

ИНДЕКС ОБНОВЛЕНИЯ КЛЕТОК В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ АТИПИЧЕСКОЙ МЕЛКОАЦИНАРНОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ И АДЕНОКАРЦИНОМЫ ПРОСТАТЫ

Анжела Алексеевна Дуб

Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

drow_2390@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2007-3461>

Аннотация

Введение. Выделение такой диагностической категории как атипическая мелкоацинарная пролиферация предстательной железы (АМАП) определяет необходимость формирования дополнительных подходов к дифференциальной морфологической диагностике с целью своевременного определения аденокарциномы. Индекс обновления клеток (ИОК) активно используется для изучения пролиферации и апоптоза в эпителиальных клетках гормонально зависимых желёз, но при патологии простаты этот критерий не исследован. **Цель исследования** – для оптимизации дифференциальной диагностики охарактеризовать индекс обновления клеток при атипической мелкоацинарной пролиферации и аденокарциноме предстательной железы различной степени дифференцировки. **Материалы и методы.** Исследовано 720 биоптатов простаты от 60 пациентов: 1-я — 15 пациентов с АМАП; 2-я – 15 с аденокарциномой высокой степени дифференцировки; 3-я – 15 с умеренно дифференцированной аденокарциномой; 4-я группа – 15 с низкодифференцированной аденокарциномой. Использован иммуногистохимический метод (Ki-67, СРР32) и непараметрические статистические методы исследования. **Результаты.** ИОК при АМАП по своим значениям был сопоставим с показателем при высокодифференцированной аденокарциноме ($p=0,5$). При умереннодифференцированной аденокарциноме ИОК был достоверно выше, чем при АМАП и высокодифференцированной аденокарциноме ($p=0,004$). Наибольшее увеличение ИОК отмечалось в группе низкодифференцированной аденокарциномы, что было выше и значимо различалось от групп АМАП ($p=0,000$), высокодифференцированной карциномы ($p=0,003$) и умеренно дифференцированной карциномы простаты ($p=0,000$). **Обсуждение.** Настоящее исследование помогло на основании статистического анализа выявить тождество показателей ИОК при АМАП и высокодифференцированной аденокарциноме простаты, что позволяет пополнить ряд морфологических критериев для перевода пациентов из группы неопределённого диагноза АМАП в группу аденокарциномы. Существует необходимость дальнейшего исследования ИОК с многопараметрическим анализом, включающим исследование уровня экспрессии гормонов, участвующих в регуляции клеточного обновления в предстательной железе и связанных с ними ростовых факторов. **Заключение.** Исследование позволило выявить тождество показателей ИОК при АМАП и высокодифференцированной аденокарциноме простаты, что может пополнить ряд морфологических критериев для перевода пациентов из группы неопределённого диагноза АМАП в группу аденокарциномы.

Ключевые слова: атипическая мелкоацинарная пролиферация простаты, аденокарцинома простаты, индекс обновления клеток, СРР32, Ki-67.

Для цитирования: Дуб А.А. Индекс обновления клеток в дифференциальной диагностике атипической мелкоацинарной пролиферации и аденокарциномы простаты. Уральский медицинский журнал 2023;22(2):65-73. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-65-73>.

CELL RENEWAL INDEX IN THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF ATYPICAL SMALL ACINAR PROLIFERATION AND ADENOCARCINOMA OF THE PROSTATE

Anzhela A. Dub

South-Ural State Medical University

drow_2390@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2007-3461>**Abstract**

Introduction Singling out such diagnostic category as atypical small acinar proliferation of the prostate (ASAP) determines the necessity of forming additional approaches to differential morphological diagnosis in order to determine adenocarcinoma in time. Cell renewal index (CRI) is actively used to study proliferation and apoptosis in the epithelial cells of hormone-dependent glands, but in prostate pathology this criterion has not been studied. **The aim of the study** was to characterize the cell renewal index in atypical small acinar proliferation and prostate adenocarcinoma of different degrees of differentiation in order to optimize differential diagnosis. **Materials and methods** We studied 720 prostate biopsy specimens from 60 patients: Group 1 — 15 patients with ASAP; Group 2 – 15 with adenocarcinoma of high-grade of differentiation; Group 3 – 15 with moderately differentiated adenocarcinoma; Group 4 – 15 with low differentiated adenocarcinoma. We used immunohistochemical method (Ki-67, CPP32) and non-parametric statistical methods of investigation. **Results** The CRI in ASAP was comparable to that in highly differentiated adenocarcinoma ($p=0.5$). In moderately differentiated adenocarcinoma the CRI was significantly higher than in ASAP and highly differentiated adenocarcinoma ($p=0.004$). The greatest increase in CRI was noted in the low-differentiated adenocarcinoma group, which was higher and significantly different from the ASAP ($p=0.000$), highly differentiated carcinoma ($p=0.003$) and moderately differentiated prostatic carcinoma ($p=0.000$) groups. **Discussion** On the basis of statistical analysis the present study helped to reveal the identity of CRI parameters in ASAP and highly differentiated adenocarcinoma of the prostate, which allows to add a number of morphological criteria for transferring patients from the group of undetermined diagnosis of ASAP to the group of adenocarcinoma. There is a need for further investigation of CRI with multiparametric analysis including investigation of the expression levels of hormones involved in the regulation of cell renewal in the prostate and growth factors associated with them. **Conclusion** The study allowed to reveal the identity of the CRI in ASAP and highly differentiated adenocarcinoma of the prostate, which can supplement a number of morphological criteria for transferring patients from the group of undetermined diagnosis of ASAP to the group of adenocarcinoma.

Key words: atypical small acinar proliferation of the prostate, prostate adenocarcinoma, cell renewal index, CPP32, Ki-67.

For citation:

Dub AA. Cell renewal index in the differential diagnosis of atypical small acinar proliferation and adenocarcinoma of the prostate. Ural medical journal 2023;22(2):65-73. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-65-73>

ВВЕДЕНИЕ

Своевременная диагностика онкологических и пренеопластических заболеваний предстательной железы – важная проблема современной урологии [1, 2, 3]. По данным Российского общества клинической онкологии в 2021 году в структуре онкологической заболеваемости в России carcinoma предстательной железы занимает 4 место [4]. Гистопатологический диагноз аденокарциномы предстательной железы основан на светомикроскопическом исследовании срезов ткани, окрашенных гематоксилин-эозином. Множество факторов, включая преданалитические и аналитические элементы, влияют на способность патологоанатома точно диагностировать аденокарциному предста-

тельной железы. Ложноотрицательный диагноз, то есть неспособность диагностировать аденокарциному предстательной железы, может иметь серьезные клинические последствия. Важно определить и понять те факторы, которые могут влиять на гистопатологические ложноотрицательные диагнозы аденокарциномы предстательной железы и вызывать их [5, 6, 7].

Выделение в современной классификации такой диагностической категории как атипическая мелкоацинарная пролиферация предстательной железы (АМАП, от англ. Atypical small acinar proliferation – ASAP), когда малый объем железистых структур считается недостаточным для постановки диагноза злокачественного новоо-

бразования или опровержения его, определяет необходимость формирования дополнительных подходов к дифференциальной морфологической диагностике с целью своевременного определения истинной неопластической трансформации [8, 9, 10]. Некоторыми авторами предпринимались попытки установить место АМАП в канцерогенезе рака простаты. Так, например, И.Р. Четер с этой целью исследовала индексы пролиферации и апоптоза, с помощью иммуногистохимических маркеров: Ki-67 (ведущего пролиферативного фактора, имеющего большое значение в злокачественной трансформации клеток и опухолевой прогрессии) и Caspase-3 (CPP32) (пускового фактора активации апоптотической программы) [11]. Следует отметить, что четкие дифференциально-диагностические критерии для АМАП и аденокарциномы на основании параметров клеточного обновления направленно разработаны не были [12]. Поиск возможностей оптимизации диагностического алгоритма при карциноме простаты и путей объективизации информации о процессах клеточного обновления диктует необходимость комплексного определения параметров процессов, задействованных в поддержании клеточного гомеостаза, в их взаимосвязи [12, 13, 14]. С этой целью для более объективного изучения пролиферации и апоптоза в эпителиальных клетках гормонально зависимых желёз предлагается активное использование индекса обновления клеток (ИОК) [15]. Однако применительно к пренеопластической и неопластической патологии простаты ИОК до настоящего времени не был задействован. Возможно, что сопоставление индексов пролиферации и апоптоза в виде ИОК сможет помочь объективизировать эффект пролиферации и апоптоза в эпителиальных клетках простаты при различной степени дифференцировки аденокарциномы простаты, ускорить и упростить разрешение вопроса с диагностической категорией АМАП.

Цель исследования – для оптимизации дифференциальной диагностики охарактеризовать индекс обновления клеток при атипической мелкоацинарной пролиферации и аденокарциноме предстательной железы различной степени дифференцировки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили 720 биоптатов простаты и документация (направление на гистологическое исследование форма №014/у-07) 60 пациентов отделения лучевой диагностики ГБУЗ «Челябинского окружного клинического онкологического диспансера» и ГБУЗ «Челябинского областного патологоанатомического бюро» в возрасте от 40 до 82 лет за 2012–2019 гг. Забор материала выполнялся посредством тонкоигльной трепан-биопсии предстательной железы из 12 точек: верхушка, средняя часть и основание

в парасагиттальных областях обеих долей и из периферической зоны. В исследование были взяты биоптаты пациентов с впервые выявленной аденокарциномой простаты или АМАП. Из исследования на этапе формирования выборки были исключены пациенты с вторичными злокачественными опухолями простаты и имевшие в анамнезе жизни или болезни химио- и/или лучевую терапию. Для определения гистологического типа патологии предстательной железы, использовали руководство D.G. Bostwick et al и Классификацию опухолей ВОЗ [16, 17]. Морфологическая оценка степени злокачественности осуществлялась по модифицированной шкале Глисона [18]. Перед группировкой был проведён гистологический метод исследования. Для анализа материала было сформировано в зависимости от диагноза 4 группы по 180 биоптатов от 15 мужчин в каждой: 1-я группа – с АМАП; 2-я группа – с диагнозом высокодифференцированной аденокарциномы простаты; 3-я группа – с умереннодифференцированной аденокарциномой; 4-я группа – с низкодифференцированной аденокарциномой. После формирования групп были проведены другие методы морфологического исследования: иммуногистохимический и морфометрический методы исследования. Все методы морфологического исследования выполнены на кафедре патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ. Для иммуногистохимического исследования тканевые образцы фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 18-24 часов. Затем обезвоживали, обезжиривали и заливали в парафин в гистологическом автомате по принятой методике. Окрашивали гематоксилином и эозином. В группу высокодифференцированной аденокарциномы были включены пациенты с суммой по Глисона до 6 баллов, в группу умереннодифференцированной аденокарциномы – 7-8 баллов и в группу низкодифференцированной – 9–10 баллов. Моноклональные антитела, которые мы использовали в исследовании (ООО «Биовитрум», г. Санкт-Петербург), были предназначены для работы с парафиновыми срезами. Для иммуногистохимического исследования процесса апоптоза использованы моноклональные антитела Caspase-3 (CPP32), для изучения пролиферации – моноклональные антитела Ki-67. Для визуализации антигенреактивных клеток применена безбиотиновая система детекции REVEAL – Biotin-Free Polyvalent DAB (ООО «Биовитрум», г. Санкт-Петербург). (ООО «Биовитрум», г. Санкт-Петербург). При просмотре препаратов на светооптическом уровне антигенпозитивные клетки идентифицировали по коричневому окрашиванию. Использование каждого вида моноклональных антител сопровождалось постановкой контрольных реакций. Иммуноморфологическую оценку начинали с просмотра не-

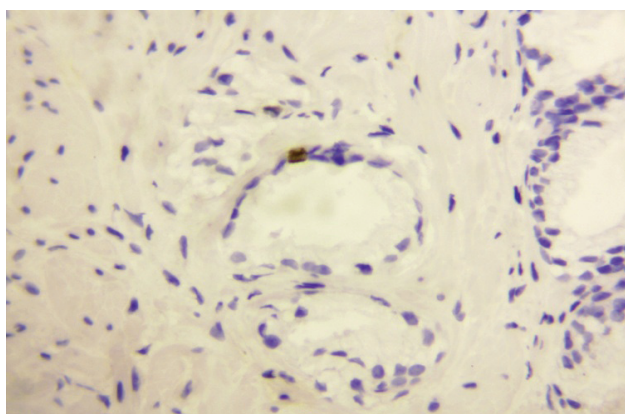
гитивного контроля. Определение интенсивности пролиферации и апоптоза в эпителии желез предстательной железы способом вычисления индекса пролиферации (ИП – экспонирование клетками антигена Ki-67), индекс апоптоза (ИА – экспонирование клетками антигена CPP32) как процентное отношение числа иммуногистохимически-позитивных эпителиоцитов к общему числу подсчитанных опухолевых эпителиальных клеток. Просматривалось от 100 до 300 эпителиоцитов в 20 случайных полях зрения ($\times 400$). Индекс (ИП или ИА) = число иммунопозитивных клеток / общее число опухолевых клеток $\times 100$. Для удобства индексы выражались в процентах. Пролиферативная активность эпителиоцитов оценивалась как низкая (до 20 % меченых ядер на 100 учтенных), средняя (20–50 % ядер) и высокая (>50 % ядер). Оценка экспрессии маркеров клеточного обновления осуществлялась по балльной системе: 1 (+) – слабая 1 – менее 25% меток; 2 (++) – умеренная 2 – 25–50% клеток; 3 (+++) – сильная 3 – 50–75% клеток; 4 (+++++) – очень сильная 4 – более 75% клеток. Совокупный результат = сумма баллов «интенсивность» + «распространённость»: – нет окраски или слабая: 0–1 балла (0, +); умеренная – 2 балла (++); сильная – 3 балла (+++) [19].

Дополнительно вычислялся ИОК, который представляет собой отношение ИП к ИА [15]. Морфометрическое исследование выполняли с применением электронного аналога окулярной стереометрической сетки Автандилова, содержащей 100 тест-точек и морфометрического программного обеспечение Axiovision ver.4.8 (Carl Zeiss AG, Германия) [20, 21]. Статистический анализ начинался с определения типа изучаемых переменных. Так как распределение отличалось от нормального, применяли медиану (Me), учитывали нижний 25-й (L) и верхний 75 (H) квартили, интерквартильный размах. Вариационный анализ осуществляли с помощью критерия Манна-Уитни [22]. Достоверными считались различия при $p < 0,05$. Статистическое измерение связи (силы и направления) проводилось

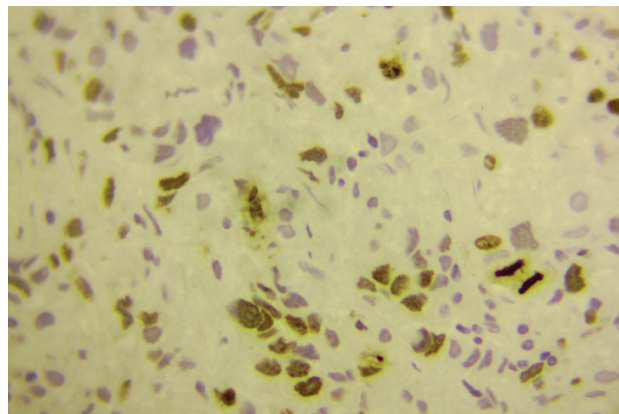
путём вычисления коэффициента корреляции рангов Спирмена (r) [22]. Коэффициент равен +1,0 при прямой связи, (1,0 – при обратной связи, 0 – в отсутствии связи. Сила корреляционной связи оценивалась качественно по шкале Чеддока: $r = 0,0 \dots (0,25$ и $r = 0,0 \dots 0,3$ – отсутствие связи или слабая связь; $r = 0,3 \dots 0,5$ ((0,3... (0,5) – умеренная связь; $r = 0,51 \dots 0,7$ ((0,51... (0,7) – заметная связь; $r = 0,7$ ((0,7... (0,9) – высокая связь $r = 0,9$ ((0,9... (0,99) – весьма высокая связь [19, 22]. Для расчётов применяли лицензионные программы Microsoft Excel, Statistica 6,0 для операционной системы Windows XP.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Наличие метки в виде тёмно-коричневых гранул различного размера и плотности в ядрах эпителиоцитов с более интенсивным окрашиванием ядрышек, окрашивание фигур митозов, в том числе патологических, демонстрировали уровень экспрессии маркера Ki-67, по которому определялась пролиферативная активность в железистом эпителии простаты. Окрашивание ядер могло быть сплошным либо очагово-гранулярным. Иммунопозитивная реакция с маркером Ki-67 наблюдалась во всех исследованных тканевых образцах АМАП и аденокарциномы предстательной железы. При анализе полученных результатов нами установлено, что наибольший ИП регистрировался при аденокарциноме низкой степени дифференцировки – [Me = 15% (9–31)]. Так, при аденокарциноме высокой степени дифференцировки ИП был в пять раз ниже [Me = 3% (1–9)], чем при низкодифференцированной аденокарциноме и более чем в два раза ниже, чем при умереннодифференцированной [Me = 8% (3–23)] ($p = 0,040$ и $p = 0,000$, соответственно). Схожее с аденокарциномой высокой степени дифференцировки значение ИП зарегистрировано при АМАП, где [Me = 3% (1–6)]. Статистически значимые достоверные различия ИП выявлены между АМАП и аденокарциномой умеренной и низкой степени дифференцировки ($p = 0,030$ и $p = 0,001$, соответственно) (рис. 1).



а



б

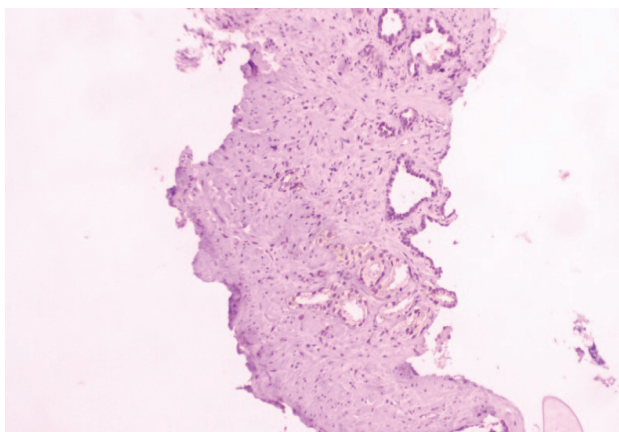
Рис. 1. Экспонирование метки маркера Ki-67 в эпителиоцитах простаты при иммуногистохимическом исследовании: а – низкий уровень экспрессии Ki-67 при АМАП; б – высокий уровень экспрессия Ki-67 ядрами эпителиоцитов при низкодифференцированной аденокарциноме простаты. Стрептавидин-биотиновый метод, докраска гематоксилином; а,б – $\times 400$.

При сравнении ИП аденокарцином различных степеней дифференцировки между собой: низкой с высокой, умеренной с высокой и умеренной с низкой степенью – были найдены статистически значимые достоверные различия между ними (соответственно $p=0,001$; $p=0,030$; $p=0,040$).

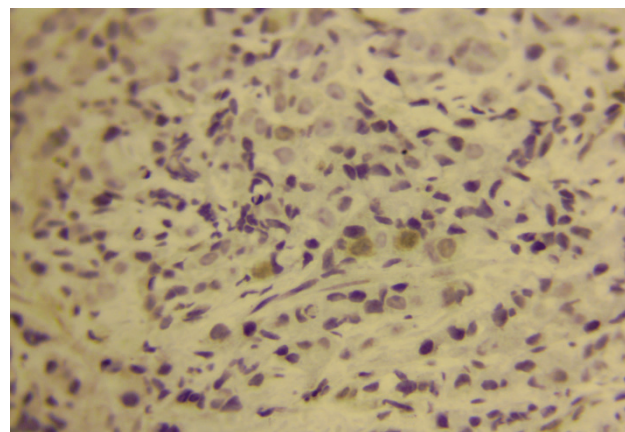
Наличие метки в виде тёмно-коричневых гранул различного размера и плотности в ядрах с более интенсивным окрашиванием ядрышек при использовании маркера апоптоза Caspase-3 (CPP32) свидетельствовало о позитивной иммуногистохимической реакции. Экспрессия регистрировалась преимущественно в ядрах эпителиоцитов простаты, но также нередко наблюдалась и в их цитоплазме. Максимальное количество клеток в состоянии апоптоза, верифицированных посредством маркера Caspase-3, обнаружено при аденокарциноме высокой степени дифференцировки и превосходило данные этого параметра в биоптатах всех групп исследования: при АМАП и умеренно- и низкодифференцированной аденокарциноме простаты. Соответственно и более высокие значения ИА были определены при высокодифференцированной аденокарциноме простаты, где медиана

составила [Me=14% (2–28)]. Так, индекс апоптоза (ИА) при АМАП составил [Me=9% (2–18)], а при умереннодифференцированной аденокарциноме отмечалось его снижение [Me=6% (1–20)]. Наименьший ИА выявлен при низкодифференцированной аденокарциноме [Me=3% (1–12)].

Установлены достоверные различия ИА по экспрессии Caspase-3 (CPP32) между АМАП и аденокарциномой высокой степени дифференцировки: [Me=9 (2–18)] и [Me=14 (2–28)] ($p=0,000$), между АМАП и аденокарциномой умеренной степени дифференцировки: [Me=9 (2–18)] и [Me=6 (1–20)] ($p=0,002$) а также между АМАП и аденокарциномой низкой степени дифференцировки [Me=9 (2–18)] и [Me=3% (1–12)], ($p=0,000$). Следует отметить, что при АМАП и высокодифференцированной карциноме экспрессия маркера CPP32 видна была даже при малом увеличении и была выражена сильнее (3 балла), чем при умереннодифференцированной аденокарциноме 2 (балла) и при низкодифференцированной аденокарциноме (соответственно $p=0,04$, $p=0,010$): чем ниже была дифференцировка аденокарциномы, тем окрашивание ядер меткой CPP32 становилось слабее (рис. 2).



а



б

Рис. 2. Экспрессия маркера апоптоза CPP32 эпителиоцитами простаты: а – интенсивная экспрессия CPP32 железистыми эпителиоцитами при АМАП; б – слабая экспрессия CPP32 железистым эпителием при низкодифференцированной аденокарциноме. Стрептавидин-биотинный метод с докраской ядер гематоксилином; а – $\times 100$; б – $\times 400$.

Данные, полученные в процессе вычисления ИОК, позволили представить процесс клеточного обновления при карциноме простаты и АМАП, на наш взгляд, более объективно, поскольку учитывалось уже соотношение индексов пролиферации и апоптоза: только пролиферирующих клеток и клеток, необратимо вступивших в апоптоз, а клетки, не участвующие в пролиферации и апоптозе, были исключены полностью. Так, ИОК при АМАП по своим значениям был максимально близок с этим показателем при аденокарциноме простаты высокой степени дифференцировки: [Me=0,33(0,5–0,33)], [Me=0,21(0,14–0,32)] ($p=0,090$). При умереннодифференцированной аденокарциноме простаты ИОК составил [Me=1,33 (3–1,15)] и был статистически значимо выше, чем при АМАП и высокодифферен-

цированной аденокарциноме ($p=0,004$). Наибольшее увеличение ИОК отмечено в группе низкодифференцированной аденокарциномы – [Me=5 (9–25)], что статистически значимо различалось с группами АМАП ($p=0,000$), высокодифференцированной карциномы ($p=0,003$) и умереннодифференцированной карциномы простаты ($p=0,000$). Зарегистрирована заметной силы отрицательная корреляционная связь ($r=-0,53$) между ИОК и степенью дифференцировки опухоли ($p=0,010$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В течение многих лет происходит исследование активности пролиферативных процессов при различной патологии предстательной железы посредством маркера Ki-67, чему посвящено много

научных трудов. Поэтому на сегодняшний день ИП карциномы предстательной железы достаточно подробно изучен, в том числе и во взаимосвязи с такими критериями как возраст пациентов, степень дифференцировки и наличие метастазов, а также в зависимости от прогностической группы [11, 23]. Кроме того, существуют публикации, в которых с доказательных позиций рекомендуется для определения ИП карциномы предстательной железы использовать Ki-67 в качестве надёжного прогностического маркера, отражающего скорость роста опухоли [11, 24, 25, 26]. L.J. Veliiković et al. (2007) при сравнительной характеристике пролиферативной активности простатической интраэпителиальной анаплазии (ПИН) и карциномы указывали на значительное повышение ИП при карциноме простаты в сравнение с ПИН [27]. Однако исследования ИП при АМАП, базирующиеся на определении экспрессии маркера Ki-67, до настоящего времени остаются, по мнению И.Р. Четер, в том числе, разноречивыми и не дают объективного представления о сравнительной характеристике процессов клеточного обновления при АМАП и аденокарциномах различной степени дифференцировки [11, 24]. В настоящем исследовании ИП при АМАП не имеет статистических различий лишь при сравнении с высококодифференцированной аденокарциномой, что возможно, объясняет их морфологическую общность и не противоречит рекомендации С. Moore et al. приравнять АМАП к ПИН высокой степени [28]. Для более полной оценки состояния клеточного обновления вместе с маркером Ki-67 рутинно применяют маркер апоптоза Caspase3 (CPP32). Есть данные о прогностической ценности последнего при аденокарциноме предстательной железы. Например, в проведенных исследованиях N. Torrealba et al. (2015) доказано, что в тех случаях, когда экспрессия CPP32 была негативной, прогноз заболевания аденокарциномой был крайне неблагоприятным [29]. Кроме того, в литературе есть информация о выявлении зависимости между уровнем экспрессии CPP32 и степенью дифференцировки аденокарциномы и рекомендации, как и в случае с Ki-67, расценивать выраженность метки этого маркера в качестве полезного прогностического фактора [30]. Наряду с этим есть научные работы, опровергающие факт зависимости экспрессии CPP32 и степени дифференцировки карциномы простаты из-за отсутствия статистически значимых корреляций [31]. Некоторые авторы при исследовании доброкачественных гиперпластических заболеваний предстательной железы обнаруживали значительное повышение экспрессии CPP32 не только в секреторном, но и в базальном эпителии [32]. Вызывает также интерес экспрессия этого ядерного маркера в цитоплазме. В работе А.А. Яковлева и соавт. (2008), например, упоминается о неапоптотической роли CPP32 в нормальных клетках головного мозга, там экспониру-

вание данного маркера в цитоплазме происходит значительнее, чем в ядре [33]. Функциональная значимость описанного распределения фермента пока не ясна. Однако есть предположения, что, как и другие представители семейства каспаз, CPP32 в норме вовлечена не только в реализацию механизмов гибели клеток, но и в ряд других не менее важных процессов: регуляцию клеточного цикла, процессинг цитокинов, дифференцировку миоцитов и клеток-предшественников при гемопоэзе, пролиферацию Т-лимфоцитов [34]. В свою очередь, частое сочетание АМАП с хроническим простатитом и / или гиперплазией простаты, может провоцировать различные повреждения ДНК секреторного эпителия и приводить к нарастанию мутаций генома. Это происходит во многом из-за длительной персистенции воспалительного лимфогистиоцитарного инфильтрата, который выступает причиной вторичной альтерации предстательной железы активными молекулами перекиси водорода (H_2O_2) и оксида азота (NO) в условиях оксидантного стресса [22, 35]. Возможно, с этим и связано частичное распределение маркера CPP32 в цитоплазме предстательной железы при АМАП. Объективизация исследования пролиферативной активности как значимого фактора злокачественной трансформации клеток и прогрессии опухоли во взаимосвязи с нарушением активации caspase-3 и синтеза Caspase-3 (CPP32) представляется возможной при использовании ИОК. Индексы пролиферативной и апоптотической активности, безусловно, являются важными показателями, характеризующими биологическую природу опухоли, но применение ИОК для оценки изменений параметров клеточного обновления с помощью маркеров клеточного обновления Ki-67 и CPP32 может внести, на наш взгляд, коррективы в методику дифференциальной диагностики карциномы и АМАП, а также устранить противоречия в трактовке диагностической категории АМАП. ИОК используется для изучения двойного эффекта пролиферации и апоптоза в эпителиальных клетках гормонально зависимых желёз. Важно отметить, что изолированное сравнение индексов апоптоза и пролиферации имеет некоторые ограничения, так как каждый индекс отражает, как количество раз, когда каждое событие происходит в единицу времени, так и долю клеток в популяции, способных претерпевать каждое событие. Клетки, которые не подвергаются клеточной пролиферации и апоптозу не вносят вклад в расчёт индекса обновления клеток [36].

Настоящее исследование помогло на основании статистического анализа выявить тождество показателей ИОК при АМАП и высококодифференцированной аденокарциноме простаты, что позволяет пополнить ряд морфологических критериев для перевода пациентов из группы неопределённого диагноза АМАП в группу аденокарциномы. Суще-

ствует необходимость дальнейшего исследования ИОК с многопараметрическим анализом, включающим исследование уровня экспрессии гормонов, участвующих в регуляции клеточного обновления в предстательной железе и связанных с ними ростовых факторов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Самый низкий индекс обновления клеток зарегистрирован при аденокарциноме высокой степени дифференцировки, равно как и при атипической мелкоацинарной пролиферации, а самый высокий – при аденокарциноме низкой степени дифференцировки. Индекс обновления клеток позволяет нам измерить частоту возникновения пролиферации относительно апоптоза. Это помогает уменьшить или устранить эффекты ложного различия между тканевыми образцами. С помощью индекса обнов-

ления клеток обнаружена заметной силы отрицательная корреляционная связь между степенью дифференцировки опухоли и индексом обновления клеток: чем ниже степень дифференцировки опухоли, тем выше индекс обновления клеток.

Применение индекса обновления клеток для оценки изменений параметров клеточного обновления посредством использования таких маркеров клеточного обновления как Ki-67 и CPP32 может внести новые подходы в дифференциальную диагностику атипической мелкоацинарной пролиферации и аденокарциномы простаты. Дополнение спектра морфологических критериев индексом обновления клеток может помочь ускорить в ряде случаев трансформацию патологоанатомического заключения из диагностической категории атипической мелкоацинарной пролиферации в диагноз аденокарциномы простаты.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Parwani AV, Patel A, Zhou M et al. An update on computational pathology tools for genitourinary pathology practice: A review paper from the Genitourinary Pathology Society (GUPS). *J Pathol Inform* 2022;14:100177. <https://doi.org/10.1016/j.jpi.2022.100177>.
2. Popescu TCT, Stepan AE, Florescu MM, Simionescu CE. Histopathological Study of the Prostate Cancer Growth Patterns in Relation with the Grading Systems. *Curr Health Sci J* 2022;48(1):95–101. <https://doi.org/10.12865/CHSJ.48.01.14>.
3. Humphrey PA. Variants of acinar adenocarcinoma of the prostate mimicking benign conditions *Mod Pathol* 2018;31(S1):S64–70. <http://doi.org/10.1038/modpathol.2017.137>.
4. Состояние онкологической помощи населению России в 2021 году / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2022; 3–9. The state of oncological care for the population of Russia in 2021 / ed. AD Kaprina, VV Starinskogo, AO Shahzadovoj. M.: Gercena MNIIOI – filial NMIC radiologii. 2022; 3–9. (In Russ.). URL: <https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2022/05/sostoyanie-onkologicheskoy-pomoshhi-naseleniyu-rossii-v-2021-godu.pdf>.
5. Yang C, Humphrey PA. False-Negative Histopathologic Diagnosis of Prostatic Adenocarcinoma *Arch Pathol Lab Med* 2020;144(3):326–334. <http://doi.org/10.5858/arpa.2019-0456-RA>.
6. Zacharouli K, Vageli DP, Koukoulis GK et al. Patient with prostatic adenocarcinoma with plasmacytoid features and an aberrant immunohistochemical phenotype diagnosed by biopsy and a mini-review of plasmacytoid features in the genitourinary system: A case report. *Mol Clin Oncol* 2022;16(3):67. <http://doi.org/10.3892/mco.2022.2500>.
7. Verhoef EI, van Cappellen WA, Slotman JA, Kremers GJ et al. Three-dimensional analysis reveals two major architectural subgroups of prostate cancer growth patterns. *Mod Pathol* 2019;32(7):1032–1041. <http://doi.org/10.1038/s41379-019-0221-0>.
8. Tsampoukas G, Manolas V, Brown D, et al. Atypical small acinar proliferation and its significance in pathological reports in modern urological times. *Asian J Urol* 2021;9(1):12–17. <http://doi.org/10.1016/j.ajur.2021.04.008>.
9. Kim H, Kim JK. Clinical strategy of repeat biopsy in patients with atypical small acinar proliferation (ASAP). *Sci Rep* 2021;11(1). <http://doi.org/10.1038/s41598-021-02172-8>.
10. Oderda M, Cuneo ASL, Rosazza M et al. Natural history of widespread high grade prostatic intraepithelial neoplasia and atypical small acinar proliferation: should we rebiopsy them all? *Scand J Urol* 2021;55(9):1–6. <http://doi.org/10.1080/21681805.2020.1866659>.
11. Четер И.Р. Морфологическая характеристика и морфогенез атипичной мелкоацинарной пролиферации предстательной железы с нозологических позиций: диссертация... кандидата медицинских наук: 14.03.02: Курган; 2020; 14–34. Cheter IR. Morphological characteristics and morphogenesis of atypical small-acinar proliferation of the prostate gland from nosological positions: dissertation ... candidate of medical sciences: 14.03.02: Kurgan; 2020; 14–34. (In Russ.). URL: <https://www.disserscat.com/content/morfologicheskaya-kharakteristika-i-morfogenez-atipichnoi-melkoatsiarnoi-proliferatsii-preds>.
12. Дуб А.А., Четер И.Р. Характеристика маркеров клеточного обновления и уровень экспрессии IGF-1R, EGFR, AR при атипической мелкоацинарной пролиферации и аденокарциноме предстательной железы. *Уральский медицинский журнал* 2020;186(3):23–29. <https://doi.org/10.25694/URMJ.2020.03.14>. Dub AA, Cheter IR Characterization of cell renewal markers and level of IGF-1R expression, EGFR, AR in atypical melcoacinar proliferation and prostate adenocarcinoma. *Ural Medical Journal* 2020;186(3):23–29. (In Russ.). <https://doi.org/10.25694/URMJ.2020.03.14>.
13. Perletti G, Magri V, Vral A et al. Green tea catechins for chemoprevention of prostate cancer in patients with

histologically-proven HG-PIN or ASAP. Concise review and meta-analysis. *Arch Ital Urol Androl* 2019;91:153. <http://doi.org/10.4081/aiua.2019.3.153>.

14. Eryilmaz IE, Vuruskan BA, Kaygısız O et al. RNA-based markers in biopsy cores with atypical small acinar proliferation: Predictive effect of T2E fusion positivity and MMP-2 upregulation for a subsequent prostate cancer diagnosis. *Prostate* 2019;79:195. <http://doi.org/10.1002/pros.23724>.
15. Navarette MAH, Maier CM, Falzoni R et al. Cellular renovation indices of the human mammary epithelium during the follicular and luteal phases of the menstrual cycle. *Brest Cancer Research* 2005;7:306–313. <http://doi.org/10.1186/bcr994>.
16. Bostwick DG, Meiers I. Neoplasia of the prostate. In: Bostwick DG, Cheng L, eds. *Urologic Surgical Pathology*. Philadelphia, PA: Mosby Elsevier. 2008. pp. 442–579. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-01970-5.50011-7>.
17. Humphrey PA, Moch H, Cubilla AL. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part B: Prostate and Bladder Tumours. *Eur Urol* 2016;70(1):106–119. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.02.028>.
18. Epstein JI, Egevad L, Amin MB et al. Grading Committee. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostate Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. *Am J Surg Pathol* 2016;40(2):244–252. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000530>.
19. Маслякова Г.Н., Воронина Е.С., Фомкин Р.Н. Морфологические методы исследования в диагностике рака предстательной железы. *Фундаментальные исследования* 2012;(12-2):426–430.
- Maslyakova GN, Voronina ES, Fomkin RN Morphological research methods in the diagnosis of prostate cancer. *Fundamental'nye issledovaniya=Basic Research* 2012;(12-2):426–430. (In Russ.).
20. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М : Медицина; 1990. С. 123–125.
- Avtandilov G.G. Medical morphometry. М : Medicine; 1990. pp. 123–125. (In Russ.).
21. Patel AU, Shaker N, Mohanty S et al. Cultivating Clinical Clarity through Computer Vision: A Current Perspective on Whole Slide Imaging and Artificial Intelligence. *Diagnostics (Basel)* 2022;12(8):1778. <http://doi.org/10.3390/diagnostics12081778>.
22. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica. М : МедиаСфера ; 2002. С. 109–195
- Rebrova OYu. Statistical analysis of medical data. Application of the program package Statistics. М : MediaSfera ; 2002. pp. 109–195. (In Russ.).
- URL: https://www.studmed.ru/view/rebrova-oyu-statisticheskiy-analiz-medicinskih-dannyh_0149fe87d1d.html.
23. Malle E, Gil P, Carlos S et al. Atypical small acinar proliferation: Review of a series of 64 patients. *Scand J Urol Nephrol* 2006;40(4):272–275. <https://doi.org/10.1080/00365590600641939>.
24. Buhmeida A, Pyrhonen S, Laato M, Collan Y. Prognostic factors of prostate cancer. *Diagn Pathol* 2006;1:4 <https://doi.org/10.1186/1746-1596-1-4>.
25. Ковылина М.В., Прилепская Е.А., Сергейко И.П. и соавт. Прогностическое значение иммуногистохимических маркеров Ki-67 и p53 после радикальной простатэктомии. *Онкоурология* 2014;10(1):49–52. <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2014-10-1-49-52>.
- Kovylyna MV, Prilepskaya EA, Sergeiko I.P et al. Prognostic Value Of The Immunohistochemical Markers Ki-67 And P53 After Radical Prostatectomy. *Cancer Urology* 2014;10(1):49–52. (In Russ.). <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2014-10-1-49-52>.
26. Кудрявцев Г.Ю., Кудрявцева Л.В., Михалева Л.М. с соавт. Иммуногистохимическое исследование экспрессии Ki-67, p53 и Notch1 в аденокарциномах предстательной железы различной степени злокачественности. *Архив патологии* 2020;82(5):42–49. <https://doi.org/10.17116/patol20208205142>.
- Kudryavtsev GYu, Kudryavtseva LV, Mikhalyova LM et al. Immunohistochemical study of Ki-67, p53 and Notch1 expressions in prostate cancer of different grades. *Arkhiv Patologii* 2020;82(5):42–49. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20208205142>.
27. Verma R, Gupta V, Singh J et al. Significance of p53 and ki-67 expression in prostate cancer. *Urol Ann* 2015;7(4):488–93. <https://doi.org/10.4103/0974-7796.158507>.
28. Veliiković LJ, Dordević B, Rancić G, Marjanović G. Expression of nuclear Ki-67 antigen in prostatic high grade intraepithelial neoplasia and prostatic carcinoma. *Vojnosanit Pregl* 2007;64(5):325–330. <https://doi.org/10.2298/vsp0705325j>.
29. Moore CK, Karikhehalli S, Nazeer T. Prognostic significance of high grade prostatic intraepithelial neoplasia and atypical small acinar proliferation in the contemporary era. *J Urol* 2005;173:70–72. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000148260.69779.c5>.
30. Corsi F, Capradossi F, Pelliccia A, Briganti S et al. Apoptosis as Driver of Therapy-Induced Cancer Repopulation and Acquired Cell-Resistance (CRAC): A Simple In Vitro Model of Phoenix Rising in Prostate Cancer. *Int J Mol Sci* 2022;23(3):1152. <https://doi.org/10.3390/ijms23031152>.
31. Rodríguez-Berriguete G, Galvis L, Fraile B et al. Immunoreactivity to caspase-3, caspase-7, caspase-8, and caspase-9 forms is frequently lost in human prostate tumors. *Hum Pathol* 2012;43(2):229–237. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2011.04.024>.
32. Motta VP, Malafaia O, Ribas-Filho JM et al. CASPASE-3 and CD-34 expression in prostate adenocarcinoma. *Rev Col Bras Cir* 2009;36(3):223–229. <https://doi.org/10.1590/s0100-69912009000300008>.
33. Яковлев А.А., Горозоватский А.Ю., Онуфриев М.В. с соавт. Катепсин мозга способен расщеплять субстрат каспазы. *Биохимия* 2008;73(3):408–413. <https://doi.org/10.1134/s0006297908030140>.
- Yakovlev AA, Gorozovatsky AYU, Onufriev MV et al. Brain cathepsin B cleaves a caspase substrate. *Biochemia*

2008;73(3):408–413. (In Russ.). <https://doi.org/10.1134/s0006297908030140>.

34. Acar V, Couto Fernandez FL, Buscariolo FF. et al. Immunohistochemical Evaluation of PARP and Caspase-3 as Prognostic Markers in Prostate Carcinomas. *Clin Med Res* 2021;19(4):183–191. <https://doi.org/10.3121/cmr.2021.1607>.

35. Udensi KU, Tchounwou P.B. Oxidative stress in prostate hyperplasia and carcinogenesis. *J Exp Clin Cancer Res* 2016;35:139. <https://doi.org/10.1186/s13046-016-0418-8>.

36. Allan DJ, Howell A, Roberts SA et al. Reduction in apoptosis relative to mitosis in histologically normal epithelium accompanies fibrocystic change and carcinoma of the premenopausal human breast *J Pathol* 1992;167:25–32. <https://doi.org/10.1002/path.1711670106>.

Сведения об авторе:

А.А. Дуб – доктор медицинских наук, доцент.

Information about the author:

A.A. Dub – Doctor of Science (Medicine), Associated Professor.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interests The author declares no conflicts of interests.

Источник финансирования. Автор заявляет об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source This study was not supported by any external sources of funding.

Этическая экспертиза. Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «ЮУГМУ Минздрава РФ (протокол №11 от 09.11.2013).

Ethics approval The study was approved by the local Ethics Committee of the South Ural State Medical University (#11 from 09.11.2013).

Информированное согласие было подписано всеми пациентами, чей биологический материал был включён в исследование.

Informed consent was signed by all patients whose biological material was included in the study.

Статья поступила в редакцию 07.02.2023; одобрена после рецензирования 27.03.2023; принята к публикации 01.04.2023.

The article was submitted 07.02.2023; approved after reviewing 27.03.2023; accepted for publication 01.04.2023.