

О. В. Крутенко

ДВНЗ «Запорізький національний університет», м. Запоріжжя

ПАТОГІСТОЛОГІЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РАКУ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ

У роботі з використанням комплексу гістологічних та імуногістохімічних методик описані морфологічні особливості раку передміхурової залози. Визначено патерн та кількісні показники експресії маркера клітинної проліферації, простатспецифічного антигена, рецепторів до андрогену та маркерів базальних клітин, які дозволяють диференціювати рак передміхурової залози від доброякісних змін. Описані найбільш поширені гістологічні різновиди раку передміхурової залози та показані вірогідні відмінності кількісних імуногістохімічних показників між ацинарно-клітинною та протоковою карциномою передміхурової залози.

Ключові слова: рак передміхурової залози, імуногістохімічне забарвлення, простатспецифічний антиген, проліферація.

Рак передміхурової залози (РПЗ) є однією з найбільш розповсюджених злоякісних пухлин, яка складає близько 12% у структурі захворюваності чоловіків та посідає друге місце у структурі смертності від злоякісних новоутворень. Діагностика РПЗ базується на визначенні рівня простатспецифічного антигена (PSA) у сироватці крові та патоморфологічному дослідженні біопсійного та інтраопераційного матеріалу [1]. Значне підвищення рівня сироваткового PSA є важливою ознакою, однак цей показник не є специфічним для РПЗ, тому для вірогідної верифікації наявності злоякісної пухлини у передміхуровій залозі використовують мультифокальну трансуретральну біопсію. Діагностичні труднощі виникають при дослідженні малих за об'ємом трепанбіоптатів передміхурової залози, що обумовлено обмеженими розмірами патологічно зміненої тканини, особливо на ранніх стадіях РПЗ [2].

Розрізняють декілька гістологічних типів РПЗ. Найбільш частою формою є ацинарно-клітинна аденокарцинома (ААК), яка зустрічається у 95% всіх випадків РПЗ [5]. Також виділяють уротеліальний, плоскоклітинний, залозисто-плоскоклітинний (аденосквामозний) РПЗ, а також особливі форми, до яких відносяться муцинозний, крібриформний, персневидноклітинний, дрібноклітинний та саркоматоїдний типи, а також протокову аденокарциному (ПАК) передміхурової залози, яка складає приблизно 1% усіх РПЗ [4]. Гістологічні і імуногістохімічні (ІГХ) особливості різних форм РПЗ на сьогоднішній день вивчені недостатньо.

Метою роботи було визначення патогістологічних та імуногістохімічних особливостей раку передміхурової залози.

Матеріал та методи дослідження. Комплексне дослідження було проведене на післяопераційному матеріалі 40 пацієнтів віком від 52 до 75 років, з патогістологічно верифікованим діагнозом РПЗ. Шматочки тканини фіксували в 10% нейтральному забуференому формаліні й ущільнили у парафін. Зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином, за Ван Гізон і альціановим синім за загальноприйнятими методиками. При мікроскопічному дослідженні патогістологічних препаратів визначали гістологічний тип пухлини та оцінювали ступінь злоякісності за системою Глісона. ІГХ дослідження проводили за стандартною методикою [3] з використанням моноклональних первинних антитіл проти Ki-67 Antigen, Clone MIB-1; AMACR (P504S), Clone 13H4; Cytokeratin, High Molecular Weight (CK HMW), Clone 34bE12 та поліклональних первинних антитіл проти Prostate-Specific Antigen (PSA) та Androgen Receptor (AR) (DAKO, США). Для цього парафінові зрізи завтовшки 4 мкм поміщали на адгезивні скельця SuperFrost Plus (Menzel Gläser, Німеччина), після депарафінації та високотемпературного демаскування антигенів у Трис-ЕДТА буфері з рН=9 проводили інкубацію з первинними антитілами згідно рекомендацій фірми-виробника, та візуалізацію ІГХ-реакції за допомогою системи детекції EnVision FLEX з діамінобензидином (DAKO, США). Зрізи дозбарвлювали гематоксиліном Майєра, укладали в бальзам і проводили мікроскопічну оцінку результатів ІГХ-реакції з фотодокументацією. Статистичну обробку отриманих результатів проводили на персональному комп'ютері в програмі Microsoft Excel 2007. Обчислювали середнє значення (M) та стандартне відхилення (σ). Вірогідність відмінностей порівнюваних величин визначали за допомогою критерію Стюдента (T). Результати вважали вірогідними при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. Проведене комплексне патогістологічне дослідження зрізів, забарвлених гематоксиліном і еозином, методом Ван Гізон та альціановим синім показало, що серед 40 пацієнтів з діагнозом РПЗ, яким було виконано радикальну

простатектомію, ацинарно-клітинний рак був верифікований у 25 випадках (62,5%); у 15 хворих було діагностовано протокову аденокарциному (37,5%). У всіх випадках ААК було відзначено високий рівень злоякісності за показником Глісона (G3 – 7–10 балів), тоді як у ПАК градація за Глісоном у 8 випадках (53,3%) складала 5–6 балів (G2), а у 7 випадках (46,7%) – 7–10 балів (G3). В обох групах спостереження ураження однієї долі передміхурової залози було виявлено у 7 хворих (17,5%); двостороннє ураження обох долей передміхурової залози було відзначено у 82,5% випадків. При співставленні пацієнтів обох груп за цим показником, а також за показниками розмірів передміхурової залози, об'єму пухлини та рівнем інвазії вірогідних відмінностей між ААК та ПАК нами встановлено не було ($p > 0,05$).

Проведене ІГХ дослідження показало, що для ААК та ПАК передміхурової залози був характерним високий рівень експресії простатспецифічного антигена. При цьому характер імунозабарвлення при використанні поліклональних первинних антитіл до PSA коливався від помірного до виразного ДАВ-забарвлення цитоплазми ракових клітин як залозистих (ацинарних), так і протокових (дуктулярних) злоякісних структур. Середній показник відносної кількості імунопозитивних клітин склав $95,14 \pm 3,08\%$ у хворих на ААК, та $78,65 \pm 12,35\%$ у хворих на ПАК ($p < 0,05$).

При дослідженні рівня експресії рецепторів до андрогену злоякісними клітинами РПЗ було встановлено, що як для ААК, так і для ПАК у більшості випадків характерним є яскравий ядерний патерн імунозабарвлення майже всіх пухлинних клітин. Середній показник відносної кількості AR-позитивних клітин склав $97,35 \pm 2,15$ у хворих на ААК, та $96,48 \pm 2,36$ у хворих на ПАК ($p > 0,05$). Водночас, у 4 випадках ПАК (26,7%) та у 5 випадках ААК (20,8%) було визначено слабе ядерне ДАВ-забарвлення AR менш ніж у 50% злоякісних клітин. Депресія рівня експресії AR може бути причиною зниження відповіді таких пухлин на гормональну терапію.

Окрім цього, нами було проведено визначення маркерів базальних клітин α -метилацил-коензим-А-рацемази (АМАСР), або Р504S, та цитокератину високої молекулярної маси (СК НМВ). Патерн імунозабарвлення АМАСР характеризувався помірною або виразною гранулярною цитоплазматичною експресією маркера у більшості пухлинних клітин. Для СК НМВ було характерним виразне імунозабарвлення базальних клітин, у той час як секреторні клітини залишались імунонегативними або спостерігалось лише фокальне слабе імунозабарвлення. Також помірна та виразна експресія цього маркера спостерігалась у злоякісних клітинах РПЗ у вогнищах плоскоклітинного диференціювання. Відсутність СК НМВ-позитивних базальних клітин та базальних мембран в АМАСР-позитивних ділянках спостерігалась лише у випадках ПАК. Позитивна експресія АМАСР була відсутньою в непухлинній тканині, що оточувала злоякісні структури РПЗ.

Визначення індексу клітинної проліферації за показником експресії антигена Ki-67 показало, що проліферативна активність злоякісних клітин ААК є вірогідно вищою за цей показник у ПАК. Так, середній індекс клітинної проліферації за В. Risberg et al. (2002) в ААК склав $3,75 \pm 0,55$ балів, у той час як цей показник у ПАК склав $2,54 \pm 0,62$ балів ($p < 0,05$). Патерн імунозабарвлення цього маркера при використанні клону МІВ-1 характеризувався виразною ядерною експресією з чітким дифузним ДАВ-забарвленням ядер злоякісних клітин та повною відсутністю неспецифічного забарвлення цитоплазми.

Таким чином, використання ІГХ методу дозволяє підвищити специфічність та вірогідність морфологічного визначення РПЗ навіть у невеликих за об'ємом шматочках тканини передміхурової залози. Також, завдяки чіткому імунозабарвленню злоякісних структур, використання ІГХ маркерів дозволяє вірогідно визначити інтрадуктальне розповсюдження ПАК та зони екстракапсулярної інвазії пухлини.

Висновки

1. Серед усіх випадків раку передміхурової залози найчастіше зустрічається ацинарно-клітинна аденокарцинома з високим рівнем злоякісності за показником Глісона (G3).
2. Як ацинарно-клітинні, так і протокові карциноми передміхурової залози характеризуються високим рівнем цитоплазматичної експресії PSA.
3. До 80% випадків раку передміхурової залози є AR-позитивними. Використання антитіл проти андрогенних рецепторів дозволяє визначити групу пацієнтів, потенційно резистентних до гормональної терапії.
4. Використання маркерів АМАСР та СК НМВ дозволяє чітко диференціювати імунопозитивні структури раку передміхурової залози від імунонегативної непухлинної тканини та доброякісних

змін у передміхуровій залозі. Відсутність СК HMW-позитивних базальних клітин та базальних мембран в АМАСR-позитивних ділянках спостерігалась лише у випадках протокового раку.

5. Проліферативна активність злоякісних клітин ацинарно-клітинного раку є вірогідно вищою за аналогічний показник клітин протокового раку передміхурової залози.

Перспективи подальших досліджень. У майбутньому планується провести клініко-морфологічне співставлення лабораторних показників із морфологічним патерном та особливостями ПГХ експресії досліджуваних маркерів з фотоморфометричним дослідженням рівнів інтенсивності та відносної площі експресії, а також порівняльний аналіз клініко-лабораторних показників та патогістологічних і ПГХ змін між групами пацієнтів, хворих на доброякісну гіперплазію передміхурової залози та на РПЗ.

Список літератури

1. Amin M. Prognostic and predictive factors and reporting of prostate carcinoma in prostate needle biopsy specimens / M. Amin, L. Boccon-Gibod, L. Egevad [et al.] // - Scand. J. Urol. Nephrol. – 2005, Vol. 216, P. 20–33.
2. Boccon-Gibod L. European Society of Urology; European Society of Pathology Urology aWorking Group / L. Boccon-Gibod, T.H. van der Kwast, R. Montironi [et al.] // - Handling and pathology reporting of prostate biopsies. Eur. Urol. – 2004, Vol. 46, P. 177–181.
3. Dabbs D. J. Diagnostic Immunohistochemistry (3rd ed.) / D. J. Dabbs // - New York: Ch. Livingstone, - 2010, 941 p.
4. Humphrey P.A. Histological variants of prostatic carcinoma and their significance / P.A. Humphrey // - Histopathology. - 2012, Vol. 60, P. 59–74.
5. Montironi R. 2005 update on pathology of prostate biopsies with cancer / R. Montironi, R. Vela-Navarrete, A. Lopez-Bertran [et al.] // - Eur.Urol. -2006; 49, P. 241–247.

Реферати

ПАТОГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Крутенко О. В.

В работе с использованием комплекса гистологических и иммуногистохимических методик описаны морфологические особенности рака предстательной железы. Определены паттерны и количественные показатели экспрессии маркера клеточной пролиферации, простатспецифического антигена, рецепторов к андрогену и маркеров базальных клеток, которые позволяют дифференцировать рак предстательной железы от доброкачественных изменений. Описаны наиболее распространенные гистологические разновидности рака предстательной железы и показаны достоверные отличия количественных иммуногистохимических показателей между ацинарно-клеточной и протоковой карциномой предстательной железы.

Ключевые слова: рак предстательной железы, иммуногистохимическая окраска, простатспецифический антиген, пролиферация.

Стаття надійшла 13.10.2016 р.

PATHOHISTOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES OF PROSTATIC CANCER

Krutenko O. V.

In work using a complex of histological and immunohistochemical techniques morphological characteristics of prostate cancer were described. Pattern and quantitative expression of cell proliferation markers, prostate-specific antigen, androgen receptor and basal cell markers that differentiate prostate cancer from benign changes were detected. The most common histological species of prostate cancer are described and showing significant differences between the quantitative immunohistochemical performances of the prostatic acinar cell and ductal carcinoma.

Key words: prostatic cancer, immunohistochemical staining, prostate-specific antigen, proliferation.

Рецензент Старченко І.І.

УДК 577.151.042.:616.72-002.772:616.72-007.274

О. В. Мельник, О. П. Корнійчук, А. Д. Воробеш

Львівський національний медичний університет ім. Д.Галицького, м. Львів

ПРОТИМІКРОБНА ТА NO-СИНТАЗО-МОДУЛЮЮЧА ДІЯ НОВОСИНТЕЗОВАНОЇ СПОЛУКИ - ПОХІДНОЇ ТІАЗОЛІДИНУ

Встановлено, що новосинтезована сполука N-[2-(5,7-диметил-2-оксо-тіазоло[4,5-b]піридин-3-іл)-ацетил]-гідрозид ацетатної кислоти окрім протимікробної дії щодо грам позитивних мікроорганізмів, зокрема Streptococcus ruogenes і Staphylococcus aureus, володіє NO-модулюючими властивостями, дозозалежно інгібуючи активності ендотеліальної та індукційної ізоформ NO-синтази. Токсометричними дослідженнями виявлено, що дана сполука належить до V класу безпеки, тобто за ступенем токсичності та безпеки відповідає вимогам до лікарських засобів.

Ключові слова: тіазолідини, реактивний артрит, NO-синтаза, протимікробні властивості.

Робота є фрагментом НДР «Дослідження функціонально-метаболических резервів стрес-лімітуючих систем організму за екстремальних умов з метою виявлення ефективних способів їх корекції», № держ. реєстрації 0111U000121.

До реактивних артритів відносять запальні негнійні захворювання суглобів, які розвиваються внаслідок імунних порушень після перенесеної урогенітальної, кишкової чи респіраторної інфекції [1-4, 12, 13, 14]. Нами проаналізовані етіологічні чинники розвитку