

Artykuły przeglądowe • Review articles

Komórki neuroendokrynowe w prawidłowym gruczole krokowym i zróżnicowanie neuroendokrynowe w adenocarcinoma prostataeStanisław Moskalewski¹, Dorota Biernacka-Wawrzonek², Alicja Tomaszewska²

Pomimo licznych badań, wiele istotnych zagadnień dotyczących pochodzenia i czynności komórek neuroendokrynowych (NE) gruczołu krokowego pozostaje nierozstrzygniętych. Według jednych autorów komórki NE dochodzą do gruczołu krokowego z grzebienia nerwowego w okresie płodowym; inni sądzą, że powstają lokalnie, z komórek macierzystych wspólnych dla wewnątrz- i zewnątrzwydzielniczej części stercza. Komórki NE stanowią mieszaną populację, zawierającą szereg typów komórek wytwarzających serotoninę, i/lub różne białka, przeważnie o charakterze hormonów albo cytokin. Większość komórek NE zawiera chromograninę A i na tej podstawie identyfikuje się je metodami immunocytochemicznymi. Do ważniejszych substancji, wytwarzanych przez komórki NE, należy: serotoninina, kalcytonina, swoista enolaza neuronów i naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF). Ten ostatni, wpływając na rozwój naczyń, może przyspieszać wzrost nowotworu. Wykazano także dodatnią zależność pomiędzy liczbą komórek NE, wykazujących ekspresję VEGF, zagęszczeniem mikronaczyń w obrębie raka i szybkością jego wzrostu.

W prawidłowym gruczole krokowym i w jego łagodnym przerostcie (benign prostate hyperplasia; BPH) komórki NE występują częściej w obrębie nabłonka dużych przewodów wyprowadzających i w leżących w pobliżu pęcherzykach gruczolowych, rzadziej w okolicy podtorebkowej. Komórki NE nie mają receptora dla hormonów androgennych. W rakach stercza komórki NE w znacznej liczbie przypadków (14-100% w różnych badaniach) tworzą ogniskowe skupienia, niekiedy bardzo liczne. Zjawisko to jest określane jako zróżnicowanie neuroendokrynowe (neuroendocrine differentiation). W niektórych przypadkach zróżnicowania neuroendokrynowego można wykryć w surowicy wzrost poziomu chromograniny A, będącej znacznikiem komórek endokrynowych, nawet przy niskim poziomie PSA.

Dotychczas nie ma jednoznacznej opinii, czy stopień zróżnicowania neuroendokrynowego może mieć znaczenie prognostyczne. Część badaczy uważa, że silnie wyrażone zróżnicowanie neuroendokrynowe, zarówno w tkance, jak i w postaci wzrostu poziomu produktów komórek NE w surowicy (szczególnie chromograniny A), związane jest z progresją raka, utratą wrażliwości na hormony androgenne i złą prognozą. Jednak stanowisko College of American Pathologists jest jednoznaczne i stwierdza, że wpływ zróżnicowania neuroendokrynowego nie został wystarczająco zbadany, aby ocenić jego znaczenie dla przewidywania przebiegu choroby.

Prostatic neuroendocrine cells and neuroendocrine differentiation in adenocarcinoma prostatae

Despite numerous studies many aspects of prostatic neuroendocrine (NE) cell origin and function remain unexplained. According to some authors NE cells migrate to the prostate from the neural crest in the fetal period; others postulate local differentiation of NE cells from stem cells common for endo- and exocrine part of the gland. NE cells represent a mixed population containing several types of cells secreting serotonin, and/or various proteins, mainly of hormonal or cytokine-like character. Most of NE cells contain chromogranin A, serving as a useful marker for their immunocytochemical detection. Other important substances secreted by NE cells are calcitonin, neuron-specific enolase and vascular-endothelial growth factor (VEGF). The last factor, stimulating angiogenesis, may accelerate cancer growth. A positive correlation has been demonstrated between the number of NE cells expressing VEGF, the density of microvessels and cancer progression.

In the healthy prostate and in benign prostate hyperplasia (BPH) NE cells occur more frequently within duct epithelium and in acini close to the ducts, than in the subcapsular region. They do not express receptors for androgens. In adenocarcinoma, in 14-100% of cases, they form focal accumulations, frequently containing a considerable number of cells – a phenomenon referred to as neuroendocrine differentiation. In some cases of neuroendocrine differentiation an increased concentration of chromogranin A – a specific marker of endocrine cells – is detected in the serum, even if the PSA level is low.

¹ Katedra i Zakład Histologii i Embriologii² Zakład Anatomii Patologicznej AM w Warszawie

Numerous studies have attempted to establish whether the degree of neuroendocrine differentiation has any prognostic value. Some researchers believe that strong neuroendocrine differentiation, either in tissue or evidenced by an increased level of NE cell products in serum (particularly chromogranin A), is associated with cancer progression, loss of androgen receptors and a generally bad prognosis. However, in the opinion of the College of American Pathologists, the influence of neuroendocrine differentiation has not been sufficiently studied to establish its importance as an independent indicator of prognosis for patients with prostate carcinoma.

Słowa kluczowe: gruczoł krokowy, komórki neuroendokrynowe, rak gruczołu krokowego, zróżnicowanie neuroendokrynowe

Key words: prostate, neuroendocrine cells, prostatic adenocarcinoma; neuroendocrine differentiation

Komórkom neuroendokrynowym (NE) w gruczole krokowym i w raku prostaty poświęcono w ostatnich 30 latach liczne prace. Jest to w pełni zrozumiałe, skoro w większości rozwiniętych krajów rak prostaty jest najczęściej występującym nowotworem u mężczyzn, a jako przyczyna zgonu ustępuje tylko rakowi płuc [1, 2]. Za jeden z możliwych czynników progresji gruczolaka prostaty uważa się „zróżnicowanie neuroendokrynowe” (*neuroendocrine differentiation*), czyli pojawianie się dużej liczby komórek NE, praktycznie we wszystkich jego typowych postaciach [3-7]. Duże zainteresowanie komórkami NE i zróżnicowaniem neuroendokrynowym w gruczole krokowym znalazło odzwierciedlenie w postaci szeregu artykułów przeglądowych, poświęconych temu zagadnieniu [6-17].

Badania, prowadzone nad komórkami NE, mają wiele wątków, począwszy od obserwacji czysto morfologicznych, kwestii związanych z ich pochodzeniem, wykrywania w nich licznych substancji czynnych, często o charakterze hormonów peptydowych, poprzez określanie zależności (a raczej jej braku) od hormonów androgennych, analizę pojawiania się w formie zróżnicowania neuroendokrynowego w gruczolakorakach, zmian zachodzących w miarę progresji nowotworu i ewentualnego znaczenia prognostycznego tego zróżnicowania, do poszukiwania modeli zwierzęcych i nakreślenia przyszłych kierunków badań. Ze względu na dużą liczbę zagadnień związanych z komórkami NE i zróżnicowaniem neuroendokrynowym, z których każde wymagałoby szerokiego omówienia, w tym przeglądzie mogliśmy jedynie przedstawić ich ogólną charakterystykę, starając się w miarę możliwości uwzględnić, dla całości obrazu, zarówno piśmiennictwo historyczne, jak i współczesne.

Komórki neuroendokrynowe – ogólna charakterystyka

Komórki neuroendokrynowe (komórki NE) stanowią rozproszony narząd dokrewny [18] i według opinii Pearse'a [19] pochodzą z grzebienia nerwowego, wywędrowując z niego w okresie płodowym. Przy stosowaniu konwencjonalnych metod barwienia cytoplazma komórek NE pozostaje prawie nie zabarwiona i dlatego początkowo nazywano je „układem komórek jasnych” [18]. Większość komórek jasnych redukuje sole chromu lub srebra i z tego powodu nazywa się je również komórkami chromafinowymi lub srebrnochłonnymi, a ściślej argyrofilnymi, jeżeli

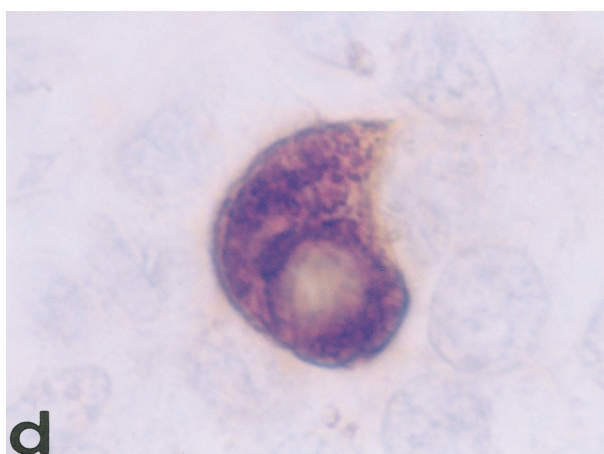
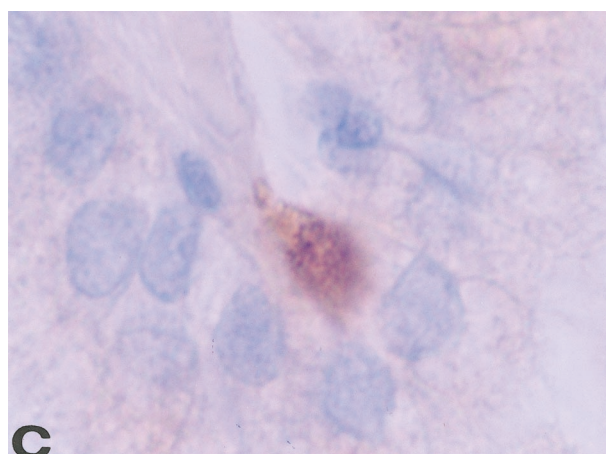
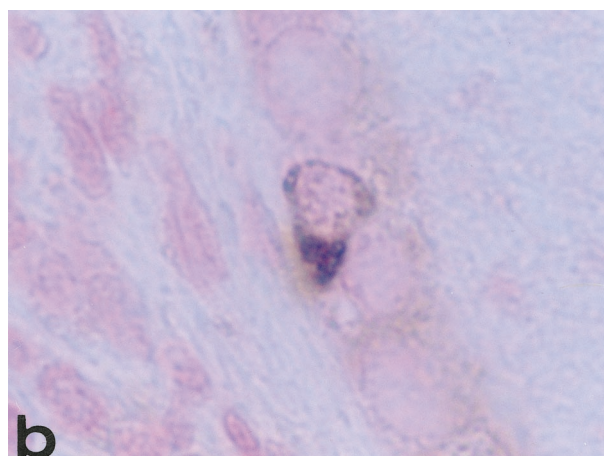
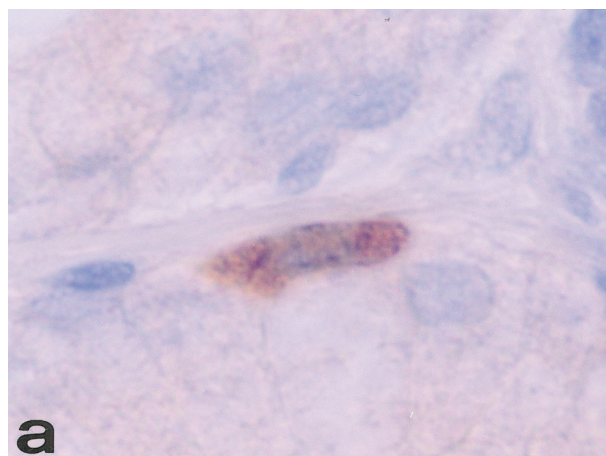
do redukcji srebra wymagają obecności czynnika redukującego lub argentafilemami, jeśli redukują srebro bez takiego czynnika [20]. W dalszych badaniach ustalono, że komórki jasne pobierają z otoczenia prekursor amin i zawierają dekarboksylazę aminokwasów. Z tego powodu wprowadzono termin „układ APUD”, od akronimu angielskiej nazwy „*amine precursors uptake and carboxylation*” [19]. Ponieważ jednak nie wszystkie komórki zaliczane do układu APUD są w stanie wychwytywać prekursor amin, obecnie często określa się je mianem rozproszonego układu neuroendokrynowego (*diffuse neuroendocrine system – DNES*) [21].

W ostatnich latach liczni badacze kwestionują pochodzenie komórek NE z ektodermalnego grzebienia nerwowego sugerując, że przynajmniej w niektórych narządach powstają one miejscowo. Udowodniono na przykład, że komórki endokrynowe w nabłonku jelita i w trzustce pochodzą z endodermy [22, 23].

Komórki NE wykazują duże zróżnicowanie morfologiczne i funkcjonalne, wytwarzają liczne hormony, wpływając na drodze parakrynowej na proliferację i czynność pozostałych komórek w narządach, w których występują [24, 25].

Komórki NE w gruczole krokowym

Gruczoł krokowy zawiera trzy rodzaje komórek mięszo- wych: komórki podstawne (leżące przy błonie podstawnej), komórki wydzielnicze (zwrócone do światła gruczołu) i komórki NE [26]. Niektórzy badacze wyróżniają również czwarty typ, stanowiący formę przejściową pomiędzy komórką podstawną i zróżnicowaną komórką wydzielniczą [17, 27]. Komórki NE w gruczole krokowym po raz pierwszy opisał w 1944 roku Pretl [28] na podstawie reakcji z solami srebra, a następnie badania te rozszerzył Feyrter [29] na cały męski układ moczowo-płciowy. Prawidłowy gruczoł krokowy człowieka zawiera znaczną liczbę komórek NE. Występują one pomiędzy komórkami zewnątrzwydzielniczymi i komórkami podstawnymi [7, 8]. Wyróżniono dwa typy komórek NE: jedne, o kształcie zbliżonym do butelki, sięgają do światła pęcherzyków gruczolowych długimi, cienkimi, podobnymi do dendrytów wypustkami, a drugie leżą przy błonie podstawnej i nie sięgają do światła gruczołu, ale często mają poziome lub skośne wypustki [12, 30, 31] (Ryc. 1a-d). Występowanie komórek NE zaobserwowano także w części sterczowej



1a-d. Gruczoł krokowy pobrany w czasie transcewkowej resekcji, utrwalony w 3% aldehydzie glutarowym. a i b – komórki NE zlokalizowane w pobliżu błony podstawnej. c i d – komórki NE zwrócone do światła gruczołu. Uwidoczniona chromogranina A. W 1a, 1c i 1d jądra są zabarwione hematoksyliną, a w 1b – czerwieńią jądrową. Pow. 2400x.

cewki moczowej [31] i w łagiewce sterczowej, w której znaleziono ich znacznie więcej niż w dużych przewodach wyprowadzających gruczołu krokowego [32]. W cytoplazmie komórek NE występują ziarenka z widocznym pod mikroskopem elektronowym gęstym rdzeniem. W ziarenkach znajduje się swoista enolaza neuronów (*neuron-specific enolase*, NSE), serotonina oraz chromogranina A, B lub C, zwana obecnie sekretograniną II [3, 33-38]. Chromograniny stanowią grupę białek, uważanych za swoisty znacznik komórek wewnątrzwydzielniczych [39]. Prawdopodobnie biorą udział w magazynowaniu hormonów peptydowych w obrębie ziaren wydzielniczych [40]. W niektórych komórkach NE występuje kalcytonina, katalcyna oraz peptyd spokrewniony z kalcytoniną (*calcitonin gene related peptide* – CGRP) [41-46]. Poziom kalcytoniny w wydzielinie gruczołu krokowego jest 10-40 razy wyższy niż we krwi [47]. W łagodnym przerzucie stercza obniża się poziom kalcytoniny we krwi oraz maleje liczba komórek NE, zawierających kalcytoninę, w gruczole krokowym, natomiast stężenie CGRP w tkance gruczołu krokowego nie zmienia się w porównaniu z gruczolem prawidłowym [48]. Należy także pamiętać, że kalcytonina pobudza *in vitro* proliferację komórek raka stercza [49].

W komórkach NE stercza wykryto także somatostatynę [42, 50], fragment łańcucha tyreotropiny (TSH) [33,

51], łańcuch α ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej [52], glukagon [33], białko podobne do parathormonu [53, 54] oraz peptydy spokrewnione z bombesyną i gastryną [41]. Komórki raka prostaty mają receptory dla bombesyny, co powoduje, że komórki NE mogą stymulować je na drodze parakrynowej [55].

W ostatnich latach zaobserwowano także w komórkach NE obecność naczyniowo-śródłonkowego czynnika wzrostu (VEGF). Część komórek, zawierających VEGF, wykazywała również ekspresję transformującego czynnika wzrostu α (TGF α) [56]. Ze względu na wytwarzanie przez komórki NE tych dwóch czynników, mogących stymulować wzrost naczyń krwionośnych w obrębie raka stercza, obecność zróżnicowania neuroendokrynowego może powodować bardziej agresywny fenotyp raka [34, 56]. Stwierdzono ponadto, że komórki raka stercza same wykazują ekspresję VEGF [57-59]. Komórki zewnątrzwydzielnicze w prawidłowym gruczole i w przypadkach BPH według jednych badaczy również wykazywały ekspresję VEGF [59], natomiast inni takiej ekspresji nie wykryli, lub była ona bardzo słaba [57, 58]. Zarówno komórki gruczolakoraka, jak i komórki gruczolowe w BPH, wykazują także ekspresję receptorów dla VEGF. Sugeruje to, że poza działaniem na śródbłonek naczyń VEGF może także bezpośrednio wpływać na proliferację

komórek nowotworowych, być może na zasadzie autokrynowej [60].

Badając komórki NE gruczołu krokowego, należy pamiętać, że za pomocą przeciwciała skierowanego przeciwko jednemu produktowi, np. chromograninie A, można wykryć ich znaczną liczbę, jednak część komórek NE może nie zawierać tego znacznika i wówczas pozostaje nierozpoznana [17].

Niekiedy w raku gruczołu krokowego spotyka się komórki z dużymi, kwasochłonnymi ziarenkami. Komórki te utożsamiano z komórkami Panetha, występującymi w gruczołach jelitowych [61]. W dalszych badaniach stwierdzono jednak, że komórki z kwasochłonnymi ziarenkami zawierają typowe znaczniki komórek NE i ich podobieństwo do komórek Panetha jest przypadkowe [62, 63].

Podobnie, jak w przypadku komórek NE zlokalizowanych w innych narządach, także w przypadku komórek NE występujących w gruczole krokowym można przypuszczać, że ich wydzielina powoduje pobudzenie nabłonka lub zrębu gruczołu i być może stymuluje rozrost komórek raka prostaty. Bonkhoff i wsp. [64] stwierdzili, że w prawidłowym gruczole krokowym oraz w przypadku jego przerostu lub raka, komórki NE często występują w pobliżu syntetyzujących DNA, a zatem przygotowujących się do podziału, komórek zewnątrzwydzielniczych. Nie znaleziono jednak wyraźnej korelacji pomiędzy liczbą komórek NE i proliferacją tych ostatnich.

Niektóre produkty komórek NE przechodzą do ejakulatu i być może wpływają na czynność plemników [30, 48].

Komórki NE a receptor dla androgenów

Zarówno prawidłowe komórki zewnątrzwydzielnicze, jak i komórki gruczolakoraka oraz komórki gruczołowe w BPH wykazują ekspresję jądrowego receptora dla androgenów [65, 66]. Obecność receptora stwierdzano także w komórkach podstawnych [65], ale ta obserwacja nie znalazła potwierdzenia [66]. Komórki NE, zgodnie z wynikami większości autorów, takiego receptora nie mają [65, 67-69]. Nakada i wsp. [70] stwierdzili, że w BHP i w raku gruczołu krokowego występują jednocześnie komórki NE z receptorem i bez receptora, ale następnie wycofali się z tej opinii, potwierdzając brak receptora dla androgenów w komórkach NE [63]. Receptora dla androgenów nie mają także nowotworowe komórki NE i dlatego pozbawienie chorego androgenów nie hamuje ich ekspansji. Istnieją nawet sugestie, że zwiększenie liczby komórek NE, zachodzące w gruczolakorakach prostaty, może wpływać na utratę przez nie zależności od androgenów [71].

Pochodzenie komórek NE gruczołu krokowego

Istnieją dwie zasadnicze hipotezy dotyczące pochodzenia komórek NE gruczołu krokowego. Pierwsza sugeruje istnienie w nim komórek macierzystych, będących prekursorami wszystkich komórek mięsaszowych, to znaczy komórek podstawnych, komórek wydzielniczych i komó-

rek NE [17, 61, 68, 72, 74], a druga podtrzymuje koncepcję sugerującą pochodzenie komórek NE z grzebienia nerwowego [73].

Bonkhoff i wsp. [61, 68, 74-76] uważają, że warstwa komórek podstawnych stanowi komórki proliferujące i w niej prawdopodobnie występują komórki macierzyste. Komórki podstawne cechuje obecność cytokeratyn typu 5 i 14 [77]. Komórki wydzielnicze, zwrócone do światła gruczołu i zawierające cytokeratyny typu 8 i 18 [77], różnicują się z komórek podstawnych. Można zaobserwować także formy pośrednie, zawierające cytokeratyny charakterystyczne dla komórek podstawnych, jak i PSA, będący znacznikiem dojrzałych komórek wydzielniczych. Inni autorzy potwierdzili te obserwacje, wykazując w niektórych komórkach obecność zarówno cytokeratyny typu 5 jak i 18 [77]. Dojrzałe komórki wydzielnicze mają ograniczoną zdolność do podziałów. Komórki NE nie dzielą się i nie zawierają antygenów Ki-67 lub MIB-1, charakterystycznych dla dzielących się komórek [61, 78]. Dlatego też pojawianie się ich w dużej liczbie w rakach prostaty wymaga wytłumaczenia. Według obserwacji Bonkhoffa i wsp. [75] komórki NE w gruczolakoraku gruczołu krokowego mają charakter mieszanych komórek wewnątrz- i zewnątrzwydzielniczych (komórki amfikrynowe), wykazujących jednocześnie ekspresję chromograniny A i PSA. Stanowi to, zdaniem autorów, poważny argument przemawiający za powstawaniem komórek NE, występujących w raku z komórek zewnątrzwydzielniczych (PSA dodatnich) w czasie progresji raka i jednocześnie świadczy o ich pochodzeniu ze wspólnej komórki macierzystej [74]. Fakt, że komórki NE nie dzielą się, sprawia, że są one prawdopodobnie odporne na działanie cytostatyków i terapii radiacyjnej [78].

Odmienne obraz pochodzenia komórek NE gruczołu krokowego przedstawia Aumüller i wsp. [73]. Według nich komórki NE pojawiają się w końcu 9 tygodnia ciąży w nabłonku zatoki moczowo-płciowej. Przypuszczalnie komórki NE wywędrują z grzebienia nerwowego i docierają do nabłonka zatoki poprzez ciała przyzwojowe (paraganglia), wklonowane pomiędzy przedkręgowce zwoje współczulne, pochodzące z tegoż grzebienia. Analizując regionalne rozmieszczenie komórek NE, Aumüller i wsp., [79] stwierdzili, że w 10-11 tygodniu ciąży występują one w nabłonku tworzącej się cewki moczowej i pojedynczo w otaczającej ją mezenchymie. W 12-13 tygodniu z nabłonka cewki w okolicy przyszłego wzgórka nasiennego pączkują cienkie, wydłużone sznury komórek nabłonkowych, zawierające nieliczne komórki NE (wykrywane za pomocą reakcji na chromograninę A). W miarę pojawiania się następnych sznurów nabłonka i przechodzenia do nich komórek NE ich liczba w nabłonku cewki zmniejsza się. Podczas dalszego rozwoju gruczołu sznury nabłonka stają się drożne i przekształcają się w przewody wyprowadzające, a komórki NE przechodzą do jego części środkowej i obwodowej. W końcowych, litych odcinkach sznurów nabłonkowych komórki NE praktycznie nie występują. W okresie noworodkowym liczba komórek NE w nabłonku cewki nadal maleje. Istnieje wyraźny gradient ich rozmieszczenia, z największą liczbą komórek NE w dużych

przewodach w obrębie wzgórka nasiennego i niemal całkowitym brakiem tych komórek w pęcherzykach w okolicy torebki. W środkowych i położonych bardziej na obwodzie gruczołu odcinkach przewodów rozmieszczenie komórek ma charakter przypadkowy. Liczba komórek NE znajdujących w poszczególnych gruczołach jest dosyć podobna, co świadczy o stabilności ich populacji. Aumüller i wsp., [73, 79] w prawidłowym gruczole krokowym nie znaleźli komórek o charakterze mieszanym zewnątrz- i wewnątrzwydzielniczym, opisywanych poprzednio w stanach patologicznych [74].

Aktywność komórek NE wyprzedza czynnościową aktywność komórek zewnątrzwydzielniczych o 10-16 lat [79]. Aumüller i wsp., [79] zaproponowali własną koncepcję rozwoju gruczołu krokowego, stwierdzając, że komórki NE i komórki gruczolowe wywodzą się z komórek macierzystych, należących do dwóch odrębnych linii rozwojowych. Źródłem komórek NE miałyby być komórki pochodzenia nerwowego, pozostające w postaci nie zróżnicowanej i niemożliwej do wykrycia za pomocą dotychczas stosowanych metod, lub różnicujące się w postać dojrzalą, z charakterystycznym zestawem białek wydzielniczych. Komórki nie zróżnicowane mogłyby dzielić się, wytwarzając albo dwie komórki nie zróżnicowane albo też jedna z nich ulegałaby zróżnicowaniu. Dojrzałe komórki NE pobudzałyby proliferację, pochodzących z zatok moczowo-płciowej, prekursorów komórek zewnątrzwydzielniczych, nie mających jeszcze receptorów dla androgenów. Te ostatnie albo nadal by się dzieliły albo różnicowały jeszcze przed osiągnięciem dojrzałości płciowej w komórki podstawne, pośrednie i adluminalne (zwrócone do światła gruczołu). Receptory dla hormonów androgennych zawierałyby tylko te ostatnie. Od okresu dojrzewania płciowego niedojrzałe komórki pośrednie i adluminalne byłyby zastępowane przez dojrzałe komórki z receptorem dla androgenów. Hipoteza ta, zdaniem autorów, uzasadnia heterogenne rozmieszczenie komórek NE w miąższu gruczołu, występowanie ich w podobnej liczbie w poszczególnych gruczołach, odmienną morfologiczną w stosunku do komórek nabłonka zewnątrzwydzielniczego, brak aktywności proliferacyjnej i niewrażliwość na androgeny. Autorzy przyznają, że ich teoria nie wyjaśnia występowania w rakach prostaty komórek amfikrynowych, zawierających chromograninę A i PSA [64, 68, 74] lub serotoninę i PSA [35, 55]. Sugerują jednak, że podczas transformacji nowotworowej może dochodzić do tworzenia macierzystych komórek chimerycznych, rozwijających się następnie we wszystkie postacie komórek spotykanych w gruczolakorakach gruczołu krokowego.

Porównując dane z piśmiennictwa, dotyczące pojawiania się komórek NE w gruczole krokowym, odnosi się wrażenie, że istnieją duże rozbieżności w obserwacjach przedstawianych przez różne grupy autorów. Według Cohena i wsp., [43] komórki NE występujące w pęcherzykach wydzielniczych gruczołu krokowego znikają wkrótce po urodzeniu i pojawiają się ponownie dopiero po osiągnięciu dojrzałości płciowej. Natomiast komórki NE, obecne w gruczołach okołocewkowych i w przewodach wyprowadzających, nie wykazują takich zmian. Autorzy sugie-

rują, że początkowe pojawianie się komórek NE w pęcherzykach wydzielniczych zależy od jakiegoś czynnika, występującego wkrótce po urodzeniu, następnie zanikającego i powracającego w okresie dojrzewania, np. od poziomu androgenów. Jest to sprzeczne z obserwacjami Aumüllera i wsp., [79], którzy obserwowali dużą liczbę komórek NE u kilkuletnich dzieci. Obie grupy autorów zgadzają się natomiast, że po osiągnięciu dojrzałości płciowej liczba komórek NE nie wzrasta wraz z wiekiem.

Komórki NE w łagodnym przerodziu gruczołu krokowego (BPH)

Komórki NE można stwierdzić we wszystkich lub prawie wszystkich przypadkach BPH [35], jednak dane ilościowe dotyczące ich występowania są sprzeczne. Według niektórych badaczy guzki hiperplastyczne zawierają mniej komórek NE, wykrywanych metodą srebrzenia [81] lub immunocytochemiczną z zastosowaniem przeciwciał uwidaczniających serotoninę [82] lub kalcytoninę [42] niż okoliczny prawidłowy nabłonek. W innych badaniach, wykrywając immunocytochemicznie serotoninę, TSH i kalcytoninę, napotkano jednak więcej komórek NE w guzkach hiperplastycznych niż w tkance prawidłowej [83]. Tym samym rola komórek NE w BPH pozostaje niewyjaśniona.

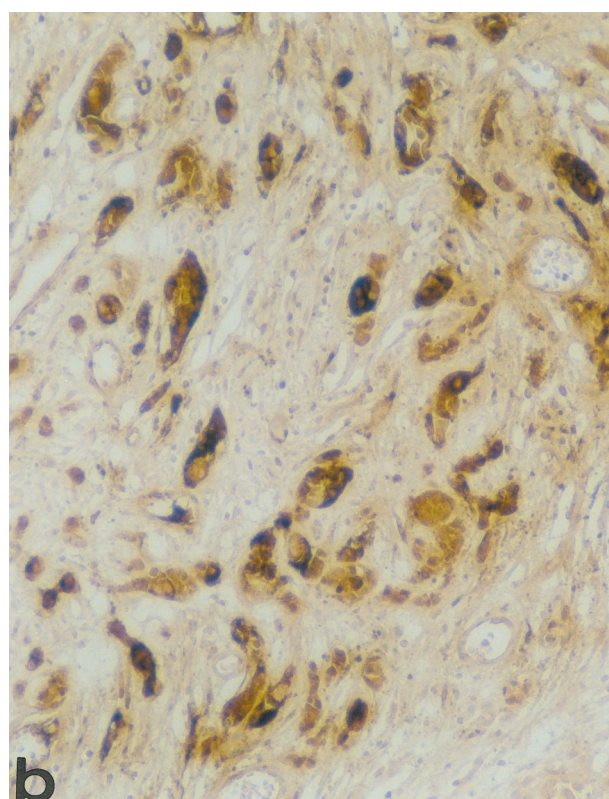
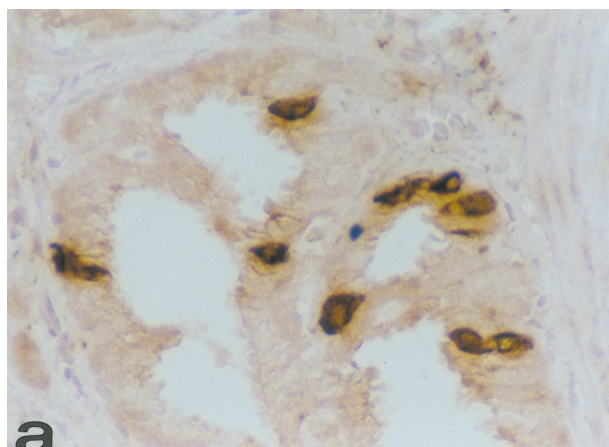
Komórki NE w raku gruczołu krokowego

Zróżnicowanie neuroendokrynowe w gruczole krokowym może wystąpić w postaci drobnokomórkowego raka gruczołu krokowego (*small cell carcinoma*), który przeważnie ma fenotyp neuroendokrynowy lub w rakowiakach (*carcinoid/carcinoid-like tumors*), wykazujących całkowite lub silnie zaawansowane zróżnicowanie neuroendokrynowe [5, 12]. Ponadto zróżnicowanie takie występuje w typowych gruczolakorakach stercza. W pierwszej pracy opisującej to zjawisko Azzopardi i Ewans [84] zaobserwowali zwiększoną liczbę komórek argentafinowych w 10% raków prostaty. W dalszych pracach zaobserwowano, że w wysoko zróżnicowanych nowotworach komórki NE tworzyły ogniskowe skupienia, występując w nich pojedynczo lub w niewielkich grupach i były przemieszane z innymi komórkami guza [3, 5, 16] (Ryc. 2a, b). W nisko zróżnicowanych rakach komórki NE były liczniejsze i wykazywały dużą zmienność pod względem wykrywanych w nich hormonów peptydowych [3, 33, 35].

W miarę udoskonalania metod badawczych zróżnicowanie neuroendokrynowe w gruczolakoraku znajdowano w granicach od 14 do 100% przypadków [3, 5, 64, 81, 85-89]. Abrahamsson i wsp., [33], uważają, że warunkiem wykrycia komórek NE jest właściwe utrwalanie materiału. Być może zatem we wcześniej przeprowadzanych badaniach liczba przypadków zróżnicowania neuroendokrynowego została zaniżona z przyczyn technicznych.

Względna liczba komórek NE u chorych z rakiem gruczołu krokowego wzrastała po leczeniu antyandrogenowym [3, 90].

Komórki NE, występujące w rakach gruczołu krokowego, uważane są za komórki nowotworowe, gdyż licz-



2 a, b. Zróżnicowanie neuroendokrynowe w raku gruczołu krokowego. Materiał utrwalony w 10% formalinie. Chromogranina A – hematoksylina. Pow. 440x.

ba komórek NE wzrasta wraz z progresją raka (rozumianą jako zmniejszanie się stopnia zróżnicowania, ustalonego na podstawie badania histopatologicznego i powiększenia się guza). Komórki NE pojawiają się również w przekrzutach, wykazując obecność podobnych substancji, jakie wykrywano w guzie pierwotnym [3, 33, 80]. W nowotworowych komórkach NE, poza typowymi znacznikami, można także wykryć obecność PSA [35, 75]. Z tymi wynikami stoją w sprzeczności obserwacje Cohena i wsp. [87], którzy, badając 10 raków gruczołu krokowego, nie wykryli w komórkach NE PSA, natomiast stwierdzili w nich swoistą dla tego gruczołu kwaśną fosfatazę. W nowotworowych komórkach NE, które wykrywano na podstawie uwidocznienia w nich chromograniny, nie stwierdzono markerów Ki-67 lub MIB-1, świadczących o zdolności komórek

do proliferacji [64, 68, 74]. Sugeruje to zatem, że nowotworowe komórki NE powstają na drodze różnicowania się, a nie podziałów, co zostało omówione w paragrafie poświęconym ich pochodzeniu.

Niektórzy autorzy początkowo sądzili, że zróżnicowanie neuroendokrynowe w raku prostaty wskazuje na gorsze rokowanie i mniejszą skuteczność terapii hormonalnej [3, 5, 15, 30, 88]. Opinie te nie znalazły jednak potwierdzenia. Cohen MK i wsp. [91] nie znaleźli zależności pomiędzy obecnością komórek NE, wykazujących ekspresję chromograniny A lub swoistej enolazy neuronów, a progresją nowotworu. W raku nie przekraczającym granic gruczołu krokowego obecność zróżnicowania neuroendokrynowego nie miała statystycznie istotnego związku z jego progresją [92]. Stopień zróżnicowania neuroendokrynowego korelował z wymiarami guza, ale nie miał znaczenia prognostycznego dla przewidywania niepowodzenia radykalnej prostatektomii [93]. Również w przypadkach raków z przerzutami do węzłów chłonnych obecność zróżnicowania neuroendokrynowego nie miała znaczenia prognostycznego [80]. Nie wykazano także zależności pomiędzy obecnością komórek NE, zawierających chromograninę A, a stopniem zaawansowania raka wg skali Gleasona i prognozą [94].

Odmienne obserwacje przedstawili Grobholz i wsp. (95), którzy stwierdzili, że raki gruczołu krokowego o wysokim stopniu złośliwości wykazywały znacząco więcej komórek NE i znacznie większe zagęszczenie mikronaczyń niż raki o niskim stopniu złośliwości. Zaobserwowano także, że obecność zróżnicowania neuroendokrynowego w zaawansowanych rakach prostaty prognozuje złe wyniki terapii radiacyjnej [78, 96]. Yu i wsp. [97] znaleźli korelacje pomiędzy liczbą komórek zawierających chromograninę A, stopniem zaawansowania raka wg skali Gleasona, stężeniem PSA w surowicy oraz czasem przeżycia chorych i na tej podstawie uważają, że obecność dużej liczby komórek NE może świadczyć o złej prognozie.

Ostatnio opublikowano wyniki badania korelacji pomiędzy immunoreaktywnością VEGF i zagęszczeniem mikronaczyń w guzach gruczołu krokowego. Ekspresja VEGF była skorelowana z zagęszczeniem mikronaczyń, odróżnicowaniem komórek guza i czasem przeżycia, swoiście zależnym od choroby gruczołu krokowego. Ponadto w 125 guzach zaobserwowano obecność komórek NE, wykazujących silną ekspresję VEGF. Liczba tych komórek korelowała ze wszystkimi parametrami podanymi powyżej. Na tej podstawie autorzy stwierdzili, że liczba komórek NE stanowi ważny czynnik prognostyczny u chorych z rakiem prostaty nie przekraczającym granic torebki. Ponieważ jednak powyższe badania były przeprowadzone na stosunkowo dużych fragmentach tkanki, pochodzących z TURP, autorzy podkreślają, że nie wiadomo, czy ilość materiału uzyskiwanego podczas biopsji cienkoigłowej byłaby wystarczająca, aby uzyskać wiarygodny wynik [34, 98]. Inni badacze uważają jednak, że dominujące znaczenie prognostyczne ma ekspresja zmutowanego p53 i białka retinoblastomy, a nie zagęszczenie mikronaczyń [99, 100].

Zróźnicowanie neuroendokrynowe występuje również w raku śródnabłonkowym (*high grade intraepithelial neoplasia*). W 26 badanych przypadkach najczęściej stwierdzano obecność komórek zawierających serotoninę, swoistą enolazę neuronów i chromograninę A. W tym samym materiale badano także zróźnicowanie neuroendokrynowe w gruczolakoraku, uzyskując podobny wynik. Zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy ekspresją enolazy i liczbą przerzutów do węzłów chłonnych [101].

Jak widać z powyżej przytoczonych opinii zdania na temat prognostycznego znaczenia zróźnicowania neuroendokrynowego są bardzo podzielone. Jednak według College of American Pathologists, w rankingu obserwacji mogących służyć do przewidywania progresji raka gruczołu krokowego, zróźnicowanie neuroendokrynowe stanowi czynnik, którego wpływ nie został wystarczająco zbadaany, aby ocenić jego wartość [102].

Podejmowano również próby ustalenia, czy na podstawie stężenia produktów komórek NE w surowicy można określić stopień zróźnicowania neuroendokrynowego w raku gruczołu krokowego. Stwierdzono, że stężenie chromograniny A (CgA) w surowicy koreluje z liczbą komórek NE, dających dodatnią reakcję z przeciwciałami anty CgA w raku prostaty, natomiast nie stwierdzono korelacji pomiędzy liczbą komórek zawierających swoistą enolazę neuronów, chromograninę B lub pankreastynę [89]. Wzrost poziomu CgA zaobserwowano również u prawie połowy chorych z niewrażliwymi na działanie hormonów przerzutami raka prostaty [103]. W niektórych przypadkach u chorych z zaawansowanym rakiem prostaty występował nawet wzrost poziomu CgA, pomimo że poziom PSA nie był podwyższony. Szereg badaczy uważa, że oznaczanie CgA w surowicy może stanowić klinicznie użyteczny test diagnostyczny i mieć znaczenie prognostyczne [11, 38, 89]. Pojawiły się również sugestie, że podwyższenie poziomu CgA w surowicy może występować również w przypadku zróźnicowania neuroendokrynowego w rakach innych narządów, to znaczy piersi, jajnika, trzustki i jelita grubego [104].

Innym produktem komórek NE, którego podwyższony poziom w surowicy może pojawiać się w raku gruczołu krokowego, jest bombesyna. Podwyższenie jej poziomu stwierdzono w 40% przypadków gruczolakoraka niezależnego od androgenów [105]. Ponieważ bombesyna pobudza *in vitro* ruchliwość komórek raka prostaty, przypuszcza się, że jej wydzielanie przez komórki NE może stymulować powstawanie przerzutów [55].

Komórki NE w gruczole krokowym zwierząt doświadczalnych

W poszukiwaniu modelu doświadczalnego, który pozwoliłby eksperymentalnie badać wpływ komórek NE na rozwój raka gruczołu krokowego, przeprowadzono poszukiwanie tych komórek u zwierząt. Obecność komórek NE wykryto u psa [106], ale nowsze badanie nie potwierdziło tej obserwacji [107]. U owcy stwierdzono komórki NE, zawierające chromograninę A, serotoninę i somatostatynę [108], natomiast nie znaleziono ich u szczura i kota

[107]. U świnek morskich komórki NE zawierające serotoninę były nieliczne u młodych osobników, natomiast ich liczba wzrastała 24-krotnie u samców, które ze względu na wiek przestały być reproduktorami [109]. Badania modelowe z użyciem ksenogenicznych przeszczepów raka prostaty u myszy potwierdziły, że komórki NE w raku stercza są komórkami post-mitotycznymi i nie wykazują ekspresji receptora dla androgenów. W niektórych przypadkach krótkotrwałe odstawienie androgenów powodowało silny wzrost liczby komórek NE. Analiza kinetyki pojawiania się komórek NE sugerowała, że w tych warunkach prawdopodobnie dochodzi do indukcji ich zróźnicowania się [110, 111].

Prof. dr hab. med. Stanisław Moskalewski
Katedra i Zakład Histologii i Embriologii
Akademii Medycznej w Warszawie
Chałubińskiego 5, 02-004 Warszawa
e-mail: smosk@ib.amwaw.edu.pl

Piśmiennictwo

1. Chiarodo A. National Cancer Institute roundtable on prostate cancer: future research directions. *Cancer Res* 1991; 51: 2498-2505.
2. Bosland MC. The role of steroid hormones in prostate carcinogenesis. *J Nat Cancer Instit Monographs* 2000; 27: 39-66.
3. Abrahamsson PA, Falkmer S, Falt K i wsp. The course of neuroendocrine differentiation in prostatic carcinomas. An immunohistochemical study testing chromogranin A as an "endocrine marker". *Pathol Res Pract* 1989; 185: 373-80.
4. Di Sant'Agnese PA. Neuroendocrine differentiation and prostatic carcinoma. The concept "comes of age". *Arch Pathol Lab Med* 1988; 112: 1097-9.
5. Di Sant'Agnese PA. Neuroendocrine differentiation in human prostatic carcinoma. *Hum Pathol* 1992; 23: 287-96.
6. Di Sant'Agnese PA. Neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma. *Cancer* 1995; 75: 1850-9.
7. Noordzij MA, van Steenbrugge GJ, van der Kwast TH i wsp. Neuroendocrine cells in the normal, hyperplastic and neoplastic prostate. *Urol Res* 1995; 22: 333-41.
8. Abrahamsson PA, di Sant'Agnese PA. Neuroendocrine cells in the human prostate gland. *J Androl* 1993; 5: 307-9.
9. Abrahamsson PA. Neuroendocrine differentiation and hormone-refractory prostate cancer. *Prostate* 1996; Suppl. 6: 3-8.
10. Abrahamsson PA. Neuroendocrine cells in tumour growth of the prostate. *Endocrin Rel Cancer* 1999; 6: 503-19.
11. Deftos LJ, Abrahamsson PA. Granins and prostate cancer. *Urology* 1998; 51: suppl. 5A 141-5.
12. Di Sant'Agnese PA. Neuroendocrine cells of the prostate and neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma: a review of morphological aspects. *Urology* 1998; 51: suppl. 5A 121-4.
13. Di Sant'Agnese PA. Neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma: an update (Review). *Prostate* 1998; suppl. 8: 74-79.
14. Di Sant'Agnese PA. Divergent neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma. *Sem Diagn Pathol* 2000; 17: 149-61.
15. Di Sant'Agnese PA, Cockett AT. The prostatic endocrine-paracrine (neuroendocrine) regulatory system and neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma: a review and future directions of basic research. *J Urol* 1994; 152: 1927-1931.
16. Di Sant'Agnese PA, Cockett AT. Neuroendocrine differentiation in prostatic malignancy. *Cancer* 1996; 78: 357-61.
17. Xue Y, Smedts F, Verhofstad A i wsp. Cell kinetics of prostate exocrine and neuroendocrine epithelium and their differential interrelationship: new perspectives. *Prostate* 1998; Suppl. 8: 62-73.
18. Feyrter F. *Über diffuse endokrine epitheliale Organe*. Barth JA, Leipzig; 1938.
19. Pearse AG. The cytochemistry and ultrastructure of polypeptide-hormone producing cells of the APUD series and the embryologic, physio-

- logic and pathologic implications of the concept. *J Histochem Cytochem* 1969; 17: 303-13.
20. Lillie RD, Glenner GG. Histochemical reactions in carcinoid tumours of the human gastrointestinal tract. *Amer J Pathol* 1960; 36: 623-649.
 21. Jungueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Basic Histology*. Wyd. 9. Stamford, Connecticut: Appleton and Lange; 1998.
 22. Kirkland SC. Clonal origin of columnar, mucous, and endocrine cell lineages in human colorectal epithelium. *Cancer* 1988; 61: 1359-63.
 23. Andrew A, Kramer B, Rawson BB. The origin of gut and pancreatic neuroendocrine (APUD) cells – the last word? *J Pathol* 1998; 186: 117-8.
 24. Cutz E. Neuroendocrine cells of the lung: An overview of morphological characteristics and development. *Exp Lung Res* 1982; 3: 185-208.
 25. Grube D. The endocrine cells of the digestive system: amines, peptides and modes of action. *Anat Embryol* 1986; 175: 151-62.
 26. McNeal JE. Normal histology of the prostate. *Am J Surg Pathol* 1988; 12: 619-33.
 27. Bonkhoff H. Role of the basal cells in premalignant changes of the human prostate: A stem cell concept for the development of prostate cancer. *Eur Urol* 1996; 30: 201-5.
 28. Pretl K. Zur Frage der Endocrinie der menschlichen Vorsterherdrüse. *Virchows Archiv (A)* 1944; 312: 392-404.
 29. Feyrter F. Über des urogenitale Helle-Zellen System des Menschen. *Zsch mikr anat Forsch* 1951; 57: 324-344.
 30. Di Sant'Agnese PA. Neuroendocrine differentiation in carcinoma of the prostate – Diagnostic, prognostic and therapeutic implications. *Cancer* 1992; 70: 254-68.
 31. Di Sant'Agnese PA, De Mesy-Jensen KL. Endocrine-paracrine cells of the prostate and prostatic urethra: An ultrastructural study. *Hum Pathol* 1984; 15: 1034-41.
 32. Guy L, Begin LR, Al-Othman K i wsp. Neuroendocrine cells of the verumontanum: a comparative immunohistochemical study. *Br J Urol* 1998; 82: 738-43.
 33. Abrahamsson PA, Wadström LB, Alumets J i wsp. Peptide-hormone and serotonin-immunoreactive tumour cells in carcinoma of the prostate. *Pathol Res Pract* 1987; 182: 298-307.
 34. Borre M, Nerstrøm B, Overgard J. Association between immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF-expressing neuroendocrine-differentiated tumor cells, and outcome in prostate cancer patients subjected to watchful waiting. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 1882-90.
 35. Aprikian A, Cordon Cardio C, Fair WR i wsp. Characterization of neuroendocrine differentiation in human benign prostate and prostatic adenocarcinoma. *Cancer* 1993; 71: 3952-65.
 36. Di Sant'Agnese PA, De Mesy Jensen KL, Churukian CV i wsp. Human prostatic endocrine-paracrine (APUD) cells. Distributional analysis with a comparison of serotonin and neuron-specific enolase immunoreactivity and silver stains. *Arch Pathol Lab Med* 1985; 109: 607-12.
 37. Schmid KW, Helpap B, Tötsch M i wsp. Immunohistochemical localization of chromogranins A and B and secretogranin II in normal, hyperplastic and neoplastic prostate. *Histopathology* 1994; 24: 233-9.
 38. Deftos LJ, Nakada S, Burton DW i wsp. Immunoassay and immunohistology studies of chromogranin A as a neuroendocrine marker in patients with carcinoma of the prostate. *Urology* 1996; 48: 58-62.
 39. Lloyd RV, Wilson BS. Specific endocrine tissue marker defined by a monoclonal antibody. *Science* 1983; 222: 628-30.
 40. Huttner WB, Gerdes HH, Rosa P. The granin (chromogranin/secretogranin) family. *Trends in Biochem Sci* 1991; 16: 27-30.
 41. Di Sant'Agnese PA. Calcitonin-like immunoreactive and bombesin-like immunoreactive endocrine-paracrine cells of the human prostate. *Arch Pathol Lab Med* 1986; 110: 412-6.
 42. Davis NS, Di Sant'Agnese PA, Ewing JF i wsp. The neuroendocrine prostate: Characterization and quantitation of calcitonin in the human gland. *J Urol* 1989; 142: 884-888.
 43. Cohen RJ, Glezeron G, Taylor LF i wsp. The neuroendocrine cell population of the human prostate gland. *J Urol* 1993; 150: 365-68.
 44. Di Sant'Agnese PA, De Mesy Jensen KL, Ackroyd RK. Calcitonin, calcitonin, and calcitonin-gene related peptide in the human prostate. An immunocytochemical and immunoelectron microscopic study. *Arch Pathol Lab Med* 1989; 113: 790-6.
 45. Fetissov F, Bruandet P, Arbeille B i wsp. Calcitonin-secreting carcinomas of the prostate. An immunohistochemical and ultrastructural analysis. *Am J Surg Pathol* 1986; 10: 702-10.
 46. Shah GV, Noble MJ, Austenfeld M i wsp. Presence of calcitonin-like immunoreactivity (iCT) in human prostate gland: evidence for iCT secretion by cultured prostate cells. *Prostate* 1992; 21: 87-97.
 47. Sjöberg HE, Arver R, Butch E. High concentration of immunoreactive calcitonin of prostatic origin in human semen. *Acta Physiol Scand* 1980; 110: 101-2.
 48. Abrahamsson PA, Dizayi N, Alm P i wsp. Calcitonin and calcitonin-gene related peptide in the human prostate gland. *Prostate* 2000; 44: 181-6.
 49. Shah GV, Rayford W, Noble MJ i wsp. Calcitonin stimulates growth of human prostate cancer cells through receptor-mediated increase in cyclic adenosine 3',5'-monophosphates and cytoplasmic Ca²⁺ transients. *Endocrinology* 1994; 134: 596-602.
 50. Di Sant'Agnese PA, de Mesy-Jensen KL. Somatostatin and/or somatostatin-like immunoreactive endocrine-paracrine cells in the human prostate gland. *Arch Pathol Lab Med* 1984; 108: 693-6.
 51. Abrahamsson PA, Lilja H. Partial characterization of a thyroid-stimulating hormone-like peptide in neuroendocrine cells of the human prostate gland. *Prostate* 1989; 14: 71-81.
 52. Fetissov F, Arbeille B, Guilloteau D i wsp. Glycoprotein hormone alpha-chain-immunoreactive endocrine cells in prostate gland and cloacal-derived tissues. *Arch Pathol Lab Med* 1987; 111: 836-40.
 53. Iwamura M, Gershagen S, Lapets O i wsp. Immunohistochemical localization of parathyroid hormone-related protein in prostatic intraepithelial neoplasia. *Hum Pathol* 1995; 26: 797-801.
 54. Iwamura M, Wu G, Abrahamsson PA i wsp. Parathyroid hormone-related protein is expressed by prostate neuroendocrine cells. *Urology* 1994; 43: 667-74.
 55. Aprikian AG, Han K, Guy L, Landry F, Begin L, Chevalier S. Neuroendocrine differentiation and the bombesin/gastrin releasing peptide family of neuropeptides in the progression of human prostate cancer. *Prostate* 1998, suppl 8, 52-61.
 56. Harper ME, Glynne-Jones E, Goddard L i wsp. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in prostatic tumours and its relationship to neuroendocrine cells. *Br J Cancer* 1996; 74: 910-6.
 57. Ferrer FA, Miller LJ, Andrawis RI i wsp. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human prostate cancer: *in situ* and *in vitro* expression of VEGF by human prostate cancer cells. *J Urol* 1997; 157: 2329-333.
 58. Ferrer FA, Miller LJ, Andrawis RI i wsp. Angiogenesis and prostate cancer: *in vivo* and *in vitro* expression of angiogenesis factors by prostate cancer cells. *Urology* 1998; 51: 161-7.
 59. Jackson MW, Bentel JM, Tilley WD. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in prostatic cancer and benign prostatic hyperplasia. *J Urol* 1997; 157: 2323-8.
 60. Ferrer FA, Miller LJ, Lindquist R i wsp. Expression of vascular endothelial growth factor receptors in human prostate cancer. *Urology* 1999; 54: 567-72.
 61. Weaver M, Abdul-Karim F, Srigley JJ i wsp. Paneth cell-like change of the prostate gland. A histological, immunohistochemical, and electron microscopic study. *Am J Surg Pathol* 1992; 16: 62-8.
 62. Adlakha H, Bostwick DG. Paneth cell-like change in prostatic adenocarcinoma represents neuroendocrine differentiation: Report of 30 cases. *Hum Pathol* 1994; 25: 135-9.
 63. Di Sant'Agnese PA. Neuroendocrine differentiation in prostatic adenocarcinoma does not represent true Paneth cell differentiation (editorial). *Hum Pathol* 1994; 25: 115-39.
 64. Bonkhoff H, Wernert N, Dhom G i wsp. Relation of endocrine-paracrine cells to cell proliferation in normal, hyperplastic and neoplastic human prostate. *Prostate* 1991; 18: 91-8.
 65. Bonkhoff H, Remberger K. Widespread distribution of nuclear androgen receptors in the basal cell layer of the normal and hyperplastic human prostate. *Virchows Archiv A Pathol Anat Histopathol* 1993; 422: 35-8.
 66. Harper ME, Glynne-Jones E, Goddard L i wsp. Expression of androgen receptor and growth factors in premalignant lesions of the prostate. *J Pathol* 1998; 186: 169-77.
 67. Bonkhoff H, Stein U, Remberger K. Androgen receptor status in endocrine-paracrine cell types of the normal, hyperplastic and neoplastic human prostate. *Virchows Arch A Pathol Anat* 1993; 423: 291-4.
 68. Bonkhoff H. Neuroendocrine cells in benign and malignant prostate tissue: morphogenesis, proliferation, and androgen receptor status. *Prostate* 1998; suppl. 8, 18-22.
 69. Krijnen JLM, Janssen PJA, Ruizeveld de Winter JA i wsp. Do neuroendocrine cells in prostate cancer express androgen receptor? *Histochemistry* 1993; 100: 393-8.
 70. Nakada SY, di Sant'Agnese PA, Moynes RA i wsp. The androgen receptor status of neuroendocrine cells in human benign and malignant prostatic tissue. *Cancer Res* 1993; 53: 1967-70.
 71. Abrahamsson PA. Neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma. *Prostate* 1999; 39: 135-48.
 72. Fetissov F, Dubois MP, Arbeille-Brassart B i wsp. Endocrine cells in the prostate gland, urothelium and Brenner tumours. Immunohistochemical and ultrastructural studies. *Virchows Arch (Cell Pathol)* 1983; 42: 53-64.
 73. Aumüller G, Leonhardt M, Janssen M i wsp. Neurogenic origin of human prostatic endocrine cells. *Urology* 1999; 53: 1041-8.

74. Bonkhoff H, Remberger K. Differentiation pathways and histogenetic aspects of normal and abnormal prostatic growth: A stem cell model. *Prostate* 1996; 28: 98-106.
75. Bonkhoff H, Stein U, Remberger K. Multidirectional differentiation in the normal, hyperplastic and neoplastic human prostate. Simultaneous demonstration of cell specific epithelial markers. *Hum Pathol* 1994; 25: 42-46.
76. Bonkhoff H, Stein U, Remberger K. The proliferative function of basal cells in the normal and hyperplastic human prostate. *Prostate* 1994; 24: 114-118.
77. Van Leenders G, Dijkman H, Hulsbergen-van de Kaa C i wsp., Demonstration of intermediate cells during human prostate epithelial differentiation *in situ* and *in vitro* using triple-staining confocal scanning microscopy. *Lab Invest* 2000; 80: 1251-8.
78. Bonkhoff H, Stein U, Remberger K. Endocrine-paracrine cell types in the prostate and prostatic adenocarcinoma are postmitotic cells. *Hum Pathol* 1995; 26: 167-70.
79. Aumüller G, Leonhardt M, Renneberg H i wsp. Semiquantitative morphology of human prostatic development and regional distribution of prostatic neuroendocrine cells. *Prostate* 2001; 46: 108-15.
80. Aprikian A, Cordon Cardo C, Fair WR i wsp. Neuroendocrine differentiation in metastatic prostatic adenocarcinoma. *J Urol* 1994; 151: 914-19.
81. Kazzar BA. Argentaffin and argyrophil cells in the prostate. *J Pathol* 1974; 112: 189-93.
82. Cockett AT, Di Sant'Agnese PA, Gopinath P i wsp. Relationship of neuroendocrine cells of prostate and serotonin to benign prostatic hyperplasia. *Urology* 1993; 42: 512-519.
83. Abrahamsson PA, Wadström LB, Alumets J i wsp. Peptide-hormone and serotonin-immunoreactive tumour cells in normal and hyperplastic prostate glands. *Pathol Res Pract* 1986; 181: 675-83.
84. Azzopardi JG, Ewans DJ. Argentaffin cells in prostatic carcinoma: Differentiation from lipofuscin and melanin in prostatic epithelium. *J Pathol* 1971; 104: 247-51.
85. Di Sant'Agnese PA, de Mesy-Jensen KL. Neuroendocrine differentiation in human prostatic carcinoma. *Hum Pathol* 1987; 8: 849-56.
86. Di Sant'Agnese PA, de Mesy Jensen KL. Neuroendocrine differentiation and prostatic carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 1988; 112: 1097-9.
87. Cohen RJ, Glezerson G, Haffjee Z. Prostate-specific antigen and prostate-specific acid phosphatase in neuroendocrine cells of prostate cancer. *Arch Pathol Labor Med* 1992; 116: 65-66.
88. Cohen RJ, Glezerson G, Haffjee Z i wsp. Prostatic carcinoma; histological and immunohistological factors affecting prognosis. *Brit J Urol* 1990; 66: 405-10.
89. Angelsen A, Syversen U, Haugen OA i wsp. Neuroendocrine differentiation in carcinomas of the prostate. Do neuroendocrine serum markers reflect immunocytochemical findings? *Prostate* 1997; 30: 1-6.
90. Jiborn T, Bjartell A, Abrahamsson PA. Neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma during hormonal treatment. *Urology* 1998; 51: 585-589.
91. Cohen MK, Arber DA, Coffield S i wsp. Neuroendocrine differentiation in prostatic adenocarcinoma and its relationship to tumor progression. *Cancer* 1994; 74: 1899-903.
92. Abrahamsson PA, Cockett AT, di Sant'Agnese PA. Prognostic significance of neuroendocrine differentiation in clinically localized prostatic carcinoma. *Prostate* 1998 suppl; 8: 37-42.
93. Ahlgren G, Pedersen K, Lundberg S I wsp. Neuroendocrine differentiation is not prognostic of failure after radical prostatectomy but correlates with tumor volume. *Urology* 2000; 56: 1011-5.
94. Noordzij MA, van der Kwast TH, van Steenbrugge GJ i wsp. The prognostic influence of neuroendocrine cells in prostate cancer: Results of a long-term follow-up study with patients treated by radical prostatectomy. *Int J Cancer* 1995; 62: 252-8.
95. Grobholz R, Bohrer MH, Siegmund M i wsp. Correlation between neovascularisation and neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma. *Pathol Res Pract* 2000; 196: 277-84.
96. Grignon D, Caplan R, Sakr W i wsp. Neuroendocrine differentiation as a prognostic indicator in locally advanced prostate cancer (Pca). *Lab Invest* 1995; 72: 76A.
97. Yu DS., Hsieh DS., Chen HI i wsp. The expression of neuropeptides in hyperplastic and malignant prostate tissue and its possible clinical implications. *J Urol* 2001; 166: 871-5.
98. Borre M, Offersen BV, Nerstrom B i wsp. Microvessel density predicts survival in prostate cancer patients subjected to watchful waiting. *Br J Cancer* 1998; 78: 940-4.
99. Theodorescu D, Broder SR, Boyd JC i wsp. p53, bcl-2 and retinoblastoma proteins as long-term prognostic markers in localized carcinoma of the prostate. *J Urol* 1997; 158: 131-7.
100. Krupski T, Petroni GR, Frierson HF Jr i wsp. Microvessel density, p53, retinoblastoma and chromogranin A immunocytochemistry as predictors of disease-specific survival following radical prostatectomy for carcinoma of the prostate. *Urology* 2000; 55: 743-9.
101. Bostwick DG, Dousa MK, Crawford BG i wsp. Neuroendocrine differentiation in prostatic intraepithelial neoplasia and adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 1994; 18: 1240-6.
102. Bostwick DG, Grignon DJ, Hammond ME i wsp. Prognostic factors in prostate cancer. College of American Pathologist Consensus Statement. 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 995-1000.
103. Kadmon D, Thompson TC, Lynch GR i wsp. Elevated plasma chromogranin A concentrations in prostatic carcinoma. *J Urol* 1991; 146: 358-61.
104. Wu JT, Erickson AJ, Tsao KC i wsp. Elevated serum chromogranin A is detectable in patients with carcinomas at advanced disease stages. *Ann Clin Lab Sci* 2000; 30: 175-8.
105. Logothetis CJ, Hoosien NM. The inhibition of the paracrine progression of prostate cancer as an approach to early therapy of prostatic carcinoma. *J Cell Biochem* 1992 (suppl); 16H: 128-34.
106. Hanyu S, Iwanaga T, Kano K i wsp. Distribution of serotonin-immunoreactive cells in the lower urinary tract of dogs. *Am J Anat* 1987; 180: 349-56.
107. Angelsen A, Mecsei R, Sandvik AK i wsp. Neuroendocrine cells in the prostate of the rat, guinea pig, cat and dog. *Prostate* 1997; 33: 18-25.
108. Vittoria A, La Mura E, Cocca T i wsp. Serotonin-, somatostatin- and chromogranin A- containing cells of the urethro-prostatic complex in the sheep. An immunocytochemical and immunofluorescent study. *J Anat* 1990; 171: 169-78.
109. Di Sant'Agnese PA, Davis NS, Chen M i wsp. Age-related changes in the neuroendocrine (endocrine-paracrine) cell population and the serotonin content of the guinea pig prostate. *Lab Invest* 1987; 57: 729-36.
110. Noordzij MA, van Weerden WM, de Ridder CM I wsp. Neuroendocrine differentiation in human prostatic tumor models. *Am J Pathol* 1996; 149: 859-71.
111. Jongsma J, Oomen MH, Noordzil MA I wsp. Kinetics of neuroendocrine differentiation in an androgen-dependent human prostate xenograft model. *Am J Pathol* 1999; 154: 543-51.

Otrzymano: 14 maja 2002 r.
 Przyjęto do druku: 31 maja 2002 r.