

## ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ АНДРОГЕНОВ В РАКЕ ПРОСТАТЫ

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

*В работе была исследована экспрессия рецепторов андрогенов в раке простаты. Было показано, что в 59,6% исследованных образцов рака рецепторы присутствовали в ядрах более чем в 2/3 опухолевых клеток, однако интенсивность окрашивания ядер чаще была умеренной. Экспрессия рецепторов андрогенов коррелировала со степенью дифференцировки опухоли по системе Глисона, ее пролиферативной активностью, экспрессией в опухоли регуляторов апоптоза Bax и p53 и нейроэндокринной дифференцировкой. Снижение экспрессии рецепторов андрогенов явилось неблагоприятным прогностическим признаком у пациентов после радикальной простатэктомии.*

***Ключевые слова:** рак простаты, рецепторы андрогенов, сумма Глисона, прогностическое значение, радикальная простатэктомия.*

**T. A. Liatkovskaya, M. V. Puchinskaya**

### **PROGNOSTIC VALUE OF ANDROGEN RECEPTOR EXPRESSION IN PROSTATE CANCER**

*In our work we studied androgen receptor expression in prostate cancer. We found out that in 59,6% of studied specimens androgen receptors were present in nuclei of more than 2/3 of all tumour cells, but intensity of staining usually was middle. Androgen receptor expression correlated significantly with the differentiation of the tumour, its proliferative activity, expression of apoptosis regulators Bax and p53, and neuroendocrine differentiation. Reduced androgen receptor expression proved to be a negative prognostic factor in prostate cancer patients after radical prostatectomy.*

***Key words:** prostate cancer, androgen receptors, Gleason score, prognostic value, radical prostatectomy.*

Рак предстательной железы (РПЖ) является актуальной проблемой отечественного здравоохранения на современном этапе в связи с высокой частотой данного заболевания. В структуре онкологической заболеваемости у мужчин в 2009 году РПЖ занимал третье место, и за последние 10 лет заболеваемость им в республике выросла в 2,1 раза.

РПЖ представляет собой яркий пример гормонозависимой опухоли. В развитии его большая роль отводится мужским половым гормонам – андрогенам, основными из которых являются тестостерон и дигидротестостерон. Воздействие их на клетки осуществляется посредством рецепторов андрогенов (РА), которые относятся к суперсемейству рецепторов стероидных гормонов и по функции являются лиганд-зависимыми регуляторами транскрипции [2, 4, 5]. Статус РА в РПЖ во многом может модулировать действие на него андрогенов, следовательно, может быть связан с морфологическими или клиническими признаками опухоли

и влиять на прогноз заболевания у пациентов после различных видов лечения [6, 7, 8]. Соответственно, изучение экспрессии РА у пациентов с раком простаты позволит более индивидуально подойти к лечению каждого пациента на основе знания биологических свойств опухоли.

**Цель** настоящей работы – изучить особенности экспрессии РА в РПЖ, ее связь с рядом клинико-морфологических характеристик опухоли и прогностическое значение статуса РА у пациентов после радикальной простатэктомии.

#### **Материал и методы**

Образцы ткани РПЖ были получены от 104 пациентов при операции радикальной простатэктомии. На момент операции средний возраст пациентов составил 65,31±6,13 лет, срок наблюдения после операции от 3,0 до 111,6 месяцев, значения уровня простатспецифического антигена (ПСА) у пациентов до операции варьировали от 0,1 до 199,6 нг/мл. Ни одному из пациентов не проводилась гормональная терапия в до-или послеоперационном периоде. Гисто-

логические препараты (толщина среза 4 мкм) окрашивались гематоксилином и эозином, а также иммуногистохимически (ИГХ) с использованием антител к РА (BioGenex). Источником антител к РА служила мышь, разведение первичного антитела составило 1:50. В качестве позитивного контроля использовалась нормальная ткань простаты, в качестве негативного контроля – исключение первичного антитела. Перед исследованием проводилась отработка режима ИГХ окрашивания для подбора оптимального разведения первичных антител и режима демаскировки антигена. Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft.Inc, США). Для проведения корреляционного анализа использовался непараметрический тест Спирмена, для определения прогностического значения маркеров – анализ по Каплану-Майеру с проверкой достоверности лог-ранговым критерием.

### Результаты и обсуждение

В препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, определялся гистологический тип опухоли и степень ее дифференцировки по системе Глисона. Во всех изученных нами образцах определялась аденокарцинома простаты. Сумма Глисона составила 4 балла – в 15 (14,42%) образцах, 5 баллов – в 17 (16,35%) случаях, 6 и 8 баллов – по 25 (24,04%) случаев, 7 баллов – в 14 (13,46%), 9 – в 6 (5,77%) и 10 баллов – в 2 (1,92%) случаях.

При ИГХ исследовании экспрессии РА в раке простаты определялось ядерное окрашивание, цитоплазма при этом оставалась неокрашенной. Экспрессия РА оценивалась по двум критериям – доля клеток с РА-позитивными ядрами в образце и интенсивность окрашивания их ядер. Критерии полуколичественной оценки этих характеристик и полученные результаты представлены в таблице 1.

Также для каждого случая определялась сумма полученных баллов, которая составила 3 и 4 балла в 3 (2,88%) случаях, 5 баллов в 10 (9,62%) случаях, 6 баллов в 26 (25,0%), 7 баллов в 39 (37,5%) образцах и 8 баллов в 23 (22,12%) слу-

Таблица 1. Характеристика экспрессии РА в раке простаты.

Балл	Характеристика	Число случаев	Процент
<i>Доля иммунопозитивных клеток</i>			
0	0	0	0
1	0 – 1/100	0	0
2	1/100 – 1/10	5	4,8
3	1/10 – 1/3	7	6,7
4	1/3 – 2/3	30	28,9
5	2/3 – 1	62	59,6
<i>Интенсивность окрашивания</i>			
1	Слабая	11	10,6
2	Умеренная	67	64,4
3	Сильная	26	25,0

Таблица 2. Корреляционный анализ связи экспрессии Ра с рядом характеристик РПЖ.

Показатели	Доля РА-позитивных клеток	Интенсивность окрашивания	Суммарная оценка экспрессии РА
Первичный показатель Глисона	-0,371	-0,363	-0,435
Вторичный показатель Глисона	-0,295	-0,305	-0,376
Сумма Глисона	-0,359	-0,369	-0,442
ИПА	-0,608	-0,632	-0,743
НЭК	-0,837	-0,649	-0,897
Вах	0,421	0,411	0,496
p53	-0,576	-0,530	-0,660

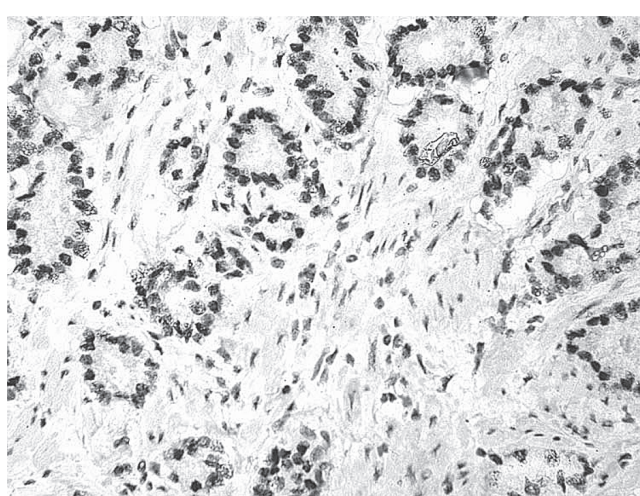


Рисунок 1 – РПЖ, ацинарный тип строения, показатель Глисона 3.

ИГХ окрашивание с антителами к рецепторам андрогенов: экспрессия рецепторов в ядрах >2/3 раковых клеток, преобладают ядра с сильной интенсивностью окрашивания.

Хромоген диаминобензидин, контрокрашивание гематоксилином Майера. Ч 40.

Как видно из приведенных данных, экспрессия РА наблюдалась во всех исследованных образцах и в 59,6% случаев более чем в 2/3 клеток, что свидетельствует о высокой частоте экспрессии этого рецептора как в нормальной простате, так и в РПЖ. Тем не менее интенсивность окрашивания позитивных ядер, косвенно отражающая число рецепторов в одной клетке, чаще (64,4%) была умеренной. Именно за счет этого компонента суммарная оценка экспрессии РА чаще оказывалась не максимально возможной (8 баллов, 22,12%), а составляла 7 баллов (37,5%).

Для выявления корреляционной связи экспрессии РА и ряда других характеристик опухоли использовался тест Спирмена. Мы определяли корреляцию доли и интенсивности окрашивания РА-позитивных клеток, а также суммарной оценки экспрессии РА со степенью дифференцировки по системе Глисона (первичный и вторичный показатели Глисона, сумма Глисона), а также определенными нами в предыдущих наших работах на этом же материале характеристиками РПЖ: индексом пролиферативной активности (ИПА), количеством нейроэндокринных клеток (НЭК) в простате и экспрессией белков-регуляторов апоптоза Вах и p53. Полученные при этом коэффициенты корреляции приведены в таблице 2 (во всех случаях  $p < 0,01$ ).

Следует отметить, что корреляционные связи между всеми параметрами были достоверными; корреляция экспрессии РА и степени дифференцировки по системе Глисона была относительно невысокой, несколько сильнее экспрес-

сия РА коррелировала с экспрессией проапоптотического белка Вах, причем только с этим показателем корреляционная связь была прямой. Достаточно сильной была обратная корреляционная связь между экспрессией РА и наличием в клет-

как РПЖ мутантного р53. Трудно говорить, существует ли непосредственная связь между механизмами изменения данных параметров или они являются лишь признаками большей биологической агрессивности опухоли. Также следует отметить сильную обратную корреляционную связь между экспрессией РА и количеством НЭК в РПЖ и его пролиферативной активностью. Она свидетельствует о высокой пролиферативной активности опухолей с низкой экспрессией РА и, следовательно, менее андрогенчувствительных, а также косвенно подтверждает существующую гипотезу о возможности трансдифференцировки в РПЖ РА-позитивных эпителиальных клеток в клетки в нейроэндокринным фенотипом в процессе прогрессии опухоли [3].

Прогностическое значение экспрессии РА определялось по методу Каплана-Майера. Учитывалось наступление у пациентов биохимического рецидива (n=40), появление отдаленных метастазов (n=9) или смерть пациента (n=2). При этом установлено, что снижение экспрессии РА является достоверным ( $p < 0,01$ ) неблагоприятным прогностическим признаком у пациентов после радикальной простатэктомии. Также мы определили прогностическую значимость сочетания сниженной экспрессии РА с другими установленными ранее неблагоприятными прогностическими признаками при РПЖ [1]. Оказалось, что сочетание ее с наличием мутантной формы р53 или снижением экспрессии Вах или ИПА > 10 прогностически достоверно ( $p < 0,01$ ) более неблагоприятно, чем наличие только одного из неблагоприятных признаков. Для сочетания снижения экспрессии РА и большого числа НЭК в опухоли подобный анализ оказался невозможным, так как лишь в 9 образцах снижение экспрессии РА не сочеталось с большим числом НЭК (в 7 случаях имелось большое число НЭК при нормальной экспрессии РА и в 2 случаях – снижение РА при малом числе НЭК; в 4 из 9 этих случаев наблюдался неблагоприятный исход, в 5 он отсутствовал), что было недостаточно для анализа.

Таким образом, в настоящей работе проведена оценка статуса РА в раке простаты, а также определена связь экспрессии РА с другими клинико-морфологическими и ИГХ признаками РПЖ. Установлена высокая экспрессия рецепторов в ткани РПЖ (более чем в 2/3 опухолевых клеток в 59,6% образцов), а также связь экспрессии РА со степенью дифференцировки опухоли (суммой Глисона), ее пролиферативной активностью и экспрессией апоптоз-регулирующих белков Вах и мутантного р53. Снижение экспрессии РА может увеличивать пролиферативную активность РПЖ.

Сильная обратная корреляционная связь между количеством НЭК в ткани опухоли и экспрессией РА ( $r = -0,897$ ,  $p < 0,01$ ) может быть свидетельством трансформации РА-позитивных андрогенчувствительных клеток в андрогенчувствительные клетки с нейроэндокринным фенотипом, что может быть дополнительным фактором прогрессирования РПЖ. Но, возможно, НЭК просто способствуют снижению экспрессии РА в эпителиальных клетках. Причина и механизмы лежащие в основе этой корреляции, требуют уточнения при дальнейших исследованиях. Также в нашей работе было установлено отрицательной прогностическое значение снижения экспрессии РА в РПЖ, а также ухудшение прогноза для пациента при сочетании его с другими неблагоприятными прогностическими факторами при раке простаты. Дальнейшее изучение роли андрогенов и их рецепторов в РПЖ позволит более точно понять роль гормонов в развитии этого серьезного заболевания и разработать новые подходы к его терапии и профилактике.

#### Литература

1. Пучинская, М. В. Прогностическое значение экспрессии белков Вах, р53 и нейроэндокринной дифференцировки при раке предстательной железы: сб. науч. работ студентов высш. учеб. заведений РБ «НИРС-2008» / М. В. Пучинская, Т. А. Летковская; редкол.: А. И. Жук (пред.) [и др.]. Минск: Изд. центр БГУ, 2009. С. 289 – 293.
2. Cullig, Z. Androgen axis in prostate cancer / Z. Cullig, G. Bartsch // Journal of Cell Biochemistry. 2006. Vol. 99. P. 373 – 381.
3. Daneshmand, S. Neuroendocrine Differentiation in Prostate Cancer / S. Daneshmand, M. L. Quek, J. Pinski // Cancer Therapy. 2005. Vol. 3. P. 383 – 396.
4. Dehm, S. M. Androgen Receptor Structural and Functional Elements: Role and Regulation in Prostate Cancer / S. M. Dehm, D. J. Tindall // Molecular Endocrinology. 2007. Vol. 21. P. 2855 – 2863.
5. Hakimi, J. M. Androgen-receptor gene structure and function in prostate cancer / J. M. Hakimi [et al.] // World Journal of Urology. 1996. Vol. 14. P. 329 – 337.
6. Heinlein, C. A. Androgen Receptor in Prostate Cancer / C. A. Heinlein, C. Chang // Endocrine Reviews. 2004. Vol. 25. P. 276 – 308.
7. Jenster, G. The role of the androgen receptor in the development and progression of prostate cancer / G. Jenster // Semin Oncol. 1999. Vol. 26. P. 407 – 421.
8. Suzuki, H. Androgen Receptor Involvement in the Progression of Prostate cancer / H. Suzuki [et al.] // Endocrine-Related Cancer. 2003. Vol. 10. P. 209 – 216.

Поступила 24.02.2011 г.