

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРВИЧНОЙ ОПУХОЛИ И ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКА P53 КАК ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА МЕСТНОГО РЕЦИДИВА АДЕНОКАРЦИНОМЫ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В УСЛОВИЯХ HIFU-ТЕРАПИИ

Бакарев М.А.¹, Левин В.П.², Неймарк А.И.², Лушникова Е.Л.¹

¹Институт молекулярной патологии и патоморфологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, e-mail: pathol@inbox.ru;

²ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, e-mail: rector@agmu.ru

Проведен анализ патоморфологических особенностей первичной опухоли и иммуногистохимической экспрессии белка-онкосупрессора p53 в предоперационных биоптатах и образцах трансуретральной резекции простаты у 31 пациента с локализованной формой рака предстательной железы (РПЖ) с наличием или отсутствием местного рецидива в течение 3 лет после лечения высокоинтенсивным сфокусированным ультразвуком (HIFU). Показано, что развитие местного рецидива РПЖ после HIFU-терапии ассоциировано с преобладанием менее дифференцированных форм аденокарциномы (4+3, 8 и 9 баллов по Глиссону), наличием криброзных структур в первичных биоптатах, а также с такими характеристиками, как относительная доля позитивных столбиков $\geq 40\%$ и объемная плотность опухолевых структур во всех образцах $\geq 10\%$, указывающими на значительный объем опухоли. Иммуногистохимический анализ экспрессии p53 в структурах РПЖ выявил ее гетерогенный характер: в 23% всех случаев отмечено слабое по интенсивности окрашивание немногочисленных (до 10%) ядер опухолевых клеток; повышенный уровень экспрессии (слабоположительная и выраженная реакция более чем в 10% ядер) зафиксирован в 40% наблюдений с рецидивом (OR=22,6, $p < 0,05$). Достоверная ассоциация между гиперэкспрессией p53 и местным прогрессированием подтверждает значимость иммуногистохимической оценки данного маркера как фактора неблагоприятного прогноза при HIFU-терапии локализованного РПЖ.

Ключевые слова: рак предстательной железы, экспрессия p53, высокоинтенсивный фокусированный ультразвук, патоморфология

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PRIMARY TUMOR AND P53 PROTEIN EXPRESSION AS PROGNOSTIC MARKERS FOR LOCAL RECURRENCE IN PROSTATE CANCER TREATED BY HIGH-INTENSITY FOCUSED ULTRASOUND

Bakarev M.A.¹, Levin V.P.², Neimark A.I.², Lushnikova E.L.¹

¹ Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, e-mail: pathol@inbox.ru;

² Altai State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Barnaul, e-mail: rector@agmu.ru

Morphological characteristics of primary tumor and p53 protein expression were studied in preoperative biopsy specimens and transurethral resection specimens from 31 patients with localized prostate cancer (PC) with or without a local recurrence within 3 years after a high-intensity focused ultrasound (HIFU) session. It was shown that local PC recurrence after HIFU treatment was associated with less differentiated PC (Gleason score 4+3, 8 and 9) and the presence of cribriform structures in the initial samples, as well as with the indicators of a considerable tumor volume – percentage of positive biopsy cores $\geq 40\%$ and volume density of tumor structures in all specimens $\geq 10\%$. Immunohistochemical detection of p53 protein in PC structures revealed a heterogeneous pattern of expression: in 23% of all cases there was a weak nuclear immunostaining in a small number of tumor cells ($< 10\%$); elevated nuclear p53 expression (weak positive and strong reaction in $\geq 10\%$ of tumor cells) was detected in 40% of cases with local recurrence (OR = 22,6, $p < 0,05$). Statistically significant association between elevated p53 expression and local PC progression confirms the validity of p53 protein immunohistochemical detection as a marker for an unfavorable prognosis in HIFU-treated localized PC.

Keywords: prostate cancer, p53 protein expression, high-intensity focused ultrasound, pathomorphology

Рак предстательной железы (РПЖ) занимает одно из ведущих мест в структуре заболеваемости мужского населения злокачественными новообразованиями, лидируя по среднегодовому темпу прироста, особенно в возрастной группе до 60 лет (15,6%). За

последние десятилетия достигнуты успехи в совершенствовании технологий его диагностики и лечения, повысилась частота выявления локализованных форм заболевания – до 44,8% среди вновь выявленных больных [1]. В дополнение к радикальной простатэктомии, сопряженной со значительным количеством осложнений, предложены альтернативные малоинвазивные методы лечения, одним из которых является абляция предстательной железы высокоинтенсивным фокусированным ультразвуком (HIFU) [2, 3].

Ключевой проблемой на пути более широкого применения HIFU-терапии в первичном лечении РПЖ является необходимость разработки критериев отбора и более четкой стратификации пациентов по риску прогрессирования заболевания, прежде всего в группе опухолей низкого и промежуточного риска [4]. Наиболее ценную информацию для этого дает патоморфологическое исследование – степень дифференцировки опухоли по шкале Глисона, а также косвенная оценка ее объема по данным мультифокальной биопсии относятся к факторам прогноза I и II категории согласно рекомендациям Коллегии американских патологов [5].

Помимо рутинного гистологического исследования, для характеристики злокачественного потенциала новообразования все чаще используются молекулярно-биологические маркеры, которые отражают aberrантную активность регуляторных путей, ассоциированных с высоким пролиферативным и метастатическим потенциалом [4, 5]. Для включения таких маркеров в перечень рекомендуемых для применения необходима оценка их прогностического значения при различных видах лечения.

Мутация гена опухолевого супрессора *p53* (*TP53*), приводящая к потере его регуляторных и проапоптотических функций, относится к наиболее распространенным молекулярно-генетическим дефектам при опухолях различных локализаций [6]. По некоторым данным, мутация *TP53* свидетельствует об агрессивном подтипе РПЖ и может являться независимым прогностическим фактором специфической выживаемости после консервативного лечения и радикальной простатэктомии [7, 8]. Мутантный белок *p53* характеризуется увеличенным временем полужизни и накоплением в ядрах клеток, что делает возможным его выявление иммуногистохимическим методом [6]. При этом имеющиеся в литературе данные о значении данного маркера в условиях ультразвуковой абляции предстательной железы (ПЖ) единичны и носят противоречивый характер [9].

Цель исследования – изучить патоморфологические особенности первичной опухоли и экспрессию белка *p53* при локализованном РПЖ для уточнения критериев прогноза локального рецидива в условиях воздействия высокоинтенсивным сфокусированным ультразвуком в сочетании с андрогенной депривацией.

Материал и методы исследования

Обследованы 119 пациентов с РПЖ, которым за период 2011–2017 гг. проведено лечение

HIFU на аппарате Ablatherm (EDAP TMS S.A., Франция) с предшествующей трансуретральной резекцией ПЖ (ТУРП) на базе урологического отделения ОКБ ст. Барнаул ОАО «РЖД». Показанием для проведения HIFU был морфологически верифицированный локализованный РПЖ (стадия T2a-cN0M0) у пациентов, имеющих соматические противопоказания для радикальной простатэктомии или отказавшихся от ее выполнения. Период мониторинга результатов лечения составил от 3 месяцев до 3 лет. Контрольные мультифокальные биопсии носили плановый характер (12 ± 3 месяца) либо выполнялись при подозрении на биохимический рецидив. Показаниями к проведению ТУРП в период мониторинга были снижение объема ПЖ перед повторным сеансом HIFU, а также стриктуры простатического отдела уретры.

По результатам патоморфологического анализа контрольного материала все пациенты были разделены на две группы: 1-я группа – 91 пациент (средний возраст $65,8 \pm 8,5$ лет), у которых за период мониторинга не выявлено признаков местного прогрессирования; 2-я группа – 28 пациентов (средний возраст $67,6 \pm 7,9$ лет) с местным рецидивом (резидуальным ростом) РПЖ. В 21 случае (75%) рецидив диагностирован в относительно ранние сроки – через 6–18 месяцев после сеанса HIFU.

В 27 (30%) наблюдениях 1-й и 11 (39%) случаях 2-й группы ультразвуковая абляция ПЖ проведена в сочетании с гормональной терапией (ГТ). Использовали флутамид (250 мг х 3 раза в день) в течение 1–3 месяцев перед HIFU и гозерелин (Золадекс) в дозировке 3,6 мг каждые 28 дней или 10,8 мг каждые 3 месяца на протяжении 3–6 месяцев.

Патоморфологическое исследование проведено на материале 162 образцов первичных биопсий, а также ТУРП 31 пациентов (16 пациентов 1-й и 15 пациентов 2-й группы), отобранных случайным методом из общего массива наблюдений. Распределение пациентов по возрасту, клинико-лабораторным показателям и режимам ГТ в исследуемых группах и соответствующих подгруппах общего массива наблюдений достоверно не отличалось.

Для светооптического исследования биоптаты и образцы, полученные при ТУРП, фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, обрабатывали по общепринятой методике и заключали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином в комбинации с реакцией Перлса, по ван Гизону с докраской эластических волокон резорцин-фуксином Вейгерта, ставили ШИК-реакцию. Парафиновые срезы анализировали в универсальном исследовательском микроскопе Leica DM 4000B, для получения микрофотографий использовали цифровую камеру Leica DFC320 и компьютерную программу Leica QWin V3.

При косвенной оценке объема опухоли в каждом наблюдении по данным анализа диагностически значимых биоптатов определяли относительную долю положительных (содержащих опухоль) столбиков, а также измеряли суммарную объемную плотность

опухолевых структур (%) во всех биопсийных столбиках. Морфометрический анализ проводили при помощи компьютерной программы Leica QWin V3. При анализе ассоциации данных показателей с рецидивом заболевания проведены их дихотомизация и подбор пороговых уровней (точек отсечения), обеспечивавших наибольшую силу и достоверность полученной связи ($\geq 40\%$ для относительной доли позитивных столбиков и $\geq 10\%$ для показателя объемной плотности).

Для оценки взаимосвязи между степенью дифференцировки (суммой баллов по шкале Глисона) и вероятностью местного прогрессирования после сеанса HIFU-терапии все наблюдения были разделены на три группы риска на основании современных данных по прогнозу 5-летней выживаемости при использовании традиционных методов лечения РПЖ [10]: 1) $\leq 3+4$ балла (20 случаев); 2) $4+3$ балла (7 случаев); 3) $8-9$ баллов (4 случая), был также выбран порог отсечения ($\leq 3+4 / \geq 4+3$).

Для оценки злокачественного потенциала опухоли проведено иммуногистохимическое исследование с использованием моноклональных антител к белку-онкосупрессору p53 (клон DO7, Monosan). Интенсивность экспрессии p53 оценивали визуально полуколичественным способом (0, 1⁺, 2⁺, 3⁺), затем подсчитывали долю меченых клеток (учитывали только ядерную экспрессию). Окончательный результат определяли по следующим критериям: отрицательная реакция – отсутствие окрашивания или экспрессия p53 менее чем в 10% опухолевых клеток; слабopоложительная реакция – 1⁺-экспрессия в $\geq 10\%$ или 2⁺-экспрессия в 10–50%; выраженная реакция – 2⁺-экспрессия в $>50\%$ или 3⁺-экспрессия в $\geq 10\%$ клеток [8].

Учет интенсивности окрашивания обусловлен тем, что, по некоторым данным, высокая степень экспрессии в значительной степени коррелирует с наличием мутации, в то время как слабая реакция может быть связана с физиологическим накоплением белка в условиях клеточного стресса или нарушения регуляторных взаимодействий [11]. Порог отсечения 10% часто использовался для определения положительной экспрессии при исследовании РПЖ [8, 12, 13]; меньшая доля позитивных ядер ($<10\%$) сильнее коррелировала с наличием дикого типа гена при анализе карциномы яичников [11].

Статистический анализ результатов проводили с помощью программы STATISTICA версии 12.0 компании StatSoft, Inc (США). Для относительных величин значения представлены в виде процентного соотношения, для непрерывных – в виде медианы (Me) и межквартильного интервала (IR) (25–75-й процентиля). С целью сравнения двух независимых групп по количественному признаку использовали U-критерий Манна–Уитни. При анализе таблиц сопряженности применяли точный критерий Фишера и критерий χ^2 Пирсона, рассчитывали отношение шансов (OR) и границы 95%-ного доверительного интервала (95% CI). Коррелятивные взаимоотношения оценивали с помощью критерия

Спирмена. Различия в сравниваемых группах считались достоверными при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

По данным большинства исследований объем опухоли в материале мультифокальной биопсии ПЖ имеет прогностическое значение в оценке вероятности биохимического рецидива, метастазирования и летального исхода при различных методах лечения РПЖ [4]. Простым и наиболее часто используемым методом его косвенной оценки является подсчет относительной доли позитивных биопсийных столбиков. Медианное значение данного показателя у пациентов с рецидивом (66,7%; IR 41,6–90,0%) достоверно превышало соответствующее значение 1-й группы (25,0%; IR 16,7–35,4%; $p < 0,001$).

При анализе распределения пациентов обнаружено, что у большинства (81%) пациентов 1-й группы доля положительных образцов в дооперационном материале не превышала 40% (≤ 4 столбиков при 12-точечной биопсии), в то время как наличие рецидива в 80% случаев было ассоциировано с более высокими значениями данного показателя (OR=17,3; 95% CI 2,9–103,0; $p=0,002$) (табл. 1).

Таблица 1

Распределение пациентов 1-й и 2-й групп по показателям объема опухоли и индексу Глисона в образцах перед сеансом HIFU-терапии

Показатели		1-я группа, абс. (%)	2-я группа, абс. (%)	OR (95% CI)	P
Доля позитивных столбиков, %	< 40	13 (81,3)	3 (20,0)	17,3 (2,9–103,0)	0,002
	≥ 40	3 (18,7)	12 (80,0)		
Относительная площадь опухолевых структур, %	< 10	12 (75,0)	2 (13,3)	19,5 (3,0–126,5)	0,002
	10 – 29	3 (18,8)	8 (53,3)		
	≥ 30	1 (6,2)	5 (33,3)		
Индекс Глисона	$\leq 3+4$	14 (87,5)	6 (40,0)	10,5 (1,7–63,9)	0,011
	4+3	2 (12,5)	5 (33,3)		
	8-9	0 (0)	4 (26,7)		

Примечание: пунктиром обозначен порог отсечения, использованный при дихотомизации признака; OR – отношение шансов, CI – доверительный интервал.

Определение суммарной объемной плотности опухолевых структур во всех биопсийных столбиках – более сложный, хотя и более строгий с морфометрической точки зрения способ оценки объема опухолевого поражения. У пациентов с рецидивом медианное значение данного показателя (20,4%; IR 14,2–30,8%) значительно превосходило соответствующее значение 1-й группы (3,5%; IR 2,3–12,2%; $p=0,001$), при этом в 75% наблюдений без рецидива показатели объемной плотности были ниже порога отсечения (10%). Местное прогрессирование в большинстве случаев (87%) было ассоциировано с более высокими значениями этого параметра (OR=19,5; 95% CI 3,0–126,5; $p=0,002$), причем в 1/3

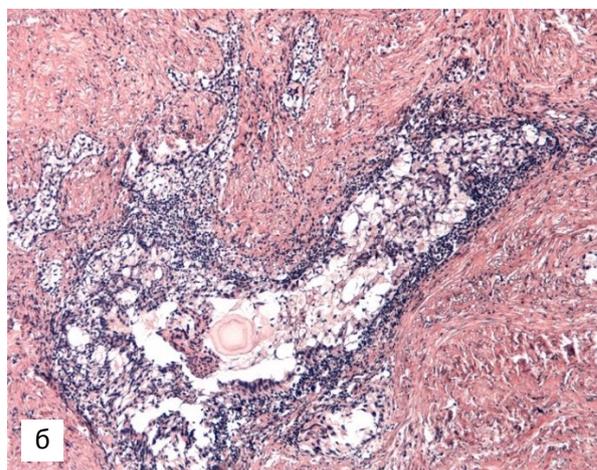
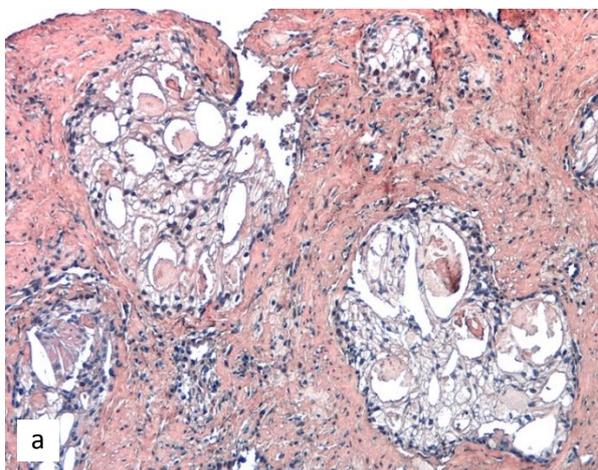
наблюдений 2-й группы объем опухоли превышал 30% (табл.).

Установлена положительная корреляционная зависимость между косвенными показателями объема опухоли (относительной долей положительных столбиков и объемной плотностью опухолевых структур в первичных биоптатах) и наличием местного рецидива после сеанса HIFU-терапии ($r=0,63$ и $0,59$ соответственно; $p<0,001$).

При оценке степени дифференцировки РПЖ на дооперационном этапе в группе без рецидива значительно преобладали наблюдения невысокого риска с суммой Глисона $\leq 3+4$ (87,5% случаев), градация 7 (4+3) зарегистрирована только в 2 (12,5%) наблюдениях. Во 2-й группе отмечался существенный сдвиг в сторону менее дифференцированных форм – градации 7 (4+3), 8 и 9 в сумме диагностированы в 60% случаев, а их выявление было достоверно ассоциировано с прогрессированием РПЖ после HIFU-терапии (OR = 10,5; 95% CI 1,7–63,9; $p=0,011$) (табл.). Зарегистрирована положительная корреляция между группой риска по шкале Глисона и выявлением местного рецидива ($r=0,52$, $p=0,003$).

Опухолевые структуры 4-й градации представляют собой разнородную группу паттернов, некоторые из них могут иметь особое прогностическое значение. На сегодняшний день имеются данные, подтверждающие достоверную связь крибриформного паттерна с биохимическим рецидивом и отдаленными метастазами после лучевой терапии и радикальной простатэктомией [14]. В нашем исследовании крибровые комплексы (рис. 1, а), отмеченные в 21% предоперационных образцов 2-й группы в качестве ведущего компонента и еще в 5% – в качестве вторичного, в материале 1-й группы полностью отсутствовали, различия носили достоверный характер ($p=0,012$).

В единичных случаях в первичных биоптатах пациентов с рецидивом встречались другие гистологические маркеры неблагоприятного прогноза, такие как периневральная инвазия и внутрипротоковая карцинома простаты (7 и 5% образцов 2-й группы соответственно). Последняя имела крибриформную структуру с очагами солидаризации, местами сохраняла контур ветвящихся протоков (рис. 1, б).



*Рис. 1. Криброзные структуры в биоптате (а) и материале ТУРП (б) пациентов 2-й группы:
а – светлоклеточная аденокарцинома криброзного строения; б – крибриформные
структуры в просвете ветвящегося протока (внутрипротоковая карцинома простаты).
Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200*

Анализ биоптатов и материала ТУРП пациентов с РПЖ показал, что основными фоновыми изменениями неопухолевого паренхимы ПЖ были доброкачественная гиперплазия (ДГПЖ) различной степени выраженности, признаки которой наблюдались в 75% доступных образцов ТУРП, а также очаговые атрофические и атрофически-пролиферативные изменения, преобладавшие в периферической зоне простаты и во многих случаях ассоциированные с признаками хронического воспаления. Солокализацию участков простой атрофии и постатрофической гиперплазии с зонами умеренной и выраженной воспалительно-клеточной инфильтрации (наблюдавшуюся в 35% наших наблюдений) в настоящее время принято обозначать термином «пролиферативная воспалительная атрофия». Топографические и молекулярно-генетические параллели с простатической интраэпителиальной неоплазией высокой степени (ПИН) и РПЖ позволяют некоторым авторам рассматривать данные изменения в качестве предопухолевых [15].

При иммуногистохимической оценке экспрессии белка p53 отмечено практически полное отсутствие специфического окрашивания в неопухолевых железах нормального строения и узлах ДГПЖ, в некоторых случаях наблюдалась слабоположительная реакция в единичных рассеянных клетках базального слоя (рис. 2, а). Очаговые скопления слабопозитивных ядер преимущественно базальной локализации (1^+ -экспрессия в 10 – 30% ядер) нередко встречались в участках пролиферативной воспалительной атрофии (рис. 2, б), а также в очагах ПИН вблизи опухоли. В отдельно расположенных очагах ПИН реакция была менее выражена, но также превосходила базальный уровень (рис. 2, в).

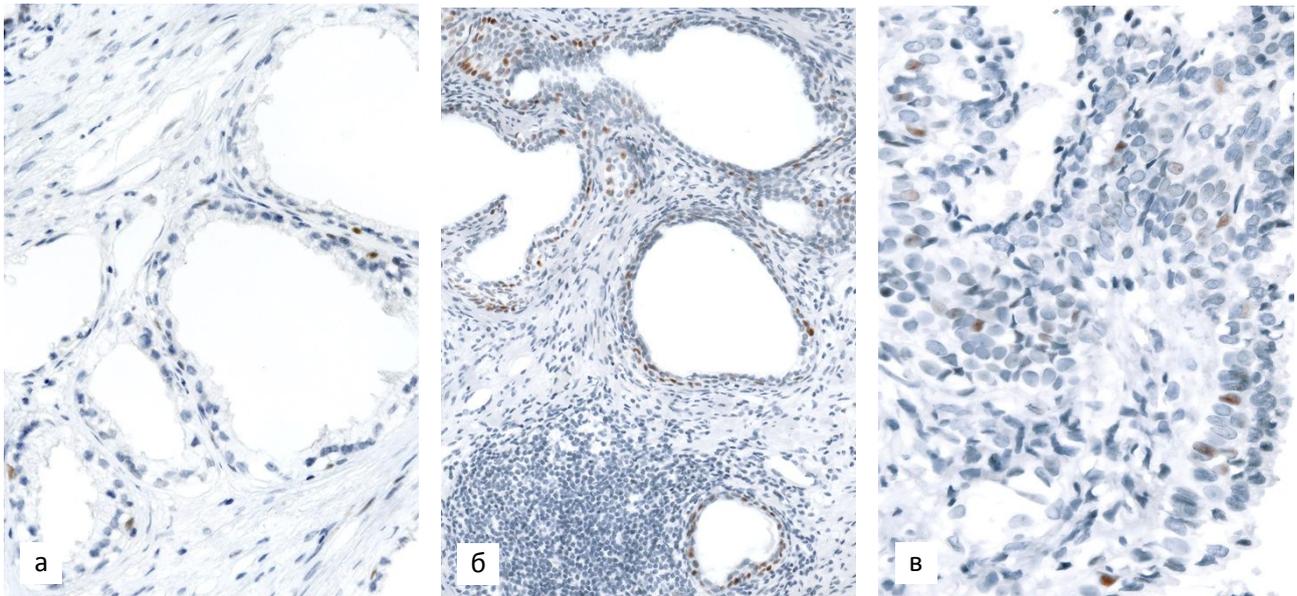


Рис. 2. Экспрессия p53 в неопухоловой паренхиме ПЖ в материале ТУРП пациентов 1-й группы: а – единичные p53-позитивные базальные клетки в зоне доброкачественной гиперплазии ПЖ. Ув. x400; б – слабopоложительная реакция в клетках базального слоя в зоне пролиферативной воспалительной атрофии (1⁺, 28% клеток). Ув. x200; в – слабая экспрессия p53 в очаге ПИН (1⁺, 6% клеток). Ув. x400

Экспрессия p53 в структурах РПЖ отличалась гетерогенностью. В 18 (58%) наблюдениях экспрессия отсутствовала или наблюдалась в единичных ядрах опухолевых клеток (менее 1%). В 7 наблюдениях (23% всех случаев) отмечено слабое по интенсивности окрашивание немногочисленных (до 10%) ядер, что рассматривалось как негативная реакция (рис. 3, а). Достоверных различий по данному признаку между группами не выявлено.

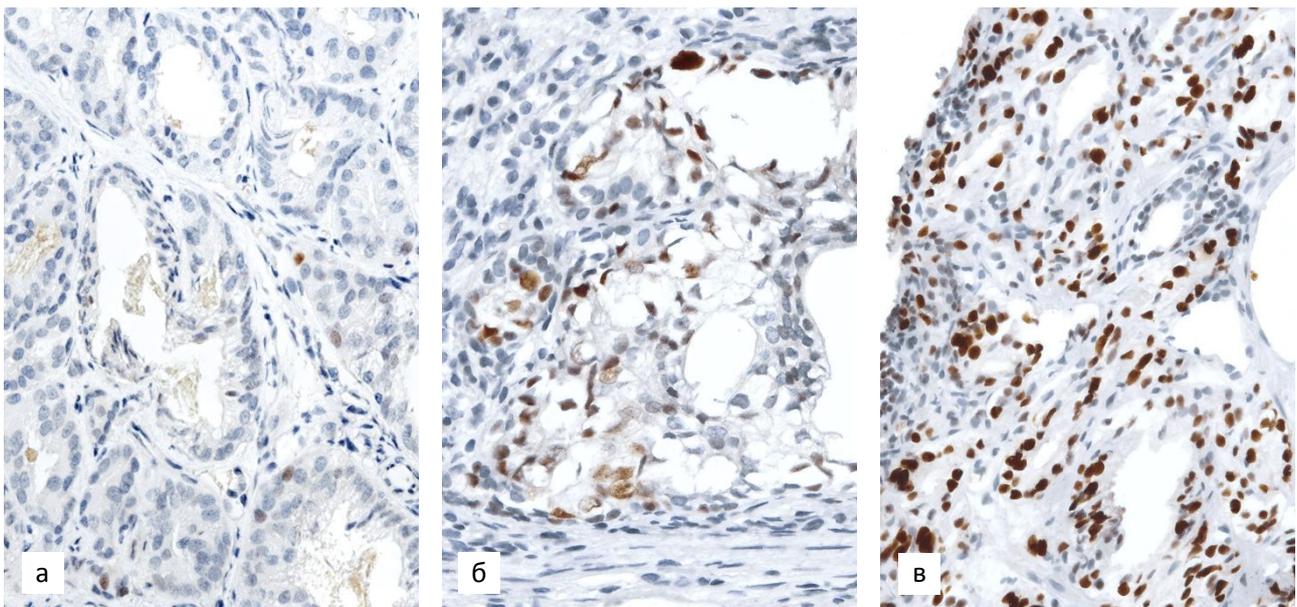


Рис. 3. Экспрессия p53 в структурах РПЖ в биоптатах пациентов 1-й (а) и 2-й групп (б, в): а – единичные позитивные опухолевые клетки в очаге умеренно дифференцированной аденокарциномы; б – слабopоложительная реакция в очаге аденокарциномы cribriformного

строения (2⁺, 31% клеток); *г* – выраженная реакция в очаге умеренно дифференцированной аденокарциномы (3⁺, 73% клеток). Ув. х400

В 6 наблюдениях (19% всех случаев) в дооперационных образцах зафиксирована повышенная экспрессия p53 – умеренное или выраженное по интенсивности окрашивание 22–73% ядер опухолевых клеток (рис. 3, б, в). У всех пациентов с аномальной реакцией через 10–21 месяц после сеанса HIFU-терапии диагностирован рецидив РПЖ (40% наблюдений 2-й группы). Достоверная ассоциация между гиперэкспрессией p53 и местным прогрессированием (OR=22,6; 95% CI 1,1–446,8; p=0,040) подтверждалась данными корреляционного анализа ($r=0,53$, $p<0,001$).

Во многих первичных биоптатах с повышенной экспрессией p53 имели место и другие гистологические признаки, которые указывали на низкую степень дифференцировки опухоли и неблагоприятный прогноз (рис. 3, б). Установлена статистически значимая, хотя и довольно слабая корреляция между экспрессией p53 и группой риска по шкале Глисона ($r=0,40$, $p=0,024$). Тем не менее тот факт, что в отдельных наблюдениях с рецидивом гиперэкспрессия наблюдалась в клетках умеренно дифференцированной аденокарциномы (рис. 3, г), указывает на то, что в ряде случаев данный маркер может иметь существенное независимое значение для прогноза и выбора тактики лечения.

Экспрессия p53-протеина в очагах прекурсорных изменений (пролиферативной воспалительной атрофии, ПИН высокой степени) указывает на то, что потеря функции данного гена может играть ключевую роль уже на ранних этапах канцерогенеза [15]. И, хотя слабopоложительная реакция не обязательно означает наличие мутации [11], в ряде работ на основе сочетания методов лазерной микродиссекции, секвенирования и гибридизации *in situ* удалось показать повышенный уровень мутаций *TP53* и хромосомной нестабильности в очагах ПИН высокой степени у пациентов с РПЖ [12].

Заключение

Существенными факторами, определяющими вероятность сохранения опухолевых клеток после воздействия высокоинтенсивного сфокусированного ультразвука на ткань ПЖ, являются особенности самой опухоли, в первую очередь ее объем и злокачественный потенциал.

По нашим данным, повышение частоты местного прогрессирования при лечении локализованного РПЖ методом HIFU-терапии ассоциировано с преобладанием менее дифференцированных форм аденокарциномы (4+3, 8 и 9 баллов по Глисона), наличием криброзных структур в первичных биоптатах, а также с характеристиками опухоли, указывающими на ее значительный объем, – относительной долей позитивных биопсийных столбиков $\geq 40\%$ (более 4 столбиков при 12-точечной биопсии) и относительной площадью

опухолевых структур во всех образцах $\geq 10\%$. Тот факт, что даже небольшое содержание криброзных элементов может быть ассоциировано с последующим развитием местного рецидива, свидетельствует о целесообразности специального учета криброзного подтипа для выделения пациентов с повышенным риском местного прогрессирования после HIFU-терапии.

Продемонстрированная нами достоверная взаимосвязь между аномальной экспрессией p53-протеина и местным рецидивом подтверждает значимость иммуногистохимической оценки данного маркера как фактора неблагоприятного прогноза при HIFU-терапии локализованного РПЖ.

Список литературы

1. Чиссов В.И., Русаков И.Г. Заболеваемость раком предстательной железы в Российской Федерации // Экспериментальная и клиническая урология. 2011. № 2-3. С. 6-7.
2. Шосси К. Мировой опыт HIFU-терапии РПЖ // Экспериментальная и клиническая урология. 2011. № 2-3. С.44-47.
3. Limani K., Aoun F., Holz S., Paesmans M., Peltier A., van Velthoven R. Single high intensity focused ultrasound session as a whole gland primary treatment for clinically localized prostate cancer: 10-year outcomes. *Prostate Cancer*. 2014. 2014:186782. DOI:10.1155/2014/186782.
4. Hoogland A.M., Kweldam C.F., van Leenders G.J.L.H. Prognostic histopathological and molecular markers on prostate cancer needle-biopsies: a review. *Biomed. Res. Int*. 2014. 2014:341324. DOI:10.1155/2014/341324.
5. Ross J.S., Jennings T.A., Nazeer T., Sheehan C.E., Fisher H.A., Kauffman R.A., Anwar S., Kallakury B.V. Prognostic factors in prostate cancer. *Am. J. Clin. Pathol*. 2003. vol. 120, suppl. P. S85-100.
6. Rivlin N., Brosh R., Oren M., Rotter V. Mutations in the p53 tumor suppressor gene: Important milestones at the various steps of tumorigenesis. *Genes Cancer*. 2011. vol. 2. no. 4. P. 466-474. DOI: 10.1177/1947601911408889.
7. Kudahetti S., Fisher G., Ambroisine L., Foster C., Reuter V., Eastham J., Møller H., Kattan M.W., Cooper C.S., Scardino P., Cuzick J., Berney D.M. p53 immunochemistry is an independent prognostic marker for outcome in conservatively treated prostate cancer. *BJU Int*. 2009. vol. 104. P. 20-24. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2009.08407.x.
8. Kluth M., Harasimowicz S., Burkhardt L., Grupp K., Krohn A., Prien K., Gjoni J., Haß T., Galal R., Graefen M., Haese A., Simon R., Hühne-Simon J., Koop C., Korbel J., Weischenfeld J., Huland H., Sauter G., Quaas A., Wilczak W., Tsourlakis M.C., Minner S., Schlomm T. Clinical significance of different types of p53 gene alteration in surgically treated prostate cancer. *Int. J. Cancer*. 2014. vol.

135. no. 6. P. 1369-1380. DOI: 10.1002/ijc.28784.

9. Фомкин Р.Н., Воронина Е.С., Попков В.М., Маслякова Г.Н., Блюмберг Б.И. Прогностическое значение молекулярно-биологических, морфологических и клинических маркеров в оценке эффективности лечения локализованного рака предстательной железы высокоинтенсивным сфокусированным ультразвуком // Экспериментальная и клиническая урология. 2013. № 4. С. 29 – 33.

10. Epstein J.I, Zelefsky M.J., Sjoberg D.D., Nelson J.B., Egevad L., Magi-Galluzzi C., Vickers A.J., Parwani A.V., Reuter V.E., Fine S.W., Eastham J.A., Wiklund P., Han M., Reddy C.A., Ciezki J.P., Nyberg T., Klein E.A. A Contemporary Prostate Cancer Grading System: A Validated Alternative to the Gleason Score. *Eur. Urol.* 2016. vol. 69. no 3. P. 428-435. DOI: 10.1016/j.eururo.2015.06.046.

11. Yemelyanova A., Vang R., Kshirsagar M., Lu D., Marks M.A., Shih Ie M., Kurman R.J. Immunohistochemical staining patterns of p53 can serve as a surrogate marker for TP53 mutations in ovarian carcinoma: an immunohistochemical and nucleotide sequencing analysis. *Mod. Pathol.* 2011. vol. 24. no. 9. P. 1248-1253. DOI: 10.1038/modpathol.2011.85.

12. Al-Maghrabi J., Vorobyova L., Chapman W., Jewett M., Zielenska M., Squire J.A. p53 Alteration and chromosomal instability in prostatic high-grade intraepithelial neoplasia and concurrent carcinoma: analysis by immunohistochemistry, interphase in situ hybridization, and sequencing of laser-captured microdissected specimens. *Mod. Pathol.* 2001. vol. 14. no. 12. P. 1252-1262.

13. Guedes L.B., Almutairi F., Haffner M.C., Rajoria G., Liu Z., Klimek S., Zoino R., Yousefi K., Sharma R., De Marzo A.M., Netto G.J., Isaacs W.B., Ross A.E., Schaeffer E.M., Lotan T.L. Analytic, Preanalytic, and Clinical Validation of p53 IHC for Detection of TP53 Missense Mutation in Prostate Cancer. *Clin Cancer Res.* 2017. vol. 23. no. 16. P. 4693-4703. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0257.

14. Kweldam C.F., Wildhagen M.F., Steyerberg E.W., Bangma C.H., van der Kwast T.H., van Leenders G.J. Cribriform growth is highly predictive for postoperative metastasis and disease-specific death in Gleason score 7 prostate cancer. *Mod. Pathol.* 2015. vol. 28. no. 3. P. 457-464. DOI: 10.1038/modpathol.2014.116.

15. Wang W., Bergh A., Damber J.E. Increased p53 immunoreactivity in proliferative inflammatory atrophy of prostate is related to focal acute inflammation. *APMIS.* 2009. vol. 117. no. 3. P. 185-195. DOI: 10.1111/j.1600-0463.2008.00006.x.