

## Прогностическое значение иммуногистохимических маркеров Ki-67 и p53 после радикальной простатэктомии

М.В. Ковылина, Е.А. Прилепская, И.П. Сергейко, Т.Н. Моисеенко, К.Б. Колонтарев,  
А.В. Говоров, Д.Ю. Пушкарь

Кафедра урологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России

Контакты: Елена Анатольевна Прилепская [prilepskayae@mail.ru](mailto:prilepskayae@mail.ru)

**Введение.** Рак предстательной железы (РПЖ) — одна из наиболее распространенных злокачественных опухолей у мужчин. Сумма баллов по шкале Глисона (индекс Глисона) является одним из самых важных прогностических факторов у пациентов с РПЖ. Экспрессия белков p53 и Ki-67 также рассматривается в качестве прогностического фактора.

**Цель исследования** — определение частоты, с которой проявляется экспрессия данных белков, и сопоставление полученных результатов с оценкой по шкале Глисона.

**Материалы и методы.** В рамках данного исследования были изучены препараты предстательной железы после радикальной простатэктомии. Проведена оценка степени дифференцировки опухоли по шкале Глисона. Экспрессия Ki-67 и p53 выявлялась иммуногистохимическим методом. Статистическая обработка данных выполнялась с применением статистического теста Спирмена.

**Результаты.** На основе индекса Глисона все опухоли были разделены на 3 группы: высокодифференцированные (индекс 4–6), средней степени дифференцировки (7) и низкодифференцированные (8–10). В 1-ю группу вошли 5 (16 %) пациентов, во 2-ю — 19 (64 %) и в 3-ю — 6 (20 %). Экспрессии p53 и Ki-67 не наблюдалось ни в одном из образцов высокодифференцированной опухоли. Отмечена статистически значимая взаимосвязь между повышением показателя пролиферации Ki-67 и увеличением индекса Глисона.

**Выводы.** В соответствии с результатами данного исследования использование оценки экспрессии маркера Ki-67 в качестве прогностического фактора при РПЖ представляется возможным. Вместе с тем возможная взаимосвязь между экспрессией маркера p53 и прогнозом при РПЖ требует дальнейшего изучения.

**Ключевые слова:** рак предстательной железы, иммуногистохимическое исследование, индекс пролиферативной активности, Ki-67, p53, биопсия предстательной железы, радикальная простатэктомия

### Prognostic value of the immunohistochemical markers Ki-67 and p53 after radical prostatectomy

M.V. Kovylyina, E.A. Prilepskaya, I.P. Sergeiko, T.N. Moiseenko, K.B. Kolantarev, A.V. Govorov, D.Yu. Pushkar

Department of Urology, A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry,  
Ministry of Health of Russia

**Background.** Prostate cancer (PC) is one of the most common malignant tumors in men. The total Gleason (Gleason index) scores are one of the most important prognostic factors in patients with PC. The expression of p53 and Ki-67 proteins is also considered as a prognostic factor.

**Objective:** to estimate the frequency with which the expression of these proteins shows up and to compare the findings with Gleason scores.

**Materials and methods.** This investigation studied prostatic drugs after radical prostatectomy. The Gleason scale was used to rate the grade of a tumor. The expression of Ki-67 and p53 was an immunohistochemical method. The data were statistically processed using Spearman's correlation test.

**Results.** Based on the Gleason index, all the tumors were divided into 3 groups: 1) low grade (4–6 scores); 2) intermediate grade (7 scores); 3) high grade (8–10 scores). Group 1 included 5 (16 %) patients; Group 2 and 3 consisted of 19 (64 %) and 6 (20 %) patients, respectively. The expression of p53 and Ki-67 was observed in none of the low-grade tumor samples. There was a statistically significant relationship between higher Ki-67 proliferation and higher Gleason scores.

**Conclusion.** In accordance with the results of this investigation, the expression of the marker Ki-67 can be used as a prognostic factor in PC. At the same time, a possible relationship between p53 expression and prognosis in PC calls for further investigation.

**Key words:** prostate cancer, immunohistochemical study, proliferative activity index, Ki-67, p53, prostate biopsy, radical prostatectomy

#### Введение

Рак предстательной железы (РПЖ) — самая распространенная злокачественная опухоль у мужчин, а также 2-я по частоте причина смерти от злокачественных опухолей в Западных странах. Этиология РПЖ

до конца не изучена, однако клинические и экспериментальные наблюдения предполагают, что на его патогенез влияют гормональные и генетические факторы, а также факторы окружающей среды. В возникновении и прогрессировании заболевания играют роль

специфические молекулярные механизмы. Более чем в 95 % случаев РПЖ по гистологическому строению является аденокарциномой [1].

В настоящее время у многих пациентов диагноз устанавливается на ранних стадиях заболевания. Повышение частоты выявления РПЖ может быть связано с увеличением доступности анализа на определение простатспецифического антигена (ПСА), а также с использованием других диагностических методов. При низкой степени злокачественности опухоли задержка в ее выявлении не меняет качества и продолжительности жизни пациента. Однако у молодых пациентов при высокой сумме баллов по шкале Глисона (индекс Глисона) может наблюдаться быстрый рост и метастазирование опухоли, что приводит к смерти пациента в среднем в течение 2 лет. Несмотря на высокую распространенность рака данной локализации, недостаток биологических данных в этой области приводит к множеству разночтений, касающихся ранних мер по его клинической оценке и скринингу среди населения [2].

Прогностические факторы делятся на 2 группы: клинические и биологические. Клинические факторы — это данные, получаемые при исследовании крови, использовании лучевой диагностики и микроскопическом исследовании биопсийного материала. Степень дифференцировки опухоли — один из важных факторов. Для оценки степени дифференцировки РПЖ было предложено несколько систем. Одной из них, наиболее широко применяемой, является шкала Глисона. Этот метод основывается на оценке паттернов дифференцировки клеток опухоли. Индекс Глисона отражает сумму оценок первичного и вторичного паттернов в опухоли. Он может составлять от 4 до 10 баллов. В высокодифференцированных опухолях индекс Глисона составляет от 4 до 6, в опухолях со средней степенью дифференцировки — 7, в низкодифференцированных опухолях — от 8 до 10. Установлено соответствие между индексом Глисона и смертностью [3].

Биологические факторы — еще одна группа прогностических факторов. Среди них можно выделить экспрессию белков p53, p27 и Ki-67. Ряд исследований демонстрирует взаимосвязь между увеличением экспрессии маркера p53 и уменьшением степени дифференцировки, ухудшением прогноза заболевания. [4]. Ki-67 представляет собой клеточный белок, который может быть выявлен при делении клеток. Фактически это один из регуляторных белков клеточного цикла. Индекс пролиферативной активности Ki-67 выше при злокачественных опухолях, чем при доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ). Также при наличии метастазов он выше, чем при их отсутствии. В дополнение к этому, индекс пролиферативной активности Ki-67 оценивается

с применением иммуногистохимических (ИГХ) техник, и его повышение может ассоциироваться с неблагоприятным прогнозом заболевания [5–8].

Принимая во внимание корреляцию между индексом Глисона и прогнозом заболевания, значение экспрессии p53 и Ki-67 мы рассматривали как прогностический фактор.

**Цель исследования** — оценка частоты экспрессии указанных маркеров при РПЖ и их возможной корреляции с индексом Глисона.

#### **Материалы и методы**

В данном исследовании использовались парафиновые блоки препаратов ПЖ после радикальных простатэктомий, проведенных в 2013 г. Была выполнена оценка степени дифференцировки опухолей по шкале Глисона.

Соответствующие срезы были подготовлены к ИГХ-анализу и окрашены для выявления маркеров p53 и Ki-67. Каждый срез исследовался при увеличении  $\times 4$  с целью выявления областей с наибольшим числом «положительных» клеток. Затем эти области исследовались при увеличении  $\times 40$ , и среди всех клеток вычислялся процент «положительных». «Положительными» считались лишь те клетки, окраска которых не вызывала сомнения.

Экспрессия p53 оценивалась как «положительная» или «отрицательная». Образцы, в которых была выявлена экспрессия Ki-67, были разделены на 5 групп в соответствии с процентом «положительных» клеток. Случаи, в которых процент окрашенных клеток был меньше или равен 2, считались «отрицательными». Случаи, в которых индекс мечения Ki-67 был меньше или равен 25, оценивались как 1+, от 26 до 50 % — как 2+, от 51 до 75 % — как 3+, от 76 до 100 % — как 4+ [9]. Для статистического анализа соотношения индекса пролиферативной активности и индекса Глисона использовался тест Спирмена.

#### **Результаты**

Был исследован материал 30 пациентов в возрасте от 52 до 74 лет (средний возраст  $67 \pm 9,2$  года).

Основываясь на оценке дифференцировки опухоли по индексу Глисона, все опухоли были разделены на 3 группы: высокодифференцированные (индекс 4–6), средней степени дифференцировки (индекс 7) и низкодифференцированные (индекс 8–10). В 1-ю группу вошли 5 (16 %) пациентов, во 2-ю — 19 (64 %) и в 3-ю — 6 (20 %).

При окраске на p53 19 (63,3 %) срезов были оценены как «отрицательные» и 11 (36,7 %) — как «положительные». Девять образцов ткани опухоли со средней степенью дифференцировки и 2 образца низкодифференцированных опухолей были «положительными» на p53. При этом в 10 (52,6 %) фрагментах опухоли

со средней степенью дифференцировки и 4 (66,6 %) образцах низкодифференцированной опухоли не было выявлено экспрессии p53.

Таким образом, в данном исследовании не выявлено значимой взаимосвязи между экспрессией p53 и высоким индексом Глисона.

При окраске на Ki-67 в 10 случаях (33,3 %) получена оценка 1+, с равной частотой среди низко- и среднечифференцированных опухолей. В 3 (10 %) случаях была дана оценка 2+, из них в 1 случае опухоль среднечифференцированная, а в 2 – низкодифференцированная. Два (6,6 %) образца были оценены как 3+ и 3 (10 %) образца – как 4+ (во всех случаях – низкодифференцированные опухоли). Экспрессии Ki-67 не выявлено ни в одном из фрагментов высокодифференцированных опухолей. Из 19 образцов среднечифференцированных опухолей 7 были «отрицательными», 12 получили оценку 1+ и 1 образец – 2+.

Следовательно, между экспрессией Ki-67 и увеличением индекса Глисона имеется статистически значимая корреляция (корреляционный тест Спирмена) ( $p = 0,001$ ).

### Обсуждение

Из 30 изученных образцов опухолевой ткани маркер p53, выявляющий присутствие аномального белка p53, обнаружен в 11 (36,7 %) случаях. Однако между наличием данного маркера и высоким индексом Глисона статистически значимой корреляции не выявлено. Данное наблюдение может быть подтверждено тем фактом, что не у всех пациентов присутствие маркера p53 было обнаружено с помощью ИГХ-метода. Установлено, что фиксация ткани в формалине снижает экспрессию p53. Уровень экспрессии p53 в данном исследовании соответствует данным многих других исследований. В одном из них мутация p53 была изучена с применением молекулярных методов, при этом мутантный p53 был выявлен в 20 (42 %) из 48 случаев [10].

М. Ворсе и соавт. обнаружили корреляцию между накоплением p53 и выживаемостью пациентов в изученной популяции [5]. Наличие и активность p53 тесно взаимосвязана с экспрессией маркера клеточной пролиферации MIB-1, и уровень p53 был важным независимым прогностическим фактором, тесно ассоциированным с выживаемостью пациентов.

A. Sasog и соавт. показали наличие незначительных различий в экспрессии p53 в зависимости от индекса Глисона [11]. Была выявлена только положительная зависимость между экспрессией Ki-67 и p53 у пациентов с невысоким индексом Глисона. Отсутствие значимой корреляции между экспрессией p53 и индексом Глисона может быть объяснено низкой вероятностью выявления данного маркера ИГХ-методом. Во многих исследованиях показаны наличие маркера p53 в ткани

простатической карциномы и его отсутствие при других патологиях, таких как ДГПЖ, аденоз, простатическая интраэпителиальная неоплазия [12].

В данном исследовании маркер Ki-67 был выявлен в 18 (60 %) из 30 опухолей. V.E. Theodoropoulos и соавт. выявили наличие взаимосвязи между индексом пролиферации Ki-67 и индексом Глисона для опухолей с высокой и низкой степенью дифференцировки [7]. S. Nilson и соавт. показали наличие взаимосвязи между наличием маркера Ki-67 и степенью клеточной дифференцировки опухоли [13].

В настоящем исследовании Ki-67 был выявлен во всех образцах низкодифференцированных опухолей, менее чем в половине опухолей со средней степенью дифференцировки и не обнаружен ни в одном из образцов высокодифференцированной опухоли (рис. 1, 2).

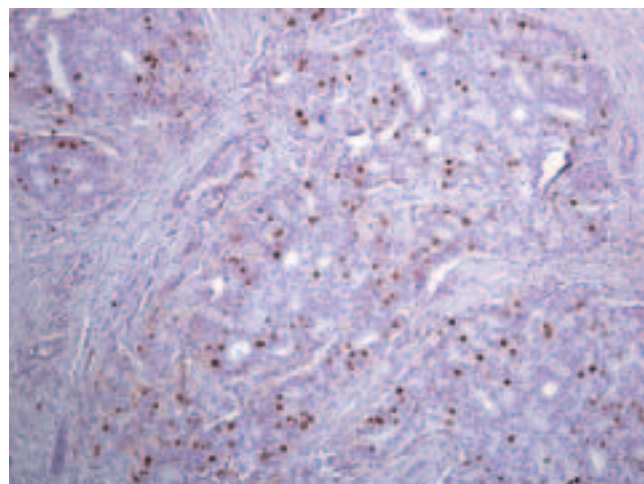


Рис. 1. Экспрессия Ki-67 в низкодифференцированной ацинарной аденокарциноме ПЖ

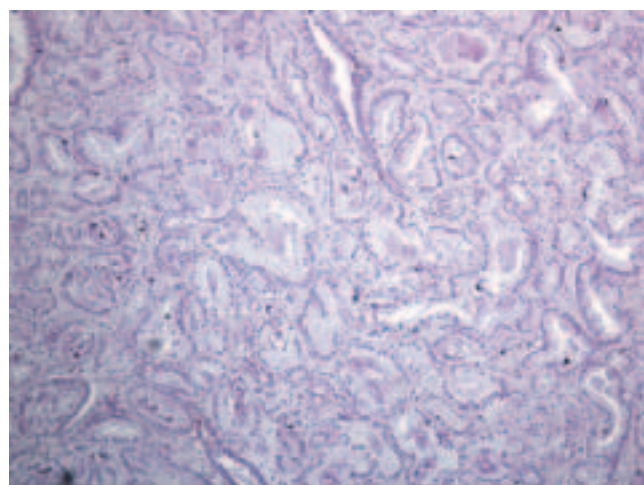


Рис. 2. Отсутствие экспрессии Ki-67 в высокодифференцированной ацинарной аденокарциноме ПЖ

Результаты нашего исследования не противоречат ранее приведенным данным. Дополнительно была показано, что экспрессия Ki-67 может служить точным индикатором наличия РПЖ. Настоящее исследование также показало наличие статистически значимой корреляции между увеличением количества клеток, в которых ИГХ-методом выявлен маркер Ki-67, и увеличением индекса Глисона ( $p = 0,001$ ).

### Выводы

Несмотря на то, что в большинстве случаев диагноз РПЖ подтверждается микроскопически на ранних стадиях, до развития метастатического поражения в случае поздней диагностики данного заболевания часто отмечается его быстрое прогрессирование и неблагоприятный исход. Своевременно выявляя таких пациентов, можно значительно улучшить результаты

их лечения. В данном исследовании показано наличие взаимосвязи между количественной оценкой экспрессии маркера Ki-67 и индексом Глисона, который имеет важное прогностическое значение. Таким образом, по нашему мнению, если при биопсии ПЖ морфолог выявляет низкодифференцированную аденокарциному (индекс Глисона 8–10), такому пациенту целесообразно провести оценку индекса пролиферативной активности Ki-67, поскольку данная прогностически важная информация позволит клиницисту принять более обоснованное мнение о тактике дальнейшего обследования и лечения пациента. Однако прогностическое значение данного маркера в биопсии ПЖ требует дальнейшего изучения.

*Статья публикуется при поддержке Министерства образования и науки РФ (в рамках гранта)*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Epstein J.I. The lower urinary tract and male genital system. In: V. Kumar, A.K. Abbas, N. Fausto, J.C. Aster, editors. Pathologic basis of disease. 8<sup>th</sup> ed. Amsterdam: Elsevier; 2010; p. 993–1002.
2. Epstein J.I., Amin M., Boccon-Gibod L. et al. Prognostic factors and reporting of prostate carcinoma in radical prostatectomy and pelvic lymphadenectomy specimens. Scand J Nephrol 2005;216:34–63.
3. Epstein J.I., Steinberg G.D. The significance of low-grade prostate cancer on needle biopsy. A radical prostatectomy study of tumor grade, volume and stage of the biopsied and multifocal tumor. Cancer 1990;66:1927–32.
4. Aprikian A.G., Cordon-Cardo C., Fair W.R. et al. Neuroendocrine differentiation in metastatic prostatic adenocarcinoma. J Urol 1994;151:914–9.
5. Borre M., Stausbot-Gron B., Overgaard J. P53 accumulation associated with Bcl-2, the proliferation marker MIB-1 and survival in patients with prostate cancer subjected to watchful waiting. J Urol 2000;164:716–21.
6. Laitinen S., Martikainen P.M., Tammela T.L., Visakorpi T. Cellular changes in prostate cancer cells induced by intermittent androgen suppression. Eur Urol 2007;52:725–32.
7. Theodoropoulos V.E., Tsigka A., Mihalopoulou A. et al. Evaluation of neuroendocrine staining and androgen receptor expression in incidental prostatic adenocarcinoma: Prognostic implications. Urology 2005;66:897–902.
8. Aaltomaa S., Lipponen P., Vasalainen S. et al. Value of Ki-67 immuno labelling as a prognostic factor in prostate cancer. Eur Urol 1997;32:410–5.
9. Minner S., Wittmer C., Graefen M. et al. High level PSMA expression is associated with early PSA recurrence in surgically treated prostate cancer. Prostate 2011;71: 281–8.
10. Chi S.G., Dever White R.W., Meyers F.J. et al. P53 in prostate cancer: Frequent expressed transition mutation. J Natl Cancer Inst 1994;86:926–33.
11. Sasor A., Wagrowska-Danilewicz M., Danilewicz M. Ki-67Antigen and P 53 protein expression in benign and malignant prostatic Lesions. Pol J Pathol 2000;51:31–6.
12. Haussler O., Epstein J.I., Amin M.B. et al. Cell proliferation, apoptosis, oncogene, and tumor suppressor gene status in adenosis with comparison to benign prostatic hyperplasia, prostatic intraepithelial neoplasia, and cancer. Hum Pathol 1999;30:1077–86.
13. Nilsson S., Nordgren H., Karlberg L. et al. Expression of estramustine-binding protein (EMBP) and the proliferation-associated antigen Ki-67 in prostatic carcinomas. Scand J Urol Nephrol 1988;110:31–7.