

ЛЕЧЕБНЫЙ ПАТОМОРФОЗ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ПРОСТАТЫ ЧЕРЕЗ 3 МЕСЯЦА ПОСЛЕ МАКСИМАЛЬНОЙ АНДРОГЕННОЙ БЛОКАДЫ

Маслякова Г.Н., Воронина Е.С., Бучарская А.Б., Медведева А.В.

ФГОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского Минздрава России», Саратов, e-mail: Lenchicves@mail.ru

Рак простаты (РП) занимает второе место среди злокачественных новообразований у мужчин. Критерием эффективности лечения РП является морфологическое определение степени патоморфоза опухоли, однако применение стандартного подхода не всегда отражает реальную картину развивающихся изменений. Целью данного исследования было изучение степени выраженности патоморфоза аденокарциномы простаты через 3 месяца после максимальной андрогенной блокады (МАБ). Материалом для исследования явились кусочки трансректальной биопсии простаты (до лечения) и материал трансуретральной резекции простаты (после лечения). Признаки патоморфоза РП оценивали через 3 месяца после билатеральной орхэктомии или химической кастрации. Установлено, что стандартная окраска гематоксилином эозином позволяет выявить истинный патоморфоз опухоли из-за развития выраженных дистрофических изменений клеток опухоли, и потери опухолью ацинарного строения, в результате чего увеличивается индекс Глисона. Применение иммуногистохимических методов исследования позволило установить, что в опухолевой ткани после МАБ развивается существенное снижение индекса пролиферации, экспрессии онкомаркера AMACR и маркера регулятора апоптоза Bcl-2 и андрогенов. Следует отметить, что после МАБ достоверно снижается экспрессия маркера пролиферации, онкомаркера AMACR, ингибитора апоптоза только в ткани опухоли, а андрогенов как в аденокарциноме, так и в эпителии желез простаты.

Ключевые слова: лечебный патоморфоз, максимальная андрогенная блокада, иммуногистохимия.

THERAPEUTIC PATOMORPHOSIS OF PROSTATE ADENOCARCINOMA IN 3 MONTHS AFTER THE MAXIMAL ANDROGENIC BLOCKADE

Maslyakova G.N., Voronina E.S., Bucharskaya A.B., Medvedeva A.V.

Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Saratov, e-mail: Lenchicves@mail.ru

Prostate cancer (PC) ranks the second place among malignant neoplasms in men. The morphological determination of the degree of tumor pathomorphism is the criterion for the effectiveness of PC treatment, however, the application of the standard approach does not always reflect the real picture of the developing changes. The purpose of this research was to study the severity of prostatic adenocarcinoma pathomorphosis through 3 months after maximal androgen blockade (MAB). Pieces of transrectal prostate biopsy was the material for the study (before the treatment), and the material of transurethral resection of the prostate (after treatment). Signs of pathologic PC were assessed in 3 months after bilateral orchiectomy or chemical castration. It has been established that the standard staining with hematoxylin eosin makes it possible to reveal the true pathomorphism of the tumor due to the development of pronounced dystrophic changes in tumor cells, and the tumor loss of the acinar structure, which as a result of Gleason index increases. The use of immunohistochemical methods of investigation made it possible to establish that a significant decrease in the proliferation index, the expression of the AMACR oncoprotein and the marker of the Bcl-2 apoptosis regulator and androgens developed in tumor tissue after MAB. It should be noted that after MAB the expression of the proliferation marker, AMACR marker marker, apoptosis inhibitor only in the tumor tissue, and androgens both in the adenocarcinoma and in the epithelium of the prostate gland are reliably reduced.

Keywords: therapeutic pathomorphosis, maximal androgen blockade, immunohistochemistry.

Рак простаты (РП) занимает второе место среди злокачественных новообразований у мужчин. В последние годы отмечается быстрый рост заболеваемости РП. В России в 2000 году состояло на учете у онкологов 37 442 больных РП, а в 2010 году – 107 942 пациента, прирост составил 155 % [1]. Несмотря на улучшение методов диагностики и внедрение ПСА-мониторинга, заболеваемость запущенными формами РП в России остается на высоком

уровне. В последние десятилетия эффективность лечения онкологических больных по показателям длительной выживаемости и продолжительности жизни изменяется незначительно [2]. Лечебный патоморфоз — это типовые и стойкие изменения клинических и морфологических проявлений опухоли под воздействием лечения. Неоспоримым методом оценки степени развития лечебного патоморфоза после воздействия на ткань простаты является гистологическое и иммуногистохимическое исследование [3,4]. Однако для разных методов лечения рака простаты характерны свои особенности морфологических и иммуногистохимических изменений.

Цель: изучение степени выраженности патоморфоза аденокарциномы простаты через 3 месяца после максимальной андрогенной блокады (МАБ).

Материалы и методы

В данной работе мы изучали материал, полученный от 30 пациентов с диагнозом ацинарная аденокарцинома простаты до и после лечения МАБ. До лечения исследовали материал трансректальной биопсии простаты, после — материал трансуретральной резекции простаты. Признаки патоморфоза РП оценивали через 3 месяца после билатеральной орхэктомии или химической кастрации (20 пациентов — после билатеральной орхэктомии, 10 пациентов — после 3 месяцев непрерывного приема элигарда). Материал после фиксации, стандартной проводки и парафинизации окрашивали гематоксилином и эозином. Изучали морфологические изменения не только в аденокарциноме, но и в железах простаты. Иммуногистохимические реакции проводили на парафиновых срезах, используя стрептавидин-биотиновый метод. В качестве детекционной системы применяли систему LSAB2 System, HRP (K0675) фирмы Daco, в качестве хромогена — диаминобензидин (Daco). В работе использовали следующие антитела: Monoclonal Mouse Anti-Human Androgen Receptor Clone AR 441-фирма Daco (разведение 1:50); P53 Mouse Monoclonal Antibody-фирма CELL MARQUE (разведение 1:100); Monoclonal Mouse Anti-Human Ki67 Antigen Clone MIB-1-фирма Daco (разведение 1:100); AMACR Rabbit Polyclonal Antibody RP 134 R -фирма Diagnostica BioSystems (разведение 1: 50); Monoclonal Mouse anti Bcl-2 oncoprotein-фирма Daco (разведение 1:50). Результаты реакций цитоплазматических маркеров (AMACR, Bcl2) оценивали полуколичественным способом по балльной шкале от 0 до 3 с помощью светового бинокулярного микроскопа «MicroMC100», учитывая выраженность реакции и ее локализацию: 0 — отсутствие экспрессии, 1 — слабая экспрессия, 2 — умеренная экспрессия, 3 — сильная экспрессия маркера. Результаты экспрессии с ядерными антигенами (P53, Andr) оценивали, подсчитывая количество окрашенных ядер на 100 ядер в 5 полях зрения, выражая полученные результаты в процентах. Результаты реакций оценивали по системе подсчета histochemical score (Hs). Система подсчета включает в себя интенсивность

иммуногистохимической окраски по 3-х балльной шкале и долю (%) окрашенных клеток и представляет собой сумму произведений процентов, отражающих долю клеток с различной интенсивностью окраски на балл, соответствующий интенсивности реакции. Интенсивность окраски 0 – нет окрашивания, 1 – слабое окрашивание, 2 – умеренное окрашивание, 3 – сильное окрашивание.

Формула подсчета следующая: $\text{histochemicalscore (Hs)} = \sum P(i) \times i$,

где i – интенсивность окрашивания, выраженная в баллах от 0 до 3. $P(i)$ – процент клеток, окрашенных с разной интенсивностью. Для определения индекса пролиферации экспрессии ядерного маркера Ki67 выполняли подсчет количества окрашенных ядер клеток опухоли, учитывая процентное соотношение окрашенных/неокрашенных ядер клеток на 100 учтенных клеток в 10-ти репрезентативных полях зрения при увеличении $\times 40$. Статистический анализ проводили с использованием пакета программ статистической обработки результатов SPSS 13.0 for Windows, критерия Манна – Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение

В биоптатах простаты, до лечения у всех 30 пациентов была диагностирована ацинарная форма аденокарциномы $3+4=7$ или $4+4=8$ баллов по Глисону, занимающая в среднем 40–60 % биоптата. Кроме участков аденокарциномы, у всех пациентов диагностировались признаки доброкачественной гиперплазии простаты (смешанный вариант) с простатической интраэпителиальной неоплазией (ПИН) высокой степени. Через 3–3,5 месяца после лечения МАБ при морфологическом изучении материала с помощью обзорных методов окраски, у всех пациентов (как после билатеральной орхэктомии, так и химической кастрации) в аденокарциноме развивались следующие изменения: в цитоплазме опухолевых клеток – дистрофические изменения. Ядра становились более мелкими, гиперхромными, ядрышки не визуализировались. После лечения у 70 % пациентов увеличивалась градация по Глисону, так как на некоторых участках опухоль теряла свое ацинарное строение, начинали преобладать участки солидного строения из мелких опухолевых клеток. Описанные изменения, развивающиеся в простате в первые месяцы после МАБ, отмечают и другие авторы [5]. В строме простаты у 98 % пациентов появлялась очаговая лимфоцитарная инфильтрация и полнокровие сосудов. Морфологические изменения в простате у пациентов после билатеральной орхэктомии и химической кастрации были одинаковые.

По данным литературы [6], опухолевый маркер Ki-67 является одним из наиболее востребованных в онкологии для морфологического определения пролиферативной активности опухолевых клеток, степени злокачественности новообразования и решения вопроса о виде дополнительного консервативного лечения в адьювантном и/или

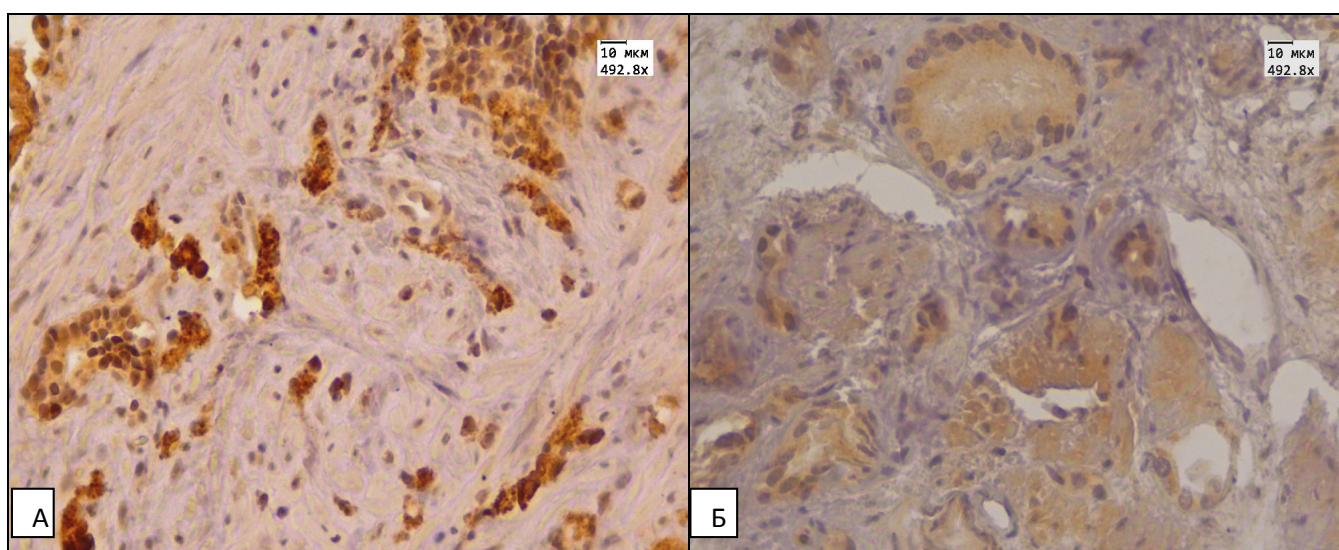
неoadъювантном режиме. Для достоверной оценки данного маркера изучали его экспрессию как до, так и после МАБ. До лечения индекс пролиферации опухолевых клеток был во всех случаях на достаточно высоком уровне и колебался от 40 % до 89 % (медиана 60 %). После МАБ (как билатеральной орхэктомии, так и химической кастрации) показатели индекса пролиферации заметно снижались и находились в пределах от 0 % до 25 % (медиана 15 %). Сравнивая показатели двух групп по критерию Манна – Уитни, мы получили существенные различия. Экспрессия данного маркера в ядрах эпителия желез простаты (доброкачественная гиперплазия простаты с ПИН высокой степени) также снижалась: до МАБ медиана – 40 %, после – 1,5 %, однако по критерию Манна – Уитни различия в данных выборах были не существенны.

Альфа-метилацил-КоА-рацемаза (AMACR) – специфичный высокоэффективный иммуногистохимический онкомаркер, позволяющий дифференцировать рак простаты от других патологических процессов, а также более точно определить стадию заболевания. Этот маркер считается позитивным в 80–100 % случаев малых очагов рака [7]. В нашем исследовании до лечения у 96 % пациентов в аденокарциноме простаты отмечали сильную (3 балла) экспрессию данного маркера в виде мелких зерен коричневого цвета в цитоплазме, у 4 % пациентов – умеренную. После лечения у 56,5 % пациентов экспрессия данного маркера была слабая (1 балл), у 37,5 % – умеренная (2 балла), и лишь у 6 % пациентов экспрессия оставалась на высоком уровне (3 балла). Сравнивая показатели двух групп по критерию Манна – Уитни, мы получили существенные различия в уровнях выборок. Экспрессия AMACR находилась в прямой корреляции с маркером пролиферации Ki-67. Экспрессия данного маркера в цитоплазме эпителия желез простаты (доброкачественная гиперплазия простаты с ПИН высокой степени) также снижалась, однако по критерию Манна – Уитни различия в выборах до и после лечения были не существенны. Стромальная экспрессия данного маркера была минимальна как до, так и после МАБ.

p53 иммуногистохимический маркер, локализующийся в ядре клетки, является супрессором опухолевого роста. Он предотвращает вступление клетки с поврежденной ДНК в фазу цикла и индуцирует апоптоз. Мутация гена p53 ведет к потере контроля пролиферации клеток, угнетению апоптоза. Утрата функции этого гена может быть связана с высоким метастатическим потенциалом опухоли и развитием андрогеннезависимого РП. Величина экспрессии мутированного p53 при РП зависит от того, состоит ли она из гормонозависимых клеток или образована гормононезависимыми клетками [7]. Однако другие авторы считают, что взаимосвязь между экспрессией маркера p53 и прогнозом при РП требует дальнейшего изучения [8]. В нашем исследовании мы учитывали экспрессию данного маркера в ядрах эпителия желез и в элементах опухоли. У пациентов до лечения

МАБ в аденокарциноме простаты экспрессия данного маркера колебалась в пределах Hs= от 200 до 70 (медиана 130). После МАБ показатели экспрессии снижались: медиана Hs=60, но интервал колебания экспрессии данного показателя составлял от Hs=15 до 250. Сравнивая показатели групп по критерию Манна – Уитни, мы получили, что различия в уровнях выборок были не существенными. В ядрах эпителия простатических желез экспрессия P53 до МАБ составляла Hs= от 70 до 0 (медиана 50), после лечения МАБ Hs= от 20 до 0 (медиана 5). По критерию Манна – Уитни различия в уровнях выборок были не существенными.

Антиген Vcl-2 экспрессируется в цитоплазме и на базальной мембране эпителия желез и является регулятором апоптоза. В андрогеннезависимом РП отмечается усиленная экспрессия гена Vcl-2, что является признаком гормоноустойчивости [9]. Ген Vcl-2 способствует опухолевой прогрессии, ингибируя апоптоз и тем самым повышая выживаемость опухолевых клеток [10]. В нашем исследовании экспрессия данного маркера в клетках аденокарциномы у пациентов до МАБ была умеренной (2 балла) и сильной (3 балла) во всех случаях. После лечения у 12 % пациентов экспрессия оставалась сильной, у 41 % пациентов отмечали умеренную экспрессию, у 35 % – слабую, и у 12 % экспрессия данного маркера в опухолевых клетках была отрицательной. Используя критерий Манна – Уитни, можно считать, что различия в уровнях выборок являются существенными. У 93 % пациентов после МАБ положительная экспрессия Vcl-2 в лимфоцитах в очагах лимфоцитарной инфильтрации в строме простаты. Экспрессия данного маркера в цитоплазме эпителия желез простаты (доброкачественная гиперплазия простаты с ПИН высокой степени) снижалась, но по критерию Манна – Уитни различия в выборах до и после лечения были не существенны.



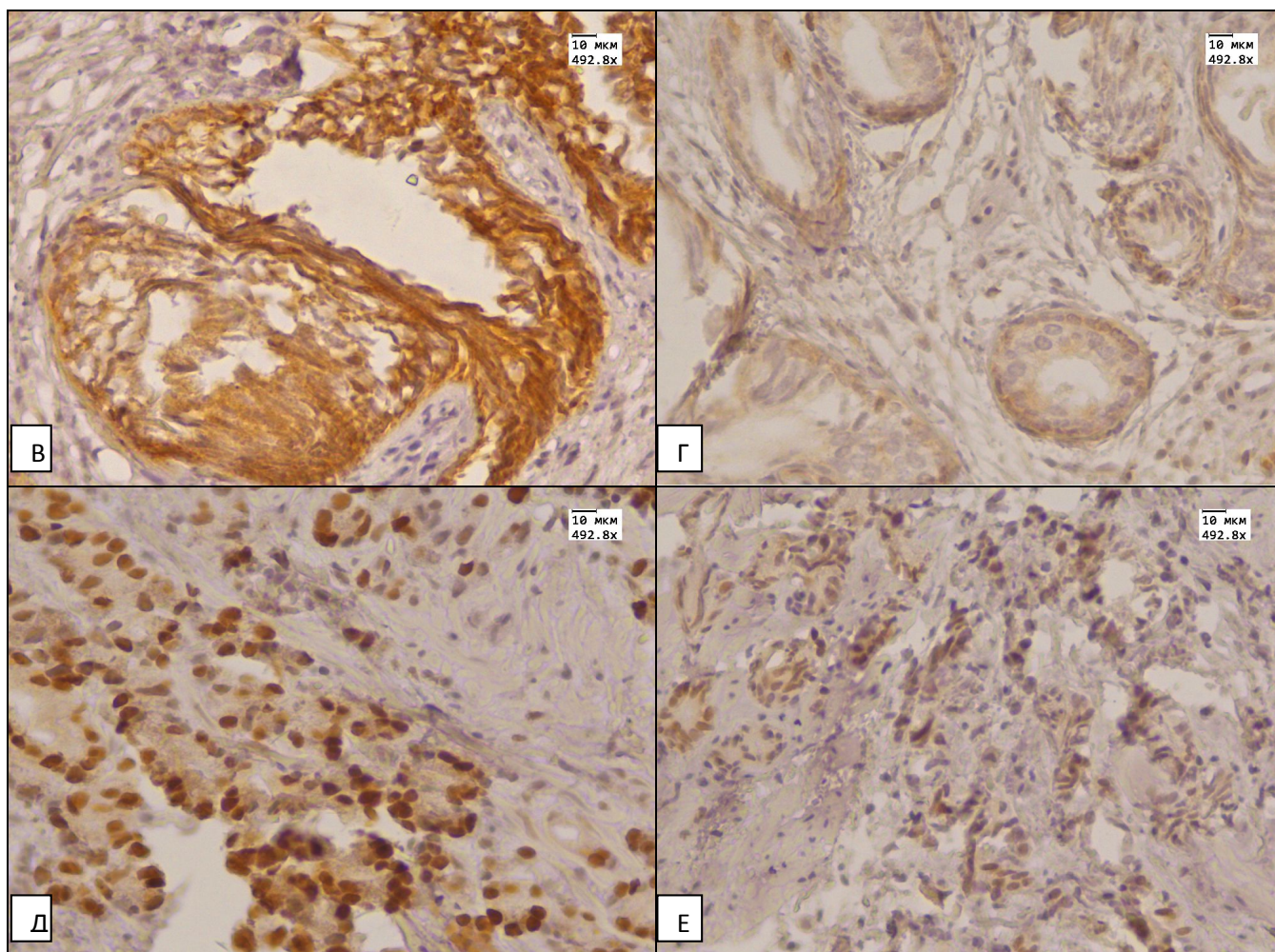


Рис.1. Аденокарцинома простаты. А. Иммуногистохимическая реакция с антителом к AMACR до лечения МАБ. Ув.492,8. Б. Иммуногистохимическая реакция с антителом к AMACR после лечения МАБ. Ув.492,8. В. Иммуногистохимическая реакция с антителом к Bcl 2 до лечения МАБ. Ув.492,8. Г. Иммуногистохимическая реакция с антителом к Bcl 2 после лечения МАБ. Ув.492,8. Д. Иммуногистохимическая реакция с антителом Androgen до лечения МАБ. Ув.492,8. Е. Иммуногистохимическая реакция с антителом Androgen после лечения МАБ. Ув.492,8.

Андрогены участвуют в стимуляции пролиферации эпителиальных клеток простаты, а также стимулируют синтез кератинного и фибробластического факторов роста стромальными клетками, что оказывает митогенный эффект на окружающую строму и эпителиальные клетки. До МАБ экспрессия данного маркера в аденокарциноме простаты у 70 % пациентов была выраженной (медиана Hs=210). Через 3 месяца после МАБ медиана Hs составила 86, показатель гистосчета колебался в пределах от 4 до 300. При анализе критерия Манна – Уитни различия в уровнях выборок можно считать существенными. При сравнительном анализе экспрессии андрогенов в ядрах эпителия желез простаты до и после лечения также отмечалась статистически значимая разница критерия Манна – Уитни. В

строме простаты экспрессия данного маркера у 98 % пациентов отсутствовала. Экспрессия андрогенов находилась в прямой корреляции с экспрессией Ki67 и АМАСР.

Заключение

Через 3 месяца после МАБ независимо от метода ее проведения (билатеральная орхэктомия или химическая кастрация) при стандартной окраске гематоксилином эозином в эпителии желез и опухолевых элементах развиваются выраженные дистрофические изменения, часть опухоли теряет ацинарное строение, в результате чего увеличивается индекс Глисона. Несмотря на это отмечается снижение индекса пролиферации, экспрессии онкомаркера АМАСР и маркера регулятора апоптоза Bcl-2 в опухолевой ткани до и после МАБ ($p \leq 0,05$). Снижение экспрессии данных маркеров в ядрах эпителия желез простаты не существенно. Экспрессия регулятора апоптоза P53 в ядрах опухолевых клеток и не измененных желез после МАБ снижалась, но достоверного различия между группами пациентов до и после лечения не было. Ядерная экспрессия андрогенов в аденокарциноме и железах простаты через 3 месяца после МАБ достоверно снижалась. Таким образом, после МАБ в аденокарциноме достоверно снижается экспрессия маркера пролиферация, онкомаркера АМАСР, ингибитора апоптоза. Экспрессия андрогенов достоверно снижается как в аденокарциноме, так и в эпителии желез простаты.

Список литературы

1. Каприн А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2013 году. Заболеваемость и смертность / А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.В. Петрова. – Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2015. – 250 с.
2. Жаринов Г.М. Скорость роста и клинические потери рака предстательной железы / Г.М. Жаринов, И.В. Чепурная, К.М. Пожариский, А.Г. Кудайбергенова, Н.Ю. Некласова, О.А. Богомоллов // Экспериментальная и клиническая урология. – 2016. – № 3. – С.36-39.
3. Фомкин Р.Н. Патоморфоз рака предстательной железы при лечении высокоинтенсивным сфокусированным ультразвуком (HIFU)/ Р.Н.Фомкин, Е.С. Воронина, В.М. Попков, Г.Н. Маслякова, Б.И. Блюмберг // Онкоурология. – 2013. – № 1. – С. 55-62.
4. Фомкин Р.Н. Прогностическое значение молекулярно-биологических, морфологических и клинических маркеров в оценке эффективности лечения локализованного рака предстательной железы высокоинтенсивным сфокусированным ультразвуком /Р.Н. Фомкин, Е.С. Воронина, В.М. Попков, Г.Н. Маслякова, Б.И. Блюмберг // Экспериментальная и клиническая урология. – 2013. – № 4. – С. 29-33.

5. Андреева Ю.Ю. Опухоли мочевыделительной системы и мужских половых органов. Морфологическая диагностика и генетика: Руководство для врачей / Ю.Ю. Андреева, В.Г. Данилова, Л.В. Москвина, Л.Э. Завалишина, Т.В. Кекеева, П.Г. Мальков, Г.А.Франк. – М.: Практическая медицина, 2014. – 218 с.
6. Лазукин А.В. Роль маркера Ki-67 в определении прогноза при раке молочной железы / А.В. Лазукин // РМЖ. – 2013. – № 1. – С.28.
7. Ефремов Г.Д. Роль иммуногистохимических маркеров в диагностике рака предстательной железы / Г.Д. Ефремов // Экспериментальная и клиническая урология. – 2011. – № 1. – С. 50-55.
8. Ковылина М.В. Прогностическое значение иммуногистохимических маркеров Ki-67 и P53 после радикальной простатэктомии / М.В. Ковылина, Е.А. Прилепская, И.П. Сергейко // Онкоурология. – 2014. – № 1. – С.49-52.
9. Чернышев И.В. Таргетная терапия гормонорезистентного рака предстательной железы / И.В.Чернышев, А.А. Жернов, Д.В. Перепечин // Экспериментальная и клиническая урология. – 2012. – № 1. – С.42-46.
10. Носов А.К. Новые лекарственные препараты в терапии рака предстательной железы, резистентного к кастрации / А.К. Носов, С.Б. Петров, Н.А. Воробьев // Урология сегодня. – 2012. – №5 – URL: <http://urotoday.ru/issue/5-2012/article/novye-lekarstvennyye-preparaty-v-terapii-raka-predstatelnoi-zhelezy-rezistentnog> (дата обращения 25.06.2017).
- 11.