

На правах рукописи

БЕРКУТ МАРИЯ ВЛАДИМИРОВНА

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

14.01.12 – онкология

14.03.02 – патологическая анатомия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертация на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук

Санкт-Петербург -2020г.

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный
руководитель:**

кандидат медицинских наук
Носов Александр Константинович
кандидат медицинских наук
Артемьева Анна Сергеевна

**Официальные
оппоненты:**

Нюшко Кирилл Михайлович кандидат
медицинских наук, «Московский научно-
исследовательский онкологический институт
имени П. А. Герцена» филиал федерального
государственного бюджетного учреждения
«Национальный исследовательский медицинский
центр радиологии» Министерства здраво-
охранения Российской Федерации, отделение
онкоурологии, ведущий научный сотрудник;

Андреева Юлия Юрьевна доктор медицинских
наук, федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение дополнительного
профессионального образования «Российская
медицинская академия непрерывного
профессионального образования» Министерства
здравоохранения Российской Федерации, кафедра
патологической анатомии, профессор.

**Ведущая
организация:**

федеральное государственное бюджетное
учреждение «Национальный исследовательский
медицинский центр онкологии имени Н.Н.
Блохина» Министерства здравоохранения
Российской Федерации.

Защита состоится «__» _____ 2020 г. в ____ ч на заседании
Диссертационного совета Д 208.052.01 при ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.
Петрова» Минздрава России (197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул.
Ленинградская, д. 68)

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке ФГБУ
«НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России по адресу 197758,
Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68, на сайте <http://www.nioncologii.ru> и на официальном сайте ВАК

Автореферат разослан «__» _____ 2020 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Филатова Лариса Валентиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Рак предстательной железы (РПЖ) является наиболее распространенным злокачественным новообразованием у мужчин после опухолей дыхательных путей. По данным Популяционного ракового регистра в РФ за 2018 год было зарегистрировано 42518 новых случаев РПЖ, из которых на долю локализованного процесса приходится 52,5%, местно-распространенного и метастатического – 29,0% и 16,5% соответственно (Каприн А.Д., 2019). Высокие показатели местно-распространенного РПЖ представляют собой интерес для изучения, поскольку демонстрируют сдвиг соотношения впервые выявленных случаев в сторону более агрессивных опухолей, несмотря на все изменения рекомендаций относительно скрининга РПЖ в 2012 году (Каприн А.Д., 2016; Cooperberg M.R., 2011). Даже при меньшей частоте биопсий и на 28% меньшей частоте выявления заболевания, процент РПЖ высокого риска (РПЖ-ВР) значимо вырос, равно как и число операций, выполненных при неблагоприятной морфологии. Однако после радикальной простатэктомии у 35% пациентов развивается биохимический рецидив в течение 10 лет, который может потребовать дополнительного лечения, и как следствие негативно сказаться на качестве жизни (Swindle P.W., 2003). При этом уровень смертности у пациентов с экстрапростатическим распространением после хирургического лечения за медиану безрецидивной выживаемости в отдельных работах достигает 17%. В большинстве современных исследований такой риск биохимической прогрессии РПЖ-ВР обусловлен отсутствием стандартного определения этой группы заболевания и большой гетерогенностью пациентов (Freedland S.J., 2005). Поэтому идея повышения резектабельности, снижения системного микрометастазирования и риска биохимической прогрессии при радикальном хирургическом лечении может быть реализована за счет применения неoadьювантной терапии. Однако анализ работ свидетельствует об изолированном использовании факторов предоперационного прогноза, что не позволяет выделять пациентов с высоким риском развития рецидива, нуждающихся в неoadьювантной терапии. Именно поэтому требуется дополнительное изучение патоморфологических и молекулярных механизмов прогнозирования риска рецидива.

Степень разработанности темы исследования

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

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

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

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

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

Цель исследования

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

Задачи исследования

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

Научная новизна

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

Охарактеризован иммуногистохимический профиль опухоли до и после неoadъювантной химиогормональной терапии.

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

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

Теоретическая и практическая значимость

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

Методология и методы исследования

Материалом исследования послужат данные первичной медицинской документации, сформированные в процессе обследования, лечения и динамического наблюдения больных раком предстательной железы с 2008 года по 2017 год. Методологическая часть исследования включала в себя изучение литературных данных по проблеме лекарственного лечения рака предстательной железы высокого риска перед хирургическим этапом лечения. На основании собранных данных был составлен план диссертационного исследования, выдвинуты гипотезы. В ходе проведения исследования были систематизированы результаты, обоснованы и верифицированы выводы и практические рекомендации. Из общенаучных экспериментальных методов в работе был использован метод

сравнения характеристических параметров пациентов РПЖ-ВР, получивших только хирургический этап лечения (радикальная простатэктомия), с комбинированным вариантом лечения (неoadъювантная химиогормональная терапия перед радикальной простатэктомией). Специальным методом научного познания стал корреляционный анализ Спирмена, с целью поиска биомаркеров со статистически значимой связью с показателями выживаемости. Результаты данного анализа позволили построить уравнения вероятности значения экспрессии с-МҮС и микроРНК-106b на продолжительности общей, безрецидивной выживаемости на фоне комбинированного лечения.

Положения, выносимые на защиту

- 1) Проведение неoadъювантной химиогормональной терапии позволяет провести радикальное хирургическое лечение локализованного и местно-распространённого рака предстательной железы высокого риска с вовлечением регионарных лимфатических узлов, и статистически значимо снижает частоту встречаемости позитивного хирургического края.
- 2) Характер морфологических проявлений лечебного патоморфоза, а также уровень экспрессии белка с-МҮС позволяют прогнозировать продолжительность безрецидивной выживаемости у пациентов высокого риска прогрессирования.
- 3) Уровень относительной экспрессии микроРНК-106b в операционном материале после неoadъювантной химиогормональной терапии способен предсказывать общую выживаемость.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных выводов обусловлена соответствием используемых методов к поставленным задачам, воспроизводимостью результатов и применением методов статистического анализа данных. По теме диссертации опубликовано 6 научных печатных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

Результаты доложены на международных конференциях: 516-е заседание «Петербургского онкологического научного общества», научно-практический семинар «Эволюция лекарственной терапии злокачественных опухолей: от гормонотерапии до

онкоиммунологии» (Санкт-Петербург, Россия 15.12.2017г-16.12.2017г), ESMO Preceptorship on Prostate Cancer (Лугано, Швейцария 04.10.2018г-05.10.2018г), Baltic and Eurasia Masterclass in Clinical Oncology (Рига, Литва 12.07.2018г-15.07.2018г), 29th World Congress of Videourology and Advances in Clinical Urology (Москва, Россия 05.10.2018г-07.10.2018г), 10th European Multidisciplinary congress on Urological Cancers (Амстердам, Нидерланды 08.11.2018г-10.11.2018г), Форум с международным участием «Опухоли малого таза» (Калининград, Россия 25.04.2019г-26.04.2019г), Евразийский конгресс урологов (Уфа, Россия 24.05.2019-25.05.2019г), V Петербургский международный онкологический форум "Белые ночи - 2019" (Санкт-Петербург, Россия 20.06.2019г-23.06.2019г), Второй международный Форум онкологии и радиологии (Москва, Россия 23.09.2019г-27.09.2019г), 1-st Caucasus and Central Asia Meeting (Тбилиси, Грузия 04.10.2019г-05.10.2019г), VI Петербургский международный онкологический форум "Белые ночи - 2020" (Санкт-Петербург, Россия 25.06.2020г-28.06.2020г).

Внедрение результатов исследования

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

Личный вклад автора

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

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

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

Структура и объём диссертации

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

Материалы и методы

Материалом для ретроспективной части исследования послужили данные о 584 больных с диагнозом рак предстательной железы, проходивших лечение в хирургическом отделении онкоурологии ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России за период с 2008 по 2017 года (158 случаев исключены ввиду отсутствия полноты представленных данных). В контрольную группу для сравнения данных включены пациенты (n=35) с местно-распространенным раком предстательной железы высокого и крайне высокого риска рецидива заболевания, получивших лечение в объеме лапароскопической радикальной простатэктомии.

С целью оценки эффективности неoadъювантной химиогормональной терапии перед радикальной простатэктомией в основную группу вошли результаты лечения пациентов, включенных в исследование эффективности применения доцетаксела и дегареликса в качестве неoadъювантной химиогормональной терапии перед радикальной простатэктомией при раке предстательной железы (n=47). Данное исследование проходило в условиях хирургического отделения онкоурологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России в период с марта 2014 года по декабрь 2018 года. Исследование получило одобрение локального этического комитета ФГБУ «НИИ онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава РФ, протокол №1 от 13.02.2014 года, до выполнения процедур всеми пациентами было

подписано информированное согласие об участии в исследовании. Критериями включения больных РПЖ-ВР в исследование являлись:

1) для локализованного РПЖ-ВР морфологически подтвержденная аденокарцинома простаты, сумма баллов по Глисонау >7 баллов (ISUP grade 4/5) или ПСА > 20 нг/мл и клиническая стадия $\leq T2c$;

2) для местно-распространенного РПЖ-ВР подтвержденная аденокарцинома простаты с суммой баллов по Глисонау ≥ 7 баллов (ISUP grade 3-5), любой уровень ПСА нг/мл и клиническая стадия $\geq T3$ или наличие клинически позитивных регионарных лимфоузлов;

Неoadьювантная химиогормональная терапия в основной группе проводилась в объеме 6 циклов химиотерапии препаратом Доцетаксел в дозе 75 мг/м² внутривенно капельно с интервалом в 21 день; гормональная терапия препаратом Дегареликс в инициальной дозе 240 мг, разделенной на 2 введения по 120 мг с поддерживающей дозой 80 мг через 1 месяц после введения начальной дозы, 1 раз в 28 дней в течение 6 месяцев. До и после неoadьювантного лечения измерялся уровень ПСА (нг/мл), объем ПЖ по данным магнитно-резонансной томографии малого таза (см³), наличие позитивных регионарных лимфоузлов, оценивалось прогрессирование процесса по данным остеосцинтиграфии в виде появления метастатических очагов в кости скелета. Хирургический этап лечения в исследуемой группе проведен в объеме радикальной простатэктомии с двухсторонней лимфаденэктомией до бифуркации аорты/нижней брыжеечной артерии с применением малоинвазивных технологий.

Для оценки проявлений гистологического патоморфоза на фоне НХГТ использована методика Murphy C. из University of Washington (г. Сиэтл, США). Патоморфологическое исследование операционного материала проводилось посредством анализа гистоархитектоники и цитологических признаков, что позволило разделить образцы на три отдельные группы по системе ABC.

В качестве иммуногистохимических маркеров были исследованы следующие показатели для изучения: p53, bcl-2, p16, ki67, андрогеновые рецепторы, c-MYC, ERG, PTEN. Данный анализ выполнен методом построения TMA матриц установка на установке TMA Grand Master (3D Histech, Венгрия).

Объектами молекулярного анализа стали 66 срезов аденокарциномы предстательной железы, заключенной в парафин (объемом опухолевой ткани не менее 75% от общего объема материала, без участков некроза и геморрагий). Размер

микродиссекции от 3 до 20 мкм, выполнена патологоанатомом. Выделение супернатанта РНК из парафиновых срезов проведено методом депарафинизации минеральным маслом. Анализ концентрации РНК выполнен на флуориметре Qubit 2.0 (Invitrogen) по рабочему протоколу № MAN0001987 (2015г). Для профилирования всех образцов использована тест система miRCURY LNA™ Universal RT (Exiqon) методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с красителем SYBR® green на амплификаторе CFX96 Real Time System (“Bio-Rad”) по рабочему протоколу Exiqon №6.2 (2016г). При расчётах использовалась полуколичественная оценка уровня относительной экспрессии микроРНК относительно среднего уровня экспрессии всех образцов ($\Delta\Delta Ct$).

Статистический анализ (тест Стьюдента, Манна-Уитни, корреляционный анализ Пирсона и Спирмена, регрессионный анализ Кокса) проведён с использованием программы «STATISTICA» (версия 10; StatSoft Inc., США), «JASP» (версия 0.11.1, Нидерланды).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общая характеристика пациентов. Формирование группы контроля

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

Возраст больных колебался от 41 до 78 лет, и в среднем в изучаемой когорте пациентов составил $62,94 \pm 6,39$ года. Уровень общего ПСА колебался от 2,88 до 192 нг/мл и, в среднем, составил $21,68 \pm 18,64$ нг/мл. Средний объем предстательной железы до хирургического лечения по данным МРТ малого таза составил $54,09 \pm 23,57$ см³ (от 17,5 см³ до 238 см³).

При оценке степени распространенности онкологического процесса выявлены следующие особенности: клинически локализованный РПЖ установлен у 298 пациентов (70,0%), местнораспространенные формы у 128 пациентов (30,0%), из которых вовлечение регионарных лимфоузлов до операции отмечалось в 6,8% случаев (29 пациентов).

При оценке показателей выживаемости в зависимости от распространенности онкологического процесса по результатам послеоперационного стадирования выявлено: медиана безрецидивной выживаемости для локализованного процесса ($\leq pT2c$) составила $46,94 \pm 27,48$ месяцев (ДИ 95%: 25,32-30,02), в случае местно-распространенного процесса стадии $pT3a-3b$ $26,77 \pm 21,38$ месяцев (ДИ 95%: 18,62-25,11), а в случае вовлечения регионарных лимфатических узлов $pT_{1-4}N_1$ резко снижалась до $20,71 \pm 15,44$ месяцев (ДИ 95%: 15,39-26,04).

С учетом выявленных ярких различий между распространенностью РПЖ и показателями безрецидивной выживаемости, демонстрирующие неудовлетворительные результаты лечения для категории пациентов группы высокого и очень высокого риска – с целью оценки эффективности НХГТ перед РПЭ была сформирована таргетная когорта пациентов (контрольная группа для сравнения–РПЭ) из числа 426 пролеченных больных. В данную контрольную группу включены 35 пациентов с местно-распространенным раком предстательной железы высокого и крайне высокого риска рецидива заболевания. Стадирование проводилось согласно стандартам EAU, актуальным на момент включения в исследование. Характеристика пациентов представлена в таблицах 1,2.

Характеристика больных исследуемой группы перед началом хирургического лечения

В исследуемую группу (НХГТ/РПЭ) включено 47 пациентов, неoadъювантное лечение начато 40 (85,1%) пациентам, которые соответствовали критериям включения, исключения и получили от 3 до 6 циклов НХГТ. Полный объем неoadъювантного лечения из 40 пациентов проведен только 35 (87,5%). Причины не завершения курса в полном объеме были следующие: прогрессирование ($n=2$, рост ПСА после предшествующего выраженного снижения), смерть от бытовой причины ($n=1$), сопутствующая патология ($n=2$). Средний возраст пациентов составил $62,88 \pm 7,37$ лет.

Из 40 пациентов, получавших НХГТ, у всех отмечено снижение тестостерона ниже кастрационного уровня, уровня ПСА в 2 раза и более от исходного значения. Однако у двух пациентов после 4 цикла отмечен повторный рост ПСА и при дообследовании выявлена клиническая прогрессия заболевания. Уровень ПСА менее 1 нг/мл не достигнут у 7 (17,5%) больных. При этом средний показатель ПСА до начала лечения составлял $31,83 \pm 28,08$ (8,3-156,0) нг/мл, после НХГТ –

0,82±1,0 (0,004-4,3) нг/мл, со средним уровнем снижения 95,19%. Уменьшение объема простаты отмечено во всех случаях: до ХГТ средний объем железы в исследуемой группе составлял 45,91±34,56 см³, после лекарственного лечения объем уменьшился на 17,8% и составил 37,77±29,06 см³ (p=0,017).

Оценка локальной распространенности опухоли проведена всем пациентам после курса неoadьювантной терапии (n=36). При сравнении местной распространенности до и после НХГТ, снижение стадии отмечено у 16 пациентов (40,0%), за счет регресса местнораспространенного процесса (Т3b/3a) до локализованного (Т2). Из 10 пациентов с клинически увеличенными до начала лечения тазовыми лимфоузлами (cN1) уменьшение их размеров до нормальных показателей (≤ 8 мм) после НХГТ отмечено у 7 (70,0%) больных.

Полный объем лечения НХГТ с последующей радикальной простатэктомией проведен 35 больным, что составило 74,46% из всех включенных в группу и 97,2% из завершивших неoadьювантное лечение: один случай повреждения левой общей подвздошной вены на этапе ТЛАЭ (Clavien III). Комплексное лечение у этого пациента завершено в объеме ДЛТ.

Сравнительный анализ ранних и отдаленных онкологических результатов в группах

На момент включения пациентов в исследование, больные в обеих группах были сопоставимы по возрасту, уровню общего ПСА, объему предстательной железы. Однако стандартизировать пациентов по шкале ISUP и TNM было крайне затруднительно: в группе РПЭ преобладали пациенты с более низким баллом по ISUP (p=0,004) и с менее распространенным онкологическим процессом (достоверная разница между группами cT2c и стадией заболевания cT3b). Характеристики пациентов перед лечением представлены в таблице 1. Медиана наблюдения за пациентами группы РПЭ и НХГТ/РПЭ составила 30,5 (6-52) и 28,5 (6-48) месяцев, соответственно.

Общая частота хирургических осложнений в группах РПЭ и НХГТ/РПЭ составила 17,14% и 13,89%, соответственно. Длительность операции (p=0,397) и объем кровопотери в обеих группах не различались (p=0,449). Выполнение гемотрансфузии в периоперационном периоде потребовалось одному пациенту в каждой группе.

Позитивный хирургический край был выявлен в 40,0% (n=14, группа РПЭ) и 25,0% (n=9, группа НХГТ/РПЭ) ($\chi^2=4,1$ df=1 p=0,043).

Таблица 1. Характеристика пациентов до начала лечения

Показатель	Значение		P-value
	Группа РПЭ (n = 35)	Группа ХГТ/РПЭ (n = 36)	
Возраст (лет)	63,77±7,23	62,88±7,37	0,91
Объём простаты 1 (мл)	51,74±19,01	45,91±34,56	0,31
Объём простаты2 (мл)		37,77±29,06	0,022
ПСА при постановке диагноза, нг/мл	23,61±15,24	31,83±28,08	0,84
ПСА на момент операции, нг/мл		0,82±1,0	<0,005
Гистологическая оценка биоптатов по шкале ISUP			
ISUP1	12	4	0,004
ISUP2	10	9	
ISUP3	8	8	
ISUP4	4	10	
ISUP5	1	5	
Клиническая стадия (TNM)			
≤cT2b	8	2	0,21
cT2c	14	2	0,012
cT3a	7	11	0,414
≥cT3b	6	21	0,005
cN1	6	10	0,11

РПЭ – радикальная простатэктомия; ХГТ – химиогормональная терапия; ПСА – простатспецифический антиген; ISUP – international society of uropathologists. IQR - interquartile range; SD - standard deviation.

Таблица 2. Характеристики пациентов после хирургического этапа лечения.

Показатель	Значение		P-value
	Группа РПЭ (n = 35)	Группа ХГТ/РПЭ (n = 36)	
Гистологическая оценка операционного материала по шкале ISUP			
ISUP1	1	0*	0,35
ISUP2	14	8	
ISUP3	13	12	
ISUP4	4	4	
ISUP5	3	8	
Патоморфологическая стадия (TNM)			
pT0	0	0	NA
≤pT2b	0	2	0,69
pT2c	4	12	0,11
pT3a	12	2	0,04
≥pT3b	19	19**	0,93
pN1	13	16	0,60

*-3 случая затрудненной интерпретации гистологической градации после проведенного лечения; **1 случай- не полного объема операции (только ТЛАЭ); РПЭ – радикальная простатэктомия; ХГТ – химиогормональная терапия; ISUP – international society of uro pathologists.

В обеих группах при анализе операционного материала не выявлено полного патоморфологического регресса опухоли (стадия pT0), однако во второй группе отмечены 3 случая (8,3%) затруднения оценки степени дифференцировки операционного материала. В целом

достоверных отличий между группами по оценке операционного материала по шкале ISUP или стадированию по TNM не выявлено (таблица №2). Однако в группе неoadьювантной терапии отмечен феномен даунстейджинга (уменьшение стадии на фоне лечения) 16 случаях (40,0%): наиболее часто отмечено изменение с cT3a на pT2 - 13 случаев в группе. В контрольной группе РПЭ подобная тенденция выявлена только у шести пациентов (17,4%).

При первом определении (через 1 месяц после РПЭ) все пациенты обеих групп имели уровень ПСА $<0,2$ нг / мл. В группе НХГТ/РПЭ средняя продолжительность наблюдения составила $32,78 \pm 16,49$ (3,0–64,0) мес. За данный период у 20 (55,56 %) из 36 пациентов выявлено стойкое повышение уровня ПСА в послеоперационном периоде и диагностирован биохимический рецидив. Средняя продолжительность наблюдения до наступления рецидива составила $21,85 \pm 19,12$ месяцев, при этом медиана БРВ – $16,33 \pm 3,18$ месяцев (95 % ДИ 15,5–24,95). За этот период наблюдения умер 1 пациент от сопутствующей патологии (нарушения мозгового кровообращения по ишемическому типу) и 1 пациент выбыл из-под наблюдения.

В группе РПЭ средняя продолжительность наблюдения составила $42,69 \pm 22,34$ месяцев. За данный период у 21 (60,0 %) пациента выявлено стойкое повышение уровня ПСА в послеоперационном периоде и диагностирован биохимический рецидив. Средняя продолжительность наблюдения до наступления рецидива составила $29,43 \pm 20,27$ (0,83–76,15) месяцев, при этом медиана БРВ – $26,61 \pm 3,43$ месяцев (95 % ДИ 16,39–26,55). На момент анализа данных из 71 пациента, получившего комплексное или только хирургическое лечение, живы 63 (88,73 %) больных, в том числе 28 (80,0 %) в группе РПЭ и 35 (97,2 %) в группе НХГТ / РПЭ. В группе РПЭ 3-летняя ОВ составила 87,56 %, в группе НХГТ / РПЭ – 97,2 % (log-rank-тест $p = 0,037$), СВ – 91,4 и 97,2 % соответственно (log-rank-тест $p = 0,22$). При этом также не получено статистически достоверных различий по уровню 3-летней БРВ между группами: в группе НХГТ / РПЭ – 38,8 %, в группе РПЭ – 43,6 % (log-rank-тест $p = 0,36$), что демонстрирует потенциальные возможности комбинированного лечения для пациентов из группы НХГТ / РПЭ с исходно менее благоприятным прогнозом (рис. 1, 2).

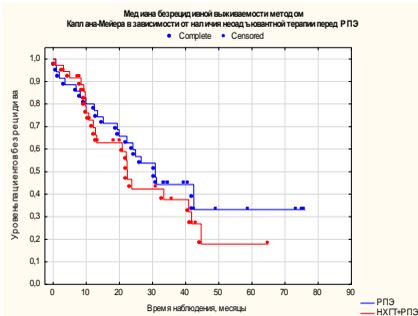


Рисунок №1. Кривая Каплана–Мейера, характеризующая уровень БРВ в обеих группах (log-rank-тест $p = 0,36$)

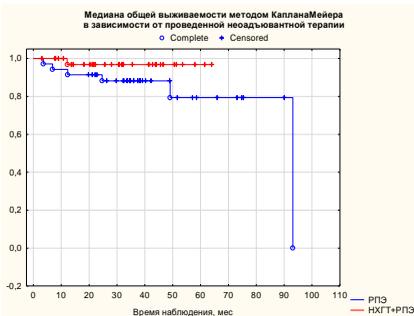


Рисунок №2. Кривая Каплана–Мейера, характеризующая уровень ОВ в обеих группах (log-rank-тест $p = 0,037$)

Результаты патоморфологического исследования операционного материала в группе комбинированного лечения

В группе НХГТ/РПЭ выраженность лечебного патоморфоза в опухоли оценена по двухуровневой системе Murphy С. (2016). Всего у 31 пациента проанализировано 480 микропрепаратов биопсийного материала и 775 стёкол операционного материала (в связи с отсутствием операционного материала на момент иммуногистохимического исследования оценка у 5 пациентов не производилась).

Гистологическая оценка образцов опухоли после проведенного комбинированного лечения показала, что архитектурные паттерны в остаточной опухоли РПЖ представлены преимущественно интактными железами или отдельными клеточными кластерами диффузно во всем объеме препарата в 27,8% (10 из 31) случаев и в половине случаев в виде отдельных очагов (18 из 31). В большинстве случаев (42,0%) отдельно лежащие опухолевые клетки не выявлены. Криброзный компонент в различной степени отмечен в 64% случаев, а интрадуктальная карцинома только в 22,2% случаев изученного материала (рис.3).

Дальнейшая стратификация данных морфологического анализа по системе ABC показала, что в зависимости от степени проявления признаков лечебного патоморфоза могут быть разделены следующим образом: 32,3% опухолей ($n=10$) были отнесены к *группе А*, 51,6% к *группе В* ($n=16$) и 16,1% - к *группе С* ($n=5$). Распределение полученных данных по степени распространенности процесса в зависимости от

выявленной группы патоморфологических изменений (рис.11) показало, что в *группе А* 9,68% изученных случаев представлено локализованным процессом, столько же случаев местно-распространенные формы и 16,1% с вовлечением регионарных лимфоузлов. В *группе В* 7 случаев (22,58%) представлено образцами с локализованным процессом, местно-распространенные формы РПЖ выявлены у 4 пациентов (12,9%), распространение процесса на тазовые лимфатические узлы - у 5 (16,13%) пациентов. К *группе С* не отнесено ни одного случая локализованного рака простаты и по 2 случая (12,9%) местно-распространенной формы высокого и очень высокого риска.

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

Группа В осталась без изменений, а *группы А* и *С* объединены между собой с учетом общего негативного влияния архитектурного и стромального компонентов на выживаемость. Таким образом, в *группе В* по-прежнему осталось 16 пациентов, а в *группе А+С* вошли 14 пациентов, при этом был выравнен дисбаланс по патоморфологическим стадиям. При повторном сравнении БРВ между новыми группами Log-rank тест выявил достоверную разницу между временем до наступления рецидива заболевания: в *группе А+С* $12,79 \pm 9,23$ месяца, *группе В* $23,23 \pm 12,61$ месяца, что превышает общую медиану БРВ для всей группы НХГТ на 10,44 месяцев (рис.4).

Сравнительный иммуногистохимический анализ ТМА-блоков биопсийного и операционного материала

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

регионарных лимфоузлов.

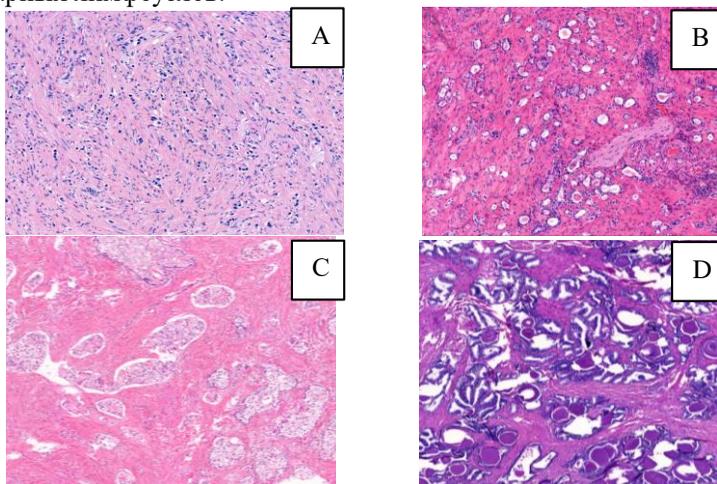


Рисунок №3—Гистоархитектурные проявления лечебного патоморфоза используемые в системе ABC.

A - Изолированные опухолевые клетки, кластеры, цепочки клеток паттерн 5 по ISUP, группа A. B – Одиночные опухолевые железы, паттерн 3 по ISUP, группа B. C - Интрадуктальная карцинома (a), криброзный компонент (b). Паттерн 4 по ISUP, группа C. D - Стрелкой указаны участки застывшего секрета желез. Окраска гематоксилин/эозин, x200.

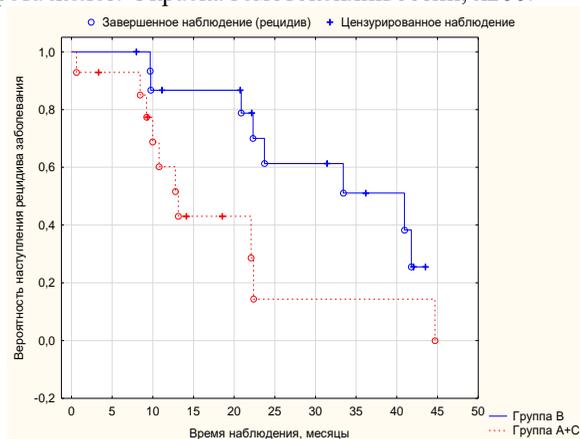


Рисунок №4– Показатели безрецидивной выживаемости в зависимости от степени выраженности изменений гистоархитектоники аденокарциномы (Log rank test $p=0,0213$)

При окраске антителами к белку p53 выявлено 6 (18,75%) случаев мутантного фенотипа до НХГТ и только 2 случая (6,4%) мутантного типа окрашивания после терапии (рис. 5). При этом до терапии 4 случая с наличием окрашивания p53, характерным для мутантного фенотипа, соответствовали местно-распространенному процессу РПЖ, а в 2х случаях выявлено вовлечение регионарных лимфоузлов (урT₁₋₄N₁). Тем не менее, в 51,6% (n=16) случаев вне зависимости от статуса p53 наблюдалось уменьшение pT стадии после терапии. Оба случая мутантного типа экспрессии белка p53 соответствовали местно-распространенной форме рака предстательной железы крайне низкой степени дифференцировки (ISUP5). Медианой БРВ у этих пациентов составила 15,25±9,63месяцев.

При окраске биопсийного материала на Ki-67 только у двух пациентов (6,4%) до операции выявлена низкая доля клеток экспрессирующих белок Ki-67, в остальных случаях средний пролиферативный индекс составил $Δ9,3±6,78$. После проведенного курса комбинированного лечения у 93,54% пациентов (у 16,7% из них диагностирована стадия урT₁₋₄N₁) отмечено статистически достоверное снижение индекса пролиферативной активности до $Δ2,83±2,16$ (ДИ95%: 1,96-11,03, p=0,009) в рамках исследуемых фрагментов и только в двух случаях незначительное увеличение индекса.

ИГХ-исследование с онкопротеином Bcl-2, являющимся блокатором апоптоза, не выявило статистически значимого изменения экспрессии белка в исследованных образцах (p>0.05). Так, на предоперационном этапе у всех пациентов выявлено полное отсутствие экспрессии Bcl-2, а после комбинированного лечения экспрессия появилась только в 5,5% (2 пациента).

В то же время, при оценке другого регулятора клеточного цикла p16 (рис. 6) выявлено достоверное снижение уровня экспрессии белка с 62,5% (20 из 32 биоптатов) до 29,0% после неoadьювантной терапии (9 из 31 биоптатов).

Экспрессия ERG в биоптатах выявлена в 65,6% случаев, однако на фоне терапии статистически значимой потери экспрессии не выявлено, и составила 52,0% (n=16, p=0,345). До НХГТ у ¼ (n=8) пациентов выявлено позитивное окрашивание на PTEN (рис. 7А), однако после комбинированного лечения отмечается полная потеря экспрессии данного фактора (рис. 7В). При однофакторном анализе показано влияние потери экспрессии данного белка на развитие метастатической формы рака предстательной железы урT₁₋₄N₁ (p=0,01 по критерию Фишера), наличие более низкой степени

дифференцировки аденокарциномы по шкале ISUP ($p=0,013$ по критерию Фишера) и распределение по критерию ABC ($p<0,05$ по критерию Фишера). Положительная иммуногистохимическая реакция с антителами к белку с-МУС после операции выявлена у 24 пациентов (77,4%), негативная реакция только у 7 пациентов (22,6%).

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

При проведении корреляционного анализа установлена наиболее сильная обратная зависимость между экспрессией белка с-МУС и продолжительностью безрецидивной выживаемости ($r=-0,4$, $p=0,045$). Показателем качества регрессионной зависимости является линейное уравнение факторного анализа $BPB = -0,148 * cMUC + 30,571$, где $R^2 = 0,1395$, $r = -0,4$. Вышеуказанные коэффициенты являются статистически значимыми при уровне $p\text{-value}=0,045$. Процент клинического прогнозирования величины БРВ по уровню экспрессии с-МУС составляет 13,95%.

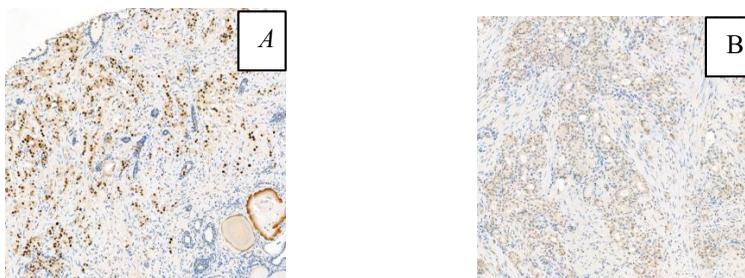


Рисунок №5—ИГХ реакция на маркер p53 после НХГТ

А - Выраженная ИГХ реакция на маркер p53 (мутантный тип); В - сниженная ИГХ реакция на маркер p53 (дикий тип) после НХГТ, x200.



Рисунок №6– ИГХ реакция на БМ p16

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

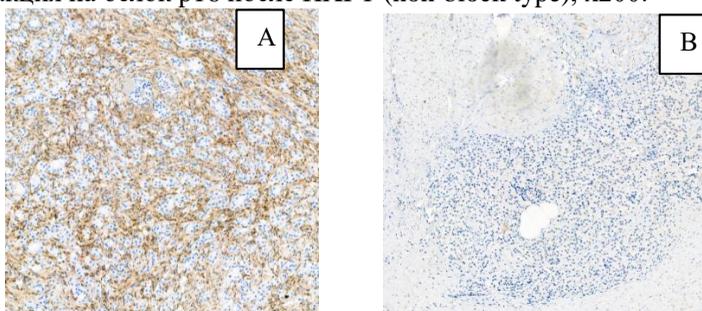


Рисунок №7– ИГХ реакция на БМ PTEN

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

Изменение профиля и экспрессии микроРНК на фоне проводимой химиотерапии

Средняя концентрация супернатанта РНК (объем пробы 200мкл) в группе НХГТ/РПЭ была достоверно ниже контрольной группы (t-Стьюдента, $p < 0,05$) и составила $\Delta C = 3,77 \pm 4,51$ нг/мл (0,05-17,1), в группе РПЭ $\Delta C = 19,66 \pm 15,69$ нг/мл (2,88-66,0). Поэтому для анализа состава выделенных РНК из группы НХГТ/РПЭ взяты образцы с концентрацией более 3,0 нг/мл ($n=12$). Достоверно установить разницу по пороговому уровню флуоресценции для обеих групп не удалось (U-тест $p=0,40$). Однако для всех пациентов группы НХГТ/РПЭ отмечена тенденция в снижении $\Delta Ct = 2,75 \pm 1,13$ цикла с наибольшими различиями в выраженности циклов ПЦР для следующих праймеров микроРНК: hsa-mir-181a-5p, hsa-mir-126-3p, hsa-mir-200c-3p, hsa-mir-106b-5p, hsa-mir221-3p, hsa-mir34. При этом относительная концентрация указанных микроРНК ($\Delta \Delta Ct$)

статистически значимо различалась (U-тест $p > 0,05$) между группами НХГТ/РПЭ и РПЭ, и только значения для микроРНК-200с не отличались в группах: $\Delta\Delta\text{Ст} = 4,75 \pm 4,00 \text{ у.е.}$ против $3,34 \pm 3,83 \text{ у.е.}$ в группе РПЭ (U-тест $p = 0,14$).

Корреляционный анализ относительной концентрации выделенных микроРНК с клиническими данными установил связь между $\Delta\Delta\text{Ст-микроРНК}126$ и частотой позитивного хирургического края (критерий Фишера $F = 10,34$ $p = 0,015$), при том что на фоне неoadьювантного лечения отмечено снижение $\Delta\Delta\text{Ст-микроРНК}126$ с $10,82 \pm 6,00 \text{ у.е.}$ в группе РПЭ до $7,37 \pm 5,46 \text{ у.е.}$ в группе НХГТ (U-тест $p = 0,012$). При анализе связи с показателями выживаемости наибольшая корреляция установлена для $\Delta\Delta\text{Ст-микроРНК-106b}$ со значениями общей выживаемости ($r = 0,44$ CI 95% $0,04-0,71$, при $p = 0,032$). В ходе регрессионного анализа сформулировано уравнение зависимости значений общей выживаемости (ОВ) от показателей $\Delta\Delta\text{Ст-микроРНК-106b}$, результаты которого способны предсказать продолжительность ОВ у 19,2% пациентов: $OV = 24 + 2,2 * MIR106B$, где $R^2 = 0,192$.

ВЫВОДЫ

1) Медиана безрецидивной выживаемости после хирургического лечения больших локализованным и местно-распространенным раком предстательной железы высокого риска составила $26,77 \pm 21,38$ месяцев (ДИ 95%: $18,62-25,11$), а в случае вовлечения регионарных лимфатических узлов снижалась до $20,71 \pm 15,44$ месяцев (ДИ 95%: $15,39-26,04$).

2) Проведение неoadьювантной химиогормональной терапии статистически значимо снижает частоту позитивного хирургического края ($\chi^2 = 4,1$ $df = 1$ $p = 0,043$) на 15%. При анализе гистологического лечебного патоморфоза в операционном материале наличие интактных, хорошо сформированных или сливающихся желез ассоциировано с увеличением медианы безрецидивной выживаемости внутри группы комбинированного лечения на 10,44 месяцев: $23,23 \pm 12,61$ месяца против $12,79 \pm 9,23$ месяца у пациентов с наличием крибриформного паттерна, интрадуктальной карциномы или преобладанием изолированных опухолевых клеток (Log rank test $p = 0,0213$).

3) При анализе экспрессии иммуногистохимических маркеров наиболее сильная обратная зависимость выявлена между экспрессией белка с-МУС и продолжительностью безрецидивной выживаемости ($r = -0,4$, $p = 0,045$). Повышенная экспрессия белка с-МУС в послеоперационном

периоде способна предсказать вероятность наступления биохимического рецидива в 13,95% случаев.

4) Профилирование микроРНК платформой miRCURY LNA™ Universal RT выявило изменение относительной экспрессии 6 типов микроРНК на фоне неoadъювантной химиогормональной терапии ($\Delta Ct = 2,75 \pm 1,13$ цикла): hsa-mir-181a-5p, hsa-mir-126-3p, hsa-mir-200c-3p, hsa-mir-106b-5p, hsa-mir221-3p.

5) Установлена статистически значимая корреляция между относительным уровнем ΔCt микроРНК126 и частотой позитивного хирургического края (критерий Фишера $F=10,34$ $p=0,015$). Уровень относительной экспрессии микроРНК-106b статистически значимо коррелирует с показателями общей выживаемости ($r=0,44$ ДИ 95% 0,04-0,71, при $p=0,032$) и способен предсказать продолжительность общей выживаемости у 19,2% пациентов ($p<0,05$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1) Проведение неoadъювантной химиогормональной терапии РПЖ-ВР расширяет возможности для выполнения радикальной простатэктомии у пациентов с вовлечением регионарных лимфатических узлов (cN1).

2) Рекомендовано использовать аналитически валидизированный Murphy C. подход в оценке лечебного патоморфоза на фоне терапии доцетакселом и дегареликсом.

3) Для предсказания продолжительности безрецидивного периода на фоне НХГТ показано определение экспрессии протеина с-МУС на послеоперационном материале.

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

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

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

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

- 1) Носов А.К. Неoadьювантная терапия у больных раком предстательной железы высокого и очень высокого риска/Носов А.К., Рева С.А., Беркут М.В., Проценко С.А., Арнаутков А.В., [и др.]// Вопросы онкологии, 2019. –Т. 65, №5. – сс.726-735.
- 2) Беркут М.В. Онкологические результаты неoadьювантной химио-гормональной терапии у больных раком предстательной железы высокого и очень высокого риска/ Беркут М.В., Артемьева А.С., Рева С.А., Толмачев С.С, Петров С.Б., [и др.]// Онкоурология, 2020. – Т.16, №1. –сс:54–63.
- 3) Беркут М.В. Особенности проявлений лечебного патоморфоза аденокарциномы предстательной железы на фоне неoadьювантной терапии/ Беркут М.В., Рева С.А., Артемьева А.С., Толмачев С.С., Петров С.Б., [и др.]// Волгоградский Научно-медицинский журнал, 2020. – №1. –сс:9–17.
- 4) Беркут М.В. Неoadьювантная терапия перед радикальной простатэктомией у пациентов из группы высокого риска рака предстательной железы/ Беркут М.В., Буевич Н.Н., Рева С.А., Петров С.Б., Носов А.К.// Вопросы урологии и андрологии, 2018. – Т.6, №4. –сс.17-25.
- 5) Беркут М.В. Оценка изменения морфологических и иммуногистохимических характеристик аденокарциномы предстательной железы при проведении неoadьювантной системной терапии. // Беркут М.В., Носов А.К., Рева С.А., Артемьева А.С., Толмачев С.С., [и др.] //Тезисы докладов XI Съезда онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии, приложение к Евразийский онкологический журнал, 2020. – Т.8, №2. –сс.500-501.
- 6) Berkut M.V. Results of the efficacy Neoadjuvant chemohormonal therapy before radical Prostatectomy for high-risk prostate cancer/ Berkut M.V., Reva S.A., Nosov A.K.// European Urology Supplements – Journal 2018; Vol.17(14); p.2818;
- 7) Reva S.A. 375-miRNA expression and neoadjuvant therapy in high risk prostate cancer/ Reva S.A., Nosov A.K., Berkut M.V., Petrov S.B.// European Urology Supplements – Journal 2019; Volume 18 (12), pp.3625–3626.
- 8) Рева С.А. Минимально инвазивная хирургия в лечении олиго-метастатического рака простаты/ Рева С.А., Носов А.К., Беркут М.В., Петров С.Б.// Материалы 5-й научно-практической конференции урологов Северо-Западного федерального округа РФ, Специальный выпуск «Урологические ведомости», 2019. –Т.9, №1. – сс.77-78.
- 9) Патент № RU 2675695 Бюл. №36 от 24.12.2018г «Способ лечения рака предстательной железы высокого и очень высокого риска».