

## ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЕ КРИТЕРИИ ПРИ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАЛЛЕЛЯХ ПРОГНОЗА РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

<sup>1</sup>Павлова Т.В., <sup>1</sup>Комисов А.А., <sup>1</sup>Бессмертный Д.В., <sup>1</sup>Павлов И.А.,  
<sup>1</sup>Нестеров А.В., <sup>2</sup>Белянский К.Д., <sup>2</sup>Першин Е.В.

<sup>1</sup>*«Белгородский государственный национальный исследовательский университет»,  
Белгород, e-mail: Info@bsu.edu.ru;*

<sup>2</sup>*Воронежское областное патологоанатомическое бюро, Воронеж, e-mail: vopab@mail.ru*

Проблема рака предстательной железы (РПЖ) приобрела на сегодняшний день особую актуальность вследствие неуклонного роста показателей заболеваемости и смертности. В Белгородской области с 1999 по 2010 г. заболеваемость выросла с 14,3 до 43,2 человек, приходящихся на 100 тысяч населения. У 23 больных с простатэктомией проведено комплексное морфофункциональное изучение опухоли с применением иммуногистохимии, электронной и зондовой сканирующей микроскопии. Морфологическая картина рака достаточно разнообразна. В подавляющем большинстве случаев (от 95 до 97%) РПЖ представлен аденокарциномой, происходящей из ацинарного эпителия. Реже встречаются перстневидноклеточный и мелкоклеточный РПЖ. Наблюдаются и другие формы РПЖ. Показано, что применение новых инновационных методов исследования расширяет границы для изучения патогенеза рака предстательной железы с целью дальнейшего применения в клинике.

**Ключевые слова:** рак предстательной железы, морфология

## DIFFERENTIAL CRITERIA FOR CLINICAL AND MORPHOLOGICAL PARALLELS OF PROSTATE CANCER PREDICTION

<sup>1</sup>Pavlova T.V., <sup>1</sup>Komisov A.A., <sup>1</sup>Bessmertny D.V., <sup>1</sup>Pavlov I.A., <sup>1</sup>Nesterov A.V.,  
<sup>2</sup>Belyanskiy K.D., <sup>2</sup>Pershin E.V.

<sup>1</sup>*Belgorod State University, National Research, Belgorod, e-mail: Info@bsu.edu.ru;*

<sup>2</sup>*Voronezh Regional Office for autopsy, Voronezh, e-mail: vopab@mail.ru*

The problem of prostate cancer (PCa) has become today a special urgency because of the steady growth of morbidity and mortality. In the Belgorod region from 1999 to 2010, incidence increased from 14,3 to 43,2 persons per 100 thousand population. 23 patients with prostatectomy carried out a comprehensive study of the morphofunctional tumors using immunohistochemistry, electron probe and scanning microscopy. Morphological picture of cancer is quite diverse. The vast majority (95 to 97%) of prostate cancer presented adenocarcinoma originating from the acinar epithelium. Less common perstnevnikletochny and small cell prostate cancer. Observed in other forms of prostate cancer. It is shown that the use of innovative new methods of research expands the boundaries for the study of the pathogenesis of prostate cancer with the aim of further use in the clinic.

**Keywords:** prostate cancer, morphology

Проблема рака предстательной железы (РПЖ) приобрела на сегодняшний день особую актуальность вследствие неуклонного роста показателей заболеваемости и смертности, а также в связи с трудностями ранней диагностики. По данным Международного агентства по изучению рака, злокачественными опухолями предстательной железы (ПЖ) в мире ежегодно заболевают более полумиллиона мужчин. В структуре заболеваемости злокачественными опухолями у мужчин в различных странах: США, страны Европы, Японии рак предстательной железы занимает первое место. В России за последние 10 лет произошло практически двукратное увеличение общего числа наблюдаемых больных с данной патологией как в абсолютных, так и относительных показателях.

Подъем заболеваемости приводит к росту смертности от РПЖ, которая среди прочих онкологических заболеваний у мужчин занимает второе место после рака легких и состав-

ляет 4,7% в структуре общей смертности от всех онкологических заболеваний. Высокая смертность от этой формы рака и пути ее снижения представляют исключительно важную проблему для ученых всех стран мира.

Морфологическая картина рака достаточно разнообразна. Особую роль здесь играют биопсийные методы. В подавляющем большинстве случаев (от 95 до 97%) РПЖ представлен аденокарциномой, происходящей из ацинарного эпителия. Реже встречаются перстневидноклеточный и мелкоклеточный РПЖ. Наблюдаются и другие формы РПЖ. Широкое применение приобрели иммуногистохимические методы исследования. Однако вопросы морфогенеза и диагностики РПЖ остаются еще недостаточно изученными. Особое значение при изучении морфогенеза онкозаболеваний приобретают новые, инновационные методы диагностики, которые как значительно дополняют уже имеющиеся,

так и создают основу для создания новых способов лечения.

В связи с этим целью нашего исследования явилось сопоставление морфологических данных широкого спектра при РПЖ (сканирующая электронная микроскопия и микроэлементный анализ, иммуногистохимия, зондовая микроскопия) с клиническим прогнозом.

На базе Белгородского областного онкологического диспансера с 2008 по 2010 г. проведено изучение изменения качества жизни больных РПЖ при различных методах лечения. В исследование вошло 134 больных РПЖ. У 23 с простатэктомией проведен комплексный морфофункциональный анализ опухолей предстательной железы. Всем больным перед простатэктомией выполнялась мультифокальная биопсия предстательной железы под УЗИ контролем. 18 больным биопсия бралась из 12 точек, 3 больным – из 8 точек, 2 больным из 18 точек. Таким образом, нами наиболее часто выполнялась биопсия из 12 точек. Все больные получали профилактическую антибактериальную терапию: Ципролет 500 мг два раза в день три дня. Изучение выполнено как по стандартизированной схеме, которая включала макроскопический анализ, вырезку материала, гистологическое изучение, так и с использованием растровой электронной микроскопии, включая микроэлементный анализ. Особо следует отметить применение зондовой сканирующей микроскопии.

Для гистологического исследования при световой микроскопии из операционного материала вырезались кусочки, которые маркировали и затем фиксировали в 10%-м растворе формалина, забуференном по Лилли при pH-7,4, затем заливали в парафин по обычной методике. Серийные срезы толщиной 3–5 мкм депарафинировали по стандартной схеме, затем окрашивали гематоксилином и эозином. После заливки кусочков в парафин на микротоме приготавливали срезы с последующей окраской их гематоксилином и эозином. Образцы просматривали и фотографировали в световом микроскопе «ТОРІС-Т» СЕТІ (Нидерланды).

Иммуногистохимическое исследование проведено с применением антител фирмы «Дако» (Дания). Выбраны следующие антитела: моноклональные кроличьи к человеческим АМАСR (P504S), клон 13Н4, FLEXRTU, моноклональные мышинные к человеческим Цитокератин, клон 34ВЕ12, FLEXRTU, поликлональные кроличьи к человеческим Простат-специфический антиген. FLEX RTU, моноклональные мышинные к человеческим р63 Протеин, клон 4А4, моноклональные мышинные к человеческим Кі67Антиген, клонМІВ-1, FLEXRTU.

В ходе исследования микроэлементного состава при помощи РЭМ изучаемые кусочки опускали в 37° фиксирующую смесь: 2% глутаральдегид на 0,15 М фосфатном буфере с pH 7,2–7,4. Затем пробы просматривали в растровом микроскопе FEI Quanta 200 3D (Нидерланды-Чехия). Нами было изучено распределение микроэлементов на поверхности образца, полученного путем операционной биопсии при удалении опухолевого узла.

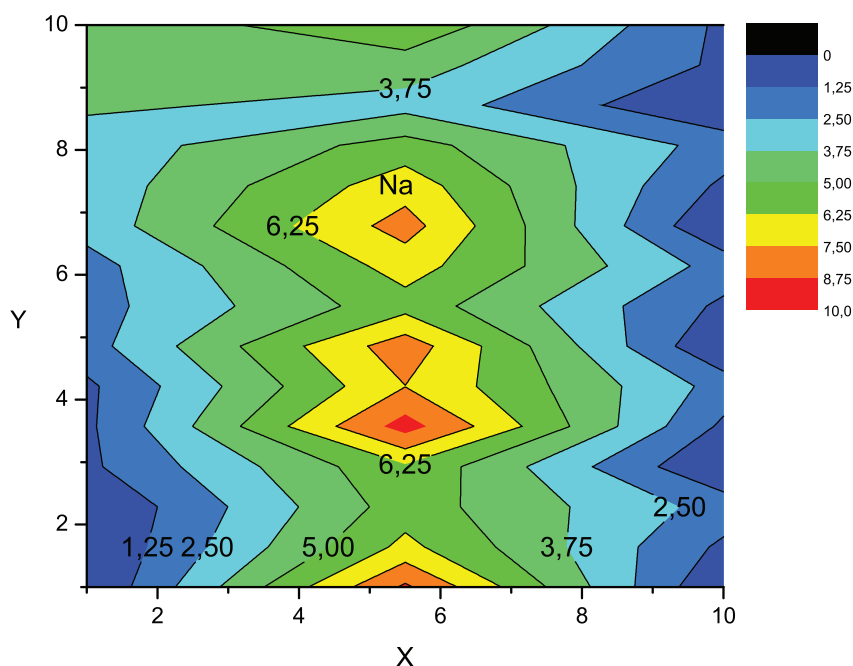
Среди основных свойств опухолевого роста особое место занимает биохимический атипизм, который проявляется в метаболических изменениях в опухолевой ткани. Все перестройки метаболизма в опухоли направлены на обеспечение ее роста и приспособления к относительному дефициту кислорода, который возникает при быстром росте неоплазмы. Имеющаяся при этом автономность роста носит относительный характер, так как опухолевая ткань постоянно получает от организма различные питательные вещества, в том числе, и кислород. С помощью использования точечного анализа нами показано, что содержание кислорода значительно отличается в различных участках ткани ПЖ при опухолевом росте. Так, в участках ПЖ с фиброзно-мышечной стромой его содержание было  $28,20 \pm 0,25\%$  по отношению к другим макро- и микроэлементам. В случае со стадией неинвазивной опухоли, представленной опухолевым клоном, представленным ограниченным числом клеток питающегося за счет диффузии питательных веществ из тканевой жидкости и не имеющих сосудов, содержание кислорода доходило до  $38,5 \pm 0,3\%$ . В стадию инвазии опухоли ПЖ со значительным клоном клеток, содержание кислорода составляло  $49,5 \pm 1,0$ .

Особое диагностическое значение имело также распределение натрия и магния в ПЖ при карциноме. Так, в участках ПЖ с фиброзно-мышечной стромой содержание магния было крайне незначительным и составляло  $0,30 \pm 0,20\%$  по отношению к другим макро- и микроэлементам. В случае со стадией неинвазивной опухоли его содержание доходило до  $13,05 \pm 1,40\%$ , а в стадию инвазии опухоли – наоборот, несколько уменьшалось и составляло  $0,65 \pm 0,10\%$ . Содержание натрия было соответственно:  $0,15 \pm 0,11\%$ , от 0 до  $0,03 \pm 0,02$ ;  $0,35 \pm 0,02\%$ . В первой фазе инвазии РПЖ на клеточной поверхности снижается концентрация ионов кальция до  $0,25 \pm 0,02$ , что приводит к повышению отрицательного заряда опухолевых клеток. Однако в опухолевых узлах его содержание достигало  $3,02 \pm 0,20\%$ .

Дополнительно было показано распределение микроэлементов вокруг опухолевой клетки. Выбраны средние величины,

независимо от инвазии опухоли. Было показано наибольшее прогностическое значение Na и Mg вокруг опухолевых клеток,

когда содержание микроэлементов равномерно уменьшалось исходя от клона опухолевых клеток (таблица, рисунок).



Распределение Na вокруг опухолевых клеток

Микроэлементный состав  
опухолевых клеток

Элемент	Соотношение, %
Na	$8,97 \pm 0,843$
Mg	$9,37 \pm 0,76$
P	$37,93 \pm 2,21$
K	$6,66 \pm 0,53$
Ca	$37,07 \pm 2,08$

Было показано наибольшее прогностическое значение Na и Mg вокруг опухолевых клеток, когда содержание микроэлементов равномерно уменьшалось исходя от клона опухолевых клеток (см. рисунок).

Биохимический атипизм может быть показан также с помощью морфологических методов – гисто- и иммуногистохимических, поэтому его еще называют гистохимическим атипизмом. Иммуногистохимические методы на сегодняшний день являются обязательной частью любых исследований, так как только они обеспечивают специфическую визуализацию локализации в тканях различных клеток, гормонов и их рецепторов, ферментов, иммуноглобулинов, компонентов клеток (сократительных и промежуточных филаментов) и даже отдельных генов, а также помогают изучать секреторные и синтетические процессы. Большое распространение метод иммуногистохимии получил и в диагностике различных патологических процессов и в урологии, в частности в диагностике РПЖ.

Иммуногистохимические методы на сегодняшний день являются обязательной частью любых исследований, так как только они обеспечивают специфическую визуализацию локализации в тканях различных клеток, гормонов и их рецепторов, ферментов, иммуноглобулинов, сократительных и промежуточных филаментов и даже отдельных генов. Большое распространение метод иммуногистохимии получил и в диагностике РПЖ. Приоритетной задачей в настоящее время является не разработка способов применения каждого маркера в отдельности, а создание набора из доступных маркеров, способного достаточно подробно дать характеристику опухоли. Маркеры РПЖ по степени значимости можно разделить на ряд основных групп: это маркеры, используемые для диагностики РПЖ, и маркеры, определяющие потенциал злокачественности РПЖ. Однако это деление является условным.

В первую группу маркеров можно отнести различные цитokerатины, определяемые в базальном эпителии (общий цитокератин, СК-5/6, высокомолекулярный цитокератин), и маркер р63. Последний является функциональным гомологом р53, но экспрессируется в ткани ПЖ исключительно базальным слоем эпителия и играет, как предполагается, важную роль в его формировании. При этом цитокератин относится к маркерам степени зрелости опухолевых клеток и служит универсальным маркером

эпителиальных тканей. При РПЖ экспрессия рб3 значительно снижается. Нами также при исследовании высокомолекулярного цитокератина (клон 34bE12) и рб3 была показана минимальная его активность или отсутствующая его экспрессия.

Простатспецифический антиген (PSA) кодируется геном, расположенным в длинном плече 19 хромосомы и синтезируется секреторным эпителием ПЖ при участии дигидростерона. PSA относится к гликопротеинам. По функции PSA является протеолитическим ферментом, относящимся к семейству калликреинов. Основным субстратом для PSA являются белки, содержащиеся в эякуляте и обуславливающие гелеобразную консистенцию последнего. PSA расщепляет эти белки и способствует разжижению спермы, что, в свою очередь, благоприятно сказывается на подвижности сперматозоидов. PSA находится в сыворотке крови в свободном и связанном с белками состоянии. PSA локализуется в цитоплазме неопухолевых glandулярных клеток, расположенных во всех зонах ПЖ. Снижение или отсутствие экспрессии PSA констатируется при низкодифференцированном раке. При некоторых аденокарциномах экспрессия PSA исчезает после проведения гормонотерапии или лучевой терапии. Нами показано, что в строме среди желез имелись разрастания округлых, овальных, угловатых ацинарных структур, образованных однорядным светлым эпителием с экспрессией PSA.

Для оценки биологической агрессивности опухоли используются иммуногистохимические реакции с антителами к Ki-67 (пролиферативная активность). Он относится ко второй группе иммуногистохимических маркеров. Ген, кодирующий Ki-67, расположен на длинном плече 10 хромосомы. Ki-67 относится к регуляторным белкам. Его появление совпадает с вступлением клетки в митоз, что позволяет использовать его в качестве универсального маркера пролиферации при оценке роста злокачественных опухолей, в том числе РПЖ. Индекс Ki-67 является независимым показателем прогноза рецидива и выживаемости у больных РПЖ. Существует прямая коррелятивная зависимость между количеством опухолевых клеток, экспрессирующих Ki-67, и стадией РПЖ. Целесообразность использования Ki-67 показана и в нашем исследовании. Это группа иммуногистохимических маркеров прогрессии опухоли. Индекс Ki-67 является независимым показателем прогноза рецидива и выживаемости у больных РПЖ. Существует прямая коррелятивная зависимость между количеством опухолевых клеток, экспрессирующих Ki-67, и стадией РПЖ.

Нами показано, что количество Ki67+ клеток в опухолях преимущественно 1–2%. Одним из маркеров канцерогенеза, наиболее диагностически значимым в последнее время в материале ПЖ является P504S. Нами показана его слабая экспрессия в карциномах.

Таким образом, вышеизложенное позволяет говорить о том, что применение новых, инновационных методов исследования расширяет границы для изучения патогенеза РПЖ с целью дальнейшего применения в клинике.

### Список литературы

1. Автандилов Г.Г. Дифференциально-диагностическое значение изменения плоидности ядер эпителиальных клеток предстательной железы в процессе канцерогенеза // Урология. – 2002. – № 3. – С. 8–11.
2. Аксель Е.М. Рак предстательной железы. – М., 2002. – С. 11–20.
3. Аляев Ю.Г., Безруков Е.А., Шестиперов П.А. Молекулярная патология рака предстательной железы: диагностическая и прогностическая значимость основных маркеров // Онкоурология. – 2006. – № 2. – С. 45–50.
4. Алфимов А.Е. Критерии прогнозирования эффективности максимальной андрогенной блокады при терапии распространенного рака предстательной железы: дис. ... канд. мед. наук. – М., 2002 – 122 с.
5. Аль-Шукри С.К. Опухоли мочеполовых органов: рук. для врачей / С.К. Аль-Шукри, В.Н. Ткачук. – СПб.: Питер, 2000. – 320 с.
6. Качество жизни больных локализованным раком простаты / Ю.Г. Аляев, Е.А. Безруков, Г.Е. Крупинов, Ю.Л. Демидко, П.А. Шестиперов // Врач. – 2007. – №5. – С. 34–36.
7. Алферова М.А. Основы прикладной статистики (использование Excel и Statistica в медицинских исследованиях): учебное пособие / М.А. Алферова, И.М. Михалевич, Р.Ю. Рожкова. – Иркутск: ИГИУВ, 2003. – Вып. 1. – 71 с.

### References

1. Avtandilov G.G. *Urologija*–Urology, 2002, no 3, pp. 8–11.
2. Aksel' E.M. *Rak predstatel'noj zhelezy* [Prostate Cancer], Moscow, Medicine, 2002, pp. 11–20.
3. Aljaev Ju.G., Bezrukov E.A., Shestiperov P.A. *Onkourologija* – Oncourology, 2006, no 2, pp. 45–50.
4. Alfimov A.E. Kriterii prognozirovaniya jeffektivnosti maksimal'noj androgennoj blokady pri terapii rasprostrannogo raka predstatel'noj zhelezy: dis. kand. med. nauk. [Criteria for predicting the effectiveness of maximum androgen blockade for treatment of advanced prostate cancer: thesis of PhD on medical sciences], Moscow, 2002, 122 p.
5. Al'-Shukri S.K., Tkachuk V.N. Opuholi mochepolovyyh organov: Ruk. dlja vrachej [Tumors of the urinary tract: a guide for the doctors], St. Petersburg, Piter, 2000, 320 p.
6. Aljaev Ju.G., Bezrukov E.A., Krupinov G.E., Demidko Ju.L., Shestiperov P.A. *Vrach* – Doctor, 2007, no 5. pp. 34–36.
7. Alferova M.A., Mihalevich I.M., Rozhkova R.Ju. *Osnovy prikladnoj statistiki (ispol'zovanie Excel i Statistica v medicinskih issledovanijah): Uchebnoe posobie* [Fundamentals of Applied Statistics (using «Excel» and «Statistics» for medical research): Textbook], Irkutsk: ISIPM, 2003, 71 p.

### Рецензенты:

Чефранова Ж.Ю., д.м.н., профессор, заведующая неврологическим отделением БОКБ Св. Иоасафа, г. Белгород;

Луценко В.Д., д.м.н., профессор, главный врач МУЗ «Городская больница №2», г. Белгород.

Работа поступила в редакцию 27.02.2012.