

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ПІДДУБНИЙ АРТЕМ МИХАЙЛОВИЧ



УДК 616.65-006-033.2-091(043.3)

**ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОМІНЕРАЛІЗАЦІЇ
ПРИ РАКУ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ**

Спеціальність 14.03.02 – патологічна анатомія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Запоріжжя – 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Сумському державному університеті Міністерства освіти і науки України.

Науковий керівник – доктор медичних наук, доцент **Москаленко Роман Андрійович**, доцент кафедри патологічної анатомії Сумського державного університету МОН України.

Офіційні опоненти:

заслужений діяч науки і техніки України, доктор медичних наук, професор **Шпонька Ігор Станіславович**, перший проректор, професор кафедри патологічної анатомії і судової медицини ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»;

доктор медичних наук, професор **Яковцова Ірина Іванівна**, завідувач кафедри патологічної анатомії, «Харківська медична академія післядипломної освіти».

Захист відбудеться « 10 » вересня 2020 року об 11⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 17.600.04 Запорізького державного медичного університету МОЗ України (69035, м. Запоріжжя, просп. Маяковського, 26).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Запорізького державного медичного університету МОЗ України (69035, м. Запоріжжя, просп. Маяковського, 26).

Автореферат розісланий « 26 » червня 2020 року.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
доцент



Т. В. Іваненко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Зростання онкологічної захворюваності є актуальною проблемою сьогодення. У 2012 році у світі було зареєстровано 14,1 млн нових випадків онкологічної патології та 8,2 млн смертей, пов'язаних із злякисними новоутвореннями [Torre L. A. et al., 2016]. У 2018 році ці показники досягли 18,1 та 9,6 млн. Аналіз темпів приросту епідеміологічних показників свідчить про те, що у XXI столітті онкологічна патологія посяде провідне місце в структурі захворюваності та смертності населення [Bray F. et al., 2018]. Аналіз онкологічної захворюваності в Україні засвідчує відповідність глобальних епідеміологічних трендів до зростання цих показників. У 2020 році очікується 200 тис. нових випадків злякисних новоутворень [Децик О. З. та ін., 2017].

Рак передміхурової залози (РПЗ) є однією з найбільш поширених злякисних патологій в усьому світі. Він займає провідні місця в структурі онкологічної захворюваності та смертності й має тенденції до зростання цих показників. У 2015 році у світі зареєстровано 1,6 млн нових випадків РПЗ та 366 тис. пов'язаних із ним смертей [Fitzmaurice C. et al., 2017]. Це зумовлює високе соціально-економічне значення зазначеної патології. Впровадження новітніх інструментальних, клініко-лабораторних та імуногістохімічних діагностичних методів призвело до зростання показників захворюваності на цю патологію впродовж останніх тридцяти років [Zhou C. K. et al., 2016].

Проблема оцінювання клінічного статусу та прогнозування ризиків розвитку ускладнень у разі злякисних новоутворень є актуальним питанням сучасної медицини. Розроблені методики оцінювання ризику розвитку метастазів РПЗ орієнтовані виключно на біохімічні ланки процесів метастазування, але не враховують морфологічних характеристик пухлин [Cooperberg M. R. et al., 2009].

Поширеність кальцифікатів передміхурової залози (ПЗ), за даними різних досліджень, становить від 7 % до 70 %, однак їх клінічне значення є нез'ясованим [Hyun J. S., 2018; Dell'Atti L. et al., 2016; Park B. et al., 2017; Hong C. G. et al., 2012; Geramoutsos I. et al., 2004]. Доведені вплив простатичних конкрементів (ПК) на зниження ефективності антибіотикотерапії при хронічному простатиті та розвиток урологічних симптомів, таких як порушення сечовипускання і біль. Однак їх патогенетична участь у процесах прогресії РПЗ не встановлена [Zhao W. P. et al., 2012; Park S. W. et al., 2010].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційне дослідження виконане згідно з планом наукових досліджень кафедри патологічної анатомії Медичного інституту Сумського державного університету та є частиною науково-дослідної роботи

«Розробка методу діагностики пухлин органів репродуктивної системи з використанням молекул клітинної адгезії раково-ембріонального антигену» (номер державної реєстрації 0117U003937, 2017–2020 рр.), в якій автор був відповідальним виконавцем, та частиною науково-дослідної роботи «Ефективність «liquid biopsy» та тканинної біопсії у діагностиці та лікуванні злоякісних пухлин» (номер державної реєстрації 0118U003570, 2018–2020 рр.), у якій дисертант виконав розділ дослідження щодо вивчення морфологічних та імуногістохімічних особливостей тканини раку передміхурової залози.

Тема дисертації була затверджена вченою радою Сумського державного університету МОН України (протокол № 1 від 28.08.2015) та уточнена вченою радою Сумського державного університету МОН України (протокол № 10 від 21.03.2019).

Мета дослідження. Охарактеризувати патоморфологічні особливості ацинарної аденокарциноми передміхурової залози з біомінеральними інтралюмінальними включеннями, з'ясувати їх склад та вплив на імуногістохімічні характеристики пухлини.

Завдання дослідження:

1. Провести аналіз частоти та структури захворюваності на рак передміхурової залози в Сумській області за період 2010–2017 років за даними Національного канцер-реєстру України, відділу статистики Сумського обласного онкологічного диспансеру та Сумського обласного канцер-реєстру.

2. Установити особливості взаємодії біомінеральних інтралюмінальних включень із тканиною раку передміхурової залози.

3. Визначити імуногістохімічні особливості тканини раку передміхурової залози з біомінеральними інтралюмінальними включеннями.

4. Вивчити патологічні біомінеральні утворення тканини раку передміхурової залози фізико-хімічними методами дослідження.

5. Оцінити роль простатолітів у формуванні остеобластичного імунофенотипу пухлинних клітин передміхурової залози.

Об'єктом дослідження є аденокарцинома передміхурової залози з біомінералізацією.

Предметом дослідження є клініко-морфологічні, молекулярно-біологічні, імуногістохімічні та фізико-хімічні ознаки тканин раку передміхурової залози з біомінеральними інтралюмінальними включеннями.

Методи дослідження:

1. Макроскопічний метод: візуальне вивчення стану тканини пухлин передміхурової залози за умов патологічної мінералізації.

2. Гістологічний метод із забарвленням тканини передміхурової залози гематоксилін-еозином.

3. Гістохімічний метод: забарвлення препаратів пухлин передміхурової залози за фон Коссом, конго червоним, алізариновим червоним, альціановим синім, застосування PAS-реакції. Дослідження тканин у флуоресцентному та поляризованому світлі.

4. Імуногістохімічний метод: застосування антитіл до різних білків: рецепторів до андрогенів (AR), остеонектину (ОСН), р53, каспази 3 (Casp3), Вах, CD68, мієлопероксидази (МРО), матриксної металопротеїнази 1 (ММР1), судинного ендотеліального фактора росту (VEGF), Hsp70, Hsp90, колагену I типу (Col I), колагену II типу (Col II).

5. Морфометричний метод: визначення основних обсягів структурних компонентів тканин передміхурової залози з біомінералізацією.

6. Рентгенодифракційне дослідження та інфрачервона спектроскопія мінералізованого матеріалу.

7. Сканувальна та просвічувальна електронна мікроскопія.

8. Статистичні методи – застосування параметричних та непараметричних статистичних показників.

Наукова новизна одержаних результатів. За результатами дослідження було встановлено, що наявність біомінеральних інтралюмінальних включень (ІЛВ) у тканині РПЗ. Були виявлені статистично достовірні відмінності експресії маркерів апоптозу Вах та Casp3, маркера ангиогенезу VEGF і стресового маркера Hsp90 між тканиною РПЗ із ІЛВ та неопластичною тканиною без них. Уперше було продемонстровано вплив ІЛВ на різні ланки процесу апоптотичної загибелі клітин, їх зв'язок із механічним травмуванням неопластичної тканини. За результатами дослідження було встановлено, що різні за складом ІЛВ мають принципово різні механізми формування, а отже, і різний хімічний склад. Було показано, що переважним мінеральним компонентом ПК є гідроксіапатит кальцію. Продемонстровано, що з місцями розміщення біомінеральних ІЛВ в пухлинній тканині асоційована запальна клітинна інфільтрація. Установлений стимулювальний вплив простатолітів на формування остеобластичного профілю пухлинних клітин, що проявляється підвищеною експресією ОСН та Col I, та на остеотропізм метастазів такого РПЗ.

Практичне значення одержаних результатів. Було доведено стимулювальний вплив біомінеральних ІЛВ на процеси ремоделювання пухлинної тканини РПЗ, апоптозу (Вах і Casp3), запалення (МРО й CD68) та експресію остеобластичних маркерів (ОСН і Col I). Зазначені імуногістохімічні та морфологічні ознаки дають можливість включити фактор наявності біомінеральних ІЛВ у діагностичні алгоритми РПЗ і

використовувати їх наявність як прогностично-негативний показник щодо оцінювання ризику розвитку ускладнень РПЗ, а саме метастазів до кісток. Було запропоновано алгоритм гістохімічного дослідження тканини РПЗ для виявлення біомінеральних ІлВ.

Під час виконання дисертаційного дослідження було отримано патент на корисну модель «Спосіб виділення інтралюмінальних включень залоз простати з парафінових гістологічних блоків».

Матеріали дисертаційного дослідження впроваджені в навчальний процес на кафедрах патологічної анатомії Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця, Харківського національного медичного університету, Буковинського державного медичного університету, Медичного інституту Сумського державного університету, кафедри патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медичного університету, кафедри патологічної анатомії, судової медицини та права Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, кафедрах патологічної анатомії з секційним курсом ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава), Одеського національного медичного університету, кафедри патологічної анатомії і судової медицини ДЗ «Дніпропетровської медичної академії МОЗ України», кафедри загальної та клінічної патології Харківського національного медичного університету ім. В. О. Каразіна, кафедри патологічної анатомії з секційним курсом та судовою медициною Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського. Результати дослідження використовують у діагностичній роботі Полтавського, Вінницького, Одеського, Чернігівського обласних патологоанатомічних бюро, Чернівецької ОКМУ «Патологоанатомічне бюро» та Державного патологоанатомічного центру України.

Особистий внесок дисертанта. Здобувач самостійно сформував дизайн дослідження, сформулював мету та завдання, провів пошук та дослідження матеріалу, а також виконав гістологічне, гістохімічне, імуногістохімічне дослідження зразків тканин. Автор самостійно провів пошук та аналіз літературних даних, статистичне оброблення одержаних результатів та їх інтерпретацію, визначення основних положень, що виносяться на захист, оформлення дисертації і формулювання висновків. Рентгенодифракційне дослідження та інфрачервона спектроскопія були виконані в Інституті прикладної фізики НАН України з консультативною допомогою кандидата фізико-математичних наук С. М. Данильченка.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи оприлюднені на: 29-му, 30-му та 31-му Європейських конгресах патологів (м. Амстердам, Нідерланди, 2017; м. Більбао, Іспанія, 2018; м. Ніцца, Франція, 2019), 77-й Міжнародній

науковій конференції Університету Латвії (м. Рига, Латвія, 2019), семінарі кафедри медичної біохімії та біофізики Університету Умео (м. Умео, Швеція, 2019), Міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих учених «Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини» (м. Суми, СумДУ, 2016). Дисертаційну роботу заслухано на міжкафедральному семінарі Медичного інституту Сумського державного університету 26 червня 2019 року (протокол № 6).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 13 наукових праць: 7 статей, з яких 5 – у наукових фахових виданнях України, 2 – у закордонних журналах, що індексуються наукометричною базою Scopus, 5 – у матеріалах і тезах конференцій та конгресів, 1 патент України на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 192 сторінках комп'ютерного тексту й складається з анотацій, вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів дослідження, результатів власних досліджень (5 розділів), аналізу та обговорення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, приміток, списку використаних джерел, а також додатків. Робота містить 71 рисунок, 5 таблиць та список використаних джерел із 269 джерел (11 кирилицею та 258 латиницею).

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи дослідження. Дисертаційна робота виконана в Сумському державному університеті на кафедрі патологічної анатомії. Мікроскопічно проаналізовано 968 зразків біопсійно-операційного матеріалу хворих на рак передміхурової залози, які лікувалися в урологічних відділеннях СОКЛ, СМКЛ № 1 чи СОКОД. Прояви патологічної біомінералізації виявлені у 27,27 % досліджених препаратів. Для поглибленого дослідження було відібрано 60 зразків тканини ацинарної аденокарциноми ПЗ: 30 зразків РПЗ з біомінеральними ІлВ (І група) та 30 зразків РПЗ без ІлВ (ІІ група) (табл. 1). Формування груп дослідження також передбачало включення ідентичних за морфологічним типом та ступенем диференціювання пухлин, що забезпечувало максимальну подібність між ними: 15 зразків РПЗ із сумою балів за шкалою Глісона від 6 (3 + 3) до 7 (3 + 4) та 15 зразків пухлинної тканини із сумою балів від 7 (4 + 3) до 10 (5 + 5). Також вивчали результати УЗД та патогістологічні висновки.

У роботі використані дані обласного канцер-реєстру та журнали реєстрації результатів біопсійних досліджень патологоанатомічного відділення Сумського обласного клінічного онкологічного диспансеру і філії Сумського обласного патологоанатомічного бюро.

Проведення дослідження було схвалене етичним комітетом Медичного інституту СумДУ (протокол № 1/1 від 08.04.19). Усі

дослідження виконані згідно з Гельсінською декларацією (6-те видання, перегляд 2008 р., м. Сеул) й Універсальною декларацією біоетики та прав людини (2006 р.).

Таблиця 1 – Розподіл випадків РПЗ I та II груп за клінічною класифікацією TNM. Числами зазначена абсолютна кількість випадків

Клінічна стадія		I група, <i>n</i> = 30	II група, <i>n</i> = 30
Показник <i>T</i>	<i>T</i> ₂	6	14
	<i>T</i> ₃	24	16
Показник <i>N</i>	<i>N</i> ₀	23	29
	<i>N</i> ₁	7	1
Показник <i>M</i>	<i>M</i> ₀	16	22
	<i>M</i> ₁	14	8

Гістологічний та гістохімічний методи. Для гістологічного дослідження біологічний матеріал фіксували в 10 % розчині нейтрального буферного формаліну впродовж 24 годин. У подальшому матеріал зневоднювали і заливали парафіном в апараті карусельного типу «АТМ-4М» (Україна). На ротаційному мікротомі Shandon Finnesse 325 («Thermo Scientific», США) виконували парафінові серійні зрізи товщиною 4×10^{-6} м. Депарафінізовані зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином, алізариновим червоним S (модифікація Даля – МакГі), альціановим синім (із рН 1,0 та 2,5), конго червоним, за методом фон Косса та проводили PAS-реакцію. Під час мікроскопічного дослідження враховували такі характеристики РПЗ: гістологічний тип будови (згідно з класифікацією ВООЗ), тип кальцифікації, наявність метастазів, особливості васкуляризації. Дослідження нативних мікропрепаратів у люмінесцентному (довжина хвилі збудження 495 нм) та циркулярному поляризованому світлі проводили за допомогою мікроскопів Zeiss Axio Imager Z1 і Leica DM4B відповідно.

Імуногістохімічне дослідження тканини РПЗ. Серійні зрізи товщиною 4×10^{-6} м, виготовлені з підготовлених гістологічних парафінових блоків, наносили на адгезивні скельця Super Frost («Thermo Scientific», США) і висушували за температури 37 °С впродовж 18 годин. Депарафінізовані зрізи підлягали демаскуванню антигенів термічним методом шляхом нагрівання зрізів у цитратному буфері (рН 6,0) за температури 95–98 °С. Для візуалізації результатів імуногістохімічного (ІГХ) дослідження застосовували систему детекції «UltraVision Quanto Detection System HRP Polymer» («Thermo Scientific», США), що передбачала блокування ендогенної пероксидазної активності 3 % перекисом водню, блокування неспецифічного фонового фарбування з

використанням «Ultra V Block», посилення реакції «Primary Antibody Amplifier Quanto». Як хромоген використовували діамінобензидин (DAB). У дослідженнях використана така панель антитіл: Rb a-Hu Collagen I (*Polyclonal*) («Thermo Scientific», США), Мо a-Hu Collagen II Ab-2 (*Clone 2B1.5*) («Thermo Scientific», США), Rb a-Hu MMP-1 (Collagenase-1) Ab-6 (*Polyclonal*) («Thermo Scientific», США), Мо a-Hu Osteonectin/SPARK (*Clone 5031*) («Thermo Scientific», США), Rb a-Hu Androgen Receptor (*Polyclonal*) («Thermo Scientific», США), Мо a-Hu Heat Shock Protein 70 (HSP70) Ab-2 (*Clone W27*) («Thermo Scientific», США), Мо a-Hu CD68 (*Clone KP1*) («Thermo Scientific», США), Rb a-Hu VEGF (*Polyclonal*) («Thermo Scientific», США), Rb a-Hu Myeloperoxidase (*Polyclonal*) («Thermo Scientific», США), Rb a-Hu HSP86 (*Polyclonal*) («Thermo Scientific», США), Rb a-Hu p53 (*Clone Y5*) («Thermo Scientific», США), Rb a-Hu Bax (*Polyclonal*) («Thermo Scientific», США), Rb a-Hu Caspase 3 (*Polyclonal*) («Thermo Scientific», США). Для контролю якості проведеного ІГХ-дослідження проводили активний (використання тканини з попередньо встановленою позитивною та негативною реакціями) та пасивний контроль одержаних результатів.

Проведення морфометричних досліджень складових елементів мікропрепаратів проводили за допомогою морфометричної програми «Zen 2.0». Кількість імунопозитивних клітин визначали в 6 відокремлених полях зору діаметром 1 000 мкм у кожному препараті. Для встановлення характеристик експресії маркерів без чітких патернів локалізації (Col I та Col II) був використаний метод аналізу площі експресії. Для цього в середовищі програми ImageJ виділяли фрагменти мікрофотографії з позитивним ІГХ-забарвленням та співвідносили його площу із загальною площею препарату.

Фізико-хімічні методи дослідження. Вивчення біомінералів за допомогою методів прикладного матеріалознавства було проведене в лабораторії Інституту прикладної фізики НАН України (завідувач – канд. фіз.-мат. наук С. М. Данильченко).

Мінеральну складову відокремлювали від м'яких тканин депозиту шляхом термічного оброблення в електропечі (на повітрі) за t 200 °C впродовж 1 години. Відбувалося руйнування органічної частини депозиту і видалення вільної води при збереженні незміненої структури мінералу. Після такого низькотемпературного відпалювання здебільшого тверді частинки мінералу можна було легко відокремити механічно від золи органічних тканин. Також проводили оброблення матеріалу за t 900 °C впродовж 1 години, що дозволяло повністю розділити органічну та неорганічну фази біомінералів.

Сканувальна електронна мікроскопія з енергодисперсійною спектроскопією (SEM/EDS). Із підготованого парафінового блоку

тканини виготовляли гістологічні зрізи товщиною 12×10^{-6} м, які розміщували на предметному столику зі спектрально чистого графіту. Для максимального прикріплення біологічного матеріалу до предметного столика та розплавлення парафіну зрізи витримували в термостаті за температури 60°C впродовж 30 хв. Для видалення парафіну зразки покривали ксилолом тричі по 3–4 хв, а потім – 96 % етанолом тричі по 5–6 хв та споліскували дистильованою водою. Після цього зразок біологічного матеріалу додатково заземляли струмопровідним скотчем, який обгортали навколо предметного столика. Виготовлені препарати досліджували на сканувальному мікроскопі PEMMA-100У з енергодисперсійним рентгенівським спектроскопом (SELMІ, Україна). Обробляли спектрометричну інформацію за допомогою штатного програмного забезпечення системи мікроаналізу.

Просвічувальна електронна мікроскопія була проведена на електронному мікроскопі ПЕМ-125 К (SELMІ, Україна).

Рентгенодифракційне дослідження (XRD) структури матеріалів виконане на дифрактометрі ДРОН4-07 («Буревісник», Росія) з використанням випромінювання $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 0,154$ нм) за умов фокусування за Бреггом – Brentano ($\theta - 2\theta$) (2θ – бреггівський кут). Зразки знімали в режимі безперервної реєстрації (швидкість $2\theta/\text{хв}$) в діапазоні кутів 2° від 10° до 70° . Попереднє оброблення експериментальних результатів було проведене в програмному пакеті DIFWIN-1 (ТОВ «Еталон ВТЦ»), ідентифікація кристалічної структури і фазового складу – за допомогою програмного пакета Crystallographica Search-Match (Oxford Cryosystems).

Інфрачервона спектроскопія (IRS) була виконана на Фур'є-спектрометрі Spectrum-One (PerkinElmer, USA, 2003). Перед дослідженнями зразки у вигляді порошку змішували з порошком KBr (3,0 мг зразка на 300 мг KBr) і спресовували в таблетки. Вимірювання та аналіз спектрів виконували з використанням штатного програмного забезпечення приладу.

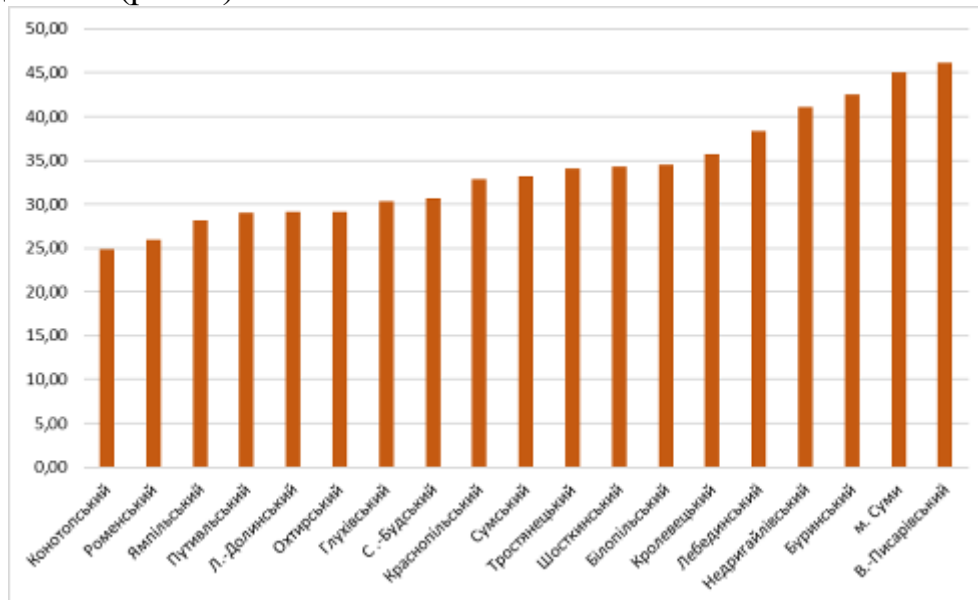
Статистичний аналіз. Для дослідження епідеміологічних особливостей РПЗ серед населення Сумської області були використані дані відділу статистики Сумського обласного онкологічного диспансеру, Сумського обласного канцер-реєстру та Національного канцер-реєстру України. Для статистичного аналізу показників захворюваності на РПЗ в Сумській області були використані середній показник захворюваності X_c , стандартне відхилення σ та середня похибка m .

Результати морфометричних вимірювань тканини ПЗ та дані ПХ-дослідження були перевірені на нормальний розподіл (НР) за допомогою критерію Шапіро – Вілка (Shapiro – Wilk). У разі ненормального

розподілу цифрових показників для оцінювання статистичної значущості використовували критерій Манна – Уїтні (Mann – Whitney).

Якщо вибірки даних мали правильний розподіл, їх порівнювали за допомогою параметричного t-критерію Стьюдента за умови підтвердження випадковості розбіжностей ($F_{\text{крит}} > F_{\text{експ}}$) згідно з критерієм Фішера. Якщо $t_{\text{експ}} \geq t_{\text{крит}}$, то відмінність вважали достовірною.

Результати дослідження та їх обговорення. Упродовж 2010–2017 років у Сумській області спостерігали стабільно високий рівень захворюваності на РПЗ, що становив у середньому ($34,48 \pm 3,48$) на 100 тис. населення, тоді як загальнодержавний показник становив ($36,79 \pm 1,39$) випадка на 100 тис. населення. Було встановлено, що показник РПЗ серед населення Сумської області має виражену тенденцію до зростання, є неоднорідним та не має чітких географічних закономірностей розподілення (рис. 1).



Примітка. Дані наведені за зростанням.

Рисунок 1 – Середні показники захворюваності на РПЗ в Сумській області у 2010–2017 рр. (на 100 тис. населення).

Найвищий рівень захворюваності спостерігали в Буринському, Великописарівському районах та м. Сумах, а найнижчий – у Конотопському, Роменському та Ямпільському районах Сумської області. Цікаво, що райони, які були віднесені до IV зони радіаційного контролю після аварії на ЧАЕС (Шосткинський, Ямпільський та Середино-Будський) та мають підвищений рівень забруднення солями важких металів, демонструють середні або низькі для Сумської області показники захворюваності на РПЗ [Санніков В. та ін., 1995].

Аналіз клінічних даних пацієнтів свідчить про більш агресивний перебіг захворювання в пацієнтів, хворих на ацинарну аденокарциному ПЗ з біомінеральними ІлВ. Так, для зразків I групи порівняно з II групою

були характерні більш поширений ріст з інвазією капсули органа ($p < 0,02$), більш висока частота метастазування до регіонарних лімфатичних вузлів ($p < 0,02$) і тенденція до більш високої частоти метастазування. Таким чином, простежується виражена тенденція до розвитку місцевих та загальних ускладнень РПЗ за наявності в його структурі біомінеральних ІлВ.

При гістологічному дослідженні ацинарної аденокарциноми ПЗ було встановлено, що наявність ІлВ сприяє ремоделюванню тканини з порушенням секреторного циклу залоз та дренажної функції, що призводить до механічної травматизації, розвитку хронічного запалення й фіброзу.

Було виявлено достовірно вищу наявність CD68-позитивних ($p < 0,001$) та MPO-позитивних ($p < 0,001$) клітин у ацинарній аденокарциномі ПЗ з формуванням біомінеральних ІлВ (табл. 2). На нашу думку, взаємозв'язок між наявністю ІлВ та запаленням також залучає процеси механічного травмування епітеліального компонента пухлини поверхнею простатолітів, а також персистуванням мікроорганізмів на мікропористій поверхні біомінералів. Таким чином, мікроорганізми та білкові ефекторні молекули запалення можуть бути складовими частинами ПК. Локалізація цих клітинних елементів відповідає місцям розміщення ІлВ у тканині РПЗ, що також підтверджує участь імунокomпетентних клітин у розвитку біомінералізації. K. Sfanos et al. також продемонстрували наявність білків гострого запалення в структурі ПК і *serroga amylasea* (CA), зокрема, лактоферину, MPO та інших, таким чином, засвідчуючи участь цих протеїнів у процесах формування ІлВ [Sfanos K. et al., 2009].

Достовірно вища експресія проапоптотичного протеїну Вах клітинами ацинарної аденокарциноми ПЗ з формуванням ПК ($p < 0,001$), яку ми виявили, свідчить про стимулювальний вплив біомінеральних ІлВ на апоптотичні процеси в неопластичній тканині. Цей факт також підтверджується вищим рівнем наявності Casp3 ($p < 0,001$), що є безпосереднім ефектором апоптозу та може бути активована Вах-протеїном (табл. 2). Rong Luo et al. продемонстрували, що Casp3 може бути також активована медіаторами запалення [Luo R. et al., 2019]. Цей факт підтверджується підвищеною наявністю клітинних елементів запалення в тканині РПЗ із ІлВ, яку ми виявили.

Було продемонстровано, що наявність ІлВ у неопластичній тканині супроводжується достовірно нижчою експресією Hsp90 ($p < 0,001$), однак не впливає на рівень Hsp70 ($p > 0,05$). Ці протеїни були виявлені також і в структурі ІлВ, що свідчить про участь їх у формуванні ІлВ. Hsp90 бере участь у стабілізації просторової структури білкових молекул, зокрема AP [Centenera M. M. Et al., 2013] (рис. 2). Таким чином, зниження

експресії Hsp90 у тканині РПЗ з ІлВ може сприяти розвитку кастраційно-резистентного РПЗ як більш злоякісної форми неоплазії.

Кількісні результати оцінювання ІГХ-досліджень наведені в таблиці 2.

Таблиця 2 – Результати ІГХ-дослідження ацинарної аденокарциноми ПЗ з біомінеральними ІлВ та РПЗ без ІлВ

№ пор.	Маркер	Кількість ІГХ-позитивних клітин у полі зору	
		РПЗ з ІлВ (n = 30)	РПЗ без ІлВ (n = 30)
1	AR	378,85 ± 22,42	421,02 ± 32,82
2	p53	39,89 ± 2,31	36,48 ± 2,46
3	Bax	61,62 ± 2,36	44,62 ± 2,94
4	Casp3	50,90 ± 2,36	31,88 ± 1,79
5	Hsp70	312,06 ± 13,39	267,73 ± 18,32
6	Hsp90	342,06 ± 19,19	434,14 ± 21,63
7	MMP1	38,21 ± 1,59	36,84 ± 1,88
8	VEGF	50,81 ± 2,38	61,46 ± 2,92
9	MPO	31,50 ± 1,71	13,89 ± 1,26
10	CD68	137,48 ± 3,39	92,14 ± 4,12
11	OCH	77,57 ± 5,65	36,80 ± 2,50
		Площа препарату з позитивною ІГХ-реакцією, %	
		РПЗ з ІлВ (n = 30)	РПЗ без ІлВ (n = 30)
12	Col I	36,22 ± 1,53	28,19 ± 1,17
13	Col II	9,88 ± 0,58	10,69 ± 0,56

Наявність ІлВ у пухлині супроводжувалася достовірним зниженням експресії VEGF пухлинною тканиною ($p < 0,05$), що свідчить про негативний вплив біомінеральних ІлВ на процеси васкуляризації. Результати проведеного дослідження засвідчують, що експресія рецепторів до стероїдних гормонів у тканині РПЗ, зокрема AR, не має статистично достовірної відмінності між РПЗ з ІлВ та РПЗ без ІлВ ($p > 0,05$), однак простежувався досить чіткий тренд до зниження цього показника в групі РПЗ з ІлВ (рис. 2). Тому ми вважаємо, що рівень експресії AR є окремим, не пов'язаним з ІлВ, прогностичним маркером оцінювання перебігу РПЗ та розвитку його ускладнень.

Було встановлено, що MMP1-позитивні пухлинні клітини в ацинарній аденокарциномі ПЗ з ІлВ мали порівняно більшу інтенсивність ІГХ-сигналу та розміщувалися переважно в безпосередній близькості до ІлВ, проте статистично достовірних закономірностей ми не встановили ($p > 0,05$). Однак, на нашу думку, наявність ІлВ у тканині РПЗ зумовлює більш агресивний перебіг неоплазії та розвиток віддалених метастазів, що не залежить від рівня експресії MMP1.

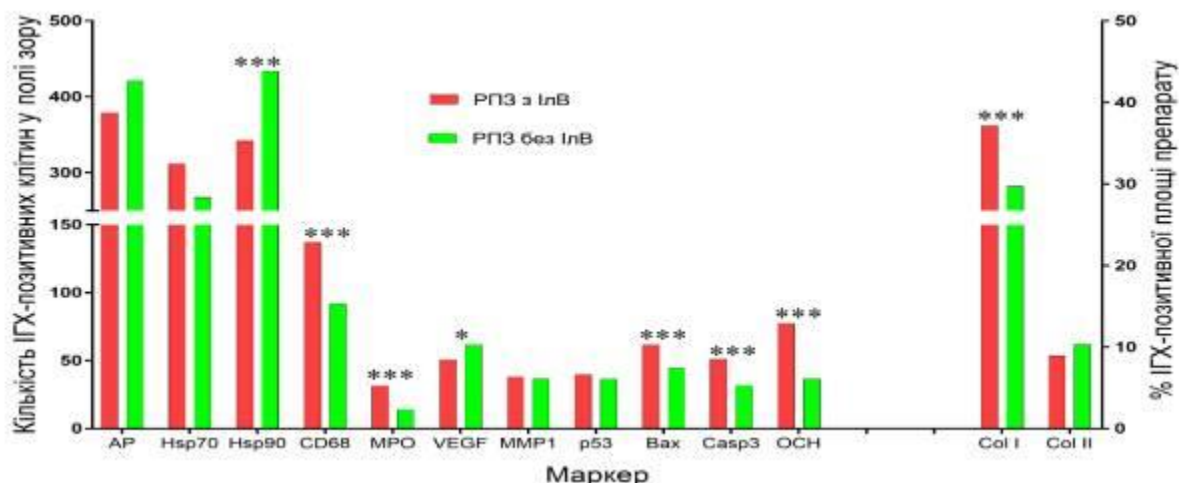


Рисунок 2 – Результати ІГХ-дослідження тканини РПЗ та статистичного аналізу одержаних результатів: *** – $p < 0,001$; * – $p < 0,05$)

Ми продемонстрували, що ПК та СА утворюються за принципово різними механізмами. ПК формуються шляхом преципітації з перенасиченого вмісту простатичних залоз, тоді як для СА характерним є механізм матрично-спрямованого росту на інтралюмінальному детриті з десквамованого епітелію, залишках мікроорганізмів тощо [Cross P. A. et al., 1992]. Два основні гіпотетичні механізми генезису СА та ПК наведені на рисунку 3.

Аналіз причинно-наслідкових зв'язків між наявністю остеотропних білків та утворенням кальцифікатів у РПЗ може свідчити про первинність процесів кальцифікації в системі «простатоліт–РПЗ», оскільки частіше ПК трапляються при доброякісній гіперплазії ПЗ (ДГПЗ). Попередньо ми встановили, що у 27,6 % доброякісної гіперплазії ПЗ виявляються ПК [Moskalenko R. A. et al., 2013].

У структурі ПК виявлялися солі кальцію (позитивне забарвлення алізариновим червоним) у формі фосфатів кальцію (позитивне забарвлення за фон Коссом). У структурі СА за допомогою обох зазначених методів сполук кальцію виявлено не було. З іншого боку, СА мали позитивне забарвлення конго червоним, а в циркулярному поляризаційному світлі виявлялися феномен дифракції у вигляді мальтійського хреста та світіння зеленого яблука. Таким чином, усі СА, які ми дослідили, мали у своєму складі значний вміст білка-амілоїду, що також підтверджують дослідження С. Röcken [Röcken C. et al., 1996]. Ми також не виявили проміжних форм між СА та ПК.

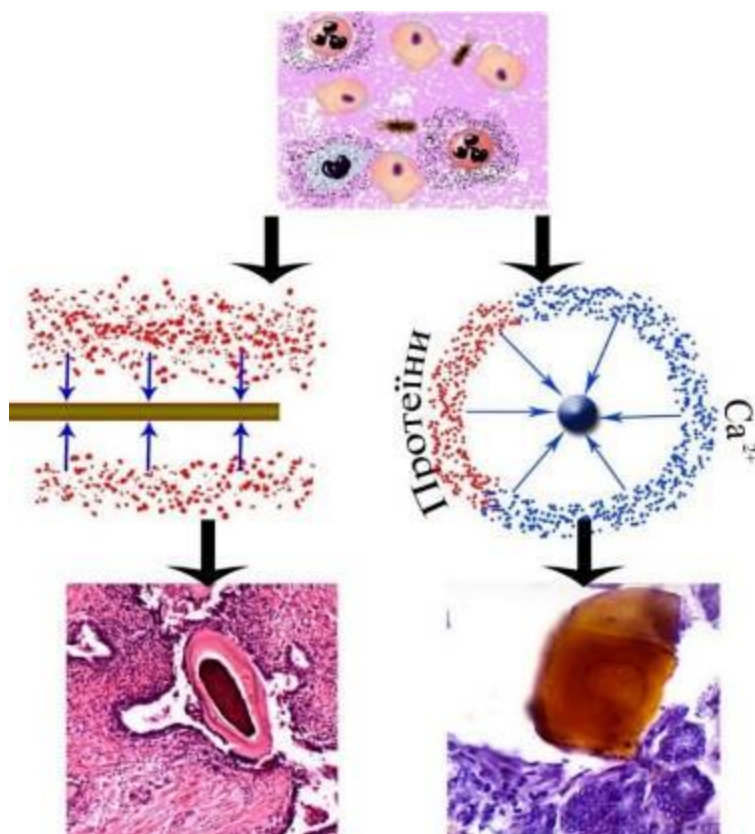


Рисунок 3 – Схема основних механізмів утворення білкових та біомінеральних ІЛВ РПЗ

SEM/EDS показали, що структура ПК є неоднорідною, з наявністю хвилястих нашарувань. Між цими нашаруваннями міститься безструктурна речовина. Подібна ритмічність структури ПК свідчить про циклічність процесів літогенезу в ПЗ. Результати проведеного енергодисперсійного спектроскопічного дослідження свідчать про значний вміст кальцію та фосфору в складі ПК у співвідношенні 1,67, що є характерним для гідроксіапатиту, з незначними домішками калію та цинку. Рентгенівський мікроаналіз ПК встановив, що мінеральною основою досліджених ПК є фосфат кальцію у формі апатиту з високою частотою включень сторонніх хімічних елементів, що також характерно й для біологічного апатиту тканин скелета. Подібні результати одержані в дослідженнях К. Sfanos et al. [Sfanos K.S. et al., 2009]. Наявність карбонатів у структурі апатиту ПК (переважно В-типу, де іони CO_3^{2-} заміщують групи PO_4^{3-}) та специфічність форми їх кристалів із типовими розмірами декілька десятків нанометрів свідчать про хімічну і морфологічну спорідненість ектопічного апатиту ПК та фізіологічного апатиту кісткової тканини. В обох випадках малі розміри кристалів зумовлюють досить високе співвідношення поверхня/об'єм, що є свідченням великої площі взаємодії з органічним компонентом чи біологічними рідинами, які повинні містити специфічні інгібітори чи регулятори росту кристалів.

Аналіз одержаних результатів свідчить про підвищення вмісту глікозильованих структур у тканині РПЗ з ПК. Також відзначається тенденція до зміни хімічного складу гліканів. S. K. Mathur et al. встановили, що РПЗ на відміну від ДГПЗ характеризується підвищеним умістом кислих муцинів, виявлених за допомогою фарбування альціановим синім [Mathur S. K. et al., 2003]. Durgaprasad N. Agrawal et al. також наголошують на можливості використання цієї методики забарвлення як диференціально-діагностичний метод дослідження між ДГПЗ та високодиференційованою аденокарциномою ПЗ [Agrawal D. N. et al., 2014]. Диференціальне забарвлення за допомогою альціанового синього, яке ми провели, показало підвищену наявність саме кислих та сульфатованих глікозаміногліканів у тканині РПЗ з ПК порівняно зі зразками РПЗ без ІлВ. Наявність зазначених сполук як у секреті неопластичних залоз, так і в структурі немінералізованих ІлВ свідчить про їх участь у процесах розвитку СА та біомінералізації. S. Bastola et al. засвідчують, що цей метод забарвлення гістологічних препаратів може бути використаний і для встановлення ступеня диференціювання злякисних неоплазій ПЗ. Результати їх досліджень свідчать про кореляцію між рівнем простатоспецифічного антигену, інтенсивністю забарвлення альціановим синім та ступенем злякисності РПЗ, тобто оцінкою за шкалою Глісона [Bastola S. et al., 2014].

Ми визначили, що в стромі ацинарної аденокарциноми ПЗ за наявності біомінеральних ІлВ спостерігається достовірно вища експресія Col I ($p < 0,001$). N. Burns-Cox et al. у своєму дослідженні показали, що РПЗ порівняно з ДГПЗ характеризується вищим умістом Col I та супроводжується підсиленою його деградацією [Burns-Cox N. et al., 2001]. Christopher L. Hall et al. зазначають, що активація рецепторів $\alpha 2\beta 1$ до Col I призводить до активації RhoC-гуанозинтрифосфатази та супроводжується розвитком кісткових метастазів РПЗ [Hall C. W. et al., 2008]. Наші дані доповнюють та підтверджують вищеописані дослідження. Ми вважаємо, що надлишок Col I у пухлинному мікрооточенні сприяє розвитку специфічного остеобластичного рецепторного статусу пухлинних клітин та сприяє розвитку остеобластичного імунофенотипу неоплазії.

Ми встановили, що ацинарна аденокарцинома ПЗ з біомінеральними ІлВ характеризувалася достовірно вищою наявністю ОСН-позитивних клітин ($p < 0,001$), а також більш агресивним клінічним перебігом захворювання, що виявлялося вираженою тенденцією до поширення пухлини за межі капсули та розвитком місцевих чи віддалених метастазів. Раніше було показано, що експресія ОСН клітинами раку шлунка є прогностично несприятливою ознакою та асоційованою з прогресуванням інвазивного росту пухлини [Maeng H.-Y. et al., 2002]. На нашу думку, експресія ОСН у РПЗ за наявності біомінеральних ІлВ супроводжується

посиленням процесів пухлинної інвазії та сприяє розвитку метастазів за рахунок специфічного потенціювання дії металопротеїназ і сприяння міграції клітин РПЗ та розвитку метастазів до кісткової тканини, що було показано в дослідженнях К. Jacob et al. [Jakob K. et al., 1999]. Regi Thomas et al. виявили кореляцію між експресією ОСН у первинному вогнищі РПЗ та метастатичній тканині [Thomas R. et al., 2000]. Таким чином, наявність ПК й асоційована з ними підвищена експресія ОСН безпосередньо впливають на процеси метастазування та остеотропізм метастатичного ураження.

Поєднання ПК та експресії остеобластичних маркерів у клітинах РПЗ свідчить про тісний зв'язок між цими явищами. Наявність патологічної біомінералізації у вигляді ПК у тканині РПЗ створює модулюючий ефект на ракові клітини, сприяючи експресії деяких кісткових маркерів. На нашу думку, це полегшує розпізнавання кісткової тканини циркулюючими клітинами РПЗ як ніші для розвитку метастазів. РПЗ. Тобто циркулююча пухлинна клітина має відповідний фенотип для пошуку специфічної ніші (рис. 4).



Рисунок 4 – Схема зв'язку ПК з розвитком остеобластичного фенотипу

ВИСНОВКИ

Незважаючи на значну поширеність РПЗ, на сьогодні відсутні дані щодо впливу біомінеральних ІЛВ на перебіг захворювання та розвиток його ускладнень, зокрема метастазів до кісткової тканини. У дисертаційній роботі вирішується актуальне питання сучасної патологічної анатомії, що стосується покращання якості діагностики і прогнозу перебігу РПЗ шляхом виявлення патоморфологічних особливостей аденокарциноми ПЗ з наявністю біомінеральних ІЛВ, установлення патогенетичних особливостей канцерогенезу за умов утворення ПК у пухлинній тканині.

1. Найвища захворюваність на РПЗ у 2010–2017 роках спостерігалась у Великописарівському ($46,14 \pm 5,02$ %), Буринському ($42,54 \pm 5,84$ %), Недригайлівському ($41,08 \pm 5,61$ %), Лебединському ($38,33 \pm 6,12$ %) районах та в м. Сумах ($45,00 \pm 4,55$ %). Для Сумської області характерним є середній рівень захворюваності на РПЗ, простежується чітка тенденція до зростання цього показника. На зростання кількості виявлених випадків РПЗ в Сумській області впливають комплекс чинників, зокрема покращання рівня якості клінічної та морфологічної діагностики в регіоні. Частота виявлення біомінеральних ІлВ у тканині РПЗ становить 27,27 %.

2. Наявність біомінеральних ІлВ в ацинарній аденокарциномі ПЗ супроводжується ремоделюванням пухлинної тканини, що проявляється кістозною трансформацією залоз, порушенням дренажної функції та застоєм секрету, розвитком перигландулярного запалення і склерозу. За наявності цих структур відбуваються хронічне травмування неопластичної тканини та порушення секреторного циклу.

3. У групі зразків РПЗ з біомінеральними ІлВ було виявлено підвищені показниками експресії Вах ($p < 0,001$), Casp3 ($p < 0,001$), CD68 ($p < 0,001$) та MPO ($p < 0,001$), що пов'язано з морфогенетичним впливом ПК на пухлинну тканину. Вищі рівні експресії Вах та Casp3 у пухлинній тканині РПЗ з ІлВ свідчать про активацію апоптозу. Підвищена наявність макрофагів та нейтрофілів у пухлинній тканині свідчить про вищу інтенсивність запалення в цій групі зразків. Знижений рівень експресії фактору росту ендотелію VEGF ($p < 0,05$) та Hsp90 ($p < 0,001$) у тканині РПЗ з ІлВ засвідчує негативний вплив ПК на процеси ангіогенезу в тканині РПЗ.

4. За результатами фізико-хімічних досліджень визначено, що мікро– та макроскопічні ПК ацинарної аденокарциноми ПЗ мають подібний хімічний склад і співвідношення кальцію та фосфору. Установлено, що основною складовою цих утворів є нанокристалічний гідроксіапатит кальцію за наявності карбонатних заміщень у ґратці. Рентгенодифракційне дослідження виявило, що, крім основної фази гідроксіапатиту, в структурі ПК наявний також оксид цинку та залізовмісний фосфат кальцію. Зазначені хімічні елементи входять до складу основних ферментів тканини ПЗ (цинк) та є складовою частиною гемоглобіну (залізо), що опосередковано свідчить про хронічну травматизацію тканини РПЗ. Аналіз структури та хімічного складу всіх досліджених ПК за допомогою сканувальної електронної мікроскопії свідчить про подібність механізмів утворення мікро- і макроскопічних ПК та циклічність формування.

5. Ацинарна аденокарцинома ПЗ з біомінеральними ІлВ, порівняно з аденокарциномою ПЗ без біомінеральних ІлВ, демонструє більшу

схильність до експресії остеобластичних маркерів ОСН ($p < 0,001$) та Col I ($p < 0,001$), що може зумовлювати остеотропізм метастазів такого раку ПЗ

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Дослідження впливу біомінеральних включень на біологічну поведінку РПЗ дозволяє використовувати простатоліти як прогностичний фактор перебігу цієї хвороби та диференційовано підходити до лікування пацієнтів із РПЗ.

2. На підставі одержаних у дослідженні даних був запропонований діагностичний алгоритм з урахуванням наявності біомінералізації, що дозволить у клінічній практиці оптимізувати діагностику РПЗ, індивідуалізувати лікування та оцінити прогноз перебігу цієї хвороби.

3. Одержані дані свідчать про можливість використання остеонектину як маркера РПЗ, пов'язаного з розвитком метастазів, зокрема віддалених, особливо до кісткової системи.

4. Для ідентифікації мікропростатолітів у тканині РПЗ та їх диференціювання від СА рекомендоване додаткове використання гістохімічних методик забарвлення – реакції фон Косса.

5. Усі досліджені випадки ацинарної аденокарциноми ПЗ характеризувалися підвищеним умістом кислих глікозаміногліканів, що може бути використаним як додатковий критерій при диференційній діагностиці з доброякісною гіперплазією передміхурової залози.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Piddubnyi A., Danylchenko S., Romaniuk A., Moskalenko R. Prostatic calculi cause osteoblastic immunophenotype of prostate cancer. *Патологія*. 2019. Vol. 16, № 2 (46). P. 170–176. (Дисертант самостійно провів морфологічне, імуногістохімічне дослідження, проаналізував результати, сформулював висновки, підготував до друку статтю).

2. Prostate Cancer with Intraluminal Inclusions: the Association of the Immunophenotype with Grade Score / A. Piddubnyi et al. *Iranian Journal of Pathology*. 2019. Vol. 14, № 3. P. 212–222. (Дисертант розробив дизайн дослідження, провів імуногістохімічні дослідження, статистичне оброблення результатів та їх аналіз, сформулював висновки).

3. Piddubnyi A., Moskalenko R.. Molecular aspects of the bone metastases development in prostate cancer. *Eastern Ukrainian Medical Journal*. 2019. Vol. 7, № 2. P. 96–108. (Дисертант провів пошук літературних джерел, їх аналіз та узагальнення).

4. Піддубний А. М. Порівняльний аналіз впливу простатолітів та *corpora amylacea* на імунофенотип раку передміхурової залози. *Вісник*

Вінницького національного медичного університету. Вінниця, 2019. № 1. С. 64–69.

5. Піддубний А. М., Москаленко Р. А., Романюк А. М. Імуногістохімічна характеристика тканини раку передміхурової залози з інтралюмінальними включеннями. *Art of medicine*. 2018. № 3. С. 100–105. (Дисертант провів гістологічне вивчення препаратів та імуногістохімічне дослідження, опрацював одержані результати, сформулював висновки, підготував статтю до друку).

6. Multifocal primary tumour with lesions in prostate gland and urinary bladder: clinical case / A. Romaniuk et al. *Bangladesh Journal of Medical Science*. 2017. Vol. 16, № 1. P. 161–165. (Дисертант провів морфологічне та імуногістохімічне дослідження препаратів, проаналізував результати, сформулював висновки).

7. Романюк А. М., Москаленко Р. А., Піддубний А. М., Сікора В. В. Аналіз захворюваності на злоякісні пухлини передміхурової залози в Сумській області. *Вісник проблем біології і медицини*. 2016. Вип. 2, т. 1 (128). С. 94–97. (Дисертант провів пошук та статистичний аналіз епідеміологічних показників захворюваності на рак передміхурової залози).

8. The effect of prostatic stones on the immunophenotype of prostate cancer cells / A. Piddubnyi et al. *Medicina: 77th International Scientific Conference of the University of Latvia* (Riga, Latvia, 22 February 2019). Riga, 2019. Vol. 55, Suppl. 1. P. 95. (Дисертант провів практичну частину дослідження, проаналізував одержані результати, сформулював висновки).

9. Osteonectin overexpression in the case of prostate cancer with intraluminal inclusions / A. Piddubnyi et al. *Virchows Archiv*. 2018. № 473. P. S45. (Дисертант створив дизайн дослідження, провів гістологічне та імуногістохімічне вивчення зразків, проаналізував дані, сформулював висновки).

10. Hsp 90 overexpression in chronic bacterial prostatitis with corpora amylacea / A. Piddubnyi et al. *Virchows Arch*. 2017. Vol. 471, Suppl. 1. P. S267–268. (Дисертант виконав морфологічне та гістохімічне дослідження зразків, проаналізував дані, сформулював висновки).

11. Prostate cancer leads to a change in the composition of tissue carbohydrates / A. Romaniuk et al. *Virchows Arch*. 2019. Vol. 475, Suppl. 1. P. S25. (Дисертант сформулював схему дослідження, провів гістохімічне дослідження та інтерпретував результати, сформулював висновки).

12. Піддубний А. М. Аналіз захворюваності на рак передміхурової залози серед населення Сумської області. *Актуальні питання теоретичної та практичної медицини* : зб. тез доп. V Міжнар. наук.-практ. конф. студентів та молодих учених (м. Суми, 21–22 квітня 2016 р.). Суми, 2016. С. 137.

13. Спосіб виділення інтралюмінальних включень залоз простати з парафінових гістологічних блоків : пат. 41235 Україна, МПК51, G01N 1/28, № u201702817 ; заявл. 27.03.2017 ; опубл. 11.09.2017, Бюл. № 17. 4 с. *(Дисертант розробив базовий концепт корисної моделі, провів експерименти щодо її підтвердження, сформулював заявку на патент).*

АНОТАЦІЯ

Піддубний А. М. Патоморфологічна характеристика біомінералізації при раку передміхурової залози. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія. – Запорізький державний медичний університет, МОЗ України, Запоріжжя, 2020.

Дисертаційна робота присвячена актуальній проблемі – оптимізації діагностики та оцінюванню перебігу раку передміхурової залози на тлі процесів біомінералізації. За результатами дослідження встановлено клініко-епідеміологічні особливості раку передміхурової залози в Сумській області. Був продемонстрований вплив простатолітів на підвищення експресії Вах ($p < 0,001$) та Casp3 ($p < 0,001$), встановлено їх вплив на зміни в кількісному складі запального пухлинного мікрооточення, що виявлялося ростом наявності CD68-позитивних ($p < 0,001$) та MPO-позитивних клітин ($p < 0,001$). Одночасно з цим у неопластичній тканині знижуються інтенсивність процесів ангіогенезу та експресія «стресових» маркерів, що виявлялося зниженням кількості VEGF-позитивних ($p < 0,05$) та Hsp90-позитивних ($p < 0,001$) пухлинних клітин. Установлено, що за наявності простатолітів у пухлинній тканині достовірно підвищується рівень експресії остеонектину та колагену I типу. Було показано, що ці чинники зумовлюють розвиток специфічного остеобластичного імунофенотипу пухлинних клітин, що сприяє розпізнаванню кісткової тканини циркулюючими раковими клітинами як оптимального мікрооточення для розвитку кісткових метастазів, тобто розвивається явище остеотропізму пухлинних клітин.

Ключові слова: рак передміхурової залози, імуногістохімічне дослідження, простатоліти, остеобластичний імунофенотип, гідроксіапатит, остеонектин, запалення.

АННОТАЦИЯ

Поддубный А.М. Патоморфологическая характеристика биоминерализации при раке предстательной железы. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия.

– Запорожский государственный медицинский университет, МЗ Украины, Запорожье, 2020.

Диссертационная работа посвящена актуальной проблеме – оптимизации диагностики и оценке течения рака предстательной железы на фоне процессов биоминерализации. По результатам научного исследования установлено клинико-эпидемиологические особенности рака предстательной железы в Сумской области. Было продемонстрировано влияние простатолитов на повышение экспрессии Bax ($p < 0,001$) и Casp3 ($p < 0,001$), установлено их влияние на изменения в количественном составе воспалительного опухолевого микроокружения, что проявлялось ростом присутствия CD68-положительных ($p < 0,001$) и МРО-положительных клеток ($p < 0,001$). Одновременно с этим в неопластических тканях снижается интенсивность процессов ангиогенеза и экспрессия «стрессовых» маркеров, проявляющееся в снижении количества VEGF-положительных ($p < 0,05$) и Hsp90-положительных ($p < 0,001$) опухолевых клеток. Установлено, что при наличии простатолитов в опухолевой ткани достоверно повышается уровень экспрессии остеоонектина и коллагена I типа. Было показано, что эти факторы обуславливают развитие специфического остеобластического иммунофенотипа опухолевых клеток, что способствует распознаванию костной ткани циркулирующими раковыми клетками в качестве оптимального микроокружения для развития костных метастазов, то есть развивается явление остеотропизма опухолевых клеток.

Ключевые слова: рак предстательной железы, иммуногистохимическое исследование, простатолиты, остеобластический иммунофенотип, гидроксипатит, остеоонектин, воспаление.

ABSTRACT

Piddubnyi A. M. Pathomorphological characterization of biomineralization in prostate cancer. – Qualification scientific work as the manuscript.

Thesis for Candidate of Medical degree by specialty 14.03.02 «Pathological anatomy». – Zaporizhia State Medical University, Ministry of Health Care of Ukraine, Zaporizhzhia, 2020.

The topic of thesis is devoted to the actual problem – optimization of diagnostics and evaluation of the course of prostate cancer with biomineralization. During the research the clinical and epidemiological features of prostate cancer in the Sumy region were established. The research pointed out that the presence of intraluminal inclusions in the neoplastic tissue is accompanied by its remodeling. It is manifested by cystic transformation of the

glands, the development of sclerosis and periglandular inflammation, violation of the secret outflow and its stagnation.

The results of the study showed the higher expression of Bax ($p < 0.001$) and Casp3 ($p < 0.001$) in the prostate cancer with prostatic calculi. It indicates the higher apoptotic potential of neoplastic cells. We also detected the increased number of CD68-positive ($p < 0.001$) and MPO-positive cells ($p < 0.001$) in the inflammatory tumor microenvironment. The massive inflammatory infiltrates were co-localized with intraluminal inclusions and were associated with mechanical traumas of tumor epithelium. At the same time the intensity of the angiogenesis and the expression of “stress» markers was lower, which was manifested in the reduction of the number of VEGF-positive ($p < 0.05$) and Hsp90-positive ($p < 0.001$) tumor cells in the prostate cancer with prostatic calculi. We also have indicated the presence of Hsp70 and Hsp90 in the corpora amylacea structure. It has been established that the levels of osteonectin and type I collagen are significantly higher in the prostate cancer with biomineralized intraluminal inclusions.

The presence of intraluminal inclusions causes a change in carbohydrate composition of neoplastic tissue. We pointed out that tissue of prostate cancer with intraluminal inclusions has a lower presence of neutral carbohydrates and a higher presence of acidic glycosaminoglycan.

The mineral component of prostatic calculi was represented by calcium phosphate as a calcium hydroxyapatite with admixture on another element, such as magnesium and zinc. The layered structure indicates the cyclicity of the prostatic calculi formation, involvement of both organic and inorganic components in their development. Structural study revealed a similarity of prostatic calculi structure to the unchanged bone tissue. A patent for the extraction of prostatic intraluminal inclusions from paraffin embedded prostate cancer tissue was registered.

We found a fundamental difference in the mechanisms of corpora amylacea and prostatic calculi formation. The corpora amylacea are predominantly formed due to matrix growth on the intraluminal detritus, whereas the prostatic stones are formed by direct precipitation from the supersaturated solution.

The combination of these factors has a modifying effect on tumor cells and predetermine the development of their specific osteoblastic phenotype. This phenomenon can contribute to the recognition of bone tissue by circulating cancer cells as an optimal microenvironment for the development of bone metastases, that is, the phenomenon of osteotropism of tumor cells develops.

Key words: prostate cancer, immunohistochemistry, prostatic calculi, osteoblastic immunophenotype, calcium hydroxyapatite, osteonectin, inflammation.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

Вах – білок Вах.

СА – *cornu amylasea*.

Casp3 – каспаза 3-го типу.

Col I – колаген I типу.

Col II – колаген II типу.

Hsp70 – білок теплового шоку з молекулярною масою 70 кДа.

Hsp90 – білок теплового шоку з молекулярною масою 86 кДа.

IRS – інфрачервона спектроскопія.

MMP1 – матриксна металопротеїназа 1-го типу.

MPO – мієлопероксидаза.

p53 – білок p53.

pH – показник кислотності.

SEM/EDS – сканувальна електронна мікроскопія з енергодисперсійною спектроскопією.

VEGF – судинний ендотеліальний фактор росту.

XRD – рентгенодифракційне дослідження.

AP – рецептори до андрогенів.

ДГПЗ – доброякісна гіперплазія передміхурової залози.

ІГХ – імуногістохімічне дослідження.

ІлВ – інтралюмінальні включення.

ОСН – остеонектин.

ПЗ – передміхурова залоза.

ПК – простатичні конкременти.

РПЗ – рак передміхурової залози.

Підписано до друку 04.05.2020.
Формат 60×90/16. Ум. друк. арк. 1,1. Обл.-вид. арк. 0,9. Тираж 100 прим. Зам №295

Видавець і виготовлювач
Сумський державний університет
вул. Римського-Корсакова, 2, Суми, 40007
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 3062 від 17.12.2007.