

Лечебный патоморфоз после неoadъювантной химиогормональной терапии у больных раком предстательной железы

М.В. Беркут¹, А.С. Артемьева², С.С. Толмачев², С.А. Рева^{1,3}, С.Б. Петров^{1,3}, А.К. Носов¹

¹Хирургическое отделение онкоурологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; Россия, 197758 Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68;

²патологоанатомическое отделение ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; Россия, 197758 Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68;

³клиника урологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России; Россия, 197022 Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 17–54

Контакты: Мария Владимировна Беркут berkutv91@gmail.com

Введение. Роль лечебного патоморфоза, развивающегося в результате системной терапии локализованного и местно-распространенного рака предстательной железы, до конца не изучена. Отсутствуют четкие критерии лечебного патоморфоза и данные о его связи с показателями общей или безрецидивной выживаемости (БРВ). Учитывая возросший интерес к проведению неoadъювантной химиогормональной терапии с последующим выполнением радикальной простатэктомии, мы оценили частоту развития лечебного патоморфоза на фоне медикаментозной терапии, его влияние на общую выживаемость и БРВ у пациентов с раком предстательной железы высокого и очень высокого риска прогрессирования.

Цель исследования — оценить морфологические характеристики ткани предстательной железы на фоне проведенной неoadъювантной терапии и взаимосвязь этих изменений с онкологическими показателями.

Материалы и методы. Лечение в объеме неoadъювантной химиогормональной терапии с последующей радикальной простатэктомией было проведено 36 пациентам с раком предстательной железы высокого и очень высокого риска прогрессирования (уровень простатического специфического антигена >20 нг/мл, и/или сумма баллов по шкале Глисона ≥8, и/или клиническая стадия ≥T2c). Курс неoadъювантной химиогормональной терапии включал внутривенное введение доцетаксела 1 раз в 21 день (75 мг/м² до 6 циклов) и антагониста гонадотропин рилизинг-гормона дегареликса по стандартной схеме (6 подкожных введений каждые 28 дней). Послеоперационный материал подвергся оценке на предмет наличия остаточной опухоли, проявлений лечебного патоморфоза по системе ABC. Дополнительно оценена экспрессия ряда иммуногистохимических маркеров (p53, bcl-2, p16, Ki-67, андрогеновые рецепторы, c-MYC, ERG, PTEN) на послеоперационном материале методом построения тканевых матриц (tissue microarray, TMA) согласно стандартному протоколу.

Результаты. Всего проанализировано 480 микропрепаратов биопсийного материала и 775 препаратов операционного материала. К группе А были отнесены 10 (32,3 %) опухолей, к группе В — 16 (51,6 %), к группе С — 5 (16,1 %). Дисперсионный анализ выявил достоверное различие частоты более локализованных форм рака предстательной железы в группе В (43,7 %) ($p = 0,028$). При анализе не обнаружено взаимосвязи между распределением проявлений лечебного патоморфоза по системе ABC и предоперационным уровнем простатического специфического антигена, наличием положительного хирургического края, патологоанатомической стадией заболевания или распространением заболевания на регионарные лимфатические узлы. Однако показатель БРВ резко варьировал между группами: наибольшая медиана БРВ выявлена в группе В — $23,02 \pm 12,61$ мес, а пациенты из групп А и С не смогли достичь уровня общей медианы БРВ — $11,7 \pm 6,43$ и $16,19 \pm 16,54$ мес соответственно.

Заключение. Эффективность неoadъювантной лекарственной терапии рака предстательной железы может быть оценена посредством проявлений лечебного патоморфоза по системе ABC, которая продемонстрировала свою универсальность и воспроизводимость на представленном материале. Неoadъювантная терапия с использованием доцетаксела и дегареликса может улучшить результаты лечения рака предстательной железы у больных групп высокого и очень высокого риска прогрессирования заболевания. Выявленные данные об изменениях в ткани предстательной железы могут позволить прогнозировать продолжительность эффекта после химиогормонального лечения с последующим оперативным вмешательством.

Ключевые слова: рак предстательной железы, радикальная простатэктомия, неoadъювантная терапия, химиотерапия, гормональная терапия, лечебный патоморфоз, опухолевый ответ

Для цитирования: Беркут М.В., Артемьева А.С., Толмачев С.С. и др. Лечебный патоморфоз после неoadъювантной химиогормональной терапии у больных раком предстательной железы. Онкоурология 2020;16(3):80–9.

DOI: 10.17650/1726-9776-2020-16-3-80-89



Pathologic response to neoadjuvant therapy of high risk prostate cancer

M. V. Berkut¹, A. S. Artemjeva², S. S. Tolmachev², S. A. Reva^{1,3}, S. B. Petrov^{1,3}, A. K. Nosov¹

¹Department of Oncourology, N. N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 68 Leningradskaya St., Pesochnyy, Saint-Petersburg 197758, Russia;

²Department of Pathomorphology, N. N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 68 Leningradskaya St., Pesochnyy, Saint-Petersburg 197758, Russia;

³Urooncological Department, Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Ministry of Health of Russia; 17–54 L'va Tolstogo St., Saint-Petersburg 197022, Russia

Background. The role of pathological response, which develops as a result of systemic therapy for localized and locally advanced high risk prostate cancer, is not still fully understood. There are no clear indications for neoadjuvant therapy and no data on the relationship between neoadjuvant therapy and median of overall or progression free survival. According to increasing interest for neoadjuvant chemohormonal therapy followed by radical prostatectomy, we evaluated the features of pathological response and its effects on overall and progression free survival rates.

Objective. Estimating residual disease and pathologic response to neoadjuvant therapy of high risk prostate cancer and its relationship with oncological results.

Materials and methods. This was a prospective randomized study: patients with prostate cancer of high and very high-risk groups (prostate specific antigen levels >20 ng/ml and/or Gleason score ≥8 and/or clinical stage >T2c) were treated with neoadjuvant chemohormonal therapy followed by radical prostatectomy (n = 36). The neoadjuvant course included the intravenous administration of docetaxel once every 21 days (75 mg/m² up to 6 cycles) and the antagonist of the gonadotropin releasing hormone degarelix according to the standard scheme (6 subcutaneous injections every 28 days). The prostate tissue was evaluated for the residual disease, features of pathological response according to the ABC system. Additionally, the expression of IHC markers (p53, bcl-2, p16, Ki-67, androgen receptors, c-MYC, ERG, PTEN) was evaluated on postoperative material using tissue microarray.

Results. A totally of 480 H&E postoperative and 775 H&E biopsy slides were analyzed. Group A included 10 (32.3 %) cases, group B – 16 (51.6 %), and group C – 5 (16.1 %). The variance analysis revealed a significant difference in the frequency of more localized forms of prostate cancer in group B (43.7 %) (p = 0.028). During assessment we did not find any relationship ABC system assignment and pre-operative prostate specific antigen level, the presence of a positive surgical margin, the pathological stage of diseases or regional lymph nodes involvement. However, the values of relapse-free survival vary sharply between groups: the highest median of relapse-free survival was found in group B – 23.02 ± 12.61 months, patients of groups A/C could not achieve the level of median relapse-free survival – 11.7 ± 6.43 and 16.19 ± 16.54 months respectively.

Conclusion. The effectiveness of neoadjuvant chemohormonal therapy for high risk prostate cancer can be assessed by the features of pathologic response through ABC system which has demonstrated own versatility and reproducibility in presented material. Neoadjuvant therapy with docetaxel and degarelix can improve the treatment outcomes of prostate cancer patients at high and very high risk of disease progression. The data on changes in the prostate tissue can be helpful in predicting the duration of the effect after chemohormonal therapy with subsequent surgery.

Key words: prostate cancer, radical prostatectomy, neoadjuvant therapy, chemotherapy, hormone therapy, pathologic response, tumor response

For citation: Berkut M.V., Artemjeva A.S., Tolmachev S.S. et al. Pathologic response to neoadjuvant therapy of high risk prostate cancer. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2020;16(3):80–9. (In Russ.).

Введение

Рак предстательной железы (РПЖ) — наиболее распространенное злокачественное новообразование [1]. При этом в среднем в 20–25 % случаев заболевание относится к группе высокого и очень высокого риска [2–4]. Пациенты этой группы более склонны к прогрессированию и метастазированию заболевания [5]. Согласно рекомендациям Европейской ассоциации урологов лечение таких пациентов сводится к хирургическому вмешательству в рамках мультидисциплинарного подхода [6, 7].

Одним из предложенных ранее вариантов является неoadъювантная химиогормональная терапия (НХГТ), показавшая эффективность у определенной категории пациентов [8]. Тем не менее в настоящее время отсутствуют критерии прогноза, которые могли бы предположить эффективность комбинированного подхода (НХГТ с последующей радикальной простатэктомией (РПЭ)). Несмотря на то что современные возможности позволяют определить потенциальные биологические/молекулярные маркеры в опухолевых образцах, полученных до системной терапии и после нее [9], морфологические критерии после

проведения НХГТ и эффективность влияния системного лечения на опухолевую ткань при РПЖ высокого и очень высокого риска до сих пор не определены.

Цель исследования — оценить морфологические характеристики ткани предстательной железы на фоне проведенной неoadъювантной терапии и взаимосвязь этих изменений с онкологическими показателями.

Материалы и методы

В период с марта 2014 г. по декабрь 2018 г. в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова проведена оценка безопасности и эффективности НХГТ у пациентов с РПЖ высокого и очень высокого риска. Исследование получило одобрение локального этического комитета НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова (протокол № 1 от 13.02.2014). Все пациенты подписали информированное согласие об участии в исследовании. Стадирование проводили согласно стандартам Европейской ассоциации урологов, актуальным на момент включения в исследование.

Полный курс НХГТ с последующей РПЭ был проведен 36 пациентам. Характеристики пациентов до лечения представлены в таблице. В связи с отсутствием

гистологического материала на момент выполнения иммуногистохимического (ИГХ) анализа из исследования исключены 5 пациентов. В окончательный ретроспективный анализ включены результаты лечения 31 пациента.

Характеристики пациентов до начала лечения (n = 36)

Patients' characteristics before treatment (n = 36)

Показатель Characteristic	Значение Value
Средний возраст (IQR ± SD), лет Mean age (IQR ± SD), years	62,88 ± 7,37
Средний объем предстательной железы до терапии (IQR), мл Average volume of the prostate before therapy (IQR), ml	45,91 ± 34,56
Средний объем предстательной железы на момент операции (IQR), мл Average volume of the prostate after neoadjuvant chemohormonal therapy (IQR), ml	37,77 ± 29,06
Средний уровень ПСА до терапии (IQR), нг/мл Average PSA level before therapy (IQR), ng/ml	31,83 ± 28,08
Средний уровень ПСА на момент операции (IQR), нг/мл Average PSA level after neoadjuvant chemohormonal therapy (IQR), ng/ml	0,82 ± 1,0
Гистологическая оценка биоптатов по шкале ISUP, n: Histologic examination of biopsy specimen using ISUP scale, n:	
1	4
2	9
3	8
4	10
5	5
Клиническая стадия TNM, n: Clinical TNM stage, n:	
≤T2b	2
T2c	2
T3a	11
≥T3b	21
N1	10

Примечание. IQR – межквартильный размах; SD – стандартное отклонение; ПСА – простатический специфический антиген; ISUP – Международное общество уропатологов.

Note. IQR – interquartile range; SD – standard deviation; PSA – prostate specific antigen; ISUP – International Society of UroPathologists.

В ходе НХГТ пациенты получали 6 введений препарата дегареликс в инициальной дозе 240 мг, разделенной на 2 введения по 120 мг с поддерживающей дозой 80 мг через 1 мес после введения начальной дозы, 1 раз в 28 дней с общей продолжительностью медикаментозного лечения 6 мес. Также больным проводили 6 циклов терапии препаратом доцетаксел (внутривенно капельно в дозе 75 мг/м²) каждые 3 нед в комбинации

с дексаметазоном за 12, 1 ч до введения и через 6, 12, 30 ч после введения доцетаксела. После завершения курса НХГТ всем пациентам выполнено оперативное лечение в объеме лапароскопической РПЭ без нервосбережения с двусторонней лимфаденэктомией до бифуркации аорты/нижней брыжеечной артерии. Результаты оценки эффективности НХГТ и хирургического лечения представлены нами ранее [10].

Патоморфологический анализ операционного материала проводили 2 штатных патолога в рамках клинического исследования в соответствии с действующими рекомендациями Колледжа американских патологов (CAP) версии 4.0.3, т.е. при отсутствии выраженных признаков морфологического регресса grade по критериям ISUP был оценен стандартно, как и при отсутствии предоперационной терапии. Таких случаев в нашей выборке было большинство. Дополнительно выполнен анализ гистоархитектоники и цитологических признаков на наличие ядрышек, интактных опухолевых желез или отдельных клеток, определен процент клеточной плотности в пределах опухолевого ложа (размер рассчитан по границе инвазивного компонента опухоли), что позволило разделить образцы на 3 группы по системе ABC [11]. Согласно этой системе к группе А отнесены случаи с преобладанием изолированных опухолевых клеток и отдельных клеточных кластеров, к группе В – образцы с наличием как интактных, так и хорошо сформированных или сливающихся желез, к группе С – варианты с преобладанием крибриформного паттерна и наличием интрадуктальной карциномы (рис. 1). Присутствие гиалиновых телец *Corpora amilacea* рассматривалось как самостоятельный предиктивный фактор и не вошло в данную систему признаков. Качественные переменные были записаны полуколичественным способом с использованием трехуровневой системы (0 – отсутствие признака, 1 – фокусное/изолированное проявление и 2 – диффузное проявление признака).

В качестве ИГХ-маркеров были исследованы следующие показатели: p53, bcl-2, p16, Ki-67, андрогеновые рецепторы, c-MYC, ERG, PTEN. Данный анализ выполнен методом построения тканевых матриц (tissue microarray, TMA) согласно стандартному протоколу.

Проводили распределение полученных данных по степени распространенности процесса в зависимости от выявленной группы патоморфологических изменений. Статистический анализ выполняли с использованием программы Statistica (версия 10, StatSoft Inc., США). Значение *p* < 0,05 принято достаточным для множественного сравнения. Взаимосвязь распространенности опухоли и отношения к группе по системе ABC определена с помощью дисперсионного анализа Краскела–Уоллиса. Для оценки достоверности различий анализируемых параметров в выборках

пациентов использовали линейные методы статистики: тест Манна–Уитни, тест Фишера, критерий Вилкоксона. Для сравнения показателей безрецидивной выживаемости (БРВ) между группами (по системе ABC) применяли *log-rank*-тест. Критерий Фишера использовали для оценки влияния потери экспрессии генов на выявление метастатической формы РПЖ, степени дифференцировки аденокарциномы по шкале ISUP и распределения по критериям системы ABC.

Результаты

Анализ клинических характеристик. Всего у 31 пациента проанализировано 480 микропрепаратов биопсийного материала и 775 препаратов операционного материала. Медиана наблюдения составила 28,5 (6–48) мес. Распределение пациентов в зависимости от степени дифференцировки по шкале ISUP представлено в табл. 1.

Патоморфологические характеристики после НХГТ и РПЭ. Запланированное хирургическое лечение в полном объеме выполнено 35 (97,2 %) из 36 пациентов, в 1 случае операционный этап ограничен лимфаденэктомией. Изменения гистоархитектоники аденокарциномы предстательной железы оценены по следующим критериям: интактные опухолевые железы, изолированные опухолевые клетки, наличие стромального компонента, бесклеточной стромы, солидных полей, криброзный паттерн, интрадуктальная карцинома.

Гистологическая оценка образцов опухоли после проведенного комбинированного лечения показала, что архитектурные паттерны в остаточной опухоли РПЖ представлены преимущественно интактными железами или отдельными клеточными кластерами диффузно во всем объеме препарата в 27,8 % (10 из 31)

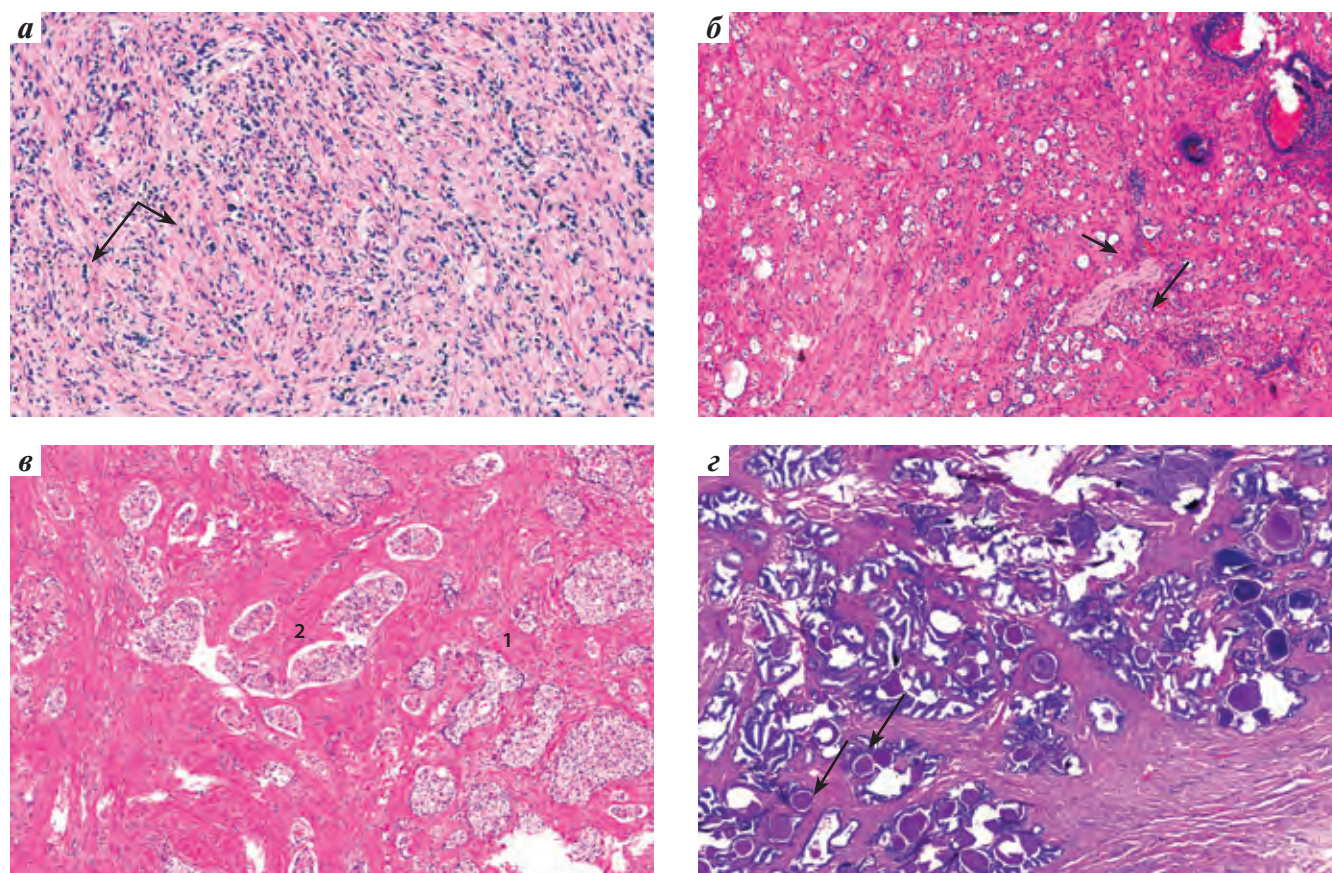


Рис. 1. Гистоархитектурные проявления лечебного патоморфоза, используемые в системе ABC (окраска гематоксилином и эозином; $\times 200$): а – аденокарцинома предстательной железы, паттерн 4 по шкале ISUP, группа А; стрелками указаны изолированные опухолевые клетки, кластеры, цепочки клеток; б – аденокарцинома предстательной железы, паттерн 3 по шкале ISUP, группа В; стрелками указаны сохранные опухолевые железы; в – аденокарцинома предстательной железы, паттерн 5 по шкале ISUP, группа С; интрадуктальная карцинома (1), криброзный компонент (2); г – стрелками указаны гиалиновые массы в железах, так называемые Corpora amylacea

Fig. 1. Histopathologic grouping (ABC) of tumor response (stained with hematoxylin and eosin, $\times 200$): а – adenocarcinoma of the prostate, pattern 4 according to ISUP grading system, group A; arrows indicate to cell clusters, cords, and isolated cells; б – adenocarcinoma of the prostate, pattern 3 according to ISUP grading system, group B; arrows indicate to intact and fused small glands; в – adenocarcinoma of the prostate, pattern 5 according to ISUP grading system, group C; arrows indicate to cribriform growth pattern (2) or intraductal tumor (1) spread; г – arrows indicate to small hyaline masses found in the prostate gland – Corpora amylacea

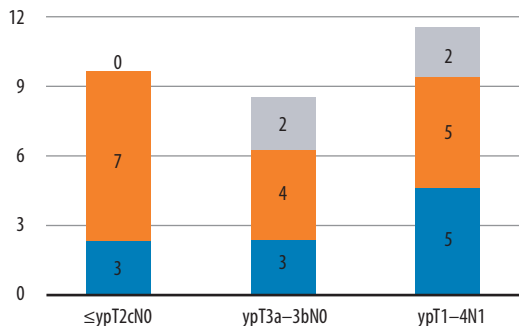


Рис. 2. Распределение пациентов по патоморфологической стадии в зависимости от выявленной степени изменений гистоархитектоники опухолевой ткани по системе ABC

Fig. 2. The distribution of patients according to the pathology stage disease in depend on the revealed histopathologic groups A, B and C

случаев и в виде отдельных очагов в половине случаев (18 из 31). В большинстве случаев (42,0 %) отдельно лежащие опухолевые клетки не выявлены. Криброзный компонент в различной степени отмечен в 64 %, а интрадуктальная карцинома – только в 22,2 % случаев изученного материала.

Дальнейшая стратификация данных морфологического анализа по системе ABC показала, что в зависимости от степени проявления признаков лечебного патоморфоза образцы могут быть разделены следующим образом: 10 (32,3 %) опухолей были отнесены к группе А, 16 (51,6 %) – к группе В, 5 (16,1 %) – к группе С. Распределение полученных данных по степени распространенности процесса в зависимости от выявленной группы патоморфологических изменений (рис. 2) показало, что в группе А 9,68 % изученных случаев представлено локализованным процессом, 9,68 % – местно-распространенными формами РПЖ и 16,1 % – распространением процесса с вовлечением регионарных лимфатических узлов. В группе В 7 (22,58 %) случаев представлено образцами с локализованным процессом, местно-распространенные формы РПЖ выявлены в 4 (12,9 %) наблюдениях, распространение процесса на тазовые лимфатические узлы – в 5 (16,13 %). В группе С не было ни одного случая локализованного РПЖ и отмечено по 2 (12,9 %) случая местно-распространенных форм РПЖ высокого и очень высокого риска.

Дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса выявил достоверное различие частоты более локализованных форм РПЖ по системе ABC ($p = 0,028$). Однако при проведении данного анализа не выявлено достоверной взаимосвязи между разделением по системе ABC и предоперационным уровнем простатического специфического антигена, наличием положительного хирургического края (R+), патологоанатомической стадией заболевания (pT) или распространением заболевания на регионарные лимфатические узлы (pN1) и наступлением прогрессирования заболевания. В то

же время статистически доказана взаимосвязь между отдельными архитектурными компонентами аденокарциномы предстательной железы, такими как интенсивность окраски ядрышек в клетках эпителия желез, присутствие гиалиновых телец и доминирование отдельных опухолевых клеток ($p < 0,005$).

Показатели выживаемости в соответствии с распределением по системе ABC. Дополнительно была исследована потенциальная корреляция системы ABC с данными о случаях биохимического рецидива. Средняя продолжительность наблюдения составила $32,78 \pm 16,49$ (3,0–64,0) мес, при этом медиана БРВ – $16,33 \pm 3,18$ мес (95 % доверительный интервал 15,5–24,95). В ходе настоящего анализа установлено, что показатель БРВ резко варьировал между группами. Наибольшая медиана БРВ выявлена в группе В – $23,02 \pm 12,61$ мес. Пациенты групп А и С не смогли достичь уровня общей медианы БРВ – $11,7 \pm 6,43$ и $16,19 \pm 16,54$ мес соответственно. Тем не менее при сравнении показателей БРВ между группами статистически достоверных различий не отмечено ($\chi^2 = 5,414209$; $df = 2$; $p = 0,06675$). В связи с этим проведено разделение выявленных признаков гистоархитектоники в операционном материале по принципу более благоприятного и менее благоприятного прогноза на вероятность повышения уровня простатического специфического антигена в послеоперационном периоде $>0,2$ нг/мл. Группа В осталась без изменений (данные 16 пациентов), а группы А и С объединены между собой с учетом

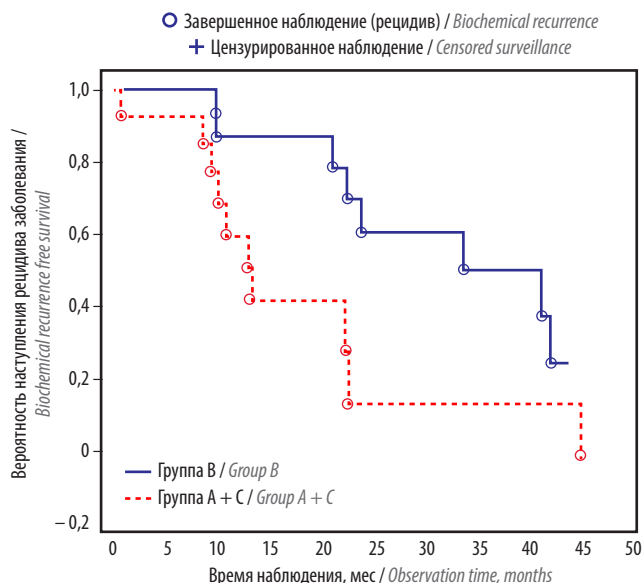


Рис. 3. Безрецидивная выживаемость больных раком предстательной железы высокого и очень высокого риска в зависимости от степени выраженности изменений гистоархитектоники аденокарциномы по системе ABC

Fig. 3. Relapse-free survival of patients with high-risk prostate cancer in depend on the severity of changes in histopathologic groups A, B and C

общего отрицательного влияния архитектурного и цитологического параметров на показатели выживаемости. Таким образом, в группу А + С вошли 14 пациентов, при этом был выровнен дисбаланс по патоморфологическим стадиям. При повторном сравнении показателей БРВ между новыми группами *log-rank*-тест выявил достоверные различия между временем до наступления рецидива заболевания: $12,79 \pm 9,23$ мес в группе А + С против $23,023 \pm 12,61$ мес в группе В, что превышает общую медиану БРВ на 6,7 мес для всей группы НХГТ (рис. 3).

Сравнительный ИГХ-анализ ТМА-блоков биопсийного и послеоперационного материала. Для оценки экспрессии тканевых и эпигенетических маркеров

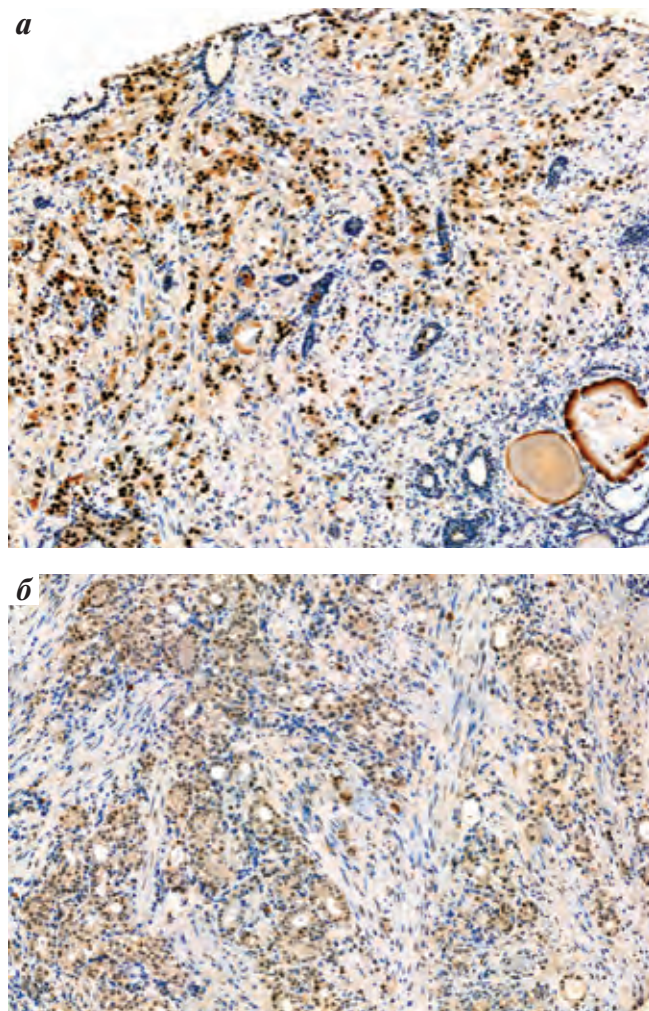


Рис. 4. Иммуногистохимический анализ, окраска антителами к белку p53 ($\times 200$): а – выраженная иммуногистохимическая реакция на маркер p53 (мутантный тип) после неoadъювантной химиогормональной терапии; б – сниженная иммуногистохимическая реакция на маркер p53 («дикий» тип) после неoadъювантной химиогормональной терапии
Fig. 4. Immunohistochemical analysis, p53 protein ($\times 200$): а – mutant type of p53 protein after neoadjuvant chemohormonal therapy; б – reduced immunohistochemical reactivity on p53 protein after neoadjuvant chemohormonal therapy (“wild” type)

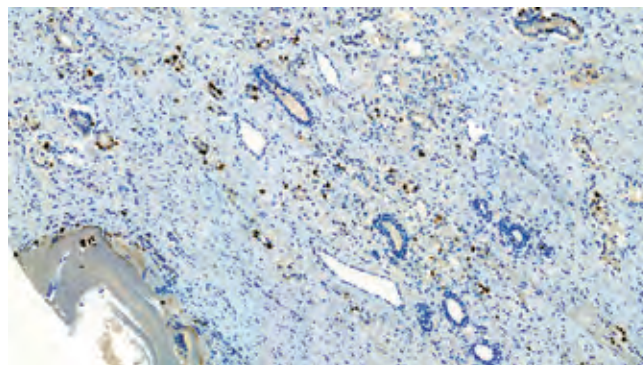


Рис. 5. Иммуногистохимическая реакция на белок Ki-67 после неoadъювантной химиогормональной терапии (индекс пролиферативной активности 10 %), $\times 200$

Fig. 5. Immunohistochemical analysis, Ki-67 protein after neoadjuvant chemohormonal therapy (proliferative activity 10 %), $\times 200$

прогрессирования и агрессивности опухолевого процесса на фоне проведенного предоперационного лечения выполнено ИГХ-исследование 32 блоков биопсийного и 31 блока операционного материала методом формирования ТМА-матрицы. ТМА-матрицы содержали 84 тканевых фрагмента РПЖ, из них 9 наблюдений были представлены локализованным процессом, 7 – местно-распространенными формами и 15 – с вовлечением регионарных лимфатических узлов.

При окраске антителами к белку p53 выявлено 6 (18,75 %) случаев мутантного фенотипа до НХГТ и только 2 (6,4 %) случая после лечения (рис. 4). При этом до терапии 4 случая с наличием окрашивания p53, характерного для мутантного фенотипа, соответствовали местно-распространенному процессу РПЖ, а в 2 случаях выявлено вовлечение регионарных лимфатических узлов (урТ1–4N1). Тем не менее в 16 (51,6 %) случаях вне зависимости от статуса p53 наблюдалось уменьшение стадии рТ после терапии. Оба случая мутантного типа экспрессии белка p53 соответствовали местно-распространенной форме РПЖ крайне низкой степени дифференцировки (ISUP5). Медиана БРВ у этих пациентов составила $15,25 \pm 9,63$ мес.

При окраске биопсийного материала на Ki-67 только у 2 (6,4 %) пациентов до операции выявлена низкая доля клеток, экспрессирующих белок Ki-67 (рис. 5), в остальных случаях индекс пролиферативной активности составил $\Delta 9,3 \pm 6,78$. После проведенного курса комбинированного лечения у 93,54 % пациентов (у 16,7 % из них диагностирована стадия урТ1–4N1) отмечено статистически достоверное снижение индекса пролиферативной активности до $\Delta 2,83 \pm 2,16$ (95 % доверительный интервал 1,96–11,03; $p = 0,009$) в рамках исследуемых фрагментов и только в 2 случаях – незначительное увеличение индекса.

Иммуногистохимическое исследование с онкопротеином bcl-2, являющимся блокатором апоптоза, не выявило статистически значимого изменения экспрессии

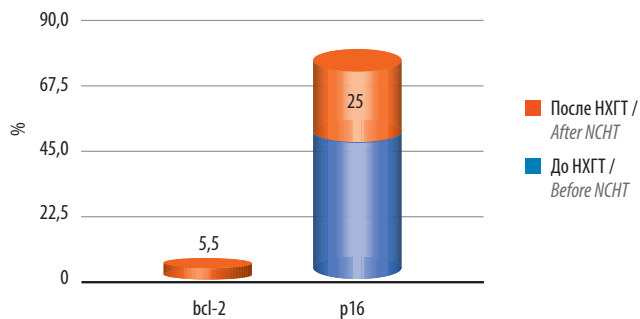


Рис. 6. Изменение уровней экспрессии маркеров *bcl-2*, *p16* на фоне комбинированного лечения. НХГТ – неoadъювантная химиогормональная терапия

Fig. 6. Dynamic of expression *bcl-2* and *p16* proteins during combined treatment. NCHT – neoadjuvant chemohormonal therapy

белка в исследованных образцах ($p > 0,05$). Так, на предоперационном этапе у всех пациентов наблюдалось полное отсутствие экспрессии *bcl-2*, а после комбинированного лечения экспрессия появилась только в 2 (5,5 %) случаях (рис. 6).

В то же время при оценке другого регулятора клеточного цикла *p16* (рис. 7) выявлено достоверное снижение уровня экспрессии белка с 55,5 % (20 из 32 биоптатов) до 25,0 % после НХГТ (9 из 31 биоптатов).

Экспрессия ERG в биоптатах выявлена в 65,6 % случаев, однако на фоне терапии статистически значимого снижения экспрессии не обнаружено и она составила 52,0 % ($n = 16$; $p = 0,345$).

До НХГТ у 8 пациентов отмечено положительное окрашивание на PTEN (рис. 8а), однако после комбинированного лечения выявлена полная потеря экспрессии данного фактора (рис. 8б). При однофакторном анализе показано влияние потери экспрессии данного белка на развитие метастатической формы РПЖ урТ1–4N1 (уровень значимости критерия Фишера $p = 0,01$), наличие более низкой степени дифференцировки аденокарциномы по шкале ISUP (уровень значимости критерия Фишера $p = 0,013$) и распределение по критерию ABC (уровень значимости критерия Фишера $p \leq 0,05$). Положительная ИГХ-реакция с антителами к белку с-МYC после операции выявлена у 24 (77,4 %) пациентов, отрицательная – только у 7 (22,6 %).

Полуколичественный анализ распределения андрогеновых рецепторов выявил более высокий уровень их экспрессии до терапии ($79,16 \pm 22,34$ %), однако после нее статистически значимой потери рецепторов на исследованных образцах опухолевой ткани не отмечено ($52,5 \pm 28,88$ %; $p = 0,15$) и только в 1 случае не обнаружена положительная окраска на андрогеновые рецепторы. Среднее количество положительных опухолевых клеток при ИГХ-анализе на андрогеновые рецепторы в группе А составило $61,7 \pm 31,53$ %, в группе В – $50,75 \pm 30,88$ %, в группе

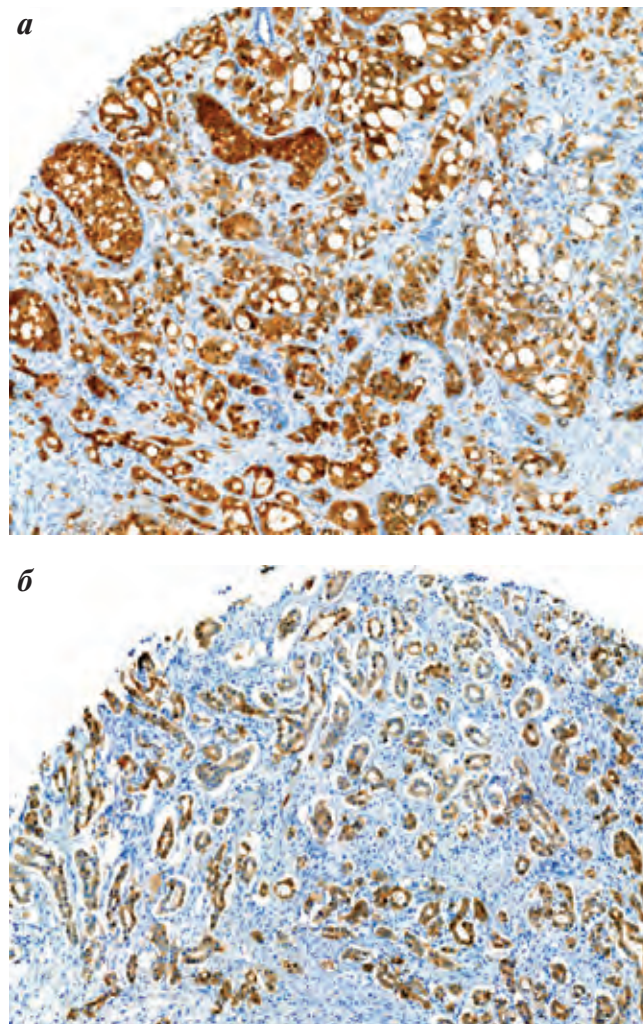


Рис. 7. Иммуногистохимическая реакция на белок *p16* ($\times 200$): а – до неoadъювантной химиогормональной терапии (block type); б – после неoadъювантной химиогормональной терапии (non-block type)

Fig. 7. Immunohistochemical reactivity to *p16* protein ($\times 200$): а – before neoadjuvant chemohormonal therapy (block type); б – after neoadjuvant chemohormonal therapy (non-block type)

С – $49,4 \pm 24,27$ %, достоверно не различалось между группами ($p = 0,66$ по χ^2 -критерию) и не может служить прогностическим критерием наступления раннего биохимического рецидива.

При проведении корреляционного анализа с вычислением парных коэффициентов корреляции Пирсона установлена прямая линейная связь уровня экспрессии андрогеновых рецепторов с протоонкогеном с-МYC ($r = 0,78$ при $p < 0,005$) (рис. 9).

Обсуждение

Лечебный патоморфоз – типовые и стойкие изменения клинических и морфологических проявлений опухоли под воздействием лечения. Понятие лечебного патоморфоза введено в конце 70-х – начале 80-х годов прошлого столетия с момента внедрения неoadъюван-

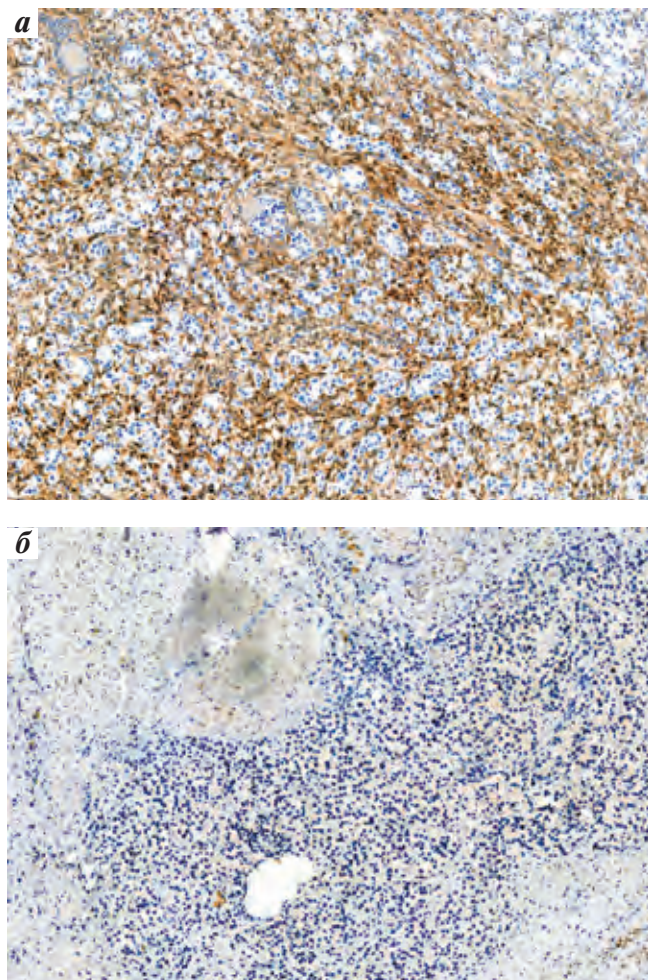


Рис. 8. Иммуногистохимическая реакция на *PTEN* ($\times 200$): *a* – положительная *PTEN*-реакция до неoadъювантной химиогормональной терапии; *b* – полная потеря экспрессии *PTEN* после неoadъювантной химиогормональной терапии

Fig. 8. Immunohistochemical reactivity to *PTEN* protein ($\times 200$): *a* – positive immunohistochemical reaction to *PTEN* before neoadjuvant chemohormonal therapy; *b* – complete loss of expression *PTEN* after neoadjuvant chemohormonal therapy

тного подхода к лечению злокачественных новообразований [12]. Для оценки эффективности проводимой предоперационной лучевой и/или химиотерапии широко применяют изучение терапевтического патоморфоза в опухолевой ткани. Принято считать, что наиболее полно действие цитостатиков или гамма-терапии отражают такие признаки, как дистрофические, некротические изменения, полиморфизм опухолевых клеток, митотическая активность, выраженность фиброза и гиалиноза опухолевой ткани. Полный лечебный патоморфоз в литературе обозначен как полное отсутствие опухолевых клеток. Однако, несмотря на обилие систем по оценке патоморфологического ответа, основанных на количественной и полуколичественной оценке доли жизнеспособных опухолевых клеток, универсальной системы лечебного патоморфоза

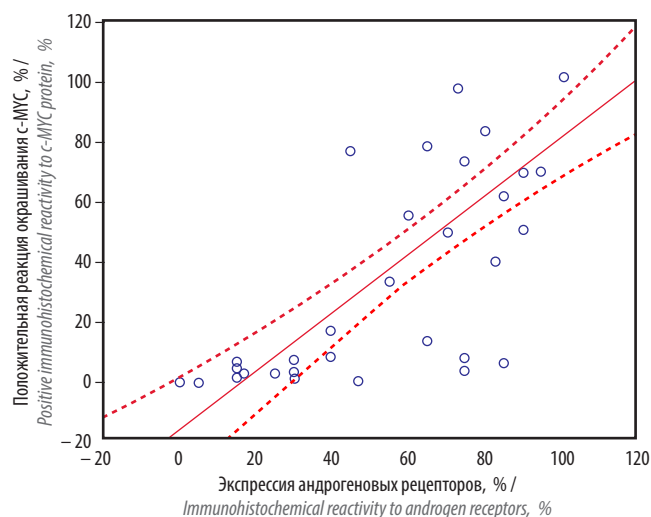


Рис. 9. Корреляционный анализ между уровнем положительной иммуногистохимической реакции на андрогеновые рецепторы и протоонкогенным белком *c-MYC*

Fig. 9. Correlation analysis between the level of positive immunohistochemical reactivity of androgen receptors and *c-MYC* protein

РПЖ не существует. Используемые в работе патоморфологами системы Г.А. Лавниковой (1972), Е.Ф. Лушниковой (1977), Н.А. Краевского (1977) нельзя однозначно применять для оценки изменений РПЖ ввиду их универсальности и неспецифичности для предстательной железы [14, 15].

С. Murphy и соавт. по результатам НХГТ 37 пациентов выявили 9 признаков изменения гистоархитектоники ткани предстательной железы на фоне лечения, в том числе по данным ранее предложенной системы ABC [9]. Последняя оказалась наиболее воспроизводимым подходом к оценке патоморфоза для предстательной железы по результатам РПЭ после НХГТ ($\kappa = 0,56-0,7$) [13]. Тем не менее, несмотря на наличие критериев лечебного патоморфоза в целом, наше исследование оказалось первым, оценившим специфические критерии изменения ткани предстательной железы, возникающие под воздействием комбинированного применения химио- и гормонального препарата.

Система оценки ABC представляется простой и удобной для использования, однако некоторые моменты в ней нуждаются в пояснении. Так, в соответствии с ранее представленным определением в нашей работе показаны различия в частоте встречаемости (группа В – более 50 %) и агрессивности (группы А и С – наибольшая частота местно-распространенного процесса). Эти данные отличаются от результатов работы Е. Efsthathiou и соавт., в которой к группе В были отнесены менее 20 % пациентов, а основная часть больных (72 %) имели крибриформный паттерн и/или интрадуктальный компонент – группа С [11]. Объяснением этому может быть различие в схемах НХГТ: только

четверть пациентов в данной работе получали доцетаксел (28 из 115 больных; примерно такое же число пациентов – только гормональную терапию и половина – кетоконазол, эстрамустин, доксорубин или винбластин), тогда как в нашем исследовании все пациенты ($n = 31$) получили курс НХГТ в полном объеме.

Различия с ранее опубликованными данными отмечены и в оценке онкологических показателей. В работе E. Efstathiou и соавт. в течение 6,6 года наблюдения у около половины пациентов группы С зафиксирован биохимический рецидив, в группах А и В этот показатель составил порядка 13 % [11]. В нашей работе наибольшая медиана БРВ выявлена в группе В ($23,02 \pm 12,61$ мес), однако БРВ была значительно ниже не только в группе С ($16,19 \pm 16,54$ мес), но и в группе А ($11,7 \pm 6,43$ мес). В связи с этим для получения статистической достоверности в различиях онкологических показателей мы объединили пациентов из групп А и С, получив достоверные различия БРВ между группами А + С ($12,79 \pm 9,23$ мес) и В ($23,023 \pm 12,61$ мес). При этом в группе В чаще остальных (43,7 %) встречались случаи локализованного процесса РПЖ.

Выявленные нами изменения в окраске биопсийного и операционного материала на заявленные ИГХ-маркеры были оценены в ряде других публикаций, в том числе и при местно-распространенном РПЖ [14], однако впервые оценка проведена после совместного применения доцетаксела и антагониста гонадотропин рилизинг-гормона при РПЖ высокого риска. По нашим результатам выявлено снижение частоты мутантного фенотипа белка p53 после НХГТ, а также статистически достоверное снижение индекса пролиферативной активности Ki-67 у 80 % пациентов (в том числе при метастатическом поражении региональных лимфатических узлов) по сравнению с данными анализа биопсийного

материала. После НХГТ отмечено достоверное снижение уровня экспрессии белка p16 на 30 % (с 55,5 до 25 %), частоты экспрессии ERG с 65,6 % (в биоптатах) до 52,0 % (операционный материал) и частоты положительного окрашивания на PTEN до полной потери окрашивания на данный белок. Кроме этого, обнаружена достаточно сильная взаимосвязь между уровнем ИГХ-окраски на белок c-MYC и экспрессией андрогеновых рецепторов, а также их распределением по системе ABC. С учетом ранее выявленных данных [15] о возможном влиянии активированного гена c-MYC в клеточных линиях РПЖ, нарушение регуляции которого обеспечивает формирование кастрационно-резистентного штамма клеток аденокарциномы, уровни экспрессии андрогеновых рецепторов и протоонкогена c-MYC дополнительно были подвергнуты анализу на выявление взаимосвязи между этими показателями. Наши данные о линейной связи изучаемых параметров могут косвенно демонстрировать отсутствие влияния НХГТ на формирование кастрационно-резистентного РПЖ среди пациентов, включенных в исследование. В то же время ряд маркеров не подтвердил свою прогностическую значимость при оценке эффективности НХГТ: ИГХ-анализ с bcl-2 не выявил статистически значимого изменения экспрессии белка в исследованных образцах до и после лечения.

Заключение

Неoadъювантная терапия с использованием доцетаксела и дегареликса может улучшить результаты лечения РПЖ у больных групп высокого и очень высокого риска прогрессирования заболевания. Выявленные данные об изменениях в ткани предстательной железы могут позволить прогнозировать продолжительность эффекта после химиогормонального лечения с последующим оперативным вмешательством.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Siegel R., Naishadham D., Jemal A. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2013;63(1):11–30. DOI: 10.3322/caac.21166.
2. Cooperberg M.R., Cowan J., Broering J.M., Carroll P.R. High-risk prostate cancer in the United States, 1990–2007. *World J Urol* 2008;26(3):211–8. DOI: 10.1007/s00345-008-0250-7.
3. D'Amico A.V., Moul J., Carroll P.R. et al. Cancer-specific mortality after surgery or radiation for patients with clinically localized prostate cancer managed during the prostate-specific antigen era. *J Clin Oncol* 2003;21(11):2163–72. DOI: 10.1200/JCO.2003.01.075.
4. Zelefsky M.J., Eastham J.A., Cronin A.M. et al. Metastasis after radical prostatectomy or external beam radiotherapy for patients with clinically localized prostate cancer: a comparison of clinical cohorts adjusted for case mix. *J Clin Oncol* 2010;28(9):1508–13. DOI: 10.1200/JCO.2009.22.2265.
5. Cooperberg M.R., Vickers A.J., Broering J.M., Carroll P.R. Comparative risk-adjusted mortality outcomes after primary surgery, radiotherapy, or androgen-deprivation therapy for localized prostate cancer. *Cancer* 2010;116(22):5226–34. DOI: 10.1002/encr.25456.
6. Mohler J.L., Armstrong A.J., Bahnsen R.R. et al. Prostate cancer, Version 3.2012: featured updates to the NCCN guidelines. *J Natl Compr Canc Netw* 2012;10(9):1081–7. DOI: 10.6004/jnccn.2012.0114.
7. Goldberg H., Baniel J., Yossepowitch O. Defining high-grade prostate cancer. *Curr Opin Urol* 2013;23:337–41. DOI: 10.1097/MOU.0b013e328361dba6.
8. Носов А.К., Петров С.Б., Рева С.А. и др. Исследование безопасности и эффективности химиотерапии доцетакселом перед радикальной простатэктомией у больных раком предстательной железы промежуточного и высокого риска (наблюдение в течение 11,4 года). *Онкоурология* 2014;(4):52–61. [Nosov A.K., Petrov S.B., Reva S.A. et al. Results of a unicenter

- randomized study of the safety and efficiency of docetaxel chemotherapy before radical prostatectomy in patients with intermediate- and high-risk prostate cancer: An 11.4-year follow-up. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2014;(4):52–61. (In Russ.).
9. Efsthathiou E., Troncoso P., Wen S. et al. Initial modulation of the tumor microenvironment accounts for thalidomide activity in prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13(4):1224–31. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-1938.
10. Носов А.К., Рева С.А., Беркут М.В. и др. Неoadъювантная терапия у больных раком предстательной железы высокого и очень высокого риска. *Вопросы онкологии* 2019;65(5):726–35. [Nosov A.K., Reva S.A., Berkut M.V. et al. Neoadjuvant for patients with high and very high risk prostate cancer. *Voprosy onkologii = Problems in Oncology* 2019;65(5):726–35. (In Russ.)].
11. Efsthathiou E., Abrahams N.A., Tibbs R.F. et al. Morphologic characterization of preoperatively treated prostate cancer: toward a post-therapy histologic classification. *Eur Urol* 2010;57(6):1030–8. DOI: 10.1016/j.eururo.2009.10.020.
12. Шайкина А.С., Рыжавский Б.Я., Беков С.В. и др. Иммуногистохимический анализ рецепторов эстрогенов и прогестерона, Ki-67 в молочной железе в норме, при раке и доброкачественных опухолях. *Дальневосточный медицинский журнал* 2011;(1):34–7. [Shaykina A.S., Ryzhavskiy B.Ya., Bekov S.V. et al. Immunohistochemical analysis of estrogen and progesterone receptors, Ki-67 in the mammary gland is normal, with cancer and benign tumors. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal = Far Eastern Medical Journal* 2011;(1):34–7. (In Russ.)].
13. Murphy C., True L., Vakar-Lopez F. et al. A novel system for estimating residual disease and pathologic response to neoadjuvant treatment of prostate cancer. *Prostate* 2016;76(14):1285–92. DOI: 10.1002/pros.23215.
14. Башлык В.О., Семиглазов В.Ф., Кудайбергенова А.Г. и др. Оценка изменения морфологических и иммуногистохимических характеристик карцином молочной железы при проведении неoadъювантной системной терапии. *Опухоли женской репродуктивной системы* 2018;14(1):12–9. DOI: 10.17650/1994-4098-2018-14-1-12-19. [Bashlyk V.O., Semiglazov V.F., Kudaybergenova A.G. et al. Evaluation of morphological and immunohistochemical changes of breast carcinomas after neoadjuvant systemic therapy. *Opukholi zhenskoy reproduktivnoy systemy = Tumors of Female Reproductive System* 2018;14(1):12–9. (In Russ.)].
15. Лисаева А.А., Вишневецкая Я.В., Рошин Е.М. и др. Лечебный патоморфоз злокачественных опухолей: клинические и морфологические критерии. Классификации. Прогностическое значение лечебного патоморфоза при раке молочной железы и других опухолях. Опухоли женской репродуктивной системы 2011;(4):19–23. [Lisayeva A.A., Vishnevskaya Ya.V., Roshchin E.M. et al. Therapeutic pathomorphism of malignancies: Clinical and morphological criteria. Classifications. Prognostic value of therapeutic pathomorphism in breast cancer and other tumors. *Opukholi zhenskoy reproduktivnoy systemy = Tumors of Female Reproductive System* 2011;(4):19–23. (In Russ.)].

Вклад авторов

М.В. Беркут: статистическая обработка материала, обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи;
 А.С. Артемьева: разработка дизайна исследования, статистическая обработка материала;
 С.С. Толмачев: получение данных для анализа, написание текста рукописи;
 С.А. Рева: написание текста рукописи;
 С.Б. Петров, А.К. Носов: разработка дизайна исследования.

Authors' contributions

M.V. Berkut: statistical processing of material, reviewing of publications of the article's theme, article writing;
 A.S. Artemjeva: developing the research design, statistical processing of material;
 S.S. Tolmachev: obtaining data for analysis, article writing;
 S.A. Reva: article writing;
 S.B. Petrov, A.K. Nosov: developing the research design.

ORCID авторов / ORCID of authors

М.В. Беркут / M.V. Berkut: <https://orcid.org/0000-0002-6276-1716>
 А.С. Артемьева / A.S. Artemjeva: <https://orcid.org/0000-0002-2948-397X>
 С.А. Рева / S.A. Reva: <https://orcid.org/0000-0001-5183-5153>
 А.К. Носов / A.K. Nosov: <https://orcid.org/0000-0003-3850-7109>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. Протокол № 1 от 13.02.2014.

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of N.N. Petrov Research Institute of Oncology. Protocol No. 1 dated 13.02.2014. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 17.12.2019. Принята к публикации: 23.05.2020.

Article submitted: 17.12.2019. Accepted for publication: 23.05.2020.