

**Державна установа «Інститут урології
Національної академії медичних наук України»**

ЖИЛЬЧУК ЮРІЙ ВІКТОРОВИЧ

УДК 615.65-006.6-07-08

**РАК ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ: ОСОБЛИВОСТІ КЛІНІЧНОГО
ПЕРЕБІГУ ЗАХВОРЮВАННЯ З ВИСОКИМ РИЗИКОМ
ВИНИКНЕННЯ РЕЦИДИВУ**

14.01.06 – урологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Київ – 2021

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в державній установі «Інститут урології НАМН України».

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
Сакало Валерій Севастьянович,
державна установа «Інститут урології НАМН
України», завідувач відділу онкоурології.

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
Саричев Леонід Петрович,
Вищий державний навчальний заклад
України «Українська медична стоматологічна
академія» МОЗ України, завідувач кафедри
урології з судовою медициною;

доктор медичних наук, професор
Головко Сергій Вікторович,
Національний військово-медичний клінічний
центр «Головний військовий клінічний
госпіталь» МО України, начальник клініки
урології.

Захист дисертації відбудеться « ___ » _____ 2021 р. о « __: __ » годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д.26.615.01 при державній установі «Інститут урології НАМН України» за адресою: 04053, м. Київ, вул. В.Винниченка, 9а.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці ДУ «Інститут урології НАМН України» за адресою: 04053, м. Київ, вул. В.Винниченка, 9а.

Автореферат розісланий « ___ » _____ 2021 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради,
к. мед. н., с. н. с.

Л.М. Старцева

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Рак передміхурової залози (РПЗ) – одна з найпоширеніших злоякісних пухлин у чоловіків середнього та похилого віку, яка займає друге місце серед причин смертності [Возіанов С.О. та ін. (2011), Петрова Н.Г. та ін. (2016), Bray Freddie (2018)]. В переважній більшості цивілізованих та розвинутих країнах світу постає проблема ранньої діагностики і лікування злоякісних новоутворень передміхурової залози, що на даний момент є надзвичайно актуальним в науковій та практичній урології та онкології.

Особливої актуальності набуває питання щодо вибору лікувальної тактики у пацієнтів з локалізованими формами захворювання. На думку переважної більшості клініцистів, радикальне оперативне лікування або променева терапія залишається найбільш пріоритетними методами лікування локалізованих форм РПЗ. У той же час, широке використання сучасних медикаментозних засобів піднімає дуже важливе питання вибору між оперативним та консервативним лікуванням. Однак, наявність певних побічних ефектів, токсичність лікувальних засобів та їхня вартість породжують ряд дискусійних питань про доцільність і раціональність запровадження в урологічних клініках подібної стратегії.

Досить обґрунтованим і логічним підходом до вирішення проблеми правильного вибору варіанту первинного лікування хворого є використання максимально достовірних, високо специфічних та чутливих маркерів перебігу захворювання, які здатні передбачити ймовірність виникнення рецидиву персонально у конкретного хворого. На сьогодні наряду із такими загальноновизнаними прогностичними факторами як стадіювання РПЗ, розміри пухлини, ступінь її поширення на регіонарні вузли, клініцисти звертають особливу увагу на початковий рівень простатспецифічного антигена (ПСА) в сироватці крові, арифметичну суму балів за шкалою Глісона та статус хірургічного краю. Разом з цим, дослідниками вивчаються нові маркери прогнозу клінічного перебігу захворювання. Особливо це стосується хворих на РПЗ із високим ризиком прогресії захворювання. В дослідженнях під керівництвом К.Pantel (1999), показано, що наявність дисемінованих пухлинних клітин (ДПК) в кістковому мозку корелює із несприятливим прогнозом перебігу захворювання у хворих із пухлинами епітеліального походження. Крім того, не меншої уваги заслуговують дослідження, в яких висвітлена роль стовбурових пухлинних клітин (СПК) в процесах проліферації, прямого та опосередкованого впливу на пухлинну прогресію [Shiozawa Y. (2016), Korski K. (2014), Hurt E. (2008)]. Інформативність даних маркерів ще недостатньо вивчена і потребує подальших досліджень.

У зв'язку з цим, стратегія даної роботи спрямована на визначення можливостей використання в якості нових маркерів перебігу РПЗ статус ДПК в кістковому мозку та маркерів, асоційованих із СПК – CD24 та CD44, в пухлинній тканині хворих на РПЗ, що сприятиме як вибору тактики оперативного втручання, так і призначенню індивідуалізованої терапії хворих.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексної НДР, виконана згідно з планом науково-дослідних робіт ДУ «Інститут урології НАМН України»: «Розробити клініко-морфологічні та молекулярні критерії прогнозування, перебігу та

лікування раку передміхурової залози на різних стадіях канцерогенезу» (державний реєстраційний номер 0113U003015). Автор був співвиконавцем вищевказаної теми. Тему дисертації заплановано та затверджено на Вченій раді ДУ «Інститут урології НАМН України» (протокол № 5 від 27.05.2014 р.). Дисертаційна робота пройшла біоетичну експертизу (протокол № 4 від 17.07.2020).

Мета дослідження. Підвищення ефективності лікування хворих на рак передміхурової залози з несприятливим прогнозом перебігу захворювання на підставі визначення за наявності/відсутності у кістковому мозку дисемінованих пухлинних клітин та експресії в зляккісно трансформованих клітинах молекулярних маркерів, асоційованих із пухлинними стовбуровими клітинами.

Задачі дослідження:

1. Дослідити наявність дисемінованих пухлинних клітин у кістковому мозку хворих на РПЗ та визначити їх зв'язок із клінічним статусом хворих і перебігом захворювання в залежності від виду первинного лікування.

2. З'ясувати експресію CD24 та CD44 в пухлинних клітинах хворих на РПЗ та встановити зв'язок між експресією цих маркерів та загальноновизнаними прогностичними факторами, клінічним статусом хворих з урахуванням виду первинного лікування.

3. Виділити групи хворих на РПЗ, згрупованих за комбінацією наявності/відсутності експресії CD24 та CD44, і проаналізувати зв'язок між клінічним перебігом захворювання хворих цих груп та варіантом первинного лікування.

4. Сформувати групу хворих на РПЗ із високим ризиком виникнення рецидиву захворювання за наявності дисемінованих пухлинних клітин у кістковому мозку і експресією маркерів, асоційованих із пухлинними стовбуровими клітинами – CD24 та CD44. Порівняти ефективність радикальної простатектомії та консервативного медикаментозного лікування у даної групи хворих за результатами аналізу клінічного перебігу захворювання.

5. Провести аналіз клінічного перебігу РПЗ з урахуванням загальноновизнаних традиційних прогностичних факторів.

6. Розробити підхід до кількісної оцінки ймовірності несприятливого перебігу РПЗ на основі традиційних та новозапропонованих прогностичних маркерів.

Об'єкт дослідження: рак передміхурової залози.

Предмет дослідження: клінічна ефективність різних варіантів первинного лікування хворих на рак передміхурової залози з урахуванням наявності/відсутності дисемінованих пухлинних клітин у пунктатах кісткового мозку, статусу маркерів пухлинних стовбурових клітин CD24 та CD44 в пухлинній тканині, рівня концентрації ПСА в сироватці крові хворих на рак передміхурової залози.

Методи дослідження: загально-клінічні – для оцінки загального стану хворих, перебігу захворювання; імуноцитохімічний – для визначення експресії цитокератину – маркера епітеліальних клітин; імуногістохімічний – для

визначення експресії CD24 та CD44 в пухлинній тканині; хемілюмінесцентний – для визначення рівня простатспецифічного антигена в сироватці крові; радіоізотопний – для встановлення ступеня розповсюдженості пухлинного процесу, цитологічний – для дослідження препаратів кісткового мозку; гістологічний, ультразвуковий – для верифікації діагнозу; статистичні – для аналізу результатів дослідження.

Наукова новизна отриманих результатів дисертаційного дослідження.

Набули подальшого розвитку питання персоніфікованого лікування хворих на РПЗ, які ґрунтуються не лише на оцінці клінічного статусу, але і на встановленні до початку лікування наявності/відсутності ДПК в КМ та статусу експресії в пухлинних клітинах маркерів, характерних для пухлинних стовбурових клітин – CD24 та CD44.

Доповнено наукові дані про клінічну значимість ДПК у КМ хворих на РПЗ. Зокрема, встановлено достовірний зв'язок між наявністю ДПК у КМ хворих на РПЗ із стадією захворювання, розміром пухлини, ступенем поширення пухлинного процесу на регіонарні лімфатичні вузли, градацією за шкалою Глісона, вихідним рівнем ПСА в сироватці крові. Розширені наукові дані щодо статусу експресії CD24 і CD44 у пухлинних клітинах хворих на РПЗ. Показано, що за умов відсутності експресії в пухлинних клітинах CD24 хворі на РПЗ у більшості випадків мають III-IV стадії захворювання, сумарний бал за шкалою Глісона більше 8 і більше, позитивний край резекції проти хворих, пухлини яких є CD24-позитивними. Дослідження експресії CD44 виявили протилежну закономірність за цими показниками. Крім того, встановлено достовірний зв'язок між наявністю експресії CD44 в пухлинах та ступенем поширення пухлинного процесу на регіонарні лімфатичні вузли ($p=0,002$).

Вперше в Україні на підставі комплексного обстеження хворих, визначення наявності/відсутності ДПК в КМ та експресії CD24 і CD44 у первинних пухлинах виділена група хворих на РПЗ з високим ризиком несприятливого перебігу захворювання. Встановлено, що до групи з високим ризиком прогресії захворювання відносяться хворі на РПЗ, у КМ яких виявлені ДПК, а пухлинні клітини поряд з експресією CD44 не експресують CD24: прогресія захворювання виявлена у 40,8% хворих, ремісія – у 2,3% хворих.

Вперше в Україні науково обґрунтовано необхідність проведення радикального хірургічного лікування у хворих на РПЗ, віднесених до групи підвищеного ризику рецидиву неопластичного процесу, які мають такі молекулярні-біологічні характеристики як наявність ДПК в КМ та статус маркерів пухлини – CD24-, CD44+.

Практичне значення отриманих результатів. У даному науковому дослідженні запропоновано новий прогностичний алгоритм рідкої біопсії для хворих на РПЗ, який полягає у застосуванні імуноцитохімічного метода для виявлення мікрометастазів у КМ за наявністю ДПК.

Доведена доцільність і клінічна значимість дослідження пунктів кісткового мозку на наявність/відсутність ДПК, а також статусу експресії CD24 та CD44 в пухлинних клітинах до початку лікування, що дає можливість виділити

групу хворих з високим ризиком рецидиву неопластичного процесу і вибрати оптимальний варіант первинного лікування. Радикальне хірургічне лікування є обов'язковим у лікуванні хворих з високим ризиком рецидиву неопластичного процесу.

Розроблено математичні моделі оцінки ризику несприятливого перебігу захворювання, які дають кількісну оцінку ймовірності настання прогресії захворювання та/або летальних випадків.

Результати дослідження впроваджені в урологічних відділеннях Рівненської міської та обласної лікарень; Львівському державному онкологічному регіональному лікувально-діагностичному центрі, Рівненському обласному протипухлинному центрі та Прикарпатському клінічному онкологічному центрі.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є закінченим рандомізованим контрольованим дослідженням. Автором особисто зібрана і проаналізована сучасна література, що висвітлює проблеми метастазування і лікування хворих на РПЗ. Ідея дисертаційного дослідження запропонована автором разом з керівником роботи. Здобувач особисто сформував групу хворих із підвищеним ризиком прогресії захворювання, виконав всі діагностичні маніпуляції (мультифокальну біопсію передміхурової залози, стерильні пункції з метою забору КМ), приймав участь у всіх оперативних втручаннях на передміхуровій залозі; самостійно призначав медикаментозну протипухлинну терапію. Імунологістохімічні та імуноцитохімічні дослідження виконані автором сумісно з фахівцями Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є Кавецького НАН України. Автором самостійно проведено аналіз всього клінічного матеріалу з використанням методів сучасної статистики і сформульовані основні наукові положення і висновки дисертаційної роботи.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації були висвітлені в доповідях та обговорені на: з'їзді асоціації урологів України (Трускавець, 2013 р.), III Міжнародному медичному конгресі «Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України» (Київ, 2014 р.), 45-ому науковому конгресі Польської урологічної асоціації (Варшава, 2015 р.), конгресі Асоціації урологів України (Київ, 2015 р.), конгресі Асоціації урологів України (Київ, 2016 р.), XIII з'їзді онкологів України (Київ, 2016 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 14 наукових праць, із них 8 статей у провідних фахових виданнях, затверджених МОН України (серед яких 4 статті у журналі, що входить до міжнародних наукометричних баз), 6 тез доповідей у збірках українських та міжнародних конференцій, одержано 2 патенти на корисну модель. Патенти не входять до числа наукових праць!

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 209 сторінках і складається із вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів дослідження, 3-х розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів власних досліджень, висновків, практичних рекомендацій та списку використаних джерел, який включає 403 посилання, у тому числі 350 зарубіжних. Дисертаційна робота ілюстрована 33 рисунками та 80 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Дисертаційна робота ґрунтується на результатах обстеження та лікування 135 хворих на РПЗ стадії T1-4N0-1M0, віком 51-75 років (середній вік – 65,2±9,8 років) (табл. 1), які лікувалися в Київській міській онкологічній лікарні та ДУ «Інститут урології АМН України» протягом 2012-2016 рр. Всі хворі були інформовані про характер та об'єм обстеження та надали письмову згоду на використання клінічного матеріалу в дослідницьких цілях. Програма досліджень була схваленою комісією з біоетики ДУ «Інститут урології АМН України».

Стадію захворювання і розповсюдженість пухлинного процесу визначили за міжнародною системою TNM (7-видання, 2009 р.). Клінічний діагноз встановлювали на підставі визначення рівня загального ПСА в сироватці крові, пальцевого ректального дослідження простати, КТ дослідження, трансректального УЗД передміхурової залози, остеосцинтиграфії, рентгенографії органів грудної порожнини. Морфологічна верифікація діагнозу була забезпечена шляхом комплексного дослідження передміхурової залози після мультифокальної біопсії, трансуретральної резекції до початку лікування, а також дослідження пухлини передміхурової залози після радикального хірургічного лікування. Розподіл хворих за віком складав: 51-50 років – 26/19,2%, 61-70 років – 96/71,2%, >71 року – 13/9,6% пацієнтів.

Таблиця 1

Розподіл хворих на РПЗ за стадією захворювання (n=135/100%)

Стадія, кількість хворих (n/%)	TNM	Кількість хворих в групах		Радикальне хірургічне лікування (n=102/100%)	Консервативне лікування (n=33/100%)
		Абс.число	%		
I (17 / 12,6)	T ₁ N ₀ M ₀	0	0	14 / 13,7	3 / 9,1
	T _{2a} N ₀ M ₀	17	12,6		
II (67 / 49,6)	T _{2b} N ₀ M ₀	34	25,2	51 / 50,0	16 / 48,5
	T _{2c} N ₀ M ₀	33	24,4		
III (28 / 20,7)	T ₃ N ₀ M ₀	28	20,7	22 / 21,6	6 / 18,2
IV (23 / 17,1)	T ₄ N ₀ M ₀	2	1,5	15 / 14,7	8 / 24,2
	T ₁ N ₁ M ₀	0	0		
	T ₂ N ₁ M ₀	5	3,7		
	T ₃ N ₁ M ₀	11	8,1		
	T ₄ N ₁ M ₀	5	3,7		

Розподіл хворих за шкалою Глісона представлено в табл.2

Таблиця 2

Розподіл хворих на РПЗ з урахуванням вихідного статусу по шкалі Глісона і видом первинного лікування (n=135/100%)

Показники за шкалою Глісона, кількість хворих (n/%)	Радикальне хірургічне лікування (n=102/100%)	Консервативне лікування (n=33/100%)
3+3=6 (55 / 40,7)	42 / 41,2	13 / 39,4
3+4=7 (32 / 23,7)	26 / 25,5	6 / 18,2
4+3=7 (25 / 18,6)	18 / 17,6	7 / 21,2

4+4=8 (8 / 5,9)	6 / 5,9	2 / 6,1
4+5=9 (8 / 5,9)	5 / 4,9	3 / 9,1
5+4=9 (7 / 5,2)	5 / 4,9	2 / 6,1

За варіантом первинного лікування всі досліджувані хворі були розподілені на 2 групи. Перша група – 102 хворих, яким після обстеження та верифікації морфологічного діагнозу було проведено хірургічне лікування в об'ємі відкритої радикальної простатектомії з послідувочою ад'ювантною гормонотерапією та променевою терапією в післяопераційному періоді (табл. 3). Негативний статус країв резекції виявлено у 80/78,4% хворих, у решти 22/21,6% – позитивний. Друга група включала 33 хворих, яким було проведено консервативне лікування у зв'язку із відмовою від операції (або перебували під активним спостереженням).

Таблиця 3

Хірургічна та променева терапія, застосована у хворих на РПЗ

Вид лікування	Кількість хворих в групах	
	Перша група (n=102/100%)	Друга група (n=33/100%)
Радикальна простатектомія	102 / 100	–
Двобічна орхіектомія	28 / 27,4%	8 / 24,2%
Доопераційна ПТ	14 / 13,7%	–
Післяопераційна ПТ	21 / 20,6%	–
ПТ на первинну пухлину передміхурової залози	–	21 / 63,6%
Паліативна ПТ у поєднанні із золедроновою кислотою	5 / 4,9%	13 / 39,4%

Примітка. ПТ – променева терапія

Медикаментозне лікування хворих на РПЗ включало застосування агоністів рилізінг гормонів протягом двох років (золадекс – 10,6 мг внутрішньом'язево 1 раз в 3 міс), антиандрогенів (флутамід – 1 таблетка 3 рази на день), застосування бісфосфонатів (золедронна кислота – 4 мг внутрішньовенно кожну 28 добу).

З метою дослідження ефективності різних варіантів первинного лікування хворі на РПЗ були рандомізовані за стадією пухлинного процесу, розміром первинної пухлини, ступенем поширення пухлинного процесу, вихідним статусом пухлини за шкалою Глісона.

Оцінюючи клінічний перебіг захворювання всіх пацієнтів, незалежно від виду первинного лікування, проведено їх розподіл на дві групи: 1 група – 86 хворих, що перебували у стадії ремісії протягом всього періоду спостереження (36 місяців після початку лікування); 2 група – 49 хворих, що перебували у стадії прогресії захворювання за той же період часу, що і хворі першої групи.

Імуноцитохімічне визначення дисемінованих пухлинних клітин у кістковому мозку хворих на рак передміхурової залози проводили на цитоспінових препаратах клітин, виділених із зразків КМ, із використанням моноклональних антитіл (МКАТ) проти панцитокератину людини (клон АЕ1/АЕ3, Dako, Німеччина), системи візуалізації Envision+ та 3,3-діамінобензидину (Dako Cytomation, Denmark). Наявність/відсутність ДПК в зразках КМ оцінювали за результатами аналізу 3 цитоспінових препаратів для кожного хворого на РПЗ. Розподіл хворих на РПЗ з урахуванням стадії захворювання та наявності/відсутності ДПК в КМ представлено в табл. 4.

Таблиця 4

Розподіл хворих на РПЗ за стадіями за класифікацією TNM (2009 рік, 7-е видання) з урахуванням числа хворих, у кістковому мозку яких були виявленні дисеміновані пухлинні клітини

Стадія захворювання		Кількість хворих n=135/100%	
		n	%
I	T ₁ N ₀ M ₀	0	0,0
	T ₁ N ₀ M ₀ (mol+)	0	0,0
	T _{2a} N ₀ M ₀	14	10,4
	T _{2a} N ₀ M ₀ (mol+)	3	2,2
II	T _{2b} N ₀ M ₀	25	18,5
	T _{2b} N ₀ M ₀ (mol+)	9	6,7
	T _{2c} N ₀ M ₀	16	11,9
	T _{2c} N ₀ M ₀ (mol+)	17	12,6
III	T ₃ N ₀ M ₀	12	8,9
	T ₃ N ₀ M ₀ (mol+)	16	11,9
IV	T ₄ N ₀ M ₀	2	1,5
	T ₄ N ₀ M ₀ (mol+)	0	0,0
	T ₁ N ₁ M ₀	0	0,0
	T ₁ N ₁ M ₀ (mol+)	0	0,0
	T ₂ N ₁ M ₀	1	0,7
	T ₂ N ₁ M ₀ (mol+)	4	2,9
	T ₃ N ₁ M ₀	4	2,9
	T ₃ N ₁ M ₀ (mol+)	7	5,2
	T ₄ N ₁ M ₀	0	0,0
	T ₄ N ₁ M ₀ (mol+)	5	3,7

З метою проведення імуногістохімічного дослідження експресії CD24 та CD44 використовували первинні антитіла МКАТ анти-CD24 (clone SN3b, Thermo Scientific, USA) та анти-CD44/HCAM (clone 156-3C11, Diagnostic BioSystems, USA) відповідно до інструкції виробника. Реакцію вважали позитивною за наявності більше 10% CD24 або CD44-позитивних клітин. Візуалізацію результатів імуногістохімічної реакції виконували за допомогою EnVision system

(Dako LSAB2 system, Denmark) з використанням оптичного мікроскопу XSP-137-VP (фірма JNOEC, збільшення x200- x400).

Статистичну обробку кількісних показників здійснювали з використанням непараметричних критеріїв Манна-Уїтні, Вілкоксона, за допомогою методів варіаційної статистики на персональному комп'ютері IBM PC «Pentium» з пакетом програм «Statgraphics» версія 3.0 (США) та «Microsoft Excel» версії 5.0 (США). Достовірними вважали зміни при $p < 0,05$.

Результати дослідження, їх аналіз та обговорення. На сьогоднішній день, поруч зі стандартними прогностичними факторами у хворих на РПЗ найбільш перспективними вважають дослідження малоінвазивної рідкої біопсії (liquid biopsy) на наявність/відсутність циркулюючих у крові та дисемінованих у КМ пухлинних клітин, пухлинної ДНК або РНК, мікро-РНК як маркерів прогнозу захворювання.

В результаті імуноцитохімічного аналізу КМ 135 хворих на РПЗ встановлено наявність ДПК у 61 (45,1%) хворого. Нами виявлено статистично значимий кореляційний зв'язок між показниками ДПК в КМ і стадією захворювання ($r=0,313$, $p=0,001$), розміром пухлини ($p=0,026$), ступенем поширення пухлинного процесу на регіонарні лімфатичні вузли ($p=0,002$). Заслуговує на увагу встановлений зв'язок наявності або відсутності ДПК в КМ із показником, що характеризує агресивність перебігу захворювання – градацією за шкалою Глісона. Так, за градацією Глісона $3+3=6$ у більшості хворих були відсутні ДПК у КМ, тоді як у переважній більшості хворих із показниками $4+5=9$, $5+4=9$ констатовано наявність ДПК в КМ ($p=0,006$). Крім того, нами виявлено достовірний зв'язок між статусом ДПК в КМ та рівнем ПСА у периферичній крові: у більшості хворих, КМ яких містив ДПК, показник ПСА був вище 4 нг/мл ($p=0,02$). Подібна закономірність дає підставу розцінювати наявність ДПК в КМ як показник, котрий разом із відомими та визнаними прогностичними маркерами характеризує несприятливий прогноз перебігу захворювання (табл. 5).

Не було виявлено статистично значимої кореляції між наявністю/відсутністю ДПК в КМ і статусом краю хірургічної резекції ($p=0,278$) та між показниками загального аналізу крові ($p > 0,05$).

Оцінюючи клінічний перебіг захворювання пацієнтів, незалежно від виду первинного лікування, встановлено кореляцію між наявністю/відсутністю ДПК в КМ та частотою виникнення прогресії захворювання: частка хворих на РПЗ із позитивним статусом ДПК в КМ серед пацієнтів із ремісією захворювання становила 37,3% (29 із 86 хворих), з прогресією захворювання – 51,4% (32 із 49 хворих) ($p=0,001$). Показник загальної 3-річної виживаності хворих із наявністю ДПК в КМ становив 39,5% проти 60,5% серед таких, що не мали ДПК в КМ.

Таблиця 5

Розподіл хворих на РПЗ залежно від статусу ДПК у кістковому мозку та їх клінічна характеристика

Показники	ДПК в КМ(-) (n=74)		ДПК в КМ(+) (n=61)	
	n	%	n	%
<i>Стадія</i>				
I	14	18,9	3	4,9
II	45	60,8	22	36,1
III	12	16,2	16	26,2
IV	3	4,1	20	32,8
<i>Категорія T</i>				
T2	56	75,7*	33	54,1
T3	16	21,6	23	37,7
T4	2	2,7	5	8,2*
<i>Категорія N</i>				
N0	69	93,2**	45	73,8
N1	5	6,8	16	26,2**
<i>Статус за шкалою Глісона</i>				
3+3=6	38	51,4***	17	27,9
3+4=7	18	24,3	14	23,0
4+3=7	12	16,2	13	21,3
4+4=8	4	5,4	4	6,6
4+5=9	2	2,7	6	9,8***
5+4=9	0	0,0	7	11,5***
<i>Вихідний рівень ПСА</i>				
<4 нг/мл	2	2,7	0	0,0
4-10 нг/мл	14	18,9	3	4,9***
>10 нг/мл	58	78,4	58	95,1*

Примітки: * - різниця між групами статистично значима на рівні $p=0,026$;

** - різниця між групами статистично значима на рівні $p=0,002$;

*** - різниця між групами статистично значима на рівні $p=0,006$.

Проте характер перебігу захворювання у хворих на РПЗ із різним статусом ДПК відрізнявся залежно від застосованого первинного лікування. У хворих, яким застосовували радикальне хірургічне лікування, не виявлено зв'язку між наявністю ДПК в КМ та перебігом захворювання ($p=0,407$), тоді як серед когорти хворих, яким проводили консервативне лікування, ремісія захворювання встановлена у 4 із 18 хворих (22,2%) із статусом ДПК+ ($p=0,001$) та у 100% хворих із статусом ДПК- (табл.6). Загальна 3-річна виживаність хворих на РПЗ, яким проводили хірургічне лікування, статистично значимо не відрізнялась серед хворих із різним статусом ДПК в КМ, тоді як при застосовуванні консервативного лікування виживаність серед пацієнтів із ДПК в КМ була майже вдвічі нижчою серед таких, у яких в КМ не були виявлені ДПК (31,8% проти 68,2%).

Розподіл хворих на РПЗ із урахуванням перебігу захворювання, статусу ДПК у кістковому мозку та варіанта первинного лікування

Схема лікування	ДПК в КМ (n/%)	Перебіг захворювання			
		Прогресія		Ремісія	
		n	%	n	%
Радикальне хірургічне лікування (n=102/100)	ДПК – (n=59/57,8)	17	28,8	42	71,2
	ДПК + (n=43/42,2)	18	41,9	25	58,1
Консервативне лікування (n=33/100)	ДПК – (n=15/45,5)	0	0	15	100,0
	ДПК + (n=18/54,5)	14	77,8	4	22,2

Отже, наявність ДПК в КМ варто розцінювати як вагомий прогностичний маркер несприятливого клінічного перебігу захворювання у хворих на РПЗ. Однак, первинне лікування, зокрема радикальне хірургічне лікування, може в певній мірі нівелювати негативний вплив цього фактору на перебіг захворювання.

Наступним етапом роботи було проведення досліджень з метою визначення вмісту клітин у тканині РПЗ за експресією маркерів пухлинних стовбурових клітин – CD44 і CD24 та оцінка прогностичного значення даних маркерів.

Встановлено, що частка хворих з III-IV стадією захворювання, пухлинні клітини яких були негативні за експресією CD24, становила 52,0%, в той же час як за її наявності – 19,0%. При I стадії захворювання кількість пацієнтів, у пухлинах яких була відсутня експресія CD24, становила 7,8%, тоді як у 19,0% хворих експресія CD24 була присутня. Дослідження експресії CD44 в пухлинних клітинах РПЗ виявили протилежну закономірність: при III-IV стадії захворювання пухлини 47,0% хворих були CD44-позитивними, а при I стадії – лише у 21% хворих в пухлинних клітинах РПЗ мала місце експресія CD44 (табл. 7).

Високі цифрові показники за шкалою Глісона у хворих на РПЗ відповідали відсутності у пухлині більшої частини хворих експресії CD24 та наявності експресії CD44 ($p=0,0071$) (табл. 7). Статистично значимим був також зв'язок між статусом експресії CD24 в пухлинних клітинах та станом хірургічного краю: позитивний край резекції мав місце у 12 із 36 (33,3%) пацієнтів за умов відсутності експресії CD24 та у 10 із 66 (15,2%) хворих із CD24-позитивними пухлинами ($p<0,05$). Щодо експресії CD44, то позитивний край резекції був у 25,8% хворих, пухлинні клітини яких були CD44- позитивними, і лише у 13,9% із CD44- негативними пухлинами.

Нами не встановлено зв'язку між досліджуваними маркерами і ступенем поширеності пухлинного процесу (категорія T), початковим рівнем ПСА.

Таблиця 7

Розподіл хворих на РПЗ за стадією захворювання по класифікації TNM (2009 рік, 7-е видання), ступенем поширеності пухлинного процесу, метастазами у регіонарні лімфатичні вузли, показниками за шкалою Глісона залежно від експресії CD24 та CD44

Показники	CD24 ⁻ (n=77/100%)	CD24 ⁺ (n=58/100%)	CD44 ⁻ (n=54/100%)	CD44 ⁺ (n=81/100%)
<i>Стадія РПЗ за TNM</i>				
<i>I</i>	6 (7,8)*	11 (19,0)	0 (0,0)*	17 (21,0)
<i>II</i>	31 (40,3)	36 (62,1)	41 (75,9)*	26 (32,1)
<i>III</i>	20 (26,0)*	8 (13,8)	12 (22,2)	16 (19,8)
<i>IV</i>	20(26,0)*	3(5,2)	1(1,9)*	22(27,2)
<i>Ступінь поширеності пухлинного процесу (категорія T)</i>				
<i>T2</i>	46 (59,7)	43 (74,1)	37 (68,5)	52 (64,2)
<i>T3</i>	27 (35,1)	12 (20,7)	16 (29,6)	23(28,4)
<i>T4</i>	4 (5,2)	3 (5,2)	1 (1,9)	6 (7,4)
<i>Метастази у регіонарні лімфатичні вузли (категорія N)</i>				
<i>N0</i>	63 (81,8)	51 (87,9)	52 (96,3) *	62 (76,5)
<i>N1</i>	14 (18,2)	7 (12,1)	2 (3,7) *	19 (23,5)
<i>Статус по шкалі Глісона</i>				
<i>3+3=6</i>	28 (36,4)	27 (46,6)	29 (53,7)	26 (32,1)
<i>3+4=7</i>	16 (20,8)	16 (27,60)	13 (24,1)	19 (23,5)
<i>4+3=7</i>	13 (16,9)	12 (20,7)	9 (16,7)	16 (19,8)
<i>4+4=8</i>	7 (9,1)*	1 (1,7)	1 (1,9)	7 (8,6)*
<i>4+5=9</i>	7 (9,1)*	1 (1,7)	2 (3,7)	6 (7,4)*
<i>5+4=9</i>	6 (7,8)*	1 (1,7)	0 (0,0)	7 (8,6)*

Примітка. * – $p < 0,05$ між порівнювальними групами

Надалі всі хворі на РПЗ були згруповані в чотири групи в залежності від статусу CD24 та CD44 в злоскісно трансформованих клітинах: CD24⁻, CD44⁻ – 38 хворих, CD24⁺, CD44⁻ – 16 хворих, CD24⁻, CD44⁺ – 39 хворих, CD24⁺, CD44⁺ – 42 хворих. Важливо було з'ясувати наявність зв'язку між варіантом профілю експресії CD24 та CD44 в тканині РПЗ та клінічними характеристиками хворих. Згідно результатів досліджень, представлених у табл. 8, найбільша кількість пацієнтів, пухлини яких не експресували CD24 та були позитивні за маркером CD44 (CD24⁻, CD44⁺) мали III і IV стадії захворювання – 8 із 39 (20,5%) і 19 із 39 (48,4%) відповідно (табл. 8). Аналіз хворих на РПЗ за ступенем поширеності пухлинного процесу (категорія T) та статусом CD24 і CD44 в тканині РПЗ виявив, що при T2 найбільша кількість пухлин мали фенотипові характеристики CD24⁺, CD44⁺ (83,3% випадків) і CD24⁻, CD44⁻ (76,3%), а при T3 – CD24⁻, CD48⁺ (48,7% випадків). Встановлено достовірний кореляційний зв'язок для хворих із статусом CD24⁻, CD44⁺ та категорією N1 ($p=0,002$) (табл. 8).

Особливу увагу заслуговує аналіз комбінацій експресії CD24 та CD44 при РПЗ в залежності від градації за шкалою Глісона. Показано, що високі цифрові показники за шкалою Глісона відповідали фенотипу CD24⁻, CD44⁺ пухлинної тканини хворих на РПЗ. Крім того, встановлено статистично значиму різницю

вихідного рівня ПСА у хворих із різним статусом CD24 та CD44: найбільші значення досліджуваного показника спостерігали при комбінації CD24⁻, CD44⁺ – 18,8 нг/мл, найменші – у випадку CD24⁻ CD44⁻ – 11,24 нг/мл. Дана відмінність була достовірною за результатами перевірки непараметричним критерієм Краскала-Уоліса.

Таблиця 8

Розподіл хворих на РПЗ за стадією захворювання по класифікації TNM (2009 рік, 7-е видання), ступенем поширеності пухлинного процесу, метастазами у регіонарні лімфатичні вузли, показниками за шкалою Глісона залежно від варіанта поєднаної експресії CD24 та CD44

Показники	CD24 ⁻ , CD44 ⁻ (n=38/100%)	CD24 ⁺ , CD44 ⁻ (n=16/100%)	CD24 ⁻ , CD44 ⁺ (n=39/100%)	CD24 ⁺ , CD44 ⁺ (n=42/100%)
<i>Стадія РПЗ за TNM</i>				
I	0	0	6 (15,4)	11 (26,2)
II	25 (65,8)*	16 (100,0)*	6 (15,4)	20 (47,6)*
III	12 (31,6)	0	8 (20,5)	8 (19,0)
IV	1 (2,6)	0	19 (48,7*)	3 (7,1)
<i>Ступінь поширеності пухлинного процесу (категорія T)</i>				
T2	29 (76,3)	8 (50)	17 (43,6)	35 (83,3)*
T3	8 (21,1)	8 (50)*	19 (48,7)	4 (9,5)
T4	1 (2,6)	0	3 (7,7*)	3 (7,1)
<i>Метастази у регіонарні лімфатичні вузли (категорія N)</i>				
N0	37 (97,4)	15 (93,75)	26 (66,7)	36 (85,7)
N1	1 (2,6)	1 (6,25)	13 (33,3)*	6 (14,3)
<i>Статус за шкалою Глісона</i>				
3+3=6	22 (57,9)	7 (43,75)	6 (15,4)	20 (47,6)
3+4=7	9 (23,7)	4 (25,0)	7 (17,9)	12 (28,6)
4+3=7	4 (10,5)	5 (31,25)	9 (23,1)	7 (16,7)
4+4=8	1 (2,6)	0	6 (15,4*)	1 (2,4)
4+5=9	2 (5,3)	0	5 (12,8*)	1 (2,4)
5+4=9	0	0	6 (15,4*)	1 (2,4)

Позитивний край хірургічної резекції був найбільш характерний для хворих на РПЗ із фенотипом пухлини CD24⁻, CD44⁺ (60,0% хворих), тоді як при інших варіантах поєднання досліджуваних маркерів – у 17,1 – 27,2% хворих.

При визначенні зв'язку між клінічним перебігом захворювання і експресією маркерів CD24 і CD44 без урахування виду первинного лікування всієї когорти хворих на РПЗ (135 пацієнтів) було встановлено, що за відсутності CD24 в пухлинних клітинах 44,2% (38 із 86) хворих перебували у стані ремісії і 79,6% (39 із 49) мали прогресію захворювання (p=0,001). Щодо CD44, то у разі експресії даного маркера ремісія встановлена у 44,2% (38 із 86) хворих, а прогресія захворювання – у 87,8% (43 із 49) хворих (p=0,001). Подальший аналіз груп хворих, сформованих за комбінацією наявності/відсутності CD24 і CD44 з

урахуванням клінічного перебігу захворювання виявив, що найбільша частка хворих, у яких протягом 36 міс спостереження констатовано прогресію захворювання, була серед хворих з CD24-, CD44+ пухлинами (67,3% випадків), тоді як ремісія серед цієї когорти відмічена лише у 7% хворих. За даний період спостереження летальні наслідки виявлено у 81,3% хворих цієї групи ($p=0,001$).

Проте, ми вважали за доцільне з'ясувати характер клінічного перебігу захворювання серед хворих на РПЗ, яким було застосовано різне первинне лікування, з урахуванням статусу експресії CD24 та CD44. Так, у хворих, яким проведено радикальне хірургічне лікування, виявлено статистично достовірну залежність між прогресією захворювання і відсутністю експресії CD24 (88,6% хворих, табл. 9) та наявністю експресії CD44 (82,9% хворих, табл. 10). Серед пацієнтів, яким застосовували консервативне лікування, статистично достовірною була різниця лише між частотою виявлення експресії CD44 та перебігом захворювання: відсоток пацієнтів з ремісією та прогресією пухлинного процесу, становив 10,5% та 100,0% відповідно ($p=0,001$) (табл. 10).

Таблиця 9

Розподіл хворих за перебігом захворювання з урахуванням експресії CD24 в тканині РПЗ та видом первинного лікування (n=135)

Схема лікування	Перебіг захворювання	Статус CD24				Кількість хворих
		CD24-		CD24+		
		n	%	n	%	n/%
Радикальне хірургічне лікування (n=102)	Прогресія	31	88,6*	4	11,4	35/100
	Ремісія	25	37,3*	42	62,7	67/100
Консервативне лікування n=33/100%	Прогресія	8	57,1	6	42,9	14/100
	Ремісія	13	68,4	6	31,6	19/100

Примітка. * – $p<0,05$ між групами порівнянь

Таблиця 10

Розподіл хворих за перебігом захворювання з урахуванням експресії CD44 в тканині РПЗ та видом первинного лікування (n=135)

Схема лікування	Перебіг захворювання	Статус CD44				Кількість хворих
		CD44-		CD44+		
		n	%	n	%	n/%
Радикальне хірургічне лікування (n=102)	Прогресія	6	17,1	29	82,9*	35/100
	Ремісія	31	46,3	36	53,7	67/100
Консервативне лікування n=33/100%	Прогресія	0	0	14	100,0*	14/100
	Ремісія	17	89,5	2	10,5*	19/100

Примітка. * – $p<0,05$ між групами порівнянь

Аналіз 3-річної виживаності хворих на РПЗ з урахуванням статусу експресії CD24 і CD44 та застосованого виду первинного лікування виявив достовірні відмінності серед хворих, які не подолали 3-річний термін спостереження. Летальні наслідки зафіксовано у 11 із 33 хворих, яким проводили консервативне

лікування, при цьому у 72,7% (8 із 11) хворих була відсутня експресія CD24 та у 100% хворих пухлини були позитивні за експресією CD44. Серед 102 хворих на РПЗ після радикального хірургічного лікування смертність протягом 3-х років становила 4,9% (5 із 102). При цьому, у 100% хворих із числа померлих було констатовано відсутність експресії CD24 та наявність експресії CD44 в пухлинних клітинах.

Подальший аналіз результатів досліджень передбачав з'ясувати характер клінічного перебігу РПЗ у хворих, згрупованих за комбінацією наявності/відсутності експресії CD24 та CD44, з урахуванням варіанта первинного лікування. Серед хворих, яким проводили хірургічне або консервативне лікування, найбільшу частку з несприятливим перебігом захворювання склали такі пацієнти, пухлини яких водночас були негативні за експресією CD24 та позитивні за експресією CD44 (71,4% і 57,1% відповідно, табл. 11). Ремісію захворювання найчастіше відмічено у хворих, пухлини які були CD24+, CD44+ при застосуванні хірургічного лікування (46,3% випадків) та CD24-, CD44- (63,1% випадків) у хворих, які проходили курс консервативного лікування. Незалежно від застосованого варіанта первинного лікування всі пацієнти із фенотипом пухлинних клітин CD24+, CD44- були у стані ремісії. Зазначимо, що перебіг захворювання пацієнтів із фенотипом CD24+, CD44+ залежав від варіанта первинного лікування. Так, серед хворих, яким проведено радикальне хірургічне лікування, кількість хворих, які перебували в ремісії протягом терміну спостереження 36 міс, становила 88,6% (31 із 35 хворих) проти 14,3% (1 із 7 хворих), яким проведено консервативне лікування.

Таблиця 11

Особливості клінічного перебігу РПЗ залежно від метода первинного лікування та комбінації експресії CD24 і CD44

Схема лікування	Перебіг захворювання	Комбінація експресії CD24 та CD44				Кількість хворих, n/%
		CD24-, CD44-	CD24+, CD44-	CD24-, CD44+	CD24+, CD44+	
Радикальне хірургічне лікування (n=102)	Прогресія	6 / 17,2	0	25 / 71,4	4 / 11,4	35/100
	Ремісія	20 / 29,8	11 / 16,4	5 / 7,5	31 / 46,3	67/100
Консервативне лікування (n=33)	Прогресія	0	0	8 / 57,1	6 / 42,9	14/100
	Ремісія	12 / 63,1	5 / 26,3	1 / 5,3	1 / 5,3	19/100

Аналіз загальної 3-річної виживаності показав, що серед 16 хворих, які не пережили 3-річний період після лікування, радикальне хірургічне лікування було проведено 5 пацієнтам, у решти – консервативне лікування. Пухлинні клітини 5/100% хворих, які померли протягом 3-років спостереження після оперативного втручання, експресували CD44 за повної відсутності CD24 (табл.12). Серед хворих, яким застосовували консервативне лікування, у 72,3% випадків пухлини також були CD24-, CD44+, у решти хворих – CD24+, CD44+ (p=0,001).

Загальна 3-річна виживаність хворих на РПЗ в залежності від варіанта первинного лікування та комбінації експресії CD24 і CD44 (n=135)

Комбінація експресії CD24-CD44	Радикальне хірургічне лікування, n/%		Кількість хворих, n/%	Консервативне лікування, n/%		Кількість хворих, n/%
	Хворі, що прожили три роки, n/%	Хворі, що померли, n/%		Хворі, що прожили три роки, n/%	Хворі, що померли, n/%	
CD24-, CD44-	26 / 100,0	0	26 / 100	12 / 100,0	0	12 / 100
CD24+, CD44-	11 / 100,0	0	11 / 100	5 / 100,0	0	5 / 100
CD24-, CD44+	25 / 83,3	5 / 16,7	30 / 100	1 / 11,1	8 / 88,9	9 / 100
CD24+, CD44+	35 / 100,0	0	35 / 100	4 / 57,1	3 / 42,9	7 / 100

Таким чином, незалежно від виду первинного лікування, нами виділено групу хворих на РПЗ з високим ризиком несприятливого перебігу захворювання, пухлинні клітини яких поряд з експресією CD44 не експресують CD24.

Згідно отриманих нами результатів, наявність ДПК в КМ та візуалізація в тканині РПЗ клітин з фенотипом пухлинних стовбурових клітин (CD24⁻, CD44⁺), свідчить про потенційно агресивний перебіг захворювання з несприятливим прогнозом у хворих на РПЗ. Тому наступною задачею досліджень був аналіз перебігу захворювання у хворих на РПЗ із урахуванням молекулярно-біологічної характеристики РПЗ за показниками експресії ДПК в КМ та маркерів пухлинних стовбурових клітин – CD24 та CD44.

Для цього були сформовані дві групи хворих – з наявністю ДПК у КМ та без такої. Кожна із цих груп була розділена на чотири за варіантами комбінації маркерів CD24-CD44 (табл. 13). Прогресію захворювання частіше за все спостерігали у хворих, пухлини яких мали характеристики пухлинних стовбурових клітин – CD24⁻, CD44⁺, а в КМ встановлена наявність ДПК (20 із 49/ 40,8%) або її відсутність (13 із 49/ 26,5% хворих). При цьому, відсоток хворих саме цих груп був найменший серед тих, у кого встановлено ремісію захворювання – 2,3% і 4,7% відповідно. Встановлено, що найбільш сприятливий клінічний перебіг був властивим для пацієнтів, у КМ яких відсутні ДМК, а пухлинні клітини не експресували як CD24, так і CD44 (23 із 86/ 26,7% хворих).

Аналіз загальної 3-річної виживаності хворих на РПЗ виявив найкращі показники у групі хворих із статусом ДПК-, CD24-, CD44- (25 із 119/21,0%). Зауважимо, що із загального числа померлих (16 осіб) частка хворих із статусом ДПК +, CD24-, CD44+ була найбільшою і складала 68,8% (табл. 13).

Таким чином, проведене дослідження дає можливість стверджувати, що хворі на РПЗ, для яких властиві такі молекулярно-біологічні характеристики як наявність дисемінованих пухлинних клітин в КМ поряд із фенотипом пухлинних клітин CD24-CD44+, відносяться до групи з високим ризиком прогресії захворювання та несприятливого прогнозу, що підтверджено при оцінці загальної 3-річної виживаності хворих.

Таблиця 13

Перебіг захворювання та 3-річна загальна виживаність у хворих на РПЗ із та одночасним урахуванням статусу CD24 та CD44 в пухлинній тканині і наявності ДПК в КМ

Статус ДПК в КМ	Комбінація експресії CD24-CD44, n/%	Перебіг захворювання та 3-річна виживаність			
		Прогресія (n=49/100%)	Ремісія (n=86/100%)	Хворі, що прожили три роки (n=119/100%)	Хворі, що померли (n=16/100%)
ДПК – негативний (n=74/100%)	CD24-, CD44- (25/33,8)	2 / 4,1	23 / 26,7	25 / 21,0	0
	CD24+, CD44- (11/14,9)	0	11 / 12,8	11 / 9,2	0
	CD24-, CD44+ (17/23,0)	13 / 26,5	4 / 4,7	15 / 12,6	2 / 12,5
	CD24+, CD44+ (21/28,3)	2 / 4,1	19 / 22,1	21 / 17,6	0
ДПК- позитивний (n=61/100%)	CD24-, CD44- (13/21,3)	4 / 8,2	9 / 10,5	13 / 10,9	0
	CD24+, CD44- (5/8,2)	0	5 / 5,8	5 / 4,2	0
	CD24-, CD44+ (22/36,1)	20 / 40,8	2 / 2,3	11 / 9,2	11 / 68,8
	CD24+, CD44+ (21/34,4)	8 / 16,3	13 / 15,1	18 / 15,1	3 / 18,8

Крім того, аналіз клінічного перебігу захворювання у 135 хворих на РПЗ засвідчив загально визнану прогностичну цінність таких традиційних маркерів як стадія пухлинного процесу, градація за шкалою Глісона, статус хірургічного краю та вихідний рівень ПСА в сироватці крові, що підтверджено при оцінці загальної 3-річної виживаності хворих. Нами виявлено достовірну різницю у зростанні показників 3-річної загальної виживаності хворих на РПЗ із зменшенням стадії захворювання, цифрового значення оцінки пухлини за градацією Глісона (6-7 проти 8-9), абсолютного значення вихідного рівня ПСА (значення медіани 13,7 нг/мл – у хворих, що знаходились у стані ремісії проти 18,8 нг/мл – у хворих із прогресією захворювання) ($p < 0,05$).

Отже, до критеріїв, які мають клінічне значення, з погляду оцінки прогнозу і призначення адекватної терапії хворим на РПЗ, може відноситись не лише стадія пухлинного процесу, градація за шкалою Глісона, статус хірургічного краю та вихідний рівень ПСА в сироватці крові, а і наявність дисемінованих пухлинних клітин в КМ поряд із фенотипом пухлинних клітин CD24⁻CD44⁺, характерним для ракових стовбурових клітин.

Враховуючи той факт, що хворі, в яких водночас у кістковому мозку присутні ДПК, а пухлинні клітини негативні за експресією CD24 та позитивні за експресією CD44 мають найвищий ризик прогресії захворювання, наступний етап роботи стосувався вивченню ефективності різних варіантів первинного лікування на перебіг пухлинного процесу саме у цієї когорти хворих. Нами встановлено, що, незважаючи на відсутність статистично достовірної різниці між числом хворих,

яким проведена радикальна простатектомія, і хворих, які отримували консервативне лікування, спостерігалась тенденція до збільшення кількості хворих, які перебували у стані ремісії серед таких, яким проведено радикальне хірургічне лікування (табл. 14). Оцінка ж загальної трьохрічної виживаності показала, що кількість хворих, які залишились живими протягом 36 міс, значно переважала серед хворих, яким проведено хірургічне втручання (92,3% проти 11,1% хворих, у яких було консервативне лікування).

Таблиця 14

Оцінка ефективності лікування хворих на РПЗ високого ризику прогресії захворювання в залежності від застосованого виду первинного лікування

Оцінка ефективності лікування	Вид первинного лікування	
	Радикальне хірургічне лікування, n=13 / 100%	Консервативне лікування, n=9 / 100%
<i>Клінічний перебіг захворювання</i>		
Прогресія	11 / 84,6	9 / 100,0
Ремісія	2 / 15,4	0
<i>3-річна загальна виживаність</i>		
Хворі, що прожили три роки	12 / 92,3	1 / 11,1
Хворі, що померли	1 / 7,7	8 / 88,9

Слід зауважити, що хворі, які знаходились у стані ремісії або прогресії після радикального хірургічного лікування, статистично значимо відрізнялись за показником рівня ПСА на всіх етапах спостереження ($p < 0,001$). Середні значення вихідного рівня ПСА у групі хворих з прогресією захворювання на всіх етапах були вищими, ніж у хворих з ремісією (рис. 1). Подібні результати отримані і при аналізі динаміки рівня ПСА у хворих, яким проведено консервативне лікування (рис. 2). Середні значення ПСА серед цієї групи хворих на РПЗ на всіх етапах дослідження були достовірно вищими у порівнянні з пацієнтами, яким проведено хірургічне втручання.

Таким чином, лікувальну тактику, яка полягає у застосуванні радикального хірургічного лікування, варто розглядати як обов'язковий компонент, що входить до варіанту первинного лікування хворих з високим ризиком рецидиву неопластичного процесу, котрі мають такі молекулярні-біологічні характеристики як ДПК в КМ та фенотип пухлинних клітин CD24-, CD44+.

Кількісна оцінка ймовірності настання прогресії захворювання та/або летального випадку після проведеного первинного лікування виконана шляхом побудови математичних моделей методом логіт-регресії. Використання отриманих моделей дає змогу отримати кількісну оцінку ймовірності несприятливого перебігу захворювання в межах від 0 до 100%. При цьому значення ймовірності менше 40% свідчать про низький ризик, значення в межах від 40 до 60% – про підвищений ризик, а більше 60% про високий ризик несприятливого перебігу. При моделюванні нами були використані як прогностичні маркери, ефективність яких була доведена в даній роботі, а також варіант первинного лікування хворих. Отримані моделі, у відповідності до принципів доказової медицини, були оцінені за показниками чутливості та

специфічності. Так, модель для оцінки клінічного перебігу захворювання мала загальну ефективність 88,1% (чутливість 92,9%, специфічність – 79,6%), а для визначення ймовірності настання летального випадку – 97,0% (чутливість 98,3%, специфічність – 87,5%).

Отже, представлені в дисертаційній роботі результати досліджень дають можливість стверджувати, що дослідження КМ хворих на РПЗ на наявність ДПК та пухлинної тканини на вміст CD24 та CD44 є важливим аспектом комплексного обстеження пацієнтів, який визначає персоналізовану тактику лікування.

ВИСНОВКИ

Рак передміхурової залози залишається однією з архіпроблем сучасної урології та онкології, оскільки серед злоякісних новоутворень чоловічого населення у всьому світі частота даного захворювання залишається серед найбільш високих. Актуальним виглядає пошук нових прогностичних маркерів, які, поряд із загальновизнаними, визначають клінічний перебіг цього захворювання.

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення актуальної наукової задачі – встановлена прогностична роль дисемінованих пухлинних клітин, які виявляють у кістковому мозку хворих на РПЗ, та маркерів, асоційованих із стовбуровими пухлинними клітинами – CD24 і CD44, які визначають фенотип злоякісно трансформованих клітин пухлини, що дозволило виділити групи хворих підвищеного ризику прогресії захворювання для персоналізованого підходу до вибору тактики лікування з проведенням радикальної простатектомії як оптимального варіанту їх первинного лікування, що має суттєве значення для урології.

1. Встановлено зв'язок між наявністю ДПК у КМ хворих на РПЗ із стадією захворювання, розміром пухлини, ступенем поширення пухлинного процесу на регіонарні лімфатичні вузли, градацією за шкалою Глісона, вихідним рівнем ПСА в сироватці крові ($p < 0,05$). У переважній більшості хворих, в КМ яких виявлено ДПК, відмічено несприятливий перебіг захворювання. Застосування радикального хірургічного лікування у хворих на РПЗ зменшує ризик прогресії захворювання, тоді як у разі консервативного лікування виживаність серед пацієнтів із ДПК в КМ вдвічі нижча проти хворих, у яких в КМ не були виявлені ДПК.

2. Доведено, що при зростанні стадії захворювання, показника за шкалою Глісона та за умов позитивного краю резекції кількість хворих, пухлини яких є CD24-негативними, достовірно більша, ніж із CD24-позитивними. Дослідження експресії CD44 в пухлинних клітинах РПЗ виявили протилежну закономірність за цими показниками. Крім того, встановлено достовірний зв'язок між наявністю експресії CD44 в пухлинах та ступенем поширення пухлинного процесу на регіонарні лімфатичні вузли ($p = 0,002$). Наявність експресії в пухлинних клітинах хворих на РПЗ CD44 та відсутність CD24 свідчить про несприятливий прогноз перебігу захворювання не залежно від застосованого виду первинного лікування.

3. Виділено чотири групи хворих на РПЗ з урахуванням статусу експресії CD24 та CD44. Незалежно від виду первинного лікування, хворі, пухлини яких

поряд з експресією CD44 не експресують CD24, мали найбільш несприятливий перебіг захворювання. Проведення хірургічного лікування в об'ємі радикальної простатектомії у цієї когорти хворих статистично достовірно підвищує показники їх загальної трьохрічної виживаності, які становили 83,3% проти 11,1% у хворих, яким застосовували консервативне лікування. Ремісію захворювання найчастіше відмічено у хворих, пухлини які були CD24+, CD44+ при застосуванні хірургічного лікування (46,3% випадків) та CD24-, CD44- (63,1% випадків) у хворих, які проходили курс консервативного лікування.

4. Хворі на РПЗ, у КМ яких виявлені ДПК, а пухлинні клітини поряд з експресією CD44 не експресують CD24, відносяться до групи високого ризику: прогресія захворювання виявлена у 20 із 49 (40,8%) хворих, ремісія – у 2,3% хворих. Виявлено тенденцію до збільшення кількості хворих, які перебували у стані ремісії серед таких, яким проведено радикальне хірургічне лікування. Оцінка загальної трьохрічної виживаності показала, що кількість хворих, які залишились живими протягом 36 міс, була достовірно вищою в групі хірургічного лікування в порівнянні з групою консервативного лікування (92,3% проти 11,1%).

5. Радикальне хірургічне лікування варто розглядати як обов'язковий компонент, що входить до варіанту первинного лікування хворих з високим ризиком рецидиву неопластичного процесу, котрі мають такі молекулярно-біологічні характеристики як наявність ДПК в КМ та статус маркерів пухлини – CD24-, CD44+.

6. Встановлено, що до критеріїв, які визначають перебіг захворювання у хворих на РПЗ, крім стадії пухлинного процесу, градації за шкалою Глісона, статусу хірургічного краю та вихідного рівня ПСА в сироватці крові, можна віднести наявність дисемінованих пухлинних клітин в КМ, відсутність експресії CD24 та наявність експресії CD44 у пухлинних клітинах.

7. Розроблено математичну модель для кількісної оцінки ймовірності несприятливого клінічного перебігу РПЗ на основі загальноновизнаних та новозапропонованих прогностичних маркерів, загальна ефективність якої склала 88,1% (чутливість 92,9%, специфічність – 79,6%), а для визначення ймовірності настання летального випадку – 97,0% (чутливість 98,3%, специфічність – 87,5%).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Хворих на РПЗ, в КМ яких наявні ДПК, а пухлинні клітини мають фенотип CD24-, CD44+ слід відносити до групи високого ризику прогресії захворювання.

2. Хворим з високим ризиком прогресії захворювання рекомендовано застосування радикального хірургічного лікування.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації:

1. Chernychenko OA, Sakalo VS, Yakovlev PG, Sakalo AV, Zhylchuk Yu.V. Bone mineral density in prostate cancer patients with metastases in lumbar spine. Inter Medical Journal. 2014; 20221: 72-74. (Здобувачем проведено, збір та аналіз отриманих результатів, оформлення статті до друку).

2. Chernichenko OA, Sakalo VS, Yakovlev PG, Sakalo AV, Zhylychuk YV, Zsolt A. Effect of androgen suppression on bone mineral density in patients with prostate cancer. *Exp Oncol.* 2014; 36(4): 276-8. *(Здобувачем проведено клінічні обстеження пацієнтів, збір та аналіз отриманих результатів, оформлення статті до друку).*
3. Жильчук ЮВ., Сакало ВС., Григоренко ВМ., Сакало АВ., Задворний ТВ., Лук'янова МЮ., Чехун ВФ. Експресія CD44 та CD24 у пухлинній тканині у хворих на рак передміхурової залози. *Здоров'є чоловіка.* 2016; 4(59): 111-114. *(Здобувачем проведено клінічні обстеження та лікування пацієнтів, збір та аналіз отриманих результатів, оформлення статті до друку).*
4. Кудрявець ЮЙ, Безденежних НО, Семесюк НІ, Жильчук АВ, Лихова ОО, Ковальова ОА, Воронцова АЛ, Жильчук ВС, Глянько МВ, Жильчук ЮВ, Кочерга РА. Мікрооточення пухлинних клітин як джерело модифікаторів епітеліально-мезенхімального переходу та мішеней для персоніфікованої протипухлинної терапії. *Онкологія.* 2016; 4: 269-276. *(Здобувачем проведено клінічні обстеження та лікування пацієнтів, збір та аналіз отриманих результатів, оформлення статті до друку).*
5. Zhylychuk YuV, Zadvornyi TV, Vozianov SO, Sakalo VS, Sakalo AV, Grygorenko VN, Lukianova NYu, Chekhun VF. Prognostic value of cancer stem cell markers (CD44 and CD24) in combination with clinical and morphological characteristics of prostate cancer. *IJSRM.* 2017; 6(3): 20-30. *(Здобувачем проведено клінічні обстеження та лікування пацієнтів, збір та аналіз отриманих результатів).*
6. Zhylychuk YuV, Sakalo VS, Sakalo AV, Bezdenezhnikh NO, Kudryavets YuI. Clinical and prognostic value of disseminated tumor cells in bone marrow of patients with prostate cancer. *IJSRM.* 2018; 11(2): 1-12. *(Здобувачем проведено клінічні обстеження та лікування пацієнтів, збір та аналіз отриманих результатів, оформлення статті до друку).*
7. Черниченко ОА, Сакало ВС, Сакало АВ, Яковлев ПГ, Жильчук ЮВ. Оцінка стану кісткової тканини у хворих на рак передміхурової залози, які отримують андрогенну депривацію та поєднану антирезорбтивну терапію. *Український науково-медичний молодіжний журнал.* 2015; 4(91): 103-107. *(Здобувачем проведено збір та аналіз отриманих результатів, оформлення статті до друку).*
8. Мрачковський ВВ, Кондратенко АВ, Яковлев ПГ, Шуригіна ОВ, Сакало ВС, Сакало АВ, Куранов ЮЮ, Салій ПМ, Жильчук ЮВ. Динаміка розвитку онкоурологічної допомоги на прикладі урологічного відділення Київського міського клінічного онкологічного центру. *Урологія.* 2015; 2: 44-47. *(Здобувачем проведено збір та аналіз отриманих результатів, оформлення статті до друку).*
9. Бондаренко ЮМ, Сакало ВС, Жильчук ЮВ, Куранов ЮЮ, Сакало АВ, Яковлев ПГ, Черниченко ОА. Спосіб комплексної діагностики метастатичного ураження кісток у хворих на рак передміхурової залози. Деклараційний патент на корисну модель UA, 2015, А61В 6/02, №98011. *(Здобувачем проведено клінічні обстеження та лікування пацієнтів, збір та аналіз отриманих результатів).*
10. Чехун ВФ, Сакало ФВ, Жильчук ЮВ, Сакало ВС, Лук'янова НЮ, Задворний ТВ. Спосіб прогнозування ризику виникнення рецидивів у хворих на

рак передміхурової залози. Деклараційний патент на корисну модель UA, 2017, G01N 33/574, №120395. *(Здобувачем проведено клінічні обстеження та лікування пацієнтів, збір та аналіз отриманих результатів, оформлення статті до друку).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

11. Жильчук ЮВ, Сакало ВС, Бондаренко ЮМ, Сакало АВ, Черниченко ОА, Мрачковський ВВ, Кондратенко АВ, Куранов ЮЮ, Салій ПМ, Левчишин ЯВ. Ад'ювантна та рятівна променева терапія у хворих на рак передміхурової залози. Здоров'є мужчини (Матеріали з'їзду асоціації урологів України, м. Трускавець, 17-18 жовтня, 2013) *(Здобувачем проведено клінічні обстеження та лікування пацієнтів, збір та аналіз отриманих результатів, оформлення матеріалу до друку).*

12. Черниченко ОА, Сакало ВС, Щербина ОВ, Сакало АВ, Жильчук ЮВ. Дослідження характеру кісткових метастазів поперекового відділу хребта у хворих на рак передміхурової залози. Матеріали III Міжнародного медичного конгресу «Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України», 2014 р., м. Київ, 2014; 26-27. *(Здобувачем проведено збір та аналіз отриманих результатів, оформлення матеріалу до друку).*

13. Sakalo A, Vozianov S, Zhylchuk Y, Banyga O, Levchyshyn Y, Sakalo V. Detection of disseminated tumor cells in bone marrow of localized prostate cancer patients. Central European Journal of Urology. 2015; 105-106. *(Здобувачем проведено клінічні обстеження та лікування пацієнтів, збір та аналіз отриманих результатів, оформлення матеріалу до друку).*

14. Возіанов СО, Сакало ВС, Григоренко ВМ, Жильчук ЮВ, Сакало АВ, Мрачковський ВВ, Кондратенко АВ, Черниченко ОА, Данилець РО, Владіміров ВО. Визначення дисемінованих пухлинних клітин у кістковому мозку та периферійній крові у хворих на рак передміхурової залози. Урологія (Матеріали конгресу Асоціації урологів України, м. Київ, 18-20 червня 2015 р.). 2015; т. 19 № 2; 73 *(Здобувачем проведено клінічні обстеження та лікування пацієнтів, збір та аналіз отриманих результатів, підготував матеріал до друку)*

15. Жильчук ЮВ, Сакало ВС, Кудрявець ЮЙ, Григоренко ВМ, Данилець РО, Мрачковський ВВ, Кондратенко АВ. Клінічне значення дисемінованих пухлинних клітин у хворих на рак передміхурової залози після радикальної простатектомії. Урологія (Матеріали конгресу Асоціації урологів України, м. Київ, 21-23 квітня 2016 р.), 2016: 72-73. *(Здобувачем проведено клінічні обстеження та лікування пацієнтів, збір та аналіз отриманих результатів, підготував матеріал до друку)*

16. Жильчук ЮВ, Сакало ВС, Задворний ТВ, Чехун ВФ. Зв'язок експресії маркерів ракових стовбурових CD44+/CD24- клітин з клініко-патологічними характеристиками раку передміхурової залози. Український радіологічний журнал, додаток 1. Матеріали XIII з'їзду онкологів та радіологів України. 2016; 196. *(Здобувачем проведено клінічні обстеження та лікування пацієнтів, збір та аналіз отриманих результатів, підготував матеріал до друку).*

АНОТАЦІЯ

Жильчук Ю.В. Рак передміхурової залози: особливості клінічного

перебігу захворювання з високим ризиком виникнення рецидиву – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук зі спеціальності 14.01.06 – урологія. – Державна установа «Інститут урології України НАМН України», Київ, 2021.

Дисертаційна робота присвячена актуальній проблемі урології та онкології – підвищенню ефективності лікування хворих на рак передміхурової залози з несприятливим прогнозом перебігу захворювання, визначеного за наявністю/відсутністю у кістковому мозку дисемінованих пухлинних клітин та експресії в злоякісно трансформованих клітинах молекулярних маркерів, асоційованих із пухлинними стовбуровими клітинами – CD24 та CD44.

Встановлено, що до критеріїв, які визначають перебіг захворювання у хворих на РПЗ, крім загальноновизнаних – стадії пухлинного процесу, градації за шкалою Глісона, статусу хірургічного краю та вихідного рівня ПСА в сироватці крові, можна віднести наявність дисемінованих пухлинних клітин в КМ, відсутність експресії CD24 та наявність експресії CD44 у пухлинних клітинах. Хворі на РПЗ, у КМ яких виявлені ДПК, а пухлинні клітини поряд з експресією CD44 не експресують CD24, відносяться до групи з високим ризиком прогресії захворювання: прогресія захворювання виявлена у 20 із 49 (40,8%) хворих, ремісія – у 2,3% хворих. У хворих з високим ризиком рецидиву неопластичного процесу застосування радикального хірургічного лікування, варто розглядати як обов'язковий компонент, що входить до варіанту первинного лікування.

Ключові слова: рак передміхурової залози, дисеміновані пухлинні клітини, радикальна простатектомія, CD24, CD44, клінічний перебіг захворювання.

АННОТАЦІЯ

Жильчук Ю.В. Рак предстательной железы: особенности клинического течения заболевания с высоким риском возникновения рецидива – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.06 – урология. – ГУ «Институт урологии Украины НАМН Украины», Киев, 2021.

Диссертационная работа посвящена актуальной проблеме урологии и онкологии – повышению эффективности лечения больных раком предстательной железы с неблагоприятным прогнозом течения заболевания, определенного по наличию/отсутствию в костном мозге диссеминированных опухолевых клеток (ДОК) и экспрессии в злокачественно трансформированных клетках молекулярных маркеров, ассоциированных с опухолевыми стволовыми клетками – CD24 и CD44.

Выделены четыре группы больных РПЖ с учетом статуса экспрессии CD24 и CD44. Независимо от вида первичного лечения, больные, опухоли которых наряду с экспрессией CD44 не экспрессируют CD24, имели наиболее неблагоприятное течение заболевания (прогрессия заболевания у 71,4% больных при проведении радикального хирургического лечения и 57,1% при консервативном лечении). Проведение хирургического лечения в объеме радикальной простатэктомии в этой когорте больных статистически достоверно

повышает показатели их общей трехлетней выживаемости, которые составляют 83,3% против 11,1% у больных, которым применяли консервативное лечение. Ремиссию заболевания чаще всего отмечено у больных, опухоли которых были CD24+, CD44+ при применении хирургического лечения (46,3% случаев) и CD24-, CD44- (63,1% случаев) у больных, проходивших курс консервативного лечения.

Больные РПЖ, в КМ которых обнаружены ДОК, а опухолевые клетки экспрессируют CD44 и не экспрессируют CD24, относятся к группе с наиболее высоким риском прогрессии заболевания: прогрессия заболевания выявлена у 20 из 49 (40,8%) больных, ремиссия – у 2,3% больных. Выявлена тенденция к увеличению количества больных, находившихся в состоянии ремиссии в группе радикального хирургического лечения. Оценка общей трехлетней выживаемости показала, что количество больных, которые остались живыми в течение 36 мес., значительно преобладала среди таких, которым проведено хирургическое вмешательство (92,3% против 11,1% больных, после консервативного лечения).

Радикальное хирургическое лечение следует рассматривать как обязательный компонент первичного лечения больных с высоким риском рецидива неопластического процесса, которые имеют такие молекулярные биологические характеристики, как наличие ДОК в КМ и статус маркеров опухоли – CD24-, CD44+.

Разработана математическая модель вероятности прогрессии заболевания, общая эффективность которой составила 88,1% (чувствительность 92,9%, специфичность – 79,6%), а вероятность наступления летального исхода – 97,0% (чувствительность 98,3%, специфичность – 87,5%).

Ключевые слова: рак предстательной железы, диссеминированные опухолевые клетки, радикальная простатэктомия, CD24, CD44, клиническое течение заболевания.

SUMMARY

Zhylchuk Yu.V. Prostate cancer: features of the clinical course of the disease with a high risk of recurrence

Dissertation for the degree of Candidate of Medical Sciences in specialty 14.01.06 – urology. – State Institution “Institute of Urology of NAMS of Ukraine”, Kyiv, 2020.

Prostate cancer (PCa) is one of the most common malignant tumors of middle-aged and elderly men, so the problem of early diagnosis and treatment of malignant tumors of the prostate is extremely important in scientific and practical urology and oncology. It looks relevant to search for new prognostic markers that, along with the generally recognized ones, determine the clinical course of the disease and are able to predict the likelihood of recurrence personally in a particular patient. Today, along with such well-known prognostic factors as PCa staging, tumor size, extent of its spread to regional nodes, clinicians pay special attention to the initial level of prostate-specific antigen (PSA) in the blood serum, arithmetic sum of the Gleason grading system scores and the status of the resection margin. At the same time,

researchers are exploring new markers for predicting the clinical course of the disease. This dissertation is devoted to determining the prognostic significance of disseminated tumor cells (DTCs), which are detected in bone marrow (BM) of patients with PCa, and markers associated with stem tumor cells – CD24 and CD44, which determine the phenotype of malignantly transformed tumor cells.

The dissertation is based on the results of examination and treatment of 135 patients with PCa on stage T1-4N0-1M0-1, 51-75 years old (the average age is 65.2 ± 9.8 years). Disease stage and tumor spread has been determined by the international system TNM (7-th edition, 2009). Clinical diagnosis was established on the basis of determining the level of total PSA in the blood serum, finger rectal prostate examination, CT examination, transrectal ultrasound of the prostate, bone scan, chest radiography. According to the variant of primary treatment, all investigated patients were divided into 2 groups. The first group – 102 patients which after examination and verification of conducted morphological diagnosis underwent surgical treatment consisting of radical prostatectomy, followed by adjuvant hormone therapy and radiation therapy in the postoperative period. The second group of patients included 33 patients who were treated conservatively. In order to study the efficacy of different primary treatment options, patients with PCa were randomized by the stage of the tumor development, the size of the primary tumor, the extent of the tumor development, and the initial status of the tumor on the Gleason scale.

Assessing clinical course of disease, all patients, regardless of the type of initial treatment, were distributed into two groups: group 1 – 86 patients who were in remission throughout the observation period (36 months after the start of treatment); group 2 – 49 patients who were on a stage of the progression of the disease for the same period of time as patients of the first group.

Immunocytochemical determination of DTCs in BM patients with PCa was performed using monoclonal antibodies (mAb) against human pan Cytokeratin, and immunohistochemical study of the expression of CD24 and CD44 was performed on sections of tumor tissue using mAb of anti-CD24 (clone SN3b, Thermo Scientific, USA) and anti-CD44/HCAM (clone 156-3C11, Diagnostic BioSystems, USA).

As a result of studies of BM patients with PCa, 45.1% of patients had DTCs. We set a reliable link between the presence of DTCs in BM and disease stage ($p = 0.001$), tumor size ($p = 0.026$), the degree of tumor spread to the regional lymph nodes ($p = 0.002$), gradation on Gleason scale ($p = 0.006$), baseline PSA in serum ($p = 0.02$). The course of the disease in patients with PCa with different status of the DTCs differed depending on the primary treatment used. Among the patients who underwent radical surgical treatment we did not find any association between the presence of DTCs in the BM and the course of the disease ($p = 0.407$), whereas among the cohort of patients treated with conservative treatment, disease remission was established in 22.2 % of patients with status DTC+ ($p = 0.001$) and in 100% of patients with DTC- status. The overall 3-year survival of patients with PCa who underwent surgical treatment was not statistically significantly different among patients with different status of DTCs in BM, whereas when using conservative treatment, the survival rate among patients with DTCs in BM was almost twice lower among those in which no DTCs were detected in the BM (31.8 % versus 68.2 %).

Therefore, the presence of DTCs in BM should be regarded as a significant prognostic marker of adverse clinical course of the disease in patients with PCa.

The results of the study of the expression of stem cell markers CD24 and CD44 indicate, that with increasing of disease stage, Gleason score and if a resection margin is positive – the number of patients whose tumors are CD24-negative is significantly higher than that of CD24-positive. Studies of CD44 expression in PCa tumor cells have revealed the opposite pattern in these parameters. In addition, a reliable relationship was established between the presence of CD44 expression in tumors and the extent of the spread of the tumor process to regional lymph nodes ($p = 0.002$). The presence of expression in the tumor cells of patients with PCa CD44 and the absence of CD24 indicated an unfavorable prognosis for the course of the disease regardless of the type of primary treatment used.

After that all patients with PCa were grouped into four groups, depending on the status of CD24 and CD44 in malignant transformed cells: CD24-, CD44- – 38 patients, CD24+, CD44- – 16 patients, CD24-, CD44+ – 39 patients, CD24+, CD44+ – 42 patients. It was important to find the relation between the variant expression profile of CD24 and CD44 in PCa tissue and the clinical characteristics of patients. It was found that patients whose tumors did not express CD24 and were positive for the marker CD44 (CD24-, CD44+), were at stage III and stage IV of disease, category N1, high score on Gleason scale (8-9) and the highest output PSA level – more than 18.8 ng / ml. Regardless of the type of primary treatment, patients whose tumors were CD24-, CD44+ had the most unfavorable course of the disease. Surgical treatment in the volume of radical prostatectomy in this cohort of patients statistically significantly increased the indicators of their overall three-year survival. The remission of the disease was most often observed in patients with tumors that were CD24+, CD44+ when applied to surgical treatment (46.3% of cases) and CD24-, CD44- (63.1% of cases) in patients undergoing conservative treatment.

An analysis of overall 3-year survival showed that among 16 patients who did not survive the 3-year period after treatment, radical surgical treatment was performed for 5 patients, with conservative treatment for the remaining ones. Tumor cells in 100 % of patients who died within 3 years of observation after surgery expressed CD44 in the complete absence of CD24. Among patients treated with conservative treatment, 72.78 % of the tumors also were CD24-, CD44 +, and the remaining patients had CD24+, CD44+ ($p = 0.001$). Thus, regardless of the type of primary treatment, we identified a group of patients with PCa with a high risk of adverse course of the disease, whose tumor cells, along with the expression of CD44, do not express CD24.

After that we made the analysis of the disease in patients with PCa, taking into account both expressions of DTCs in BM and markers of tumor stem cells – CD24 and CD44. It is established that patients with PCa who have DTCs detected in the BM and tumor cells along with the expression of CD44 do not express CD24 belong to the group with high risk of disease progression: disease progression was diagnosed in 40.8 % of patients, remission – in 2.3 % of patients. The most favorable clinical course is typical for patients who have no DTCs and no tumor cells expressing neither CD24 nor CD44 (26.7 % of patients). We have also revealed a

tendency of the growing number of patients in remission among patients undergoing radical surgical treatment. An estimate of overall three-year survival showed that the number of patients who remained alive for 36 months was significantly higher among those who underwent surgery (92.3 % versus 11.1 % of patients after conservative treatment). Analysis of the overall 3-year survival rate of patients with PCa revealed the best indicators in the group of patients with the status DTC-, CD24-, CD44- (21.0 %), the worst – in patients with status DTC+, CD24-, CD44+ (68.8 %). Thus, therapeutic tactics that involve the use of radical surgical treatment should be considered as a mandatory component of the primary treatment of patients with a high risk of recurrence of a neoplastic process who have such molecular and biological characteristics as DTCs in BM and phenotype of tumor cells CD24-, CD44+.

During the research we have also developed a mathematical model to quantify the likelihood of clinical course of PCa on the basis of generally recognized and newly proposed prognostic markers, the overall efficiency of which was 88.1% (sensitivity 92.9%, specificity – 79.6%), and for determination of lethal case occurrence probability – 97,0% (sensitivity 98,3%, specificity – 87,5%).

Therefore, the results of the research presented in the dissertation make it possible to claim, that not only the stage of the tumor process, score on the Gleason scale, the status of the surgical margin and the baseline PSA in serum are the criteria of clinical significance in terms of assessing the prognosis and the appointment of adequate therapy for patients with PCa, but also the presence DTCs in BM along with the phenotype of tumor cells CD24-CD44+, the study of which is an important aspect of the general examination of patients. A comprehensive study of these characteristics has become the basis for the selection of a group of patients with increased risk of disease progression, which opens the possibility of a personalized approach to the choice of tactics for the treatment of this category of patients, and radical prostatectomy is considered the optimal option for their primary treatment.

зелений – виправлено, рекомендується залишити

блакитний – думати, виправити

малиновий – коментар

жовтий – рекомендується видалити