

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ОНКОЛОГИИ ИМЕНИ Н.Н. ПЕТРОВА» МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

На правах рукописи

Беркут Мария Владимировна

**ПРЕДИКТИВНАЯ РОЛЬ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОГО И
МОЛЕКУЛЯРНОГО ТИПИРОВАНИЯ ПРИ РАДИКАЛЬНОМ ЛЕЧЕНИИ
БОЛЬНЫХ РАКОМ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ВЫСОКОГО РИСКА**

14.01.12 – онкология

14.03.02 – патологическая анатомия

Диссертация на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук

Научные руководители:
кандидат медицинских наук
Носов Александр Константинович
кандидат медицинских наук
Артемьева Анна Сергеевна

Санкт-Петербург -2020г.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА I ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1. Эпидемиология понятия рак предстательной железы	14
1.2. Общее понятие стратификации рака предстательной железы по группам риска рецидива заболевания	15
1.3. Возможности прогнозирования рецидива РПЖ-высокого риска с использованием современные биомаркеров	21
1.3.1. Понятие о биомаркерах. Классификация	21
1.3.1.2. Клинические предиктивные биомаркеры РПЖ-ВР. Простатспецифический антиген	23
1.3.1.3. Клинические предиктивные биомаркеры РПЖ-ВР. Позитивный хирургический край	26
1.3.1.4. Биологические предиктивные биомаркеры РПЖ-ВР. Иммуногистохимическое исследование РПЖ	29
1.3.1.5. Биологические предиктивные биомаркеры РПЖ-ВР. Потенциальные возможности внедрения микроРНК анализа	35
1.4. Патоморфологическая характеристика аденокарциномы предстательной железы и особенности патоморфоза	38
1.5. Лечение РПЖ высокого риска	41
1.5.1. Роль радикальной простатэктомии	41
1.5.2. Роль лучевой терапии для пациентов группы ВР	43
1.5.3. Место медикаментозной терапии в лечении РПЖ-ВР	45
ГЛАВА II МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	51
2.1. Дизайн исследования	51
2.2. Режимы лечения	54
2.1.1. Неoadъювантная химиогормональная терапия	54
2.1.2. Хирургический этап лечения	56
2.3. Методы обработки биопсийного и послеоперационного материала	57
2.3.1. Патоморфологическое исследование материала	57
2.3.1.1. Методика оценки лечебного патоморфоза аденокарциномы предстательной железы	58
2.3.1.2. Иммуногистохимический анализ с использованием тканевых мульти-блоков (ТМА)	58

2.3.2. Выделение супернатанта РНК из парафиновых срезов с депарафинизацией минеральным маслом.....	61
2.3.3. Измерение концентрации нуклеиновых кислот	63
2.3.4. Полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР-РВ) с красителем SYBR green.....	64
2.4. Динамическое наблюдение	67
2.5. Статистическая обработка данных.....	68
ГЛАВА III РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	70
3.1. Общая характеристика пациентов. Формирование группы контроля.....	70
3.1.1. Общая характеристика пациентов из группы контроля	74
3.2. Общая характеристика больных в группе НХГТ.....	77
3.2.1. Характеристика больных исследуемой группы перед началом хирургического лечения	77
3.2.2. Токсичность неоадьювантной химиотерапии.....	80
3.2.3. Оценка особенностей хирургического лечения после НХГТ	83
3.2.4. Общая морфологическая характеристика операционного и биопсийного материала на фоне неоадьювантного лечения.....	84
3.2.4.1. Оценка изменений патоморфологического стадирования операционного материала	84
3.2.4.2. Результаты патоморфологического исследования операционного материала в группе комбинированного лечения	86
3.2.4.3. Сравнительный иммуногистохимический анализ ТМА-блоков биопсийного и послеоперационного материала	91
3.2.5. Изменение профиля и экспрессии микроРНК на фоне проводимой химиотерапии	96
3.2.6. Отдаленные онкологические результаты лечения РПЖ.....	101
3.3. Сравнительный анализ ранних и отдаленных онкологических результатов в группах хирургического и комбинированного лечения	103
3.4. Адьювантная терапия после радикальной простатэктомии.....	110
ГЛАВА IV ЗАКЛЮЧЕНИЕ	113
ВЫВОДЫ.....	123
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	124
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	125
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	127

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Рак предстательной железы (РПЖ) является наиболее распространенным злокачественным новообразованием у мужчин после рака кожи. По данным Популяционного ракового регистра в России за 2018 год было зарегистрировано 42518 новых случаев РПЖ, из которых на долю локализованного процесса приходится 52,5%, местно-распространенного и метастатического – 29,0% и 16,5% соответственно [11]. Высокие показатели местно-распространенного РПЖ, относящегося к группе высокого риска рецидива, вписываются в показатели мировой статистики и представляют собой интерес для изучения, потому что демонстрируют сдвиг соотношения впервые выявленных случаев в сторону более агрессивных опухолей, несмотря на все изменения рекомендаций относительно скрининга РПЖ в 2012 году [10, 49]. Даже при меньшей частоте биопсий и на 28% меньшей частоте выявления заболевания, процент РПЖ высокого риска (РПЖ-ВР) значительно вырос, равно как и число операций, выполненных при неблагоприятной морфологии. Однако после радикальной простатэктомии у 35% пациентов развивается биохимический рецидив в течение 10 лет, который может потребовать дополнительного лечения, и как следствие негативно сказаться на качестве жизни [133]. При этом уровень смертности у пациентов с экстрапростатическим распространением после хирургического лечения за медиану биохимической безрецидивной выживаемости в отдельных работах достигает 17% [65].

Стратификация РПЖ по степени вероятности рецидива принадлежит результатам работы D'Amico A.V., который на основе результатов лечения 1872 пациентов, подвергнутых радикальному лечению (лучевая терапия и простатэктомия), в 1998 году разделил РПЖ на 3 группы риска: высокий, промежуточный и низкий [53]. Основными критериями высокого риска рецидива является уровень простатспецифического антигена (ПСА) > 20 нг/мл, сумма баллов по шкале Глисона 8–10 или клиническая стадия > T2c. Валидность данной

классификации, рекомендованной Американской урологической ассоциацией, Британским национальным институтом здоровья (НИН) доказана в целом ряде исследований [60]. В то же время Европейская ассоциация урологов (ЕАУ) для обозначения РПЖ-ВР использует стадию сТ3а и выше. При этом большинство современных исследований, оценивающих результаты операций, лучевой терапии или комбинированного лечения РПЖ высокого риска, сталкиваются с двумя важными проблемами: это отсутствие стандартного определения этой стадии заболевания и большая гетерогенность исследуемой группы пациентов [78]. Несмотря на достижение оптимальных лечебных результатов, существует подгруппа пациентов, которые резко уступают по своим онкологическим результатам. Следовательно, существует необходимость пересмотреть сложившуюся систему классификации рисков и попытаться лучше стратифицировать пациентов в этой гетерогенной группе РПЖ-ВР.

В условиях высокой внутригрупповой гетерогенности РПЖ-ВР существует значительная вероятность опасности биохимической и клинической прогрессии среди пациентов высокого риска. Поэтому идея неoadьювантной терапии для пациентов ВР кажется очевидной и крайне заманчивой [17]. Перспективы развития данного направления связывают со следующими механизмами: 1) раннее системное лечение микрометастазов; 2) уменьшение объема первичной опухоли, что позволяет выполнить максимально радикальное местное лечение; 3) улучшение общего статуса пациентов перед началом локального лечения; 4) возможность быстрой оценки эффективности неoadьювантной терапии по данным патоморфологического исследования операционного материала.

В ходе патентного поиска во многих работах по неoadьювантной химиотерапии РПЖ с доцетакселом сообщается об уменьшении частоты положительного хирургического края, экстрапростатического распространения, а некоторые работы даже показали преимущество по безрецидивной и общей выживаемости [63,87,96,100,106]. Однако в целом применение неoadьювантной терапии у пациентов, подвергающихся в дальнейшем радикальному хирургическому лечению, не показало преимуществ по сравнению только с

простатэктомией. Желаемый показатель лечебного патоморфоза в разных сериях исследований так и не достиг заданного исследователями порогового уровня значимости полного патоморфоза в 20%: в отдельных исследованиях уровень лечебного патоморфоза колебался около 5%, что, вероятно, связано со сменой морфологии опухоли и затруднением адекватной оценки по шкале Глисона или неправильным подбором режима лечения для самих пациентов. Не представлено работы, которая бы четко характеризовала пациентов, которым показана НХТ, у кого будет выявлен местно-распространенный процесс, а у кого разовьется ранний рецидив заболевания. Такое прогнозирование должно строиться на основе совокупности нескольких факторов, выявлять и оценивать которых можно на этапе предоперационного обследования. Однако изолированное использование факторов предоперационного прогноза не позволяет выделить пациентов с высоким риском развития рецидива, нуждающихся в неоадьювантной терапии. Это обусловлено либо низкой чувствительностью негативного значения признака, либо малым числом пациентов с рецидивом, которые демонстрировали этот фактор. Именно поэтому данные требуют дополнительного изучения патоморфологических и молекулярных механизмов прогнозирования риска рецидива, с целью оптимальной стратификации пациентов для комбинированного лечения.

Все вышеперечисленное, в рамках оптимизации выбора в пользу радикального хирургического лечения больных локализованным и местно-распространенным РПЖ высокого риска направлено на поиск потенциального предиктивного биомаркера онкологических результатов лечения.

Степень разработанности темы исследования

Вопросы обоснованности применения неоадьювантной терапии перед радикальной простатэктомией у пациентов с РПЖ высокого риска прогрессирования неоднократно становились предметом научных исследований

рабочих групп по онкоурологии (Dreicer R., Febbo P., Magi-Galluzzi C., Носов А.К.). Самая продолжительная работа по наблюдению за развитием рецидива для пациентов промежуточного и высокого риска более 10 лет является кандидатская диссертация Носова А.К., где впервые отмечено возможное влияние доцетаксела в неoadъювантном режиме на показатели скорректированной выживаемости. Однако в целом, изолированное применение химиотерапии в различных режимах не приводило к значимому изменению ни только клинических показателей, но и не влияло на показатели выживаемости.

В отечественной онкоурологии проблеме лечения пациентов высокого риска РПЖ посвящена докторская диссертация Алексева Б.Я., в которой доказаны значимые преимущества радикальной простатэктомии в сравнении с комбинированным лечением в сочетании с неoadъювантной гормональной терапией за счет увеличения скорректированной и общей выживаемости, уменьшения вероятности клинического прогрессирования в виде местного рецидива и появления костных метастазов. Основным ограничением данной работы было включение в группу комбинированного лечения пациентов с неблагоприятными факторами прогноза и неоднородностью этой группы по методам и режимам гормональной терапии.

В последние десятилетие активно стали появляться публикации по применению неoadъювантной химиогормональной терапии, демонстрирующие положительное влияние на клинические, радиологические и патоморфологические показатели течения РПЖ высокого риска (Hussain M., Prayer-Galetti T., Chi K., Sella A., Mellado B., Narita S.).

Однако общим для всех работ является отсутствие четкой характеристики пациентов высокого риска прогрессирования, которым показана неoadъювантная терапия или которые на фоне лечения будут иметь наибольшую продолжительность безрецидивной, общей или скорректированной выживаемости, у кого будет выявлен местно-распространенный процесс, а у кого разовьется ранний рецидив заболевания. Такое прогнозирование может быть построено на дополнительном анализе патоморфологических,

иммуногистохимический и молекулярных изменений в ткани предстательной железы на фоне неoadъювантного лечения.

Цель исследования

Улучшение результатов хирургического лечения больных локализованным и местно-распространенным раком предстательной железы высокого риска.

Задачи исследования

1. Проанализировать онкологические результаты хирургического лечения больных локализованным и местно-распространенным раком предстательной железы высокого риска.
2. Определить клинический и гистологический лечебный патоморфоз у пациентов с локализованным и местно-распространенным раком предстательной железы высокого риска после неoadъювантной химиогормональной терапии.
3. Оценить уровень экспрессии и предиктивное значение на показатели выживаемости иммуногистохимических маркеров: андрогеновых рецепторов, p16, bcl-2, p53, c-MYC, ERG, Ki67, PTEN до и после комбинированного лечения.
4. Проанализировать изменение профиля микроРНК у больных раком предстательной железы локализованного и местно-распространенного рака предстательной железы высокого риска после терапии доцетакселом и дегареликсом на платформе miRCURY LNA™ Universal RT.
5. Сопоставить корреляцию относительной экспрессией микроРНК, выделенных на платформе miRCURY LNA™ Universal RT, с показателями лечебного патоморфоза и ожидаемой онкологической выживаемостью у пациентов из группы неoadъювантной химиогормональной терапии и радикальной простатэктомии.

Научная новизна

Полученная информация в ходе морфологического анализа и молекулярного профилирования биологического материала пациентов после неoadьювантной химиогормональной терапии была сопоставлена с исходами лечения для определения потенциального предиктивного значения в отношении результатов выживаемости.

Охарактеризован иммуногистохимический профиль опухоли до и после неoadьювантной химиогормональной терапии.

Впервые в РФ апробирована экспериментальная методика оценки лечебного патоморфоза аденокарциномы предстательной железы (Murphy С.).

Впервые в мире проведено профилирование молекулярного статуса аденокарциномы предстательной железы после химиогормональной терапии доцетакселом и дегареликсом на платформе miRCURY LNA™ Universal RT, а также оценка прогностической значимости экспрессии микроРНК для онкологических результатов.

Теоретическая и практическая значимость

В результате клинического исследования, изучения и обобщения опыта хирургического отделения онкоурологии, патологоанатомического отделения с прозектурой ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России разработан и внедрен оригинальный лечебно-диагностический алгоритм ведения больных с диагнозом РПЖ из группы высокого риска рецидива, основанный на совместной оценке клинических и биологических маркеров. Получен патент на научное изобретение «Способ лечения рака предстательной железы высокого и очень высокого риска» RU 2675695. Изучены клинические и морфологические изменения статуса заболевания, позволяющие достигать резектабельность у пациентов с выраженным местным распространением РПЖ. Продемонстрирована

целесообразность использования специфичного профиля микроРНК в оценке прогноза лечения РПЖ с различными вариантами неoadъювантной терапии.

Методология и методы исследования

Материалом исследования послужат данные первичной медицинской документации, сформированные в процессе обследования, лечения и динамического наблюдения больных раком предстательной железы с 2008 года по 2017 год. Методологическая часть исследования включала в себя изучение литературных данных по проблеме лекарственного лечения рака предстательной железы высокого риска перед хирургическим этапом лечения. На основании собранных данных был составлен план диссертационного исследования, выдвинуты гипотезы. В ходе проведения исследования были систематизированы результаты, обоснованы и верифицированы выводы и практические рекомендации. Из общенаучных экспериментальных методов в работе был использован метод сравнения характеристических параметров пациентов РПЖ-ВР, получивших только хирургический этап лечения (радикальная простатэктомия), с комбинированным вариантом лечения (неoadъювантная химиогормональная терапия перед радикальной простатэктомией). Специальным методом научного познания стал корреляционный анализ Спирмена, с целью поиска биомаркеров со статистически значимой связью с показателями выживаемости. Результаты данного анализа позволили построить уравнения вероятности значения экспрессии с-МҮС и микроРНК-106b на продолжительности общей, безрецидивной выживаемости на фоне комбинированного лечения.

Положения, выносимые на защиту

1) Проведение неoadъювантной химиогормональной терапии позволяет провести радикальное хирургическое лечение локализованного и местно-

распространённого рака предстательной железы высокого риска с вовлечением регионарных лимфатических узлов, и статистически значимо снижает частоту встречаемости позитивного хирургического края.

2) Характер морфологических проявлений лечебного патоморфоза, а также уровень экспрессии белка с-МУС позволяют прогнозировать продолжительность безрецидивной выживаемости у пациентов высокого риска прогрессирования.

3) Уровень относительной экспрессии микроРНК-106b в операционном материале после неoadъювантной химиогормональной терапии способен предсказывать общую выживаемость.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных выводов обусловлена соответствием используемых методов к поставленным задачам, воспроизводимостью результатов и применением методов статистического анализа данных. По теме диссертации опубликовано 6 научных печатных работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

Результаты доложены на международных конференциях: 516-е заседание «Петербургского онкологического научного общества», научно-практический семинар «Эволюция лекарственной терапии злокачественных опухолей: от гормонотерапии до онкоиммунологии» (Санкт-Петербург, Россия 15.12.2017г-16.12.2017г), ESMO Preceptorship on Prostate Cancer (Лугано, Швейцария 04.10.2018г-05.10.2018г), Baltic and Eurasia Masterclass in Clinical Oncology (Рига, Литва 12.07.2018г-15.07.2018г), 29th World Congress of Videourology and Advances in Clinical Urology (Москва, Россия 05.10.2018г-07.10.2018г), 10th European Multidisciplinary congress on Urological Cancers (Амстердам, Нидерланды 08.11.2018г-10.11.2018г), Форум с международным участием «Опухоли малого

таза» (Калининград, Россия 25.04.2019г-26.04.2019г), Евразийский конгресс урологов (Уфа, Россия 24.05.2019-25.05.2019г), V Петербургский международный онкологический форум "Белые ночи - 2019" (Санкт-Петербург, Россия 20.06.2019г-23.06.2019г), Второй международный Форум онкологии и радиологии (Москва, Россия 23.09.2019г-27.09.2019г), 1-st Caucasus and Central Asia Meeting (Тбилиси, Грузия 04.10.2019г-05.10.2019г), VI Петербургский международный онкологический форум "Белые ночи - 2020" (Санкт-Петербург, Россия 25.06.2020г-28.06.2020г).

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены (акт внедрения от 26.02.2020) в практическую деятельность хирургического отделения онкоурологии ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России.

Личный вклад автора

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии на всех этапах процесса в получении аналитического материала, апробации результатов исследования диссертационной работы на международных и всероссийских научно-практических конференциях, обработке и интерпретации данных, подготовке основных публикаций по выполненной работе. Самостоятельно принимала участие в проведение хирургического радикального лечения больных с диагнозом рак предстательной железы, осуществляла послеоперационное ведение и наблюдение за больными. Подбор гистопрепаратов операционного материала, гистопатологическая оценка и иммуногистохимическое исследование проведены под руководством врача-патоморфолога. Микродиссекция опухолевых срезов, заключенных в парафин, и молекулярное исследование выполнено под руководством врача-лабораторной диагностики.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Основные результаты работы, научные положения и выводы, описанные в диссертационной работе, соответствуют п. 6 паспорта специальности 14.01.12 Онкология (внедрение в клиническую практику достижений фармакологии в области создания и использования цитостатиков, гормонов, биологически активных препаратов) и п. 2 паспорта специальности 14.03.02 Патологическая анатомия (прижизненная диагностика и прогнозная оценка болезней на основе исследований биопсийных материалов, научный анализ патологического процесса, лежащего в основе заболевания).

Структура и объём диссертации

Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, списка литературы, включающего 151 наименование. Общий объем диссертации 144 страницы, включая 18 таблиц и 30 рисунков.

ГЛАВА I

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Эпидемиология понятия рак предстательной железы

Рак предстательной железы является наиболее распространенным злокачественным новообразованием после рака легких у мужчин, проживающих в России, в странах Европы, Северной Америки и во многих других странах по всему миру [2,10,145,149]. По данным Международного агентства по изучению рака (IARC, International Agency for Research on Cancer) на 2018 год, в Европе разные формы РПЖ составили около 22% от всех случаев онкологических болезней, диагностированных среди мужчин и 9,5% от всех случаев гибели мужчин [64].

По данным совместного проекта Всемирной организации здравоохранения и Международного агентства исследований рака (GLOBOCAN), в 2018 году во всем мире было зарегистрировано 1.276.106 новых случаев РПЖ с более высокой распространенностью в развитых странах. При этом заболеваемость и смертность от РПЖ коррелируют с увеличением возраста, который на момент постановки диагноза составляет 66 лет [110]. Ожидаемый уровень заболеваемости к 2040 года составит 2 293 818 новых случаев, однако будет наблюдаться небольшое изменение смертности с приростом всего на 1,5-2% [64].

Уровень заболеваемости и смертности от РПЖ крайне разнообразен между регионами. Следует отметить, что среди афроамериканских мужчин показатели заболеваемости выше по сравнению с белыми мужчинами, а смертность примерно в два раза выше, чем в европеоидной расе [101]. В Соединенных Штатах Америки (США) за 2017 год выявлено более 200 тысяч новых случаев РПЖ, при этом смертность от этого заболевания составила 20-25 человек на 100 000 мужского населения. Самый низкий уровень заболеваемости в мире выявлен в Азии и на Дальнем Востоке - на примере Китая 2,9 на 100 000 мужского

населения. Высокие показатели встречаются в Западной Европе, Австралии и Северной Америке – 107,8 и 185,4 белых и афроамериканцев на 100 000 мужского населения соответственно [29]. Европейские страны, в том числе Российская Федерация (РФ), демонстрируют средние значения показателей: по данным Национального ракового регистра в 2018 г. в Российской Федерации впервые в жизни выявлено 285 949 случаев злокачественных новообразований у пациентов мужского пола. Значимую по удельному весу группу у мужчин формируют злокачественные опухоли органов мочеполовой системы, составляя 25,1% всех злокачественных новообразований, из которых на РПЖ приходится 14,9% [11].

Помимо расовых особенностей эпидемиологии РПЖ к факторам риска развития РПЖ, считают генетическую предрасположенность, возраст мужчины и особенности питания. Вероятность развития опухоли предстательной железы у мужчины, у которого один из ближайших родственников первой степени родства (отец или брат) болел РПЖ, вдвое выше, чем в популяции; если болели двое родственников или более, риск заболевания РПЖ возрастает в 5–11 раз [68,129]. Показатель заболеваемости белых американцев в возрасте до 65 лет составляет 44 на 100 тыс., а в возрасте 65–74 лет — 900 на 100 тыс. [127].

1.2. Общее понятие стратификации рака предстательной железы по группам риска рецидива заболевания

Стратификация в медицине - это возможность выявления подгрупп пациентов с различными механизмами заболевания или определенными реакциями на лечение. Стратификация по рискам сегодня позволяет нам определять и разрабатывать методы лечения, которые эффективны для определенных групп пациентов. В конечном счете, такой подход гарантирует, что правильный пациент получит правильное лечение в нужное время.

По определению Vitton A. из Гарвардской медицинской школы «Стратификация представляет собой шаг от работающего в одиночку врача к формированию более активной команды специалистов для удовлетворения общих

потребностей врачей и пациентов в области здравоохранения» [38]. P.Gordon выделяет три цели для использования стратификации рисков: 1) возможность предсказывать риски (рецидива, инсульта, влияния ожирения); 2) определять приоритет вмешательства (хирургия, химиотерапия, лучевая терапия); 3) влиять на отрицательные результаты (инвалидность, смерть, а также ненужные затраты) [48]. Стратификация служит хорошей стратегией сокращения расходов, поскольку раннее определение рисков отражается на общей схеме финансирования страхового случая, просто потому, что она лучше позволяет скоординировать уход за наиболее сложными пациентами, вовремя определить или сменить тактику лечения пациента, тем самым избегая ненужных затрат на один случай заболевания в условиях страховой медицины. В то же время самым важным моментом стратификации остается эффективный подбор критериев для безошибочного разделения пациентов на группы, если мы говорим о прогрессировании, рецидиве или общей выживаемости [38].

Идеальный инструмент для стратификации риска РПЖ—это тот, который может точно и последовательно идентифицировать пациентов, страдающих от агрессивных онкологических фенотипов РПЖ, своевременно выявить переход от рака низкого и высокого риска к естественному прогрессированию заболевания при активном наблюдении [144]. Сегодня существуют несколько систем для стратификации риска РПЖ, а история их развития насчитывает порядка 30 лет. В 1989 году Stamey Т. впервые показал, что уровень простатита-специфического антигена (ПСА) коррелировал со степенью распространенности заболевания РПЖ у пациентов после облучения или радикальной простатэктомии (РПЭ) с клиническими и отдаленными онкологическими результатами [128]. Несколько лет спустя Zagars G.K. показал независимое влияние T-стадии, суммы баллов по Глиссону и уровня ПСА на результаты лечения мужчин, подвергшихся лучевой терапии (ЛТ) [146, 147].

Следующим переломным моментом послужило основополагающее исследование D'Amico A.V. 1998 года, в котором описана наиболее популярная стратификация риска РПЖ. Данная система включает в себя сведения по

предоперационному значению ПСА, клинической стадии, сумме баллов по Глиссону после 6-ти польной биопсии, которые вместе объединены для определения групп риска РПЖ [53]. Данные были получены при анализе результатов лечения 1872 пациентов, подвергнутых РПЭ или ЛТ в комбинации с андроген депривационной терапией (АДТ), где любое повторное повышение ПСА расценивалось, как признак биохимического рецидива (БХР) заболевания. В работе было установлено, относительный риск БХР составил 1,1 (95% ДИ 0,5-2,7) у пациентов со стадией cT1c, cT2a, уровнем ПСА ≤ 10 нг/мл и суммой баллов по Глиссону ≤ 6 . Данная категория больных получила название группы низкого риска (low risk). Относительный риск биохимического рецидива в 3,0 (95% ДИ, 1,5-6,1) был выявлен для категории пациентов со следующими характеристиками: стадия cT2b или сумма баллов по Глиссону 7 или уровень $10 < \text{ПСА} \leq 20$ нг/мл, и получил название промежуточного риска (intermediate risk). Следующий уровень относительного риска составил 3,1 (95% ДИ, 1,8-5,0) и характерен для пациентов группы высокого риска (high risk) рецидива: стадия $\geq cT2c$ или уровень ПСА > 20 нг/мл или сумма баллов по Глиссону ≥ 8 . В последствии данная стратификация была одобрена для использования Национальной всеобщей онкологической сетью (США, NCCN), Американской урологической Ассоциацией (США, AUA), Британским национальным институтом здоровья (Англия, NIN) и Европейской ассоциацией урологов (EAU).

Более поздние работы выявили, что риск прогрессирования РПЖ могут определять и другие факторы: экстракапсулярное распространение, положительный хирургический край резекции и его протяженность, наличие позитивных лимфатических узлов. Например, в таблицах Partin A.W. (1993-1997) использована комбинация предоперационных переменных (клиническая стадия, уровень ПСА в сыворотке крови, оценка биопсии Глиссона), которые могут прогнозировать вероятность экстрапростатического распространения, инвазию в семенные пузырьки или метастазы в лимфатические узлы [103,104]. Альтернативная классификация риска рецидива рака простаты (CAPRA) Cooperberg M., которая использует те же предоперационные переменные что и

D'Amico, NCCN, EAU, таблицы Partin, но дополнительно включает возраст пациентов и долю позитивных столбиков при биопсии простаты [49]. В этой классификации показано, как РПЖ высокого риска который коррелирует с неблагоприятными патологическими признаками и биохимическим рецидивом [49]. Результаты объединенного анализа подтверждают способность оценки CAPRA правильно прогнозировать выживаемость без биохимического рецидива через 3 года после РПЭ во всех трех группах риска.

Ключевым в стратификации риска РПЖ является то, что пациенты из категории высокого риска имеют высокую вероятность развития рецидива в течение первых 5 лет после радикального лечения [35]. Большинство исследований по оценке результатов РПЭ, ЛТ или комбинированного лечения РПЖ высокого риска (РПЖ-ВР) сталкиваются с двумя проблемами: отсутствие чётких критериев высокого риска и большая внутригрупповая гетерогенность исследуемых пациентов [78]. В результате применение различных видов лечения в работе Yossepowitch O. (2007) продемонстрировало широкие границы 5-летней безрецидивной выживаемости (БРВ): от 49 до 80% для одной и той же популяции пациентов с использованием различных опубликованных схем лечения [150]. Поэтому существует необходимость пересмотреть сложившуюся систему классификации рисков и попытаться лучше стратифицировать пациентов в этой гетерогенной группе РПЖ-ВР.

Таблица 1– Определение группы высокого риска.

Рекомендации по стратификации	Определение
D'Amico et al.	ПСА \geq 20 нг/мл или GS 8-10 или стадия \geq T2c
American Urology Association	ПСА \geq 20 нг/мл или GS 8-10 или стадия \geq T2c
National Comprehensive Cancer Network	ПСА \geq 20 нг/мл или GS 8-10 или стадия \geq T3 , ПСА 10-20 нг/мл
European Association Urology	ПСА \geq 20 нг/мл или GS 8-10 или стадия \geq T3a
Radiation Therapy Oncology Group	ПСА < 100нг/мл и GS 8-10
Cancer of the Prostate Risk Assessment Score	Возраст, ПСА, T-стадия, % позитивных столбиков биопсии

*ПСА-простатспецифический антиген, GS- сумма баллов по Глиссону

Первым на европейском уровне об этом заговорил S. Joniau (2014). При анализе онкологических результатов 1360 пациентов из группы высокого риска после РПЭ медиана наблюдения составила 65,5 месяцев, зафиксировано 171 случай смерти (60 непосредственно от прогрессирования РПЖ), при этом 5-летняя скорректированная выживаемость (СВ) составила 96,4% и 10-летняя 91,3%. При проведении многофакторного анализа авторы работы субстратифицировали пациентов внутри группы РПЖ-ВР на 3 типа прогноза: благоприятного (наличие одного из факторов риска ПСА>20 нг/мл, сТ3–4 или сумма баллов по Глисону 8–10), промежуточного прогноза (стадия сТ3–4 и ПСА>20 нг/мл) и плохого прогноза (сумма баллов по Глисону в сочетании с ПСА>20 нг/мл и/или сТ3–4). Предсказательная точность данной модели стратификации составила 70%. Тем не менее, авторы отмечают значительную разницу гистопатологических параметров в указанных группах прогноза, которые не были подвергнуты дальнейшему анализу ни в одной из других работ [78].

Среди отечественных работ оценкой развития риска возникновения рецидива опухоли для больных с РПЖ-ВР после неoadьювантной терапии занимались Носов А.К. и Петров С.Б. [17,20]. В своей диссертационной работе Носов А. К. (2006) оценил вероятность развития рецидива в группе хирургического лечения по совокупности следующих прогностических факторов: локализованная или местнораспространенная стадия РПЖ; уровень сывороточного ПСА (с пороговым значением 15 нг/мл); наличие или отсутствие перинеуральной инвазии; значение первого грейда суммы Глисона (<4 или >4); доля биоптатов, содержащих элементы опухоли (>70%). В случаях, когда у больного выявлялись 2 и более негативных признака, пациента определяли в группу с наибольшей вероятностью рецидива заболевания. Таким способом в группе РПЭ было спрогнозировано 12 рецидивов. Фактически за три года наблюдения зафиксировано 10 рецидивов; из них правильно было предсказано 9. У 2 пациентов с вероятным рецидивом за три года наблюдения признаков прогрессирования РПЖ не выявлено. В группе неoadьювантного лечения было спрогнозировано 16 рецидивов. Фактически выявлено 9, из числа которых 8

совпали с прогнозируемыми. Однако большая, чем в группе РПЭ, доля больных без рецидива (7 из 16 с неблагоприятным прогнозом) может свидетельствовать об эффективности НХТ доцетакселом. Автор отмечает, что с целью отбора пациентов для неoadьювантного лечения перед РПЭ следует выделять две группы больных с различным риском возникновения рецидива. Для этого целесообразно использовать следующие предоперационные прогностические факторы: клиническая стадия заболевания <Т3а или Т3а и >, уровень сывороточного ПСА <15 нг/мл или 15 нг/мл и >, наличие периневральной инвазии, значение первого грейда суммы Глисона <4 или 4 и >, доля пораженных биоптатов <70% или больше. Пациенты, не имеющие негативных прогностических признаков или с неблагоприятным проявлением только одного из них, должны быть отнесены в группу низкого риска развития биохимического рецидива. По данным авторов, именно этим больным рациональнее выполнять РПЭ, так как она стабильно обеспечивает хороший результат в течение длительно срока после операции. Пациенты с двумя или тремя негативных прогностическими признаками, должны быть отнесены к группе с высоким риском развития рецидива. В этой группе большинство пациентов не получают выигрыша от изолированной РПЭ.

Основополагающее понимание механизмов, лежащих в основе болезни, имеет жизненно важное значение для достижения оптимальных результатов в лечении РПЖ. А также важно изучение структурных, функциональных и молекулярных особенностей заболевания, которые позволяют правильно стратифицировать пациентов и преодолеть внутреннюю гетерогенность в группе РПЖ-ВР. Такой подход позволит увеличить результаты БРВ и оценить преимущества использования РПЭ, ЛТ или медикаментозного лечения для разных пациентов внутри группы высокого риска.

1.3. Возможности прогнозирования рецидива РПЖ-высокого риска с использованием современных биомаркеров

1.3.1. Понятие о биомаркерах. Классификация

Точный прогноз риска прогрессирования РПЖ необходим для определения стратегии лечения в каждом конкретном клиническом случае. Современные клинические показатели, применяемые в практике (уровень ПСА, стадия опухоли по системе TNM и сумма баллов по шкале гистологической классификации Глисона) далеки от совершенства, что затрудняет выбор варианта лечения [22]. Перспективным считается направление по оценке агрессивности опухолевого процесса на раннем этапе, которое может помочь отличить пациентов для активного наблюдения, хирургического лечения от тех, которым требуется более агрессивное комбинированное лечение, а также выявит риски дальнейшего прогрессирования заболевания. Сегодня эти вопросы принято решать через биомаркеры (БМ).

Настоящий термин «биомаркеры»(БМ) введен в 1989г как потенциальный количественно детектируемый биологический параметр для индикации напряженности физиологических и патологических процессов [36]. В 2001 г. эксперты рабочей группы Национального института здоровья (National Institute of Health, США) предложили унифицированное определение БМ как показателя, который может быть точно измерен, служит в качестве индикатора физиологических и патологических биологических процессов, а также используется как критерий ответа на фармакологическое или терапевтическое вмешательство [36]. По мнению ряда авторов (Colburn W.A., 2000; De Gruttola V.G., 2001; Manolio T., 2003; Dowd J.B., Zajacova A., 2010), БМ должен отличаться высокой точностью, надежностью и воспроизводимостью, что позволяет отражать состояние здоровья или физиологического процесса, величину риска, факт развития заболевания, стадию заболевания (клиническая/доклиническая) и прогрессирование/реверсию [4].

В соответствии с рекомендациями и номенклатурой (2001) БМ классифицируются на antecedentesные (идентифицирующие риск возникновения заболевания), скрининговые (использующиеся для верификации субклинических стадий заболеваний на скрининге), диагностические (позволяющие установить наличие определенного заболевания), так называемые биомаркеры состояния (характеризуют тяжесть заболевания) и предиктивные биомаркеры (отражают эволюцию развития заболевания, позволяют прогнозировать ожидаемый ответ на лечение, терапевтическое вмешательство и проводить мониторинг эффективности лечения) [4,36]. Необходимо отметить, что многие из маркеров, используемых в рутинной практике в настоящее время лишены исключительной принадлежности к каждой из указанных категорий, в связи с чем описанный классификационный подход носит несколько упрощенный характер [4, 47].

В отношении РПЖ прогностические маркеры можно разделить на две подгруппы: клинические и биологические. Клинические БМ – это данные, получаемые при исследовании крови, методов лучевой диагностики, биопсийного материала, которые уже были учтены в работе D'Amico при стратификации РПЖ по риску рецидива, а также наличие и протяженность хирургического края, выраженность степени патоморфоза. Биологические БМ включают в себя иммуногистохимическую оценку экспрессии белков протоонкогенов, онкогенов и генетическое тестирование мутаций (PCA3, TMPSS2, MMP-9, ANXA3, GSTP1, BRCA1, BRCA2), поиск специфический микроРНК.

Предиктивные БМ сегодня стали важными инструментами в руках онколога для оценки проводимого лечения, поскольку изменчивость поведения болезни, стоимость, разнообразие методов терапии и связанное с этим ухудшение качества жизни пациента, вызывают потребность в персонализированном подходе. Недавние успехи в области медикаментозного лечения РПЖ, включая иммунотерапию, стимулировали поиск предикторов ответа и резистентности на проводимую терапию и показали неудовлетворенную потребность в определении новых прогностических БМ РПЖ. Тем не менее, современные клинические рекомендации не содержат строгих показаний для использования предиктивных

БМ. Приведенные исследования в рекомендациях ЕАУ изучали генетическое или молекулярное типирование тканевых образцов опухоли вне рандомизированных исследований и только, как дополнение к обычным клинико-патологическим параметрам (ПСА, сумма по Глиссону, стадия) [119, 123].

1.3.1.2. Клинические предиктивные биомаркеры РПЖ-ВР.

Простатспецифический антиген

Простатспецифический антиген (ПСА) представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 33 кДа, принадлежащий семейству калликреиновых белков, и имеет несколько изоформ с изоэлектрическим уровнем от 6,8 до 7,2 [32, 86]. ПСА секретируется эпителием протоков и эпителиальной выстилкой ацинусов. ПСА представлен в виде двух основных форм свободной и связанной (с альфа1–антихимотрипсином, альфа2–макроглобулином) [23].

Верхней границей нормы считается концентрация 4 нг/мл [36]. Значения ПСА выше указанной границы предполагают необходимым выполнение биопсии для определения РПЖ (рекомендации ЕАУ). Также было показано, что концентрация ПСА в крови увеличивается с возрастом [98]. В работах Smith D. и Humphrey P. тест рассматривается как достоверный при уровне сывороточного ПСА у мужчин выше 2,6 нг/мл (для нормы) и выше 10,0 нг/мл (для РПЖ) [122]. Специфичность теста ПСА крайне низкая (всего 25–35%) в случае нахождения показателя в так называемой «серой зоне», то есть 2,6–10,0 нг/мл.

В другом исследовании, начатом Thompson I. в США в 1993 г., изучалась распространенность РПЖ среди мужчин с уровнем ПСА менее 5 нг/мл и было выявлено, что 33,7% мужчин в действительности имели рак при уровне ПСА ≤ 2 нг/мл и у 50,8% мужчин развился рак при значениях ПСА 2,1–4 нг/мл [140]. Полученные данные были подкреплены поздними работами, так в Европейском исследовании с 1997 по 2005 гг. приняли участие 855 мужчин, у которых ПСА не превышал 4,0 нг/мл с нормальными данными пальцевого ректального

исследования, однако у 1/5 пациентов впоследствии была выявлена агрессивная форма РПЖ [74].

Уровень ПСА в сыворотке крови обычно пропорционален объему опухоли и клинической стадии заболевания, поэтому возможность измерения уровня антигена имеет важное значение мониторинга ответа на лечение, прогноза и выявления прогрессирования у пациентов с РПЖ [74]. Первый вариант лечения, с которым была установлена взаимосвязь кинетики ПСА, стала АДТ. Целью гормональной терапии для пациентов с РПЖ является снижение концентрации циркулирующих андрогенов или блокирование транскрипционной активации андрогеновых рецепторов (АР) [51]. Снижение уровня ПСА после первичной АДТ является следствием как гибели опухолевых клеток, так и снижением экспрессии АР в оставшихся опухолевых клетках. Поэтому оценка кинетики ПСА (в т.ч. период полураспада ПСА, уровень надира ПСА) является важным показателем ответа на проводимую АДТ и критерием для включения в лечение дополнительной ЛТ [114]. Так, например, в регрессионном анализе Kazama A. (2019) уровень надира ПСА $<0,2$ нг/мл после АДТ перед ЛТ ассоциирован со значительно более высоким уровнем СВ и БРВ [80]. В ретроспективной работе Zelefsky M.J. (2013) изучено значение надира ПСА до ЛТ у 1045 пациентов и показано, что 10 летняя БРВ с пациентов с более низким надиром (ПСА $< 0,3$ нг/мл) составила 74,3%, против 57,7% с более высоким уровнем ПСА- надира [148]. Alexander A. (2010) в своем исследовании показал, что достижение на фоне АДТ надира ПСА $<0,1$ нг/мл ассоциировано с высокими показателями СВ, БРВ и ОВ, не смотря на местно-распространенный характер РПЖ и исходно высокий уровень ПСА (>40 нг/мл)[31].

Уровень ПСА стремится к нулю в течение 6- 8 недель после хирургического лечения. Последующее повышение сывороточного ПСА $\geq 0,2$ нг/мл расценивается как биохимический рецидив заболевания (БХР), и наблюдается у 15-30% больных в течение 5 и более лет после РПЭ [28, 54]. У 34 % пациентов повышение ПСА транслируется в появление клинически определяемых метастазов, которые в 43 % случаев служат причиной смерти [54]. В отечественном исследовании Черняев

В.А., Матвеев В.Б. (2012) методом построения ROC-кривых оценивали точность прогнозирования ПСА-рецидива на основании концентрации потенциальных маркеров. В ходе работы у 77 больных, у которых оценивали уровень потенциальных молекулярных маркеров факторами неблагоприятного прогноза ПСА-рецидива РПЖ, статистически значимыми оказались: высокие дооперационные плазменные концентрации VEGF (≥ 67 пкг/мл) ($p = 0,005$), VEGFR2 (≥ 3149 пкг/мл) ($p = 0,036$), VEGFR3 (≥ 2268 пкг/мл) ($p = 0,001$), TGF- β 1 (≥ 14473 пкг/мл) ($p = 0,052$). Распространение опухоли по просвету кровеносных и лимфатических сосудов – наиболее вероятный механизм метастазирования РПЖ. Не удивительно, что наличие ангиолимфатической инвазии приводило к снижению выживаемости без ПСА-рецидива у наших пациентов [54].

В исследовании Taille A. и соавт. (2000) выживаемость без БХР у больных с сосудистой инвазией также была значительно меньше, чем в группе, не имевшей данного фактора риска ($n = 241$; 30,1 и 92,5 % соответственно, $p = 0,0001$) [28, 135]. По данным May M., в серии наблюдений которого ($n = 412$) данные показатели составили 38,3 и 87,3 % соответственно ($p < 0,001$) [28, 91]. Несмотря на то, что большинство авторов отмечают прогностическое значение ангиолимфатической инвазии, в ряде исследований, в том числе в нашей серии наблюдений, данный признак является фактором прогноза ПСА-рецидива только в однофакторном анализе. Перинеуральная опухолевая инвазия, являющаяся одним из механизмов экстракапсулярного распространения РПЖ, была ассоциирована с достоверным уменьшением выживаемости без ПСА-рецидива в нашей серии наблюдений ($p = 0,003$). Аналогично в исследовании N. Maru и соавт. данный признак приводил к снижению 5-летней выживаемости без признаков прогрессирования с 94 ± 2 до 70 ± 3 % ($p < 0,001$) [28, 88]. Наличие перинеуральной инвазии сопряжено с более агрессивным течением патологического процесса. Поэтому дальнейшее выявление связи БХР и молекулярных факторов, является перспективным направлением в прогнозировании выживаемости. По данным A. A. Caire и соавт., пациенты с поздним БХР зачастую обладают более благоприятными гистологическими

характеристиками опухоли и имеют меньший риск развития отдаленных метастазов и смерти от РПЖ [28].

При оценке эффективности комбинации доцетаксела с преднизолоном у пациентов с метастатическим кастрационно-резистентным РПЖ (КРРПЖ) также используют динамику уровня общего ПСА (снижение уровня ПСА в сыворотке как минимум на 50%), которая колеблется от 36 до 48% [136]. Кроме того, пациенты с метастатическим КРРПЖ различаются и в скорости снижения ПСА. Так, по мнению Hanninen M. (2009), у пациентов, которые достигают более быстрого снижения ПСА (более короткий период полураспада ПСА) на фоне химиотерапии доцетакселом, наблюдается более продолжительная ОВ, в отличие от пациентов с более длинным периодом полураспада ПСА. Кроме того, авторы предположили, что раннее начало снижения ПСА (измеряемое через 42 дня от начала терапии или 2 х циклов доцетаксела) так же ассоциировано с продолжительной ОВ, и может служить ранним предиктором выживаемости [71].

Вышеуказанные сведения означают, что исходный уровень общего ПСА и динамика снижения на фоне исследуемой химиогормональной терапии в рамках данной работы может быть оценена как независимый предиктор наступления раннего БХР, продолжительности БРВ и ОВ.

1.3.1.3. Клинические предиктивные биомаркеры РПЖ-ВР. Позитивный хирургический край

Хирургическое лечение остается одним из методов выбора в лечении локализованного и местно-распространённого РПЖ-ВР. Современная операция ориентирована на анатомический подход, принципы прямой визуализации и идентификации анатомических структур в тазу и направлена на снижение частоты периоперационных осложнений. По данным Харченко П.В. (2003), подозрение экстракапсулярное распространение процесса влияет на выбор хирургического метода лечения пациента, так как является неблагоприятным фактором прогноза,

повышающим частоту позитивного хирургического края (ПХК) при выполнении оперативного вмешательства и, соответственно, снижающим длительность безрецидивного периода [27]. Поэтому при подозрении на высокий риск ЭКЭ многие урологи отказываются от выполнения радикальной операции, отдавая предпочтение лучевой и гормональной терапии [21].

На XI юбилейном съезде РОУ в 2007 году Петров С.Б. дал следующее определение позитивного хирургического края (ПХК): «Это наличие опухолевых клеток в наружном крае макропрепарата. Позитивный хирургический край обладает рядом характеристик: число (единичный, множественный), локализация (заднебоковой, передний, апикальный, базальный), причинами (экстрапростатический, интрапростатический) и протяженностью (фокальный, протяженный). Основной причиной нерадикального вмешательства является интрапростатическое рассечение опухоли и прохождение плоскости резекции через вышедший за пределы капсулы опухолевый узел. Фокальный ПХК имеет протяженность не более 3-4 мм, остальное считается протяженным вариантом».

Общепринято, что отрицательным хирургическим краем принято считать, отсутствие опухоли в окрашенном чернилами крае резекции, и наоборот положительным хирургическим краем, если при микроскопии выявлены окрашенные опухолевые железы. Если между опухолью и краем резекции определяются тканевые элементы (например, фибробласт), то такой край резекции нельзя назвать положительным. Сообщество уропатологов рекомендует указывать протяженность положительного края (в миллиметрах) [123,126].

Первое исследование, анализирующее края резекции при РПЭ, было опубликовано в 1983 году, материалы исследования были трудно сопоставимы, поскольку результаты были представлены бригадами хирургов с различной техникой и за разные периоды времени. Примерно половина мужчин, подвергшихся РПЭ при клинически локализованном РПЖ, имели экстракапсулярную экстензию при патоморфологическом изучении. При этом 5,9% имели позитивные л/узлы, 7,8% - метастазы, 15,6% вовлечение семенных пузырьков [5]. Сегодня подсчитано, что частота ПХК при РПЭ варьирует от 16 до

46%, по данным других авторов от 42 до 64% [5,6]. Совершенно очевидно, что главную роль в этих вариациях играют: отбор пациентов, различие в хирургической технике, методика подготовки образцов удаленной предстательной железы и патологоанатомические особенности краев резекции [5].

Стратификация мужчин с ПХК на основе вероятности послеоперационного биохимического рецидива может быть полезна для определения пациентов? кому показано адъювантное лечение после операции. Так Ochiai A. опубликовал работу в 2008 году, по результатам длительного наблюдения за 117 пациентами с ПХК, в котором проанализировал клиничко-патологические параметры с целью определения независимых предикторов прогрессии. Средняя продолжительность наблюдения составила 43 месяца, а 5-летняя общая выживаемость без прогрессирования 74,6%. Различия в прогнозах между мужчинами с ПХК ≤ 1 мм или $1,1 \leq \text{ПХК} \leq 3$ мм не были значительными; однако наблюдалось существенное различие в прогнозе с длинной позитивного края более 3 мм ($p < 0,01$). Многовариантный анализ показал, что сумма баллов по Глиссону ≤ 8 , как и длина края более 3 мм, является независимыми предикторами ухудшения прогноза (5-летние БРВ 93% против 57% соответственно, $p < 0,0001$) [97]. Тем не менее многие попытки стратификации риска на основе влияния позитивного края на уровень послеоперационного ПСА оказались безуспешными [69]. Однако присутствие опухолевых клеток по краю разреза не всегда приводит к продолженному росту опухоли [28]. По данным Simon M. частота ПХК у 936 больных составила 37 %, при медиане наблюдения 45 месяцев биохимический рецидив развился только у 19 % пациентов [120].

Сегодня предложен целый ряд прогностических моделей, позволяющих рассчитать риск биохимического рецидива РПЖ после хирургического лечения на основании данных дооперационного обследования. Однако прогностическая ценность самых точных моделей, основанных на результатах обследования до операции, не превышает 74–76 %, при использовании послеоперационных характеристик опухолевого процесса данный показатель возрастает дополнительно на 5–14 % [79, 116,130,131]. К таким послеоперационным

показателям относится ПХК, чей статус имеет доказанное важное прогностическое значение: при отсутствии вовлечения в опухолевый процесс семенных пузырьков и лимфатических узлов, наличие позитивного края является основным фактором прогрессии заболевания.

1.3.1.4. Биологические предиктивные биомаркеры РПЖ-ВР.

Иммуногистохимическое исследование РПЖ

Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование – метод выявления точной локализации клеточного или тканевого компонента (антигена) с помощью иммунологических и гистохимических реакций; при этом иммунологический анализ срезов тканей или цитологического материала проводится в условиях сохранения морфологии клеток [24]. Основным принцип ИГХ, предложенный Marrack J. еще в 1934, заключается в использовании в качестве гистохимических реагентов специфические антитела, к которым присоединен флуоресцентный маркер. Методика обеспечивает специфическую визуализацию различных клеток в тканях, гормонов и их рецепторов, ферментов, иммуноглобулинов и даже отдельных генов, а также способствует изучению секреторных и синтетических процессов [24]. Методика получила большое распространение в диагностике различных патологических процессов в онкоурологии, в частности при исследовании РПЖ.

Современный пул ИГХ маркеров РПЖ делится по степени значимости на две основные группы: 1) используемые для диагностики РПЖ; 2) определяющие потенциал злокачественности РПЖ [9]. К первой группе маркеров относятся цитокератины, определяемые в базальном эпителии клеток (общий цитокератин, СК-5/6, высокомолекулярный цитокератин) и р63. Обычно при РПЖ экспрессия выше перечисленных цитокератинов отсутствует, однако они определяются в базальном эпителии доброкачественных структур предстательной железы [84]. Белок р63 является функциональным гомологом р53, однако экспрессируется

исключительно базальным слоем эпителия и играет важную роль в его формировании. При ИГХ анализе экспрессия p63 значительно снижается в случае РПЖ, поэтому он входит в обязательное число антител [70]. Вторая группа ИГХ маркеров использует для оценки биологических особенностей опухоли: используются антитела к Ki-67, bcl-2, p53, p16, андрогеновым рецепторам, а также для оценки наличия/отсутствия продуктов экспрессии гена онкосупрессора PTEN, онкогена c-MYC и регулятора клеточной пролиферации ERG [14]. С целью оценки онкологических результатов комбинированного лечения, с применением химиотерапии таксанами, оправдано изучение именно второй подгруппы ИГХ биопсийном и послеоперационном материале.

Ген p53 отличается внутриядерным расположением и является онкосупрессором пролиферативной активности, предотвращает вступление клетки в синтетическую фазу цикла, инициирует апоптоз дефектной клетки. Мутация гена провоцирует потерю контроля пролиферации. Grignon D. (1997) отметил связь потери p53 с повышением метастатического потенциала опухоли и развитием КРРПЖ [67]. При этом на ранних стадиях РПЖ повреждения гена p53 отмечаются менее 5% случаев и достигают 38% при метастатическом процессе [67]. Появление мутаций в гене p53 в сочетании с повышенной экспрессией белка Bcl-2 при РПЖ является прогностически неблагоприятным фактором и ассоциировано со снижением БРВ после РПЭ [76].

Повышение экспрессии белка Ki-67 совпадает с вступлением клетки в активную фазу митоза, именно из-за этого свойства данный протеин используют в качестве БМ пролиферации при оценке роста опухоли. Индекс пролиферативной активности Ki-67 (выражается в процентном соотношении) является предиктором наступления рецидива РПЖ после радикального лечения [8]. Cowen D. (2002) выявлены различия в 5-летней безрецидивной выживаемости у 106 пациентов, перенесших ЛТ, с низким и высоким уровнем экспрессии Ki-67: 33 против 76% ($p < 0,0001$ Log-rank тест) [50]. Richardsen E. (2017) на большой когорте пациентов, перенесших РПЭ (535 случаев), продемонстрировал влияние уровня Ki-67 на уровни выживаемости: при унивариантном анализе высокая экспрессия белка

резко ассоциирована с возникновением раннего биохимического рецидива ($p=0.004$), в мультивариантном анализе уровень Ki-67 расценен как независимый фактор плохого прогноза и развития рецидива ($p = 0,012$, OR:1,50 ДИ 95%:1,10-2,06) [113]. Так же недавно Tollefson M. и соавт. (2014) обнаружили, что каждое увеличение экспрессии Ki-67 на 1% связано с увеличением на 12% риска смерти от РПЖ [138]. Shahait M. (2018) произвел ИГХ окрашивание 117 образцов пациентов после РПЭ с позитивным краем. Экспрессия Ki67 измерялась по краю и в индексном поражении. Все пациенты на основе уровня экспрессии Ki-67 были разделены на три группы: без экспрессии Ki-67, $Ki-67 \leq 2\%$ и уровень $Ki-67 \geq 3\%$. Чтобы исключить влияние адъювантной терапии (АТ) на результат, данные были проанализированы пропорционально рискам Кокса, в которых АТ рассматривался как зависящий от времени ковариант. Коэффициент дискордантности между экспрессией Ki-67 и ПХК составил 44/117 (37,6%). Наблюдалась тенденция к более высокому риску БХР (OR: 2,06, (0,97-4,43) $p = 0,06$) у пациентов с высоким уровнем экспрессии Ki67. Однако высокая экспрессия Ki-67 в индексном поражении была независимым прогностическим фактором для БХР среди этих же пациентов (OR: 4,0 (1,64-9,80) $p=0,002$) [115]. Основным ограничением данного исследования является малая выборка образцов, что должно быть подтверждено на большей когорте пациентов.

Белки семейства Bcl (Bcl-2 и Bax) играют ключевую роль в регуляции процессов апоптоза. Они индуцируют или ингибируют апоптоз в клетках ПЖ. Ген Bcl-2 локализуется на длинном плече 18 хромосомы и вместе с кодируемым им белком Bcl-2 может задерживать апоптоз клеток ПЖ, вызванный p53 и другими стимуляторами, в том числе цитостатическими препаратами. В случае гиперэкспрессии ген Bcl-2 выступает в качестве онкогена. В ткани ПЖ в норме экспрессия Bcl-2 осуществляется только клетками базального слоя эпителия. В андрогеннезависимом РПЖ отмечается усиленная экспрессия гена Bcl-2, что является признаком гормоноустойчивости и резистентности к индукторам апоптоза. Гиперэкспрессия Bcl-2 при гормонорезистентном РПЖ определяется в 65% случаев и в 25% у больных РПЖ, не получавших гормонотерапию [151].

Исследования экспрессии p16 (ингибитор циклинзависимой киназы) являются еще одним перспективным направлением в диагностике рака простаты. Данный протеин представляет собой супрессор опухолевого роста, играет важную роль в регуляции клеточного цикла путем замедления перехода клеток из фазы G1 в S-фазу и, следовательно, действует в качестве супрессора опухолей. В ретроспективном исследовании по типу описания серии случаев Chakravarti A. провел анализ выживаемости 67 пациентов и установил, что утрата экспрессии p16 была связана со снижением выживаемости пациентов ($P=0,0078$), риском прогрессирования заболевания ($P=0,0007$) и развитием метастазов ($p=0,026$). Kudahetti S. с соавт. изучили экспрессию трех маркеров клеточного цикла (p16, Rb и p21) у пациентов с локальным раком простаты и установили, что экспрессия p16 была единственным значимым предиктором 10-летней выживаемости пациентов ($p < 0,001$) [19].

Ген фосфатазы и гомолога тензина (PTEN) кодирует и экспрессирует белок опухолевой супрессии, который в свою очередь инактивирует фосфатидил инозитол-3-киназный путь (PI3K), приводит к торможению дальнейшей передачи сигнала к мишеням, обладающим антиапоптотической функцией и регуляцией пролиферативной и миграционной активности клеток [7]. В связи с регуляцией передачи клеточного сигнала потеря экспрессии PTEN приводит к чрезмерной активации протеин-киназы, имеющей связь с неконтролируемой пролиферацией клеток, торможением апоптоза и усилением ангиогенеза опухоли [43]. Потеря экспрессии PTEN отмечается при прогрессирующем РПЖ и ассоциируется с высоким риском рецидива и развитием ранних метастазов у пациентов с локализованным РПЖ [45]. Отсутствие активности гена PTEN, отвечающего за выработку белка при делеции в локусе хромосомы 10q23, способствует рецидиву РПЖ [7,45]. Rescigno P. и соавт. (2018) в недавней работе выявили, что в случае применения доцетаксела при метастатическом КРПЖ потеря экспрессии PTEN ассоциирована с более короткой медианой ОВ (25,4 против 34,7 месяцев, ОР 1,66; 95% ДИ: 1,18-2,13; $p = 0.001$). Однако наличие экспрессии PTEN не было связано

с медианой ВВП (8,0 против 9,1 месяцев, ОР 1,20; 95% ДИ: 0,86-1,68; $p = 0,28$) и уровнем ответа ПСА в ответ на терапию (53,4% против 50,6%; $p = 0,74$) [112].

Обычно в тканях РПЖ отмечается гиперэкспрессия протонкогена МУС, которая увеличивается в большинстве случаев местно-распространенной или метастатической форме РПЖ (в т.ч. КРРПЖ) [111]. В ряде исследований была изучена взаимосвязь экспрессии протоонкогена с клиническими показателями заболевания. Так в работе Hawksworth D. отмечалась гиперэкспрессия в 37,4% случаев (34 из 31 образцов опухоли), корреляционный анализ Пирсона установил положительную связь уровня экспрессии С-МУС только с ERG ($R = 0,42$, $p = 0,0042$), слабая отрицательная корреляция наблюдалась с экспрессией РСА3 ($R = -0,26$, $p = 0,0160$). При оценке показателей выживаемости у пациентов с самым высоким уровнем экспрессии С-МУС наблюдалась тенденция к более высокой вероятности и более высокой скорости развития БХР, чем у пациентов с более низкой экспрессией С-МУС. Благодаря данному наблюдению построенная модель Кокса помогла установить, что уровень экспрессии С-МУС в опухолевой ткани является независимым предиктором биохимического рецидива (отношение шансов = 1,229, $P = 0,0085$) [72].

Химерный ген TMPRSS2-ERG является результатом процесса слияния андроген-регулируемого гена TMPRSS2 с наиболее часто встречающимся при РПЖ представителем онкогенного ETS семейства факторов транскрипции ERG. Было продемонстрировано, что TMPRSS2-ERG обнаруживается у 30,0-50,0% пациентов с аденокарциномами ПЖ [33,139]. Тканевую экспрессию TMPRSS2-ERG определяют с помощью флюоресцентной гибридизации *in situ* и количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией. TMPRSS2-ERG в ткани демонстрирует высокую специфичность (до 99,0%) и чувствительность (до 86,0%) в отношении РПЖ и ПИН высокой степени. В 2017 году на заседании Американского общества клинической онкологии (США, ASCO) представлено было исследование III фазы (абстракт 5012), в котором предположено, что опухолевая экспрессия онкогена ERG может быть предиктором эффективности доцетаксела в комбинации с АДТ у

метастатического РПЖ [109]. По мнению Sh. Rajpar, ERG-позитивный статус ассоциирован с удлинением времени до прогрессирования заболевания. В рамках данной работы были изучены биопсийные материалы двух исследований-GETUG 12 и GETUG 15 и было установлено, что у пациентов с ERG-негативным статусом уровень выживаемости без прогрессирования (ВБП) значимо не отличался в случае добавления доцетаксела к АДТ, в сравнении только с АДТ (13,2 против 10,6 месяцев). В то время как у пациентов с ERG-позитивным статусом уровень ВБП был достоверно выше в группе доцетаксел плюс АДТ (10,7 против 18,8 месяцев). В рамках работы не удалось предсказать уровень ВБП по уровню PTEN и Ki-67 экспрессии (HR 0,57; 95% ДИ: 0,30–1,04; $p = 0,06$). Основываясь на результатах этого исследования, ERG статус опухоли может стать критерием отбора для пациентов, подходящих для химиотерапии доцетакселом [66].

Несколько ранее Bismar T.A. (2012) исследовал экспрессию белка ERG на операционном материале пациентов после трансуретральной резекции предстательной железы (ТУРПЖ) образцах 312 мужчин с диагнозом РПЖ (в т.ч. 160 пациентов с КРПЖ). В ходе работы установлено, что уровень экспрессии ERG связан со степенью дифференцировки опухоли по Глисону ($p < 0,0001$), объемом опухоли ($p = 0,04$) и СВ ($p = 0,15$) [37].

Сегодня для ряда рецепторов, ферментов и структурных белков доказана важная роль в патогенезе опухоли, диагностическая и прогностическая значимость того или иного БМ. Однако широкое использование иммуногистохимических БМ ограничено в клинической практике из-за отсутствия комплексного подхода к ИГХ диагностике рака. Приоритетной практической задачей является создание набора из всех доступных ИГХ маркеров, способных подробно охарактеризовать течение РПЖ. В рамках настоящей работы ИГХ анализ периперационного материала представляет современный метод диагностики, позволяющий определить гистогенез, степень пролиферативной активности и анаплазии опухолевых клеток, охарактеризовать прогноз и степень клеточных изменений в ответ на проводимое лекарственное лечение.

1.3.1.5. Биологические предиктивные биомаркеры РПЖ-ВР. Потенциальные возможности внедрения микроРНК анализа

Другим направлением в поиске возможных новых БМ с 2006 года являются молекулы микрорибонуклеиновой кислоты - микроРНК [89,90]. МикроРНК – это короткие некодирующие молекулы РНК длиной 19–23 нуклеотида, которые осуществляют посттранскрипционный контроль трансляции и стабильности мРНК [26]. МикроРНК образуются под действием фермента РНК-полимеразы II типа в результате транскрипции кодирующих генов. Количество обнаруженных микроРНК человека постоянно растет и к настоящему времени, согласно последнему обновлению базы данных MiRBase в марте 2018 года, насчитывает 2709 микроРНК [12]. МикроРНК выделенные из биологического субстрата (кровь, моча, ликвор) обозначаются как «циркулирующие», их появление может быть следствием массивного лизиса и гибели клеток или активной секреции клетками. Как правило, микроРНК секретируются живыми клетками в виде микровезикул (экзосом), а из зон некроза микроРНК выделяются в виде белковых комплексов или апоптотических телец.

МикроРНК в неопухолевых клетках являются одним из основных регуляторов экспрессии генов, принимающих участие практически во всех процессах ее жизнедеятельности, поведении, размножения и развития. Злокачественные опухоли характеризуются неконтролируемым делением клеток, фенотип которых определяется нарушением экспрессии различных генов. Поэтому неудивительно, что образование микро-РНК часто нарушено в клетках различных опухолей. Аберрантная экспрессия микро-РНК может являться результатом как мутации, так и метилирования генов, кодирующих микро-РНК. Большинство этих генов локализуется в хрупких сайтах и участках генома, что и объясняет их частую делецию или амплификацию в клетках злокачественных опухолей.

В основополагающем исследовании, проведенном группой Croce, было выявлено, что частая делеция участка хромосомы 13q14 в клетках хронического

лимфолейкоза приводит к нарушению работы двух микро-РНК: микро-РНК-15а, микро-РНК-16-1 (Calin G. 2002). Эти микро-РНК представляют собой первые микро-РНК онкосупрессоры, которые были открыты при исследовании функций микро-РНК в канцерогенезе.

Так недавно в работе Guzel S. попытались сравнить профиль микроРНК секрета ПЖ у пациентов с подтвержденным РПЖ и аденомой простаты с целью определить комбинацию микроРНК, позволяющую достоверно выявлять случаи злокачественной перестройки гистоархитектоники. В качестве БМ отобрали 4 микроРНК, из которых уровень относительной концентрации miR-221, miR-133b, miR-361-3p снижался в образцах со злокачественным потенциалом, либо резко повышался -miR-203 [26].

Параллельно установлено, что микроРНК сохраняется при неблагоприятных физиологических условиях (циклы замораживания-оттаивания, значительные изменения рН среды, длительное нахождение при комнатной температуре) и, в целом, показывает высокую устойчивость к воздействию рибонуклеаз, присутствующих в плазме и сыворотке крови. Данное свойство открывает огромный потенциал возможного изучения miRNA, поскольку огромный пул материала хранится в виде блоков в архивах патологов и может быть использован для экстракции таких молекул. Первая работа по оценке экстракции микроРНК из парафиновых блоков была предпринята еще в 2008 году U.Siebolts. Исследователи оценивали репрезентативность выделения miRNAs (miR-122a, miR-16) из быстрозамороженных образцов и парафиновых блоков (предварительная фиксация формалином) различных тканей мышей и человека. Было установлено, что длительная фиксация в формалине (12-24-72 часа) и длительность хранения материала против обычной обработки тканей не только не влияет на уровень выделяемой miR-122a, но и сопоставима с выделенным материалом из замороженных образцов.

Тем не менее, существует ограниченное количество исследований в литературе по оценке экспрессии miRNA в случае прогрессирования РПЖ после хирургического лечения. Последнее нашло свое отражение в метаанализе 2017

года, где Ozen M. выделил 5 баз данных, содержащих сведения о микроРНК: GSE55323, GSE26245 и GSE26247, GSE65061, GSE62610 и GSE46738 [105]. Наиболее значимые по гиперэкспрессии в изученных базах стали miR-496, miR-137, miR-1, and miR-370. Метилированный ген-хозяин miR-137 является перспективным диагностическим и прогностическим БМ, поскольку непосредственно участвует в передаче сигналов андрогена во время канцерогенеза и прогрессирования опухоли простаты. MiR-1 является БМ рецидива РПЖ, подавляет пролиферацию раковых клеток, метастазирование, ангиогенез, инвазию, остановку клеточного цикла и способствует апоптозу путем эктопической экспрессии [105].

Однако широкое клиническое применение микроРНК до сих пор ограничено. По данным Blenkiron C. (2007) выявил низкую корреляцию экспрессии микроРНК и цитоморфологических факторов предыдущих исследований [39]. Такие различия связаны с особенностями опухолевой ткани или методов обработки материала, дизайном исследования или анализом данных. Кроме того, несоответствие между исследовательскими группами дополнительно ассоциировано с быстрым изменением уровня концентрации микроРНК при стрессе или гипоксии, поэтому время забора и качество транспортировки биоматериала могут повлиять на концентрацию микромолекул.

В рамках настоящей работы оценка наличия экспрессии различных микроРНК, их взаимосвязь с клиническими показателями может быть выполнена только после предварительного профилирования опухолевого материала и выявления наиболее изменчивых типов микроРНК. Подобный многоступенчатый анализ направлен на всестороннюю валидацию полученных результатов, унификацию методов выделения микро-РНК из парафиновых блоков, что позволит впервые провести молекулярный анализ РПЖ на фоне неoadьювантного лечения. Дальнейшее использование полученных данных входе анализа может помочь в предсказании риска развития рецидива рака, и является значимым показателем для изучения.

1.4. Патоморфологическая характеристика аденокарциномы предстательной железы и особенности патоморфоза

Внедрение неoadъювантного метода в качестве нового подхода при местно-распространенном РПЖ может привести к расширению перечня изучаемых гистологических характеристик опухоли, появлению ИГХ показателей и молекулярно-биологических маркеров, а также к обязательному изучению изменений патоморфологических характеристик опухолевой ткани, как показателей чувствительности опухоли к проведенному предоперационному лечению. Наиболее частой гистологической формой рака простаты является аденокарцинома предстательной железы - злокачественная опухоль, возникающая из эпителия протоков или ацинусов. Аденокарцинома простаты $\frac{3}{4}$ случаев локализуется в задней (заднелатеральной) периферической зоне, в $\frac{1}{5}$ случаев в центральной зоне и крайне редко в переходной зоне простаты. К другим редким гистологическим вариантам относится рабдомиосаркома и лейомиосаркома.

Гистологическая характеристика трепанбиоптата ПЖ включает оценку цитологических и архитектурных признаков, таких как нарушение структуры или формы железы, амфифильную цитоплазму, голубой муцин, наличие розового аморфного секрета и кристаллоидов, крупные гиперхромные ядра с хорошо видимыми ядрышками. Все изменения степени дифференцировки аденокарциномы ПЖ оценивают согласно шкале Глисона, предложенной Дональдом Глисоном в 1966 году [42]. Актуальная система гистологической градации РПЖ утверждена на экспертном совете в Чикаго в 2014 году. состоялся, на котором была предложена новая. Консенсусом из 87 специалистов в онко- и уропатологии рекомендовано использование градирующих групп (ISUP1-5), которые продемонстрировали свою корреляцию показателями 5-летней безрецидивной выживаемости 21226 пациентов [13].

В случае проведения радикального хирургического вмешательства главной задачей патолога становится получение максимальной прогностической

информации, которая определяет прогноз и тактику ведения пациента. После измерения объема удаленной железы, патоморфолог окрашивает поверхность железы любыми красящими чернилами для оценки статуса краев резекции [13]. А в случае проведения предоперационного лекарственного лечения возникает вторая задача – оценка типовых и стойких изменений клинических и морфологических особенностей опухоли, которые укладываются в понятие лечебный патоморфоз (ЛП) (Я.Л. Раппопорт, 1962 г.; Е.Ф. Лушников, 1977 г.; Н.А. Краевский, 1976 г.) [15].

ЛП любого новообразования в ответ на неoadьювантное лечение выражается в виде воспалительных изменений и некроза ткани. При этом в первую очередь на фоне выраженных сосудистых расстройств развиваются дистрофические, некротические и воспалительные изменения. Затем, спустя 2 недели, происходит замещение очагов некроза и кровоизлияний соединительной тканью [16]. В результате, происходит изменение морфологической картины опухоли, максимальная степень которой в литературе обозначена как полный опухолевый ответ (ПОО). Частота развития ПОО на неoadьювантную терапию коррелирует с продолжительностью БРВ при опухолях различной локализации (Мозеров С.А. 2016) [16]. Поэтому ЛП (его степени) могут стать независимым БМ, который позволит оценивать эффективность терапии, прогнозировать результаты лечения и выживаемость пациентов с различными злокачественными новообразованиями.

ПОО для РПЖ остается краеугольной темой, несмотря на обилие систем по оценке патоморфологического ответа, основанных на количественной и полуколичественной оценке доли жизнеспособных опухолевых клеток. Сегодня уже понятно, что универсальной системы лечебного патоморфоза рака предстательной железы не существует. Используемые в работе патоморфологами системы Г.А. Лавниковой (1972), Е.Ф. Лушниковой (1977), Н.А. Краевского (1977) нельзя однозначно использовать для оценки изменений РПЖ ввиду их универсальности и неспецифичности для предстательной железы [3,15].

Ранее С. Murphy и соавт. (2016) по данным результатов лечения 37 пациентов после неoadъювантной гормональной терапии (НГТ) выявили 9 признаков изменения гистоархитектоники ткани железы на фоне терапии, включая ранее предложенную систему оценки патоморфоза по системе ABC [59,60]. Последняя оказалась наиболее воспроизводимым подходом к оценке патоморфоза для предстательной железы по результатам РПЭ после неoadъювантной гормональной терапии ($\kappa=0.56-0.7$) [93]. Поэтому данная система оценки проявлений ЛП может быть рекомендована для критической оценки количественных и полуколичественных переменных, которые охарактеризуют конкретные размеры остаточной опухоли в образцах РПЭ после неoadъювантной химиогормональной терапии (НГХТ).

1.5. Лечение РПЖ высокого риска

1.5.1. Роль радикальной простатэктомии

Оптимальное лечение РПЖ высокого риска в настоящее время остается вопросом открытой дискуссии. С момента публикации исследования M. Volla et al. в 1997 г. стандартом считалась комбинированная ЛТ и ГТ, которая продемонстрировала улучшение показателей онкологической выживаемости в сравнении только с лучевой терапией [6, 40]. Основными нежелательными явлениями длительной АДТ являются остеопороз, приливы, развитие гинекомастии, снижение потенции [6]. Поэтому поиск альтернативного варианта лечения для пациентов с РПЖ высокого риска представляет интерес для современной онкоурологии.

По данным опыта клиники Mayo (2008) выполнено 1513 радикальных простатэктомий у пациентов категории высокого риска прогрессирования, при этом 10-летняя БРВ достигала 55%, СВ 95% [41]. Согласно результатам исследования клиники Johns Hopkins University (2010) выполнено 175 РПЭ у пациентов РПЖ-ВР: 10-летняя БРВ составила 68%, а СВ была так же сопоставима 92% [85]. В ходе работы, обе рабочие группы отмечали высокий уровень внутригрупповой гетерогенности РПЖ-ВР, что снижает качество прогноза выявленных данных [107].

Tareen В. и соавт. оценили результаты лечения крупной когорты, состоящей из результатов лечения после 4700 радикальных простатэктомий из группы РПЖ-ВР и выявили, что у данных пациентов повышена вероятность инвазии в семенные пузырьки от 10 до 33%, экстра-капсулярная экстензия составляет 35-71%, метастатическое поражение регионарных лимфоузлов 7-23% [58,137]. Примечательно, что у трети этих пациентов процесс был ограничен простатой, и еще у 50% не было выявлено прогрессирование в течение 10 лет после операции (у 25% отсутствовала прогрессия в течение 2-х лет). У 26-39% пациентов имел место БХР со временем удвоения ПСА больше 10 месяцев.

Касательно техники оперативного вмешательства, стоит отметить возрастающее в последние годы число исследований, посвящённых эффективности минимально инвазивных технологий, в частности лапароскопической РПЭ и робот-ассистированной РПЭ. В этих работах при сравнении обеих методик по поводу РПЖ-ВР частота БХР в короткие сроки варьирует между 13 и 47.2%. Так в работе Silberstein J. (2013) сообщается, что при оценке результатов лечения 1454 пациентов у 961 (66%) и 493 (34%) выполнена открытая и роботизированная простатэктомия соответственно, при этом уровень ПХК составил около 15 % в обеих группах и не выявлено различия в частоте биохимических рецидивов [121].

Согласно клиническим рекомендациям Европейской и Американской ассоциации урологов опция радикальной простатэктомии сегодня является доступным видом лечения только для отдельных пациентов с сТ3а, GS 8-10 или PSA > 20 нг / мл. Но однозначно рекомендуется, чтобы всем пациентам с такими неблагоприятными характеристиками опухоли дополнительно проводилась расширенная тазовая лимфаденэктомия [61]. Хирург обязательно должен выполнять диссекцию не только внешних и obturatorных узлов, но и в области внутренней подвздошной, общей подвздошной артерии с двух сторон до уровня пересечения с мочеточником. Такой подход позволяет удалять до 75% всех задействованных лимфоузлов, поскольку у пациентов с положительными узлами время до прогрессирования напрямую коррелирует с числом пораженных узлов [35]. У пациентов с положительными лимфатическими узлами в своей работе Engel J. и соавт. (2010) обнаружили, что 5-летняя и 10-летняя ОВ составляют 84% и 64%, соответственно после полной РПЭ по сравнению с 60% и 28% соответственно у пациентов, у которых операция была ограничена только удалением ПЖ [61]. Эти результаты еще раз доказывают роль комбинированной операции для пациентов из группы высокого риска. Однако важно понимать, что при этом возникает необходимость дополнительной адъювантной терапии для снижения вероятности развития местного рецидива или системного прогрессирования заболевания, а отсутствие качественно спланированных

проспективных исследований, посвященных сравнительному анализу эффективности различных лечебных опций РПЖ высокого риска, затрудняет и без того нелегкий выбор оптимального лечения в каждом конкретном случае.

1.5.2. Роль лучевой терапии для пациентов группы ВР

Лучевая терапия широко используется в качестве метода лечения рака предстательной железы. Разнообразный спектр радиотерапевтических стратегий, которые могут быть эффективно использованы для лечения как для локализованного так местно-распространенного процесса, отдельно или в сочетании с АДТ. В последние десятилетия лучевая терапия при РПЖ претерпела значительные клинические и технологические достижения, направленные на оптимизацию онкологических результатов лечения рака.

Основываясь на опубликованной литературе, можно считать, что у пациентов из группы высокого риска ЛТ в сочетании с адъювантной АДТ по сравнению только с ЛТ статистически значимо снижает риск биохимического рецидива, клинического прогрессирования, местного рецидива и отдаленных метастазов на 24%, 19%, 36% и 28% соответственно [25]. Такое комбинирование лечение по D'Amico A. (2008) не отражается на увеличении общих нежелательных явлений и смертности от кардиоваскулярных осложнений [55]. улучшает показатели общей и канцероспецифической выживаемости без существенного увеличения токсичности. Однако большинство исследований по комбинации АДТ со стандартными дозами ЛТ проведены в эпоху с самой высокой суммарной дозой 66 Гр (меньше современных на 10 Гр) [25]. Согласно рекомендациям EAU (2020) сочетание долгосрочной АДТ и ДЛТ сегодня является стандартом лечения для пациентов высокого риска прогрессирования.

В протоколе NCIC CTG PR-3/MRC PR07/ SWOG, включившем 1205 мужчин с РПЖ-ВР (в том числе со стадией Т3–4 1057 человек; Т2 и ПСА более 40 нг/мл – 119; Т2 и PSA больше 20 нг/мл и сумма Глисона более 8 – 25 больных),

пациенты были рандомизированы на постоянную ГТ с или без ЛТ. При средней продолжительности наблюдения 6 лет, добавление ГТ к лечению значительно уменьшило риск смерти как в целом, так и от РПЖ [143]. Таким образом, у рассматриваемой когорты больных при лечении методом лучевой терапии предполагается проведение минимум 6-месячного цикла ГТ, а при местной распространенности и адекватной переносимости – продолжительная (2 года) системная (гормональная) терапия.

В работе Spratt D. и соавт. (2017) из 156 пациентов с локализованным РПЖ и рецидивом в регионарных лимфоузлах после ЛТ у 30,8% была установлена клиническая стадия \geq T3a, у 41% сумма Глисона при биопсии была \geq 8, а 28,8% имели уровень ПСА >20 нг/мл и, в целом, 62,8% до начала лечения были отнесены к группе высокого риска [125].

Другое направление в радиотерапии РПЖ-это комбинация брахитерапии, АДТ в сочетании с дистанционной лучевой терапией, поскольку данная тримодальная опция улучшает непосредственно ВБП и ОВ от РПЖ. Так в проведенном исследовании на данных 1342 пациентов (ПСА > 20 нг/мл, стадия \geq cT3 или биопсия GS 8-10), Dattoli M. и соавт. (2010) продемонстрирована БРВ 74% за период наблюдения 16 лет [56].

Тем не менее, сегодня у мужчин с диагнозом РПЖ-ВР, согласно рекомендациям Европейской ассоциации урологов, сочетание АДТ и проведение высокодозной радиотерапии являются золотым стандартом лечения данной категории пациентов. Здесь нет единого консенсуса относительно сроков и продолжительности гормонального лечения. Однако многие предлагают, что для пациентов из промежуточного риска оптимальным считается 6 месячный курс АДТ и 2 года для пациентов из группы РПЖ-ВР.

1.5.3. Место медикаментозной терапии в лечении РПЖ-ВР

Лечение пациентов с РПЖ высокого риска представляет собой два терапевтических аспекта: необходимость локального контроля над опухолью и достижение системного контроля над микрометастазами. Эти обстоятельства являются предпосылками для изучения химиотерапии в неoadьювантном режиме, поскольку именно она может повлиять на понижение стадии заболевания при локализованном или местно-распространенном процессе, что впоследствии облегчает оперативное лечение (снижение частоты ПХК) и обеспечивает длительность наблюдения за пациентом, а также позволит увеличить уровень БРВ и СВ.

РПЖ – это андрогензависимая опухоль, поэтому первой привлекательной терапевтической концепцией для нее является неoadьювантная гормональная терапия (НГТ). Понятие НГТ впервые было предложено в 1944 г. В.Vallet, который выполнял радикальную промежностную простатэктомия пациентам, предварительно подвергнутым двухсторонней орхиэктомии [141]. Повторно интерес к НГТ возник после внедрения скрининга РПЖ с конца 80х годов XX века. Анализ данных по применению НГТ показал, что, несмотря на более благоприятные результаты по ряду показателей (меньше частота положительного хирургического края, инвазии в регионарные лимфоузлы и выше ограниченность опухолевого процесса железой), применение АДТ в неoadьювантном режиме влияет на продолжительность ОВ или СВ [118].

По данным Алексеев Б.А. (2006), Kollermann J. (2004), Kumar S. (2006) НГТ приводит к уменьшению объема опухоли на 30-50%, достоверному снижению уровня ПСА на 40-90%, к понижению патоморфологической стадии в 30% и числу выявления опухолевого роста по линии резекции в 18-37% (статистически достоверно только для клинической стадии T2) [1,82,83]. Однако ни в одном из исследований не выявлено достоверных различий в БРВ и длительности периода до развития прогрессирования у больных. Именно поэтому гормональная терапия до операции не может считаться стандартным методом лечения для

локализованного и местно-распространенного РПЖ. По данным McLeod DG. (2003) приблизительно в 15% случаев РПЖ является изначально резистентным к гормональному лечению, что в совокупности с отсутствием данных об улучшении выживаемости, привели к идее о применении возможностей химиотерапии для РПЖ [92].

Сегодня общее представление клиницистов о химиотерапии заключается в возможном варианте медикаментозного лечения, который позволяет замедлить или полностью остановить рост раковых клеток. Химиотерапию часто рекомендуют сочетать с АДТ в качестве 1-й линии терапии, когда рак уже распространился за пределы предстательной железы (в кости или других органы). Такая терапия 1 линии направлена на увеличение общей выживаемости. К наиболее часто применяемым препаратам такой терапии относят производные таксанов: доцетаксел и кабазитаксел. Это нашло свое подтверждение в исследованиях SWOG 9916 и TAX 327, где было выявлено увеличение ОВ, время до прогрессирования, повышен контроль за болью и уровнем ПСА при применении доцетаксела и митоксантрона. Тем не менее, обычное использование таксанов в предоперационном режиме до сих пор не рекомендуется, так как проведенные исследования были недостаточными, и ни одно из них не показало надежные результаты контроля за онкологическим процессом. Так работы, изучающие комбинацию АДТ и предоперационной химиотерапии Van Roppel H., Soloway M., Abrahamsson P. при раке предстательной железы не смогли показать убедительные клинические данные или преимущества по ОВ [142]. Однако, другая часть исследователей считает, что неoadъювантный режим химиотерапии (НХТ) рака простаты возможно стоит рассматривать с позиции локального контроля над опухолью и влияния на микрометастазирование [99]. В сравнении: при таком заболевании, как рак молочной железы, неoadъювантная терапия способна приводить ПОО до проведения хирургического вмешательства. Локальный контроль над болезнью прогнозирует улучшение ОВ и безрецидивной выживаемости не только для молочной железы, но для других локализаций [117].

Неoadьювантная монотерапия доцетакселом проведена в исследованиях раннего периода: Dreicer R.(2004), Febbo P.(2005), Magi-Galluzzi C. (2007), Носов А.К.(2014). Средний возраст пациентов составил 59,5 (47-68,6) лет в относительно небольших сериях исследований ($26,5 \pm 3,75$ человек). Режимы введения не отличались друг от друга: внутривенное введение доцетаксела 36-40 мг/м² осуществлялось на протяжении 30 минут еженедельно. Радикальная простатэктомия и расширенная билатеральная лимфаденэктомия в указанных исследованиях выполнялись 1-2 хирургами в среднем через 4 (от 3 до 6) недели после завершения химиотерапии. Средний уровень ПСА до начала терапии составлял 9,93 (2,5-30,1) нг/мл, частота клинически местно-распространённого процесса варьировалась от 16 до 57.2% случаев, однако на фоне НХТ изменение (повышение) стадии отмечено в половине случаев. Предоперационный уровень простат-специфического антигена в исследовании Dreicer R. составил $12,0 \pm 1,86$ (95% ДИ: 8,20 – 15,8). После проведенных 6 циклов монотерапии доцетакселом у 79% мужчин выявлено достоверное снижение послеоперационного ПСА, а у остальных наоборот отмечен рост антигена после завершения лечения [57]. Более поздние работы также подтвердили снижение исходного уровня ПСА: через 2 месяца от начала лечения уровень составлял 34% в сравнении с исходным, еще через 6 месяцев медиана достигла 64% [63]. Несмотря на высокие ответ по ПСА на проводимую терапию, патоморфологическое исследование операционного материала выявило во всех трех исследованиях случаи только резидуального заболевания и ни одного ПОО. У Dreicer R. в 89% пациентов в исследовании отмечено ЭКЭ и инвазия в семенные пузырьки у 32% больных. Такой же уровень местно-распространенного процесса и вовлечения регионарных лимфоузлов демонстрирует Magi-Galluzzi C. (39,3% и 14,3% ($P > 0.05$) соответственно [126, 128]. Однако именно его работа, за счет продолжительной медианы наблюдения (mFU) 49.5 месяцев (23-72 месяца) против 23 месяцев (Dreicer) и 26,5 месяцев (Febbo), показала приемлемые результаты лечения: 43% не нуждались в дополнительной терапии по поводу рецидива.

Самая продолжительная по наблюдению (11,4 года) за развитием рецидива после РПЭ у пациентов промежуточного и высокого риска является отечественная работа Носова А.К. и соавт. [18]. На фоне НХТ уменьшение ПСА более чем на 50 % зафиксировано у 11 из 21 (52,4 %) пациента, у 9 (42,9 %) выявлено уменьшение уровня маркера менее чем на 50 %, и в 1 случае на фоне ХТ отмечено повышение уровня ПСА с 27 до 64 нг /мл. Среднее значение уровня ПСА до терапии составило $28,5 \pm 30,3$ нг/мл, а снижение достигло $13,4 \pm 13,1$ нг/мл ($p = 0,035$). За период наблюдения в исследуемой группе умерли 4 пациента (2 от прогрессирования рака предстательной железы). Статистически значимых различий между 5-летней ОВ и БРВ в группах хирургического и комбинированного лечения выявлено не было при том, что частота ПХК в группе НХТ достигала 81% против 52,2% контрольной группы ($p=0,044$) и не выявлено ни одного пациента со стадией pN+ ($p > 0,05$). По мнению авторов, они смогли получить расхождение кривых раково-специфической выживаемости только в результате продолжительного наблюдения (60 месяцев), несмотря на то, что в группе НХТ было большее количество местно-распространенных форм заболевания и случаев ПХК, что подчеркивает необходимость правильной стратификации пациентов до начала комбинированного лечения.

Неoadьювантная химиотерапия доцеткселом в комбинации с АДТ представлена в 7 работах: Hussain M. (2003), Prayer-Galetti T. (2007), Chi K. (2008), Narita S.(2012). Средний возраст пациентов среди исследований по неoadьювантной химиогормональной терапии составил 63.8 лет со средним числом пролеченных пациентов 44, 2 (18-72). Однако в отличие от монотерапии, режимы введения доцетаксела сильно варьировались: от 36мг/м² еженедельно в течение 3 циклов до 70-75мг/м² каждый 21 день в течение 3-4 циклов. Стандартизированное оперативное вмешательство выполнялось через 4-6 недель после последнего введения химиопрепарата.

Примечательными являются три работы Hussain M. (2003), Prayer-Galetti T. (2007) и Narita S.(2012), где в качестве гормонального препарата был использован эстрамустин. Особенность этого препарата с эстрогеновым компонентом,

несмотря на высокую частоту развития венозных тромбозов, обусловлена ранними оптимистичными результатами исследования Clark P. (2001): 18 пациентов, получивших 3 цикла этопозида и эстрамустина, достигли такого же противоопухолевого эффекта (регресс по ПСА более 50%, стадии заболевания, число позитивных хирургических краев), как после неoadьювантной гормональной терапии [46]. Первым о результатах комбинированного использования эстрамустина и доцетаксела стала работа Hussain M. (2003) из университетской клиники Мичигана [75]. Медиана надира ПСА составила 0,5 нг/мл, 76% пациентов через 6 циклов лечения достигли 90% снижения ПСА, у двух пациентов ПСА после терапии было меньше 0,2 нг/мл, а гистологическое исследование операционного материала показало наличие резидуальной опухоли во всех образцах.

Prayer-Galetti T. (2007) первым обнаружил порог ПОО в 5% (3 пациента) на проводимую терапию. При медиане наблюдения 53 месяца у 42% мужчин отсутствовали признаки рецидива заболевания, а 5-летняя БРВ у пациентов с ППО достигала 85% [106]. Еще больший ПОО 11,1% показан на маленькой группе пациентов в работе Narrita S. (2012), при этом авторами не выявлено случаев позитивного хирургического края, частота вовлечения регионарных лимфоузлов в 22,2% не отличалась от предыдущих серий (18,1% и 21% в работах Sella и Prayer-Galetti соответственно), а уровень БРВ за период медианы наблюдения в течение 18 месяцев достиг 80% [96]. В другом многоцентровом исследовании фазы II Chi (2008) уровень ПОО достиг 3%, медиана наблюдения 3,5 года БРВ составила 70% [44]. Во всех работах не выявлено однонаправленной динамики снижения/повышения стадии заболевания и влияние на БРВ: Thalgott при сравнении T-стадии по данным МРТ и послеоперационной гистологии отмечает снижение T-стадии в 48,3%, Narita в 28%. Обобщая данные по НГТ в комбинации с доцетакселом, выявлено однозначное положительное влияние данной схемы на клинические, радиологические и патоморфологические показатели течения РПЖ. Однако требуется дальнейшее подтверждение полученных результатов при долгосрочном наблюдении в условиях III фазы

клинических исследований. А с учетом отсутствия оптимальных данных по достижению ПОО и клиническому значению этих результатов на общую выживаемость- действующие клинические рекомендации выступают против назначения ХГТ для пациентов с локализованным или местно-распространенным РПЖ-ВР.

На основании вышеуказанного материала можно утверждать, что развитие лекарственного лечения РПЖ-ВР и неудовлетворенная потребность в качественном составе БМ дают значимые предпосылки для дальнейшего поиска предикторов БРВ и ОВ с целью отбора подходящей популяции пациентов для НХГТ доцетакселом. Основные трудности, с которыми приходится сталкиваться исследователям, необходимость проведения сравнительных исследований, анализ корреляции БМ с клиническими конечными точками (ВБП, БХР) и с друг другом, разработка панелей, применимых к нескольким клиническим контекстам, должны предоставлять дополнительную независимую информацию к установленным клиническим и патологическим переменным. Другим перспективным направлением считаются БМ, позволяющие предсказывать токсичность лечения. В целом, маловероятно, что один БМ сможет направлять будущие клинические решения, а последние тенденции указывают на разработку панелей, объединяющих множество разных маркеров, с базовой статистической сложностью, которая должна быть разработана априори в клинических испытаниях или мета-анализах.

ГЛАВА II

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Дизайн исследования

Для решения поставленных задач в ретроспективный анализ вошли результаты хирургического лечения пациентов с диагнозом рак предстательной железы, проходивших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова МЗ РФ за период с 2008 по 2017 года (10 лет). Всего было выявлено 584 хирургических вмешательства в объеме радикальной простатэктомии (открытые и лапароскопические операции) за указанный период времени. Из них 158 случаев для дальнейшего анализа исключены ввиду отсутствия полноты представленных данных. У всех 426 пациентов выполнена оценка БРВ выживаемости в зависимости от распространенности онкологического процесса по результатам послеоперационного стадирования. В результате анализа выявлена следующая зависимость: медиана БРВ для локализованного процесса ($\leq pT2c$) составила $46,94 \pm 27,48$ месяцев (ДИ 95%: 25,32-30,02), в случае местно-распространенного процесса для стадии pT3a $43,47 \pm 28,94$ месяца (ДИ 95%: 24,83-34,67), для стадии $\geq pT3b$ $26,77 \pm 21,38$ месяца (ДИ 95%: 18,62-25,11), а для случаев с вовлечением регионарных лимфатических узлов pTxN1 выявлено снижение БРВ до $20,71 \pm 15,44$ месяца (ДИ 95%: 15,39-26,04).

Полученные различия по БРВ на данных центра НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова за 10 лет демонстрируют яркие различия между распространенностью аденокарциномы ПЖ и уровнем БРВ и неудовлетворительные результаты лечения для категории пациентов группы высокого и очень высокого риска. В связи с чем была сформирована таргетная когорта пациентов (контрольная группа для сравнения) из числа 426 прооперированных больных. В данную контрольную группу включены пациенты с местно-распространенным раком предстательной железы высокого и крайне высокого риска рецидива заболевания (рис.1).

С целью оценки эффективности неoadъювантной химиогормональной терапии перед радикальной простатэктомией в основную группу вошли результаты лечения пациентов, включенных в исследование эффективности применения доцетаксела и дегареликса в качестве неoadъювантной химиогормонотерапии перед радикальной простатэктомией при раке предстательной железы. Данное исследование проходило в условиях хирургического отделения онкоурологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» в период с марта 2014 года по декабрь 2018 года. Исследование получило одобрение локального этического комитета ФГБУ «НИИ онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава РФ, протокол №1 от 13.02.2014 года, до выполнения процедур всеми пациентами было подписано информированное согласие об участии в исследовании. На данный вариант НХГТ получен патент № RU 2675695 «Способ лечения рака предстательной железы высокого и очень высокого риска».

Копия протокола данного исследования, форма информированного согласия и другие письменные документы, необходимые для проведения исследования, представлены во внутренний этический комитет НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова перед началом работы. За время исследования дополнений и изменений, требовавших одобрение этического комитета, в протокол внесены не были. Вся информация о ходе проведения исследования ежеквартально была представлена в распечатанном и электронном виде для ознакомления комиссии этического комитета.

Основными критериями включения больных РПЖ-ВР в исследование на этапе скрининга являлись:

- 1) в случае локализованного рака предстательной железы: морфологически подтвержденная аденокарцинома простаты, сумма баллов по Глисону >7 баллов (ISUP grade 4/5) или ПСА > 20 нг/мл или клиническая стадия $\geq cT2c$; или в случае местно-распространенного рака предстательной железы: гистологически подтвержденная аденокарцинома простаты с суммой баллов по Глисону ≥ 7

баллов (ISUP grade 3-5), любой уровень ПСА нг/мл и клиническая стадия \geq Т3 или наличие клинически позитивных регионарных лимфоузлов;

- 2) ожидаемая продолжительность жизни не менее 10 лет;
- 3) возраст моложе 75 лет;
- 4) удовлетворительное общее состояние (статус Карновского $>$ 70%);
- 5) пересмотр биопсийного материала предстательной железы в условиях ПАО НМИЦ онкологии для предупреждения расхождения гистологического диагноза;
- 6) подписанная форма информированного согласия для участия в клиническом исследовании.

Основными критериями исключения больных с РПЖ-ВР из исследования на этапе скрининга являлись:

- 1) наличие соматических или острых/инфекционных заболеваний, являющихся противопоказанием для химиотерапии и/или планового оперативного лечения;
- 2) наличие или подозрение на метастатический характер процесса;
- 3) проведение какого-либо медикаментозного лечения по поводу РПЖ до момента включения в исследования (допускается использование альфа-адреноблокаторов);
- 4) наличие конкурентного злокачественного заболевания, по поводу которого проводилась химиотерапия или дистанционная лучевая терапия.

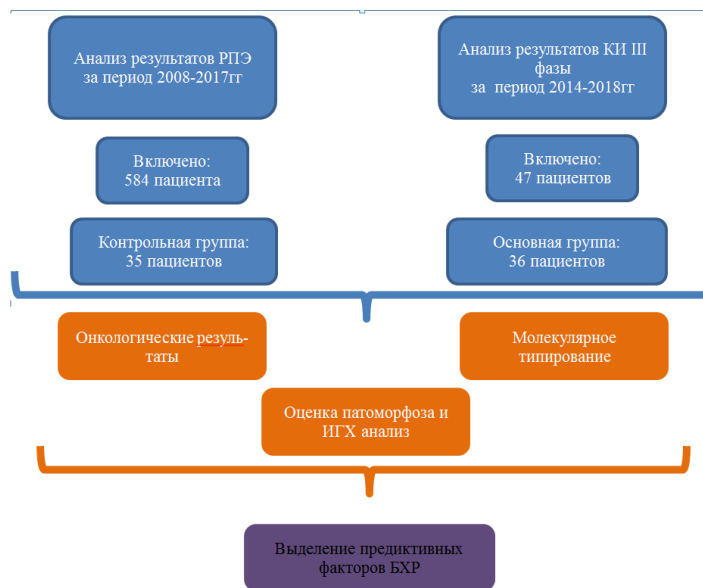


Рисунок №1-Дизайн клинического исследования и распределение пациентов.

Базовые характеристики пациента, которые оценивались при включении в исследование:

- 1) исходный уровень общего ПСА (нг/мл), объем предстательной железы по данным магнитно-резонансной томографии (МРТ) малого таза (см³) (определяемый по формуле $V = \text{Верхне-нижний размер(см)} \times \text{переднее-задний размер(см)} \times \text{поперечный размер(см)} \times 0,523$, где 0,523 коэффициент для расчета формулы объема эллипсоида);
- 2) инициальная сумма баллов по Глисону в соответствии с заключением патолога по ISUP классификации и степень распространенности опухоли по действующей TNM классификации [134].

2.2. Режимы лечения

2.1.1. Неoadъювантная химиогормональная терапия

Пациентам, включенным в исследование, запланировано проведение 6 циклов химиотерапии препаратом доцетаксел в дозе 75 мг/м² внутривенно капельно с интервалом в 21 день. Гормональная терапия препаратом дегареликс в инициальной дозе 240 мг, разделенной на 2 введения по 120 мг с поддерживающей дозой 80 мг через 1 месяц после введения начальной дозы, 1 раз в 28 дней в течение 6 месяцев. Премедикация со дня начала терапии будет включать введение дексаметазона за 12, 1 час до введения химиопрепарата доцетаксел и через 6, 12, 30 часов после введения доцетаксела. Применение антиэметиков - по показаниям.

С целью регистрации нежелательных явлений и определения дальнейшего режима введения в промежутках между циклами будет проводиться повторное обследование со сбором жалоб, физикальным обследованием, взятием анализов крови на ПСА, клинических и биохимических анализов крови. Все нежелательные явления оценивались в соответствии с Международной терминологией критериев нежелательных явлений (CTCAE) v4.0. от 28.05.2009

года [23]. В случае развития нежелательного явления 2-4 степени производилась потребность редукции дозы вплоть до полной отмены препарата в соответствии с международными стандартами. В случае обнаружения лекарственной непереносимости доцетаксела, развития нежелательных явлений 3-4 степени, требующих полной отмены лечения и отсрочки более чем на 4 недели, пациенту было показано исключение из исследования с последующим направлением на другой вид лечения (комбинация АДТ и ЛТ, РПЭ в комбинации с АДТ и ЛТ). В случае развития гормонрефрактерного РПЖ на фоне лечения (кастрационный уровень тестостерона $>0,5$ нг/мл, рост уровня ПСА в 3-х последовательных анализах с интервалом в 2 недели, появление новых очагов или прогрессирование измеримых очагов) пациент исключался из протокола и переводился на лечение согласно действующим стандартам лечения. В ходе лечения было допустимым использование препаратов для коррекции сопутствующей соматической патологии, гемостатическая терапия, противотромбоэмболическая терапия и допускается антибактериальная терапия.

После окончания 6 циклов неoadьювантного лечения проводилась повторная оценка пациентов данной группы на предмет радикальности планируемого хирургического вмешательства (МРТ малого таза и остеосцинтиграфия), измерялся уровень ПСА после 6 цикла ХТ (нг/мл), измерение объема ПЖ по данным МРТ малого таза (см³). Окончательная оценка эффективности 6 циклов НХГТ перед РПЭ представлена в Таблице №2.

Таблица №2—Оценка эффективности лечения на фоне НХГТ.

Полный ответ	отсутствие определяемой опухоли по данным МРТ малого таза;
Частичный ответ	уменьшение распространённости - с изначально увеличенных ЛУ (>10мм) до нормальных размеров (<10мм) отсутствие ранее определяемого распространения на семенные пузырьки (с \geq T3b до <T3b) и/или экстрапростатического распространения (с \geq T3a до <T3a)
Стабилизация	отсутствие изменений по данным лучевой диагностики
Прогрессирование	любое увеличение клинической стадии.

2.1.2. Хирургический этап лечения

Хирургический этап лечения запланирован в объеме радикальной простатэктомии без нервосбережения, с двухсторонней лимфаденэктомией (ЛАЭ) до бифуркации аорты/нижней брыжеечной артерии. Все вмешательства выполнены с применением малоинвазивных технологий- 2 и 3D-лапароскопии со стандартным размещением троакаров (рис.2). Все операции выполнялись 3 основными хирургами клиники с достаточным опытом (более 50 лапароскопических простатэктомий) согласно рекомендациям. Время выполнения операции с момента окончания последнего цикла неoadьювантного лечения составило 3-6 недель. Интраоперационно в обеих группах фиксировались все осложнения, а также продолжительность оперативного вмешательства (мин) и объем кровопотери во время операции (мл).



Рисунок №2–Схематичное (А) и интраоперационное (Б) расположение портов при выполнении видеоэндоскопической простатэктомии (вид сверху)

Оценка интраоперационных и послеоперационных осложнений проводилась согласно принятой международным сообществом классификации Clavien-Dindo; продолжительность госпитализации (койко-дней), время удаления уретрального катетера (дней).

2.3. Методы обработки биопсийного и послеоперационного материала

2.3.1. Патоморфологическое исследование материала

Обработка и исследование удаленного операционного материала производилась в соответствии со стандартами [13,62,126]. После РПЭ нефиксированную ПЖ оценивают по ширине, длине, высоте, а объем ПЖ рассчитывается по формуле эллипсоида. В обязательном порядке производилась маркировка ПЖ чернилами, что позволяет оценить статус краев резекции. ПЖ предварительно зафиксировалась в 10 % забуференном растворе формалина в течение ночи.

После фиксации материала осуществлялась вырезка ПЖ по стандартной методике – забор фрагментов ткани в кассеты, железа забиралась тотально. Далее ткань ПЖ проходит стандартные процедуры дегидратации, заливки в парафин и микротомии с толщиной среза 4-5 мкм. Полученные микропрепараты окрашиваются гематоксилином и эозином.

Оценку степени дифференцировки опухоли и стадии опухолевого процесса осуществляли согласно рекомендациям международной ассоциации патологов ISUP 2016, классификации TNM 7-й пересмотр [62,134]. В исследуемой группе пациентов выполнено сравнение пред- и послеоперационного материала на предмет повышения или понижения степени дифференцировки опухоли по Глиссону, распространённости процесса по TNM, наличия метастатического процесса в удаленной тазовой лимфатической клетчатке (регионарные подвздошные/пресакральные/обтураторные лимфоузлы), оценен хирургический край резекции.

2.3.1.1. Методика оценки лечебного патоморфоза аденокарциномы предстательной железы

Для оценки проявления ЛП на фоне НХГТ использована методика Murphy С. из University of Washington (г. Сиэтл, США) [59,60,93]. Патоморфологическое исследование операционного материала проводилось посредством анализа гистоархитектоники и цитологических признаков - наличие ядрышек, обнаружение интактных опухолевых желез или отдельных клеток, процент клеточной плотности в пределах опухолевого ложа (размер рассчитан по границе инвазивного компонента опухоли), что позволило разделить образцы на три отдельные группы по системе ABC [93]. Согласно этой системе, к группе А отнесены случаи с преобладанием изолированных опухолевых клеток и отдельных клеточных кластеров, к *группе В* – образцы с наличием как интактных, так и хорошо сформированных или сливающихся желез, *группе С* – случаи с преобладанием крибриформного паттерна и наличием интрадуктальной карциномы. Присутствие гиалиновых телец “*Corpora amilacea*” рассматривалось как самостоятельный предиктивный фактор и не вошло в данную систему признаков.

2.3.1.2. Иммуногистохимический анализ с использованием тканевых мульти-блоков (ТМА)

В качестве ИГХ БМ были исследованы следующие показатели для изучения: p53, bcl-2, p16, ki67, андрогеновые рецепторы, c-MYC, ERG, PTEN. Данный анализ выполнен методом построения ТМА матриц (всего 83 тканевых фрагмента РПЖ).

Для изготовления ТМА использовались парафиновые блоки, содержащие ткань толщиной не менее 2 мм. Гистологические микропрепараты от соответствующих блоков, окрашенные гематоксилином и эозином, использовались как ориентир для определения представительных участков

опухолевой и гистологически нормальной ткани. Последние отсканированы с помощью сканера гистологических препаратов Pannoramic 250 (3D Histech, Венгрия), а полученные изображения визуально проанализированы и размечены для определения наилучшего места для последующего получения столбика ткани из соответствующего парафинового блока с целью формирования ТМА-мультблока. При помощи установки ТМА Grand Master (3D Histech, Венгрия) изготовлены 3 блока, которые содержали 40, 38 и 7 тканевых фрагмента. Далее парафиновые блоки и стекла после исследования и разметки были расставлены последовательно в нумерологическом порядке (порядок дополнительно зафиксирован в табличном редакторе Ms Excel). Протокол метода:

- 1) подготовка незаполненного блока-реципиента;
- 2) конструирование тканевой ТМА-матрицы (6 этапов);
- 3) микротомия ТМА и прикрепление парафиновых срезов на предметные стекла (блоки ТМА резали обычным способом на ротационном микротоме, перед получением срезов ТМА подрезали так, чтобы срез проходил через все столбики, срезы толщиной 3-4 мкм расправляли в водяной бане и затем приклеивали на позитивно заряженные предметные стекла;
- 4) иммуногистохимическая окраска стекл на автоматизированной системе Ventana BenchMark ULTRA (Vntana, США), использовались ИГХ-маркеры из таблицы 3;
- 5) сканирование окрашенных гистологических препаратов на сканере Pannoramic 250 (3D Histech, Венгрия);
- 6) оценка цифровых изображений ТМА-матриц с помощью программного обеспечения Case Viewer 3D по визуально-количественной шкале.

Пролиферативная активность оценивалась при помощи оценки экспрессии Ki-67. Менее 15% считался низким уровнем, от 15 до 30% — умеренным, свыше 30% — высоким. Индекс Ki-67 оценивался как процентное соотношение специфически окрашенных в коричневый цвет ядер опухолевых клеток к неокрашенным.

Уровень экспрессии p53 исследовался как косвенный признак наличия мутации в гене TP53, выраженный в специфическом окрашивании опухолевых

клеток: мутантный тип окрашивания (как признак мутации) и дикий тип окрашивания (признак отсутствия мутации). Мутантный фенотип p53 признан в случае выраженного ядерного окрашивания 75-100% клеток опухоли или полного отсутствия окрашивания ядер опухолевых клеток (<5%). Дикий фенотип – любой другой вариант ядерного окрашивания.

Таблица №3 – Характеристика ИГХ-маркеров.

Маркер	Позитивный контроль	Производитель	Рабочее разведение	Время инкубации
p53	Молочная железа	DAKO-Agilent	1:100	30 минут (+2 минуты)
p16	Миндалины	CINtec PLUS	1:100	
AR ¹	Простата	DAKO-Agilent	1:50	
PTEN	Простата	DAKO (6H2.1)	1:30	
MYC	Кожа	VENTANA EP121	1:100	
bcl-2	Миндалины	DAKO (124)	1:75	
ERG		VENTANA EPR3864	1:100	
Ki-67	Миндалины	Клон 30-9 VENTANA	1:100	

*AR-андрогеновые рецепторы;

Оценка экспрессии белка p16 (один из регуляторов клеточного цикла) производилась по выраженности и распределению реакции. Негативным окрашиванием считалось полное отсутствие окрашивания опухолевых клеток. Позитивное окрашивание можно разделить на block-type и non block-type. Block-type – выраженное диффузное ядерное и цитоплазматическое окрашивание непрерывного сегмента опухолевых клеток (>70-75% позитивных клеток). Non block-type – прерывистое, только ядерное или цитоплазматическое, мозаичное окрашивание опухолевых клеток. Признаком активации одного из путей онкогенеза, связанного с белком p16 считалось block-type окрашивание.

Экспрессию рецепторов к андрогенам оценивали в процентном соотношении окрашенных ядер опухолевых клеток к неокрашенным и

интенсивности окрашенных ядер в баллах (0 – нет окрашивания, 1 – слабое окрашивание, 2 – умеренное окрашивание, 3 – выраженное окрашивание).

Экспрессия с-МYC оценивалась в процентном соотношении окрашенных ядер опухолевых клеток к неокрашенным. Vcl-2, ERG оценивались по наличию окрашивания, PTEN – оценивалась потеря экспрессии в опухолевых клетках.

2.3.2. Выделение супернатанта РНК из парафиновых срезов с депарафинизацией минеральным маслом

Для проведения исследования использована опухолевая ткань ПЖ (послеоперационный материал), фиксированная 10%-м раствором нейтрального формалина и заключенная в парафин. Парафиновый блок должен содержать ткань аденокарциномы с сохраненной структурой, отсутствием некроза и геморрагий, а также объемом опухолевой ткани не менее 75% от общего объема гистологического материала. Выбор блока ткани для исследования произведен врачом-патологоанатомом. Все срезы подготовлены методом микродиссекции от 3 до 20мкм (по 1-2 среза на исследуемую пару): для анализа нуклеиновых кислот поступило 35 пар срезов. Протокол метода депарафинизации материала: представлен схематично на рис.3.

1. Добавить 1 мл минерального масла в пробирку со срезами. Перемешать на вортексе в течение 10 секунд. Инкубировать в термошейкере при 65⁰С 2 минуты. Ц/ф при 12000-16000 обор/мин в течение 2 минут. Как можно тщательнее удалить супернатант, не захватывая осадок.
2. Внести 1 мл 96%-ого этанола. Перемешать на вортексе в течение 10 секунд. Ц/ф при 12000-16000 обор/мин в течение 2 минут. Как можно тщательнее удалить супернатант, не захватывая осадок.
3. Внести 1 мл 70%-ого этанола (Отмывка №1). Перемешать на вортексе в течение 10 секунд. Ц/ф при 12000-16000 обор/мин в течение 2 минут. Как можно тщательнее удалить супернатант, не захватывая осадок.

4. Добавить 700 мкл Лизирующего раствора. Перемешать на вортексе в течение 10 секунд. Инкубировать в термошейкере при 65⁰С 10 минут. Ц/ф при 12000-16000 обор./мин в течение 2 минут. Перенести 600 мкл супернатанта в новые 2 мл пробирки, стараясь не захватить осадок.
5. Внести в пробирки 10 мкл сорбента и 600 мкл изопропанола. Перемешать на вортексе в течение 10 секунд. Оставить на столе на 5 минут. Ц/ф при 12000-16000 обор./мин в течение 10 минут. Как можно тщательнее удалить супернатант.
6. Внести 500 мкл 70%-ого этанола (Отмывка №2). Перемешать на вортексе в течение 10 секунд. Ц/ф при 12000-16000 обор./мин в течение 2 минут. Как можно тщательнее удалить супернатант.
7. Внести 300 мкл ацетона (Отмывка №3). Перемешать на вортексе в течение 10 секунд. Ц/ф при 12000-16000 обор./мин в течение 2 минут. Как можно тщательнее удалить супернатант. Оставить на столе на 2 минуты.
8. Внести 200 мкл Элюирующего раствора. Перемешать на вортексе в течение 10 секунд. Инкубировать в термошейкере при 65⁰С 5 минут. Ц/ф при 12000-16000 обор./мин в течение 1 минуты. Перенести супернатант в новые пробирки (последние можно оставить в морозильной камере для хранения при -70⁰).

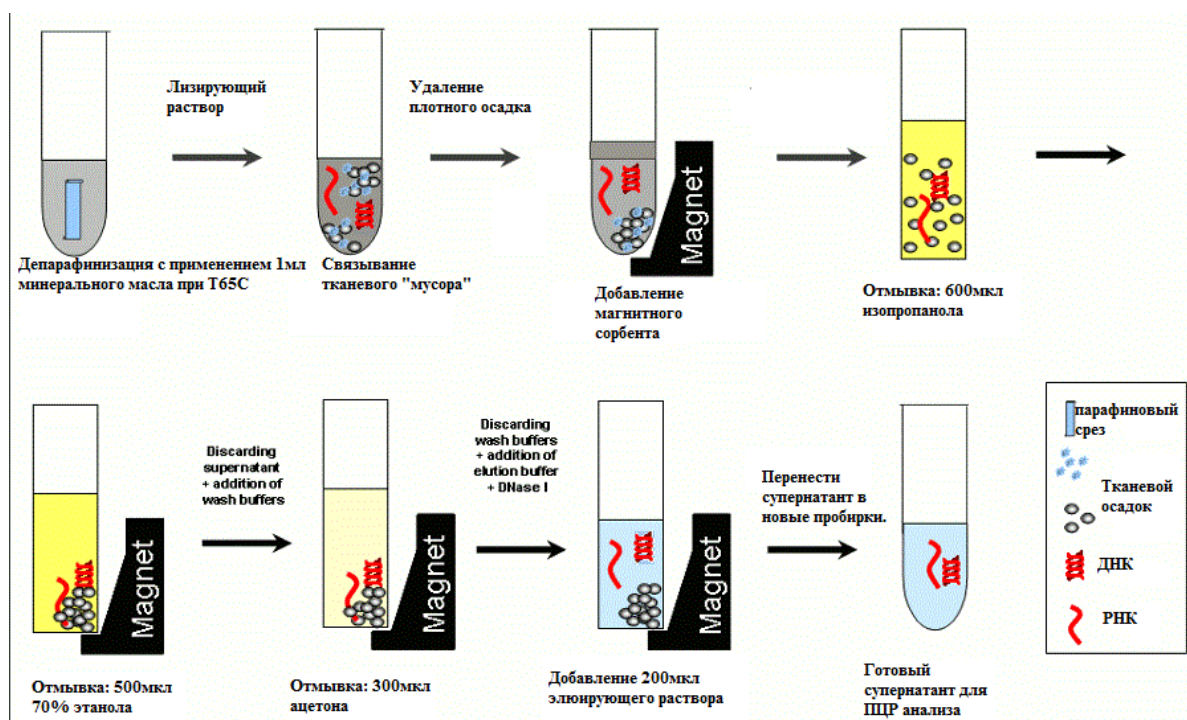


Рисунок №3 –Схема выделения супернатанта нуклеиновых кислот из парафинового блока с использованием магнитного сорбента.

2.3.3. Измерение концентрации нуклеиновых кислот

Уровень концентрации РНК в послеоперационном материале поочередно был определен в основной группе (n=31) и группе контроля (n=35). Для измерения концентрации методом флуориметрии используется флуоресцентный краситель, специфически связывающийся с определённым типом нуклеиновой кислоты, в данном случае РНК, причём интенсивной флуоресценцией обладает только связанная форма красителя. Таким образом, в отличие от спектрофотометрического метода измерения концентрации нуклеиновых кислот данный метод не зависит от присутствия в растворе свободных нуклеотидов, солей, белков и различных растворителей. Весь анализ концентрации выполнен на флуориметре Qubit 2.0 (Invitrogen) по рабочему протоколу № MAN0001987 от 16.02.2015г [108]. Для данного флуориметра использованы одноразовые полипропиленовые пробирки объёмом 500 мкл (Axugen PCR-05-C), объём измеряемого образца 200 мкл. Протокол метода:

1. Установите необходимое количество пробирок объёмом 500мкл для стандартов (Qubit® РНК BR Assay требует 2 стандарта), 31 пробирка для исследуемой группы и 35 пробирок для группы контроля.
2. Специфическая маркировка крышек пробирок.
3. Приготовить рабочий раствор флуоресцентного красителя Qubit® 200мкл для каждого стандарта и для всех образцов путем разбавления реагента Qubit® RNA BR 1: 200 в Qubit® RNA BR Buffer.
4. Добавьте 190 мкл рабочего раствора Qubit® в каждую из пробирок, используемых для стандартов и для образцов.
5. Добавьте 10 мкл каждого стандарта Qubit® в соответствующую пробирку и только затем 10 мкл исследуемых образцов в соответствующие пробирки, перемешайте встряхиванием 2-3 секунды. Будьте осторожны, чтобы не создавать пузыри. При необходимости выполнить центрифугирование.
6. Инкубация всех пробирок при комнатной температуре в течение 2 минут.

7. Провести калибровку прибора растворами с известной концентрацией нуклеиновых кислот (стандарт 1 и 2, последовательно) в соответствии с руководствами к наборам для измерения и флуорометру.

8. Провести измерение образцов (нг/мкл). Если полученное значение концентрации выходит за пределы измерения набора или прибора, выполнить необходимое разведение образца и повторить измерение. Весь расход материала и буферного раствора представлен в таблице 4.

Таблица №4– Qubit® RNA BR Assay Kits: расчёт количества материала на одну исследуемую пробирку.

Тип раствора	Стандарт	Образец
Рабочий раствор «Working solution»	190 мкл	190 мкл
Стандартный раствор из кита №1 и №2	10 мкл	нет
Раствор образца	нет	10 мкл
Общее количество раствора в пробирке перед анализом	200мкл	200мкл

2.3.4. Полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР-РВ) с красителем SYBR green

ПЦР в реальном времени используется для одновременной амплификации и измерения количества искомой молекулы. Преимуществом данного подхода является возможность совмещения детекции и количественного определения специфической последовательности РНК в образце в реальном времени после каждого цикла амплификации. В работе были использованы тест система miRCURY LNA™ Universal RT (Exiqon), которая является микроРНК-специфической системой на основе LNA™, разработанная для чувствительного и точного обнаружения микроРНК в реальном времени с использованием красителя SYBR® green. Метод основан на реакции обратной транскрипции (RT) с

последующей амплификацией ПЦР-РВ с использованием праймеров, усиленных LNA[™]. Весь анализ ПЦР выполнен на амплификаторе CFX96 Real Time System (“Bio-Rad”, США). по рабочему протоколу Exiqon версия 6.2 от июля 2016г [138]. Предварительно установлено необходимое количество пробирок объемом 500мкл для общего «пула» нуклеаз, для нормализации концентрации РНК для исследуемой группы и группы контроля, в случае превышения их концентрации >5 нг/мкл.

Отличительной чертой ПЦР в режиме реального времени –отсутствие стадии электрофореза, что позволяет минимизировать риск контаминации продуктами ПЦР и наличие автоматической регистрации и интерпретация результатов за счет установленного программного обеспечения. Данные особенности позволяют уменьшить число ложноположительных результатов. Протокол метода:

1. Отрегулируйте каждый из образцов матрицы РНК (основная и контрольная группы) до концентрации 5 нг/мкл с использованием воды без нуклеазы.
2. Приготовление реагентов. Осторожно разморозьте 5x реакционный буфер и не содержащую нуклеазы воду (манипуляции требуется проводить на льду при $T \leq 4C^{\circ}$). Смешайте легким встряхиванием. Оставить на льду на 15-20 минут. Непосредственно перед использованием повторно перемешайте.
3. Смешайте все реагенты в соответствии с таблицей №5.

Таблица №5– Реагенты необходимые для реакции обратной транскрипции

Реагент	Объем (мкл)
5x реакционный буфер	2,0
Без-нуклеазная H ₂ O	5,0
Энзим-микс	1,0
Общая матричная РНК (5 нг / мкл) «пул»	2,0
Общий объем	10,0

4. Инкубирование полученной пробирки для RT с пулом нуклеаз РНК (кДНК):
 - a. Инкубировать в течение 60 минут при 42 ° С.
 - b. Инактивировать теплом обратную транскриптазу в течение 5 мин при 95°С.
 - c. Немедленно остудить до 4 ° С (разрешается хранить данный образец при 4°С или заморозить).
5. Развести кДНК для каждой лунки планшета 1:80 с использованием воды без нуклеазы. Разместите поочередно 4 мкл разведенной кДНК в каждую лунку планшета.
6. Комбинируйте мастер-смесь для ПЦР, набор праймеров для ПЦР и кДНК в соответствии с таблицей 6, тщательно перемешать.

Таблица №6– Реагенты необходимые для проведения ПЦР в реальном времени

Реагент	Объем (мкл)
PCR Master mix	5,0
PCR primer set	1,0
Предварительно разведенный пул кДНК, заранее размещенный на планшетке	4,0
Общий объем	10,0

7. Перемешать и отцентрифугировать реагенты. Смешайте реакцию осторожным пипетированием, чтобы убедиться, что все реагенты тщательно перемешаны. После смешивания планшет тщательно запечатать пленкой с оптическим уплотнением в соответствии с рекомендациями производителя. Центрифугирование 1 минута при 1500 оборотах. Эксперимент может быть приостановлен на этом этапе. Планшет разрешается хранить в защищенном от света месте при температуре хранения 4-24С°.
8. Выполнить ПЦР в режиме реального времени в соответствии со стандартным протоколом.

9. Сравнительный анализ группы комбинированного лечения и контрольной группы по степени экспрессии miRNA, предварительно выделенных в Exiqon GenEx qPCR analysis.

10. Представление данных: определение в реальном времени флуоресценции продуктов ПЦР позволяет вычислять первоначальное количество присутствия шаблона в различных образцах. Осуществляется это путем подсчета числа циклов ПЦР, необходимых для достижения заданного уровня флуоресценции.

В связи с тем, что интенсивность флуоресценции отражает количество продукта, то для образцов, которые первоначально имели больше матрицы, потребуются меньше циклов ПЦР для достижения заданного порога флуоресценции, чем для образцов с меньшим количеством матрицы. При этом был определен тот момент Ct (выраженный в циклах ПЦР), когда количество ДНК в реакционной пробирке, то есть сигнал флуоресценции достигает одинаковой для всех образцов. Полученные результаты (уровень Ct) для каждого измерения нормализовали относительно среднего уровня экспрессии всех образцов, с целью определить начальную концентрацию ДНК и, соответственно, РНК в исследуемых образцах по формуле

$$\Delta\Delta Ct = 2^{-(Ct_{MIR} - Ct_{AVER})},$$

где $\Delta\Delta Ct$ – относительная концентрация изучаемой микроРНК в образце; Ct_{MIR} – выраженный цикл ПЦР для данного праймера микроРНК; Ct_{AVER} – средний уровень циклов в изучаемых микроРНК.

2.4. Динамическое наблюдение

Длительность и объем послеоперационного наблюдения будет производиться на основании рекомендаций EAU с учетом риска развития рецидива и прогрессирования заболевания. Будет проведена оценка БРВ, скоррегированной опухоль-специфической выживаемости (ОСВ) и ОВ в обеих

группах. В случае возникновения БХР или опухоль-ассоциированной смерти ситуацию принято считать законченным событием (*complete*), в случае потери связи с пациентом, опухоль-неассоциированной смертью событие принято считать цензурированным (*censored*).

При выявлении по результатам патоморфологического исследования показаний для адъювантной гормональной терапии или лучевой терапии, планируется определение ПСА через 1 месяц с момента выполнения операции и в случае признаков биохимического прогрессирования учитывается показатель БРВ, пациент исключается из протокола и проводится лечение согласно имеющихся стандартов лечения. Во всех случаях исключения из протокола по причине развития биохимического рецидива будет сопровождаться наблюдением пациента до его смерти.

2.5. Статистическая обработка данных

На основе результатов лечения пациентов сформирована база данных пациентов (632 случая) с использованием пакета Microsoft Excel 2016. Статистически достоверные отличия считались при заданном p -value <0.05 (5% уровень различий был принят достаточным для множественного сравнения). Взаимосвязь распространённости опухоли и отношения к группе по системе ABC определена при помощи дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса. Для оценки достоверности различий анализируемых параметров в выборках пациентов были использованы линейные методы статистики: тест Манна-Уитни, тест Фишера, критерий Вилкоксона. Оценка выживаемости (безрецидивной, общей и опухолеспецифичной) происходила при помощи графического метода Каплан-Майера и Log-rank теста. Дополнительно для сравнения БРВ между группами (ABC) использован так же Log-rank тест. Критерий Фишера использован для оценки влияния потери экспрессии генов на выявление метастатической формы рака предстательной железы, степени дифференцировки аденокарциномы по критериям ISUP и распределения по критерию ABC.

С целью оценки взаимосвязи между непрерывными данными был использован корреляционно-регрессионный анализ, с помощью которого определены тип функции зависимости фактора и результативного признака (выживаемости), в т.ч. выделение лучшей модели, и оценка неизвестных параметров уравнения регрессии. Интерпритация значений анализа представлена в таблице 7. Корреляционный анализ определяет характер взаимосвязи переменных (прямой или обратный), а регрессионный - форму зависимости (насколько сильно изменяется переменная в ответ на изменение другой) [140].

Таблица №7 – Вербальные шкалы для значений коэффициентов корреляции Пирсона r и Спирмена r_s .

Корреляция	r или r_s	r или r_s	r или r_s	r или r_s
Низкая, слабая	0,0 – 0,2	0,0 – 0,4	0,0 – 0,4	< 0,7
Посредственная	0,2 – 0,4			
Умеренная	0,4 – 0,6	0,4 – 0,6	0,4 – 0,75	0,7 – 0,8
Хорошая	0,6 – 0,8	0,6 – 0,75		0,8 – 0,9
Отличная, высокая	0,8 – 1,0	0,75 – 1,0	0,75 – 1,0	0,9 – 1,0
Ссылки	Kotrlík, 2011			Neuendorf, 2017

Статистический анализ был проведён с использованием программы «STATISTICA» (версия 10; StatSoft Inc., США), «JASP» (версия 0.11.1, Нидерланды).

ГЛАВА III

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Общая характеристика пациентов. Формирование группы контроля

В ретроспективный анализ вошли результаты хирургического лечения пациентов с диагнозом рак предстательной железы, проходивших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова МЗ РФ за период с 2008 по 2017 года (10 лет). Всего было выявлено 584 хирургических вмешательства в объеме радикальной простатэктомии за указанный период времени. Из них 158 случаев для дальнейшего анализа исключены ввиду отсутствия полноты представленных данных.

Возраст больных колебался от 41 до 78 лет, и в среднем в изучаемой когорте пациентов, и составил $62,94 \pm 6,39$ года. Количество пациентов, предъявлявших жалобы на нарушение мочеиспускания, составило 308 (72,3%); из них подавляющее большинство - 250 больных имели обструктивную и ирритативную симптоматику, 58- только ирритативную. 128 (30,1%) пациентов не испытывали симптомов нарушения функции нижних мочевыводящих путей, РПЖ в этой группе выявлен в порядке скрининга. Средний балл Международной шкалы суммарной оценки симптомов при заболеваниях ПЖ (IPSS) составил $15,3 \pm 6,9$ (от 0 до 35), суммарный балл оценки качества жизни Q - $4,8 \pm 1,33$ (от 1 до 6). При пальцевом ректальном исследовании ПЖ патогномоничные признаки РПЖ определялись у 250 пациентов (58,69%), у остальных выраженные изменения предстательной железы отсутствовали. Уровень общего ПСА колебался от 2,88 до 192 нг/мл и, в среднем, составил $21,68 \pm 18,64$ нг/мл. Средний объем ПЖ до хирургического лечения по данным МРТ малого таза составил $54,09 \pm 23,57$ см³ (от 17,5см³ до 238см³).

При оценке степени распространенности онкологического процесса выявлены следующие особенности (рис.4): клинически локализованный РПЖ установлен у 298 пациентов (70,0%), местно-распространенные формы у 128

пациентов (30,0%), из которых вовлечение регионарных лимфоузлов до операции отмечалось в 6,8% случаев (29 пациентов). Степень дифференцировки опухоли оценивалась по шкале Глисона с дальнейшим определением баллов по системе ISUP. Среднее значение суммы Глисона по материалу биопсии ПЖ составило 7 (3+4), в 3 случаях степень дифференцировки опухоли не представлена. При градировании дифференцировки опухоли по международной шкале сообщества патологов ISUP выявлены следующие данные: ISUP 1 градирование биопсийного материала выставлено у 220 пациентов (51,64%), на втором месте наиболее частый грейд аденокарциномы ISUP 2 выставлен у 22,77% пациентов (97 случаев), ISUP 3-5 в 9,86% (42 человека), 12,44% (53 человека) и 2,5% (11 человек) соответственно.

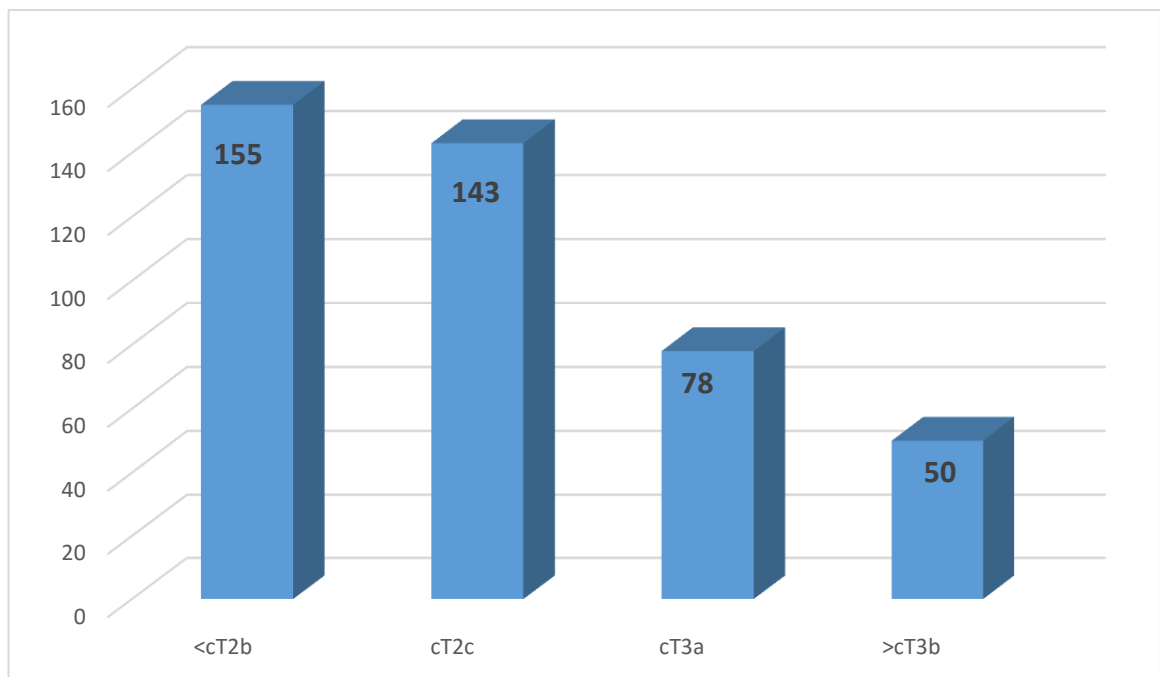


Рисунок №4– Распределение клинических стадий РПЖ у больных, получивших хирургическое лечение на базе НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова МЗ РФ за период с 2008 по 2017 года по системе TNM 7-версия.

При сравнении предоперационного уровня ПСА с показателями дифференцировки опухоли по шкале ISUP, выявлена устойчивая тенденция к росту: чем выше уровень исходного ПСА, тем выше балл по шкале ISUP. При проведении однофакторного дисперсионного анализа различия по уровню ПСА и

степенью дифференцировки опухоли оказались статистически значимыми (рис.5). Распределение уровня ПСА общим между группами было следующее (*среднее ПСА общий*±*стандартная ошибка среднего*): для ISUP 1 составило $18,2\pm 1,77$ нг/мл, ISUP2 $22,29\pm 2,79$ нг/мл, ISUP 3 $27,20\pm 4,9$ нг/мл, ISUP 4 и ISUP 5- $23,12\pm 3,76$ и $44,30\pm 15,26$ нг/мл соответственно (уровень значимости критерия Фишера $p=0,0167$). Данный анализ подчеркивает связь между суммой баллов по Глиссону, определяемой при биопсии железы, и предоперационным уровнем ПСА.

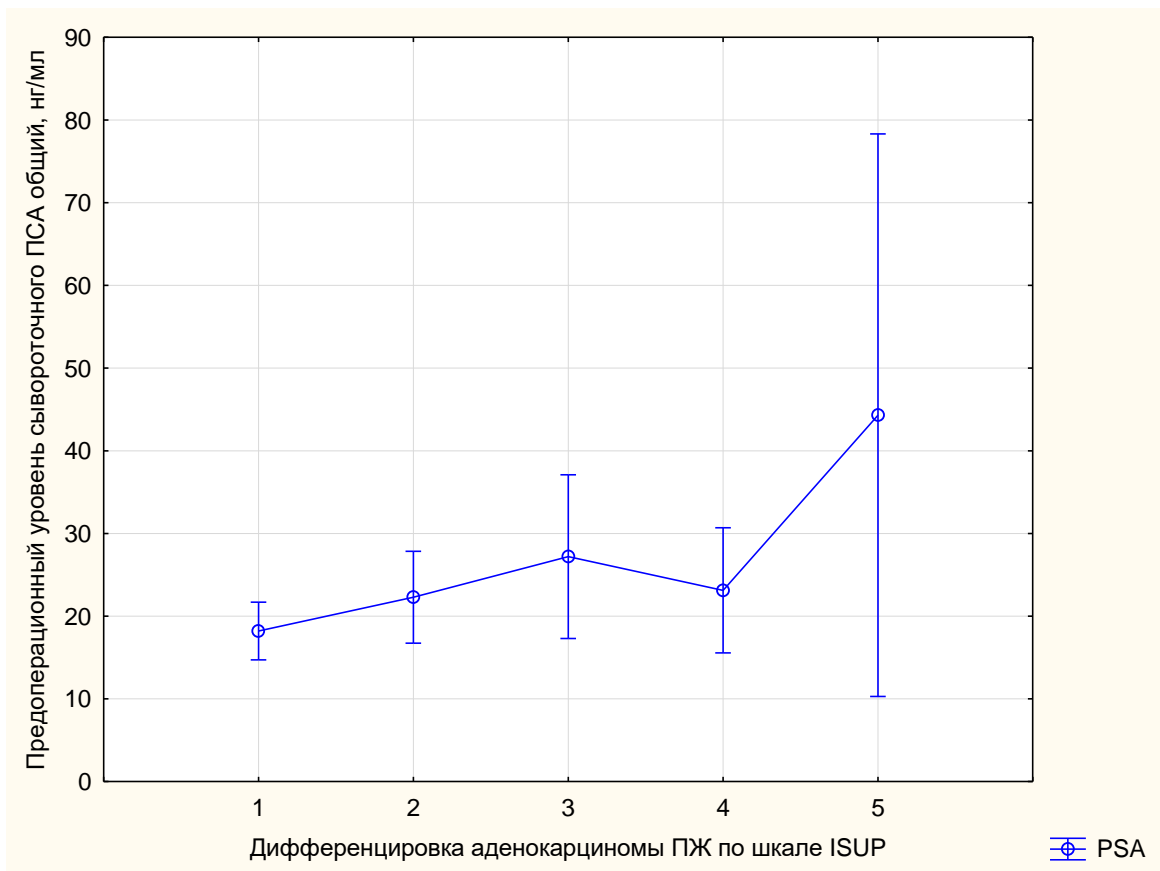


Рисунок №5– Дисперсионный анализ соотношения предоперационного ПСА (нг/мл) и дифференцировки опухоли РПЖ по ISUP

(1-5 по оси X- соответствует степени дифференцировки опухоли по школе ISUP; уровень ПСА по оси OY; уровень значимости критерия Фишера $p=0,0167$)

При анализе материала по поводу предоперационной терапии выявлено, что из 426 пациентов неoadъювантное лечение проведено у 21,60% пациентов (92 мужчины), из них химиогормональная терапия в 37 случаях (8,69%), гормональная терапия средней продолжительностью $5,6\pm 4,6$ месяца в 55 случаях (12,91%), трансуретральная резекция простаты у 10 пациентов (2,34%) и 4 случая

(0,94%) после курса ультразвуковой высокочастотной абляции простаты (HIFU). За максимальный период наблюдения в 11,3 лет медиана безрецидивной выживаемости составила $37,5 \pm 27,71$ месяцев (ДИ 95%: 25,92-29,72), медиана общей (не скорректированной выживаемости) составила $43,22 \pm 25,33$ месяца (ДИ 95%: 23,73-27,17). Так средний период наблюдения до выявления повышения ПСА $>0,2$ нг/мл в случае отсутствия лекарственного предоперационного лечения составил $45,39 \pm 1,52$ месяца, при проведении неoadъювантной гормональной терапии $38,48 \pm 4,1$ месяца, неoadъювантной химиотерапии $21,6 \pm 2,54$ месяца соответственно. Полученное различие между БРВ в группах предоперационного лечения (в 2,1 раза между группой только хирургического лечения и химиотерапии) демонстрирует вероятную связь между степенью распространенности аденокарциномы предстательной железы, БРВ и показаниями для назначения предоперационной лекарственной терапии.

При оценке выживаемости в зависимости от распространенности онкологического процесса по результатам послеоперационного стадирования выявлено следующее: медиана безрецидивной выживаемости для локализованного процесса ($\leq pT2c$) составила $46,94 \pm 27,48$ месяцев (ДИ 95%: 25,32-30,02), в случае местно-распространенного процесса для стадии pT3a $43,47 \pm 28,94$ месяца (СИ 95%: 24,83-34,67) и для стадии $\geq pT3b$ $26,77 \pm 21,38$ месяца (ДИ 95%: 18,62-25,11), pT₁₋₄N₁ $20,71 \pm 15,44$ месяца (ДИ 95%: 15,39-26,04).

Повышение ПСА больше 0,2 нг/мл расценивалось как биохимический рецидив. Длительность наблюдения колебалась в пределах 3,55-93,12 месяцев, средняя продолжительность наблюдения составила $42,69 \pm 22,34$ месяцев. За данный промежуток времени у 2 (60,0%) пациента выявлено стойкое повышение ПСА в послеоперационном периоде и диагностирован БХР. Средняя продолжительность наблюдения до наступления рецидива составила $29,43 \pm 20,27$ месяцев (0,83-76,15), при этом медиана БРВ = $26,61 \pm 3,43$ месяца (ДИ 95%: 16,39-26,55). За весь период наблюдения умерло 6 пациентов, в том числе от прогрессирования РПЖ - 3 больных; 1 погиб вследствие развития острого инфаркта миокарда, 1 умер от прогрессирования опухоли другой локализации

(меланома кожи спины). В целом, по исследуемой группе больных 3-летняя общая выживаемость составила 82,86%, 3-летняя скорректированная выживаемость (СВ) -88,57%, а 3-летняя безрецидивная выживаемость – 40,0%.

3.1.1. Общая характеристика пациентов из группы контроля

С учетом выявленных ярких различий между распространенностью аденокарциномы ПЖ по уровню БРВ, неудовлетворительных результатов лечения для категории пациентов группы высокого и очень высокого риска и с целью оценки эффективности НХГТ перед РПЭ была сформирована таргетная когорта пациентов (контрольная группа для сравнения) из числа 426 пролеченных больных. В данную контрольную группу включены 35 пациентов с местно-распространенным раком предстательной железы высокого и крайне высокого риска рецидива заболевания. Стадирование проводилось согласно стандартам EAU, актуальным на момент включения в исследование.

Из общих характеристик пациентов группы контроля выявлено (таблица №8): средний возраст больных группы контроля составил $63,77 \pm 7,23$ года, средний уровень сывороточного ПСА до операции $\Delta\text{ПСА}_{\text{общ}} = 23,68 \pm 15,24$ нг/мл, а объем ПЖ при измерении трансректальным датчиком или данных в среднем составил ΔV (до РПЭ) $= 51,74 \pm 15,24$ см³.

На основании предоперационных критериев пациенты распределились по стадиям заболевания следующим образом: $\leq cT2b$ – 22,86%; $cT2c$ -40,0%; $cT3a$ – 20,0%; $\geq cT3b$ – 17,4%, из них локализованные стадии РПЖ-ВР выявлены у подавляющего числа пациентов – 22 больных (62,86%), местно-распространенные - у 13 (37,14%). У 30 из 35 пациентов (86,0%) выявлены пальпаторные изменения предстательной железы: увеличение размеров, асимметрия, сглаженность срединной бороздки, нечеткий контур, неровная поверхность, очаги уплотнения.

Таблица №8– Предоперационная характеристика больных группы хирургического лечения.

Показатель	Клиническое стадирование	Патоморфологическое стадирование
Распространенность процесса по системе TNM 7-я версия		
≤T2b	8	0
T2c	14	4
T3a	7	12
≥T3b	6	19
N1	6	13
Степень дифференцировки аденокарциномы по шкале ISUP		
ISUP1	12	1
ISUP2	10	14
ISUP3	8	13
ISUP4	4	4
ISUP5	1	3

Всем больным этой группы выполнена РПЭ с тазовой лимфаденэктомией. Продолжительность операции составила $207,5 \pm 45,5$ минут и колебалась от 120 до 265 минут. Средний объем кровопотери в ходе операции составил $283,5 \pm 37,5$ (от 250 до 1400 мл). Через контрапертуры устанавливались два вакуум-дренажа в паравезикальное пространство - справа и слева; срок до удаления дренажей, в среднем, составил $5,2 \pm 2,2$ дня (от 4 до 14 дней). Уретральный катетер удалялся на $7,4 \pm 4,9$ сутки (от 6 до 15 дней). Больные выписывались из стационара на $10,4 \pm 5,7$ день (от 8 до 21 дней). Среди ранних послеоперационных осложнений отмечено повреждение прямой кишки у 1 пациента (2,9%), дефект был ушит интраоперационно, колостома не накладывалась. Повторные вмешательства, потребовавшие общей анестезии, выполнялись у трех пациентов (8,57%) по поводу выявленного в послеоперационном периоде повреждения мочеточника и гематомы малого таза. У 2 пациентов (5,8%) наблюдалась длительная лимфорея, потребовавшая пролонгированное дренирование малого таза.

Материалы патоморфологического исследования оценены у всех включенных больных. Паттерны аденокарциномы до и после операции статистически значимо отличались (тест Вилкоксона, $p=0,005$). Наиболее часто

встречающийся паттерн до операции был ISUP 1 и ISUP 2, после операции ISUP 2 и ISUP 3 (рис.6). Позитивный хирургический край выявлен у 14 из 35 пациентов (40,0%), средняя протяженность края составила $6,74 \pm 3,1$ мм. Максимальная протяженность ПХК составила 15 мм. Экстракапсулярное распространение определялось по наличию элементов опухоли в паравезикальной клетчатке, семенных пузырьках и выявлено у 31 пациента (88,57%). Выявлено статистически достоверное увеличение пораженных лимфатических узлов в 2,2 раза (тест Вилкоксона $p=0,018$): до операции клинически позитивные лимфоузлы выявлены только у 6 пациентов (17,14%), а после расширенной тазовой лимфаденэктомии у 13 пациентов из 35 (37,7%). Расширенный объем лимфаденэктомии в 16 лимфоузлов (0-46) требовался, чтобы диагностировать опухолевое поражение 1 лимфоузла (максимальное число пораженных узлов составило 15). Простатическая интраэпителиальная неоплазия высокой степени не выявлена ни в одном случае.

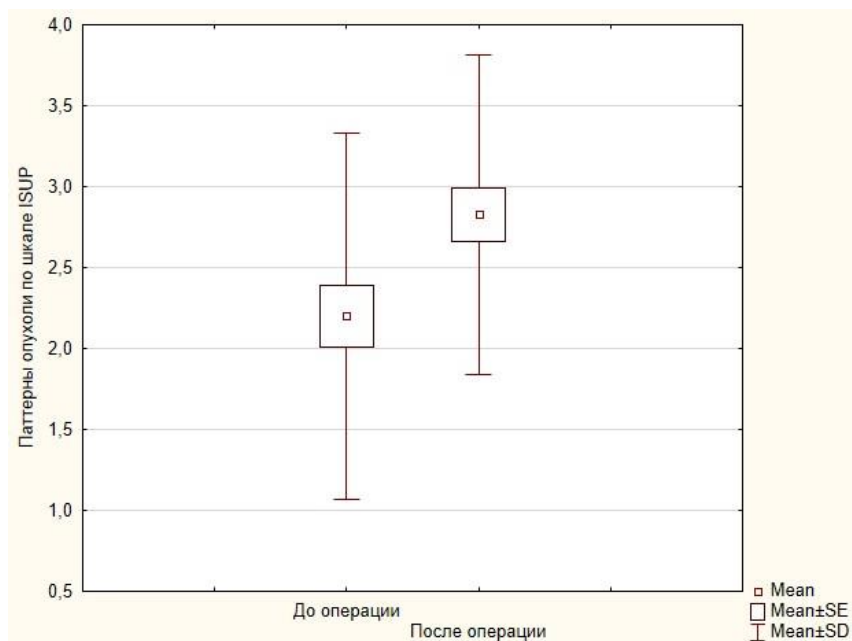


Рисунок №6—Среднее значение и 95% доверительный интервал степени дифференцировки опухоли по шкале ISUP до и после РПЭ в группе контроля (n=35)

3.2. Общая характеристика больных в группе НХГТ

3.2.1. Характеристика больных исследуемой группы перед началом хирургического лечения

Из 47 пациентов, распределённых в группу НХГТ/РПЭ, неoadьювантное лечение начато 40 (85,1%) пациентам, которые соответствовали критериям включения, исключения и получили от 3 до 6 циклов НХГТ. Полный объем неoadьювантного лечения из 40 пациентов проведен только 35 (87,5%). Причины не завершения курса в полном объеме были следующие: прогрессирование (n=2, рост ПСА после предшествующего выраженного снижения), смерть от бытовой причины (n=1), сопутствующая патология/нежелательные явления (n=2).

Средний возраст пациентов составил $62,88 \pm 7,37$ лет. Предшествующее хирургическое лечение основного заболевания было связано с ухудшением параметров уродинамики (у 26 человек выявлено средний балл IPSS 18): у 3-х пациентов до включения в исследования была выполнена троакарная эпицистостомия, в 1-м случае трансуретральная резекция простаты.

Из 40 пациентов, получавших неoadьювантную ХГТ, все (100%) показали снижение тестостерона ниже кастрационного уровня и имели снижение ПСА на уровень 50% и более от исходного. Средний уровень тестостерона (Т) до начала лечения составлял ΔT (до НХГТ) = $12,26 \pm 4,83$ (ДИ 95%:8,0-15,5) нмоль/л, после проведенного лечения (6 инъекций дегареликса) у всех пациентов отмечено достижение кастрационного уровня $T < 1,73$ нмоль/л и составило ΔT (после НХГТ) = $0,62 \pm 0,13$ (ДИ 95%:0,5-0,89) нмоль/л. Причем у 35 больных удалось достичь медикаментозной кастрацией уровень тестостерона ниже, чем 0,69 нмоль/л. Неоптимальный кастрационный уровень у 4-х больных, обусловленные терапией антагонистом ЛГРГ, потенциально мог привести к ослаблению контроля за раком предстательной железы: у двух пациентов после 4 цикла отмечен повторный рост ПСА и выявлена прогрессия заболевания.

Динамика уровня ПСА отображена на рисунке 7, где средний уровень ПСА до начала лечения составлял $\Delta\text{ПСА}_{\text{общ}}$ (до НХГТ) = $31,02 \pm 30,05$ (: 24,49-40,97) нг/мл, после проведенного лечения (5-6 циклов) $\Delta\text{ПСА}_{\text{общ}} = 0,82 \pm 0,74$ (ДИ 95%: 0,8-1,39) нг/мл с достоверным снижением ПСА на 97,4% ($p < 0,005$). Уровень ПСА менее 1 нг/мл не достигнут у 7/40 (17,5%) больных. Два пациента, с выявленным гормонрефрактерным РПЖ, были исключены из клинического исследования и переведены на лечение согласно имеющихся стандартов.

Всем пациентам на этапе скрининга выполнено мультипараметрическое МРТ с целью оценки локальной распространенности процесса, которое помогло оценить следующие показатели: средний объем простаты до лечения $45,91 \pm 34,56 \text{ см}^3$, при этом среднее число выявленных PIRADsV2=5 очагов $N = >2$ (18 человек), 2 очага (14 человек), 1 очаг у 8 пациентов. При этом оценка T2-взвешенных изображений в комбинации с диффузно-взвешенными в аксиальной плоскости выявило экстракапсулярную распространенность у 80,0% пациентов (32 случаев), из них с распространением на основание и стенку семенных пузырьков в более половины случаев (52,5%). На момент начала НХГТ у четверти пациентов (10 человек) отмечено увеличение региональных лимфоузлов общих подвздошных сосудов справа и слева $\geq 10 \text{ мм}$ по короткой оси. Средний размер увеличенного лимфатического узла, который был обнаружен при анализе МРТ изображений, равен $18,3 \pm 3,5 \text{ мм}$. Таким образом, на основании предоперационных критериев пациенты распределились по стадиям заболевания следующим образом: локализованный РПЖ $\leq \text{cT2c}$ 4 пациента (10%); cT3a – 37,5% (15 человек); $\geq \text{cT3b}$ 52,5% (21 человек).

Повторно оценка локальной распространенности опухоли проведена всем пациентам завершившим курс неoadьювантной терапии ($n=36$). На фоне проведенного лечения выявлено статистически достоверное уменьшение объема предстательной железы на 37,3%: ΔV (до НХГТ) = $45,91 \pm 34,56$ (ДИ 95%: 31,08-50,79) см^3 ΔV (после НХГТ) = $37,77 \pm 29,06$ (ДИ 95%: 17,06-27,84) см^3 $p=0,022$ (рис.8).

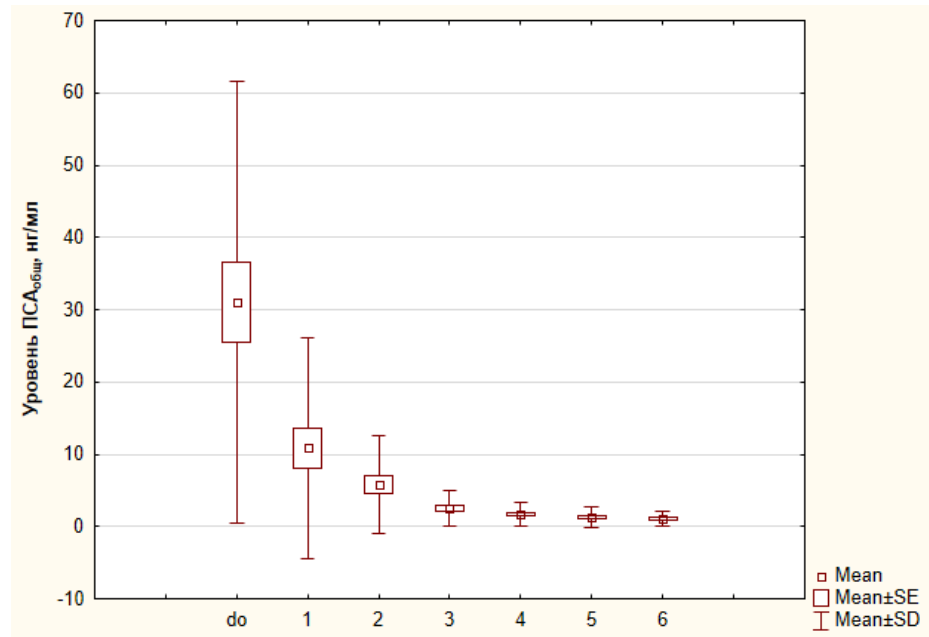


Рисунок №7– Динамика снижения ПСА на фоне 6 циклов НХГТ (n=40)

Оценка локальной распространенности опухоли проведена всем пациентам, завершившим курса неoadъювантной терапии в полном объеме (n=36). При сравнении местной распространенности до и после НХГТ снижение стадии отмечено у 16 пациентов (40,0%), за счет регресса местнораспространенного процесса (Т3b/3a) до локализованного (Т2). Из 10 пациентов с клинически увеличенными до начала лечения тазовыми лимфоузлами уменьшение размеров лимфоузлов до нормальных показателей (<10мм) после НХГТ отмечено у 2/3 пациентов (70,0%). При дооперационной оценке эффективности НХГТ по критериям RECIST 1.1., можно отметить следующее, что полный регресс опухоли не зафиксирован ни в одном случае, частичный ответ в виде уменьшения ПСА, уменьшения объема предстательной железы и снижение степени распространенности процесса у 16 пациентов (40,0%). Во 22 случаях (55,0%) клиническая ситуация расценена как стабилизация процесса, и у 2-х мужчин на фоне терапии выявлено по повторному росту сывороточного ПСА прогрессирование заболевания (5,0%).

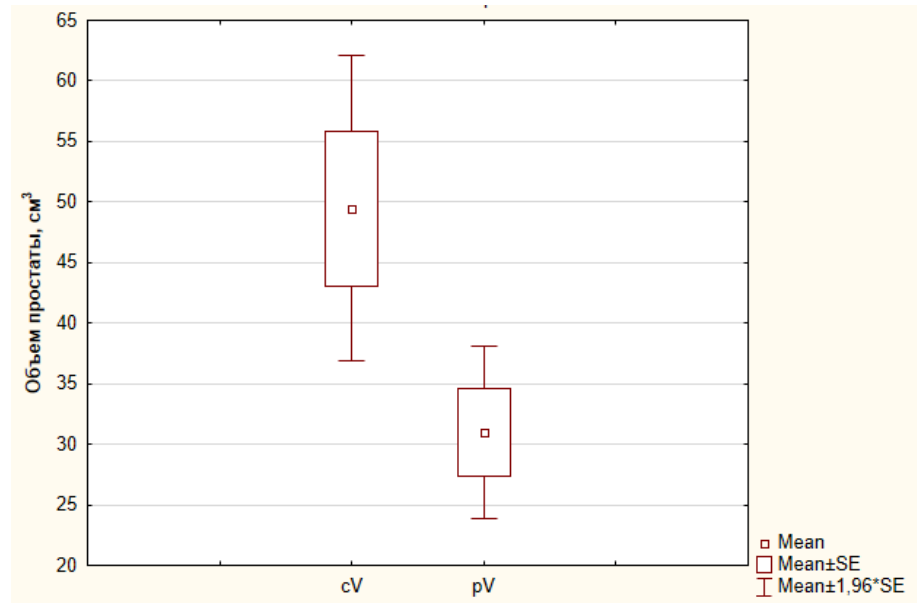


Рисунок №8—Динамика изменения объема предстательной железы на фоне неoadьювантного лечения (n=36).

(сV-объем предстательной железы до НХГТ (см³); pV-объем предстательной железы перед РПЭ (см³); все измерения выполнены на основе снимков МРТ малого таза)

3.2.2. Токсичность неoadьювантной химиотерапии

У пациентов, проходивших лекарственное лечение в основной группе, выполнялась фиксация всех нежелательных явлений. Нежелательные явления приведены в таблице № 9. Наиболее частыми проявлениями токсичности в группе НХГТ/РПЭ были нейтропения, лейкопения и различные проявления гепатотоксичности (повышение АЛТ, АЛТ и уровня билирубина). Нежелательных явлений 5 степени (как ассоциированных с химиотерапией, так и с другими видами и этапами лечения) не отмечалось.

Во время участия в проведении неoadьювантной ХГТ умер (вследствие бытовой причины) один пациент. Гематологические НЯ тяжелой (3-4) степени выявлены у 8 (20,5%) пациентов и явились наиболее частой причиной увеличения

интервала между введениями доцетаксела и/или редукция дозы - нейтропения (без признаков фебрильной нейтропении) 3-4 степени у 3 из 5 (7,7% из общего числа получивших НХГТ) пациентов с изменением режима Q3W (75 мг/м² один раз в 21 день). У остальных двух пациентов изменение режима введения препарата отмечено вследствие негематологических серьезных нежелательных явлений (НЯ) - периферическая нейропатия (n=1) и герпетическая инфекция (n=1). Всего негематологические НЯ развились у 17 (43,6%) пациентов, из них 3-4 степени – 5,1% (n=2).

Увеличение времени между неоадьювантной терапией и РПЭ в связи с НЯ потребовалось в четырех (10,0%) случаях. За время наблюдения вторичных онкологических заболеваний в исследуемой группе не выявлено.

Гормональная терапия, как компонент неоадьювантной схемы или в монорежиме, непосредственно к развитию серьезных нежелательных явлений не привела. В целом ассоциированные с гормональной терапией НЯ выявлены у 10 пациентов (25,0%), из которых непосредственно с введением дегареликса связаны были: болезненный инфильтрат в зоне постановки подкожной инъекции препарата на передней брюшной стенке (n=8) и чувство прилива (n=5). Кроме одного пациента, умершего во время проведения неоадьювантной терапии, во всех остальных случаях 6-месячный курс гормональной терапии был у всех пациентов проведен полностью.

Таблица №9–Токсичность после неoadьювантной химиогормональной терапии.

Нежелательное явление	Показатель	
	Степень	Частота, n (%)
Нейтропения	I	6 (15,4)
	II	5 (12,8)
	III	7 (17,9)
	IV	1 (2,6)
Лейкоцитопения	I	11 (28,2)
	II	1 (2,6)
	III	2 (5,1)
	IV	1 (2,6)
Нейропатия	II	3 (7,7)
	III	1 (2,6)
Утомляемость/ астения	I	8 (20,5)
	III	1 (2,6)
Тошнота/рвота	I	4 (10,2)
	II	2 (5,1)
Диарея	I	6 (15,4)
	II	1 (2,6)
Стоматит	I	3 (7,7)
Болезненность в месте введения препарата	I	4 (10,2)
Аллопеция	I	7 (17,9)
	II	1 (2,6)
Повышение уровня креатинина	I	6 (15,4)
Артериальная гипертензия	I	7 (19,9)
	II	1 (2,6)
	III	1 (2,6)
Повышение уровня трансаминаз	I	10 (25,6)
	II	2 (5,1)
Гипергликемия	I	1 (2,6)
	II	1 (2,6)

3.2.3. Оценка особенностей хирургического лечения после НХГТ

Полный объем лечения в группе комбинированного лечения - НХГТ с последующим радикальным хирургическим лечением – проведен 34 больным – 85,0% из всех включенных в группу и 97,2% из завершивших лекарственное лечение. Кроме одного случая с невыполнением хирургического этапа в запланированном объеме (вследствие развившихся осложнений на этапе ТЛАЭ), остальным пациентам курс неoadьювантной терапии не препятствовал выполнению РПЭ. Проведение неoadьювантной терапии не привело к повышению частоты интраоперационных осложнений, которые отмечены в 5 случаях. Несмотря на наличие перипростатического фиброза в зоне вмешательства, операция была выполнима практически во всех случаях в обеих группах.

Продолжительность операции составила $214,5 \pm 34,0$ минут и колебалась от 167 до 295 минут. Средний объем кровопотери в ходе операции составил $244,0 \pm 35,0$ (от 200 до 1000 мл). Дренажи в данной группе не устанавливались в виду внутреннего протокола отделения «Fast track». Уретральный катетер удалялся на $6,6 \pm 3,4$ сутки (от 3 до 10 дней). Больные выписывались из стационара на $7,6 \pm 5,3$ день (от 4 до 21 дней). Среди ранних послеоперационных осложнений так же отмечено повреждение прямой кишки у 1 пациента (2,78%), дефект был ушит интраоперационно, колостома не накладывалась. Частота остальных осложнений отражена в таблице №10. Повторное вмешательство в раннем послеоперационном периоде выполнено в объеме лапароскопической ревизии и дренирования мочевого затека зоны везико-уретрального анастомоза.

Таблица №10—Частота осложнений по классификации Clavien-Dindo в группе комбинированного лечения.

Осложнения по классификации Clavien-Dindo	Частота
1 степени, n (%)	10 (29,4)
2 степени, n (%)	3 (8,8)
3 степени, n (%)	3 (8,8)
4 степени, n (%)	2 (5,9)

3.2.4. Общая морфологическая характеристика операционного и биопсийного материала на фоне неoadьювантного лечения

3.2.4.1. Оценка изменений патоморфологического стадирования операционного материала

При морфологической оценке резектабельности операции установлено, что хирургические вмешательства носило радикальный характер в подавляющем большинстве случаев: ПХК только у 9/36 пациентов (25,0%). Средняя протяженность хирургического края составила $3,2 \pm 0,35$ мм, с преимущественной локализацией в области базиса простаты.

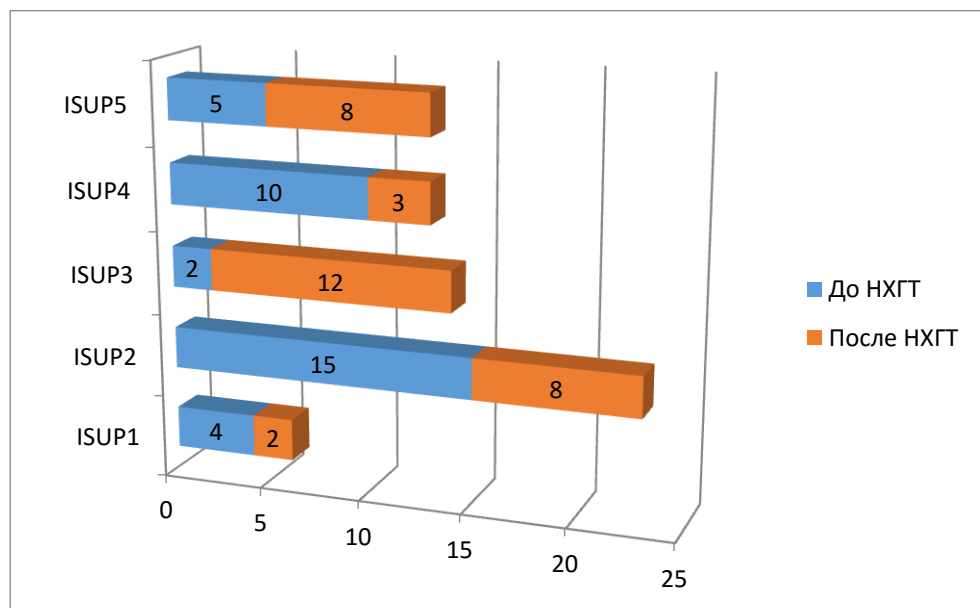


График №9—Гистологическая оценка биоптатов и послеоперационного материала по шкале ISUP (указаны в абсолютных значениях).

Клиническое гиперстадирование (патологическая стадия TNM меньше, чем клиническая) выявлено у 13/36 пациентов (36,1%) за счет изменения стадии по TNM с экстракапсулярным распространением на более локализованный процесс (без выхода за пределы капсулы). Снижения степени дифференцировки опухоли выявлено при уровне ISUP 2 (\downarrow на 47,7%) и ISUP 4 (\downarrow на 70%), за счет чего выросла доля пациентов с ISUP3 (\uparrow +83,3%) (рис.9). Большая сумма Глисона (по сравнению с данными биопсии) была выявлена у 10 (30,3%) больных на фоне химиотерапии доцетакселом, при этом статистически достоверных различий по уровню ISUP до терапии и после не выявлено (парный критерий Вилкоксона $p=0.23$).

Тазовая лимфодиссекция у всех 36 больных выполнена в суперрасширенном варианте, то есть до уровня бифуркации аорты и отхождения нижней брыжеечной артерии (рисунок №10А). Среднее число удаляемых лимфатических узлов $\Delta N=25,5\pm 13,5$, среднее число позитивных лимфатических узлов справа $\Delta pN1=0,76\pm 0,94$; слева $\Delta pN1=0,57\pm 0,81$. Статистически значимых достоверных различий между преимущественным поражением правой или левой зоны лимфодиссекции подвздошных сосудов не выявлено. Так же не выявлено ни одного случая метастатического поражения лимфоузлов в пресакральной, парааортальной и интрааортокавальной зонах. Несмотря на уменьшение размеров региональных лимфоузлов на фоне НХГТ до нормальных показателей (<10 мм) у 7 пациентов из 10, в операционном материале выявлено 16 случаев вовлечения регионарных лимфоузлов. Однако во всех указанных случаях был подтвержден выраженный лечебный патоморфоз в удаленных лимфоузлах.

В исследуемой группе не выявлено случаев патоморфологического регресса опухоли (стадия pT0). Однако патологами отмечены 3 случая (7.5%) затрудненной оценки степени дифференцировки операционного материала (по ISUP). С учетом выявления данной особенности операционный материал дополнительно подвергнут анализу на предмет возможных проявлений патоморфоза опухоли предстательной железы на фоне комбинированного лечения.

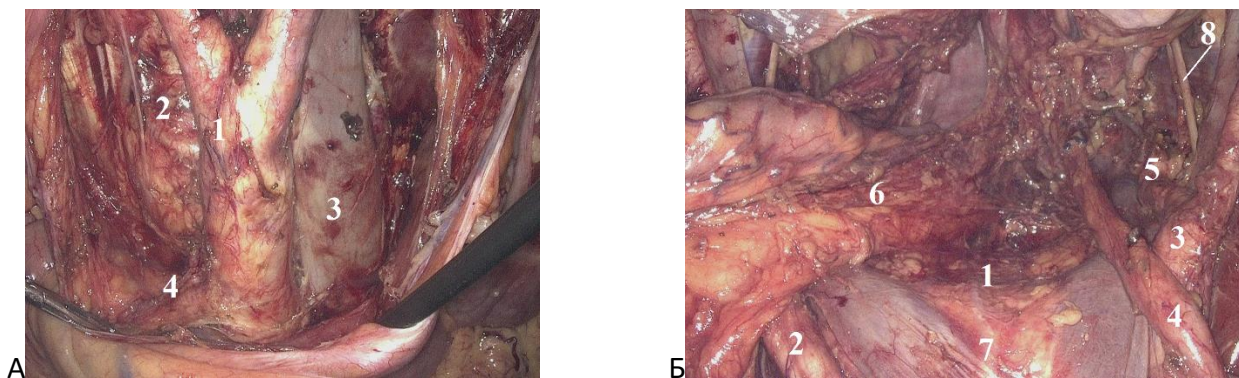


Рисунок №10. Интраоперационный вид объема выполняемой суперрасширенной лимфаденэктомия.

А- парааортальная лимфодиссекция зоны бифуркации аорты (1), парааортальная (2), паракавальная (3), до уровня отхождения нижней брыжеечной артерии (4); Б-пресакральная (1) и стандартная лимфаденэктомия: (2)-левая общая подвздошная артерия, (3)-правая общая подвздошная артерия, (4)-правый мочеточник, (5)-правая внутренняя подвздошная артерия, (6)-брыжейка сигмовидной кишки, (7)-бифуркация нижней полой вены, (8)-правый запирающий нерв.

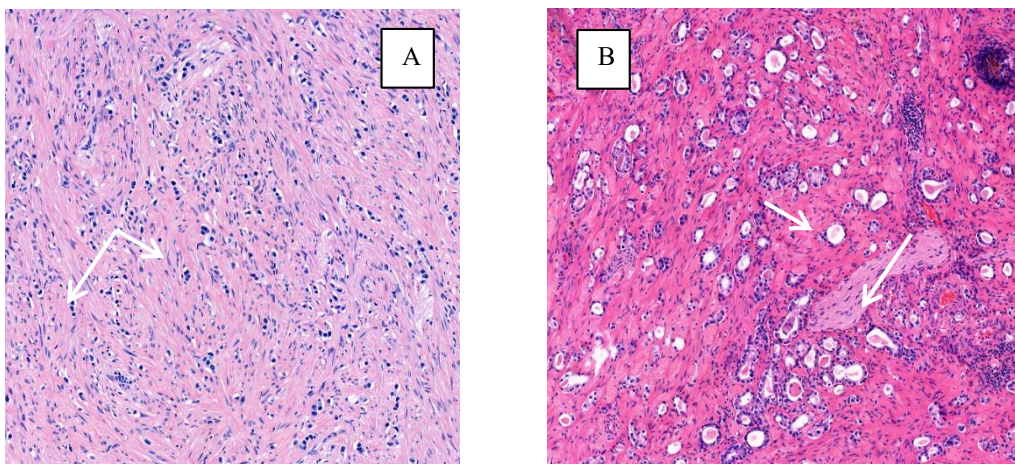
3.2.4.2. Результаты патоморфологического исследования операционного материала в группе комбинированного лечения

Для возможного распределения архитектурных признаков патоморфоза по системе ABC (Efsthathiou E., Troncoso P. 2010) выраженность лечебного патоморфоза в опухоли оценена по двухуровневой системе Murphy C. (2016). Всего у 31 пациента проанализировано 480 микропрепаратов биопсийного материала и 775 стёкол операционного материала (в связи с отсутствием операционного материала на момент иммуногистохимического исследования оценка у 5 пациентов не производилась).

Изменения гистоархитектоники аденокарциномы предстательной железы оценены по следующим критериям: интактные опухолевые железы, изолированные опухолевые клетки, наличие стромального компонента, бесклеточной стромы, криброзный паттерн, интрадуктальная карцинома и наличие солидных полей. Гистологическая оценка образцов опухоли после проведенного комбинированного лечения показала, что архитектурные паттерны

в остаточной опухоли РПЖ представлены преимущественно интактными железами или отдельными клеточными кластерами диффузно во всем объеме препарата в 27,8% (10 из 31) случаев и в половине случаев в виде отдельных очагов (18 из 31). В большинстве случаев (42,0%) отдельно лежащие опухолевые клетки не выявлены. Криброзный компонент в различной степени отмечен в 64% случаев, а интрадуктальная карцинома только в 22,2% случаев изученного материала.

Дальнейшая стратификация данных морфологического анализа по системе ABC показала, что в зависимости от степени проявления признаков лечебного патоморфоза могут быть разделены следующим образом: 32,3% опухолей (n=10) были отнесены к *группе А*, 51,6% к *группе В* (n=16) и 16,1% - к *группе С* (n=5). Распределение полученных данных по степени распространенности процесса в зависимости от выявленной группы патоморфологических изменений (рис.11) показало, что в *группе А* 9,68% изученных случаев представлено локализованным процессом, столько же случаев местно-распространенные формы и 16,1% с вовлечением регионарных лимфоузлов. В *группе В* 7 случаев (22,58%) представлено образцами с локализованным процессом, местно-распространенные формы РПЖ выявлены у 4 пациентов (12,9%), распространение процесса на тазовые лимфатические узлы - у 5 (16,13%) пациентов. К *группе С* не отнесено ни одного случая локализованного рака простаты и по 2 случая (12,9%) местно-распространенной формы высокого и очень высокого риска.



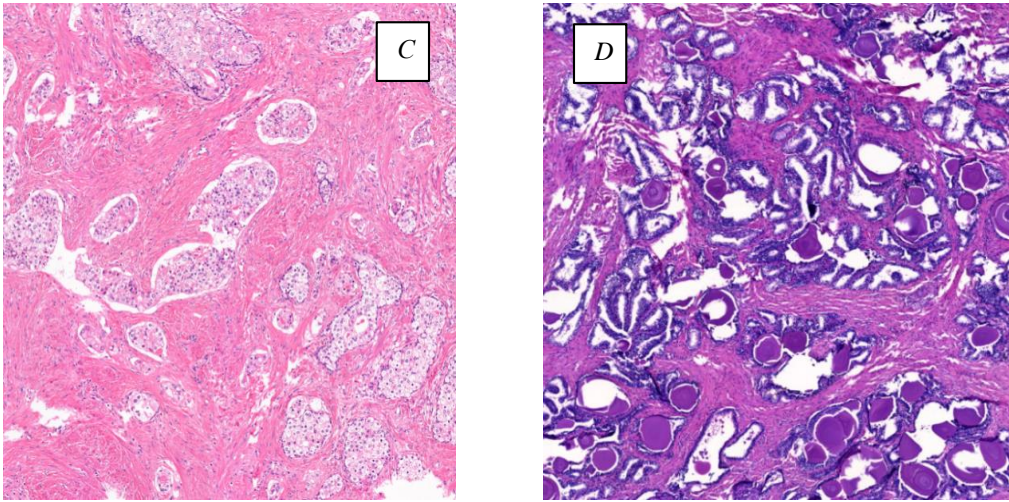


Рисунок №11–Гистоархитектурные проявления лечебного патоморфоза используемые в системе ABC.

А - аденокарцинома предстательной железы, ISUP5, группа А. Стрелкой указаны изолированные опухолевые клетки, кластеры, цепочки клеток. Окраска гематоксилин/эозин, х200. В - аденокарцинома предстательной железы, ISUP 3, группа В. Стрелкой указаны сохранные опухолевые железы. Окраска гематоксилин/эозин, х200. С - аденокарцинома предстательной железы, ISUP4, группа С. Интрадуктальная карцинома (а), криброзный компонент (b). Окраска гематоксилин/эозин, х200. D - Стрелкой указаны участки застывшего секрета желез. Окраска гематоксилин/эозин, х200.

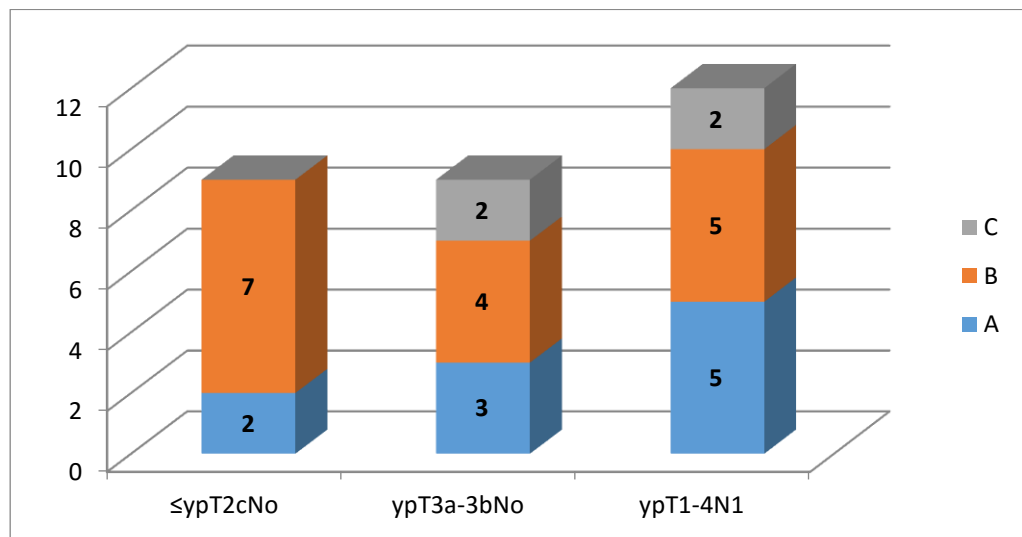


Рисунок №11– Распределение пациентов по патоморфологической стадии в зависимости от выявленной степени изменений гистоархитектоники опухолевой ткани по системе ABC.

Дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса выявил достоверное отличие частоты более локализованных форм РПЖ по системе ABC ($p=0,028$) (рис.12). При проведении дисперсионного анализа достоверно не выявлено связи между разделением по системе ABC и предоперационным уровнем ПСА, наличием ПХК, патологоанатомической стадией заболевания, вовлечением регионарных лимфатических узлов. Однако статистически значима оказалась связь между отдельными компонентами гистоархитектоники аденокарциномы простаты, такими как интенсивность окраски ядрышек в клетках эпителия желез, выраженность базальных клеток желез, присутствие гиалиновых телец и доминирование отдельных опухолевых клеток ($P<0,005$).

Дополнительно была исследована потенциальная корреляции системы ABC с данными о биохимическом рецидиве по уровню ПСА. Уровень БРВ резко варьировал между группами. Так наибольшая медиана БРВ выявлена в *группе В* $23,02\pm 12,61$ мес (8 из 16 случаев), а пациенты из *группы А и С* не достигли и общей медианы БРВ: $11,7\pm 6,43$ и $16,19\pm 16,54$ месяцев соответственно. Тем не менее, при сравнении БРВ между группами статистически достоверной разницы не достигнуто ($\chi^2 = 5,414209$, $df = 2$, $p = 0,06675$). Поэтому предложено разделение изменения в операционном материале по принципу более благоприятного и менее благоприятного прогноза на вероятность повышение ПСА в послеоперационном периоде $>0,2$ нг/мл.

Группа В осталась без изменений, а *группы А и С* объединены между собой с учетом общего негативного влияния архитектурного и стромального компонентов на выживаемость. Таким образом, в *группе В* по-прежнему осталось 16 пациентов, а в *группе А+С* вошли 14 пациентов, при этом был выравнен дисбаланс по патоморфологическим стадиям. При повторном сравнении БРВ между новыми группами Log-rank тест выявил достоверную разницу между временем до наступления рецидива заболевания: в *группе А+С* $12,79\pm 9,23$ месяца, *группе В* 23.023 ± 12.61 месяца, что превышает общую медиану БРВ для всей группы НХГТ на 10,2 месяца.

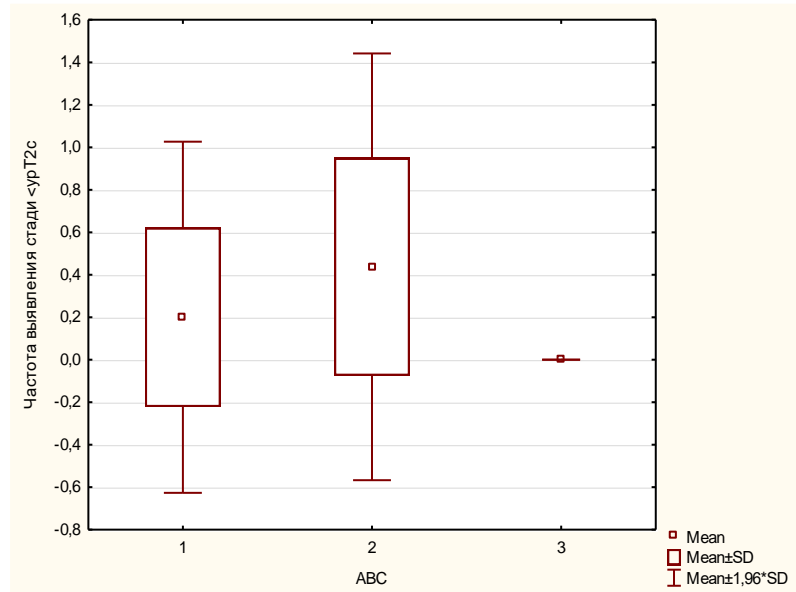


Рисунок №12– Дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса, демонстрирующий достоверное отличие частоты выявления более локализованных форм РПЖ по системе ABC.(n=31:1-группа А; 2- группа В; 3- группа С; p=0,028)

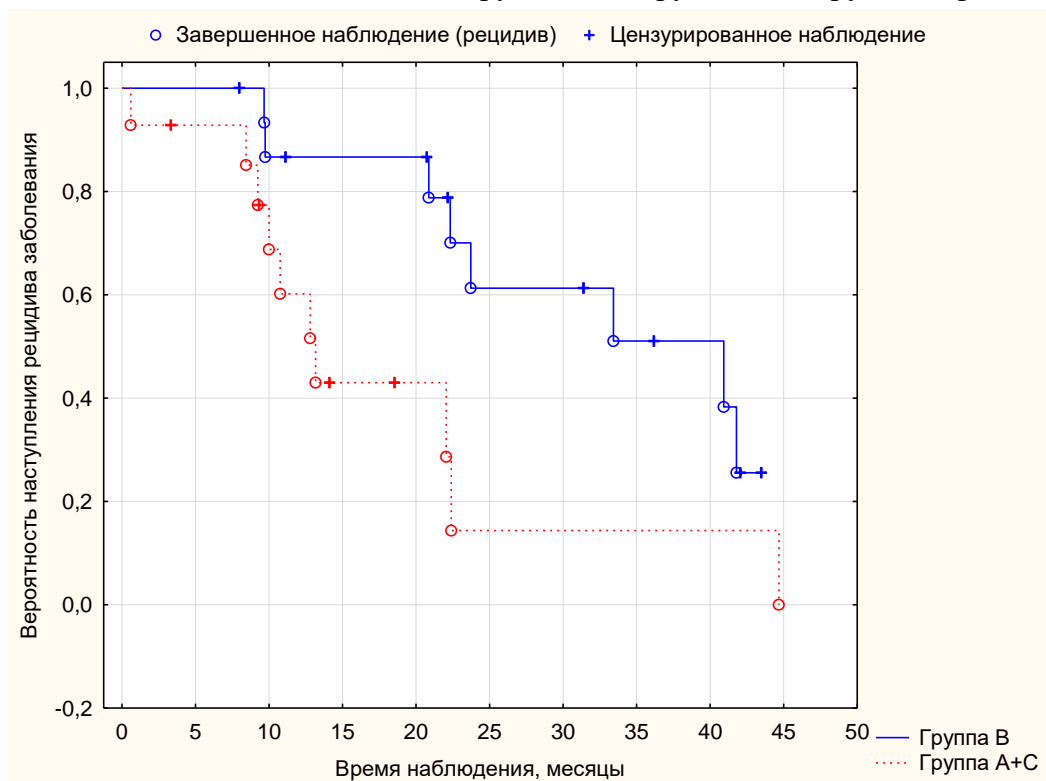


Рисунок №13– Безрецидивная выживаемость больных с диагнозом РПЖ высокого и крайне высокого риска в зависимости от степени выраженности изменений гистоархитектоники аденокарциномы

*в группу В (n=16) включены пациенты со стромальными компонентами, ассоциированными с благоприятным прогнозом заболевания; группа А+С (n=15) стромальные компоненты, ассоциированные с неблагоприятным прогнозом

3.2.4.3. Сравнительный иммуногистохимический анализ ТМА-блоков биопсийного и послеоперационного материала

Для оценки экспрессии тканевых и эпигенетических маркеров прогрессирования и агрессивности опухолевого процесса на фоне проведенного предоперационного лечения выполнено иммуногистохимическое исследование 32 блоков биопсийного и 31 блока операционного материала методом формирования ТМА-матрицы. Тканевые матрицы содержали 84 тканевых фрагмента РПЖ, из них 9 наблюдений были представлены локализованный раком простаты, 7 местно-распространенными формами и 15 - с вовлечением регионарных лимфоузлов.

При окраске антителами к белку p53 выявлено 6 (18,75%) случаев мутантного фенотипа до НХГТ и только 2 случая (6,4%) мутантного типа окрашивания после терапии (рис. 14). При этом до терапии 4 случая с наличием окрашивания p53, характерным для мутантного фенотипа, соответствовали местно-распространенному процессу РПЖ, а в 2х случаях выявлено вовлечение регионарных лимфоузлов (урT₁₋₄N₁). Тем не менее, в 51,6% (n=16) случаев вне зависимости от статуса p53 наблюдалось уменьшение pT стадии после терапии. Оба случая мутантного типа экспрессии белка p53 соответствовали местно-распространенной форме рака предстательной железы крайне низкой степени дифференцировки (ISUP5). Медианой БРВ у этих пациентов составила 15,25±9,63мес.

При окраске биопсийного материала на Ki-67 только у двух пациентов (6,4%) до операции выявлена низкая доля клеток экспрессирующих белок Ki-67 (рис. 6), в остальных случаях средний пролиферативный индекс составил 9,3±6,78. После проведенного курса комбинированного лечения у 93,54% пациентов (у 16,7% из них диагностирована стадия урT₁₋₄N₁) отмечено статистически достоверное снижение индекса пролиферативной активности до 2,83±2,16 (ДИ 95%: 1,96-11,03, p=0,009) в рамках исследуемых фрагментов и только в двух случаях незначительное увеличение индекса.

ИГХ-исследование с онкопротеином Bcl-2, являющимся блокатором апоптоза, не выявило статистически значимого изменения экспрессии белка в исследованных образцах ($p > 0,05$). Так, на предоперационном этапе у всех пациентов выявлено полное отсутствие экспрессии Bcl-2, а после комбинированного лечения экспрессия появилась только в 5,5% (2 пациента) (рис. 7).

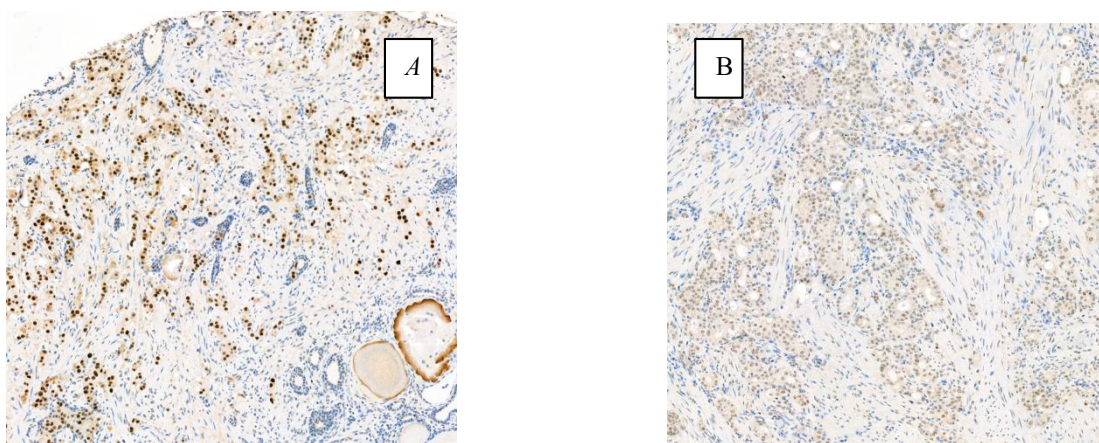


Рисунок №14—ИГХ реакция на БМ p53

А - Выраженная ИГХ реакция на маркер p53 (мутантный тип) после НХГТ, х200.
В - сниженная ИГХ реакция на маркер p53 (дикий тип) после НХГТ, х200.

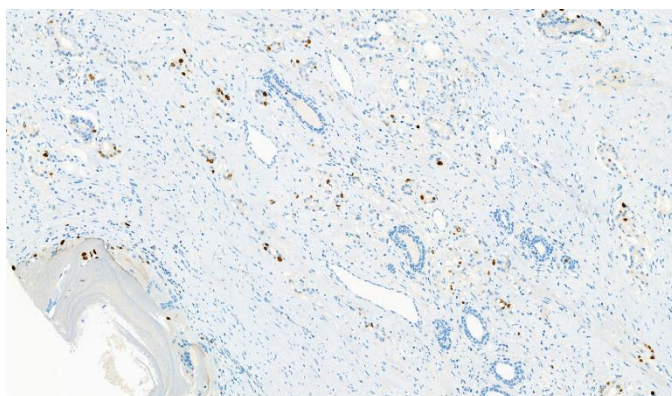


Рисунок №15—ИГХ реакция после НХГТ на белок Ki-67 (индекс пролиферативной активности 10%), х200.

В то же время, при оценке другого регулятора клеточного цикла p16 (рис. 17) выявлено достоверное снижение уровня экспрессии белка с 62,5% (20 из 32 биоптатов) до 29,0% после неoadъювантной терапии (9 из 31 биоптатов).

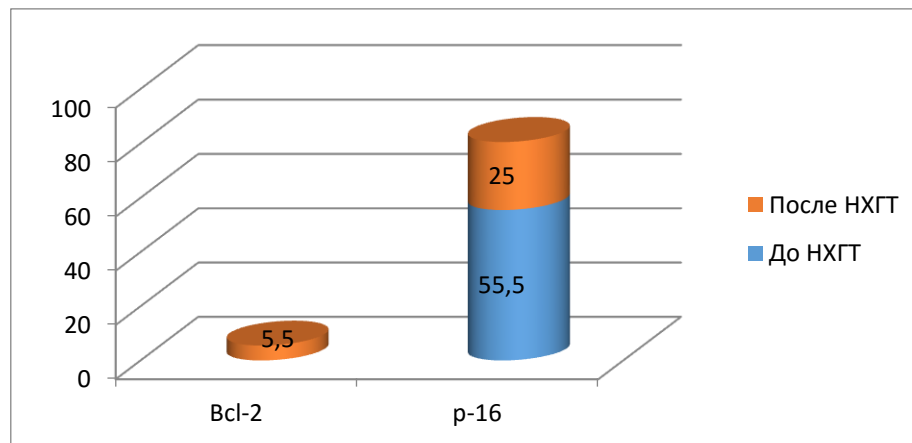


Рисунок № 16–Изменение уровня экспрессии тканевых маркеров bcl-2, p-16 на фоне комбинированного лечения (% изменения).

Экспрессия ERG в биоптатах выявлена в 65,6% случаев, однако на фоне терапии статистически значимой потери экспрессии не выявлено, и составила 52,0% (n=16, p=0,345). До НХГТ у ¼ (n=8) пациентов выявлено позитивное окрашивание на PTEN (рис. 18А), однако после комбинированного лечения отмечается полная потеря экспрессии данного фактора (рис. 18В). При однофакторном анализе показано влияние потери экспрессии данного белка на развитие метастатической формы рака предстательной железы урТхN1 (p=0,01 по критерию Фишера), наличие более низкой степени дифференцировки аденокарциномы по шкале ISUP (p=0,013 по критерию Фишера) и распределение по критерию ABC (p=<0,05 по критерию Фишера). Положительная иммуногистохимическая реакция с антителами к белку с-МУС после операции выявлена у 24 пациентов (77,4%), негативная реакция только у 7 пациентов (22,6%).

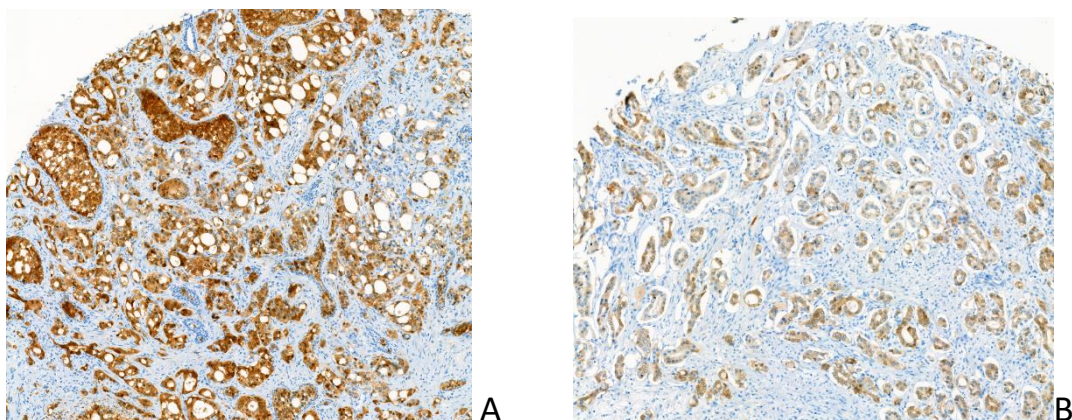


Рисунок №17– ИГХ реакция на БМ p16

А - ИГХ реакция на белок p16 до НХГТ (block type), x200. В - ИГХ реакция на белок p16 после НХГТ (non-block type), x200.

Полуколичественный анализ распределения рецепторов к андрогенам выявил более высокий уровень их экспрессии до терапии ($79,16 \pm 22,34\%$), однако после нее статистически значимой потери рецепторов на исследованных образцах опухолевой ткани не получено: $52,5 \pm 28,88\%$ ($p=0,15$ по Вилкоксоу) и только в одном случае не выявлена позитивная окраска на андрогеновые рецепторы. Среднее количество иммуногистохимически позитивных на рецепторы к андрогенам ядер опухолевых клеток в группе А составило $61,7 \pm 31,53\%$, в группе патоморфоза В $50,75 \pm 30,88\%$ и в группе С - $49,4 \pm 24,27\%$, и достоверно не отличалось между группами ($p=0,66$ по критерию χ^2) и не может служить прогностическим критерием наступления раннего биохимического рецидива.

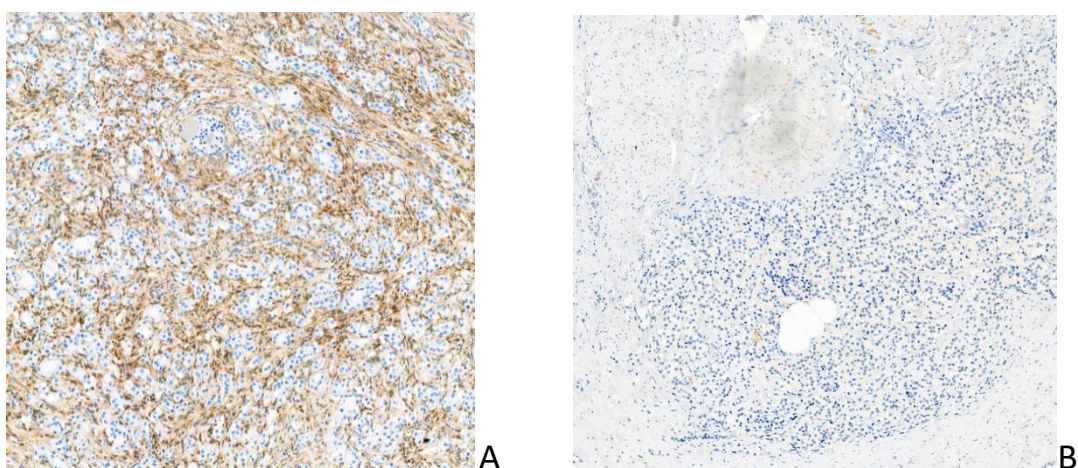


Рисунок №18– ИГХ реакция на БМ PTEN

А–Позитивная PTEN-реакция до НХГТ, x200. В–Полная потеря экспрессии PTEN после НХГТ, x200.

При проведении корреляционного анализа с вычислением парных коэффициентов корреляции Пирсона была установлена прямая линейная связь между уровнем экспрессии андрогеновых рецепторов и протоонкогена с-МУС ($r=0,78$ при $p<0,005$) (рис. 10). При проведении многофакторного дисперсионного анализа MANOVA выявлена сильная зависимость между активностью протоонкогена и экспрессией андрогеновых рецепторов (рис. 19) (уровень значимости критерия Фишера $p=0,002$), и распределением пациентов по системе ABC (уровень значимости критерия Фишера $p=0,005$).

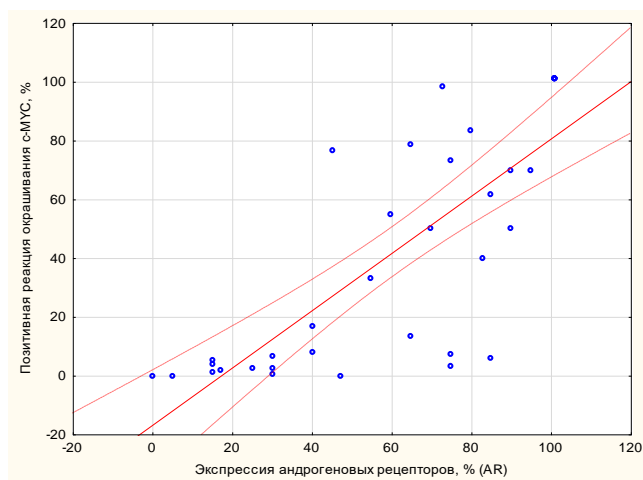


Рисунок №19– Корреляционный анализ между уровнем ИГХ реакцией на андрогеновые рецепторы и экспрессией белка с-МУС

$$r = ,78377 \text{ при } p<0,005; \text{ с-МУС} = -16,71 + ,97486 * \text{AR}$$



Рисунок №20– Дисперсионный анализ влияния уровня, выявленных андрогеновых рецепторов, на активность протоонкогена с-МУС, $p=0,002$.
(1-андрогеновые рецепторы не выявлены; 2-сохранена очаговая экспрессия рецепторов; 3-диффузная ИГХ реакция)

3.2.5. Изменение профиля и экспрессии микроРНК на фоне проводимой химиотерапии

В ходе работы исследованы операционные архивные блоки 35 пациентов контрольной группы (100%) и 31 пациента основной группы (86,11%). Весь материал предварительно был оценен патоморфологом для подтверждения наличия опухолевой ткани в выбранном архивном блоке. С каждого FFPE блока методом микродиссекции было подготовлено 1-2 среза толщиной от 3 до 20 мкм.

Вторым этапом на базе Научной лаборатории онкоэндокринологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова для всех 66 пациентов из парафиновых срезов выделен супернатант РНК (объемом 200 мкл на одну пробу) методом депарафинизации минеральным маслом. Все 66 проб были подвергнуты анализу на концентрацию выделенной РНК методом флуориметрии (Qubit 2.0, Invitrogen). Средняя концентрации в исследуемой группе после НХГТ была достоверно ниже контрольной группы (t-Стьюдента, $p < 0,05$) и составила $\Delta C = 3,77 \pm 4,51$ нг/мл (0,05-17,1), во второй группе без комбинированного лечения $\Delta C = 19,66 \pm 15,69$ нг/мл (2,88-66,0) на рисунке 21. Поэтому для ПЦР в режиме реального времени с использованием системы miRCURY LNA™ Universal RT в первой группе были взяты пробы с $\Delta C \geq 3,0$ нг/мл ($n=12$), в группе РПЭ $\Delta C \geq 10$ нг/мл ($n=20$).

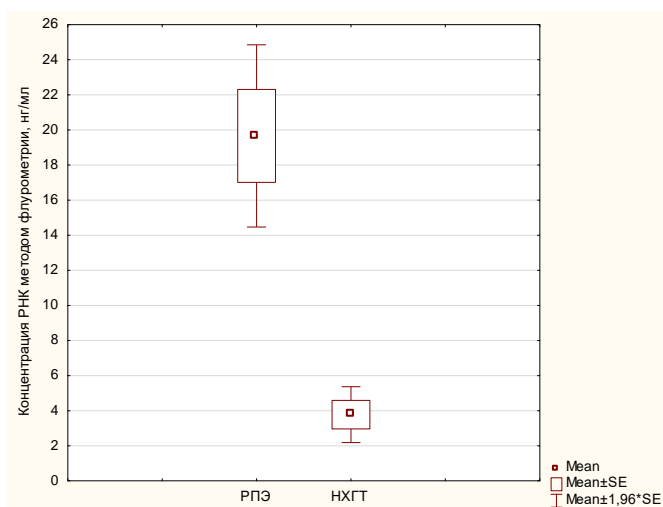


Рисунок №21 – Средняя концентрация (ΔC нг/мл) в НХГТ и контрольной группах.

На третьем этапе при помощи ПЦР в режиме реального времени и тест системой miRCURY LNA™ Universal RT (с красителем SYBR® green) выполнено профилирование типов микроРНК для каждой из групп. Выявленная динамика в профиле выявлена для следующих праймеров: hsa-mir-181a-5p, hsa-mir-126-3p, hsa-mir-200c-3p, hsa-mir-106b-5p, hsa-mir221-3p (рис.22). Достоверно установить разницу по пороговому уровню флуоресценции для обеих групп не удалось (U-тест $p=0,40$). Однако для всех пациентов группы комбинированного лечения отмечена тенденция в снижении $\Delta\Delta Ct = 2,75 \pm 1,13$ цикла. Выявленные типы микроРНК были использованы для дальнейшего анализа в группах.

На четвертом этапе изучены изменения концентрации выбранных микроРНК в основной и контрольной группе, нормализованных относительно среднего уровня экспрессии всех образцов (последний значимо не отличался между группами). Для уровней экспрессии микроРНК-200с не были обнаружены статистически достоверные отличия между контрольной и группой комбинированного лечения, в отличие от микроРНК-106b,-181a,-34,-126, -221 (таблица 11). В то же время, относительная концентрации микроРНК-221 и микроРНК-200с была несколько выше на фоне НХГТ в отличие от группы контроля, в остальных случаях подобной тенденции не выявлено.

Таблица №11. Сравнение относительного уровня выделенных микроРНК ($\Delta\Delta Ct$) между исследуемыми группами

	Группа НХГТ (n=31)	Группа РПЭ (n=35)	Уровень значимости, p-value (U-тест)
ΔCt среднее	26.01±1.56	26.45±2.03	0,4
mir-106b	4.93±2.70	10.69±11.03	0,002
mir-181a	0.18±0.09	0.27±0.16	0,046
mir-34	0.52±0.39	0.98±1.17	0,01
mir-126	7.37±5.46	10.82±6.00	0,012
mir-221	0.21±0.13	0.12±0.17	0,002
mir-200c	4.75±4.00	3.34±3.83	0,14

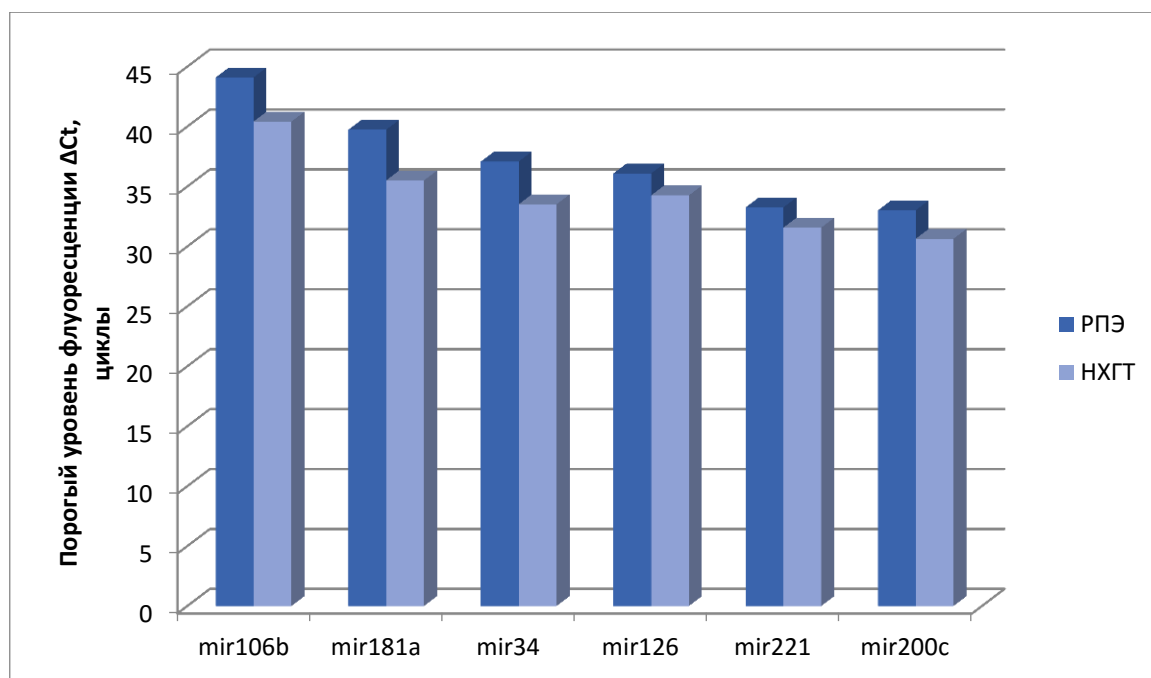


Рисунок №22– Результаты профилирования тест системой miRCURY LNA™ Universal RT РНК нагрузки в исследуемых образцах.

На следующем этапе мы провели корреляционный анализ по методу Спирмена, который позволил нам выявить совместные изменения в экспрессии выделенных микроРНК, клинических показателей и иммуногистохимических маркеров. Так при сравнении $\Delta\Delta C_t$ вышеуказанных микроРНК не выявлено статистически значимой зависимости между такими клиническими показателями, как гистопатологическая градация аденокарциномы ПЖ, вовлечение регионарных лимфатических узлов, частотой позитивного хирургического края и распределением по патоморфологической стадии. При попарном сравнении относительного уровня концентрации, изучаемых микроРНК и степени распространенности заболевания, анализ с помощью критерия Манна-Уитни выявил разницу между средним уровнем $\Delta\Delta C_t$ микроРНК-200с локализованного и местно распространенного РПЖ (U-test $p=0,0456$): в случае локализованного процесса $\Delta\Delta C_t$ микроРНК-200с = $6,57 \pm 4,55$ (ДИ 95% 3,0-9,26), для местно-распространенного процесса РПЖ $\Delta\Delta C_t$ микроРНК-200с = $3,85 \pm 3,5$ (ДИ 95% 2,59-5,42). В остальных случаях средний уровень $\Delta\Delta C_t$ микро-РНК значимо не отличался (U-test $p>0,05$).

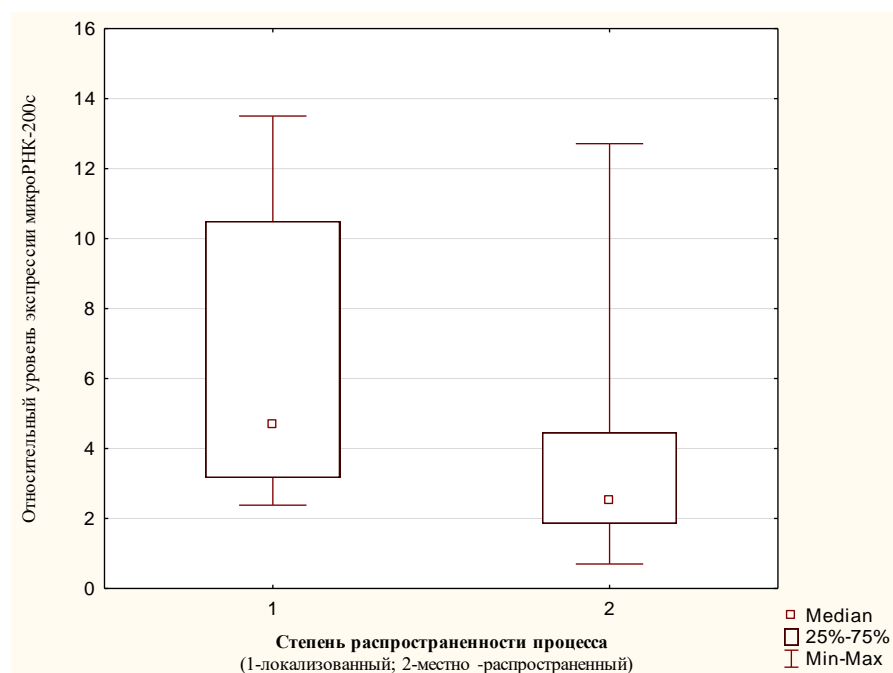


Рисунок №23. Размах значений уровня относительной экспрессии микроРНК-200с по степени распространенности РПЖ.

В Таблице № 12 изображены результаты корреляционного анализа между выделенными микроРНК и данными ИГХ анализа. Максимально положительные корреляции получены между микроРНК-221 и положительной экспрессией «дикого» фенотипа p-53, положительной экспрессией PTEN, c-MYC.

Таблица № 12–Коэффициенты корреляции, рассчитанные по методу Спирмена (указаны значения R при p-value<0,05).

	P53	P16	AR	PTEN	Bcl-2	ERG	c-MYC
mir-106b	0.359	0.250	0.197	0.366	0.348	0.212	0.329
mir-181a	0.391	0.189	0.281	0.311	0.174	0.048	0.458
mir-34	0.213	0.152	0.279	0.295	0.200	0.149	0.444
mir-126	0.299	0.196	0.237	0.343	0.349	0.192	0.341
mir-221	0.461	0.208	0.308	0.374	0.196	0.103	0.503
mir-200c	0.356	0.119	0.326	0.311	0.191	0.178	0.410

*Голубым цветом представлены достоверные положительные коэффициенты корреляции, оранжевым цветом- отрицательные; БР-биохимический рецидив заболевания;

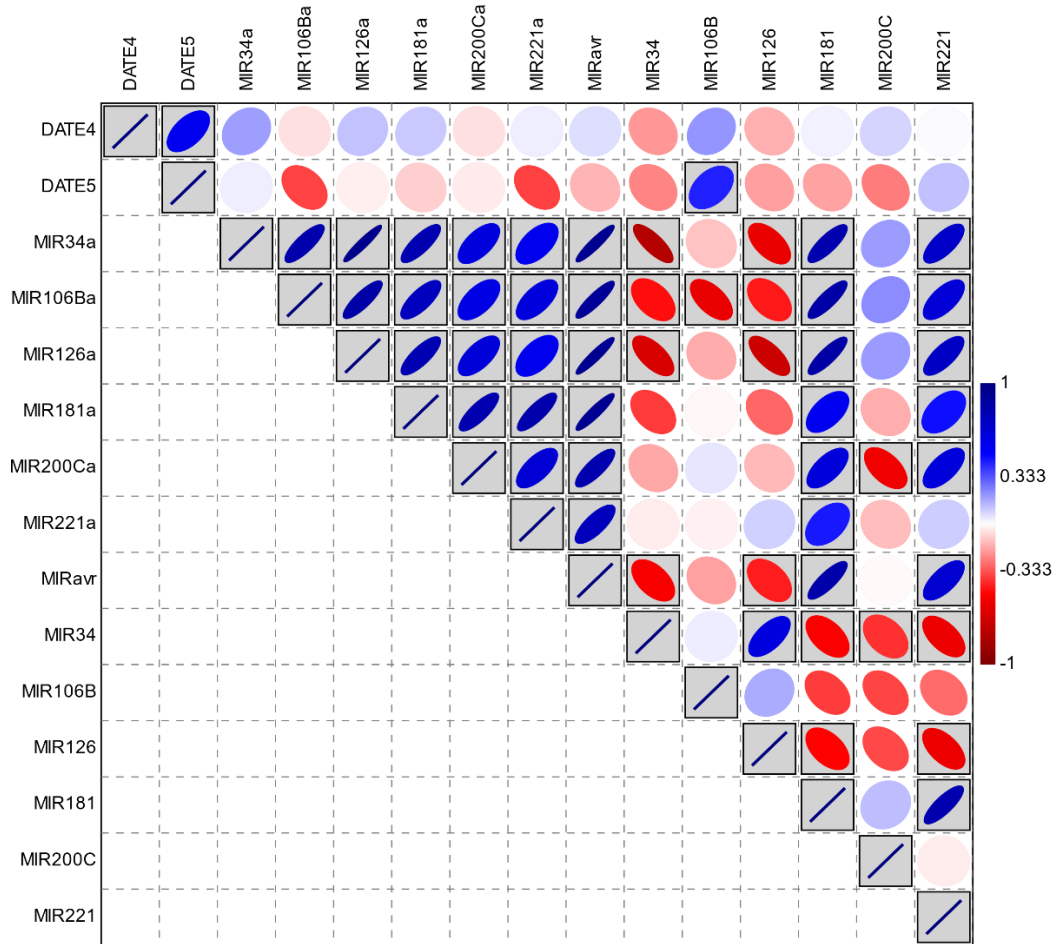


Рисунок №24– Корреляционные матрицы зависимости экспрессии изучаемых микроРНК и показателями выживаемости.

*DATE4-продолжительность безрецидивной выживаемости, месяцы; DATE5-продолжительность общей выживаемости, месяцы; MIRavr- средняя разница между циклами икспрессируемых микроРНК; MIR34-221-изучаемые уровни относительной экспрессии микроРНК;

Таблица № 13– Корреляционный анализ для признаков микроРНК-106b и показателями выживаемости.

Признаки		<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r_s</i>	<i>p</i>
MIR106B	БРВ	-0,21 0,21 0,56	0,33	-0,19 0,23 0,58	0,28
MIR106B	ОВ	0,04 0,44 0,71	0,030	0,14 0,52 0,76	0,0097
MIR34	БРВ	-0,56-0,39-0,08	0,045	-0,66-0,41-0,1	0,041
БРВ	ОВ	0,28 0,56 0,75	$4,7 \cdot 10^{-4}$	0,24 0,53 0,73	0,0011

**r* – линейный коэффициент корреляции Пирсона, *r_s* – непараметрический ранговый коэффициент корреляции Спирмена; *p* – *p*-значения.

В таблице №13 приведены линейный коэффициент Пирсона, демонстрирующий статистически значимую взаимосвязь общей выживаемости и относительного уровня экспрессии микроРНК-106b, безрецидивной выживаемости и микроРНК-34. Для показателей общей выживаемости 95% доверительный интервал обоих коэффициентов корреляции не покрывает ожидаемые безразличные значения $r = 0$. Это означает, что оцениваемые этими интервалами значения коэффициентов корреляции можно признать статистически значимыми (на снисходительном уровне $\alpha = 0,05$), что подтверждается соответствующими малыми p -значениями. Таким образом, на основании проведенного анализа о взаимосвязи относительной концентрации выделенных микроРНК по результатам линейного коэффициента корреляции Пирсона наибольшую прогностическую значимость представляет микроРНК-106b и микроРНК-34, значения $\Delta\Delta Ct$ которых были использованы в регрессионной линейной модели для оценки зависимости риска выживаемости пациентов от уровня экспрессии исследуемых мишеней.

3.2.6. Отдаленные онкологические результаты

Длительность наблюдения колебалась в пределах 3,0-64,0 месяцев, средняя продолжительность наблюдения составила $32,78 \pm 16,49$ месяца. За данный промежуток времени у 20 из 36 (55,56%) пациентов выявлено стойкое повышение ПСА в послеоперационном периоде и диагностирован БХР. Средняя продолжительность наблюдения до наступления рецидива составила $21,85 \pm 19,12$ месяцев, при этом медиана БРВ= $16,33 \pm 3,18$ месяца (ДИ 95%: 15,5-24,95). За данный период наблюдения умер 1 пациент от сопутствующей патологии (ОНМК по ишемическому типу), и 1 пациент выбыл из-под наблюдения. В целом, по исследуемой группе больных 3-летняя общая выживаемость составила 97,14%, 3-летняя скорректированная выживаемость – 100,0%, а 3-летняя безрецидивная выживаемость – 38,8%.

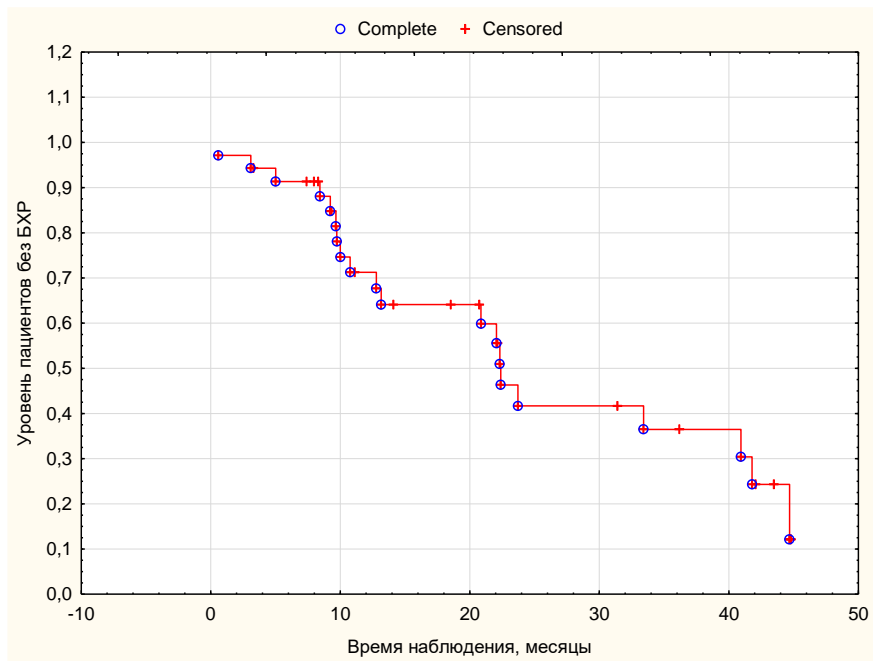


Рисунок №25– 3-летняя безрецидивная выживаемость больных РПЖ в группе НХГТ (n=36).

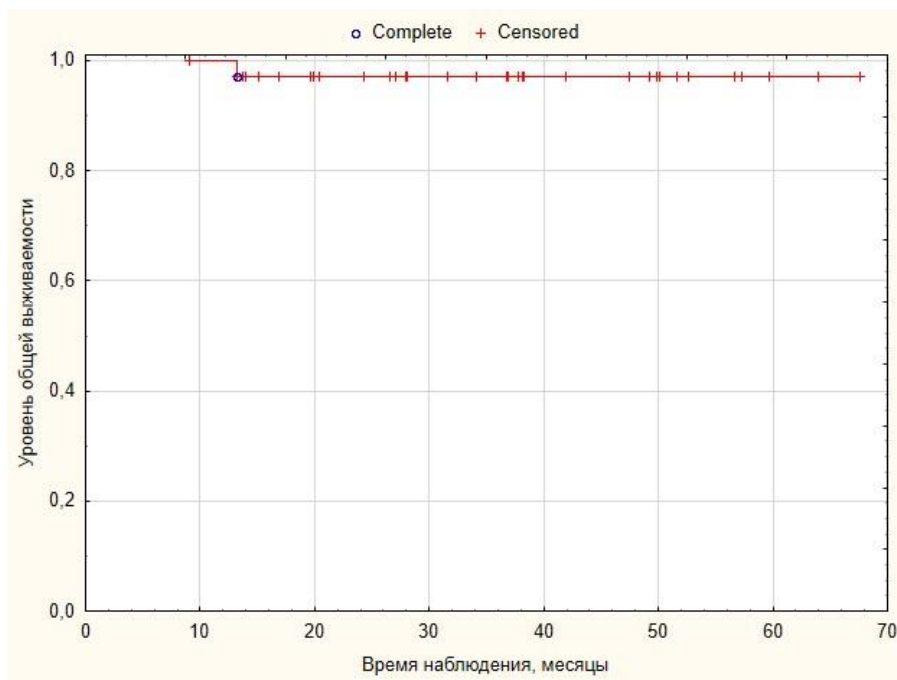


Рисунок №26– 3-летняя общая выживаемость больных РПЖ в группе НХГТ (n=36).

3.3. Сравнительный анализ ранних и отдаленных онкологических результатов в группах хирургического и комбинированного лечения

Больные в обеих группах были сопоставимы по возрасту, уровню общего ПСА, объему предстательной железы. Характеристики пациентов перед лечением представлены в таблице 14. При гистологической оценке биоптатов в группе комбинированного лечения чаще встречались пациенты с более низкой степенью дифференцировки РПЖ: ISUP 4 (27,8%), ISUP 5 (13,9%), в то время как в контрольной группе РПЭ преобладали пациенты с более высокой степенью дифференцировки аденокарциномы ПЖ: по шкале ISUP 1 (34,28%) и ISUP2 (28,6%). Достоверных различий, связанных с увеличением регионарных ЛУ на предоперационном этапе выявлено ($p=0,11$). Медиана наблюдения за пациентами группы РПЭ и ХГТ/РПЭ составила 30,5 (6-52) и 28,5 (6-48) месяцев, соответственно.

Оценка локальной распространенности опухоли проведена всем пациентам после курса неoadьювантной терапии ($n=36$). При сравнении местной распространенности до и после НХГТ, снижение стадии отмечено у 16 пациентов (40,0%), за счет регресса местнораспространенного процесса (T3b/3a) до локализованного (T2). Из 10 пациентов с клинически увеличенными до начала лечения тазовыми лимфоузлами (cN1) уменьшение их размеров до нормальных показателей (≤ 8 мм) после НХГТ отмечено у 7 (70,0%) больных.

Полный объем лечения в группе комбинированной терапии - НХГТ с последующей радикальной простатэктомией проведен 35 больным, что составило 74,46% из всех включенных в группу и 97,2% из завершивших неoadьювантный цикл. Кроме одного случая с невыполнением хирургического этапа в запланированном объеме (вследствие осложнений на этапе ТЛАЭ - повреждение крупных сосудов), остальным пациентам курс неoadьювантной терапии не препятствовал выполнению РПЭ. Комплексное лечение у этого пациента завершено в объеме ДЛТ. Проведение неoadьювантной терапии не привело к

повышению частоты интраоперационных осложнений, которые отмечены в 6 случаях в группе без неoadьювантной терапии и в 5 случаях в группе НХГТ/РПЭ. Несмотря на наличие перипростатического фиброза в зоне вмешательства, операция была выполнима практически во всех случаях в обеих группах.

Общая частота хирургических осложнений в группах РПЭ и НХГТ/РПЭ составила 16,2% и 14,7%, соответственно. Длительность операции ($p=0,397$) и объем кровопотери в обеих группах не различались ($p=0,449$). Выполнение гемотрансфузии в периоперационном периоде потребовалось одному пациенту в каждой группе.

Повторные вмешательства, потребовавшие общей анестезии, выполнены трем пациентам (7,5%) в группе РПЭ (интраоперационное повреждение мочеточника, выявленное в послеоперационном периоде и гематома таза) и одному (2,9%) в группе НХГТ/РПЭ (ревизия и дренирование мочевого затека). В обеих группах интраоперационно страховые дренажи не устанавливались и течение послеоперационного периода не препятствовало переводу пациентов из ОРИТ в профильное отделение через 2-3 часа наблюдения. Средняя длительность госпитализации в обеих группах не отличалась.

Таблица №14–Сравнительная характеристика пациентов обеих групп.

Показатель	Группы сравнения		P-value
	Группа РПЭ (n = 35)	Группа НХГТ/РПЭ (n = 36)	
Возраст (лет) (средн, IQR)±SD	63,77±7,23	62,88±7,37	0,91
Объём простаты 1 (мл) (средн, IQR)	51,74±19,01	45,91±34,56	0,31
Объём простаты 2 (мл) (средн, IQR)		37,77±29,06	0,022
ПСА при постановке диагноза, нг/мл (средн, IQR)	23,61±15,24	31,83±28,08	0,84
ПСА на момент операции, нг/мл (средн, IQR)		0,82±1,0	<0.005
Гистологическая оценка биоптатов по шкале ISUP			
ISUP1	12	4	0,004
ISUP2	10	9	
ISUP3	8	8	
ISUP4	4	10	
ISUP5	1	5	
Клиническая стадия (TNM)			
≤cT2b	8	2	0.21
cT2c	14	2	0.012
cT3a	7	11	0.414
≥cT3b	6	21	0.005
cN1	6	10	0.11

Таблица №15–Периоперационные показатели в группе РПЭ и НХГТ.

Показатель	Группа РПЭ (n=37)	Группа ХГТ/РПЭ (n=34)	p-value
Длительность операции, мин	207 ± 13,5	214 ± 34	0,397
Повреждение крупных сосудов, n (%)	5 (13,5)	4 (11,8)	>0,05
Повреждение кишечника, n (%)	1 (2,7)	1 (2,9)	>0,05
Интраоперационная кровопотеря, мл	283,5 ± 37,5	244 ± 35,0	0,538
Удаление катетера (медиана), сут	7,4±4,9	6,6±4,4	0,526
Длительность госпитализации, сут	10,4±5,7	8,6±5,3	0,231
Осложнения			
1 степени, n (%)	7 (18,9)	10 (29,4)	>0,05
2 степени, n (%)	4 (10,8)	3 (8,8)	
3 степени, n (%)	1 (2,7)	3 (8,8)	
4 степени, n (%)	4 (10,8)	2 (5,9)	

Клиническое гиперстадирование (патологическая стадия меньше, чем клиническая), было частым явлением в группе неoadьювантной терапии - 16 случаев (48,5%). Наиболее часто отмечено изменение с сТ3а на рТ2 - 13 случаев в группе; при выполнении только РПЭ – у шести пациентов (16,2%).

Оценка значимости частот встречаемости позитивного хирургического края, прорастания опухоли за капсулу предстательной железы, поражения семенных пузырьков и лимфатических узлов в группах РПЭ и НХГТ проводилась по четырехпольной таблице с помощью χ^2 критерия Пирсона (см. таблица №17). Статистически значимо отличие между группами выявлено только по частоте встречаемости позитивного хирургического края ($\chi^2=4,1$ df=1 p-value=0.043), которое сопровождалось уменьшением частоты в группе комбинированного лечения на 15%.

Таблица №16–Характеристики пациентов после выполнения РПЭ.

Показатель	Группы сравнения		P-value
	Группа РПЭ (n = 35)	Группа ХГТ/РПЭ (n = 36)	
Гистологическая оценка операционного материала по шкале ISUP			
ISUP1	1	0*	0,35
ISUP2	14	8	
ISUP3	13	12	
ISUP4	4	4	
ISUP5	3	8	
Патоморфологическая стадия (TNM)			
pT0	0	0	
≤pT2b	0	2	0,69
pT2c	4	12	0,11
pT3a	12	2	0,04
≥pT3b	19	19**	0,93
pN1	13	16	0,60
Частота осложнений по классификации Clavien-Dindo			
Clavien I	1	1	>0,05
Clavien II	2	2	
Clavien III	3	2	

Таблица №17-Сравнение клинических предиктивных БМ РПЖ-ВР методом попарного анализа (χ^2 критерий Пирсона)

Показатель	РПЭ (n=35)	НХГТ(n=36)	χ^2	df	p-value
≥pT3b	19	17**	0.32	1	0.57
pN1	13	16	0.87	1	0.35
R1	14 (40,0%)	9 (25,0%)	4.1	1	0.043

При первом определении (через 1 месяц после радикальной

простатэктомии) все пациенты в обеих группах имели уровень ПСА $<0,2$ нг/мл. В группе комбинированного лечения средняя продолжительность наблюдения составила $32,78 \pm 16,49$ (3,0-64,0) месяца. За данный промежуток времени у 20 из 36 (55,56%) пациентов выявлено стойкое повышение ПСА в послеоперационном периоде и диагностирован БХР. Средняя продолжительность наблюдения до наступления рецидива составила $21,85 \pm 19,12$ месяцев, при этом медиана БРВ была $16,33 \pm 3,18$ месяца (ДИ 95%: 15,5-24,95). За данный период наблюдения умер 1 пациент от сопутствующей патологии (нарушения мозгового кровообращения по ишемическому типу), и 1 пациент выбыл из-под наблюдения.

В группе РПЭ максимальный период наблюдения составил 73,1 месяцев, средняя продолжительность наблюдения составила $42,69 \pm 22,34$ месяцев. За данный промежуток времени у 21 (60,0%) пациента выявлено повышение ПСА в послеоперационном периоде и диагностирован БХР. Средняя продолжительность наблюдения до наступления рецидива составила $29,43 \pm 20,27$ месяцев (0,83-76,15), при этом медиана БРВ была $26,61 \pm 3,43$ месяца (ДИ 95%: 16,39-26,55). За весь период наблюдения умерло 6 пациентов: от прогрессирования РПЖ - 3 больных, по 1 пациенту погибло вследствие развития острого инфаркта миокарда и нарушения мозгового кровообращения, 1 умер от прогрессирования опухоли другой локализации (меланома кожи спины).

На момент анализа данных, 64 (90,14%) пациентов живы, в том числе 28 (80,0%) в группе РПЭ и 34 пациентов из группы комбинированного лечения (94,4%). В целом, 4 пациента (5,33%) умерли от рака простаты (соответственно, 3 и 1 в группе РПЭ и НХГТ/РПЭ) и 4 (5,33%) вследствие других причин (3 в группе РПЭ и 1 - НХГТ/РПЭ). При этом статистически достоверных отличий по уровню 3-х летней безрецидивной выживаемости между группами не достигнуто (рис.27, в группе НХГТ 3-летняя БРВ=42,86%, в контрольной группе БРВ=40,0%; Long rank test $p=0,36$). За период наблюдения 3-х летняя скорректированная общая выживаемость составила 100,0 % (группа НХГТ/РПЭ) и 88,57% (группа РПЭ) (Long rank test 0.142), общая выживаемость представлена на рисунке 28 и составила 97,14% (группа НХГТ) и 82,86% (группа РПЭ).

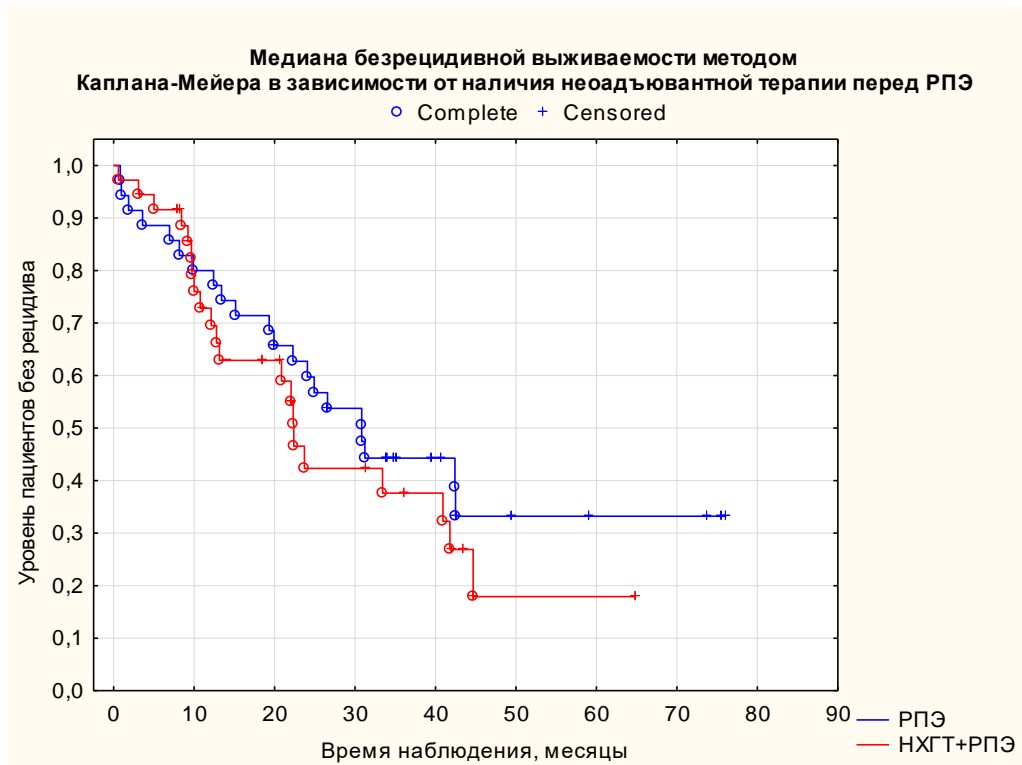


Рисунок №27– Кривая Каплана–Мейера, характеризующая уровень БРВ в обеих группах (p value, log rank test)
(3-летняя БРВ в группе НХГТ составила 38,8%; в группе РПЭ БРВ=43,6%; Log rank test p=0,36)

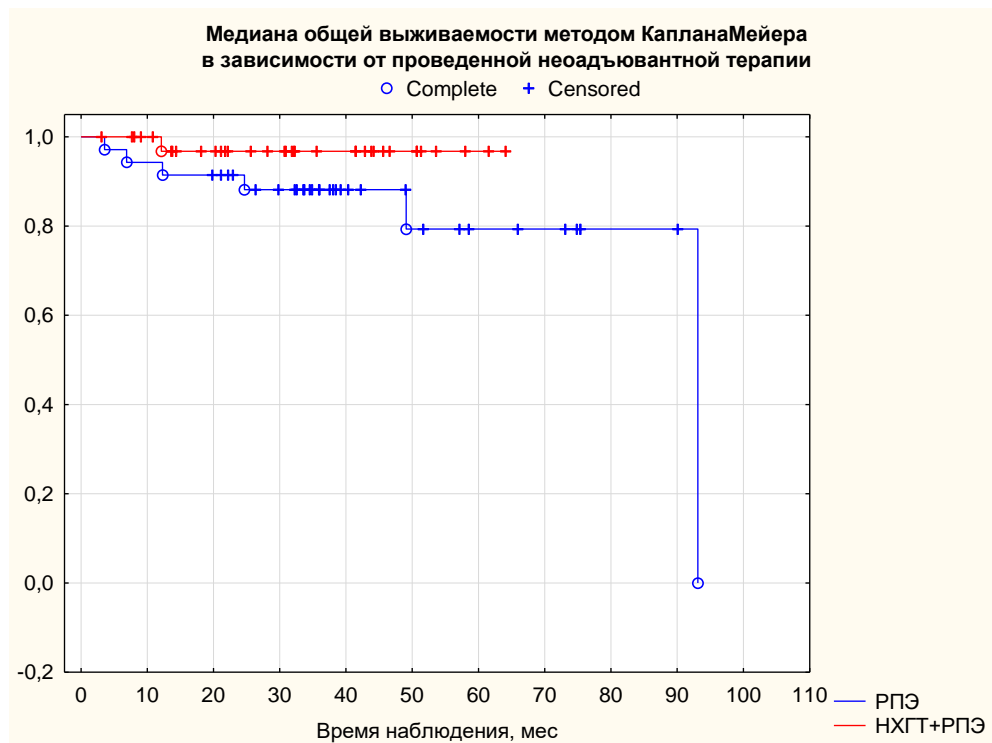


Рисунок №28– Кривая Каплана–Мейера, характеризующая уровень ОБ в обеих группах (p value, log rank test)
(3-летняя ОБ в группе НХГТ составила 97,14%, в контрольной группе ОБ=87,86%; Log rank test p=0,037)

3.4. Адьювантная терапия после радикальной простатэктомии

При первом определении (1 месяц после радикальной простатэктомии) все пациенты в обеих группах имели уровень ПСА <0,2 нг/мл. В целом, за период наблюдения проведение адьювантной и/или отсроченной дополнительной терапии потребовалось соответственно в группе РПЭ и ХГТ/РПЭ у 25 (71,4%) и 13 (36,1%) пациентов соответственно. Информация об адьювантной терапии в обеих группах после РПЭ представлена в таблице 18. После РПЭ без НХГТ адьювантная или отсроченная лучевая терапия назначена пяти пациентам (14,3%) со стадией (4 - pN1, 1 - pR+), гормональная терапия - 11 (31,4%) пациентам (6 - pN1, 5 - pR+). В группе НХГТ дополнительное лечение назначалось по результатам анализа ПСА после операции и потребовалась одному пациенту, тогда как отсроченное лечение получили 11 пациентов (таблица № 18). Спасительное хирургическое лечение проведено трем пациентам после только РПЭ и двум - из группы ХГТ/РПЭ, во всех случаях - в объеме тазовой и парааортальной лимфаденэктомии в случаях выявления рецидивных очагов в этих зонах при обследовании (ПЭТ/КТ) по поводу биохимического рецидива.

Таблица №18-Адьювантная терапия и отсроченное лечение после РПЭ

Показатель	Группа РПЭ (n=35)					Группа НХГТ (n=36)				
	ГТ (абс.)		ЛТ (абс.)		СХ (абс.)	ГТ(абс.)		ЛТ(абс.)		СХ (абс.)
	А	В	А	В		А	В	А	В	
N+, n (%)	1 (2,9)	5 (14,5)	3 (8,7)	1 (2,9)	1 (2,9)	0	6 (16,8)	0	1 (2,8)	1 (2,8)
R+, n (%)	0	5 (14,5)	1 (2,9)	0	2 (5,8)	0	3 (8,4)	1 (2,8)	1 (2,8)	1 (2,8)
N0R0, n (%)	0	2 (5,8)	0	0	0	1 (2,8)	0	1 (2,8)	4 (11,2)	0

А-адьювантное лечение; В-отсроченное лечение; РПЭ – радикальная простатэктомия; ХГТ – химиогормональная терапия; ГТ - гормональная терапия; ЛТ - лучевая терапия; СХ - спасительная хирургия; все значения указаны в абсолютных цифрах;

3.5. Регрессионный анализ связи экспрессии микроРНК, ИГХ-маркеров и клинических показателей с выживаемостью пациентов

Для оценки зависимости риска наступления рецидива заболевания, продолжительности общей выживаемости (выражено в месяцах) на фоне проведенного комбинированного лечения, от уровня экспрессии исследуемых мишеней был применен корреляционный анализ с определением критерия Спирмена (r) и регрессионный анализ по методу Кокса. Основной информацией для создания регрессионной модели по признаку безрецидивного течения заболевания и общей выживаемости стал материал наблюдения 36 пациентов. Для линейного многофакторного анализа взята микроРНК-106b, которая показала значимую связь с ОВ: ($r=0,44$ ДИ 95%: 0,04-0,71, при $p=0,03$).

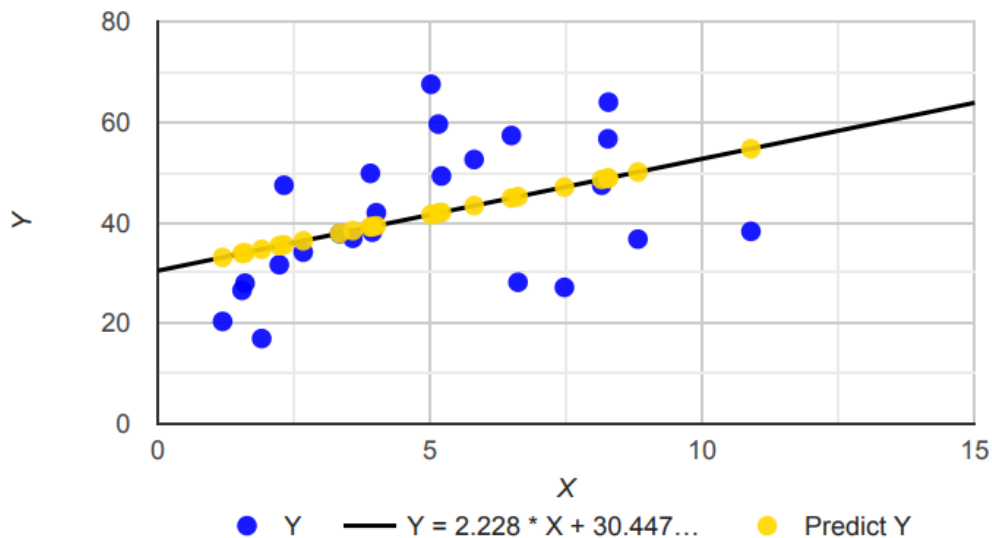


Рисунок 29—График линейной регрессии и статистические характеристики экспрессии микроРНК-106b и ОВ.

$$ОВ = 13,24_{36} + 0,22_{1,3} MIR106B, \text{ где } R^2 = 0,192; p = 0,032; adjR^2 = 0,155; r = 0,04 \text{ } 0,44 \text{ } 0,71$$

Показателем качества регрессионной зависимости общей выживаемости от уровня относительной экспрессии микроРНК-106b является коэффициент детерминации $R^2=0,192$, при этом коэффициент корреляции составляет $r=0.4359$.

Вышеуказанные коэффициенты являются статистически значимыми при уровне $p\text{-value}=0,033$. В данном случае значения R^2 и r являются умеренными для клинического прогнозирования уровня ОБ, поскольку настоящее линейное уравнение способно предсказать результаты только в 19,2% случаев.

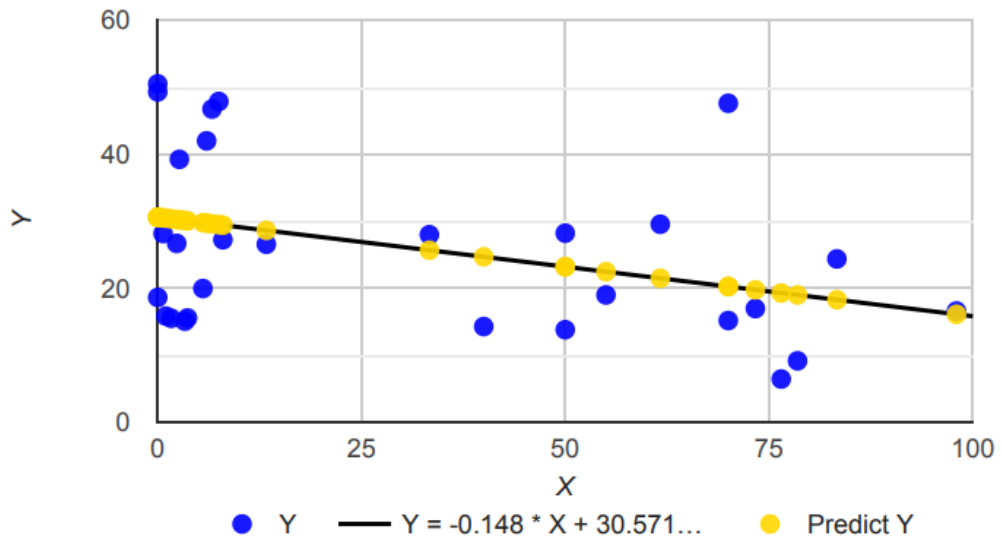


Рисунок 30—График линейной регрессии и статистические характеристики экспрессии с-МУС и БРВ.

Показателем качества регрессионной зависимости риска биохимического рецидива от уровня экспрессии протоонкогенного белка с-МУС является коэффициент детерминации $R^2=0,1395$, при этом коэффициент корреляции составляет $r=-0,4$, что свидетельствует о наличии обратной умеренной зависимости между факторами. Вышеуказанные коэффициенты являются статистически значимыми при уровне $p\text{-value}=0,045$. Процент клинического прогнозирования величины БРВ (Y) по уровню экспрессии белка составляет 13,95%.

ГЛАВА IV

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рак предстательной железы наиболее распространенное злокачественное новообразованием у мужчин после рака кожи. По данным ракового регистра в РФ за 2018 год было зарегистрировано 42518 новых случаев РПЖ, при этом $\frac{1}{3}$ выявленных случаев составляют местно-распространенные формы заболевания [10]. Клинические рекомендации EAU и NCCN регламентируют хирургическое лечение РПЖ-ВР только в рамках комплексного подхода, однако необходимость локального и системного контроля над опухолью являются предпосылками для добавления опции неoadьювантного лечения. Поэтому основной задачей работы стало оценить эффективность неoadьювантной комбинации доцетаксела и АДТ перед РПЭ за счет выявления специфических изменений патоморфоза и геномики опухоли. Работа была выполнена на базе хирургического отделения онкоурологии, патологоанатомического отделения и лаборатории эндокринологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова.

В ретроспективную часть нашего исследования были включены результаты лечения 426 пациентов, перенесших РПЭ в период с 2008 по 2017 года в качестве основного вида лечения РПЖ: 70,0% всех операций, приходились на локализованную форму РПЖ (по результатам клинического стадирования), и только 6,8% операций выполнено при распространении на тазовые лимфоузлы. Данные показатели демонстрируют существующее ограничение для использования РПЭ хирургами в отношении лечения пациентов высокого риска с экстрапростатическим распространением и вовлечением регионарных лимфоузлов. Частота ПХК по результатам анализа оказалась статистически значимо ниже при РПЭ в случае локализованного процесса и составила 17,45% против 30,5% при местно-распространённых формах (χ^2 df=1 p=0,0027).

При оценке безрецидивной выживаемости в зависимости от распространенности онкологического процесса медиана БРВ для стадии заболевания \leq pT2c резко отличилась от стадии \geq pT3b или pTxN1 и составила

46,94±27,48 месяцев (ДИ 95%: 25,32-30,02) против 26,77±21,38 месяца и 20,71±15,44 месяца соответственно (Log rank test, $p>0,05$). Примечательно, большая часть рецидивов заболевания отмечена в первый год после операции с последующим снижением частоты их возникновения. На основе анализа данных из 426 пациентов выделены в контрольную группу 35 пациентов, подходящие по критериям включения под категорию категории высокого риска РПЖ, для которых НХГТ потенциально могла быть оправдано ввиду высокого риска БХР в течение первых 3-х лет наблюдения.

В проспективной части работы были проанализированы ранние и отдаленные онкологические результаты применения НХГТ у пациентов категории РПЖ-ВР ($n=36$ пациентов). Средний уровень снижения ПСА составил 95,19% и на момент выполнения хирургического этапа лечения составил $0,82\pm 1,0$ ($0,004-4,3$) нг/мл. Данная динамика более выражена в сравнении с зарубежными работами, где после проведенных 6 циклов монотерапии доцетакселом только у 64-79% пациентов выявлено достоверное снижение послеоперационного ПСА, а у остальных отмечен рост антигена на момент завершения лечения. Дополнительно в данной работе отмечено статистически значимое снижение объема простаты у всех пациентов, получивших НХГТ в среднем на 17,8% ($p=0,017$). При непрямом сравнении ранних онкологических результатов НХГТ с доцетакселом в дозе 75 мг/м² в сочетании с дегареликсом с дозой доцетаксела 36 мг/м², результаты последней оказались менее выраженными: снижение ПСА более чем на 50 % зафиксировано только у 52,4 % пациентов против 100% в настоящей работе [18]. Данный эффект может быть связан как с более высокой дозировкой химиопрепарата, так и с присутствием в новой схеме лечения антагониста ГнРГ (дегареликс).

В ранее опубликованных исследованиях у около 10% пациентов, получавших НХГТ с применением полной дозы доцетаксела (75 мг/м²), неоадьювантный цикл был прерван вследствие развития нежелательных явлений [100]. При оценке схемы лечения данной работы наиболее частыми проявлениями токсичности были нейтропения, лейкопения и различные проявления

гепатотоксичности (повышение АЛТ, АЛТ и уровня билирубина). Нежелательных явлений 5 степени не отмечалось. Гематологическая токсичность тяжелой (3-4) степени, выявленная в 20,0% случаев (n=8), стала наиболее частой причиной увеличения интервала между введениями доцетаксела и/или редукции дозы. Увеличение времени между неоадьювантной терапией и РПЭ в связи потребовалось только у четырех пациентов (10,0%) случаев. В целом данные параметры группы НХГТ демонстрируют хорошую переносимость комбинации доцетаксела и дегареликса.

При сравнении групп по послеоперационным патоморфологическим показателям, то статистически значимых различий в распределении по шкале ISUP между группами не достигнуто (U-тест, p-value=0,35). Однако при рассмотрении внутригрупповых изменений выявлено следующее: в группе РПЭ произошли изменения за счет повышения паттернов РПЖ, а в группе НХГТ наоборот за счет снижения. Так в группе РПЭ произошло сокращение паттерна ISUP 1 с 34,3% до 2,9% и увеличение паттерна ISUP 2,3. В группе НХГТ сокращение паттерна ISUP4 с 27,8% до 8,3%, ISUP 2 с 41,7% до 22,2%, что отразилось на увеличении паттерна ISUP3 с 5,6% до 33,6%. Достоверных отличий уровня ошибки в определении индекса Глисона до и после операции в обеих группах не выявлено. Ошибка в определении степени дифференцировки опухоли до операции составила 36,5 %.

В группе РПЭ определение степени распространения опухолевого процесса до и после операции совпало у 24 (68,6 %) больных. Завышения стадии заболевания перед операцией не отмечено, а недооценка распространения опухоли за капсулу ПЖ отмечена за счет изменения стадии pT3a +14,3%, стадии \geq pT3b +37,2%. Клиническое гиперстадирование в группе комбинированного лечения (патологическая стадия TNM меньше, чем клиническая) выявлено у 13/36 пациентов (36,1%) за счет изменения стадии по TNM с экстракапсулярным распространением на более локализованный процесс (без выхода за пределы капсулы). Таким образом, наибольшие отличия между группами связаны с повышением условной резектабельности группы НХГТ: 5,8% против 34,3%

группы РПЭ (U-тест, p value=0,04).

Оценка значимости частот встречаемости позитивного хирургического края, прорастания опухоли за капсулу предстательной железы, поражения семенных пузырьков и лимфатических узлов в группах РПЭ и НХГТ проводилась по четырехпольной таблице с помощью χ^2 критерия Пирсона (см. таблица №17). Статистически значимо отличие между группами выявлено только по частоте встречаемости позитивного хирургического края ($\chi^2=4,1$ df=1 p-value=0.043), которое сопровождалось уменьшением частоты в группе комбинированного лечения на 15%. Данные результаты противоречат более ранней работе Носов А.К. и соавт. (2014) с применением режима доцетаксела 36мг/м² без АДТ [18]. Так частота ПХК была статистически значима в группе комбинированного лечения: 81,0% против 52,2% группы без НХТ (χ^2 , p = 0,044). Именно это отличие в совокупности с уменьшением объема предстательной железы подчеркивает необходимость использования комбинированной схемы лечения с добавлением АДТ.

Феномен "исчезнувшей карциномы" или ПОО (pT0) описан у 0,5–1,5% пациентов после НГТ при РПЖ [73,124]. Данный эффект НХТ с использованием доцетаксела в настоящее время изучен недостаточно. В нашем исследовании мы не выявили ни одного случая ППО. Это может быть связано с изначальным включением пациентов с менее благоприятным прогнозом, чем в других исследованиях с ПОО: 89,7% пациентов имели местнораспространенный процесс с вовлечением регионарных лимфатических узлов у 27,8% пациентов. В то время как в работах с присутствием ПОО клиническое вовлечение регионарных лимфоузлов было только у 14,3% [87].

Однако отсутствие ПОО в большинстве может быть связан не только с наличием проявлений отдельных признаков патоморфоза, сколько с отсутствием общепринятой системы оценки структурных изменений при лекарственном лечении РПЖ. При патентном поиске только система Efsthathiou E. и Murphy C. оценки патоморфоза оказалась наиболее воспроизводимой по результатам РПЭ после неoadъювантной гормональной терапии ($\kappa=0,56-0,7$) [59,60,93]. В связи с

чем, послеоперационный материал был дополнительно исследован с учетом изменений гистоархитектоники по вышеуказанной методике.

Система ABC представляется простой и удобной для использования, поскольку не вызвала затруднений в оценке или интерпретации показателей врачами-патоморфологами, однако и в ней некоторые моменты нуждаются в пояснении. Распределение по системе ABC выявило, что 32,3% опухолей (n=10) были отнесены к *группе А*, 51,6% к *группе В* (n=16) и 16,1% - к *группе С* (n=5), а дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса выявил достоверное отличие частоты более локализованных форм РПЖ по системе ABC (p=0,028).

Во-вторых, в нашей работе показаны различия в частоте распределения случаев (*группа В* - более 50%) и агрессивности онкопроцесса (*группы А и С* - наибольшая частота местнораспространенного процесса). Эти данные отличаются от результатов Efstathiou E. и соавт., у которых к *группе В* отнесены менее 20% пациентов, а основная часть больных имела крибриформный паттерн и/или интрадуктальный компонент - *группа С* (72%) [59,60]. Объяснением этому может быть различие в схемах неoadьювантной терапии: только четверть пациентов в работе Efstathiou E. получали доцетаксел (28 из 115; примерно такое же количество - только гормональную терапию и половина - кетоконазол, эстрамустин, доксорубицин или винбластин), тогда как в нашем исследовании все пациенты (n=31) получили курс химиогормональной терапии в полном объеме. Efstathiou E. и соавт. в течение 6,6 лет наблюдения у около половины пациентов *группы С* отметили БХР, то время как в *группах А и В* этот показатель составил около 13% [101,102]. В нашей работе наибольшая медиана БРВ также выявлена в *группе В* (23,02±12,61 месяцев), однако медиана общей БРВ (для всех 31 пациентов) была не достигнута ни в *группе С* (16,19±16,54 месяцев), ни в *группе А* (11,7±6,43 месяцев).

Корреляционный анализ подгрупп ABC не показал значимой связи с предоперационным уровнем ПСА, наличием ПХК, стадией или распространением заболевания на регионарные лимфоузлы. Однако выявлена сильная связь с наступлением БХР (коэффициент Спирмена $R_s=0.75$ при $p=0,039$). Было

предложено стандартизировать группы: объединены результаты лечения пациентов групп А и С, при этом была получена достоверная разница БРВ между группами А+С ($12,79 \pm 9,23$ месяца) и группой В ($23,023 \pm 12,61$ месяца) (log rank test-0,018). В связи с выявленными различиями по распространенности онкопроцесса и уровнем БРВ от типа патоморфоза, систему АВС можно рекомендовать в качестве независимого предиктивного БМ.

Выявленные нами изменения в окраске биопсийного и операционного материала на заявленные выше ИГХ-маркеры были оценены в ряде других публикаций, в том числе и при местно-распространенном РПЖ, однако в данной работе впервые ИГХ анализ произведен после совместного применения доцетаксела и дегареликса при РПЖ-ВР [93]. При окраске антителами к белку p53 выявлено 6 (18,75%) случаев мутантного фенотипа до НХГТ и только 2 случая (6,4%) мутантного типа окрашивания после терапии. Оба случая мутантного типа экспрессии белка p53 соответствовали местно-распространенной форме рака предстательной железы крайне низкой степени дифференцировки (ISUP5) с медианой БРВ $15,25 \pm 9,63$ мес. Параллельно продемонстрировано статистически значимое снижение индекса пролиферативной активности Ki-67 у 80% пациентов, в том числе и при метастатическом поражении региональных лимфоузлов по сравнению с данными анализа биопсийного материала: с $19,3 \pm 6,78$ до $2,83 \pm 2,16$ (ДИ 95%: 1,96-11,03, $p=0,009$). Анализ экспрессии блокатора апоптоза Bcl-2 после комбинированного лечения выявил повышение экспрессии онкопротеина только у 2 пациентов (5,5%), что является признаком чувствительности к индукторам апоптоза (доцетаксел) и гормональной терапии (дегареликс).

В клинических исследованиях последних лет была доказана стойкая корреляция низкой экспрессии PTEN и/или утраты PTEN с неблагоприятным прогнозом независимо от стадии заболевания. Данный эффект наблюдался как у пациентов с недавно диагностированным заболеванием, получающих лечение по поводу локализованного рака, так и у получающих позднюю линию терапии при КРПЖ. В нашей работе при анализе биопсийного материала у $\frac{1}{4}$ ($n=8$) пациентов выявлено окрашивание на PTEN маркер, однако после комбинированного лечения

отмечается полная потеря экспрессии данного фактора транскрипции, что может косвенно характеризовать высокую частоту БХР в течение первых двух лет после НХГТ (негативная экспрессия PTEN имеет слабую корреляцию с уровнем БРВ $R_s = -0,32$ при $p = 0,05$).

Положительная иммуногистохимическая реакция на белок c-MYC после операции выявлена у 24 пациентов (77,4%), негативная реакция только у 7 пациентов (22,6%). Количественный анализ распределения рецепторов к андрогенам выявил более высокий уровень экспрессии до терапии ($79,16 \pm 22,34\%$), однако после НХГТ статистически значимой потери рецепторов на исследованных образцах опухолевой ткани не получено: $52,5 \pm 28,88\%$ (критерий Вилкоксона $p = 0,15$). Во-вторых, корреляционный анализ установил сильную прямую линейную связь между уровнем экспрессии AP и протоонкогена c-MYC (критерий Пирсона $r = 0,78$ при $p < 0,005$), а многофакторный анализ MANOVA дополнительно показал зависимость между активностью протоонкогена и экспрессией AP (критерий Фишера $p = 0,002$), распределением пациентов по системе ABC (критерий Фишера $p = 0,005$). То есть снижение, равно как и потеря экспрессии c-MYC потенциально отражается на уровне AP, а снижение экспрессии c-MYC на фоне НХГТ можно рассматривать как предиктивный БМ формирования резистентного штамма к лечению.

Методом депарафинизации минеральным маслом из 66 тканевых образцов послеоперационного материала было получено 66 супернатантов с эллоированным РНК материалом. Средняя концентрация РНК в послеоперационном материале на фоне НХГТ статистически значимо ниже концентрации РНК контрольной группы в 5,2 раза: группа НХГТ $\Delta C = 3,77 \pm 4,51$ нг/мл (0,05-17,1), во второй группе без комбинированного лечения $\Delta C = 19,66 \pm 15,69$ нг/мл (2,88-66,0) (t-Стьюдента, $p < 0,05$). Подобное количественное снижение РНК в тканевом материале впервые выявлено на биопсийном материале опухоли молочной железы до и после лечения антрациклин-таксановой комбинацией, где авторами отмечена выраженная связь изменения концентрации с проявлением ЛП [102]. Кроме того, вышеупомянутое

исследование продемонстрировало, что в середине лечения высокий уровень разрушения РНК опухоли был связан с заметным удлинением безрецидивной выживаемости после химиотерапии. В другой работе Narendrula и соавт.(2016) исследовали связь между лекарственной чувствительностью и индуцированным разрушением РНК на клеточных линиях рака яичника, где был показан более высокий индекс разрушения РНК в доцетаксел-чувствительной клеточной линии [95]. В результате наших наблюдений отмечена также более низкая концентрация РНК на фоне химиотерапии, что косвенно может быть связано с цитотоксическим воздействием на биогенез рибосом.

В ходе профилирования послеоперационного материала 66 пациентов при помощи платформы miRCURY LNA™ Universal RT (Exiqon, Дания) проанализирована экспрессия 179-ти микроРНК в исследуемых образцах (состав панели основан на полученных данных о представленности известных тканевых микроРНК человека) [77]. В ходе первичного анализа данной платформы наибольшие различия в выраженности циклов ПЦР ($\Delta\text{Ct} > 1.5$) были установлены для следующих праймеров микроРНК: hsa-mir-181a-5p, hsa-mir-126-3p, hsa-mir-200c-3p, hsa-mir-106b-5p, hsa-mir221-3p, hsa-mir34. При этом относительная концентрация указанных микроРНК ($\Delta\Delta\text{Ct}$) статистически значимо (U-тест $p > 0,05$) отличалась в группе НХГТ и РПЭ, и только значения микроРНК-200c значимо не отличались между группами ($4,75 \pm 4,00$ против $3,34 \pm 3,83$ в группе РПЭ, U-тест $p = 0,14$).

На втором этапе работы анализ связей микроРНК с клиническими БМ выявил корреляцию между $\Delta\Delta\text{Ct}$ микроРНК126 и частотой позитивного хирургического края (критерий Фишера $F = 10,34$ $p = 0,015$), при том что на фоне НХГТ отмечено снижение экспрессии молекулы ($10,82 \pm 6,00$ в группе РПЭ до $7,37 \pm 5,46$ в группе НХГТ, U-тест $p = 0,012$). Так в работе Sun X. и соавт. (2013) низкая экспрессия микроРНК-126 статистически значимо коррелировала с агрессивными клиническими патологическими признаками, включая распространённую патологическую стадию ($p = 0,001$), поражение региональных лимфатических узлов ($p = 0,006$), высоким уровнем предоперационного ПСА ($p =$

0,003) [132].

Анализ ранговой корреляции Спирмена с ИГХ маркерами, который показал максимальные коэффициенты корреляции для микроРНК-221 p53 ($R=0,461$), PTEN ($R=0,374$) и с-МYC ($R=0,503$), микроРНК-181a с p53 ($R=0,391$) и с-МYC ($R=0,458$), где указаны значения R при $p\text{-value}<0,05$). С учетом того, что потеря экспрессии микроРНК-200с способствует изменению эпителиальными клетками своего фенотипа на мезенхимальный (феномен эпителиально-мезенхимального перехода), изучение роли данной микроРНК может представлять интерес для изучения резистентных к лечению штаммов клеток РПЖ [34]. По результатам нашей работы не выявлено статистически значимых различий между относительной концентрацией микроРНК-200с в группе с НХГТ и без терапии доцетакселом (U-тест $p=0,14$), нормализованной относительно среднего уровня экспрессии всех образцов. Однако установлена обратная корреляция между $\Delta\Delta\text{Ct}$ микроРНК-200с и частотой БХР заболевания у пациентов после НХГТ: $\Delta\Delta\text{Ct}$ микроРНК-200с на фоне рецидива составила $3,88 \pm 3,5$ против $6,9 \pm 4,65$ у пациентов без БХР, что косвенно подтверждает теорию о снижении экспрессии данной РНК и возникновении доцетаксел-нечувствительных клонов клеток.

По результатам крупного метанализа 2019 года Angelini S. и соавт. на базе из 6086 пациентов, высокая экспрессия miR-221 достоверно предсказывала плохую общую выживаемость пациентов опухолевыми заболеваниями (ОР: 1,48; 95% ДИ: 1,14–1,93, $p=0,003$) [81]. В рамках настоящей работы проводилась оценка только самой экспрессии микроРНК-221, отмечена корреляция между экспрессией «дикого» фенотипа p-53, PTEN и с-МYC, однако не получено статистически значимой корреляции с безрецидивной выживаемостью ($\Delta\Delta\text{Ct}$ микроРНК-221 на фоне рецидива составила $0,20 \pm 0,13$ против $0,23 \pm 0,14$ у пациентов без рецидива, $p\text{-value}=0,71$).

Для оценки зависимости риска наступления рецидива заболевания, продолжительности общей выживаемости был выполнен линейный однофакторный анализ. На предварительном этапе значимая связь с ОВ была выявлена между микроРНК-106b ($r=0,44$ ДИ 95% 0,04-0,71, при $p=0,032$).

Линейное уравнение многофакторного анализа выглядит следующим образом: $OB = 24 + 2,2 * MIR106B$, где $R^2 = 0,192$; $p = 0,032$. Вышеуказанные коэффициенты являются статистически значимыми при уровне $p\text{-value} = 0,032$. В данном случае значения R^2 и r являются умеренными для клинического прогнозирования уровня ОБ (Y), то есть определяя уровень экспрессии микроРНК в послеоперационном материале, можно предсказать результаты только 19,2% случаев.

Показателем качества регрессионной зависимости риска биохимического рецидива от уровня экспрессии протоонкогенного белка c-MYC является линейное уравнение многофакторного анализа $BPB = -0,148 * cMYC + 30.571$, где $R^2 = 0,1395$, $r = -0,4$. Вышеуказанные коэффициенты являются статистически значимыми при уровне $p\text{-value} = 0,045$. Процент клинического прогнозирования величины БРВ (Y) по уровню экспрессии белка составляет 13,95%.

Цель и задачи настоящего диссертационного исследования выполнены полностью. Полученные результаты позволяют сформулировать практические рекомендации для проведения неoadъювантной химиогормональной терапии с последующей радикальной простатэктомией у пациентов с локализованным и местно-распространенным РПЖ высокого риска, в том числе при вовлечении регионарных лимфатических узлов. При этом анализ послеоперационного материала на предмет клинического или морфологического патоморфоза, изменений молекулярного статуса опухоли несет потенциально предиктивный характер ответа опухоли на проводимый вариант терапевтического лечения.

ВЫВОДЫ

- 1) Медиана безрецидивной выживаемости после хирургического лечения больных локализованным и местно-распространенным раком предстательной железы высокого риска составила $26,77 \pm 21,38$ месяцев (ДИ 95%: 18,62-25,11), а в случае вовлечения регионарных лимфатических узлов снижалась до $20,71 \pm 15,44$ месяцев (ДИ 95%: 15,39-26,04).
- 2) Проведение неоадьювантной химиогормональной терапии статистически значимо снижает частоту позитивного хирургического края ($\chi^2=4,1$ df=1 p=0,043) на 15%. При анализе гистологического лечебного патоморфоза в операционном материале наличие интактных, хорошо сформированных или сливающихся желез ассоциировано с увеличением медианы безрецидивной выживаемости внутри группы комбинированного лечения на 10,2 месяцев: $23,23 \pm 12,61$ месяца против $12,79 \pm 9,23$ месяца у пациентов с наличием крибриформного паттерна, интрадуктальной карциномы или преобладанием изолированных опухолевых клеток (Log rank test p=0,0213).
- 3) При анализе экспрессии иммуногистохимических маркеров наиболее сильная обратная зависимость выявлена между экспрессией белка c-MYC и продолжительностью безрецидивной выживаемости ($r=-0,4$, p=0,045). Повышенная экспрессия белка c-MYC в послеоперационном периоде способна предсказать вероятность наступления биохимического рецидива в 13,95% случаев.
- 4) Профилирование микроРНК платформой miRCURY LNA™ Universal RT выявило изменение относительной экспрессии 6 типов микроРНК на фоне неоадьювантной химиогормональной терапии ($\Delta Ct= 2,75 \pm 1,13$ цикла): hsa-mir-181a-5p, hsa-mir-126-3p, hsa-mir-200c-3p, hsa-mir-106b-5p, hsa-mir221-3p.
- 5) Установлена статистически значимая корреляция между относительным уровнем ΔCt микроРНК126 и частотой позитивного хирургического края (критерий Фишера F=10,34 p=0,015). Уровень относительной экспрессии микроРНК-106b статистически значимо коррелирует с показателями общей

выживаемости ($r=0,44$ ДИ 95% 0,04-0,71, при $p=0,032$) и способен предсказать продолжительность общей выживаемости у 19,2% пациентов ($p<0,05$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

- 1) Проведение неoadъювантной химиогормональной терапии РПЖ-ВР расширяет возможности для выполнения радикальной простатэктомии у пациентов с вовлечением регионарных лимфатических узлов (cN1).
- 2) Рекомендовано использовать аналитически валидизированный Murphy C. подход в оценке лечебного патоморфоза на фоне терапии доцетакселом и дегареликсом.
- 3) Для предсказания продолжительности безрецидивного периода на фоне НХГТ показано определение экспрессии протеина с-МУС на послеоперационном материале.

Перспективы разработки темы

В ходе анализа получены данные о молекулярном профиле аденокарциномы предстательной железы, которые могут быть дополнительно изучены на предмет влияния экзосомальных микроРНК на процесс опухолевой трансформации нормальных клеток.

Блокирование гиперэкспрессии выделенных типов микроРНК в данной работе (hsa-mir-181a-5p, hsa-mir-126-3p, hsa-mir-200c-3p, hsa-mir-106b-5p, hsa-mir221-3p, hsa-mir34) может быть сопряжено с потенциальным противоопухолевым ответом. Поэтому перспективой данной диссертационной работы является изучение блокирования экзосомальных микроРНК в клеточных культурах LNCaP и PC3 предстательной железы.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

AUA-Американская ассоциация урологов

EAU- Европейская ассоциация урологов

ISUP подгруппа- морфологическая прогностическая группа, согласно согласительной конференции Международного общества уропатологов

NCCN- Национальная всеобщая онкологическая сеть

TNM- международная классификация стадий злокачественных новообразований

TMA- тканевой мульти-блок

RT- реакции обратной транскрипции

АДТ- андроген-депривационная терапия

АР- андрогеновый рецептор

АТ-адьювантная терапия

БМ- биомаркеры

БРВ-безрецидивная выживаемость

БХР- биохимический рецидив

ИГХ-иммуногистохимическое исследование

КРРПЖ- кастрационно-резистентный рак предстательной железы

ЛП-лечебный патоморфоз

ЛТ- лучевая терапия

МРТ- магнитно-резонансная томография

НГТ- неoadьювантная гормональная терапия

НГХТ-неoadьювантная химиогормональная терапия

НЯ-нежелательные явления

ОВ-общая выживаемость

ОР-относительный риск

ПСА- простат-специфический антиген

РПЖ- рак предстательной железы

РПЭ- радикальная простатэктомия

РПЖ-ВР- рак предстательной железы высокого риска

ПЖ-предстательная железа

ПОО-полный опухолевый ответ

ПХК-положительный хирургический край

ПЦР –полимеразно-цепная реакция

СВ-скорректированная выживаемость

ТЛАЭ-тазовая лимфаденэктомия

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1) Алексеев Б.Я. Лечение локализованного и местно-распространенного рака предстательной железы: дис. д-ра. мед. наук. –Москва, 2006.–с.304.
- 2) Асратов А.Т. Рак предстательной железы с высоким исходным уровнем простатспецифического антигена после комбинированного лечения/ А.Т. Асратов [и др.] // Research'n Practical Medicine Journal.– 2017.– №4.–с.133-142.
- 3) Башлык В.О. Оценка изменения морфологических и иммуногистохимических характеристик карцином молочной железы при проведении неoadъювантной системной терапии/ В.О.Башлык [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы.– 2018.– №1.–с.12-19.
- 4) Березин А. Е. Клиническое и прогностическое значение биологических маркеров в стратификации пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями (обзор литературы)/ А.Е. Березин // Украинский медицинский журнал «Часопис»-2010.-№6.-с.79-85.
- 5) Велиев Е.И. Рак предстательной железы: диагностика и результаты хирургического лечения локализованных и местно-распространенных форм/ Е.И. Велиев, С.Б. Петров // Русский медицинский журнал. – 2001. – №13. – с.564-567.
- 6) Велиев Е.И. Рак предстательной железы: онкологическая эффективность радикальной простатэктомии/ Е.И. Велиев [и др.] //Онкоурология. –2014–Т.10, №1.–с.53-57.
- 7) Вторушин С.В. Молекулярно-биологические факторы прогноза при раке предстательной железы/ С.В. Вторушин, Н.В. Безгодова, А.А. Плешкунов //Сибирский онкологический журнал.– 2017.–Т.16, №1.–с.82–90.
- 8) Гельман В.Я. Statistica 10 для аспирантов. Учебное пособие/В.Я. Гельман.– СПб., 2017.– с.95.

- 9) Ефремов Г. Д. Роль иммуногистохимии в диагностике рака предстательной железы/ Г.Д. Ефремов // Экспериментальная и клиническая урология – 2011. – №1. – с.50-55.
- 10) Каприн А.Д. Рак предстательной железы: организационные проблемы раннего выявления при диспансеризации мужского населения России/А.Д. Каприн [и др.] // Сборник тезисов Национального конгресса «Онкология репродуктивных органов: от профилактики и раннего выявления к эффективному лечению».–Москва, 2016.–с.83-84.
- 11) Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность)// Под ред.: А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.В. Петрова. - М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. – 2019. – с. 250.
- 12) Киселева Я.Ю. Циркулирующие микроРНК как диагностические маркеры онкологических заболеваний/Я.Ю. Киселева Я.Ю, С.П. Радько, Н.В. Бодоев // Биомедицина. – 2015. – №5. – с.79-85.
- 13) Патоморфологическая диагностика рака предстательной железы, рака мочевого пузыря и рака почки. Методические рекомендации № 55./ Под ред.: М.В. Ковылина, Е.А. Прилепская, Д.Ю. Пушкарь.– М.: АБВ-пресс, 2017. – с. 48.
- 14) Корсик В. Ю. Морфологические особенности ERG-позитивной аденокарциномы предстательной железы/ В.Ю. Корсик, Т.А. Летковская, А.В. Давидян // Молодой ученый. –2017.– №44.– с. 48-50.
- 15) Лисаева А.А. Лечебный патоморфоз злокачественных опухолей: клинические и морфологические критерии. Классификации. Прогностическое значение лечебного патоморфоза при раке молочной железы и других опухолях/ А.А. Лисаева [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. –2011.–№4.–с.19-23.
- 16) Мозеров С.А. Иммуногистохимия в оценке степени патоморфоза злокачественных новообразований /С.А. Мозеров [и др.] // Здоровье и образование в XXI веке.– 2016.– №11. –с.108-116.

- 17) Носов А.К. Результаты хирургического и комплексного лечения больных раком предстательной железы с высоким риском рецидива: дис. канд. мед. наук– СПб.–2006.–с. 177.
- 18) Носов А.К. Исследование безопасности и эффективности химиотерапии доцетакселом перед радикальной простатэктомией у больных раком предстательной железы промежуточного и высокого риска (наблюдение в течение 11,4 года)/ А.К. Носов // Онкоурология.– 2014.–Т. 10, №4.– с.52-61.
- 19) Оспанов Е.А. Иммуногистохимические исследования в диагностике рака предстательной железы/ Е.А. Оспанов // Наука и здравоохранение.–2017. №6.–с.131-146.
- 20) Петров С.Б. Формирование группы больных раком предстательной железы с высоким риском развития рецидива после радикальной простатэктомии/ С.Б. Петров [и др.] // Амбулаторная хирургия. – 2006. – N 2.-С.44-49.
- 21) Петров С. Б. Экстракапсулярная экстензия как неблагоприятный фактор прогноза при раке предстательной железы/ С.Б. Петров, С.А. Ракул, Р.В. Новиков // Вестник хирургии.–2007. –№3.–с.93-98.
- 22) Ракул С.А. Прогностические и предиктивные биомаркеры рака предстательной железы (обзор литературы)/С.А. Ракул [и др.]//Онкоурология.– 2017.–Т.13, №4.–с.111-121.
- 23) Рытин И.Э. Простатический специфический антиген и антипротеазные белки при раке предстательной железы: дис. канд. мед. наук–М.–2006.–с.99.
- 24) Семенов В.М. Иммуногистохимические и молекулярно-генетические методы диагностики онкологических заболеваний (обзор литературы)/ В.М. Семенов [и др.] // Вестник ВГМУ.– 2017.– №2.–с.15-25.

- 25) Солодкий В.А. Местнораспространенный и локализованный рак предстательной железы группы высокого риска прогрессирования: стратегия лечения, обзор клинических исследований /В.А. Солодкий [и др.] // Русский медицинский журнал– 2017. – №27. –с.2015-2018.
- 26) Федянин М.Ю. Роль микроРНК при злокачественных опухолях / М.Ю. Федянин, Е.О. Игнатова, С.А. Тюляндин //Злокачественные опухоли. –2013.–№1.–с.3-14.
- 27) Харченко П.В. Диагностика локализованного рака предстательной железы: дис. канд. мед. наук.—СПб., 2003.—с. 165.
- 28) Черняев В.А. Факторы прогноза биохимического рецидива локализованного и местно-распространенного рака простаты после радикальной простатэктомии / В.А. Черняев [и др.] // Онкоурология.– 2012.–Т.8, №4.–с.58-64.
- 29) Чиссов В. И. Заболеваемость раком предстательной железы в Российской Федерации/ В.И.Чиссов, И.Г.Русаков // Экспериментальная и клиническая урология. – 2011. – № 2.–с.6-7.
- 30) Ahyai S.A. Contemporary prostate cancer prevalence among T1c biopsy–referred men with a prostate–specific antigen level $\leq 4,0$ ng per ml / S.A. Ahyai [et al.] // Eur Urol.–2008.–Vol.53.–pp.750–757.
- 31) Alexander A. Is biochemical response more important than duration of neoadjuvant hormone therapy before radiotherapy for clinically localized prostate cancer? An analysis of the 3-versus 8-month randomized trial/ A. Alexander// Int J Radiat Oncol Biol Phys.–2010.–Vol. 76 (1).–pp. 23-30.
- 32) Antenor J.A. Relationship between initial prostate specific antigen level and subsequent prostate cancer detection in a longitudinal screening study/ J.A. Antenor [et al.] // J Urol. –2004.–Vol.172(1).–pp. 90–93.
- 33) Attard G. Duplication of the fusion of TMPRSS2 to ERG sequences identifies fatal human prostate cancer /G. Attard [et al.] // Oncogene.– 2008. –Vol. 27.–pp. 253–263.

- 34) Banyard J. Regulation of epithelial plasticity by miR-424 and miR-200 in a new prostate cancer metastasis model / J. Banyard [et al.]// *J. Sci Rep.* –2013.–Vol.3.–pp.1-12.
- 35) Bastian P.J. High-risk prostate cancer: from definition to contemporary management// P.J. Bastian, S.A. Boorjian, A. Bossi [et al.]// *Eur Urol.* –2012.–Vol.61(6).–pp.1096–1106.
- 36) Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. Biomarkers Definitions Working Group // *Clin Pharmacol Ther.* –2001.–Vol. 69(3).–pp.89–95.
- 37) Bismar T.A. ERG protein expression reflects hormonal treatment response and is associated with Gleason score and prostate cancer specific mortality/ T.A. Bismar, M. Dolph, L.H. Teng, S. Liu [et al.]// *Eur J Cancer.* – 2012.–Vol. 48(4).–pp.538–546.
- 38) Bitton A. Risk Stratification Methods and Provision of Care Management Services in Comprehensive Primary Care Initiative Practices/ A. Bitton, A.Reddy, L. Sessums, R. Gupta [et al.]// *Ann Fam Med.* –2017.–Vol. 15(5).–pp.451–454.
- 39) Blenkiron C. MicroRNA expression profiling of human breast cancer identifies new markers of tumor subtype/ C. Blenkiron, L. D.Goldstein, N. P. Thorne [et al.] // *Genome Biol.* — 2007, 8, R214.
- 40) Bolla M. Improved survival in patients with locally advanced prostate cancer treated with radiotherapy and goserelin/ M. Bolla, D. Gonzalez, P. Warde [et al.] // *N Engl J Med.*–1997.–Vol.337.–pp.295–300/
- 41) Boorjian S.A. Mayo Clinic validation of the D'Amico risk group classification for predicting survival following radical prostatectomy/ S.A. Boorjian, R.J.Karnes, L.J. Rangel[et al.]// *J Urol.* –2008.–Vol.179.–pp.1354–1360.
- 42) Brimo F. Immunohistochemical pitfalls in prostate pathology/ F. Brimo, J.I. Epstein // *Hum Pathol.*–2012.–Vol.43(3).–pp.313–324.

- 43) Chaux A. Loss of PTEN expression is associated with increased risk of recurrence after prostatectomy for clinically localized prostate cancer/ A. Chaux, S.B. Peskoe, N. Gonzalez-Roibon N. [et al.] // *Mod Pathol.*– 2012.– Vol.25 (11).–pp. 1543–1549.
- 44) Chi K.N. Multicenter phase II study of combined neoadjuvant docetaxel and hormone therapy before radical prostatectomy for patients with high risk localized prostate cancer/ K.N. Chi, J.L.Chin, E.Winquist [et al.] // *J Urol.* 2008;180(2):565–570. doi:10.1016/j.juro.2008.04.012
- 45) Choucair K., Ejdelman J., Brimo F., Aprikian A., Chevalier S., Lapointe J. PTEN genomic deletion predicts prostate cancer recurrence and is associated with low AR expression and transcriptional activity/ K. Choucair, J.Ejdelman, F.Brimo [et al.] // *BMC Cancer.*– 2012.–Vol. 12.–pp.543-552.
- 46) Clark P.E. Phase II trial of neoadjuvant estramustine and etoposide plus radical prostatectomy for locally advanced prostate cancer/ P. E. Clark, D.M. Peereboom, R. Dreicer [et al.] // *Urology.*–2001.–Vol. 57.–pp.281–287.
- 47) Colburn WA. Optimizing the use of biomarkers, surrogate endpoints, and clinical endpoints for more efficient drug development/ Colburn WA. // *J Clin Pharmacol.*–2000.–Vol. 40(12 Pt 2).–pp.1419–1427.
- 48) Colorado Beacon Consortium, Issue Brief, Vol. 2, Issue 2, URL: <http://origin.library.constantcontact.com/download/get/file/1101292888704-1346/CBC-v2%232.edits2.pdf>.
- 49) Cooperberg M.R. The CAPRA-S score: A straightforward tool for improved prediction of outcomes after radical prostatectomy/ M.R. Cooperberg, J.F.Hilton, P.R.Carroll // *Cancer.*–2011.–Vol.117(22).– pp.5039–5046.
- 50) Cowen D. Ki-67 staining is an independent correlate of biochemical failure in prostate cancer treated with radiotherapy/ D. Cowen, P. Troncoso, V.S. Khoo [et al.] // *Clin Cancer Res.*– 2002.–Vol.8(5).–pp.1148–1154.

- 51) Culig Z. Androgen receptor--an update of mechanisms of action in prostate cancer/ Z. Culig, A. Hobisch, G. Bartsch [et al.] // Urol Res.–2000.–Vol.28(4).–pp.211–219.
- 52) Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 4.0. URL: https://www.eortc.be/services/doc/ctc/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_5x7.pdf
- 53) D'Amico A.V. Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer/ A.V. D'Amico, R. Whittington, S.B. Malkowicz [et al.] // JAMA.– 1998.–Vol. 280.–pp.969–974.
- 54) D'Amico A.V. Prostate specific antigen doubling time as a surrogate end point for prostate cancer specific mortality following radical prostatectomy or radiation therapy/ A.V. D'Amico, J. Moul, P.R. Carroll [et al.] // J Urol .–2004.–Vol.172(5 Pt 2).–pp.42–46
- 55) D'Amico A.V. Androgen suppression and radiation vs radiation alone for prostate cancer: a randomized trial/ A.V.D'Amico, M.H. Chen, A.A. Renshaw [et al.] // JAMA.– 2008.– Vol. 299. –pp.289–295.
- 56) Dattoli M. Long-term outcomes for patients with prostate cancer having intermediate and high-risk disease, treated with combination external beam irradiation and brachytherapy/ M. Dattoli, K. Wallner, L. True [et al.] // J Oncol. –2010.–Vol. 2010. URL:10.1155/2010/471375
- 57) Dreicer R. Phase II trial of neoadjuvant docetaxel before radical prostatectomy for locally advanced prostate cancer/ R. Dreicer,C. Magi-Galluzzi, M. Zhou [et al.]// Urology.–2004.–Vol. 63(6).–pp.1138–1142.
- 58) Eastham J.A. Predicting an optimal outcome after radical prostatectomy: the trifecta nomogram/ J.A. Eastham, P.T. Scardino, M.W. Kattan// J Urol.–2008.– Vol.179(6).–pp.2207–2211.
- 59) Efstathiou E. Initial modulation of the tumor microenvironment accounts for thalidomide activity in prostate cancer/ E. Efstathiou, P. Troncoso, S. Wen [et al.] // Clin Cancer Res.–2007.–Vol.13.–pp.1224–1231.

- 60) Efstathiou E. Morphologic Characterization of Preoperatively Treated Prostate Cancer: Toward a Post-Therapy Histologic Classification / E. Efstathiou, N.A. Abrahams, R.F. Tibbs [et al.]//*Eur Urol.*–2010.–Vol. 57(6).–pp.1030–1038.
- 61) Engel J. Survival benefit of radical prostatectomy in lymph node-positive patients with prostate cancer/ J. Engel, P.J. Bastian, H. Baur [et al.] // *Eur Urol.*–2010.– Vol.57(5).–pp.754–761.
- 62) Egevad L. International Society of Urological Pathology (ISUP) grading of prostate cancer - An ISUP consensus on contemporary grading/ L. Egevad. B. Delahunt, J.R. Srigley [et al.]// *APMIS.*– 2016.–Vol.124(6).–pp.433–435.
- 63) Febbo P.G. Neoadjuvant docetaxel before radical prostatectomy in patients with high-risk localized prostate cancer/P.G. Febbo, J.P. Richie, D. L. George [et al.]// *Clin Cancer Res.*–2005.–Vol.11(14).–pp.5233–5240.
- 64) Ferlay J. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods// J. Ferlay, M. Colombet, I. Soerjomataram [et al.]// *Int J Cancer.*– 2019.–Vol.144(8).–pp.1941–1953.
- 65) Freedland S.J. Risk of prostate cancer-specific mortality following biochemical recurrence after radical prostatectomy/ S.J. Freedland, E.B. Humphreys, L.A. Mangold [et al.] // *JAMA.*– 2005.–Vol.294. –pp.433–439.
- 66) Furlow B. Does ERG Expression Predict Docetaxel Benefit in Prostate Cancer/ B. Furlow B. // *J Oncology.* – 2017. – №6. URL: <https://www.cancernetwork.com/asco-prostate-cancer/does-erg-expression-predict-docetaxel-benefit-prostate-cancer>
- 67) Grignon D.J. p53 status and prognosis of locally advanced prostatic adenocarcinoma: a study based on RTOG 8610/ D.J. Grignon, R. Caplan, F.H. Sarkar [et al.]// *J. Natl. Cancer Inst.*–1997. –Vol. 89(2).–pp.158-165.
- 68) Gronberg H. Familial prostate cancer in Sweden: A nationwide register cohort study/ H. Gronberg, L. Damber, J.E. Damber// *Cancer.*–1996.–Vol. 77.–pp.138–143.

- 69) Grossfeld G.D. Impact of positive surgical margins on prostate cancer recurrence and the use of secondary cancer treatment: data from the CaPSURE database/ G.D. Grossfeld, J.J. Chang, J.M. Broering [et al.] // J Urol.– 2000.–Vol.163(4).–pp.1171–1177.
- 70) Hameed O. Immunohistochemical stains for p63 and alpha-methylacyl-CoA racemase, versus a cocktail comprising both, in the diagnosis of prostatic carcinoma: a comparison of the immunohistochemical staining of 430 foci in radical prostatectomy and needle biopsy tissues/ O. Hameed, J. Sublett, P.A. Humphrey//Am J Surg Pathol.– 2005. –Vol. 29(5).–pp.579-587.
- 71) Hanninen M. A rapid PSA half-life following docetaxel chemotherapy is associated with improved survival in hormone refractory prostate cancer/ M. Hanninen, P. Venner, S. North // Can Urol Assoc.– 2009.–Vol.3(5).–pp.369–374.
- 72) Hawksworth, D. Overexpression of C-MYC oncogene in prostate cancer predicts biochemical recurrence// D. Hawksworth, L. Ravindranath, Y. Chen [et al.] // Prostate Cancer Prostatic Dis.–2010.– Vol. 13.–pp.311–315.
- 73) Herkommer K. Pathological T0 prostate cancer without neoadjuvant therapy: clinical presentation and follow-up/ K. Herkommer, R. Kuefer, J.E. Gschwend [et al.]// Eur. Urol. – 2004. – Vol. 45(6).–pp. 36-41.
- 74) Hernández J. Prostate-specific antigen: a review of the validation of the most commonly used cancer biomarker/ J. Hernández, I.M. Thompson //Cancer.–2004.–Vol.101(5).–pp.894–904.
- 75) Hussain M. Neoadjuvant docetaxel and estramustine chemotherapy in high-risk/locally advanced prostate cancer/ M. Hussain, D.C. Smith, B.F. El-Rayes [et al.] //Urology.– 2003.–Vol.61.–pp.774–780.
- 76) Jiang T. P53 expression and its clinical significance in prostatic carcinoma /T. Jiang, H. Jiang, X.S. Song [et al.]// Zhonghua Nan Ke Xue. –2005.–Vol.11(6).–pp.448-451.
- 77) Jensen S.G. Evaluation of two commercial global miRNA expression profiling platforms for detection of less abundant miRNAs/ S. G. Jensen, P. Lamy P, M.H. Rasmussen [et al.]// BMC Genomics.–2011.–Vol. 12.–p.435.

- 78) Joniau S. Stratification of high-risk prostate cancer into prognostic categories: a European multi-institutional study/ S. Joniau, A. Briganti, P. Gontero [et al.]// *Eur Urol.* –2015.–Vol. 67(1).–pp.157–164.
- 79) Kattan M.W. Postoperative nomogram for disease recurrence after radical prostatectomy for prostate cancer/ M.W. Kattan, T.M. Wheeler, P.T. Scardino // *J Clin Oncol.*–1999.–Vol.17.–pp.1499–1507.
- 80) Kazama A. Achieving PSA < 0.2 ng/ml before Radiation Therapy Is a Strong Predictor of Treatment Success in Patients with High-Risk Locally Advanced Prostate Cancer/ A. Kazama, T. Saita, K. Takeda [et al.]// *Prostate Cancer*, 2019, electronic version, URL: DOI: 10.1155/2019/4050352
- 81) Kiener M, Chen L, Krebs M, et al. miR-221-5p regulates proliferation and migration in human prostate cancer cells and reduces tumor growth in vivo/ M. Kiener, L. Chen, M. Krebs [et al.]// *BMC Cancer.*– 2019/–Vol.19(1).–pp.627-644
- 82) Kollermann J. Prognosis of stage pT₀ after prolonged neoadjuvant endocrine therapy of prostate cancer: a matched-pair analysis/J. Kollermann, W. Hopfenmuller, J. Caprano [et al.] // *Eur. Urol.* - 2004. - Vol. 45, № 1. – pp.42-45.
- 83) Kumar S, Shelley M, Harrison C, Coles B, Wilt TJ, Mason MD. Neoadjuvant and adjuvant hormone therapy for localised and locally advanced prostate cancer/ S. Kumar, M. Shelley, C. Harrison [et al.]// *Cochrane Database Systematic Review*,2006. – Vol.18(4), electronic version, URL: doi:10.1002/14651858.CD006019.pub2.
- 84) Kurita T. Role of p63 and basal cells in the prostate/ T. Kurita, R.T. Medina, A.A. Mills [et al.] // *Development.*–2004. –Vol. 131(20).–pp.4955-4964.
- 85) Loeb S. What are the outcomes of radical prostatectomy for high-risk prostate cancer?/ S. Loeb, E.M. Schaeffer, B.J. Trock [et al.]// *Urology.*–2010.–Vol. 76.–pp.710–714.
- 86) Lukes M. Prostate-specific antigen: current status/M. Lukes, M. [et al.] // *Folia Biol.*–2001.–Vol.47.–pp.41–49.

- 87) Magi-Galluzzi C. Neoadjuvant docetaxel treatment for locally advanced prostate cancer: a clinicopathologic study/ C. Magi-Galluzzi, M. Zhou, A.M. Reuther [et al.]// *Cancer*.–2007.–Vol. 110(6).–pp.1248–1254.
- 88) Maru N. The role of perineural space invasion in the local spread of prostatic adenocarcinoma/ N. Maru, A. Villers, J.E. McNeal [et al.]// *J Urol*.–1989.–Vol.142.–pp.763–768.
- 89) Mattie M.D. Optimized high-throughput microRNA expression profiling provides novel biomarker assessment of clinical prostate and breast cancer biopsies/ M.D. Mattie, C.C. Benz, J. Bowers [et al.] // *Mol. Cancer*. –2006.–Vol. 5. – pp.24-38.
- 90) Martin C.M. Molecular profiling of cervical neoplasia/ C.M. Martin, K. Astbury, J.J. O’Leary // *Expert Rev. Mol. Diagn.* –2006. –Vol. 6(2).–pp. 217–229.
- 91) May M. Prognostic impact of lymphovascular invasion in radical prostatectomy specimens/ M. May, O. Kaufmann, F. Hammermann [et al.] // *BJU* .–2006.–Vol.99.–pp.539–544.
- 92) Mcleod DG. Hormonal therapy: historical perspective to future directions /D.G. Mcleod // *Urology*. –2003.–Vol. 61(2).–pp.3–7.
- 93) Murphy C. Novel System for Estimating Residual Disease and Pathologic Response to Neoadjuvant Treatment of Prostate Cancer/ C. Murphy,L.True,F.Vakar-Lopez[etal.]// *Prostate*. – 2016. – Vol. 76(14) .– pp.1285–1292.
- 94) MIRCURY LNA™ Universal RT microRNA PCR Instruction manual version 6.2.– 2016 .–[Электронный ресурс].–URL: <http://www.exiqon.com/ls/Documents/Scientific/Universal-RT-microRNA-PCR-manual.pdf>
- 95) Narendrula R. RNA disruption is associated with response to multiple classes of chemotherapy drugs in tumor cell lines/ R. Narendrula, K. Mispel-Beyer, B. Guo [et al.] // *BMC Cancer*. –2016.–Vol. 16:146-163.
- 96) Narita S. Short-term clinicopathological outcome of neoadjuvant chemohormonal therapy comprising complete androgen blockade, followed by

- treatment with docetaxel and estramustine phosphate before radical prostatectomy in Japanese patients with high-risk localized prostate cancer/ S. Narita, N. Tsuchiya, T. Kumazawa [et al.] // *World J Surg Oncol.*–2012.–Vol.10.–pp.6-12.
- 97) Ochiai A. Natural history of biochemical progression after radical prostatectomy based on length of a positive margin/ A. Ochiai, T. Sotelo, P. Troncoso [et al.]// *Urology.* –2008.–Vol.71(2).–pp.308–312.
- 98) Oesterling J.E. Serum prostate-specific antigen in a community-based population of healthy men. Establishment of age-specific reference ranges/ J.E. Oesterling, S.J. Jacobsen, C.G. Chute [et al.]// *JAMA.*–1993.–Vol. 270(7).–pp.860–864.
- 99) Oh W.K. Treatment of locally advanced prostate cancer: is chemotherapy the next step?/ W.K. Oh, P.W. Kantoff // *J Clin Oncol.*– 1999.–Vol.17.–pp.3664-3675.
- 100) Oh W.K. Neoadjuvant docetaxel followed by radical prostatectomy in patients with high-risk localized prostate cancer: a preliminary report/ W.K. Oh, D.G. George, D.S. Kaufman [et al.] // *Semin Oncol.* – 2001. – Vol. 28(4).–pp.40-44.
- 101) Panigrahi G.K. Exosome proteomic analyses identify inflammatory phenotype and novel biomarkers in African American prostate cancer patients/ G. K. Panigrahi, P.P. Praharaj, H.Kittaka [et al.]// *Cancer Med.*–2019.–Vol.8(3).–pp.1110–1123.
- 102) Parissenti A.M. Association of low tumor RNA integrity with response to chemotherapy in breast cancer patients/ A. M. Parissenti, J.A. Chapman, H.J. Kahn [et al.]//*Breast Cancer Res Treat.*–2010.–Vol. 119(2).–pp.347–356.
- 103) Partin A.W. The use of prostate specific antigen, clinical stage and Gleason score to predict pathological stage in men with localized prostate cancer/ A.W. Partin, J. Yoo, H.B. Carter [et al.]// *J Urol.*–1993.–Vol. 150.–pp.110–114.

- 104) Partin A.W. Combination of prostate-specific antigen, clinical stage, and Gleason score to predict pathological stage of localized prostate cancer. A multi-institutional update/ A.W. Partin, M.W. Kattan, E.N. Subong [et al.] //JAMA.–1997.–Vol. 277.–pp.1445–1451
- 105) Pashaei E. Meta-analysis of miRNA expression profiles for prostate cancer recurrence following radical prostatectomy/ E. Pashaei, E. Pashaei, M. Ahmady [et al.] //PLoS One.–2017.–Vol.12(6).–[Электронный ресурс].–doi:10.1371/journal.pone.0179543
- 106) Prayer-Galetti T. Long-term follow-up of a neoadjuvant chemohormonal taxane-based phase II trial before radical prostatectomy in patients with non-metastatic high-risk prostate cancer/ T. Prayer-Galetti, E. Sacco, F. Pagano [et al.]// BJU Int.–2007.–Vol.100(2).–pp.274–280.
- 107) Ploussard G. Prostate cancer antigen 3 score accurately predicts tumour volume and might help in selecting prostate cancer patients for active surveillance/ G. Ploussard, X. Durand, E. Xylinas [et al.] //Eur Urol.–2011.–Vol.59(3).–pp.422–429.
- 108) Qubit® RNA BR Assay Kits For use with the Qubit® Fluorometer version 2.0.– 2010 .–[Электронный ресурс].–URL: http://core.phmtox.msu.edu/Scheduling/ItemDocs/57/Qubit_RNA_BR_Assay.pdf
- 109) Rajpar Sh. The benefit of combining docetaxel to androgen deprivation therapy in localized and metastatic castration-sensitive prostate cancer as predicted by ERG status: An analysis of two GETUG phase III trials/ Sh. Rajpar // Journal of Clinical Oncology.–2017.–Vol.15.–pp.5012-5012.
- 110) Rawla P. Epidemiology of Prostate Cancer/ P.Rawla // World J Oncol.–2019.–Vol.10(2).–pp.63–89.
- 111) Rebello R.J. Therapeutic Approaches Targeting MYC-Driven Prostate Cancer / R.J. Rebello, R.B. Pearson, R.D. Hannan [et al.]// Genes (Basel).–2017.–Vol.8(2).–pp.71-86.

- 112) Rescigno P. Docetaxel Treatment in PTEN- and ERG-aberrant Metastatic Prostate Cancers/ P. Rescigno, D. Lorente, D. Dolling [et al.]// *Eur Urol Oncol.*–2018.–Vol.1(1).–pp.71–77.
- 113) Richardsen E. Evaluation of the proliferation marker Ki-67 in a large prostatectomy cohort/ E. Richardsen, S. Andersen, S. Al-Saad [et al.]// *PLoS One.*– 2017.– Vol.12(11).– [Электронный ресурс].–URL: doi:10.1371/journal.pone.0186852
- 114) Sasaki T. The Importance of Time to Prostate-Specific Antigen (PSA) Nadir after Primary Androgen Deprivation Therapy in Hormone-Naïve Prostate Cancer Patients/ T. Sasaki, Y. Sugimura// *J Clin Med.*– 2018.–Vol. 7(12).–pp.565-574.
- 115) Shahait M. Ki-67 expression predicts biochemical recurrence after radical prostatectomy in the setting of positive surgical margins/ M. Shahait, S. Nassif, H. Tamim [et al.]// *BMC Urol.* –2018.–Vol.18(1).–pp.13-19.
- 116) Shariat F.S. Improved prediction of disease relapse after radical prostatectomy through a panel of preoperative blood-based biomarkers/ F.S. Shariat, A. J. Karam, W. Jochen [et al.] // *Clin Cancer Res.*–2008.–Vol.14(12).–pp. 3785-3791.
- 117) Shannon C. Is there still a role for neoadjuvant therapy in breast cancer? / C. Shannon, I. Smith // *Crit Rev Oncol Hematol.* –2003 .–Vol. 45. –pp.77-90.
- 118) Shelley M.D. A systematic review and meta-analysis of randomised trials of neo-adjuvant hormone therapy for localised and locally advanced prostate carcinoma/ M.D. Shelley, S. Kumar, T. Wilt T [et al.]// *Cancer Treat Rev.*– 2009.–Vol.35(1).–pp.9–17.
- 119) Shore N. Clinical utility of a biopsy-based cell cycle gene expression assay in localized prostate cancer/ N. Shore, R. Concepcion, D. Saltzstein [et al.]// *Curr Med Res Opin.*–2014.–Vol.30(4).–pp.547–553.
- 120) Simon M.A. Prostate specific antigen recurrence rates are low after radical retropubic prostatectomy and positive margins/ M.A. Simon, S. Kim, M.S. Soloway// *J Urol.*– 2006.–Vol.175(1).–pp.140–144.

- 121) Silberstein J.L. A case-mix-adjusted comparison of early oncological outcomes of open and robotic prostatectomy performed by experienced high volume surgeons/ J.L. Silberstein, D. Su, L. Glickman [et al.]// *BJU Int.*–2013.–Vol.111(2).–pp.206-212.
- 122) Smith DS, Humphrey PA, Catalona WJ. The early detection of prostate carcinoma with prostate specific antigen: the Washington University experience/ D.S. Smith, P.A. Humphrey, W.J. Catalona// *Cancer.*–1997.–Vol.80(9).–pp.1852–1856.
- 123) Sommariva S. Prognostic Value of the Cell Cycle Progression Score in Patients with Prostate Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis/ S. Sommariva, R. Tarricone, M. Lazzeri [et al.] // *Eur Urol.*–2016.–Vol.69.–pp.107-115.
- 124) Soloway M.S. Role of induction androgen deprivation before radical prostatectomy/ M.S. Soloway // *Semin. Urol.* – 1995. – Vol. 13(2).–pp.142-147.
- 125) Spratt D.E. Patterns of Lymph Node Failure after Dose-escalated Radiotherapy: Implications for Extended Pelvic Lymph Node Coverage/ D.E. Spratt, H.A. Vargas, Z.S. Zumsteg [et al.] // *Eur Urol.*–2017. –Vol.71(1).–pp.37-43.
- 126) Srigley J.R. Protocol for the examination of specimens from patients with carcinoma of the prostate gland/ J.R. Srigley, P.A. Humphrey, M.B. Amin [et al.]// *Arch Pathol Lab Med.*–2009.–Vol.133(10).–pp.1568–1576.
- 127) Stanford J.L. Cancer incidence and mortality, 1973-1995: a report card for the U.S / J.L. Stanford, L.A. Ries LA, H.M. Rosenberg [et al.] // *Cancer.* –1998.–Vol.82(6).–pp.1197–1207.
- 128) Stamey T.A. Prostate specific antigen in the diagnosis and treatment of adenocarcinoma of the prostate I: untreated patients/ T.A. Stamey, J.N. Kabalin // *J Urol.*–1989.–Vol.141.–pp.1070–1075.
- 129) Steinberg G.D. Family history and the risk of prostate cancer/ G.D. Steinberg, B.S. Carter, T.H. Beaty [et al.] // *Prostate.* –1990. –Vol. 17.– pp.337–437.

- 130) Stephenson A.J. Preoperative nomogram predicting the 10-year probability of prostate cancer recurrence after radical prostatectomy/ A.J. Stephenson, P.T. Scardino, J.A. Eastham [et al.] // *J Natl Cancer Inst.*–2006.–Vol.98.–pp.715–717.
- 131) Stephenson A.J. Postoperative nomogram predicting the 10-year probability of prostate cancer recurrence after radical prostatectomy/ A.J. Stephenson, P.T. Scardino, J.A. Eastham [et al.] // *J Clin Oncol.*–2005. –Vol.23.–pp.7005–7012.
- 132) Sun X. Association of microRNA-126 expression with clinicopathological features and the risk of biochemical recurrence in prostate cancer patients undergoing radical prostatectomy/ X. Sun, Z. Liu, Z. Yang [et al.]// *Diagn Pathol.*–2013.–Vol.8.–pp.208-214.
- 133) Swindle P.W. Markers and meaning of primary treatment failure/ P.W. Swindle, M.W. Kattan, P.T. Scardino // *Urol Clin North Am.*–2003. –Vol.30.–pp.377-401.
- 134) TNM classification of malignant tumours, 7th edition. J. Brierley, M.K. Gospodarowicz, C. Wittekind// Editor B. Sullivan.–NY: Springer-Verlag, 2010.–pp.241.
- 135) Taille A. Is microvascular invasion on radical prostatectomy specimens a useful predictor of PSA recurrence for prostate cancer patients?/ A. Taille, M.A. Rubin, R. Buttyan [et al.] // *Eur Urol.*– 2000.–Vol.38.–pp.79–84.
- 136) Tannock I.F. Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer/ I.F. Tannock, R. de Wit, W.R. Berry [et al.]// *N Engl J Med.*–2004.–Vol.351(15).–pp.1502–1512.
- 137) Tareen B. Contemporary treatment of high-risk localized prostate cancer/ B. Tareen, J. Kimmel, W.C. Huang // *Expert Rev Anticancer Ther.*–2010.–10(7).–pp.1069-1076.
- 138) Tollefson M.K., Karnes RJ, Kwon ED, Lohse CM, Rangel LJ, Mynderse LA, et al. Prostate cancer Ki-67 (MIB-1) expression, perineural invasion, and Gleason score as biopsy-based predictors of prostate cancer mortality: the Mayo model/ M.K. Tollefson, R.J. Karnes, E.D. Kwon [et al.] // *Mayo Clin Proc.*–2014.–Vol.89(3).–pp.308–318.

- 139) Tomlins S.A. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer/ S.A. Tomlins, D.R. Rhodes, S. Perner [et al.] // *Science*.— 2005.—Vol.310.—pp.644–648.
- 140) Thompson I.M. Prostate-specific antigen in the early detection of prostate cancer/ I.M. Thompson, D.P. Ankers // *CMAJ*.—2007.—Vol. 176(13).—pp.1853–1858.
- 141) Vallet B.B. Radical perineal prostatectomy subsequent to bilateral orchidectomy/ B.B. Vallet // *Del Me J*.—1944.—Vol.16.—pp.18-20.
- 142) Van Poppel H. Neoadjuvant hormonal therapy before radical prostatectomy decreases the number of positive surgical margins in stage T2 prostate cancer: interim results of a prospective randomized trial/ H. Van Poppel, D. de Ridder, A.A. Elgamal [et al.] // *J Urol*.—1995.— Vol.154. —pp.429-434.
- 143) Warde P.R. Final Report of the Intergroup Randomized Study of Combined Androgen-Deprivation Therapy Plus Radiotherapy Versus Androgen-Deprivation Therapy Alone in Locally Advanced Prostate Cancer/ P.R. Warde, M.D. Mason, W.R. Parulekar [et al.] // *J Clin Oncol*.— 2015.—Vol.33(19).—pp.2143–2150.
- 144) Weiner A.B. Contemporary management of men with high-risk localized prostate cancer in the United States/ A.B. Weiner, R.S. Matulewicz, E.M. Schaeffer [et al.]//*Prostate Cancer Prostatic Dis*.— 2017. —Vol.20(3).—pp.283–288.
- 145) Wong M.C. Global Incidence and Mortality for Prostate Cancer: Analysis of Temporal Patterns and Trends in 36 Countries /M.C. Wong, W.B. Goggins, H.H. Wang [et al.] // *Eur Urol*.—2016.—Vol.70(5).—pp.862–874.
- 146) Zagars G.K. Prostate-specific antigen as a prognostic factor for prostate cancer treated by external beam radiotherapy/ G.K. Zagars // *Int J Radiat Oncol Biol Phys*.—1992.—Vol.23.—pp.47–53.
- 147) Zagars G.K. Prostate cancer and radiation therapy—the message conveyed by serum prostate specific antigen/ G.K. Zagars, A. Pollack, A.C. von Eschenbach// *Int J Radiat Oncol Biol Phys*.—1995.—Vol.33.—pp.23–35.
- 148) Zelefsky M.J. Biochemical response to androgen deprivation therapy before external beam radiation therapy predicts long-term prostate cancer survival

- outcomes/ M.J. Zelefsky, D.R. Gomez, W.T. Polkinghorn [et al.] // *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*—2013.—Vol.86(3).—pp.529–533.
- 149) Zhang K. Prostate cancer screening in Europe and Asia/ K. Zhang, C.H. Bangma, M.J. Roobol // *Asian J Urol.*— 2017.—Vol.4(2).—pp.86–95.
- 150) Yossepowitch O. Radical prostatectomy for clinically localized, high risk prostate cancer: critical analysis of risk assessment methods/ O. Yossepowitch, S.E. Eggener, F.J. Bianco [et al.]// *J Urol.* —2007.— Vol.178 (2).—pp.493–499.
- 151) Young R.H. Tumors of the Prostate Gland, Seminal Vesicles, Male Urethra and Penis (fascicle 28), 3rd Edition / R.H. Young, J.R. Srigley, M.B. Amin [et al.]// Washington, DC:ARP, 2000.—pp.495.