

## ДИАГНОСТИКА РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Н.С. Теврюкова<sup>1</sup>, В.Н. Богатырев<sup>2</sup>, А.Б. Очиргоряев<sup>1</sup>

ГУ «Калмыцкий республиканский онкологический диспансер им. Э.С. Тимошкаевой», г. Элиста<sup>1</sup>,  
НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва<sup>2</sup>  
358001, Республика Калмыкия, г. Элиста, ул. А. Сусеева, 19, e-mail: tevrukova@mail.ru<sup>1</sup>  
15478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН, отделение клинической  
цитологии, e-mail: bogatyrevvn@mail.ru<sup>2</sup>

Представлены результаты исследования уровня простатоспецифического антигена 2279 пациентов. Уровень ПСА более 4 ng/ml явился показанием к проведению трансректальной пункционной биопсии простаты. Цитологическое исследование полученного материала проведено у 194 (8,5 %) больных, при этом рак предстательной железы диагностирован в 145 (74,7 %), доброкачественная гиперплазия предстательной железы – в 49 (25,3 %) случаях. Выявленный рак предстательной железы был представлен аденокарциномой разной степени дифференцировки. Проведено исследование плоидности опухолевых клеток из архивного материала у 23 больных РПЖ. Преобладали анеуплоидные опухоли (76,0 %), более половины (64,8 %) из них содержат свыше 70 % анеуплоидных клеток.

Ключевые слова: рак предстательной железы, простатоспецифический антиген, цитологическая диагностика, плоидность и пролиферативная активность опухолевых клеток.

### PROSTATE CANCER DIAGNOSIS

N.S. Tevryukova<sup>1</sup>, V.N. Bogatyrev<sup>2</sup>, A.B. Ochirgoryaev<sup>1</sup>  
E.S. Timoshkaeva Kalmykia Republic Oncological Clinic, Elista<sup>1</sup>  
Research Institute of Clinical Oncology of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow<sup>2</sup>  
19, Suseeva Street, 358001-Elista, Kalmykia Republic, e-mail: tevrukova@mail.ru<sup>1</sup>  
24, Kashirskoe shosse, 115478-Moscow, Russia, e-mail: bogatyrevvn@mail.ru<sup>2</sup>

The level of prostate specific antigen (PSA) was studied in 2279 patients. The PSA level elevated over 4 ng/ml was the indication for transrectal needle biopsy of the prostate. Cytological examination was carried out for 194 (8,5 %) patients. Prostate cancer was detected in 145 (74,7 %) patients, benign hyperplasia of the prostate was diagnosed in 49 (25,3 %) cases. Prostate cancer was histologically proven to be adenocarcinoma. Tumor cell ploidy was studied for 23 prostate cancer patients. Aneuploid tumors were detected most frequently (76,0 %), more than half of them (64,8 %) contained over 70 % aneuploid cells.

Key words: prostate cancer, prostate specific antigen, cytological diagnosis, ploidy and proliferative activity of tumor cells.

Своевременно распознать рак предстательной железы (РПЖ) – ответственная задача, которая наиболее точно решается с помощью комплекса современных клинко-лабораторных, морфологических исследований, УЗИ, трансректального ультразвукового исследования (ТРУЗИ), КТ и пальцевого ректального исследования (ПРИ). Среди этих диагностических мероприятий основное внимание уделяют исследованию простатоспецифического антигена (ПСА) и морфологического исследования материала, полученного при трансректальной пункционной биопсии (ТПБ) простаты [1, 4, 5, 9, 14]. Исследование уровня ПСА и данные мультифокальной трансректальной биопсии значительно улучшают диагностику РПЖ на ранних стадиях [7, 8, 10,

14]. В связи с успехами ранней диагностики заболевания изменился и подход к его лечению [3, 8, 9, 14].

Цитологическое исследование – один из основных методов диагностики, который активно используется при обследовании больных с патологией предстательной железы [6, 12]. По его результатам можно получить большой объем информативного материала. Анализ плоидности при РПЖ дает важную прогностическую информацию, дополняющую патоморфологическое исследование. В литературе подтверждена важность прогностических факторов, в частности плоидности опухолевых клеток, при их учете для определения показаний к радикальной простатэктомии эффективность лечения достигает 80 % [2, 10, 11, 13, 15, 16].

**Цель настоящей работы** – оценить клиническую значимость исследований ПСА, а также сопоставить показатели уровня ПСА с морфологическими данными, полученными при ТПБ предстательной железы, и параметрами лазерной ДНК-проточной цитофлуорометрии.

#### Материалы и методы

Проведено обследование 2279 пациентов на ПСА твердофазным иммунопероксидазным методом типа «Сэндвич» на основе моноклональных антител к ПСА, использовались тест-системы Can Ag EIA («Can Ag Diagnostics», Швеция). Для измерения результатов использовали иммуноферментный анализатор «Униплан» («Пикон», г. Москва).

Материал для цитологического исследования получали с помощью ТПБ предстательной железы, с использованием автоматического устройства для биопсии «Magnum» («BARD», США), иглами 18-го калибра. Биоптаты брали из 6 точек – так называемая «секстантная» биопсия.

Мазки для цитологического исследования получали путем прокатывания полученных столбиков ткани простаты по обезжиренному предметному стеклу. Цитологические препара-

ты, после высушивания на воздухе, окрашивали по методике Паппенгейма, изучали в световом микроскопе. Изучались морфологические особенности цитологических препаратов при РПЖ и ДГПЖ. Диагноз заболевания у всех пациентов установлен на основании данных цитологического исследования, верифицированных гистологически. При изучении цитологических препаратов придерживались классификации ВОЗ (1993).

Изучены количественные параметры клеток опухоли у больных РПЖ с помощью лазерной ДНК-проточной цитофлуорометрии и компьютерной программы Multicycle (Phoenix + Epicx XL, From System, США). Материалом для исследования служил архивный гистологический материал, полученный во время оперативного вмешательства у 23 больных РПЖ разной степени морфологической дифференцировки и стадии.

#### Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования выявлены 194 (8,5 %) больных с повышенным показателем уровня ПСА. В клиническом плане наиболее важен подъем концентрации ПСА сыворотки крови при РПЖ. Показатели уровня ПСА выше нормы получены у 145 (74,7 %) боль-

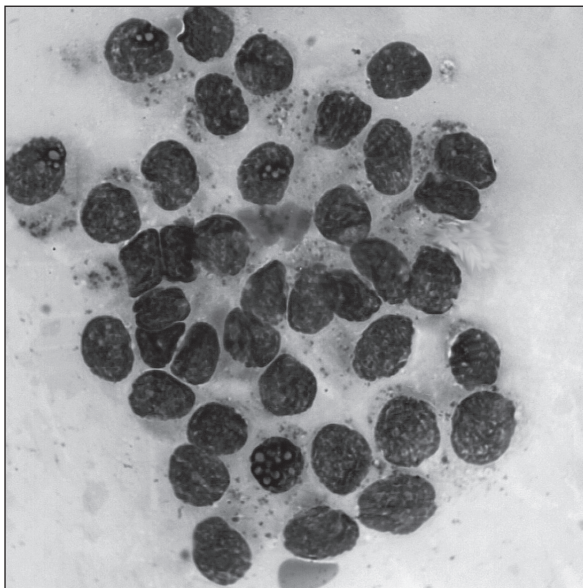


Рис. 1. Комплекс клеток высокодифференцированной аденокарциномы предстательной железы. Окраска по Паппенгейму. x900

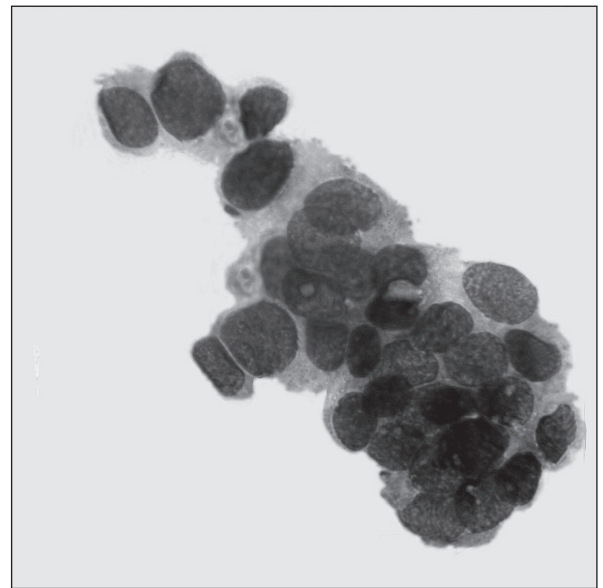


Рис. 2. Комплекс клеток умереннодифференцированной аденокарциномы предстательной железы. Окраска по Паппенгейму. x900

ных с РПЖ и у 49 (25,3 %) больных с доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ). При этом уровень ПСА у пациентов с РПЖ варьировал в пределах от 4,0 до 58 ng/ml, тогда как при ДГПЖ его предельные значения были ниже – в пределах от 4 до 13,8 ng/ml.

При цитологическом исследовании материала, полученного при ТПБ простаты у 138 больных с показателями ПСА 4–10 ng/ml, в 92 случаях диагностирован рак простаты, в 46 – ДГПЖ. Уровень ПСА в пределах 10–20 ng/ml был повышен у 61 больного, из них в биопсийном материале выявлен РПЖ в 58 случаях, в 3 – диагностирована ДГПЖ. При ПСА более 20 ng/ml диагноз РПЖ установлен во всех случаях, у 41 больного. Таким образом, чувствительность ПСА составила 71,1 %, специфичность – 80,1 %.

При цитологическом исследовании материала ТПБ простаты у 46 (31,7 %) больных диагностирована высокодифференцированная аденокарцинома, которая была представлена клетками типа кубического и призматического эпителия с незначительными признаками полиморфизма, с интенсивно окрашенными ядрами, имеющими глыбчатое строение хроматина. Цитологическая картина высокодифференцированной аденокарциномы часто напоминает наблюдающуюся при аденоме (ДГПЖ), и иногда трудно их различить (рис. 1). В 64 (44,1 %) наблюдениях диагностирована умереннодифференцированная аденокарцинома. Цитологическая картина представлена тесно располагающимися опухолевыми клетками, без четких границ, ядра полиморфные, гиперхромные, с увеличенными ядрышками, много голых ядер (рис. 2). Для низкодифференцированной аденокарциномы (35 (24,2 %) случаев) характерны выраженная атипия клеток, их разрозненное расположение, а также бесформенные, беспорядочные скопления. Часто отмечаются мелкие группы раковых клеток с выраженным полиморфизмом, многие клетки располагаются изолированно друг от друга, много голых ядер (рис. 3).

Окончательное стадирование опухолевого процесса проводилось после оперативного вмешательства. По результатам выполненной простатэктомии у 125 (86,2 %) больных РПЖ, выявленных с помощью ПСА, опухоль была в пределах органа. Соответственно, распределе-

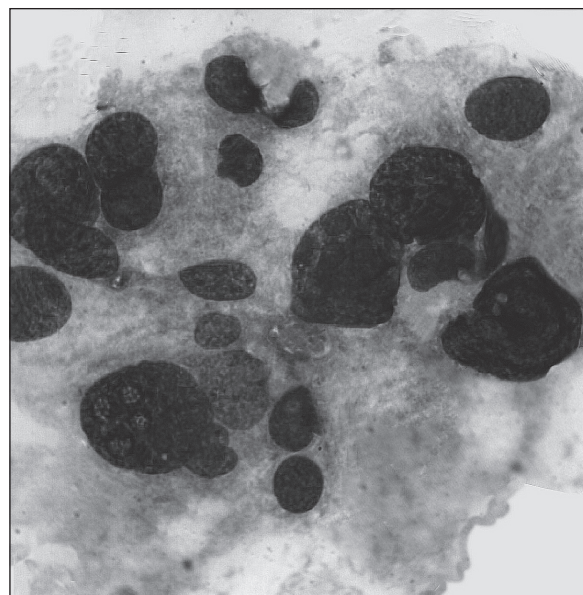


Рис. 3. Комплекс клеток низкодифференцированной аденокарциномы предстательной железы. Окраска по Паппенгейму.  $\times 900$

ние по стадиям заболевания было следующим: I стадия – у 17 (11,7 %) больных, II стадия – у 57 (39,3 %), III стадия – у 51 (35,2 %), IV стадия – у 20 (13,8 %) пациентов. Совпадение цитологического и гистологического диагноза составило 96 %.

При изучении плоидности опухоли и количественных параметров ДНК методом проточной цитофлуорометрии у 23 больных РПЖ, в 6 (26 %) случаях обнаружено диплоидное содержание ДНК в ядрах опухолевых клеток, в 17 (74 %) – выявлены анеуплоидные опухоли. Индекс ДНК (ИДНК) при диплоидных опухолях равнялся 1,0, при анеуплоидных –  $1,43 \pm 0,14$ . У 8,7 % больных ИДНК опухоли был меньше 1,0, то есть наблюдалась потеря хромосомного материала в клетках опухоли, в 65,2 % отмечалась анеуплоидия в пределах митотического цикла: ИДНК был 1,1–1,7 и более. По полученным в исследовании данным, у больных РПЖ преобладают анеуплоидные опухоли (76 %), более половины (64,8 %) из них содержат свыше 70 % анеуплоидных клеток.

Анализ изучаемых параметров клеток опухоли в зависимости от уровня ПСА позволил обнаружить, что у больных РПЖ частота анеуп-

плоидных опухолей увеличивалась при повышении этого показателя. При уровне ПСА от 4 до 10 ng/ml у 4 (50 %) больных РПЖ опухоли были анеуплоидными. При ПСА в пределах от 10 до 20 ng/ml анеуплоидные опухоли наблюдались у 3 (100 %) больных РПЖ. При повышении ПСА более 20 ng/ml отмечено значительное увеличение количества пациентов с анеуплоидной опухолью, их было – 10, что составило 83,3 % ( $p < 0,05$ ).

У больных с высоким уровнем ПСА отмечена тенденция к увеличению числа опухолей, содержащих менее 80 % клеток в G0/1-фазе клеточного цикла. Так, при ПСА от 4 до 10 ng/ml такие опухоли наблюдались у 2 (25 %) больных, при показателе ПСА более 20 ng/ml – у 4 (33,3 %) больных. При уровне ПСА от 10 до 20 ng/ml менее 80 % клеток в опухоли больных не обнаружены, в этой группе было мало наблюдений. У больных с ПСА более 20 ng/ml вообще отсутствовали опухоли, содержащие более 90 % клеток в G0/1- фазе клеточного цикла ( $p < 0,05$ ). У больных с повышенным показателем уровня ПСА отмечается тенденция к увеличению содержания клеток в S-фазе клеточного цикла. Опухоли, содержащие более 6 % клеток в S-фазе клеточного цикла при показателе уровня ПСА от 4 до 10 ng/ml, наблюдались у 4 (50 %) больных, от 10 до 20 ng/ml – у 2 (66,7%) больных, более 20 ng/ml – у 11 (91,7 %) из 12 больных ( $p < 0,05$ ). При анализе зависимости между показателем уровня ПСА и содержанием клеток в G2+M-фазе клеточного цикла и индекса пролиферации отмечалось увеличение частоты опухолей с повышенной пролиферативной активностью опухолевых клеток и числом митозов у больных с высоким показателем уровня ПСА.

Пятилетняя выживаемость при уровне ПСА от 4 до 10 ng/ml у больных с диплоидными опухолями составила 75 %, у больных с ПСА более 20 ng/ml она равнялась 50 %. В нашем исследовании не было больных с диплоидными опухолями при показателях ПСА от 10 до 20 ng/ml.

Установлена более низкая пятилетняя выживаемость больных с анеуплоидными опухолями при высоких показателях уровня ПСА. Пятилетняя выживаемость при показателях ПСА от 4 до 10 ng/ml составила 50,0 %, при ПСА от 10 до

20 ng/ml – 33,3 %. В группе больных с уровнем ПСА более 20 ng/ml пятилетняя выживаемость составила 10,0 %.

При анализе изучаемых параметров клеток опухоли в зависимости от степени морфологической дифференцировки было отмечено, что со снижением степени морфологической дифференцировки РПЖ чаще наблюдалась анеуплоидия клеток опухоли. Анеуплоидные опухоли выявлены у 4 (57,1 %) больных с высококодифференцированной аденокарциномой. При умереннокодифференцированной аденокарциноме анеуплоидные опухоли выявлены у 5 (71,4 %) больных, при низкокодифференцированной аденокарциноме анеуплоидные опухоли обнаружены у 8 (88,9 %) больных ( $p < 0,05$ ).

При анализе содержания клеток в G0/1-фазе клеточного цикла и степени морфологической больных РПЖ установлено, что при низкокодифференцированной аденокарциноме отмечена тенденция к увеличению числа опухолей, содержащих менее 80 % этих клеток. Такие опухоли наблюдались у 2 (28,6 %) больных с высококодифференцированной аденокарциномой, у 1 (14,3 %) – с умереннокодифференцированной, у 4 (44,4 %) – с низкокодифференцированной аденокарциномой. При низкокодифференцированной аденокарциноме вообще отсутствовали опухоли, содержащие более 90 % клеток в G0/1-фазе клеточного цикла ( $p < 0,05$  при сравнении с группой больных с высококодифференцированной и умереннокодифференцированной аденокарциномой).

При низкой степени морфологической дифференцировки опухоли у больных РПЖ наблюдалось повышение содержания клеток в S-фазе клеточного цикла. Если при высококодифференцированной и умереннокодифференцированной аденокарциноме наблюдалось сходное содержание более 6 % клеток опухоли в S-фазе клеточного цикла – у 4 (57,1 %) и у 4 (57,1%) больных соответственно, – то при низкокодифференцированной аденокарциноме это явление отмечено у 9 (100 %) больных ( $p < 0,05$ ).

При прогностически неблагоприятной морфологической низкой степени дифференцировки РПЖ отмечалось увеличение числа опухолей с повышенным содержанием клеток G2+M-фазе клеточного цикла. Так, при высококодифференци-

рованной аденокарциноме простаты G2+M-фазе клеточного цикла выявлено более 10 % клеток опухоли у 1 (14,3 %) больного, сходное содержание этих клеток наблюдалось при умереннодифференцированной аденокарциноме – у 1 (14,3 %) пациента, тогда как при низкодифференцированной аденокарциноме у 3 (33,3 %) больных в G2+M-фазе клеточного цикла выявлено более 10 % клеток в опухоли ( $p < 0,05$ ).

У больных с низкодифференцированной аденокарциномой было отмечено увеличение индекса пролиферации. Так, у больных РПЖ с высокодифференцированной аденокарциномой индекс пролиферации менее 18 % наблюдался в 6 (85,7 %) случаях, так же как и у больных с умереннодифференцированной аденокарциномой – в 6 (87,5 %), при низкодифференцированной аденокарциноме – у 2 (33,3 %) больных. Индекс пролиферации 18–25 % наблюдался у 5 (55,6 %) больных РПЖ, и только при низкодифференцированной аденокарциноме. Индекс пролиферации более 25 % наблюдался у 1 (14,3 %) больного с высокодифференцированной аденокарциномой, сходная пролиферативная активность выявлена при умереннодифференцированной аденокарциноме – у 1 (14,3 %) больного, при низкодифференцированной аденокарциноме – у 2 (22,2 %) больных. При сравнении групп с разной степенью морфологической дифференцировки получены достоверные статистические различия ( $p < 0,05$ ).

По данным анализа пятилетней выживаемости больных РПЖ в зависимости от степени морфологической дифференцировки и плоидности опухоли она составила 67,0 % при высокодифференцированной аденокарциноме у больных с диплоидными опухолями. В группе больных с умереннодифференцированной аденокарциномой пятилетняя выживаемость составила 50 %, с низкодифференцированной аденокарциномой пятилетняя выживаемость – 0 %.

Самая низкая пятилетняя выживаемость отмечена у больных с анеуплоидными опухолями, в этом случае при высокодифференцированной аденокарциноме она равнялась 50,0 %, при умереннодифференцированной аденокарциноме – 40 %, при низкодифференцированной аденокарциноме – 0 %.

Таким образом, несмотря на некоторые ограничения, ПСА в настоящее время является лучшим скрининговым маркером для диагностики РПЖ в ранней стадии с наибольшим потенциалом в плане успешности терапии [1, 4, 5, 8, 9]. Представленные данные убедительно доказывают, что с помощью ПСА диагностируется наибольшее количество ранних стадий РПЖ.

В комплексе диагностических мероприятий особое значение приобретают методы, способствующие цитологической верификации, так как известно, что именно морфологическая структура новообразования определяет наиболее рациональный план лечения. Цитологическое исследование материала ТПБ у больных с повышенным показателем уровня ПСА позволяет установить правильный диагноз.

Отмечено, что анеуплоидия сочетается с неблагоприятными клинико-лабораторными факторами РПЖ. Частота анеуплоидных опухолей увеличивалась при повышении показателей уровня ПСА у больных РПЖ. В группе больных с анеуплоидной опухолью и повышенным показателем уровня ПСА чаще наблюдалось высокое содержание более 70 % анеуплоидных клеток в опухоли. У больных с высоким показателем уровня ПСА отмечено снижение содержания клеток в G0/1-фазе клеточного цикла и высокая пролиферативная активность клеток в S-фазе клеточного цикла.

Плоидность явилась прогностическим фактором у больных с высоким показателем уровня ПСА. Это свидетельствует о корреляции между показателем уровня ПСА и плоидностью опухоли ( $p < 0,05$ ).

Со снижением степени морфологической дифференцировки РПЖ чаще наблюдались анеуплоидные опухоли, высокое содержание более 70 % анеуплоидных клеток в опухоли. У больных отмечена высокая пролиферативная активность опухолевых клеток в G2+M-фазе клеточного цикла и высокая пролиферативная активность опухолевых клеток в S-фазе клеточного цикла. Наиболее низкая выживаемость отмечена у больных с анеуплоидным низкодифференцированным РПЖ. Таким образом, определение показателей уровня ПСА позволяет существенно повысить раннюю диагностику РПЖ, цитологическое исследование материала,

полученного при ТПБ простаты явилось неотъемлемым, а в некоторых случаях завершающим этапом диагностики РПЖ. Пloidность является прогностическим фактором у больных с высокими показателями уровня ПСА и низкой степенью дифференцировки опухоли при РПЖ.

#### Выводы

1. Определение ПСА наряду с цитологическим исследованием эффективно используется в диагностике РПЖ на дооперационном периоде.

2. Цитологический метод оптимизирует морфологическую диагностику РПЖ по материалам ТПБ.

3. Использование метода лазерного ДНК-проточной цитофлуорометрии предоставляет возможность получить важнейшие характеристики РПЖ, которые позволяют уточнить биологические особенности злокачественной опухоли, очень сильно влияющие на прогноз болезни.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев Б.Я., Ньюко К.М. Рекомендации Европейской ассоциации урологов по диагностике и лечению рака предстательной железы // Онкоурология. 2007. № 4. С. 41–44.
2. Богатырев В.Н. Использование количественных методов исследования (компьютерной морфометрии и проточной цитометрии) в клинической цитологии Клиническая лабораторная аналитика / Под. ред. В. В. Меньшикова. М.: Лабинформ, 1999. Т. 2. С. 176–177.
3. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Злокачественные новообразования в России и странах СНГ в 2003 г. М., 2005. 265 с.
4. Матвеев Б.П. Энциклопедия клинической онкологии / Ред. М.И. Давыдов. М., 2004. С. 455–473.
5. Пушкарь Д.Ю., Говоров А.В. Осложнения трансректальной биопсии предстательной железы // Урология. 2005. № 2. С. 40–42.
6. Петрова А.С., Полонская Н.Ю., Богатырев В.Н. Цитологические исследования в клинической лабораторной диагностике / Под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ, 1999. Т. 2. С.148–149.
7. Петров С.Б., Харченко П.В. Диагностика локализованного рака предстательной железы // Урология. 2005. № 1. С. 19–29.
8. Сергеева Н.С., Маршрутина Н.В. Серологические опухолеассоциированные маркеры (ОМ) в онкологической клинике // Новости прикладной иммунологии и аллергологии. 2001. № 5. С. 6–7.
9. Akamatsu S., Tsukazaki H., Inoue K., Nisho Y. Advanced prostate cancer extremely low prostate – specific antigen value at diagnosis: An example of high dose hook effect // Urology. 2006. Vol. 13. P. 1025.
10. Bradford T.J., Tomlins S.A., Wang X., Cbinaiyan A.M. Molecular markers of prostate cancer // Urol. Oncol. 2006. Vol. 24. P. 538–551.
11. Epstein J.I., Christensen W.N., Steinberg G.D., Carter H.B. Comparison of DNA ploidy and nuclear size, shape and chromatin irregularity in tissue section smears of prostatic carcinoma // Anal. Quant. Cytol. Histol. 1990. Vol. 12. P. 352–358.
12. Franzen S., Giertz G., Zajicek J. Cytological diagnosis of prostatic tumors by transrectal aspiration biopsy: a preliminary report // Br. J. Urol. 1960. Vol. 32. P. 193–196.
13. Haggarth L., Auer G., Busch C. et al. The significance of tumor heterogeneity for prediction of DNA ploidy of prostate cancer // The Prostate. 2005. Vol. 39, № 5. P. 387.
14. John N.L. Trends in Prostate Cancer Research. Nova Publishers, 2005. P. 211–215.
15. Reynolds M.A., Kastury K., Groskopf J. et al. Molekular marker for prostate cancer // Cancer Lett. 2007. Vol. 249. P. 5–13.
16. Schroeder F., Boecking A., de Verre White R. et al. Clinical utility of cellular DNA measurements in prostate carcinoma // Scand. J. Urol. Nephrol. 1999. Vol. 162. P. 51–64.

Поступила 21.10.08