

М. В. Пучинская, Т. А. Летковская
**НЕЙРОЭНДОКРИННАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА
В РАКЕ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Работа посвящена изучению нейроэндокринных клеток в раке простаты. В 104 образцах опухоли, полученных при радикальной простатэктомии, изучена степень дифференцировки по системе Глисона, пролиферативная активность, оценивавшаяся по экспрессии белка Ki-67, и количество нейроэндокринных клеток на 1 см² опухоли. В 23,08% случаев нейроэндокринные клетки в раке простаты отсутствовали, и в 32,69% образцов число их составляло менее 10 на 1 см². Были выявлены достоверные корреляционные связи между числом нейроэндокринных клеток и степенью дифференцировки опухоли, а корреляция числа этих клеток с пролиферативной активностью оказалась сильной. Число нейроэндокринных клеток более 10 на 1 см² было неблагоприятным прогностическим признаком у пациентов после радикальной простатэктомии.

Ключевые слова: рак предстательной железы, пролиферативная активность, Ki-67, нейроэндокринные клетки, прогностическое значение, сумма Глисона.

T. A. Liatkovskaya, M. V. Puchinskaya

NEUROENDOCRINE DIFFERENTIATION IN PROSTATE CANCER

In this work we studied neuroendocrine cells in prostate cancer. In 104 tumour specimens, obtained during radical prostatectomy we studied differentiation by Gleason system, proliferative activity, evaluated by Ki-67 expression, and the number of neuroendocrine cells in 1 cm² of tumour tissue. In 23,08% of cases neuroendocrine cells in prostate cancer were absent, and in 32,69% of specimens their number was less than 10 per 1 cm². We found out significant correlations between the number of neuroendocrine cells and differentiation of the tumour, and the number of these cells correlated strongly with proliferative activity of prostate cancer. The number of neuroendocrine cells more than 10 per 1 cm² was a prognostic factor of poor outcome in patients after radical prostatectomy.

Key words: prostate cancer, proliferative activity, Ki-67, neuroendocrine cells, prognostic value, Gleason score.

Несмотря на многочисленные исследования рака предстательной железы (РПЖ), эта опухоль по-прежнему остается одной из самых распространенных у мужчин во всем мире. В последние годы большое внимание уделяется изучению взаимодействий раз-

личных типов клеток в пределах простаты. Особое внимание привлекают так называемые нейроэндокринные клетки (НЭК) простаты – отдельная субпопуляция клеток, имеющих дендритоподобные отростки и электронноплотные гранулы в цитоплазме. Наиболее часто в качестве маркера НЭК используется экспрессия в цитоплазме клеток хромогранина А – одного из белков гранул, кроме того в гранулах содержатся бомбезин, кальцитонин, серотонин, белок, связанный с паратиреоидным гормоном, нейрон-специфическая энолаза и другие, для ряда которых был показан стимулирующий эффект на рост опухолевых клеток *in vitro* [2, 3]. Эти клетки являются андрогеннечувствительными и андрогеннезависимыми, так как не экспрессируют рецепторы андрогенов, и, как считают многие ученые, могут способствовать переходу РПЖ в гормонорефрактерное состояние [1, 6]. Также

Таблица 1. Оценка количества нейроэндокринных клеток в раке простаты.

Балл	Характеристика	Число случаев	% случаев
0	Отсутствие	24	23,08
1	<10	34	32,69
2	11 – 50	27	25,96
3	51 – 100	14	13,46
4	>101	5	4,81

в ряде работ было показано, что НЭК могут посредством своих секреторных продуктов влиять на пролиферацию клеток простатического эпителия и этим также способствовать канцерогенезу в простате [4]. Происхождение НЭК в РПЖ точно не установлено. Существуют доказательства как возникновения их из клеток нервного гребешка, мигрировавших в уретро-простатическую область, так и доказательства возникновения их из эпителиальных клеток простаты. Кроме того, предполагают, что НЭК нормальной простаты и РПЖ по своим свойствам могут существенно различаться. Таким образом, дальнейшее изучение НЭК в простате может помочь лучше понять роль этих клеток в патогенезе РПЖ и разработать методы терапевтического воздействия на них.

Цель работы: изучить особенности НЭК в РПЖ, их связь с рядом клинико-морфологических характеристик опухоли, прогностическое значение НЭК.

Материал и методы

В исследовании был использован текущий и архивный операционный материал, полученный при радикальной простатэктомии от 104 пациентов, 73 из которых были прооперированы на базе РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова и 31 – в онкоурологическом отделении МГКОД в 1996 – 2005 годах. Средний возраст пациентов на момент операции составил $65,31 \pm 6,13$ лет, срок наблюдения 3,0 – 111,6 месяцев, уровень простат-специфического антигена (ПСА) в крови до операции составил от 0,1 до 199,6 нг/мл. Толщина гистологических срезов составила 4 мкм. Производилась окраска образцов гематоксилином и эозином для установления гистологического типа опухоли и степени ее дифференцировки по Глисона, а также иммуногистохимическое (ИГХ) окрашивание с использованием антител к белку Ki-67 как маркеру пролиферирующих клеток и хромогранину А как маркеру НЭК (оба антитела производства DAKO, Дания, источник их – мышь, разведение 1:200). В качестве визуализирующей системы использована EnVision (DAKO). Позитивным контролем в случае Ki-67 был многослойный плоский эпителий эктоцервикса, в случае НЭК – тонкая кишка, для негативного контроля в обоих случаях использовалось исключение первичного антитела. Статистическая обработка результатов производилась с помощью пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft, Inc, США), для корреляционного анализа использовался тест Спирмена, для анализа прогностической значимости параметров – метод Каплана-Майера с определением степени достоверности лог-ранговым методом.

Результаты и обсуждение

При исследовании образцов, окрашенных гематоксилином и эозином, во всех исследованных случаях гистологическим типом РПЖ была аденокарцино-

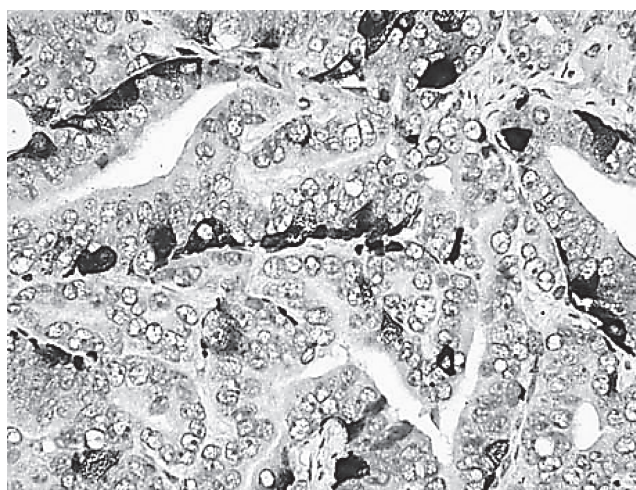


Рисунок 1 – РПЖ, папиллярный «эндометриоидный» тип строения, показатель Глисона 4. ИГХ окрашивание с антителами к хромогранину А, выраженная экспрессия хромогранина А. Хромоген диаминобензидин, контрокрашивание гематоксилином Майера. x 100.

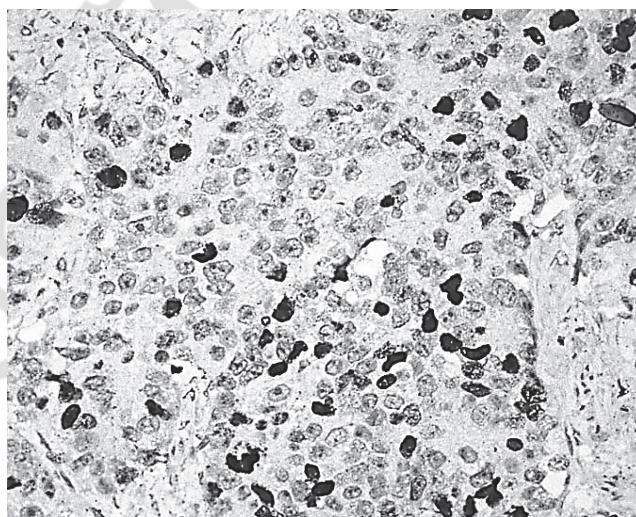


Рисунок 2 – РПЖ, солидный тип строения, показатель Глисона 5. ИГХ выявление антигена Ki-67 в виде четко окрашенных в коричневый цвет ядер с более интенсивным окрашиванием ядрышек пролиферирующих клеток. Хромоген диаминобензидин, контрокрашивание гематоксилином Майера. x 40.

ма простаты. При оценке по системе pTNM к категории pT1a был отнесен 1 образец, pT2a – 19, pT2b – 5, pT2c – 33, pT3a – 16, pT3b – 25, pT4 – 5, метастазы в регионарных лимфоузлах определялись в 22 случаях, отдаленных метастазов у пациентов на момент операции выявлено не было. Степень дифференцировки РПЖ определялась по модифицированной системе Глисона (Согласительная конференция международ-

ного обществ урологов, 2005, [8]). Сумма Глисона составила 4 балла в 15 (14,42%) случаях, 5 баллов – в 17 (16,35%), 6 и 8 баллов

Таблица 2. Коэффициенты корреляции между изучаемыми характеристиками.

	Первичный показатель Глисона	Вторичный показатель Глисона	Сумма Глисона	ИПА
ИПА	0,563	0,513	0,593	–
НЭК	0,421	0,387	0,433	0,715

– по 25 (24,04%) случаев, 7 баллов – в 14 (13,46%) случаях, 9 баллов – в 6 (5,77%) образцах и 10 баллов – в 2 (1,92%). Наиболее часто при этом встречались образцы с оценкой по Глисона 3+3 (24,04%), 2+2 (14,42% случаев), 2+3 (13,46%). Таким образом, в исследованном материале было большое число опухолей промежуточной дифференцированности, для которых определение прогноза является наиболее затруднительным.

Для определения пролиферативной активности в опухоли определялась экспрессия белка Ki-67. Данный белок является маркером клеток, находящихся в разных фазах митотического цикла и экспрессируется в ядрах клеток. Для каждого образца РПЖ вычислялся индекс пролиферативной активности (ИПА) как процентное отношение числа Ki-67-позитивных клеток в 4 – 9 случайных полях зрения ($\times 400$) к общему числу опухолевых клеток (не менее 1000). Среди исследованных образцов РПЖ наиболее часто встречались случаи с ИПА 4 – 7 (27,89%) и 7 – 10 (24,04%), реже с ИПА 16 – 19 (14,42%), 13 – 16 (13,46%), 10 – 13 (12,5%), ИПА 1 – 3 встретился в 5,77% образцов, а более 19 – в 1,92% случаев. Таким образом, видно, что пролиферативная активность РПЖ варьировала в достаточно широких пределах.

НЭК в ткани простаты при ИГХ окрашивании визуализировались как клетки с окрашенной в коричневый цвет цитоплазмой, содержащей хромогранин А, и неокрашенным ядром, на фоне не экспрессирующих хромогранин А клеток, имеющих голубую окраску цитоплазмы (докрашивание гематооксилином Майера). В некоторых случаях также визуализировались начальные отделы отростков НЭК. Для полуколичественной оценки нейроэндокринной дифференцировки (НЭД) в РПЖ определялось число НЭК на 1 см^2 опухолевой ткани. Критерии балльной оценки числа НЭК в ткани простаты и полученные при этом результаты представлены в таблице 1.

Из таблицы видно, что НЭК не определялись почти в четверти образцов (23,08%), а в остальных образцах они чаще всего были немногочисленны (менее 10 на 1 см^2 в 32,69% случаев), что свидетельствует об относительно невысокой распространенности этого типа клеток в исследованных образцах рака простаты.

Также мы провели корреляционный анализ (тест Спирмена) для установления связи количества НЭК в ткани опухоли с рядом других ее характеристик. При этом установлено, что ИПА и число НЭК статистически достоверно коррелируют с первичным и вторичным показателями Глисона, суммой Глисона, а также имеется корреляция числа НЭК и ИПА, соответствующие коэффициенты корреляции r приведены в таблице 2 (во всех случаях $p < 0,01$).

Отметим, что уровень ПСА до операции не коррелировал с исследованными параметрами ($p > 0,05$), также не было отмечено корреляции исследованных характеристик РПЖ с возрастом пациентов. Следует также отметить сильную корреляционную связь между количеством НЭК в ткани опухоли и ее ИПА. Косвенно это подтверждает данные литературы о влиянии НЭД на пролиферативную активность простати-

ческого эпителия, хотя некоторые авторы и не выявили связи НЭД и пролиферативной активности клеток простаты [5]. Конечно, эти данные требуют дальнейшего уточнения с использованием других методов исследования. Также нам кажется интересной возможность проведения одновременного ИГХ окрашивания образца на НЭК и Ki-67, что позволило бы определить пространственное взаимоотношение НЭК и пролиферирующих эпителиальных клеток.

Прогностическое значение ИПА и НЭД определялось по методу Каплана-Майера. В качестве учитываемых неблагоприятных исходов принимались наступление биохимического рецидива (40 случаев), появление отдаленных метастазов (9 случаев) и смерть пациента (2 случая). При этом было установлено, что в случае, если значение ИПА в опухоли было более 10 или количество НЭК более 10 на 1 см^2 , прогноз у пациента в отношении наступления перечисленных неблагоприятных исходов был достоверно хуже ($p < 0,01$). Отрицательное прогностическое значение НЭД было показано также и другими авторами [7].

Выводы. В настоящей работе было проведено исследование нейроэндокринной дифференцировки в раке простаты. Среди исследованных нами образцов РПЖ наиболее часто встречались случаи с количеством НЭК до 10 на 1 см^2 опухоли, и в целом выраженность НЭД была относительно невысокой. Была установлена сильная корреляция между НЭД в РПЖ и ИПА ($r = 0,715$, $p < 0,01$), что может свидетельствовать о влиянии НЭК на пролиферацию простатического эпителия. Также показано отрицательное прогностическое значение высокого ИПА опухоли и большого (более 10 на 1 см^2) числа НЭК у пациентов после радикальной простатэктомии.

Литература

1. Abrahamsson, P.-A. Neuroendocrine cells in tumour growth of the prostate / P.-A. Abrahamsson // *Endocrine-Related Cancer*. 1999. Vol. 6. P. 503 – 519.
2. Daneshmand, S. Neuroendocrine Differentiation in Prostate Cancer / S. Daneshmand, M. L. Quek, J. Pinski // *Cancer Therapy*. 2005. Vol. 3. P. 383 – 396.
3. di Sant-Agnese, P. A. Neuroendocrine Differentiation in Carcinoma of the Prostate. Diagnostic, Prognostic and Therapeutic Implications / P. A. di Sant-Agnese // *Cancer*. 1992. Vol. 70 (Suppl. 1). P. 254 – 268.
4. Hansson, J. Neuroendocrine pathogenesis in adenocarcinoma of the prostate / J. Hansson, P.-A. Abrahamsson // *Ann Oncol*. 2001. Vol. 12, Suppl. 2. P. S145 – S152.
5. *Immunohistochemical Analysis of Neuroendocrine Differentiation in Prostate Cancer* / E. Ishida [et al.] // *Pathobiology*. 2009. Vol. 76. P. 30 – 38.
6. *Neuroendocrine Differentiation in human prostate tissue: is it detectable and treatable?* / A. Sciarra [et al.] // *BJU International*. 2003. Vol. 91. P. 438 – 445.
7. Tarjan, M. Prognostic Significance of Focal Neuroendocrine Differentiation in Prostate Cancer: Cases with Autopsy-verified Cause of Death / M. Tarjan // *Indian Journal of Urology*. 2010. Vol. 26, 1. P. 41 – 45.
8. *The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostate Carcinoma* / J. I. Epstein, W. C. Allsbrook, M. B. Amin, L. L. Egevad and ISUP Grading Committee // *Am. J. Surg. Pathol*. 2005. Vol. 29. P. 1228 – 1242.

Поступила 24.02.2011 г.