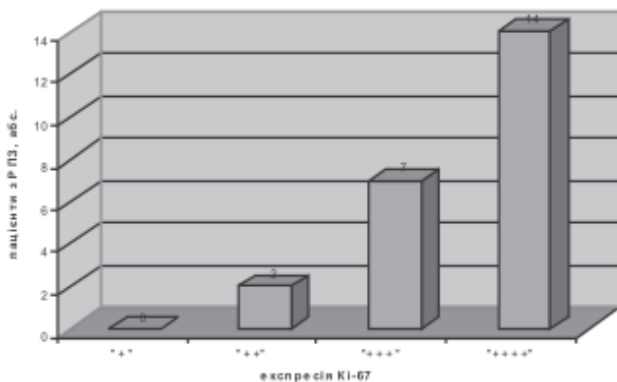


Рис. 1. Рівень експресії Ki-67 у пацієнтів з ПН, у яких виявлено РПЗ

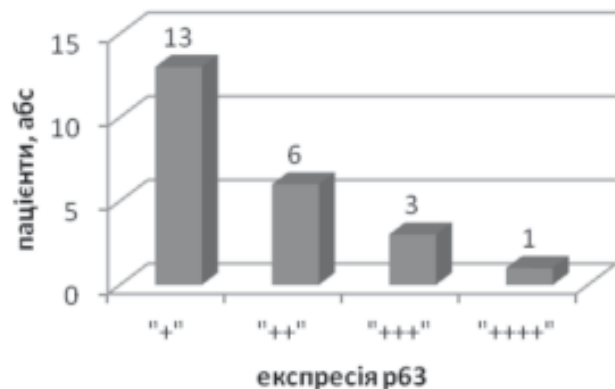


Рис. 2. Рівень експресії p63 у пацієнтів з ПН, у яких виявлено РПЗ

пресії маркера інвазивного росту р63 встановлено, що вищий рівень експресії р63 асоціювався з меншою вірогідністю розвитку РПЗ. Так, частота виявлення РПЗ у пацієнтів з ПІН та невираженою експресією р63 була на 30,5% більшою, ніж у хворих із слабкою експресією та на 43,5% більшою, ніж у хворих з помірною експресією ( $p < 0,05$ ). Серед пацієнтів з ПІН, у яких виявлено РПЗ лише в одному випадку, діагностовано інтенсивну експресію маркера р63. Середнє значення експресії р63 у пацієнтів зі злоякісною прогресією було на 16,7% менше, ніж середнє значення у загальній кількості хворих з ПІНВС ( $p < 0,05$ ).

Окрім того, аналізу підлягала наявність кореляційного зв'язку між рівнем експресії маркера злоякісної трансформації АМАСР та частотою виявлення РПЗ у пацієнтів з ПІН. При вивченні кореляційного зв'язку між рівнем експресії маркера прогресії АМАСР та частотою виявлення РПЗ у пацієнтів з ПІН встановлено, що серед пацієнтів з ПІН, у яких протягом 3-річного періоду спостереження було виявлено РПЗ, у 4 (17,4%) хворих експресія АМАСР була невираженою (становила «+»), у 8 (34,8%) пацієнтів – слабка експресія («++»), у 9 (39,1%) – помірна експресія «+++» та у 2 (8,7%) пацієнтів виявлена інтенсивна експресія АМАСР, а саме «++++» (рис. 3). Середнє значення експресії маркера АМАСР у пацієнтів з ПІН, у яких під час спостереження виявлено РПЗ, становило 2,4 (рис. 3).

Одержані дані дозволяють зробити висновок про те, що найбільша частота виявлення РПЗ у пацієнтів з ПІН спостерігалася при помірній та інтенсивній експресії АМАСР, між якими не встановлено статистично достовірної різниці ( $p > 0,05$ ). Частота діагностування РПЗ у пацієнтів з помірною експресією АМАСР на 41% більша, ніж у пацієнтів зі слабкою експресією та на 49% більша, ніж у хворих з невираженою експресією цього маркера.

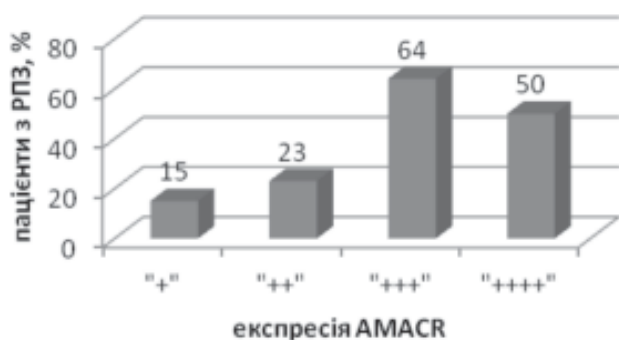


Рис. 3. Частота виявлення РПЗ у пацієнтів з ПІН у залежності від рівня експресії АМАСР

пресією цього маркера. Середнє значення експресії АМАСР у пацієнтів зі злоякісною прогресією було на 16,7% більше, ніж середнє значення у загальній кількості хворих з ПІНВС ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, одержані дані комплексного імуногістохімічного обстеження пацієнтів з ПІН дозволяють зробити висновок про наявність кореляційного зв'язку між рівнем експресії маркерів проліферації (Ki-67), інвазії (р63), прогресії (АМАСР) та частотою виявлення РПЗ у таких пацієнтів впродовж періоду спостереження. Висока ймовірність виявлення РПЗ асоціювалася з інтенсивною експресією Ki-67, АМАСР та невираженим рівнем експресії р63 (рис. 4).

Одержані дані свідчать про схожість молекулярно-біологічних характеристик РПЗ та ПІН з високим ризиком малігнізації. Важливим завданням є визначення вірогідності злоякісної трансформації ПІН у кожного окремого пацієнта, що впливатиме на індивідуалізацію прогнозу, діагностики та терапії. Важливим є комплексне використання доступних маркерів, що дозволить достатньо повно дати характеристику патологічному процесу. Імуногістохімічний метод дослідження гістологічних препаратів з ПІН дає обґрунтування для виокремлення групи пацієнтів підвищеного ризику з метою їх поглибленого обстеження та проведення спеціального лікування.

#### Висновки

1. Експресія імуногістохімічного маркера проліферації Ki-67 у пацієнтів з ПІН зі злоякісною прогресією на 8,6% більше, ніж у хворих з ПІНВС, та має прямий кореляційний зв'язок з ризиком виникнення РПЗ.

2. Експресія імуногістохімічного маркера інвазії р63 у пацієнтів з ПІН зі злоякісною прогресією на 16,7% менше, ніж середнє значення у хворих з ПІНВС, та має обернений кореляційний зв'язок із ризиком виникнення РПЗ.

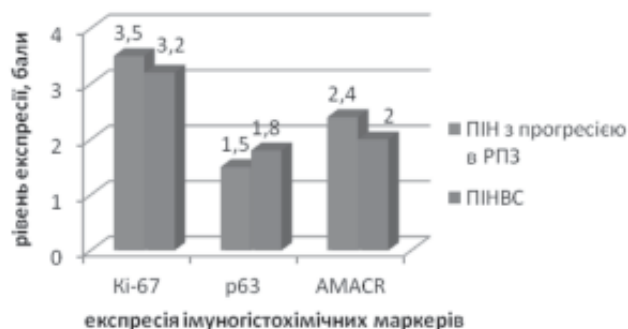


Рис. 4. Середній рівень експресії імуногістохімічних маркерів у пацієнтів з ПІН зі злоякісною прогресією та у пацієнтів з ПІНВС

3. Експресія імуногістохімічного маркера прогресії АМАСР у пацієнтів з ПІН зі злякливою прогресією на 16,7% більше, ніж середнє значення у загальної кількості хворих з ПІНВС, та має прямий кореляційний зв'язок з ризиком виникнення РПЗ.

4. Імуногістохімічне дослідження з визначенням рівня експресії маркерів Ki-67, p63 та АМАСР у пацієнтів з ПІН має прогностичне значення для виокремлення групи ризику малігнізації та поглибленого обстеження хворих з ПІН із проведенням повторної біопсії передміхурової залози.

### Список літератури

1. Рак в Україні, 2015–2016. Бюлетень національного канцер-реєстру України / Колесник О.О., Федоренко З.П., Гулак Л.О., Михайлович Ю.Й. – Київ, 2017.
2. Сайдакова Н.О., Григоренко В.М. Рак передміхурової залози: захворюваність в Україні // Урологія. – 2015. – Том 19, № 3. – С. 48–54.
3. Haffner M., Barbieri C. Shifting paradigms for high-grade prostatic intraepithelial neoplasia // European Urology. – 2016. – Vol. 69, N 5. – P. 831–833.
4. Taneja S., Morton R. Prostate cancer diagnosis among men with isolated high-grade intraepithelial neoplasia enrolled onto a 3-year prospective phase III clinical trial of oral toremifene // J. Clin. Oncol. – 2013. – Vol. 31. – P. 523–529.
5. De Nunzio C., Albissini S., Cicione A., Gacci M. Widespread High-grade Prostatic Intraepithelial Neoplasia on biopsy predicts the Risk of Prostate Cancer // Archivio Italiano di Urologia e Andrologia. – 2013. – Vol. 85, N 2. – P. 59–64.
6. Tao Z., Shi A. Epidemiology of prostate cancer: current status // European review for Medical and Pharmacological Sciences. – 2015. – Vol. 19. – P. 805–812.
7. Brosman A., Kim D. Precancerous Lesions of Prostate // Medscape. – 2014. – Vol. 31. – P. 132–139.
8. Park K., Dalton J. TMPRSS2:ERG gene fusion predicts subsequent detection of prostate cancer in patients with high-grade prostatic intraepithelial neoplasia // J. Clin. Oncol. – 2014. – Vol. 32, N 3. – P. 206–211.
9. Morais C., Han J., Gordetsky J., et al. Utility of PTEN and ERG immunostaining for distinguishing high-grade PIN from intraductal carcinoma of the prostate on needle biopsy // Am J Surg Pathol. – 2015. – Vol. 39. – P. 169–178.
10. Park K., Dalton J., Narayanan R., et al. TMPRSS2:ERG gene fusion predicts subsequent detection of prostate cancer in patients with high-grade prostatic intraepithelial neoplasia // J Clin Oncol. – 2014. – Vol. 32. – P. 206–211.
11. Patel P., Nayak Y., Biljetina Z., Donnelly B. Prostate cancer after initial PIN and benign prostate biopsy // The Canadian Journal of Urology. – 2015. – Vol. 22. – P. 8056–8062.
12. Аллина Д.О., Кекеева Т.В. Диагностическая значимость оценки экспрессии ERG в аденокарциноме предстательной железы и простатической интраэпителиальной неоплазии высокой степени // Архив патологии. – 2015. – № 5. – С. 36–42.
13. Туманский В.А., Попович А.А., Попович С.А., Туманская Л.М. Иммуногистохимические дифференциально-диагностические особенности доброкачественной гиперплазии, интраэпителиальной неоплазии и рака предстательной железы // Морфология. – 2016. – Том 10, № 3. – С. 297–301.

### Реферат

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПРИ ПРОСТАТИЧЕСКОЙ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ НЕОПЛАЗИИ

М.П. Мельничук, А.А. Люлько,  
А.З. Журавчак

В статье речь идет о диагностике простатической интраэпителиальной неоплазии

### Summary

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS IN PROSTATE INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA

M.P. Melnychuk, O.O. Lulko,  
A.Z. Zhuravchak

The article is dedicated to diagnostics of prostate intraepithelial neoplasia (PIN), that is considered to be prostate precancerous process.

(ПИН) как предракового процесса простаты. В статье анализируются и сравниваются данные экспрессии маркеров пролиферации (Ki-67), инвазии (p63) и прогрессии (AMACR) у 23 пациентов с ПИН, у которых в течение 3-летнего периода наблюдения выявлен РПЖ, а также у пациентов с ПИН без малигнизации. Были обследованы 74 пациента с ДГПЖ и ПИН, у которых изучалась экспрессия Ki-67, p63 и AMACR.

Установлено, что экспрессия иммуногистохимического маркера пролиферации Ki-67 у пациентов с ПИН со злокачественной прогрессией на 8,6% больше, чем у больных с ПИНВС и имеет прямую корреляционную связь с риском РПЖ. Экспрессия маркера инвазии p63 у пациентов с ПИН со злокачественной прогрессией на 16,7% меньше среднего значения у больных с ПИНВС и имеет обратно пропорциональную связь с риском РПЖ. Экспрессия маркера прогрессии AMACR при ПИН с малигнизацией на 16,7% больше среднего значения у больных с ПИНВС и имеет прямую корреляционную связь с риском РПЖ. Иммуногистохимическое исследование с определением уровня экспрессии Ki-67, p63 и AMACR у пациентов с ПИН имеет прогностическое значение для выделения группы риска малигнизации и углубленного обследования больных с ПИН с проведением повторной биопсии предстательной железы.

**Ключевые слова:** простатическая интраэпителиальная неоплазия, иммуногистохимические маркеры, рак предстательной железы.

#### Адреса для листування

М.П. Мельничук

E-mail: maksymmelnichuk1980@gmail.com

Expression of proliferation (Ki-67), invasion (p63) and progression (AMACR) tissue markers was analysed in patients with PIN who had malignisation. 74 patients with benign prostate hyperplasia and PIN were examined. During 3-year follow up period were detected 23 prostate cancer cases. The expression rate of immunohistochemical markers was assessed in comparing with median expression rate in patients with high grade PIN. It was determined that Ki-67 expression in PIN with malignant progression is 8,6 % bigger than in PIN without detected PC and correlates with high PC probability. p63 expression in PIN with malignant progression is 16,7 % smaller than in PIN without detected PC and has inverse correlation with high PC probability. AMACR expression in PIN with malignant progression is 16,7 % bigger than in PIN without detected PC and correlates with high PC probability. Immunohistochemical examination with Ki-67, p63 and AMACR markers level detection has a prognostic significance for stratification of risk group of malignisation and extended examination of patients with PIN including rebiopsy.

**Keywords:** prostate intraepithelial neoplasia, immunohistochemical markers, prostate cancer.