

Павлов И.А.², Павлова Т.В.¹, Бухвалов И.Б.³, Пилькевич Н.Б.¹, Бессмертный Д.В.², Чаплыгина М.А.¹, Гончаров И.Ю.¹, Колесников Д.А.¹

Патогенетические аспекты рака предстательной железы

1 – ФГАОУ ВО НИУ «БелГУ», Г. Белгород; 2 – ОГБУЗ "Белгородский областной онкологический диспансер" г. Белгород; 3 – Гематологический институт, г. Гамбург, Германия

Pavlov I.A., Pavlova T.V., Buhvalov I.B., Pilkevich N.B., Bessmertnyy D.V., Chaplygina M.A., Goncharov I.Yu., Kolesnikov D.A.

Pathogenetic aspects prostate cancer

Резюме

С целью изучения отдельных звеньев патогенеза рака предстательной железы с применением инновационных морфофункциональных методов исследования, провели обследование 110 мужчин. При изучении образцов рака предстательной железы наблюдали деформированные железы с ветвистыми структурами, от которых отходили образования в виде со-сочков, сформированные атипичными полиморфными клетками. Выявлено, что при прогрессии болезни контакты между клетками могут достигать до 3-4 мкм, превышая размеры клеток, поверхность которых при раке предстательной железы отличается увеличенной складчатостью. При изучении распределения макро- и микроэлементов в ткани предстательной железы при наличии карциномы у больных со стадией неинвазивной опухоли, прослеживалось достоверное увеличение содержания натрия, магния, фосфора. Содержание магния и натрия в большей степени возрастает при скоплении единичных клеток, где происходит наиболее интенсивный рост опухоли.

Ключевые слова: предстательная железа, онкогенез, опухолевые клетки

Summary

In order to study the individual pathogenesis of prostate cancer with the use of innovative methods of morphological and functional studies, we conducted a survey of 110 men. In the study of prostate cancer samples was observed deformed gland branching structures, which runs education in the form of buds formed polymorphic atypical cells. It was revealed that the progression of the disease contacts between the cells can reach up to 3-4 μm, exceeding the size of the cells, the surface of which is prostate cancer offers extra folding. In the study of the distribution of macro- and microelements in the tissue pre-prostate in the presence of carcinoma in patients with stage invasive tumors, traced a significant increase in sodium, magnesium, phosphorus. Contents of magnesium and sodium in a greater degree with increasing accumulation of single cells, where the most intensive tumor growth.

Key words: prostate, oncogenesis, tumor cells

Введение

Проблема рака предстательной железы (РПЖ) приобрела на сегодняшний день особую актуальность вследствие неуклонного роста показателей заболеваемости и смертности, а также в связи с трудностями ранней диагностики [1-3, 7]. По данным Международного агентства по изучению рака, злокачественными опухолями предстательной железы (ПЖ) в мире ежегодно заболевают более полумиллиона мужчин. В структуре заболеваемости злокачественными опухолями у мужчин в различных регионах (США, страны Европы) РПЖ занимает первое место [1, 2]. В России за последние 10 лет произошло практически двукратное увеличение общего числа наблюдаемых больных с данной патологией, как в абсолют-

ных, так и относительных показателях. Подъем заболеваемости приводит к росту смертности от РПЖ, которая среди прочих онкологических заболеваний у мужчин занимает второе место после рака легких и составляет около пяти процентов в структуре общей смертности от всех онкологических заболеваний [1-3, 7].

Этиопатогенез данной опухоли до конца не изучен, что связано с особенностями и сложностью механизмов нейроэндокринной регуляции ПЖ, нарушение которых служит основой развития гормонозависимых опухолей. Возникновение и развитие опухоли ПЖ является сложным процессом, при котором особое значение придается гормональному фактору. На возникновение РПЖ влияют генетическая предрасположенность, мутации в ключе-

вых генах, отвечающих за процессы дифференцировки, пролиферации и гибели клеток [3-5, 7]. Следует также учитывать общее старение организма. Большое влияние оказывают диета и образ жизни пациента. Еще одной из возможных причин возникновения данного заболевания является инфицированность клеток ПЖ цитомегаловирусной инфекцией. Онкомодуляция также может проявляться в подавлении иммунной системы и патологическом апоптозе. РПЖ в ряде случаев имеет длительный латентный период, а при клинической манифестации, как правило, не наблюдается специфической симптоматики [6]. В связи с особенностями клинического течения и несовершенством ранней диагностики от 60 до 80% больных РПЖ при первичном обращении имеют запущенные формы заболевания, не позволяющие достичь излечения. Течение заболевания может кардинально различаться у больных с одинаковой стадией заболевания, степенью дифференцировки опухоли и способом лечения [1, 2, 7].

Целью работы данного исследования явилось изучение отдельных звеньев патогенеза рака предстательной железы с применением инновационных морфофункциональных методов исследования.

Материалы и методы

В рамках выполненной работы было исследовано 110 мужчин. По возрастному и нозологическому критерию были сформированы группы: 1-я - практически здоровые мужчины пожилого возраста (средний возраст 64,70±1,84), 2-я группа - пациенты с диагностированным РПЖ среднего возраста (средний возраст 44,3±0,46), 3-я - пациенты с РПЖ пожилого возраста (возраст 67,80±2,56) и 4-я группа - пациенты с доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ) (возраст 64,50±2,91).

Для световой микроскопии образцы, полученные после операции, заливали в парафиновые блоки. Срезы просматривали и фотографировали в световом микроскопе TOPIC-T («СЕТИ Medline Scientific Ltd», Великобритания). Проведено иммуногистохимическое исследование тканей (PSA, P63, KI-6, K5 и K18). Для изучения проб с помощью растровой электронной микроскопии (РЭМ) пробы просматривали в сканирующем электронном микроскопе «FEI Quanta 200 3D» с применением точечного макро- и микроэлементного анализа (кальций, железо, азот, магний, натрий, углерод, кислород, фосфор, алюминий и сера). Помимо этого, было проведено изучение тканей с применением атомно-силового микроскопа «Ntegra-Aura». Обработку и построение АСМ-изображений проводили при помощи программного обеспечения «NOVA» (НТ-МДТ, Россия) и «Image Analysis» (НТ-МДТ, Россия).

Дополнительно материалом для изучения служили эритроциты венозной крови. Описание морфометрии и фотографирования клеток выполнялось в растровом микроскопе «FEI Quanta 200 3D» и атомно-силовом микроскопе «Ntegra-Aura». Полученные размеры эритроцитов были распределены на 4 группы: микроциты (до 6,4µм), нормоциты (6,5 - 8,9µм), макроциты (9,0-10,9µм), мегалоциты (более 10,9 µм). При описании морфологических

характеристик, эритроцитарная популяция была распределена на основные группы: 1) дискоциты; 2) переходные формы (способные к обратной трансформации): эллипсы, дискоциты с гребнем, плоские диски, дискоциты с выростом, дискоциты с множественными выростами, эритроциты в виде «тутовой ягоды»; 3) предгемолитические формы (с изменениями, носящими необратимый характер): куполообразные, сферические, в виде «спущенного мяча»; 4) дегенеративные формы.

Согласно целям и задачам исследования результаты группировались для сопоставления различных качественных показателей. Для визуализации исходных данных и результатов их анализа использовали модуль построения диаграмм системы Microsoft Office. Характер распределения данных нормальный. Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с помощью Microsoft Excel и Statistica 6.0. В целях определения репрезентативности исследования высчитывался коэффициент вариации ($V < 33\%$), далее применялся t-критерий Стьюдента для оценки значимости расхождения между средними выборочными совокупностями, была оценена однородность исследуемых совокупностей на основе коэффициента вариации.

Результаты и обсуждение

При изучении образцов ПЖ с РПЖ при помощи сканирующей микроскопии мы наблюдали во всех случаях деформированные железы с ветвистыми структурами, от которых отходили образования в виде сосочков, сформированные атипичными полиморфными клетками. Хорошо видна слабая связь между клетками, что не определяется на уровне световой микроскопии и свидетельствует о высокой возможности метастазирования.

Выявлено, что при прогрессии болезни чаще встречаются контакты между клетками величиной 0,5 µм, которые могут доходить до 3-4 µм, превышая при этом размеры клеток. Помимо этого, увеличивалось число клонов опухолевых клеток на эндотелии сосудов. Это подтверждает постулат автономности опухолевого роста с утратой контактного торможения при опухолевой прогрессии. Поверхность опухолевых клеток при РПЖ отличается увеличенной складчатостью, появлением микровыростов и микроворсинок. Выявлена неплотная связь между опухолевыми клетками, которые способствуют образованию опухолевого эмбола. Показано, чем меньше размер клеток, тем теснее они были связаны между собой за счет клеточных контактов. Четко прослеживалось прорастание капсулы органа.

Зондовая сканирующая микроскопия показала не только количественную характеристику полиморфных опухолевых клеток (0,4-1,3 µм), но и их архитектуру по отношению друг к другу. Уменьшается количество межклеточных контактов, что соответствует первой фазе инвазии опухоли, а, наряду с этим, в других участках опухоли выявлена деградация внеклеточного матрикса, что соответствует уже второй фазе инвазии опухоли. Причем чем меньше размер клеток, тем теснее они были связаны между собой за счет клеточных контактов. Четко

прослеживалось прорастание капсулы органа, что способствовало росту опухоли. Графическое изображение и цифровая линейка хорошо показывают различную высоту клеток, особенно при трехмерном изображении, не определяемую при световой микроскопии.

При изучении распределения макро- и микроэлементов в ткани ПЖ при наличии карциномы у больных со стадией неинвазивной опухоли, морфологически представленной опухолевым клоном с ограниченным числом клеток, содержание кислорода составляло $35,97 \pm 2,05\%$. При массивном их скоплении - $42,46 \pm 1,52\%$, тогда как в участках с фиброзно-мышечной стромой составляло $23,85 \pm 1,41\%$. Прослеживается достоверное увеличение содержания натрия ($0,05 \pm 0,02\%$; $4,40 \pm 0,05\%$; $1,33 \pm 0,06\%$), магния ($0,17 \pm 0,01\%$; $12,13 \pm 0,03\%$; $3,27 \pm 0,06\%$), фосфора ($0,38 \pm 0,05\%$; $3,82 \pm 0,42\%$; $3,49 \pm 1,21\%$). Следует отметить, что содержание магния и натрия в большей степени возрастает при скоплении единичных клеток, где происходит наиболее интенсивный рост опухоли. При изучении элементов при карциноме у больных без прогрессии болезни прослеживалось достоверное различие между распределением кислорода в ткани в участках с фиброзно-мышечной стромой без опухолевых клеток ($25,85 \pm 1,32\%$). В участках со скоплением единичных опухолевых клеток наблюдалось достоверное увеличение ($30,95 \pm 2,05\%$) и, в еще большей степени, в их массивном скоплении ($35,16 \pm 1,52\%$). Наблюдалось достоверное увеличение содержания натрия ($0,07 \pm 0,01\%$; $2,42 \pm 0,05\%$; $1,34 \pm 0,05\%$), магния ($0,15 \pm 0,01\%$; $2,13 \pm 0,04\%$; $1,26 \pm 0,04\%$), фосфора ($0,39 \pm 0,05\%$; $2,81 \pm 0,32\%$; $2,49 \pm 1,21\%$). Нами была показана активность рб3 в тканях при РПЖ. Нами описана экспрессия маркеров в карциномах с применением К5 и К18. При использовании Ki-6 была обнаружена его незначительная активность.

Анализ процентного соотношения эритроцитов показал, что во всех изучаемых группах преобладающее содержание приходилось на эритроциты, диаметр которых соответствовал 6,5-8,9 мкм (нормоциты). В группе практически здоровых людей нормоциты составили $75,6 \pm 3,14\%$ (Рис.1 - этот и другие рисунки к статье см. на специальной цветной вставке журнала - прим. ред.), при ДГПЖ - $63,7 \pm 3,62\%$, а в группе пациентов с РПЖ - $61,9 \pm 2,96\%$ (Рис.2). Содержание микроцитов у практически здоровых людей составило $23,3 \pm 3,28\%$, тогда как при заболеваниях предстательной железы данный показатель был несколько выше. Так, при ДГПЖ микроциты составили $35,9 \pm 3,70\%$, а при РПЖ $34,4 \pm 3,71\%$. В контрольной группе содержание макроцитов было равно $1,1 \pm 0,28\%$, у пациентов с ДГПЖ - $0,4 \pm 0,14\%$, а при РПЖ - $3,7 \pm 1,35\%$. Также наблюдалось изменение среднего диаметра эритроцитов. В контрольной группе он был равен $7,00 \pm 0,05$ мкм, при ДГПЖ - $6,80 \pm 0,05$ мкм, при РПЖ - $6,80 \pm 0,06$ мкм. Изучение морфологических характеристик эритроцитов в контрольной группе выявило следующее процентное соотношение основных групп: дискоциты - $86,67 \pm 0,80\%$; переходные формы - $10,00 \pm 0,52\%$; предгемолитические - $3,00 \pm 0,37\%$ и дегенеративные формы эритроцитов - $0,33 \pm 0,21\%$. Повышение числа обратимо измененных эритроцитов наблюдалось преимущественно за счет дискоцитов с множественными выростами ($8,17 \pm 0,31\%$). Так же в данной группе встречались

единичные куполообразные эритроциты и эритроциты в виде «тутовой ягоды» и «спущенного мяча».

Изучение морфологического состояния эритроцитов у пациентов с ДГПЖ выявило количественное изменение распределения клеточных форм, в сравнении с контрольной группой. На фоне достоверного ($p < 0,01$) снижения количества дискоцитов ($81,67 \pm 1,20\%$), отмечалось снижение обратимо измененных форм - $15,00 \pm 1,15\%$ ($p < 0,01$). Предгемолитические формы составляли $2,50 \pm 0,56\%$, в данной подгруппе наблюдалось достоверное ($p < 0,05$) увеличение эритроцитов сферической формы ($1,50 \pm 0,34\%$). Дегенеративные формы составляли $0,83 \pm 0,31\%$. Увеличение содержания переходных групп эритроцитов было обусловлено достоверным ($p < 0,05$) нарастанием содержания дискоцитов с множественными выростами ($13,17 \pm 1,33\%$). Помимо этого, четко прослеживалось сглаживание рельефа клеток при РПЖ.

Детальный анализ архитектоники эритроцитов в группе пациентов с РПЖ отражал морфологическую неоднородность эритроцитарной популяции. Наблюдалось достоверное ($p < 0,01$) снижение дискоцитов ($71,67 \pm 2,53\%$) и увеличение переходных форм эритроцитов ($23,17 \pm 1,89\%$) в сравнении с практически здоровыми людьми. При этом, предгемолитические формы составляли $4,00 \pm 0,77\%$, а дегенеративные - $1,17 \pm 0,48\%$. Увеличение количества клеток в данной группе обратимо измененных эритроцитов было обусловлено достоверным ($p < 0,01$) нарастанием количества дискоцитов с множественными выростами ($21,00 \pm 1,86\%$) (Рис.3).

Заключение

Таким образом, новый подход в исследовании крови при РПЖ позволяет заподозрить возможное заболевание, а комплексное применение морфологических методов, улучшить диагностические подходы, показать возможность дальнейшего течения заболевания, а также расширить представления о патогенезе и онкогенезе данной патологии. ■

Павлов И.А. – к.м.н., врач онкоуролог, ОГБУЗ "Белгородский областной онкологический диспансер", г. Белгород; Павлова Татьяна Васильевна – д.м.н., профессор, зав. кафедрой патологии ФГАОУ ВО НИУ «БелГУ», Г. Белгород; Бухвалов Игорь Борисович – д.б.н., профессор Гематологического института, г. Гамбург, Германия; Пилькевич Наталья Борисовна – д.м.н. профессор кафедры патологии ФГАОУ ВО НИУ «БелГУ», Г. Белгород; Бессмертный Дмитрий Васильевич – врач онкоуролог, ОГБУЗ "Белгородский областной онкологический диспансер", г. Белгород; Чаплыгина Марина Александровна – ассистент кафедры патологии ФГАОУ ВО НИУ «БелГУ», Г. Белгород; Гончаров Игорь Юрьевич – к.ф.м.н., заведующий лабораторией механических свойств ЦКП ФГАОУ ВО НИУ «БелГУ», Г. Белгород; Колесников Дмитрий Александрович – к.тех.н., заведующий лабораторией электронной микроскопии и рентгеноструктурного анализа ЦКП ФГАОУ ВО НИУ «БелГУ», Г. Белгород. Автор, ответственный за переписку – Пилькевич Наталья Борисовна, 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, E-mail: pilkevich@bsu.edu.ru

Литература:

1. Опухали мочевыделительной системы и мужских половых органов. Морфологическая диагностика и генетика: Руководство для врачей. Под ред. Андреевой Ю.Ю., Франка Г.А. Москва: Практическая медицина. 2014, 216 с.
2. Чигирева И. Б., Хасанов Р. Ш., Гилязутдинов И. А. И др. Ранняя диагностика рака предстательной железы. Практическая медицина; 2013. 2 (67): 108-111.
3. Pavlova T., Bessmertny D., Pavlov I. et al. Clinical and morphological aspects of prostate cancer. *Virchows Archiv. The European Journal of Pathology. 25th European Congress of Pathology. European Society of Pathology, 2013*: 334.
4. Pavlova T., Bessmertny D., Pavlov I. et al. Scanning microscopy as diagnostic test of cancer of organs of urinary system. *Virchows Archiv. 2015; Vol. 467, № 1*: P. 233.
5. Павлова Т.В., Белянский К.Д., Першин Е.В. и др. Иммуногистохимические и электронмикроскопические особенности опухолевого роста предстательной железы в полиморбидном континууме человека. *Фундаментальные исследования. 2012; 1 (10)*: 82–86.
6. Павлова Т.В., Куликовский В.Ф., Павлова Л.А. Клиническая и экспериментальная морфология. М: ООО «Медицинское информационное агентство». 2016. 256 с.
7. Маслякова Г. Н. Воронина Е. С. Фомкин Р. Н. Морфологические методы исследования в диагностике рака предстательной железы. *Фундаментальные исследования. 2012; 12 (2)*: 426-430.

Цилов И.А., Павлова Т.В., Бухаров И.Б., Пильвини И.Б., Бессмертная Д.В.,
 Чаплигина М.А., Голышев В.Ю., Колесников Д.А.
 Патогенетические аспекты рака предстательной железы

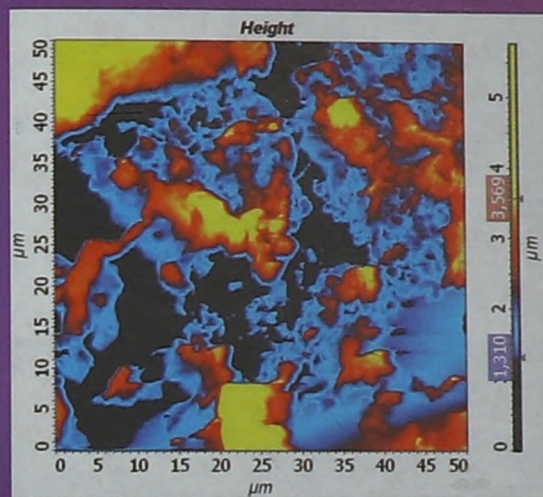


Рис. 1. Ацинарная аденокарцинома предстательной железы. Полиферация эпителиоцитов. Клетки неоднородны по размеру, рыхло соединены между собой. Атомно-силовая микроскопия. Двухмерное изображение.

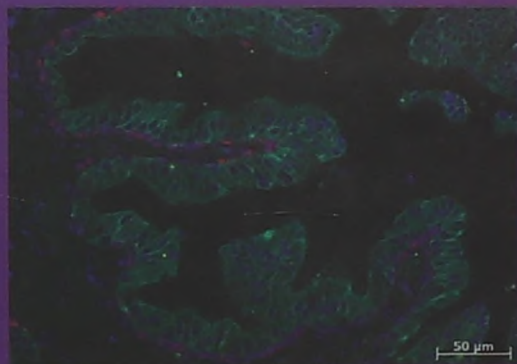


Рис. 2. Ацинарная аденокарцинома предстательной железы. Иммуногистохимическое исследование с антителами к K5 и p63, K18.

Рис.3. Эритроциты в группе пациентов с РПЖ. Наблюдаются нормоциты с вытянутой формой, среди клеток увеличено содержание клеток с множественными выростами. Эритроциты сладжированы. Светлые клетки - с гемолизом. Атомно-силовая микроскопия, двухмерная гистограмма.

