

ЛИТЕРАТУРА

1. Аляев Ю.Г., Винаров А.З. Альфа-адреноблокаторы в лечении доброкачественной гиперплазии предстательной железы: настоящее и перспективы. Урология, 2000г. // Материалы симпозиума Омск, 23 сентября 1999г. — С. 2—10.
2. Вишневский Е.Л. Клиническое значение функциональных методов исследования в диагностике инфравезикальной обструкции у детей: Автореф. канд. дисс. - М. - 1973. - 29 с.
3. Карпенко В. С., Стаховский З. А. // Трансуретральная резекция при аденоме, раке и склерозе предстательной железы. — Курск, 1991. — С. 12—14.
4. Лоран О.Б., Вишневский Е.Л., Вишневский А.Е. Лечение расстройств мочеиспускания у больных доброкачественной гиперплазией простаты α -адреноблокаторами. — М. — 1998. — 124 с.
5. Молочков В.А. Хронический уретрогенный простатит / В.А. Молочков, И.И. Ильш - М.: Медицина, 1998.
6. Неймарк Александр Израилевич. Трансуретральная термотерапия в лечении доброкачественной гиперплазии простаты. Барнаул: изд-во Алт. гос. ун-та. 1995, 51 с.+ил.
7. Портной А. С. Хирургическое лечение аденомы и рака предстательной железы. — М., 1989.
8. Рябинский В. С., Чеченин М. Г. // Всероссийский съезд урологов, 8-й: Материалы. — Свердловск, 1988. — С. 2К3 2К4
9. Ситдыков Э.Н. Казанский мед. ж. - 2004. - № 5. - С. 356-359.
10. Тиктинский О.Л. // Всероссийский съезд урологов, 8-й: Материалы. — Свердловск, 1988. — С. 229—236.
11. Тиктинский О.Л. Андрология / О.Л. Тиктинский, В.В. Михайличенко // СПб.: Медис Пресс, 1999. - 464 с.
12. Bruskewitz R C., Christensen M. M. // Prostate. - 1990. - Vol. 3. - P. 27-38.

УДК 616.6.006.6

© В.Е. Охриц, О.Б. Лоран, Е.И. Велиев, К.В. Лисицкая, Л.С. Еремина,
М.А. Ковалева, Л.И. Ковалев, С.С. Шишкин, А.Х. Обейд, 2011

В.Е. Охриц¹, О.Б. Лоран¹, Е.И. Велиев¹, К.В. Лисицкая²,
Л.С. Еремина², М.А. Ковалева², Л.И. Ковалев², С.С. Шишкин², А.Х. Обейд¹
**ИЗУЧЕНИЕ БЕЛКОВ DJ-1, ХРОМАТОГРАНИНА А И BCL-2 У БОЛЬНЫХ
С РАКОМ ПРОСТАТЫ И ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИЕЙ
ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

¹Российская медицинская академия последипломного образования, г. Москва

²Учреждение Российской академии наук

Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, г. Москва

В работе оценивается сывороточный уровень белков DJ-1, хроматограина А, Bcl-2 у 40 пациентов с РП и у 25 пациентов с ДГПЖ. Проводился иммуноферментный анализ для определения концентрации исследуемых белков в сыворотке крови с использованием стандартных наборов. Средняя сывороточная концентрация белка DJ-1 у больных ДГПЖ составила 20,8 нг/мл (ранг 2,5 – 50,5 нг/мл), у пациентов с РП средняя сывороточная концентрация белка DJ-1 составила 43,28 нг/мл (ранг 15 – 97,5 нг/мл) ($p=0,0017$). Средняя сывороточная концентрация хроматограина А у больных ДГПЖ составила 17,7 нг/мл (ранг 9,0 – 40,0 нг/мл), у пациентов с РП - 29 нг/мл (ранг 10,4 – 40,0 нг/мл) ($p=0,001$). Средняя сывороточная концентрация Bcl-2 у больных ДГПЖ составила 5,54 нг/мл (ранг 2,3 – 37,0 нг/мл), у пациентов с РП - 4,21 нг/мл (ранг 1,0 – 27,0 нг/мл). Концентрация белка Bcl-2 статистически не отличалась в группах больных ДГПЖ и РП. По данным предварительных исследований белки DJ-1 и хроматограин А могут являться потенциальными диагностическими и прогностическими маркерами РП. Белок Bcl-2 в нашем исследовании не продемонстрировал диагностической и прогностической значимости при РП.

Ключевые слова: рак простаты, белок Dj1, хроматограин А, Bcl-2.

V.Ye. Okhritz, O.B. Loran, Ye.I. Veliyev, K.V. Lisitskaya,
L.S. Yeryomina, M.A. Kovalyova, L.I. Kovalyev, S.S. Shishkin, A.Kh. Obeid
**STUDY OF DJ-1, CHROMATOGRANIN A AND BCL-2 PROTEINS IN
PATIENTS WITH PROSTATE CANCER AND BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA**

In our study we assessed the serum concentration of DJ-1, chromatogranin A and Bcl-2 proteins in 40 patients with prostate cancer (PC) and in 25 patients with BPH. A standard enzyme-linked immunoassay was conducted to detect the studied proteins concentration in blood serum. The mean serum concentration of DJ-1 protein in BPH group was 20.8 ng/ml (range 2.5 – 50.5 ng/ml), in patients with prostate cancer it was 43.28 ng/ml (range 15 – 97.5 ng/ml) ($p=0.0017$). The mean serum concentration of chromatogranin A protein in BPH group was 17.7 ng/ml (range 9.0 – 40 ng/ml), in patients with prostate cancer it was 29 ng/ml (range 10.4 – 40 ng/ml) ($p=0.001$). The mean serum concentration of Bcl-2 protein in BPH group was 5.54 ng/ml (range 2.3 – 37 ng/ml), in patients with prostate cancer it was 4.21 ng/ml (range 1.0 – 27 ng/ml) ($p=0.001$). There was no statistically significant difference in serum concentration of Bcl-2 in patients with prostate cancer and BPH. Thereby, according to the initial data, DJ-1, chromatogranin A proteins can be potential diagnostic and prognostic biomarkers of prostate cancer. Bcl-2 protein did not prove to be of diagnostic value in prostate cancer.

Key word: prostate cancer; Dj1, chromatogranin A, Bcl-2 protein.

Для раннего выявления рака предстательной железы (РП) используется определение сывороточного уровня простатического специфического антигена (ПСА). Недостаточная специфичность ПСА диктует необходимость поиска новых диагностических молекулярных маркеров РП.

В настоящее время большое значение в поиске новых биомаркеров отдается протеомным исследованиям. Регуляторным белкам принадлежит функция контроля таких клеточных процессов, как пролиферация, дифференцировка, направленное движение и гибель клеток. Ослабление контроля над этими про-

цессами может быть причиной возникновения и прогрессии рака. К регуляторным белкам можно отнести различные классы молекул, важнейшими из которых являются ростовые факторы, про-и антиапоптотические белки, а также белки, регулирующие клеточные взаимодействия. При протеомном анализе ткани предстательной железы обнаруживается до 1200 белков. При анализе доброкачественной ткани простаты, образцов локализованного и метастатического рака простаты обнаружено, что при локализованном раке простаты значительно повышена концентрация 80 белков по сравнению с нормальной тканью железы, включая нейропептид Y, DJ-1, AGR2, тяжелую цепь ферритина (FTN1), фактор некроза опухоли, протеин, связывающий жирные кислоты, виментин и др. Концентрация 81 белка была значительно снижена при раке (включая лактоферрин, α -2 гликопротеин, изоформы глутатион трансферазы (GST- ρ и GST- ι), лактатдегидрогеназу B и др.) [1, 2]. При метастатическом раке простаты обнаружено повышение концентрации 141 белка и снижение концентрации 165 белков, по сравнению с локализованным раком простаты. При протеомном анализе мочи обнаружены полипептиды, которые могут явиться потенциальными маркерами рака предстательной железы [5]. К ним относятся Na/K-транспортирующая АТФаза γ , коллаген α -1, кальгранулин B/MRP-14, эндоглин, аннексин A3 и др. Целью исследования явилось изучение сывороточной концентрации некоторых потенциальных белковых онкомаркеров у пациентов РП и ДГПЖ.

Материал и методы

Оценивался сывороточный уровень DJ-1, хроматографина А и Bcl-2 у 40 пациентов с РП и у 25 пациентов с ДГПЖ. Всем пациентам для верификации диагноза производилась трансректальная мультифокальная биопсия простаты. 32 пациента с РП не получали гормональной терапии на момент исследования, 8 пациентов получали терапию золадексом. Средний возраст пациентов с РП составил 64 года (ранг 61 – 66 лет), в группе ДГПЖ – 69 лет (ранг 66 – 71 год). Средний уровень ПСА у больных РП составил 21,7 нг/мл, у пациентов с ДГПЖ – 3,86 нг/мл. Иммуноферментный анализ для определения концентрации исследуемых белков в сыворотке крови проводился с использованием наборов: human Dj-1/PARK7 ELISA kit и human Bcl-2 Elisa kit Abnova. Статистическая обработка данных выполнена на индивидуальном компьютере с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel», и пакета прикладных программ

«Statistica for Windows» v. 7.0, StatSoft Inc. (США).

Результаты

Средняя сывороточная концентрация белка DJ-1 у больных ДГПЖ составила 20,8 нг/мл (ранг 2,5 – 50,5 нг/мл). У пациентов с РП, не получавших гормональной терапии, средняя сывороточная концентрация белка DJ-1 составила 43,28 нг/мл (ранг 15 – 97,5 нг/мл). В группе пациентов РП, получавших гормональную терапию золадексом, средняя сывороточная концентрация белка DJ-1 составила 32,83 нг/мл (ранг 6,0 – 84,5 нг/мл). Таким образом, концентрация DJ-1 была повышена в обеих группах больных РП, по сравнению с группой ДГПЖ ($p=0,0017$). При корреляционном анализе в группе больных раком простаты, не получавших лечения, отмечена зависимость сывороточной концентрации DJ-1 от суммы Глисона ($p=0,001$), перинеуральной инвазии ($p=0,001$), позитивного хирургического края после радикальной позадилонной простатэктомии ($p=0,001$). При корреляционном анализе не было отмечено зависимости концентрации Dj-1 от биопсийной градации опухоли по Глисона.

Средняя сывороточная концентрация хроматографина А у больных ДГПЖ составила 17,7 нг/мл (ранг 9,0 – 40,0 нг/мл). У пациентов с РП, не получавших гормональной терапии, средняя сывороточная концентрация белка хроматографина А составила 29 нг/мл (ранг 10,4 – 40,0 нг/мл). В группе пациентов РП, получавших гормональную терапию золадексом, средняя сывороточная концентрация белка хроматографина А составила 28 нг/мл (ранг 23,3 – 32,8 нг/мл). Таким образом, концентрация хроматографина А была повышена в обеих группах больных РП, по сравнению с группой ДГПЖ ($p=0,001$). При корреляционном анализе была отмечена зависимость сывороточной концентрации хроматографина А от суммы Глисона ($p=0,002$).

Средняя сывороточная концентрация Bcl-2 у больных ДГПЖ составила 5,54 нг/мл (ранг 2,3 – 37,0 нг/мл). У пациентов с РП, не получавших гормональной терапии, средняя сывороточная концентрация белка Bcl-2 составила 4,21 нг/мл (ранг 1,0 – 27,0 нг/мл). В группе пациентов РП, получавших гормональную терапию золадексом, средняя сывороточная концентрация белка Bcl-2 составила 2,46 нг/мл (ранг 1,65 – 3,2 нг/мл). Таким образом, концентрация белка Bcl-2 статистически не отличалась в группах больных ДГПЖ и РП.

Обсуждение

Белок DJ-1 был описан в 1997г. как продукт онкогена DJ-1 [1]. Начиная с 2001 г. накапливаются сообщения об участии данного белка в патогенезе опухолевых заболеваний и его ценности как потенциального онкомаркера [1]. Установлено, что белок DJ-1 присутствует в клетках многих злокачественных опухолей, где функционирует, повышая клеточную пролиферацию и устойчивость опухолевых клеток к апоптозу [2]. В частности, данный белок обнаружен в клетках предстательной железы, причем при РПЖ экспрессия DJ-1 значительно выше, чем в норме и при ДГПЖ [1]. Принципиальное значение для исследований белка DJ-1 как потенциального онкомаркера имеют данные о том, что этот белок секретируется в различные биологические жидкости и, в частности, присутствует в сыворотке крови. В нашем пилотном исследовании было показано, что среди больных раком простаты сывороточная концентрация DJ-1 была повышена по сравнению с группой больных ДГПЖ; кроме того отмечалась корреляция с такими важными прогностическими факторами, как патологическая градация по Глисону, положительный хирургический край и перинеуральная инвазия.

Среди факторов, используемых для оценки биологической агрессивности рака простаты, в последние годы большое внимание уделяется маркерам нейроэндокринной дифференцировки. Преобладающий секреторный продукт простатических нейроэндокринных клеток – хромогранин А, представитель семейства кислых секреторных белков, обнаруженных в секреторных гранулах разнообразных эндокринных клеток и нейронов. Антитела к хромогранину А являются маркером для выявления нейроэндокринных клеток иммуногистохимическим методом. Функция хромогранина А окончательно не установлена. Считается, что хромогранин А имеет внеклеточную биологическую активность и действует как аутокринно-паракринный регулятор клеточной активности. Есть данные о коэкспрессии нейроэндокринными простатическими клетками хромогранина А и ростовых факторов: эпидермального (Epidermal growth factor – EGF), тромбоцитарного (Platelet-derived endothelial growth factor – PEGF), фибробластического (Basic fibroblast growth factor – bFGF), эндотелиального (Vascular endothelial growth factor – VEGF), трансформирующего (Transforming growth factor – TGFa, TGFa b) [6]. На основании этого высказывается предположение о том, что простати-

ческие нейроэндокринные клетки могут влиять на процессы ангиогенеза, рост и дифференцировку простаты. Иммуногистохимическими исследованиями было установлено, что очаговая нейроэндокринная дифференцировка наблюдается фактически во всех аденокарциномах простаты [6]. Эта дифференцировка определяется в отдельных клетках или группах клеток, рассеянных среди преобладающего большинства неэндокринных злокачественных клеток. С помощью иммуногистохимического метода была показана повышенная пролиферативная активность нейроэндокринных раковых клеток, расположенных в непосредственной близости от очагов нейроэндокринной дифференцировки [5,6]. Данные о клиническом и прогностическом значении нейроэндокринной дифференцировки в раке простаты крайне противоречивы.

Имеются доказательства предсказывающего значения нейроэндокринной дифференцировки в отношении развития гормон-резистентных опухолей [6]. Непрерывная андроген-супрессивная терапия вызывает гиперактивацию нейроэндокринных клеток в простате. И, возможно, это является одним из механизмов прогрессирования рака простаты в течении гормональной терапии в стадию гормонорефрактерности. Кроме того, сывороточные уровни нейроэндокринных маркеров, особенно хромогранина А, могут отражать нейроэндокринную активность карциномы простаты и использоваться для оценки ее прогрессирования. Поиск регуляторных путей, ведущих к запрограммированной клеточной гибели, привели к открытию наиболее значимых молекул - регуляторов апоптоза - белков семейства Bcl-2, каспаз, митохондриального цитохрома с и других. Семейство Bcl-2 объединяет более двух десятков структурно сходных белков, обладающих как антиапоптотическими (Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Mcl-1, Bcl2l10, Bfl-1, Bcl2l12), так и проапоптотическими свойствами (Bax, Bak, Bok, Bcl-G, Bcl-rambo, Bfk), которые являются ключевыми белками - индукторами митохондриального пути апоптоза клеток [7]. Наиболее хорошо изученным белком данного семейства является белок Bcl-2, обладающий антиапоптотическими свойствами. Белок поддерживает инактивированное состояние проапоптотического белкового комплекса. Bcl-2 экспрессируется при различных типах опухолей, в том числе, при раке предстательной желез. Повышение экспрессии белка чаще отмечают при распространенном опухолевом процессе и связывают со способностью опухолей к инвазии и метаста-

зированию. Таким образом, повышенный уровень белка, возможно, вносит вклад в прогрессирование рака простаты. В нашей работе не было продемонстрировано достоверной разницы в сыровоточной концентрации Bcl-2 среди больных раком простаты и ДГПЖ.

Выводы

По данным предварительных исследований, белки DJ-1 и хроматографин А могут являться потенциальными диагностическими и прогностическими маркерами РП. Белок Bcl-2 в нашем исследовании не продемонстрировал диагностической и прогностической

значимости при РП. Предварительные данные свидетельствуют, что изучение белковых маркеров при раке простаты является актуальным. Проведение протеомных исследований в сопоставлении с другими ее клинико-морфологическими характеристиками опухоли, вероятно, позволит получить новую информацию, важную как для понимания фундаментальных аспектов развития рака простаты, так и для улучшения клинического стадирования и определения оптимальной тактики лечения конкретного пациента.

Сведения об авторах статьи:

- Охриц В.Е.**, аспирант кафедры урологии и хирургической андрологии РМАПО, адрес: 123995, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, тел. (495) 653-14-80, e-mail: splen@bk.ru
Лоран О.Б., д.м.н., профессор, зав. кафедрой урологии и хирургической андрологии РМАПО, адрес: 123995, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, тел. (495) 653-14-80.
Велиев Е.И., д.м.н., профессор кафедры урологии и хирургической андрологии РМАПО, адрес: 123995, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, тел. (495) 653-14-80
Обейд А.Х. аспирант кафедры урологии и хирургической андрологии РМАПО, адрес: 123995, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, тел. (495) 653-14-80
Шишкин С.С., профессор Учреждения Российской академии наук Института биохимии им. А.Н. Баха РАН (лаборатория биомедицинских исследований), адрес: 119071, Москва, Ленинский пр., дом 33, стр. 2, тел. (495) 952-58-86.
Ковалев Л.И., профессор Учреждения Российской академии наук Института биохимии им. А.Н. Баха РАН (лаборатория биомедицинских исследований), адрес: 119071, Москва, Ленинский пр., дом 33, стр. 2, тел. (495) 952-58-86.
Ковалева М.А., д.м.н., ст. науч. сотр. Учреждения Российской академии наук Института биохимии им. А.Н. Баха РАН (лаборатория биомедицинских исследований), адрес: 119071, Москва, Ленинский пр., дом 33, стр. 2, тел. (495) 952-58-86.
Лисицкая К.В., сотрудник Учреждения Российской академии наук Института биохимии им. А.Н. Баха РАН (лаборатория биомедицинских исследований), адрес: 119071, Москва, Ленинский пр., дом 33, стр. 2, тел. (495) 952-58-86.
Еремينا Л.С., сотрудник Учреждения Российской академии наук Института биохимии им. А.Н. Баха РАН (лаборатория биомедицинских исследований), адрес: 119071, Москва, Ленинский пр., дом 33, стр. 2, тел. (495) 952-58-86.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лисицкая К.В. «Изучение полиморфизма отдельных регуляторных белков, функционирующих в эпителиальных и мышечных клетках человека в норме и при раке простаты» Дисс. канд. мед. наук. Москва 2010, стр. 50-57
2. Шишкин С.С., Ковалев Л.И., Ковалева М.А., Крахмалева И.Н., Еремينا Л.С., Макаров А.А., Лисицкая К.В., Лоран О.Б. Велиев Е.И., Охриц В.Е. (2009) Проблемы ранней диагностики рака простаты и возможности применения новых потенциальных биомаркеров. (Информационно-методическое письмо). Из-во ООО «Оригинальная компания». М. Стр. 40-45.
3. Khan AP, Poisson LM et al. Quantitative Proteomic Profiling of Prostate Cancer Reveals a Role for miR-128 in Prostate Cancer. Mol Cell Proteomics. 2009 Nov 9
4. Sciarra, A., Mariotti, G., Gentile, V. et al. Neuroendocrine differentiation in human prostate tissue: is it detectable and treatable? // BJU International. – 2003. – Vol. 91. – P. 438-445.
5. Sciarra A., Gentile V., Monti S., Dattilo C., Gomez A.A., Salciccia S., Pannunzi L.P., Toscano V., Di Silverio F. (2008) Comparison of chromogranin A, insulin-like growth factor I and prostate-specific antigen serum markers in prostate adenocarcinoma and benign prostatic hyperplasia. Urol Int. 80, 1, 68-73
6. Theodorescu D, Schiffer E, Bauer HW et al Discovery and validation of urinary biomarkers for prostate cancer. Proteomics Clin Appl. 2008 Mar 7;2(4):556-570.
7. Tsuji M., Murakami Y., Kanayama H., Sano T., Kagawa S. Immunohistochemical analysis of Ki-67 antigen and Bcl-2 protein expression in prostate cancer: effect of neoadjuvant hormonal therapy. Br J Urol. -1998.- Vol. 81, 116-121

УДК 616.62-02:616.65-089.87

© Е.А. Прилепская, К.Б. Колонтарев, 2011

Е.А. Прилепская, К.Б. Колонтарев

МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ НЕДЕРЖАНИЯ МОЧИ У БОЛЬНЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ РАДИКАЛЬНУЮ ПРОСТАТЭКТОМИЮ

Рак предстательной железы (РПЖ) на сегодняшний день занимает лидирующие позиции в структуре онкологических заболеваний во всем мире. На территории РФ за период с 1997 по 2007 г. рост показателей заболеваемости РПЖ оказался наибольшим среди опухолей всех локализаций. Среди предложенных на сегодняшний день методов лечения РПЖ радикальная простатэктомия (РП) является золотым стандартом лечения больных с локализованным РПЖ и ожидаемой продолжительностью жизни более 10 лет. Недержание мочи относится к наиболее распространенным осложнениям РП в послеоперационном периоде и составляет от 2,5% до 87%. Предрасполагающими факторами, по мнению ряда авторов, являясь вес, индекс массы тела, имеющиеся расстройства мочеиспускания до операции, сопутствующие заболевания. Учитывая то, что континенция является ведущим фактором, определяющим качество жизни пациента, нами изучены существующие методы диагностики недержания мочи, оценки функции нижних мочевых путей у больных, перенесших РП.

Ключевые слова: недержание мочи, радикальная простатэктомия, качество жизни.