

Прогностическая значимость потери гетерозиготности генов *PTEN*, *RB1* и *BRCA2* у пациентов с локализованным и местно-распространенным раком предстательной железы

А.В. Арнаутов, А.А. Мусаелян, В.Д. Назаров, С.В. Лапин, С.А. Рева, С.Б. Петров, С.В. Орлов

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России; Россия, 197022 Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8

Контакты: Александр Валерьевич Арнаутов av-arnautov@yandex.ru

Введение. Рак предстательной железы – наиболее часто встречающееся заболевание среди злокачественных поражений органов мочеполового тракта, занимающее 2-е место в структуре смертности мужчин от онкологической патологии. При этом популяция пациентов с раком предстательной железы является неоднородной: у части пациентов заболевание не требует активного лечения, в то время как у других оно быстро прогрессирует с формированием кастрационно-резистентного метастатического рака. Поэтому на сегодняшний день поиск новых прогностических маркеров, уточняющих классические предиктивные системы, остается актуальным.

Цель исследования – изучение прогностической значимости потери гетерозиготности генов *PTEN*, *RB1*, *TP53*, *BRCA1* и *BRCA2* у пациентов с локализованным и местно-распространенным раком предстательной железы.

Материалы и методы. В исследование были включены 52 пациента с раком предстательной железы. У 31 (59,6 %) больного диагностирована локализованная (T1–2N0M0), у 21 (40,4 %) – местно-распространенная (T3a–bN0/1M0) форма рака. Всем пациентам выполнена радикальная простатэктомия, после чего определялось наличие аберраций исследуемых генов в операционном и биопсийном материалах. Детекцию делеций в исследуемых генах проводили с помощью метода мультиплексного анализа лигированных проб.

Результаты. У 13 (25,0 %) пациентов в послеоперационном материале выявлена делеция гена *PTEN*, у 6 (11,5 %) – делеция гена *RB1*, у 1 (1,9 %) – делеция гена *BRCA2*. При этом у пациентов с потерей гетерозиготности *PTEN* чаще встречались перинеуральная инвазия ($p = 0,01$) и поражение лимфатических узлов ($p = 0,0003$). Делеция гена *RB1* ассоциирована с более частым выявлением низкодифференцированной опухоли ($p = 0,013$), крибриформного компонента роста ($p = 0,002$), а также с инвазией в перипростатическую клетчатку ($p = 0,005$).

Заключение. Определение потери гетерозиготности генов *PTEN* и *RB1* является перспективным инструментом уточнения прогноза заболевания, что в дальнейшем позволит более точно стратифицировать пациентов на группы риска биохимического рецидива.

Ключевые слова: рак предстательной железы, молекулярно-генетический маркер, *PTEN*, *RB1*, *TP53*, *BRCA1*, *BRCA2*

Для цитирования: Арнаутов А.В., Мусаелян А.А., Назаров В.Д. и др. Прогностическая значимость потери гетерозиготности генов *PTEN*, *RB1* и *BRCA2* у пациентов с локализованным и местно-распространенным раком предстательной железы. Онкоурология 2021;17(4):76–84. DOI: 10.17650/1726-9776-2021-17-4-76-84.

Prognostic significance of *PTEN*, *RB1* and *BRCA2* gene loss in patients with localized and locally advanced prostate cancer

A.V. Arnautov, A.A. Musaelyan, V.D. Nazarov, S.V. Lapin, S.A. Reva, S.B. Petrov, S.V. Orlov

Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Ministry of Health of Russia; 6–8 L'va Tolstogo St., Saint-Petersburg 197022, Russia

Contacts: Aleksandr Valer'evich Arnautov av-arnautov@yandex.ru

Background. Prostate cancer is the most common malignant condition among oncological diseases of the genitourinary tract, which occupies the second place in male mortality from malignant neoplasms. At the same time, population of patients with prostate cancer is heterogeneous: in some patients, the disease does not require active treatment, while in others it progresses rapidly with the formation of metastatic castration-resistant prostate cancer. Therefore, the search for new predictive markers remains relevant.

Objective. Analysis of the prognostic significance of the loss of heterozygosity of *PTEN*, *RB1*, *TP53*, *BRCA1* and *BRCA2* genes in patients with localized and locally advanced prostate cancer.

Materials and methods. The study included 52 patients with prostate cancer, 31 (59.6 %) of whom had a localized form (T1–2N0M0), and 21 (40.4 %) – locally advanced (T3a–bN0/1M0). All patients underwent radical prostatectomy, followed by genotyping of postoperative and biopsy specimens to determine genetic alterations in the studied genes. Detection of deletions in the studied genes was carried out using the method of multiplex ligation-dependent probe amplification.

Results. In 13 (25.0 %) patients in the postoperative specimen was detected deletion of *PTEN* gene, in 6 (11.5 %) – deletion of *RB1* gene, and in 1 (1.9 %) – deletion of *BRCA2* gene. At the same time, patients with loss of *PTEN* heterozygosity were more likely to have perineural invasion ($p = 0.01$) and lymph node involvement ($p = 0.0003$). Deletion of *RB1* gene is associated with more frequent detection of high-grade tumors ($p = 0.013$), cribriform growth component ($p = 0.002$), and invasion of the periprostatic tissue ($p = 0.005$).

Conclusion. Detection of loss of heterozygosity of *PTEN* and *RB1* genes is a promising tool for clarifying the prognosis of the disease, which in the future will allow more accurately stratify patients into risk groups for biochemical relapse.

Key words: prostate cancer, molecular genetic marker, *PTEN*, *RB1*, *TP53*, *BRCA1*, *BRCA2*

For citation: Arnautov A.V., Musaelyan A.A., Nazarov V.D. et al. Prognostic significance of *PTEN*, *RB1* and *BRCA2* gene loss in patients with localized and locally advanced prostate cancer. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2021;17(4):76–84. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9776-2021-17-4-76-84.

Введение

Рак предстательной железы (РПЖ) занимает 2-е место в структуре онкологической заболеваемости мужской популяции [1]. Несмотря на прогресс в лечении пациентов со злокачественными новообразованиями предстательной железы, смертность в России остается высокой – 12 случаев на 100 тыс. населения [2]. РПЖ представляет собой крайне гетерогенное заболевание, в связи с чем на первый план в выборе тактики лечения выходят инструменты определения прогноза течения заболевания. Согласно зарубежным и отечественным рекомендациям обязательным компонентом в диагностическом алгоритме является стратификация пациентов по группам риска биохимического рецидива с использованием классификаций NCCN (Национальной сети по борьбе с раком), EAU (Европейской ассоциации урологов), RUSSCO (Российского общества клинической онкологии) и др. Данные классификации основаны на оценке группы градации Глисона, распространенности опухоли (категория Т), количестве положительных столбцов в биоптате, уровне простатического специфического антигена и наличии факторов риска. Однако точность прогноза при использовании указанных классификаций не является идеальной (С-индекс 0,73–0,77) [3]. Кандидатам на активное наблюдение, определенным с использованием данных классификаций, может потребоваться более интенсивное лечение. Кроме этого, в 14–30 % случаев при морфологической оценке материала после радикальной простатэктомии (РПЭ) происходит модификация группы градации до клинически значимого РПЖ по сравнению с биопсийным материалом [4].

Таким образом, для более точной стратификации риска биохимического рецидива существует необходимость поиска маркеров, позволяющих дополнить

существующие инструменты оценки прогноза. Возможным решением данной проблемы стало активное изучение молекулярной биологии РПЖ, что привело к появлению различных молекулярно-генетических маркеров.

Одним из наиболее перспективных маркеров является потеря гетерозиготности гена *PTEN*. Делеция в гене *PTEN* – наиболее распространенная соматическая абберрация при РПЖ [5]. Абберрация в данном гене обуславливает стимуляцию пролиферации и миграцию опухолевых клеток, а также ингибирование сигнального пути андрогеновых рецепторов (AR). Последняя особенность опухоли служит причиной резистентности к андроген-депривационной терапии у пациентов с РПЖ [6]. Другим не менее важным молекулярно-генетическим маркером может служить потеря гетерозиготности генов *RB1*, *TP53*, *BRCA1* и *BRCA2*. Делеции генов *RB1* и *TP53* также приводят к AR-независимой клеточной выживаемости [7]. Было показано, что гены *BRCA1* и *BRCA2* играют ключевую роль в развитии и прогрессировании РПЖ путем корегуляции AR и соответствующего сигнального пути [8]. Данные изменения наиболее изучены и характерны для метастатического процесса, в отличие от локализованных форм заболевания.

Цель исследования – изучение прогностической значимости потери гетерозиготности генов *PTEN*, *RB1*, *TP53*, *BRCA1* и *BRCA2* у пациентов с локализованным и местно-распространенным РПЖ.

Материалы и методы

В период с января 2018 по декабрь 2019 г. на базе отделения онкоурологии НИЦ урологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова 52 пациентам

с гистологически верифицированным РПЖ была выполнена РПЭ. Медиана времени наблюдения составила 17,8 мес. Все пациенты, включенные в исследование, подписали добровольное информированное согласие на сбор биологического материала и клинических данных, проведение молекулярно-генетического исследования, а также выполнение РПЭ. Кли-

нико-эпидемиологические данные пациентов представлены в табл. 1.

Для верификации РПЖ всем пациентам была выполнена системная трансректальная 12-точечная биопсия с 2 дополнительными таргетными столбцами (когнитивная магнитно-резонансная fusion-биопсия). Пациенты получили хирургическое лечение в объеме

Таблица 1. Клинико-морфологические характеристики пациентов, включенных в исследование (n = 52)

Table 1. Clinical and morphological characteristics of patients included in the study (n = 52)

Показатель Parameter	Значение Value
Медиана возраста (интерквартильный размах), лет Median age (interquartile range), years	66 (62–71)
Медиана уровня простатического специфического антигена (интерквартильный размах), нг/мл Median prostate-specific antigen (interquartile range), ng/ml	9,8 (5,8–15,7)
Уровень простатического специфического антигена, n (%): Prostate-specific antigen, n (%):	
<10 нг/мл <10 ng/ml	26 (50)
10–20 нг/мл 10–20 ng/ml	23 (44,2)
>20 нг/мл >20 ng/ml	3 (5,8)
Гистологическая градация опухоли по классификации ISUP (послеоперационная оценка), n (%): Histological tumor grading according to the ISUP classification (postoperative evaluation), n (%):	
1 (3 + 3)	13 (25,0)
2 (3 + 4)	12 (23,1)
3 (4 + 3)	16 (30,8)
4 (4 + 4; 3 + 5; 5 + 3)	3 (5,8)
5 (4 + 5; 5 + 4; 5 + 5)	8 (15,4)
Распространенность опухоли (категория T), n (%): Tumor extension (category T), n (%):	
T1–2a	5 (9,6)
T2b–T2c	32 (61,5)
T3a	7 (13,5)
T3b–T4	8 (15,4)
Вовлеченность лимфатических узлов (категория N), n (%): Lymph node involvement (category N), n (%):	
pN0	42 (80,8)
pN1	10 (19,2)
Группа риска рецидива по классификации NCCN, n (%): NCCN recurrence risk group, n (%):	
очень низкий very low	0
низкий low	2 (3,9)
благоприятный промежуточный intermediate favorable	12 (23,1)
неблагоприятный промежуточный intermediate unfavorable	14 (26,9)
высокий high	11 (21,2)
очень высокий very high	13 (25,0)

Примечание. ISUP – Международное общество урологических патологов; NCCN – Национальная сеть по борьбе с раком.
Note. ISUP – International Society of Urological Pathology; NCCN – National Comprehensive Cancer Network.

лапароскопической или экстраперитонеальной видеоэндоскопической РПЭ. Всем пациентам группы высокого риска, а также группы промежуточного риска с вероятностью поражения лимфатических узлов >5 % по номограмме Briganti выполняли двухстороннюю расширенную лимфаденэктомию.

Клиническое и патоморфологическое стадирование проводили согласно системе American Joint Committee on Cancer (AJCC) (8-е издание). Группу риска биохимического рецидива определяли в соответствии с рекомендациями NCCN. Для оценки местной распространенности проводили пальцевое ректальное исследование, определяли процент поражения биопсийного столбца клетками аденокарциномы и выполняли магнитно-резонансную томографию органов малого таза. Также проводили оценку первичной опухоли в соответствии с критериями PI-RADS v2. Наличие отдаленных метастазов исключали с помощью остеосцинтиграфии, компьютерной томографии/магнитно-резонансной томографии органов малого таза в зависимости от группы риска биохимического рецидива.

Мультиплексный анализ лигированных проб (multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA). Всем пациентам, включенным в исследование, выполняли молекулярно-генетическое исследование наличия делеций генов *PTEN*, *RBI*, *TP53*, *BRCA1* и *BRCA2* как в биопсийных, так и в операционных образцах. ДНК выделяли из блоков тканей, фиксированных формалином и залитых парафином. Для увеличения количества опухолевого материала, в частности в биопсийных образцах, проводили ручную макродиссекцию. Экстракцию ДНК осуществляли с использованием набора QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN, Германия) согласно инструкции производителя.

MLPA-анализ наличия делеций в исследуемых генах проводили с использованием 100 нг ДНК, разведенной в 5 мкл ТЕ-буфера, и коммерческого набора SALSA MLPA KIT P294 Tumour-loss (MRC Holland, Нидерланды) согласно инструкции производителя. MLPA-продукт идентифицировали и количественно оценивали с помощью капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе ABI PRISM 3500 (Applied

Biosystems, США). Полученные данные были проанализированы с применением программного обеспечения Coffalyser.Net (MRC Holland, Нидерланды). Определение делеций осуществляли путем сравнения каждого фрагмента между исследуемым и референтным образцом. Последний представлял собой ДНК, которая была выделена из парафинового блока, полученного от пациента с гистологически верифицированной доброкачественной гиперплазией предстательной железы и отсутствием неопластических изменений. В соответствии с инструкцией к используемому набору MLPA для гетерозиготной делеции было установлено пороговое значение <0,7, для гомозиготной делеции – на уровне 0.

Статистический анализ. Сравнение качественных признаков проводили согласно критерию Пирсона (χ^2 -тест). С помощью U-теста Манна–Уитни определяли значимость различий между группами по количественным признакам. Статистически значимым считали $p < 0,05$. Анализ проводили с использованием программы GraphPad Prism (версия 8.0.1; GraphPad Software Inc., США).

Результаты

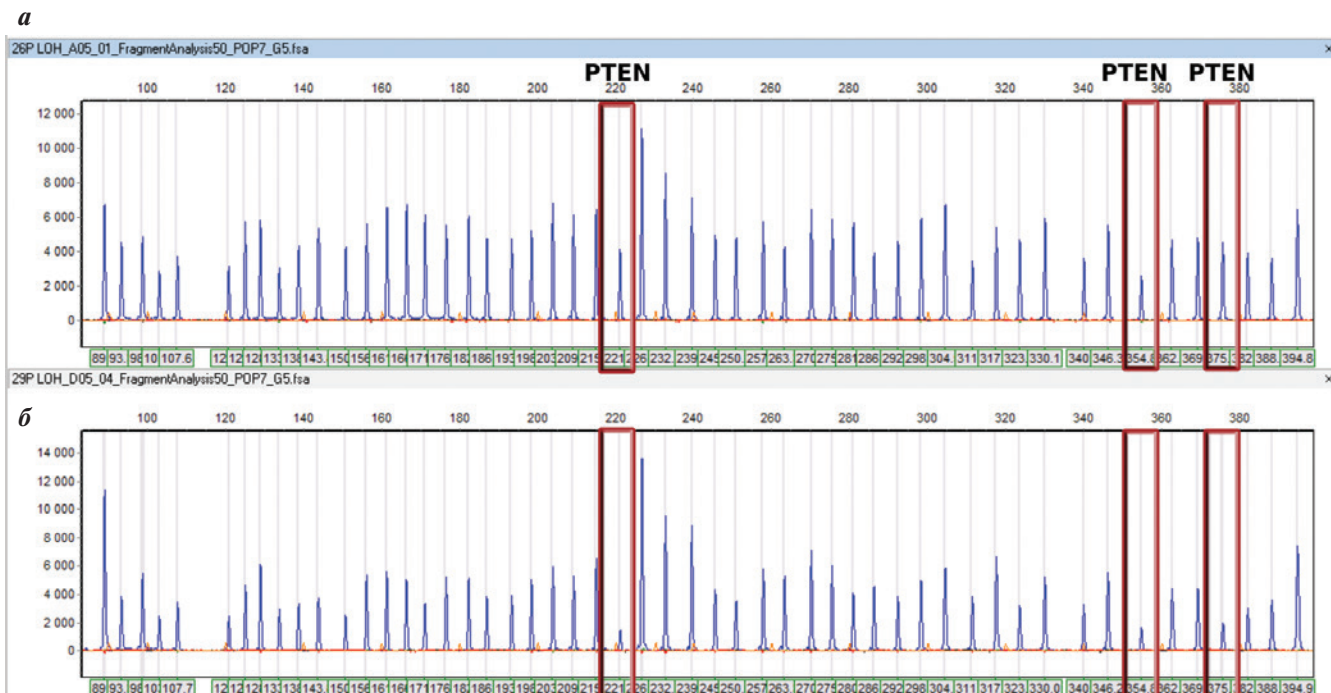
По результатам молекулярно-генетического анализа образцов, полученных от пациентов при проведении РПЭ по поводу РПЖ, в 13 (25,0 %) случаях в послеоперационном материале выявлена делеция гена *PTEN*, в 6 (11,5 %) – делеция гена *RBI*, в 1 (1,9 %) – делеция гена *BRCA2*. Ни в одном из исследуемых образцов не обнаружены aberrации генов *TP53* и *BRCA1*. Результаты MLPA-анализа в зависимости от распространенности РПЖ представлены в табл. 2. На рисунке приведен пример выявления aberrаций методом MLPA на примере делеции гена *PTEN*.

Делеция гена *PTEN*. При патоморфологическом исследовании послеоперационного материала перинеуральная инвазия обнаружена у 76,9 % ($n = 10$) пациентов с делецией *PTEN* (*PTENmut*) и лишь у 35,9 % ($n = 14$) пациентов с «диким» типом данного гена (*PTENwt*) ($p = 0,01$). При этом у пациентов группы *PTENmut* значительно

Таблица 2. Распределение генетических aberrаций в зависимости от распространенности процесса

Table 2. Distribution of genetic aberrations depending on the tumor extension

Делеция гена Gene deletion	Локализованный рак ($n = 31$), n (%) Localized cancer ($n = 31$), n (%)	Местно-распространенный ($n = 21$), n (%) Locally advanced ($n = 21$), n (%)	p
<i>PTEN</i>	5 (16,1)	8 (38,1)	0,073
<i>RBI</i>	2 (6,5)	4 (19,0)	0,163
<i>PTEN, RBI</i>	0	2 (6,5)	0,079
<i>BRCA2</i>	0	1 (4,8)	0,219



Выявление делеции гена *PTEN* методом мультиплексного анализа лигированных проб: а – без делеции гена *PTEN*; б – наличие делеции гена *PTEN*
 Detection of *PTEN* gene deletion by multiplex ligation-dependent probe amplification analysis: а – absence of *PTEN* deletion; б – presence of *PTEN* deletion

чаще выявляли поражение лимфатических узлов по сравнению с группой *PTEN*wt (53,8 % против 7,7 %; $p = 0,0003$). Также отмечено, что пациенты с *PTEN*mut, в отличие от пациентов с *PTEN*wt, значительно чаще были отнесены к группе высокого и очень высокого риска биохимического рецидива по классификации NCCN: 76,9 % ($n = 10$) против 35,9 % ($n = 14$)

соответственно ($p = 0,01$). Разница в увеличении группы градации до клинически значимого рака после операции между группами *PTEN*mut и *PTEN*wt оказалась статистически незначима ($p = 0,222$). Патоморфологические характеристики пациентов в зависимости от наличия генетических aberrаций в генах *PTEN* и *RB1* указаны в табл. 3.

Таблица 3. Клинико-патоморфологические характеристики пациентов в зависимости от наличия генетических aberrаций
 Table 3. Clinical and pathomorphological characteristics of patients depending on the presence of genetic aberrations

Характеристика Characteristic	Статус гена <i>PTEN</i> <i>PTEN</i> gene status		<i>p</i>	Статус гена <i>RB1</i> <i>RB1</i> gene status		<i>p</i>
	делеция ($n = 13$) deletion ($n = 13$)	«дикий» тип ($n = 39$) wild type ($n = 39$)		делеция ($n = 6$) deletion ($n = 6$)	«дикий» тип ($n = 46$) wild type ($n = 46$)	
Средний уровень простатического специфического антигена, нг/мл Mean prostate-specific antigen, ng/ml	13,05	10,68	0,361	21,97	9,88	0,0003
Гистологическая градация опухоли по классификации ISUP, n (%): Histological tumor grading according to the ISUP classification, n (%):						
1	2 (15,4)	11 (28,2)	0,357	0	13 (28,3)	0,133
2	1 (7,7)	11 (28,2)	0,129	0	12 (26,1)	0,154
3	5 (38,5)	11 (28,2)	0,488	2 (33,3)	14 (30,4)	0,888
4	1 (7,7)	2 (5,1)	0,729	1 (16,7)	2 (4,3)	0,224
5	4 (30,8)	4 (10,3)	0,076	3 (50,0)	5 (10,9)	0,013

Характеристика Characteristic	Статус гена <i>PTEN</i> <i>PTEN</i> gene status		<i>p</i>	Статус гена <i>RB1</i> <i>RB1</i> gene status		<i>p</i>
	делеция (<i>n</i> = 13) deletion (<i>n</i> = 13)	«дикий» тип (<i>n</i> = 39) wild type (<i>n</i> = 39)		делеция (<i>n</i> = 6) deletion (<i>n</i> = 6)	«дикий» тип (<i>n</i> = 46) wild type (<i>n</i> = 46)	
Крибриформный рост, <i>n</i> (%) Cribriform growth, <i>n</i> (%)	1 (7,7)	2 (5,1)	0,729	2 (33,3)	1 (2,2)	0,002
Перинеуральная инвазия, <i>n</i> (%) Perineural invasion, <i>n</i> (%)	10 (76,9)	14 (35,9)	0,01	5 (83,3)	19 (41,3)	0,052
Лимфоваскулярная инвазия, <i>n</i> (%) Lymphovascular invasion, <i>n</i> (%)	2 (15,4)	5 (12,8)	0,807	2 (33,3)	5 (10,9)	0,129
pN+, <i>n</i> (%)	7 (53,8)	3 (7,7)	0,0003	3 (50,0)	7 (15,2)	0,042
Инвазия в клетчатку (pT3a), <i>n</i> (%) Extracapsular extension (pT3a), <i>n</i> (%)	1 (7,7)	6 (15,4)	0,479	3 (50,0)	4 (8,7)	0,005
Положительный край, <i>n</i> (%) Positive margin, <i>n</i> (%)	1 (7,7)	4 (10,3)	0,791	0	5 (10,9)	0,396
Рак предстательной железы высокого и очень высокого риска, <i>n</i> (%) High and very high risk prostate cancer, <i>n</i> (%)	10 (76,9)	14 (35,9)	0,01	6 (100)	18 (39,1)	0,005
Увеличение группы градации до клинически значимого рака (ISUP ≥ 2), <i>n</i> (%) Upgrading to clinically significant cancer (ISUP ≥ 2), <i>n</i> (%)	1 (7,7)	9 (23,1)	0,222	1 (16,7)	9 (19,6)	0,863
Биохимический рецидив, <i>n</i> (%) Biochemical recurrence, <i>n</i> (%)	3 (23,1)	5 (12,8)	0,374	2 (33,3)	6 (13,0)	0,195

Примечание. ISUP – Международное общество урологических патологов; pN+ – поражение лимфатических узлов по данным патоморфологического исследования.

Note. ISUP – International Society of Urological Pathology; pN+ – confirmed lymph node involvement.

Делеция гена *RB1*. Наличие соматической аберрации гена *RB1* ассоциировано с более высоким предоперационным уровнем простатического специфического антигена. Данный показатель у пациентов с делецией *RB1* (*RB1*mut) и пациентов с «диким» типом гена *RB1* (*RB1*wt) составил 21,9 и 9,9 нг/мл соответственно ($p = 0,0003$). Кроме этого, выявлена ассоциация делеции гена *RB1* с рядом неблагоприятных патоморфологических паттернов. У пациентов с *RB1*mut чаще встречалась опухоль группы градации 5 по классификации ISUP (Международного общества урологических патологов) ($p = 0,013$). Также потеря гетерозиготности гена *RB1* была ассоциирована с наличием крибриформного компонента роста аденокарциномы ($p = 0,002$). Помимо патоморфологических особенностей у пациентов с делецией гена *RB1* выявлены различия в распространенности первичного очага. Так, инвазия в перипростатическую клетчатку отмечена у 50 % пациентов группы *RB1*mut и лишь у 8,7 %

группы *RB1*wt ($p = 0,005$). Поражение лимфатических узлов также чаще отмечалось у пациентов группы *RB1*mut по сравнению с пациентами группы *RB1*wt (50 % против 15,2 %; $p = 0,042$).

Делеция генов *BRCA1* и *BRCA2*. Среди исследуемых образцов потери гетерозиготности гена *BRCA1* не обнаружено, в то время как у 1 пациента с РПЖ высокого риска с поражением лимфатических узлов выявлена соматическая делеция гена *BRCA2*.

Биопсийный и послеоперационный материал. Кроме этого, для выявления изучаемых аберраций был проведен MLPA-анализ биопсийного материала пациентов с делецией генов *PTEN* или *RB1*, а также больных без указанных изменений (wt) в послеоперационном материале. В ходе анализа образцов пациентов группы *PTEN*mut потеря гетерозиготности *PTEN* выявлена также и в биопсийных образцах (сопоставимость 100 %). Также делеция гена *RB1* обнаружена в биопсийном материале пациентов группы *RB1*mut, при этом

у больных групп *PTEN*^{wt} и *RB1*^{wt} генетические аберрации в биопсийных столбцах не выявлены. Таким образом, наличие или отсутствие делеций генов *PTEN* и *RB1* в послеоперационном материале полностью сопоставимо с наличием или отсутствием таковых в биопсийном материале.

Обсуждение

На данный момент актуальной проблемой остается выявление специфичных молекулярно-генетических маркеров, которые позволят повысить точность прогностических систем оценки риска биохимического рецидива [9, 10]. Такие дополнительные прогностические маркеры помогут в дальнейшем определять объем проводимого лечения, например выбор адъювантной или сальважной терапии после РПЭ [11].

Одним из наиболее хорошо изученных в настоящее время прогностических маркеров является делеция гена *PTEN*. Данный маркер включен в практические рекомендации NCCN (версия 3, 2020) в качестве теста для стратификации риска биохимического рецидива [12]. В нашем исследовании делеция гена *PTEN* выявлена у 25 % ($n = 13$) пациентов вне зависимости от распространенности процесса и у 38,1 % ($n = 8$) пациентов с местно-распространенным РПЖ. В ряде зарубежных исследований распространенность делеции гена *PTEN* варьирует и наблюдается в 10–55 % случаев локализованного и распространенного заболевания [13, 14].

Наличие делеции гена *PTEN* у пациентов с РПЖ ассоциировано с неблагоприятными патоморфологическими характеристиками опухоли. Так, в данном исследовании у пациентов с потерей гетерозиготности гена *PTEN* отмечалась большая частота перинеуральной инвазии и поражения лимфатических узлов (pN1). Аналогичные результаты были продемонстрированы в метаанализе Y. Wang, B. Dai [15]. В нашей работе статистически значимой разницы между группами *PTEN*^{mut} и *PTEN*^{wt} в частоте увеличения градации до клинически значимого рака по сумме баллов по шкале Глисона ($ISUP \geq 2$) не выявлено. Однако данная взаимосвязь была обнаружена в работе T. Lotan и соавт. [16]. Такое различие может быть связано с относительно редким выявлением аберрации *PTEN* в биоптатах с суммой баллов по шкале Глисона 6 и объемом выборки.

Другим перспективным генетическим маркером является потеря гетерозиготности гена *RB1*. В нашем исследовании делеция гена *RB1* выявлена в 15,4 % случаев. Схожую распространенность данной аберрации, которая составила 21 %, описали D. Robinson и соавт. [5]. Нами обнаружены следующие паттерны агрессивности опухоли, ассоциированные с делецией гена *RB1*. Так, у пациентов группы *RB1*^{mut} значительно чаще встречались низкая дифференцировка ($ISUP 5$) и крибриформный компонент роста аденокарциномы,

а также была выше вероятность экстрапростатического распространения и поражения лимфатических узлов. Данные морфологические особенности агрессивности опухоли выявлены нами впервые и дополняют результаты, полученные С. Thangavel и соавт. Было показано, что опухолевые клетки с потерей *RB1* демонстрируют метастатический фенотип РПЖ [17].

Другой наиболее часто встречаемой генетической аберрацией при распространенном РПЖ является делеция гена *TP53* [18]. В настоящем исследовании среди изучаемых послеоперационных образцов делеция гена *TP53* не обнаружена, что, вероятно, связано со значительно большей частотой точечных мутаций в данном гене и сравнительно меньшей частотой делеций.

Не менее значимой является прогностическая роль делеции гена *BRCA2*, участвующего в репарации ДНК путем гомологичной рекомбинации. В данной работе потеря гетерозиготности *BRCA2* обнаружена у 1 (1,9 %) пациента. По данным литературы, мутация гена *BRCA2* выявляется у 4–6 % пациентов с локализованным РПЖ и у 12 % пациентов с метастатической формой заболевания, аберрация *BRCA1* встречается значительно реже [19]. Меньшая частота обнаружения мутации *BRCA2* в нашем исследовании обусловлена возможностью метода MLPA детектировать делеции, тогда как большинство аберраций в этом гене представлены точечными мутациями. Делеция в гене *BRCA2* была обнаружена у пациента с РПЖ высокого риска с поражением лимфатических узлов. E. Castro и соавт. при анализе данных 2019 пациентов выявили связь мутации *BRCA1* и *BRCA2* с более агрессивной природой опухоли, в частности с большей вероятностью поражения лимфатических узлов и наличием отдаленных метастазов [20, 21].

Также наличие делеций генов *PTEN* и *RB1* в послеоперационном материале оказалось полностью сопоставимым с наличием таковых в биопсийном материале, как и отсутствие указанных аберраций. Таким образом, применение метода MLPA для исследования данных маркеров на предоперационном этапе позволит в последующем повысить точность прогностических инструментов. Для подтверждения обнаруженных клинико-морфологических паттернов агрессивности опухоли в дальнейшем будет проведено проспективное исследование данных маркеров в целях определения отдаленных онкологических результатов.

Заключение

В данной работе выявлена ассоциация делеций генов *PTEN* и *RB1* с агрессивными клинико-морфологическими особенностями РПЖ. Таким образом, указанные маркеры могут служить перспективным инструментом, позволяющим более точно стратифицировать пациентов в зависимости от риска биохимического рецидива.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I. et al. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2018;68(6):394–424. DOI: 10.3322/caac.21492.
- Аксель Е.М., Матвеев В.Б. Статистика злокачественных новообразований мочевых и мужских половых органов в России и странах бывшего СССР. *Онкоурология* 2019;15(2):15–24. [Axel E.M., Matveev V.B. Statistics of malignant tumors of urinary and male urogenital organs in Russia and the countries of the former USSR. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2019;15(2):15–24. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/1726-9776-2019-15-2-15-24.
- Zelic R., Garmo H., Zugna D. et al. Predicting prostate cancer death with different pretreatment risk stratification tools: a head-to-head comparison in a nationwide cohort study. *Eur Urol* 2020;77(2):180–8. DOI: 10.1016/j.eururo.2019.09.027.
- Ahdoot M., Wilbur A.R., Reese S.E. et al. MRI-targeted, systematic, and combined biopsy for prostate cancer diagnosis. *N Engl J Med* 2020;382:917–28. DOI: 10.1056/NEJMoa1910038.
- Robinson D., van Allen E.M., Wu Y.M. et al. Integrative clinical genomics of advanced prostate cancer. *Cell* 2015;161(5):1215–28. DOI: 10.1016/j.cell.2015.05.001.
- Wise H.M., Hermida M.A., Leslie N.R. Prostate cancer, PI3K, PTEN and prognosis. *Clin Sci* 2017;131(3):197–210. DOI: 10.1042/CS20160026.
- Nyquist M.D., Corella A., Coleman I. et al. Combined TP53 and RB1 loss promotes prostate cancer resistance to a spectrum of therapeutics and confers vulnerability to replication stress. *Cell Rep* 2020;31(8):107669. DOI: 10.1016/j.celrep.2020.107669.
- Castro E., Eeles R. The role of BRCA1 and BRCA2 in prostate cancer. *Asian J Androl* 2012;14(3):409–14. DOI: 10.1038/aja.2011.150.
- Reichard C.A., Stephenson A.J., Klein E.A. Molecular markers in urologic oncology. *Curr Opin Urol* 2016;26:225–30. DOI: 10.1097/MOU.0000000000000273.
- Матвеев В.Б., Киричек А.А., Савинкова А.В. и др. Влияние герминальных мутаций в гене *CHEK2* на выживаемость до биохимического рецидива и безметастатическую выживаемость после радикального лечения у больных раком предстательной железы. *Онкоурология* 2018;14(4):53–67. [Matveev V.B., Kirichek A.A., Savinkova A.V. et al. Impact of germline *CHEK2* mutations on biochemical relapse free survival and metastasis free survival after radical treatment for patients with prostate cancer. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2018;14(4):53–67. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/1726-9776-2018-14-4-53-67.
- Egger S.E., Rumble R.B., Armstrong A.J. et al. Molecular biomarkers in localized prostate cancer: ASCO Guideline. *J Clin Oncol* 2020;38(13):1474–94. DOI: 10.1200/JCO.19.02768.
- National Comprehensive Cancer Network. Prostate Cancer (Version 3.2020). Available at: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/prostate.pdf.
- Cairns P., Okami K., Halachmi S. et al. Frequent inactivation of PTEN/MMAC1 in primary prostate cancer. *Cancer Res* 1997;57(22):4997–5000.
- Ракул С.А., Камилова Т.А., Голота А.С., Щербак С.Г. Прогностические и предиктивные биомаркеры рака предстательной железы (обзор литературы). *Онкоурология* 2017;13(4):111–21. [Rakul S.A., Kamilova T.A., Golota A.S., Shcherbak S.G. Prognostic and predictive biomarkers of prostate cancer. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2017;13(4):111–21. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/1726-9776-2017-13-4-111-121.
- Wang Y., Dai B. PTEN genomic deletion defines favorable prognostic biomarkers in localized prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int J Clin Exp Med* 2015;8:5430–7.
- Lotan T.L., Carvalho F.L., Peskoe S.B. et al. PTEN loss is associated with upgrading of prostate cancer from biopsy to radical prostatectomy. *Mod Pathol* 2015;28(1):128–37. DOI: 10.1038/modpathol.2014.85.
- Thangavel C., Boopathi E., Liu Y. et al. RB loss promotes prostate cancer metastasis. *Cancer Res* 2017;77:982–95. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1589.
- Ku S.Y., Rosario S., Wang Y. et al. RB1 and TRP53 cooperate to suppress prostate cancer lineage plasticity, metastasis, and antiandrogen resistance. *Science* 2017;355(6320):78–83. DOI: 10.1126/science.aah4199.
- Pritchard C.C., Mateo J., Walsh M.F. et al. Inherited DNA-repair gene mutations in men with metastatic prostate cancer. *N Engl J Med* 2016;375:443–53. DOI: 10.1056/NEJMoa1603144.
- Castro E., Goh C., Olmos D. et al. Germline BRCA mutations are associated with higher risk of nodal involvement, distant metastasis, and poor survival outcomes in prostate cancer. *J Clin Oncol* 2013;31:1748–57. DOI: 10.1200/JCO.2012.43.1882.
- Князев Е.Н., Фомичева К.А., Нюшко К.М. и др. Актуальные вопросы молекулярной диагностики рака предстательной железы. *Онкоурология* 2014;10(4):14–22. [Knyazev E.N., Fomicheva K.A., Nyushko K.M. et al. Molecular diagnosis of prostate cancer. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2014;10(4):14–22. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/1726-9776-2014-10-4-14-22.

Вклад авторов

А.В. Арнаутов, А.А. Мусаелян: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, оформление иллюстративного материала, статистический анализ, написание текста рукописи;
 В.Д. Назаров: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, написание текста рукописи;
 С.В. Лапин, С.А. Рева, С.В. Орлов: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, научное редактирование статьи;
 С.Б. Петров: идея и разработка дизайна исследования, научное редактирование текста, руководство исследованием.

Authors' contributions

A.V. Arnautov, A.A. Musaelyan: developing the research design, reviewing of publications of the article's theme, analysis of the obtained data, design of illustrative material, statistical analysis, article writing;
 V.D. Nazarov: developing the research design, reviewing of publications of the article's theme, analysis of the obtained data, article writing;
 S.V. Lapin, S.A. Reva, S.V. Orlov: developing the research design, analysis of the obtained data, scientific editing of the article;
 S.B. Petrov: research idea and design, scientific editing of the article, research leadership.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.В. Арнаутков / A.V. Arnautov: <https://orcid.org/0000-0003-3550-0067>
А.А. Мусаелян / A.A. Musaelyan: <https://orcid.org/0000-0002-7570-2256>
В.Д. Назаров / V.D. Nazarov: <https://orcid.org/0000-0002-9354-8790>
С.В. Лапин / S.V. Lapin: <https://orcid.org/0000-0002-4998-3699>
С.А. Рева / S.A. Reva: <https://orcid.org/0000-0001-5183-5153>
С.Б. Петров / S.B. Petrov: <https://orcid.org/0000-0003-3460-3427>
С.В. Орлов / S.V. Orlov: <https://orcid.org/0000-0001-6080-8042>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Financing. The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России.
Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.
Compliance with patient rights and principles of bioethics
The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Ministry of Health of Russia.
All patients gave written informed consent to participate in the study.