

ПІН – ПЕРЕДРАК ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ, ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ МОНІТОРИНГУ ХВОРИХ

Ф.І. Костєв, Л.І. Красилюк, Р.В. Бахчієв, Д.О. Кузнєцов, О.В. Руденко

Одеський національний медичний університет МОЗ України

Вступ. Останнім часом дослідники приділяють значну увагу визначенню особливостей розвитку передракових станів і ранніх стадій канцерогенезу раку передміхурової залози (1, 11, 3). Серед патологічних варіантів зміни епітелію передміхурової залози, які розглядаються як пренеопластичний процес, виділяють проліферативну запальну атрофію (РІА) і простатичну інтраепітеліальну неоплазію (ПІН) (10, 5).

Частота ПІН та її зв'язок із РПЗ, особливо ПІН високого ступеня, викликають деякі питання щодо діагностики й тактики спостереження хворих. Враховуючи, що можливість трансформації ПІН у карциному *in situ* або інвазивний рак оцінюється як тривалий період (22), потрібна розробка методів раннього виявлення та превенції, що може знизити кількість випадків РПЗ (24), або відстрочити виникнення захворювання в осіб з високим ризиком розвитку РПЗ (9). Тому розробка методів діагностики ПІН передміхурової залози та її клінічного перебігу є актуальним завданням урології.

Через відсутність досконалих скринінг-програм із раннього виявлення РПЗ у багатьох чоловіків захворювання приймає невиліковну метастатичну форму. Успіх та результативність лікування прямо пропорційно залежать від своєчасного проведеного комплексу діагностичних процедур. Єдиним та ефективним способом зниження захворюваності та смертності від РПЗ залишаються рання діагностика та своєчасне раннє лікування (12, 4). Внаслідок відсутності патологічних симптомів на ранніх стадіях РПЗ, діагностика є однією з найскладніших проблем сучасної онкоурології. Велика питома вага поєднання РПЗ з доброякісною гіперплазією передміхурової залози та хронічним простатитом знижує чутливість, специфічність та точність широко вживаного лабораторного показника, такого як сироватковий простатичний специфічний антиген (ПСА), пальцевого ректального дослідження та трансректального ультразвукового дослідження (23, 15, 19).

У 1999 році вперше описали (16) явище проліферації епітелію в осередках атрофії пе-

редміхурової залози і, що особливо важливо, зв'язали його із запаленням, тоді і був запропонований новий термін «проліферативна запальна атрофія (ПЗА)». Даний варіант атрофії ними описаний як такий, що локалізується переважно в периферичних зонах залози, пов'язаний з дрібними протоками, ацинусами, не носить дифузного характеру і не пов'язаний зі стимуляцією андрогенами. Реактивні вільні радикали, як первинні низькомолекулярні медіатори імунної системи, здатні прямо або опосередковано реагувати із ДНК епітеліальних і стромальних клітин і викликати генетичні мутації (25), епігенетичні порушення її молекулярної структури (18) та порушувати структуру та функціональну активність білків, зокрема найважливішого пухлино-супресорного білка p53 (19). Процес окислення ліпідів, викликаний вільною дією радикалів, впливає на синтез простагландинів – найважливіших прозапальних медіаторних молекул (6), відіграє важливу роль у канцерогенезі взагалі і передміхурової залози зокрема (18) особливо на ранніх стадіях – гіперплазії простатичних клітин.

Можливості сучасної науки в галузі молекулярної біології дозволили визначити низку пов'язаних з РПЗ генетичних порушень (2, 8, 14).

Процес метилування, як епігенетична модифікація ДНК, у разі порушення може призводити до генетичних змін, роблячи очевидним взаємозв'язок між генетичним та епігенетичними процесами при виникненні та розвитку пухлини. З медичної точки зору це відкриває можливість для ранньої діагностики та лікування (7, 21). Виявлення мікрофункціонального стану й ультраструктурних механізмів перебігу до пухлинних процесів у передміхуровій залозі в клінічних умовах неможливо, тому нами розроблено експериментальну модель ПІН і відтворені патогенетичні механізми її розвитку та проведено спробу її експериментального лікування.

Мета дослідження: експериментальне обґрунтування патогенезу ПІН та визначення принципової стратегії в спостереженні хворих

на ПІН при доброякісній гіперплазії передміхурової залози.

Матеріали та методи дослідження. Експериментальні методи дослідження проведені на 159 щурах-самцях лінії Вістар тримісячного віку, масою 150 ± 20 г, які утримувалися в стандартних умовах у лабораторії біологічної клініки Одеського національного медичного університету.

Підготовка тварин, усі інвазивні втручання, знеболювання та виведення з досліду здійснювались у повній відповідності до вимог до правил GLP, що передбачені Європейською комісією з нагляду за проведенням лабораторних та інших досліджень. Експериментальна модель ПІН є оригінальною, розроблена нами та захищена патентом на винахід (Бюл. № 20 від 27.10.2008) і полягає у попережному підшкірному введенні гормональних препаратів синестролу та тестостерону пропіонату. Синестрол вводили по 40 мг/кг на тиждень, протягом першого, другого, третього та шостого місяців від початку експерименту. Тестостерону пропіонат вводили по 150 мг/кг протягом четвертого, п'ятого, шостого та восьмого місяців.

Формування ПІН підтверджено морфологічними дослідженнями тканини передміхурової залози експериментальних тварин. У групах тварин було досліджено концентрацію продуктів ліпопероксидації (малоновий діальдегід, дієнові кон'югати), активність ферментів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутаза, каталаза) в крові та тканинах передміхурової залози.

Групі тварин для виявлення можливостей запобіжного заходу в розвитку ПІН вводили внутрішньом'язово фітоестроген – ЕКСО з розрахунку 0,2 мг/кг щодня протягом 8 місяців. Для вивчення частоти ПІН при доброякісних процесах у передміхуровій залозі проводили гістологічні дослідження тканини передміхурової залози у 70 хворих на ДГПЗ (середній вік $70,3 \pm 2,7$ року).

Роль генетичного моніторингу в диференціюванні ПІН при доброякісній гіперплазії передміхурової залози виявлена на основі аналізу рівнів метилування промоторної області генів APC, GSTP1, RAR1, що дало змогу оцінити роль ПІН як передраку передміхурової залози та скерувати методику спостереження хворих. Метилування промоторної області генів проведено на тканинних зразках передміхурової залози, отриманих від 76 хворих. Ці дані обробляли із застосуванням методів варіаційної статистики з обчислюванням критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Для досягнення мети дослідження по обґрунтуванню па-

тогенезу ПІН та розробки принципової стратегії по спостереженню за хворими з ПІН при ДГПЗ нами створена експериментальна модель ПІН на щурах. Підтвердженням адекватності авторської методики експериментальної ПІН послужили морфологічні дослідження, що проводилися поетапно зі щомісячним виведенням тварин з експерименту й суттєвістю змін з боку передміхурової залози.

Результатами морфологічних досліджень встановлено чотири основних періоди структурних зрушень. Перший – перші три місяці введення синестролу по 40 мг/кг на тиждень, при яких зберігалось збільшення розміру самих простатичних залоз; секреторний епітелій оцінювався як високий циліндричний, зі збільшеною кількістю сплюснених та округлих клітин, що утворювали нашарування епітеліоцитів у два – три шари, з яких розпочато формування папілом, що мали вигляд «подушечок» та грибоподібних сосочків та відповідали початку періоду формування ПІН низького ступеня (рис. 1). Другий період протягом введення тестостерону по 150 мг/кг на тиждень характеризував морфологічну картину сформованої ПІН низького ступеня, початок появи ділянок епітелію, формування ПІН високого ступеня, морфологічна картина характеризувалась значною кількістю справжніх сосочків, в окремих ділянках спостерігалась картина їх злиття та формування залозистої гіперплазії, зростала кількість «грибоподібних» папілом і «подушечок» з високим циліндричним епітелієм та забарвленою базифільно цитоплазмою. Визначався слабо виражений поліморфізм ядер зі збільшенням деяких з них удвічі. Ядерця – дрібні, поодинокі, а хроматин – дрібнодисперсний (рис. 2).

Третій період морфологічних змін спостерігався у щурів після 7-місячного періоду введення гормонів. Усі залози містили лише незначну кількість справжніх сосочків, переважна більшість сосочків представлена утворами у вигляді «грибоподібних» папілом та «подушечок», що мали 3–4 ряди клітин (рис. 3).

Міоепітеліальні клітини розміщувалися в один шар, містили паличкоподібні ядра, які розташовувалися паралельно до базальної мембрани. Указані зміни тканини передміхурової залози містять ознаки ПІН низького та високого ступенів.

Четвертий період морфологічних змін спостерігався у тварин після 8-місячного попереминого введення гормонів: синестролу та тестостерону пропіонату. Морфологічно відзначалась нерівномірна кількість справжніх і несправжніх

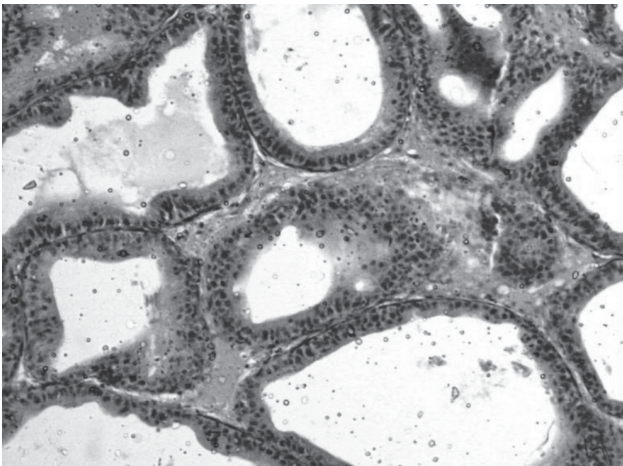


Рис. 1. Передміхурова залоза щура. 3-й місяць моделювання ПН. Розширені залози, частково з секретом у просвіті. «Папіломоподібні» розростання епітелію. Дворівневе розташування ядер. Забарв.: гематоксилін-еозин. Збільш. $\times 200$

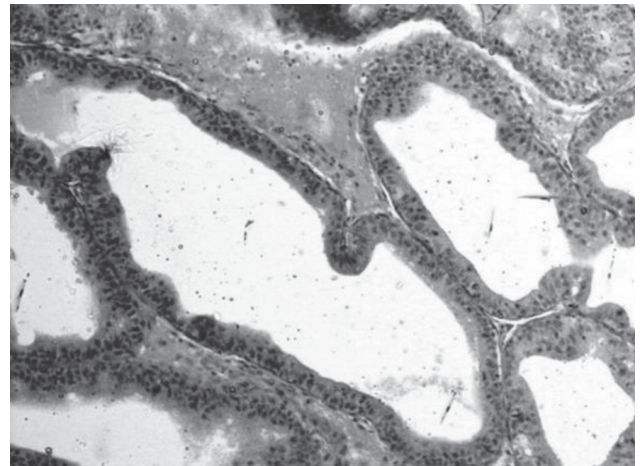


Рис. 2. Передміхурова залоза щура. 5-й місяць моделювання ПН. Ацинус залози з «подушкою» з епітеліоцитів, що формується. Забарв.: гематоксилін-еозин. Збільш. $\times 200$

сосочків, з переважанням несправжніх. Несправжні сосочки склалися з гіперплазованого циліндричного епітелію з розташуванням ядер на різних рівнях у 5–6 рядів, утворюючи «грибоподібні» папіломи та «подушечки» (рис. 4). Ядра помірно гіперплазовані, овальні, розміщені перпендикулярно до базальної мембрани, в окремих клітинах ядра збільшені за розміром у 2–3 рази, ядерця еозинофільні, відмічається виражений поліморфізм форми ядер. У окремих залоз з вакуолями поблизу апікального краю клітин міо-епітелію, що розміщувалися в один ряд, містилися паличкоподібні ядра, які розташовані паралельно до базальної мембрани.

Розвиток експериментальної ПІН супроводжувався дезінтеграцією метаболічного стану на органному (передміхурова залоза) та організ-

менному рівнях у цілому. Спостерігалось поступове посилення процесів ліпопероксидації, зміщення рівноваги у процесах перекисного окислення ліпідів – порушення антиоксидантного захисту, що підвищують зниження ферментів ланки антиоксидантного захисту. Так, вміст дієнових кон'югатів у передміхуровій залозі та сироватці крові після місячного курсу введення синестролу був вищим за показники контролю на 38,5%; 37,5% відповідно, а рівень манолового діальдегіду перевищував контрольні показники на 38,8% та 21,1% (табл. 1).

Активність супероксиддисмутази при цьому в передміхуровій залозі та сироватці крові достовірно посилювалась і переважали значення контролю на 40,6%; 41,5% при цьому показник активності каталази у передміхуровій залозі і

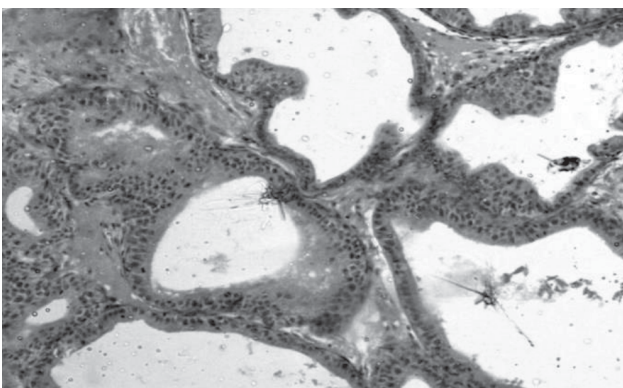


Рис. 3. Передміхурова залоза щура. 7-й місяць моделювання ПН. Розширені просвіти залоз, з великими епітеліальними «подушками». Залози з однорядним кубічним епітелієм збільшеної висоти. Забарв.: гематоксилін-еозин. Збільш. $\times 200$

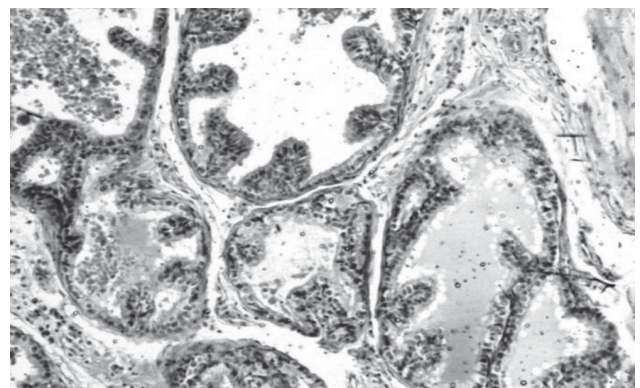


Рис. 4. Передміхурова залоза щура. 8-й місяць моделювання ПН. Численні грибоподібні сосочки (папіломи) на стінках залоз. Форма сосочків: грибоподібна та гострокінцева. Порушення структури залоз. Забарв.: гематоксилін-еозин. Збільш. $\times 200$

Вміст дієнових кон'югатів у передміхуровій залозі та сироватці крові після місячного курсу введення синестролу та рівень манолового діальдегіду порівняно з показниками контролю

Вік тварин (міс.)	Передміхурова залоза				Сироватка крові			
	ДК нмоль/г	ДК контроль нмоль/г	МДА нмоль/г	МДА контроль нмоль/г	ДК нмоль/г	ДК контроль нмоль/г	МДА нмоль/г	МДА контроль нмоль/г
3 міс.	—	12,3±0,26	—	16,4±0,43	—	3,8±0,06	—	6,2±0,07
4 міс.	16,7 ±1,3	13,3±0,75	23,1±1,8	18,0±0,98	5,2±0,6	4,1±0,26	7,5±0,4	6,8±0,33
5 міс.	18,0±1,4	13,0±0,88	24,7±1,5	17,8±0,82	5,5±0,4	4,0±0,42	8,3±0,6	6,8±0,47
6 міс.	21,1±1,8	13,2±0,66	26,4±2,0	17,5±0,82	5,8±0,7	3,9±0,31	9,3±0,3	6,9±0,32
7 міс.	20,2±1,5	13,9±1,0	31,7±2,1	19,4±0,69	6,7±0,3	4,3±0,34	12,0±0,6	7,1±0,33
8 міс.	25,6±1,8	15,8±0,42	39,7±2,6	21,4±1,03	8,2±0,2	4,9±0,34	16,3±0,6	8,3±0,37
9 міс.	30,2±2,1	17,2±0,44	46,3±3,1	23,3±0,83	9,8±0,6	5,4±0,25	19,3±1,0	9,1±0,47
10 міс.	36,6±2,3	18,6±0,78	58,1±3,5	25,2±0,73	11,8±0,7	5,9±0,42	23,7±1,3	9,9±0,59
11 міс.	39,7±1,7	20,0±1,03	67,5±3,8	27,5±1,17	13,2±0,3	6,4±0,38	26,9±1,4	10,7±0,57

еритроцитах крові був вищим за контрольні показники на 52,1% і 55,6% відповідно. Коефіцієнт співвідношення СОД/ДК показали його співвідношення до тканини передміхурової залози 18,2, а для сироватки крові – 17,0. Зазначені факти свідчать про зсув рівноваги ПОЛ – АОС праворуч за рахунок більш інтенсивного посилення активності супероксиддисмутази. Подальші введення гормональних препаратів для формування ПІН від низького до високого ступенів підсилювали цю залежність, негативно віддзеркалюючись на макроорганізменному рівні. Після 8-місячного введення синестролу та тестостерону пропіонату для формування ПІН коефіцієнт співвідношення СОД/ДК у тканинах передміхурової залози дорівнював 1,0, а в сироватці крові – 0,7.

Стан активності СОД і каталази в тканині передміхурової залози та сироватці крові і

еритроцитах шурів, за умов експериментальної ПІН, представлено в табл. 2.

Таким чином, наведені факти свідчать про глибокі порушення в системі ПОЛ/АОС як на органному (передміхурова залоза), так і на організменному рівні (сироватка крові, еритроцити).

Вираженість змін та їх напрямок залежать від терміну формування ПІН (низький та високий ступені ПІН) і введення гормонів.

Результати біохімічних досліджень підтверджують та відповідають тим основним змінам у структурі передміхурової залози, що зберігаються в кожному з чотирьох періодів морфологічних змін на шляху формування ПІН.

Пошук фармакологічних засобів з метою корекції метаболічних змін за умов неоплазії різного походження є важливим завданням онкоурології.

Таблиця 2

Стан активності СОД і каталази в тканині передміхурової залози та сироватці крові і еритроцитах шурів, за умов експериментальної ПІН

Вік тварин (міс.)	Передміхурова залоза				Сироватка крові			
	СОД у.о./г	СОД контроль у.о./г	Каталаза м.о./г	Каталаза контроль м.о./г	СОД у.о./г	СОД контроль у.о./г	Каталаза м.о./г	Каталаза контроль м.о./г
3 міс.	-	167,2±12,1	-	14,6±0,4	-	46,7±3,2	-	2,1±0,12
4 міс.	207,0±19,1	164,8±7,6	19,2±3,8	14,5±0,7	60,9±7,3	47,3±1,8	2,9±0,1	2,18±0,3
5 міс.	236,5±29,3	168,2±3,7	21,6±2,9	14,2±0,7	67,9±5,1	48,0±2,6	3,5±0,4	2,25±0,3
6 міс.	187,1±15,7	169,5±5,5	17,0±1,4	15,1±0,9	51,0±6,1	47,0±2,4	2,2±0,4	2,13±0,3
7 міс.	136,3±11,9	150,8±3,5	11,7±2,5	12,8±1,1	36,4±6,9	41,7±2,1	2,1±0,2	2,27±0,3
8 міс.	108,7±17,6	134,7±2,5	9,5±1,6	11,3±0,9	28,3±5,1	36,6±2,0	1,3±0,3	1,58±0,2
9 міс.	81,9±8,1	116,9±4,6	7,4±0,7	10,1±1,1	19,2±0,6	29,7±1,7	0,96±0,04	1,40±0,2
10 міс.	57,8±5,3	100,7±6,1	4,8±0,4	9,2±1,0	13,3±2,6	26,0±2,1	0,63±0,1	1,18±0,2
11 міс.	40,3±4,9	97,5±3,7	3,3±0,2	8,2±1,3	9,2±0,9	23,4±2,4	0,45±0,09	1,09±0,2

Враховуючи умови моделювання ПІН з поперемінним введенням синестролу та тестостерону пропіонату, нами в експериментальному лікуванні ПІН запроваджено рослинного походження харчову добавку ЕКСО – ізофлованоїд сої. Кафедра урології та нефрології є учасником дослідження ефективності даного лікарського засобу в клінічному застосуванні у жінок в період клімактерію при розладах сечовипускання. Деякі наші дослідження підтвердили його антиоксидантну дію, пов'язану з посиленням активності антиоксидантних ферментів, інгібуючу дію на ангіогенез, що розцінюється як перспективний шлях до цитотоксичної терапії онкологічних захворювань нетоксичним рослинним засобом, що є фітоестрогеном, має дозвіл на застосування в клінічній практиці, розроблений «НПО Одеська біотехнологія» ТУ У013903778-66-98 від 30.07.1998 року, термін дії продовжено до 31.12.2018 року.

Нами вивчено вплив ЕКСО на ПОЛ у крові та передміхуровій залозі і стан антиоксидантного захисту.

Проведені також морфологічні дослідження впливу ЕКСО в якості запобіжної дії до утворення ПІН та вплив захисту на перебіг вже сформованої ПІН для подальшого обґрунтування патогенетичного лікування ПІН як передраку передміхурової залози, що моделюється в експерименті (табл. 3).

Використання ЕКСО сприяло зниженню вмісту ДК у тканині передміхурової залози і сироватці крові на 98,5%; 97,4% відповідно; статично достовірно знижувався МДА на 32,2% і 21,5% відповідно, що по відношенню до контролю дорівнювало 102,3%; 105,8%.

Активність супероксиддисмутази та каталази в передміхуровій залозі під впливом ко-

рекції ЕКСО також відновлювалась до показників одновікового контролю, активність каталази – до фізіологічного рівня також (табл. 4).

Коефіцієнт співвідношення СОД/ДК у передміхуровій тканині у даної групи тварин дорівнював 13,2, а в сироватці крові 12,9, що відповідає фізіологічним показникам.

Наведені факти свідчать, що використання фітоестрогену ЕКСО протягом чотирьох місяців призначення значною мірою ослаблює формування ПІН, а тривале використання засобу (8 міс.) здатне гальмувати розвиток інволютивних змін в організмі, зокрема формування ПІН в передміхуровій залозі. Використання ЕКСО на тлі поперемінного введення синестролу та тестостерону пропіонату запобігало розвитку експериментальної ПІН (рис. 5).

Згідно з результатами обстеження 70 хворих на ДГПЗ, об'єм передміхурової залози становив від 25,1 до 145,0 см³ (у середньому 81,5±9,2). Показники загального ПСА перебували в межах від 0,9 до 10,5 нг/мл (у середньому 3,20±1,93) вільного ПСА від 0,41 до 3,15 нг/мл (у середньому 1,24±0,17). ПІН була виявлена у 24 (34,3%) хворих на ДГПЗ, з яких у 6 (8,6%) – ПІН високого ступеня, а у 18 (25,7%) – ПІН низького ступеня.

Мікроскопією препаратів із передміхурової залози встановлені в переважній більшості варіанти аденомофіброзної гіперплазії.

Молекулярно-генетичні властивості такого передракового стану як ПІН вивчені нами у 76 хворих ДГПЗ.

Середній вік хворих склав 68,4 року (49;84), медіана рівня ПСА – 11,4 нг/мл (0,6; 88,8), середній об'єм передміхурової залози склав 75±33,2 мл.

Таблиця 3

Морфологічні дослідження впливу ЕКСО в якості запобіжної дії до утворення ПІН та вплив захисту на перебіг вже сформованої ПІН для подальшого обґрунтування для патогенетичного лікування ПІН як передраку передміхурової залози

Вік тварин (міс.)	Передміхурова залоза				Сироватка крові			
	ДК нмоль/г	ДК контроль нмоль/г	МДА нмоль/г	МДА контроль нмоль/г	ДК нмоль/г	ДК контроль нмоль/г	МДА нмоль/г	МДА контроль нмоль/г
4 міс.	15,8 ±1,9	12,4±1,5	22,8±1,6	17,4±2,0	4,9±0,3	4,1±0,7	7,3±0,3	7,0±1,2
5 міс.	13,4±1,6	11,8±1,6	18,1±1,7	16,2±1,9	4,2±0,7	3,9±0,7	6,8±0,6	6,5±0,8
6 міс.	13,0±1,4	12,2±1,6	17,9±2,4	16,5±2,2	3,8±0,8	3,7±0,6	7,3±0,9	6,7±0,8
7 міс.	16,1±2,3	11,4±1,3	23,0±2,3	16,2±1,5	5,0±0,9	3,8±0,6	8,4±0,2	6,0±0,8
8 міс.	19,5±2,5	12,7±1,5	27,1±2,8	18,2±2,6	6,3±0,7	4,0±0,8	10,7±1,4	6,9±0,7
9 міс.	22,4±2,3	18,9±2,6	31,1±2,4	26,2±1,8	7,3±0,6	6,2±0,8	12,5±1,3	10,7±1,5
10 міс.	24,8±2,9	20,9±1,7	34,0±3,5	28,6±2,3	8,0±1,2	6,8±1,2	13,7±1,3	11,5±1,8

Активність супероксиддисмутази та каталази в передміхуровій залозі під впливом корекції ЕКСО

Вік тварин (міс.)	Передміхурова залоза				Сироватка крові			
	СОД у.о./г	СОД контроль у.о./г	Каталаза м.о./г	Каталаза контроль м.о./г	СОД у.о./г	СОД контроль у.о./г	Каталаза м.о./г	Каталаза контроль м.о./г
4 міс.	190,1±27,3	175,8±19,3	18,7±1,1	15,3±2,5	59,5±3,5	51,5±7,1	2,8±0,3	2,4±0,7
5 міс.	169,0±9,5	172,9±23,8	15,1±1,9	15,0±3,4	49,1±3,2	51,5±6,6	2,3±0,16	2,35±0,7
6 міс.	172,2±6,3	175,1±18,9	15,2±1,3	15,7±1,9	49,0±5,8	50,1±4,2	2,27±0,16	2,2±0,5
7 міс.	166,8±11,9	178,8±22,4	14,4±2,3	15,3±2,8	47,3±3,9	49,8±6,4	2,5±0,6	2,7±0,6
8 міс.	120,9±4,5	161,1±12,7	10,2±1,2	14,2±2,1	30,9±2,6	45,5±6,1	1,4±0,3	1,96±0,5
9 міс.	94,1±6,4	152,1±14,7	8,6±1,1	13,0±1,2	24,4±2,9	39,0±4,7	1,2±0,3	1,8±0,4
10 міс.	82,2±3,7	113,3±10,4	7,8±0,6	10,6±1,4	21,2±3,1	30,4±4,5	0,98±0,2	1,4±0,3
11 міс.	77,5±3,7	87,9±8,5	6,4±0,7	8,1±1,1	18,2±1,7	23,7±3,2	0,85±0,1	1,1±0,3

Предметом дослідження було метилювання промоторної області генів супресорів пухлинного росту *GSTP1*, *APC* і *RAR1*.

Дослідження зразків доброякісної гіперплазії, представлені аденоматозно-стромальною формою, виявило більш високу частоту метилювання і його рівня у хворих після МФБ простати. Це пояснюється тим, що більша частина біоптатів (75,6%) представлена периферичною зоною залози. У свою чергу 87,5% цих зразків містять ПІН та атипову дрібноацинарну проліферацію. Для біоптатів ДГПЗ в поєднанні з ПІН та атиповою дрібноацинарною проліферацією характерний більш високий рівень метилювання промоторної області на відміну від рівня ПСА (табл. 5).

Зразки ДГПЗ, що містять ПІН та атипову дрібноацинарну проліферацію, відрізняються

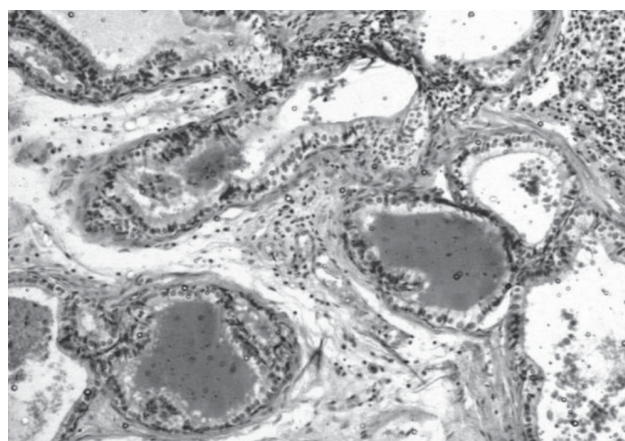


Рис. 5. Передміхурова залоза щура. 8-й місяць моделювання ПН з одночасним введенням ЕКСО. Невеликі за розмірами залозисті структури з хаотичним розташуванням епітеліоцитів, з темними, дрібними ядрами. Забарв.: гематоксилін-еозин. Збільш. × 200

Рівень метилювання в зразках з різною гістологічною будовою

Вид патології	Середнє значення			
	ПСА, нг/мл	<i>GSTP1</i> , %	<i>APC</i> , %	<i>RARB</i> , %
ДГПЗ у поєднанні з ASAP	11	1,26	1,52	0,13
ДГПЗ у поєднанні з ПІН	11,3	2,95	2,98	1,1
ДГПЗ	11,5	0,71	0,75	0,13

більш високим рівнем метилювання в порівнянні зі зразками ДГПЗ без таких.

Беручи до уваги, що метилювання характерно для пухлинного процесу, можна зробити висновок, що за комплексом молекулярно-генетичних ознак ПІН та атипова дрібноацинарна проліферація відрізняються від типової ДГПЗ і мають молекулярно-генетичні ознаки злоякісної пухлини.

Висновки

1. Простатична інтраепітеліальна неоплазія виявлена у 34,3% хворих на доброякісну гіперплазію передміхурової залози; у тканинах передміхурової залози переважав аденомофіброзний варіант гіперплазії.

2. Молекулярно-генетичні ознаки ПІН та атипової дрібноацинарної проліферації відрізняються від типової доброякісної гіперплазії і ма-

ють молекулярно-генетичні ознаки злоякісного процесу.

3. Патогенез простатичної інтраепітеліальної неоплазії, що обґрунтований морфологічно, оцінкою метаболізму ферментів прооксидантного впливу та

антиоксидантного захисту, станом метилювання промоторної області генів GSTP1, APC і RAR1 указує, що ПІН є передраком, який має молекулярно-генетичні ознаки злоякісної пухлини та потребує активного спостереження і лікування.

Список літератури

1. Возианов А.Ф. Принципы медикаментозной терапии рака предстательной железы: пособ. для врачей / А.Ф. Возианов, А.Г. Резников, И.А. Клименко, — К., 2003. — 36 с.
2. Вайсман Н.Я. Неожиданные эффекты генов — супрессоров опухоли в онтогенезе дрожозифили / Н.Я. Вайсман // Журнал общей биологии. — 2013. — Т. 74, № 2. — С. 83–98.
3. Григоренко В.Н. Эпидемиологические аспекты и организация скрининга рака предстательной железы в Украине / В.Н. Григоренко, В.С. Сакало, И.А. Клименко // Урология. — 2005. — № 2. — С. 59–62.
4. Гурина Л.И. Сравнительная характеристика диагностической значимости методов обследования пациентов с подозрением на злокачественные новообразования предстательной железы / Л.И. Гурина, Л.Ф. Писарева, Г.Н. Алексеева, В.Э. Рознер // Тихоокеанский медицинский журнал. — 2011. — № 3. — С. 48–50.
5. Красилюк Л.І. Діагностика, лікувальна тактика при простатичній інтраепітеліальній неоплазії та її зв'язок з раком передміхурової залози: Л.І. Красилюк канд. мед. наук: 14.01.06. / Л.І. Красилюк, 2010. — 21 с.
6. Левицкий А.П. Фитоэстрогены (биохимия, фармакология, применение в медицине) / А.П. Левицкий, О.А. Макаренко, О.И. Сукманский. — Одесса: Моряк, 2002. — 95 с.
7. Лихтенштейн А.В. Метилование ДНК и канцерогенез / А.В. Лихтенштейн, Н.П. Киселева // Биохимия. — 2001. — № 66. — С. 293–317.
8. Матвеев Б.П. Рак предстательной железы / Б.П. Матвеев, Б.В. Бухаркин, В.Б. Матвеев. — М., 1999. — 153 с.
9. Пасечников С.П. Генетические аспекты рака предстательной железы / С.П. Пасечников, А.Е. Юрах // Здоровье мужчины. — 2002. — № 3. — С. 64–69.
10. Романенко А.М. Некоторые иммуногистохимические маркеры предрака и различных вариантов рака предстательной железы / А.М. Романенко, Л.Р. Воробьева // Архив патологии. — 1995. — № 4. — С. 38–41.
11. Романенко А.М. Доброякісна гіперплазія передміхурової залози, передрак та рак передміхурової залози: сучасні гістологічні класифікації та імуногістохімічні характеристики / А.М. Романенко, Л.Б. Забарко, В.М. Непомнящий // Урология. — 2002. — № 4. — С. 5–10.
12. Топузов М.Э. Плотность простатспецифического антигена транзитной зоны как ранний предиктор рака предстательной железы / М.Э. Топузов, А.В. Живов, А.Ю. Плеханов, А.Е. Прялухин // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. — 2008. — № 6. — С. 119–121.
13. Трапезникова М. Ф. Фактор роста эндотелия сосудов у больных раком и доброкачественной гиперплазией предстательной железы / М.Ф. Трапезникова, А.Н. Шибяев, И.А. Казанцева и др. // Вестник Российской Академии медицинских наук. — 2005. — № 5. — С. 14–16.
14. Чиссов В. И. Опухолеассоциированные маркеры в скрининговых программах по выявлению злокачественных новообразований: реальность и перспективы / В.И. Чиссов, Н.С. Сергеева, М.П. Мишунина, Н.В. Маршутина // Молекулярная медицина. — 2006. — № 1. — С. 3–11.
15. Baylin S.B. A Decade of Exploring the Cancer Epigenome Biological and Transitional Implications / S.B. Baylin, P.A. Jones // Nature Reviews Cancer. — 2011. — V. 11, N 10. — P. 726–734.
16. De Marzo A.M. Proliferative inflammatory atrophy of the prostate. Implication for prostatic cancerogenesis / A.M. De Marzo, V.L. Marchi, J.I. Epstein, W.G. Nelson // Am. J. Pathol. — 1999. — V. 155. — P. 1985–1992.
17. Goering W. DNA methylation changes in prostate cancer / W. Goering, M. Kloth, W.A. Schulz // Methods Mol. Biol. — 2012. — V. 863. — P. 47–66.
18. Gronberg H. Inflammation in prostate carcinogenesis / H. Gronberg, C.G. Drake, Y. Nakai et al. // Nature Publishing Group. — 2007. — V. 7. — P. 256–269.

19. Hofseth L.J. Nitric oxide-induced cellular stress and p53 activation in chronic inflammation / L.J. Hofseth, S. Saito, S.P. Hussain et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2003. – V. 100. – P. 143–148.
20. Littrup P.J. Imaging and prostatic cancer chemoprevention: current diagnosis and future directions / P.J. Littrup // *Urology.* – 2001. – V. 57. – P. 121–123.
21. Mahapatra S. Global methylation profiling for risk prediction of prostate cancer / S. Mahapatra, E.W. Kilee, C.Y. Young et al. // *Clin. Cancer Res.* – 2012. – V. 18, N 10. – P. 2882–2895.
22. Lippolis G. A high-density tissue microarray from patients with clinically localized prostate cancer reveals ERG and TATI exclusivity in tumor cells / G. Lippolis, A. Edsjo, U.H. Stenman, A. Bjartell // *Prost. Cancer Prostatic Dis.* – 2013. – V. 16, N 2. – P. 145–150.
23. Mc. Cormic D.L., K.V.V. Rao // *Eur. Urology.* – 1999. – V. 35. – P. 457–464.
24. Maeda H. Nitric oxide and oxygen radical in infection, inflammation, and cancer / H. Maeda, H. Akaike // *Biochemistry (Mosc).* – 1998. – N 63. – P. 854–858.

Реферат

ПИН – ПРЕДРАК ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ МОНИТОРИНГА БОЛЬНЫХ

Ф.И. Костев, Л.И. Красилюк,
Р.В. Бахчиев, Д.А. Кузнецов,
А.В. Руденко

При исследовании уделено значительное внимание определению особенностей развития предраковых состояний и ранних стадий канцерогенеза рака предстательной железы среди патологических вариантов изменения эпителия предстательной железы, которые рассматриваются как паранеопластический процесс, выделяют пролиферативную заживательную атрофию (ПЗА) и простатическую интраэпителиальную неоплазию (ПИН).

Построена экспериментальная модель на 159 крысах-самцах линии Вистар трехмесячного возраста, массой 150 ± 20 г, которые содержались в стандартных условиях лаборатории биологической клиники Одесского национального медицинского университета. Экспериментальная модель ПИН является оригинальной, разработанной нами, защищена патентом на изобретение (Бюл. № 20 от 27/10/2008) и состоит в попеременном подкожном введении гормональных препаратов синестрола и тестостерона пропионата. Синестрол вводили по 40 мг/кг в неделю в течение 1-го, 2-го, 3-го и 6-го месяцев от начала эксперимента. Тестостерона пропионат вводили по 150 мг/кг в течение 4-го, 5-го, 7-го и 8-го месяцев.

В группах животных были исследованы концентрация продуктов липопероксидации (малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты), активность ферментов антиоксидантной защиты

Summary

PIN – PRECANCEROUS PROSTATIC DISEASE, PATHOGENETIC SUBSTANTIATION OF PATIENTS MONITORING

F.I. Kostyev, L.I. Krasilyuk,
R.V. Bakhchiev, D.A. Kuznietsov,
A.V. Rudenko

A large attention is given to the study of certain features of the precancerous and early stages of carcinogenesis in prostate cancer. The proliferative inflammatory atrophy (PIA) and prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) are considered as preneoplastic process characterized by pathological changes in the epithelium of prostate gland.

The success and effectiveness of the treatment are depended on the on the timely performed complex of diagnostic procedures. The early diagnosis and timely treatment are the most effective way to reduce the morbidity and mortality from prostate cancer. The experimental model was built on 159 male Wistar rats with age 3 month, weight 150 ± 20 g, which were kept in standard laboratory biological clinics Odessa National Medical University.

Experimental PIN model is original, developed by us and protected by a patent for an invention (pat. № 20 of 27/10/2008) and performed by subcutaneous injection of sinestrol and testosterone propionate hormones. Sinestrol had injected by 40 mg/kg per week for 1,2,3 and 6 months from the start of the experiment. Testosterone propionate had administered by 150 mg/kg for 4,5,7 and 8th months.

The concentration of lipid peroxidation products (malonic dialdehyde, diene conjugates), the activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase) in the blood and tissues of the prostate were studied in groups of animals. The phytoestrogen – EKSО in dose 0.2 mg/kg daily

(супероксиддисмутаза, каталаза) в крови и тканях предстательной железы. Группе животных для выявления возможностей предотвращения мероприятия в развитии ПИН вводили внутримышечно фитоэстроген – ЭКСО из расчета 0,2 мг/кг в день в течение 8 месяцев. Роль генетического мониторинга в дифференцировании ПИН при доброкачественной гиперплазии предстательной железы выявлена на основе анализа уровней метилирования промоторной области генов APC, GSTP1, RAR α , что позволило оценить роль ПИН, как предрака предстательной железы, и направить методику наблюдения больных.

Результатами морфологических изменений установлены четыре основных периода структурных сдвигов. Наблюдались постепенное усиление процессов липопероксидации, смещение равновесия в процессах перекисного окисления липидов – нарушение антиоксидантной защиты, повышающие снижение ферментов звена антиоксидантной защиты. Дальнейшее введение гормональных препаратов для формирования ПИН от низкой к высокой степени усиливали эту зависимость, негативно отражаясь на макроорганизменном уровне.

Проведены также морфологические исследования влияния ЭКСО в качестве предупреждающих действий к образованию ПИН и защиты на ход уже сложившейся ПИН для дальнейшего обоснования для патогенетического лечения ПИН как предрака предстательной железы, которое моделируется в эксперименте. Использование ЭКСО способствовало снижению содержания ДК в ткани предстательной железы и сыворотке крови на 98,5%; 97,4% соответственно статически достоверно снижался МДА на 32,2% и 21,5% соответственно, что по отношению к контролю равнялось 102,3%; 105,8%.

Приведенные факты свидетельствуют, что использование фитоэстрогенов ЭКСО в течение 4 месяцев назначения в значительной степени ослабляет формирование ПИН, а длительное использование средства способно тормозить развитие инволютивных изменений в организме, в частности в предстательной железе. Использование ЭКСО на фоне попеременного введения синестрола и тестостерона пропионата предотвращало развитие экспериментальной ПИН. Молекулярно-генетические свойства такого предракового состояния как ПИН изучены нами в 76 больных ДГПЖ. Предметом исследования было метилирование промоторной области генов супрессоров опухолевого роста GSTP1, APC и RAR α . Таким образом, образцы ДГПЖ, содер-

for 8 months was injected intramuscularly to a group of animals to identify opportunities for prevention in the event PIN. The role of genetic monitoring of PIN differentiation in benign prostatic hyperplasia detected by analyzing methylation levels of promoter region of gene APC, GSTP1, RAR α , that made it possible to assess the role of PIN as precancer of prostate and guide the method of patients observation.

The results of morphological changes had four main periods of structural changes. There was a gradual increase of lipid peroxidation, the shift in the balance of lipid peroxidation – antioxidant protection violations that increase the reduction level of antioxidant enzymes. The subsequent injection of hormones for creation of PIN from a low to a high degree intensified such dependence on macro organic level.

The morphological studies of the ECSO effect performed as a preventive action of the PIN formation and protection influence on the course with already formed the PIN for further justification and for pathogenetic treatment of precancerous PIN as prostate cancer that was modeled in the experiment. Thus the using of ECSO promoted the reduction the DC content in the tissue of the prostate gland and blood serum to 98.5%; 97.4% The MDA was significant statically decreased to 32.2% and 21.5% that was equal against to the control with 102.3%; 105.8%.

Thus given facts demonstrate that the phytoestrogen ECSO reduces greatly the formation of PIN within 4 months of the administration. Meanwhile its prolonged using is capable to inhibit the development of involutinal changes in the body, particularly in the prostate gland. The ECSO using with such moderated injection of sinestrol and testosterone propionate was prevented to development experimental PIN. The molecular genetics properties such as precancerous PIN were studied in 76 patients with BPH.

The methylation promoter area of tumor growth suppressor gene GSTP1, APC and RAR α , was the subjects of study. Thus BPH samples containing PIN and atypical proliferation differs with higher level of methylation compared with samples of BPH without them.

Keywords: Methylation, PSA, PIN, AOS, markers GSTP1, APC, RAR α , BPH, prostate cancer.

жашіе ПИН і атипичную мелкоацнарную проліферацію, вілічаюцца балее выскім рівнем метілірованія по сравненію с образцями ДГПЖ без таковых.

Ключевые слова: метілірованіе, ПСА, ПИН, АОС, маркеры GSTP1, APC, RAR1, ДГПЖ, рак предстательной железы.

Адреса для листування

Д.О. Кузнецов

E-mail: kuznetsovmake@gmail.com