

Ekspresi *alpha methylacyl co-a racemase (amacr)* pada adenokarsinoma prostat dan *high grade prostatic intraepithelial neoplasia (hgpin)*

Riefrini Nurlaili¹, Wresnindyatsih², Nursanti Apriyani², M.Irsan Saleh³

¹Program Studi Dokter Spesialis Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang

²Departemen Patologi Anatomi RS Umum Dr. Mohammad Hoesin Palembang

³Program Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang

nurlailiriefri@gmail.com

Abstrak

Karsinoma prostat di Indonesia berada di urutan terbanyak kesepuluh dan urutan pertama terbanyak pada laki-laki. Adenokarsinoma prostat (AP) kadang sulit didiagnosis karena adanya gambaran morfologi menyerupai lesi ganas, seperti high grade prostatic intra epithelial neoplasia (HG PIN). AMACR merupakan suatu penanda baru yang dapat membedakan AP dan HG PIN dengan sensitivitas dan spesifisitas tinggi. Penelitian ini bertujuan mengetahui ekspresi AMACR pada kedua lesi tersebut. Penelitian dilakukan disentradiagnostik laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP Dr. Moehammad Hoesin Palembang, secara retrospektif observasional dengan desain potong lintang pada sampel blok parafin dengan diagnosis AP dan lesi yang mengandung HG PIN. Sampel berjumlah 50, diambil dari arsip rekam medik periode 1 Januari 2012- 31 Mei 2015 secara consecutive sampling, dan dilakukan pulasan AMACR. Hasil dianalisis dengan SPSS 17. Didapatkan lesi prostat terjadi pada usia lebih dari 60 tahun (84%), dengan AP 86%, dan HG PIN 83%, proporsi AP berdiferensiasi buruk 34 kasus (94,4%), tidak dijumpai perbedaan bermakna derajat diferensiasi dengan ekspresi AMACR (p-value 1,000), terdapat perbedaan yang bermakna antara ekspresi AMACR pada AP dan HG PIN (p=0,001).

Kata kunci : AMACR, Adenokarsinoma prostat, HG PIN

Abstract

Alpha expression of methylacyl co-a racemase (amacr) in prostate adenocarcinoma and high grade prostatic intraepithelial neoplasia (hgpin). Prostatic adenocarcinoma (PA) is tenth largest of all cancers and the first most in male. The diagnosis of PA cases sometimes difficult because resembles malignant lesions, such as high grade prostatic intra-epithelial neoplasia (HG PIN). AMACR is a new marker that can distinguish the two lesions with high sensitivity and specificity. This study aims to determine the AMACR expression in PA and HG PIN. This research was done in Anatomical Pathology laboratory Sriwijaya University School of Medicine / Hospital Dr. Moehammad Hoesin Palembang, retrospective observational with cross sectional design on paraffin block samples with diagnosis and lesion containing HG PIN by histopathology. Samples numbered 50, were taken from the archives of the medical records of the period 1 January 2012- May 31, 2015 by consecutive sampling, and stained with AMACR. Results were analyzed by SPSS 17. prostate lesions generally occur in more than 60 years of age (84%), with 86% of PA, and HG PIN 83% of each of these lesions, the proportion of poorly differentiated PA is 34 cases (94,4%), no significant difference between the degree of differentiation with AMACR expression (p-value 1.000), there is a significant difference between AMACR expression in PA and HG PIN (p = 0.001).

Keywords: AMACR, prostate adenocarcinoma, HG PIN

1. Pendahuluan

Kanker prostat merupakan kanker terbanyak keenam di dunia dan terbanyak ketiga pada laki-laki.¹ Merupakan penyebab utama kematian di Amerika Serikat. Terdapat 240.890 kasus baru dan 33.720 penderita meninggal dunia (10% kasus kematian dari semua kanker di Amerika Serikat).^{1,2}

Di Indonesia tahun 2009, menempati urutan terbanyak ke sepuluh dari seluruh kanker dan urutan pertama terbanyak pada laki-laki.³ Data dari Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Mohammad Hoesin Palembang pada periode tahun 2010-2012 didapatkan 160 kasus baru didiagnosis kanker prostat (4,6% dari seluruh kanker).³

Jenis karsinoma prostat yang terbanyak yaitu adenokarsinoma (95%) dari seluruh keganasan prostat.^{2,4,5} Diagnosis adenokarsinoma prostat pada sebagian besar kasus dapat segera dinilai tanpa kesulitan berdasarkan kriteria histopatologi menggunakan pewarnaan hematoxilin eosin.^{4,5} Namun ada beberapa kasus tidak memungkinkan untuk mendiagnosis secara histopatologi karena adanya gambaran morfologi lesi jinak yang menyerupai lesi ganas, seperti high grade prostatic intra epithelial neoplasia (HGPIN).⁴⁻¹⁸

Kesulitan dalam mendiagnosa beberapa kasus seperti ini merupakan dilema bagi klinisi yang dapat menyebabkan keterlambatan penatalaksanaan secara tepat. Atas dasar ini, maka perlu adanya suatu pemeriksaan dengan menggunakan pulasan imunohistokimia untuk mengetahui perbedaan gambaran ekspresi pada lesi prakanker yaitu HGPIN dan lesi ganas prostat, sehingga dapat digunakan sebagai marker diagnostik.

Beberapa studi menyatakan bahwa salah satu marker imunohistokimia yang banyak diteliti dan digunakan oleh para ahli patologi dalam membedakan berbagai lesi prostat adalah *Alpha-Methylacyl Co-racemase* (AMACR).^{4-23,17-28,32-33} juga dikenal sebagai

p504s adalah enzim yang termasuk dalam metabolisme rantai cabang asam lemak..

AMACR (P504S) telah terbukti menjadi satu dari banyak biomarker yang dapat membantu membedakan sel kanker dari sel-sel jinak dengan sensitifitas dan spesifisitas untuk kanker prostat.^{14,28,29,30,38}

2. Metode

Penelitian ini merupakan penelitian analitik observasional dengan rancangan *cross sectional*, untuk melihat ekspresi AMACR pada adenokarsinoma prostat dan HGPIN menggunakan analisis observasi.

Penelitian dilakukan di Sentra Diagnostik Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang pada bulan Oktober 2015. Semua pasien dengan preparat hematoxilin-eosin disertai blok parafin dan catatan rekam medik dari kasus-kasus adenokarsinoma prostat, *prostatic intraepithelial neoplasia* yang telah didiagnosa di Sentra Diagnostik Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang, periode 1 Januari 2012 sampai 31 Mei 2015, diperlakukan sebagai populasi penelitian. Sampel ditetapkan sebesar 50 sampel berdasar perhitungan besar sampel. Sampel penelitian dipilih dengan cara *consecutive sampling*. Sampel penelitian adalah semua sediaan blok parafin dari sampel jaringan prostat berasal dari operasi *transurethral resection prostate* (TURP) atau *surgical prostatectomy*. Variabel bebas adalah AMACR. Variabel tergantung adalah lesi adenokarsinoma prostat, HGPIN.

Semua blok parafin dari hasil tinjau ulang preparat yang memenuhi kriteria penerimaan sebagai sampel penelitian dipotong ulang setebal 4µm dengan mikrotom, dilekatkan pada kaca preparat yang sudah dilapisi *poly-L-lysine* dan dilakukan pulasan imunohistokimia menggunakan antibodi AMACR. Hasil pulasan diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya *binokuler Olympus CX21* dan *BX51* menggunakan pembesaran dari 40 kali untuk

melihat distribusi sel yang terpulus positif dan pembesaran 400 kali untuk melihat proporsi dan intensitas pewarnaan pada sel yang terpulus positif dan dinilai hasil pulasan dalam 10 kali lapangan pandang besar (10LPB). Ekspresi AMACR adalah hasil ekspresi protein AMACR pada sel dinyatakan positif apabila terpulus coklat pada sitoplasma. Penilaian ekspresi AMACR berdasarkan proporsi (%) sel yang terpulus dan intensitas pulasan dibuat skor sebagai berikut^{4,36}

- 0 : negatif (tidak ada sel yang terpulus)
- +1 : 1-25% sel terpulus kecoklatan, agregat, dengan intensitas lemah
- +2 : 26-50% sel yang terpulus coklat muda, penuh dengan intensitas lemah - sedang
- +3 : >50% sel yang terpulus coklat gelap, penuh dengan intensitas kuat

Interpretasi hasil pulasan dikategorikan berdasarkan tingkat ekspresi AMACR sebagai berikut :

- ekspresi positif adalah skor +3 (positif kuat)
 - ekspresi negatif adalah skor 0, +1 dan +2 (negatif sampai positif lemah) Pembacaan preparat rediagnosis dan hasil pengecatan dilakukan oleh peneliti dan 2 orang patolog.
- Data yang diperoleh dianalisa dengan *chi-square*. Semua analisis data menggunakan alat bantu SPSS versi 17.

3. Hasil

Hasil penelitian mengenai kelompok umur lesi prostat dituangkan pada tabel di bawah ini.

Tabel 1. Distribusi karakteristik lesi prostat berdasarkan kelompok umur (n=50)

Karakteristik kelompok umur	frekuensi	persentase(%)
< 60	8	16
≥ 60	42	84
lesi adenokarsinoma prostat		
< 60	6	12
≥ 60	30	60
HGPIN		
< 60	2	4
≥ 60	12	24
Total	50	100

Pada penelitian ini hasil tabel 1 mengenai karakteristik lesi prostat didapatkan bahwa umumnya lesi prostat terjadi pada usia lebih dari 60 tahun.

Tabel 2. Distribusi karakteristik derajat diferensiasi adenokarsinoma prostat (n=36)

derajat diferensiasi	frekwensi	persentase
-baik	0	0
-sedang	2	5,6
-buruk	34	94,4
total	36	100

Tabel di atas menunjukkan bahwa proporsi adenokarsinoma prostat berdiferensiasi buruk sebanyak 34 kasus (94,4%), diferensiasi sedang 2 kasus (5,6%) dan tidak ditemukan adenokarsinoma prostat dengan diferensiasi baik.

Tabel 3. Karakteristik Ekspresi AMACR pada adenokarsinoma prostat dan HGPIN (n = 50)

lesi prostat	ekspresi AMACR			
	positif	%	negatif	%
adenokarsinoma prostat (n=36)	28	77,77	8	22,23
HGPIN (n=14)	4	28,57	10	71,43
Total	32		18	

Pada Tabel 3 menunjukkan bahwa ekspresi AMACR positif lebih banyak pada adenokarsinoma prostat (77,77%), namun pada HGPIN ditemukan 4 kasus ekspresi AMACR positif.

Hasil berikut memperlihatkan hasil penelitian ekspresi AMACR terhadap kategori diferensiasi.

Tabel 4. Korelasi derajat diferensiasi adenokarsinoma prostat dan ekspresi AMACR

derajat diferensiasi	ekspresi AMACR		total	p
	negatif	positif		
buruk	8	26	34	1.000
sedang	0	2	2	
total	8	28	36	

Signifikansi nilai $p \leq 0,05$

Tabel kategori diferensiasi menunjukkan ekspresi AMACR yang positif terbanyak pada kategori diferensiasi buruk.

Tabel berikut memperlihatkan korelasi kategori lesi dengan ekspresi AMACR.

Tabel 5. Korelasi lesi prostat dengan ekspresi AMACR

lesi prostat	ekspresi AMACR		total	p
	negatif	positif		
adenokarsinoma	8	28	36	0,001
HGPIN	10	4	14	
total	18	32	50	

Signifikansi nilai $p \leq 0,05$

Berdasarkan hasil analisa statistik *Chi-Square Tests* dengan uji *Pearson Chi-Square* menunjukkan hasil yang bermakna ($p=0,001$).

4. Pembahasan

Telah dilakukan penelitian obeservasional dengan desain potong lintang, di Sentra Diagnostik Patologi Anatomi RS Umum Pusat Dr. Mohammad Hoesin Palembang, pada 50 subyek penelitian lesi prostat (adenokarsinoma prostat dan HG PIN), periode 1 Januari 2012 sampai dengan 31 Mei 2015, yang bertujuan melihat ekspresi *α Methylacyl Co-A Racemase* (AMACR) pada lesi-lesi prostat tersebut.

4.1 Karakteristik lesi prostat berdasarkan umur

Pada penelitian ini karakteristik lesi prostat didapatkan bahwa umumnya lesi prostat terjadi pada usia lebih dari 60 tahun. Adenokarsinoma prostat lebih banyak dijumpai pada usia di atas 60 tahun (60%) demikian juga HPIN dijumpai pada 12 dari 14 kasus. Hasil ini sesuai dengan penelitian oleh Baig *et.al.* di Departemen Patologi Universitas Ziauddin Pakistan yang menyatakan bahwa adenokarsinoma prostat terbanyak pada usia di atas 65 tahun.⁶ Sejalan dengan penelitian Hameed di *Washington University Medical Center* yang menyatakan usia rata-rata penderita adenokarsinoma prostat adalah 73 tahun.¹² Bostwick dalam penelitiannya mengenai HGPIN mendapatkan peningkatan umur berkorelasi dengan kejadian

HGPIN.⁹ Hal ini sesuai pula dengan Yamadah *et.al.* dalam penelitiannya mendapatkan usia rata-rata pasien lesi prostat ≥ 71 tahun.⁴⁷

Karsinogenesis lesi prostat yang melalui multistep mulai dari inisiasi hingga ke progresi melibatkan banyak jalur alterasi molekuler yang dikombinasi dengan perubahan lingkungan mikro kemungkinan merupakan faktor penting yang menyebabkan kebanyakan lesi prostat terjadi pada usia dewasa-tua.³³

4.2 Karakteristik lesi prostat berdasarkan derajat diferensiasi

Pada penelitian ini proporsi adenokarsinoma prostat berdiferensiasi buruk sebanyak 34 kasus (94,4%), diferensiasi sedang 2 kasus (5,6%) dan tidak ditemukan adenokarsinoma prostat dengan diferensiasi baik. Hal ini sejalan dengan penelitian Susilawati yang menyatakan bahwa proporsi adenokarsinoma prostat diferensiasi buruk lebih tinggi dari adenokarsinoma prostat berdiferensiasi sedang.⁴⁵ Tidak terdapatnya kasus adenokarsinoma prostat diferensiasi baik pada penelitian ini dapat disebabkan karena kasus yang sangat jarang. Penelitian Susilawati yang dilakukan tahun 2010-2012 hanya mendapatkan 2% kasus adenokarsinoma prostat berdiferensiasi baik.⁴⁵

4.3 Karakteristik Ekspresi AMACR pada Adenokarsinoma Prostat dan HGPIN

Pada penelitian ini didapatkan bahwa ekspresi AMACR positif lebih banyak pada adenokarsinoma prostat (77,77%), namun pada HGPIN ditemukan 4 kasus ekspresi AMACR positif. Adanya hasil pada Kasus yang negatif AMACR pada adenokarsinoma prostat sebanyak 8 kasus dapat terjadi karena hasil penelitian yang sebelumnya ekspresinya sensitifitasnya berkisar antara 70% – 100%. Oleh karena itu dalam penelitian ini hasil yang didapat masih dalam batas yang sesuai dengan penelitian sebelumnya, sehingga dalam praktek penggunaan AMACR masih diperlukan marker yang lain. AMACR digunakan untuk mempertajam diagnosa.

Penelitian Ziang *et al*, Molinie *et al*, Baig *et al* menunjukkan ekspresi AMACR bisa negatif pada adenocarcinoma dan HGPIN. Kenungkinan untuk terjadinya hasil yang negatif atau positif palsu masih bisa didapatkan karena proses pulasan, pada penelitian ini sampel diperlakukan sesuai dengan standar pemeriksaan baku.

4.4 Hubungan derajat diferensiasi adenokarsinoma prostat terhadap ekspresi AMACR

Pada penelitian ini kategori diferensiasi menunjukkan ekspresi AMACR yang positif terbanyak pada kategori diferensiasi buruk. Analisa statistik dengan Fisher's Exact test tidak menunjukkan hasil yang bermakna (p -value 1,000). Jiang *et.al.*, dalam penelitiannya menyimpulkan tidak adanya hubungan yang bermakna antara tingkat diferensiasi dengan ekspresi AMACR.¹⁹ Jiang menyatakan bahwa ekspresi AMACR merupakan penanda positif yang penting pada semua derajat diferensiasi adenokarsinoma prostat.¹⁹ Yamada *et.al.* dalam penelitiannya juga mendapatkan tidak ada hubungan antara ekspresi AMACR dan skor Gleason⁴⁷ Namun pada penelitian oleh Box *et.al.* menyatakan terdapat korelasi signifikan antara ekspresi AMACR pada adenokarsinoma prostat berdiferensiasi baik sampai sedang (skor Gleason rendah < 7).⁴⁶ Murphy *et.al.* dalam penelitiannya menetapkan adanya hubungan antara ekspresi AMACR dan skor Gleason.⁴⁸

4.5 Hubungan lesi prostat dengan ekspresi AMACR

Pada penelitian ini berdasarkan hasil analisa statistik *Chi-Square Tests* dengan uji *pearson Chi-Square* menunjukkan hasil yang bermakna (p : 0,001). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang sebelumnya yang menunjukkan kemaknaan dari ekspresi AMACR pada lesi prostat.^{4-7,9- 29}

5. Kesimpulan

Dari hasil penelitian, didapatkan hasil yang bermakna ($p=0,001$) terhadap ekspresi AMACR pada adenokarsinoma prostat dan HGPIN, dimana hasil ini sesuai dengan hasil penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya

Daftar Pustaka

1. Epstein JI, Algaba F, Allbrook Jr WC, Bastacky S, Boccon-Gibod L, De Marzo AM, Egevad L *et.al.* Acinar adenocarcinoma in WHO Pathology and genetics tumours of the urinary system and male genital organs. Lyon; *IARC Press* 2004:p162-91
2. Vinay K Eds. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Saunders. 9th ed. Elsevier Saunders. 2015:p 980- 90
3. Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia Yayasan Kanker Indonesia. Kanker Di Indonesia Tahun 2009: Data Histopatologik. Jakarta: Direktorat Jenderal Pelayanan Medik Departemen Kesehatan RI; 2009.
4. Jiang N, Zhu S, Chen J, Niu Y, Zhou L. α -Methylacyl-CoA Racemase (AMACR) and Prostate-Cancer Risk : A Meta-Analysis of 4,385 Participants. *Plos one*. Oktober 2013;p6-12
5. Hoogland AM, Kweldam CF, van Leenders GJ. Prognostic Histopathological and Molecular Markers on Prostate Cancer Needle-biopsies: A Review. *Bio Med Research International* 2014;p12-20
6. Baig FA, Hamid A, Mirza T, Syed S. Ductal and Acinar Adenocarcinoma of Prostate: Morphological and Immunohistochemical Characterization. *Oman Med J* 2015;30: p162-6.
7. Velonas MV, Woo HH, Remedios CG, Assinder SJ. Current Status of Biomarker for Prostate Cancer. *Int. J Mol Sci* 2013;14:p11034-60.
8. Kalantari MR, Nazeran T, Tabrizi FV. Quick Score and H-Score Assesments of

- P504s (AMACR) Expression in Renal Cell Carcinoma (RCC) and Relation with Histologic Grade. *Iranian J Pathol* 2012; 7:p157-64.
9. Dabir PD, Ottosen P, Hoyer S, Hamilton S. Comparative analysis of three-and two-antibody cocktails to AMACR and basal cell markers for the immunohistochemical diagnosis of prostate carcinoma. *Diagn Pathol* 2012;p6
 10. Bostwick DG, Qian J. High-grade prostatic Intraepithelial Neoplasia. *Mod Pathol* 2004;17: p360-79.
 11. Molinie V, Fromont G, Sibony M, Vieillefond A, Vassiliu V, Cochand B, Herve JM *et al.* Diagnostic utility of a p63/ α -methyl-CoA-racemase (p504s) cocktail in atypical foci in the prostate. *Mod Pathol* 2004;17: p1180-90.
 12. Hameed O, Humphrey PA. Stratified epithelium in prostatic adenocarcinoma: a mimic of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Mod Pathol* 2006;19:p 899-906.
 13. Eichelberg C, Minner S, Isbarn H, Burandt E, Terracciano L, Moch H *et al.* Prognostic value of alpha-methyl CoA racemase (AMACR) expression in renal cell carcinoma. *World J Urol* 2013;31: p847-53.
 14. Srinivasan M, Parwani AV. Diagnostic utility of p63/P501S double sequential immunohistochemical staining in differentiating urothelial carcinoma from prostate carcinoma. *Diagn Pathol* 2011;6:67.
 15. Kumaresan K, Kakkar N, Verma A, Mandal AK, Singh SK, Joshi K. Diagnostic utility of α -methylacyl CoA racemase (P504S) & HMWCK in morphologically difficult prostate cancer. *Diagn Pathol* 2010;5:83.
 16. Armah HB, Parwani AV. Atypical adenomatous hyperplasia (adenosis) of the prostate: a case report with review of the literature. *Diagn Pathol* 2008;3: p1-4.
 17. Trpkov K, Barteczak J, Yilmaz A. Usefulness of cytokeratin 5/6 and AMACR Applied as double sequential immunostains for diagnostic assessment of problematic prostate specimens. *Am J Clin Pathol* 2009;132:p211-20.
 18. Jiang Z, Li C, Fischer A, Dresser K, Woda BA. Using an AMACR (P504S)/34Be12/p63 Cocktail for the Detection of Small Focal Prostate Carcinoma in Needle Biopsy Specimens. *Am J Clin Pathol* 2005; 123: p231-6.
 19. Jiang Z, WodaBA, Wu CL, Yang XJ. Discovery and Clinical Application of a Novel Prostate cancer Marker. *Am J Clin Pathol* 2004;122: p275-89.
 20. Martens MB, Keller JH. Routine Immunohistochemical Staining for High-molecular weight cytokeratin 34- β and α -Methylacyl CoA Rasemase (P504S) in Postirradiation Prostate Biopsies. *Mod Pathol* 2006;19: p287-90.
 21. Kuefer R, Varambally S, Zhou M, Lucas PC, Loeffler M, Wolter H *et al.* α -Methylacyl-CoA Rasemase: Expression Levels of this Novel Cancer Biomarker Depend on Tumor Differentiation. *Am J Pathol* 2002;161:p841-8.
 22. Esfahani M, Ataei N, Panjehpour M. Biomarkers for Evaluation of Prostate cancer Prognosis. *Asian Pac J Cancer prev* 2015;16:p2601-11.
 23. Gumulec J, Masarik M, Krizkova S, Hlavna M, Babula P, Hrabec R *et al.* Evaluation of alpha-methylacyl-CoA racemase, metallothionein and prostate specific antigen as prostate cancer prognostic markers. *Neoplasma* 2012;59:p191-6
 24. Hameed O, Humphrey PA. p63/AMACR Antibody Cocktail Restraining of Prostate Needle Biopsy Tissues After Transfer to Charged Slides. *Am J Clin Pathol* 2005;124: p708-15.
 25. Stewart J, Fleshner N, Cole H, Sweet J. Comparison of annexin II, p63 and α -methylacyl-CoA racemase immunoreactivity in prostatic tissue: a tissue microarray study. *J Clin Pathol* 2007;60:p773-80.

26. Epstein JI. Diagnosis and reporting of limited adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy. *Mod Pathol* 2004;17:p307.
27. Rubin MA, Zhou M, Dhanasekaran SM, Varambally S, Barette TR, Sanda MC, et al. α -Methylacyl Coenzyme A Racemase as a Tissue Biomarker for Prostate Cancer. *Am MedAss JAMA* 2002; Vol 287: 13
28. Arva NC, Das K. Diagnostic dilemmas of squamous differentiation in prostate carcinoma case report and review of the literature. *Diagn Pathol* 2011;6:46
29. Warrick JI, Humphrey PA. Foamy Gland Carcinoma of the Prostate in Needle Biopsy Incidence, Gleason Grade, and Comparative α -Methylacyl-CoA Racemase vs. ERG Expression. *Am J Surg Pathol* 2013;37: p1709-14.
30. Cao DL, Yao XD. Advances in biomarkers for the early diagnosis of prostate cancer. *Chines J of Cancer* 2009. 229-35
31. Lin JF, Xu J, Tian HY, Gao X, Chen QX, Gu Q *et al.* Identification of candidate prostate cancer biomarkers in prostate needle biopsy specimens using proteomic analysis. *Int J Cancer* 2007;121: p2596-605.
32. Honma I, Torigoe T, Hirohashi Y, Kitamura H, Sato E, Masumori et al. Aberrant expression and potency as a cancer immunotherapy target of alpha-methylacyl-coenzyme A racemase in prostate cancer. *J of Translational Med* 2009.7: p1-11
33. Luo J, Zha S, Gage WR, Dunn TA, Hicks JL, Bennet CJ, et al. α -Methylacyl-CoA Racemase: A New Molecular Marker for Prostate Cancer. *Am.Ass. for Cancer Research* April 2015; 62:p 2220-6.
34. Sadler TW. Langman's Medical,Embryology 13th ed. Walter Kluwer 2015;p 259
35. Popkov VM, Maslyakova, Voronina ES.Immunohistochemical characteristics in diagnostics of prostate diseases. *Russ Open Med J* 2013;2;p1- 8
36. Farinola M A, Epstein J I. Utility of Immunohistochemistry for α -Methylacyl-CoA Racemase in Distinguishing Atrophy Prostate Cancer From Benign Atrophy. *Human Pathology*, 2004 Volume 35;Issue 15: p1272-8
37. Ozgur T, Atik E, Hakverdi S, Yaldiz M. The expressions of AMACR and iNOS in prostate adenocarcinomas. *Pak J Med Sci* 2013;29: p610-13
38. Evan AJ. α -Methylacyl CoA racemase (P504S): overview and potential uses in diagnostic pathology as applied to prostate needle biopsies. *J Clin Pathol* 2003;56: p892-7.
39. Madu CO, Yi Lu. Novel diagnostic biomarkers for prostate cancer. *J Cancer* 2010;1: p150-77.
40. Epstein J I, Cubilla A L, Humphrey P A. Tumors of the prostate gland seminal vesicles,penis and scrotum. Washington D C; *ARP Press and AFIP*:2011
41. Eroschenko VP. diFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations. 11th ed.Lippincott Williams & Wilkins.2008:p445
42. Ramon J, Denis LJ.Eds Prostate Cancer, Springer 2007
43. Warner J N et al. Primary Signet Ring Cell Carcinoma of the Prostate Review. *Mayo Clin Proc.* 2010;85(12):p1130-36
44. Mimeault M, Batra SK. Review Recent Advantages on Multiple Tumorigenic Cascades Involved in Prostatic Cancer Progression and Targeting Therapies. *Carcinogenesis* 2006
45. Susilawati. Hubungan Ekspresi Epidermal Growth Factor Receptor dan Skor Gleason pada Karsinoma Prostat. Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/ Rumah Sakit Dr.Mohammad Hoesin Palembang. 2014
46. Box A, Alshalalfa M,Hegazy S A, Donnell B, Bismar T A. High alpha-methylacyl-CoA racemase(AMACR) is associated with ERG expression and with adverse clinical outcome in patients with localized prostate cancer. *Tumor Biology*First online; 07 June 2016: p1-13.