



Медицински университет - Варна

„Проф. Д-р Параскев Стоянов”

Факултет „Медицина“

Катедра „Обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология“

Д-р Калин Петров Калчев

**ЕКСПРЕСИЯ НА МАРКЕР ЗА НЕКРОПТОЗА
RIP3 В СЛУЧАИ НА ПРОСТАТЕН КАРЦИНОМ**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен

„ДОКТОР“

Научен ръководител:

Проф. д-р Петър Иванов Генев, д.м.

Варна, 2020

Дисертационният труд е написан на 119 стандартни страници, от които на 14 стр. литературни източници. Онагледе е с 49 фигури и 25 таблици

Библиографската справка включва 162 заглавия, от които 8 на кирилица и 8 на български автори.

Публичната защита на дисертационния труд ще се проведе на 03.09.2020, четвъртък, в ч, пред научно жури в състав:

Външни членове:

1. Доц. д-р Екатерина Боянова Софтова, д.м.
2. Доц. д-р Илия Петров Биволарски, д.м.
3. Проф. Д-р Минко Господинов Минков, д.м.

Вътрешни членове:

1. Проф. Д-р Петър Иванов Генев, д.м.
2. Проф. Д-р Мария Ангелова Цанева, д.м.

Резервен външен член:

Доц. д-р Силвия Николаева Генова, д.м.

Резервен вътрешен член:

Проф. д-р Добринка Демирева Радойнова, д.м.н.

СЪДЪРЖАНИЕ

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ	3
УВОД	4
ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	5
МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ	5
РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ	10
Анализ на заболяемостта и смъртността при простатен карцином в световен, европейски и национален мащаб към 2018 г	10
Анализ на клинично-морфологичните характеристики на пациентите с простатен карцином	16
Анализ на преживяемостта на пациентите с простатен карцином във връзка с клинично-морфологичните параметри	22
Експресия на RIP3 в туморната и нетуморна тъкан във връзка с клинично-патологичните характеристики и преживяемостта на пациентите	27
Изследване на прогностичната стойност на експресията на маркера за некроптоза RIP3 за ниска преживяемост	31
Профил на пациентите с висок риск от настъпване на смърт	33
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	35
ИЗВОДИ	35
ПРИНОСИ	36
ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	36
КНИГОПИС	37

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

СЗО	Световна здравна организация
ХЕ	Хематоксилин и еозин
ECIS	European Cancer Information System
ISUP	International Society of Urologic Pathology
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
PIN	Високостепенна простатна интраепителна неоплазия
PSA	Простатен специфичен антиген
RIP3	Receptor-interacting protein kinase 3

УВОД

Простатният карцином е второто по-честота злокачествено заболяване и четвъртата най-честа причина за смърт от малигнени неоплазми при мъжете в света (GLOBOCAN, 2018). Все още неговата етиология остава неизяснена, но рискови фактори за появата му са напредналата възраст, етнически и генетични фактори, фамилност, хранителните навици, затлъстяването, физическата активност и фактори от околната среда (Rawla P, 2019).

Въпреки възможностите за ранна диагностика на карцинома на простатната жлеза чрез определяне нивото на простатния специфичен антиген (PSA) и дебелоиглената биопсия, не са редки случаите, когато той се открива късно и възможностите за хирургичното лечение са ограничени. Лечението и прогнозата на тумора се определят от хистологичния тип, степента му на диференциация по Gleason, вкл. Gleason score и прогностична група, TNM стадия, както и някои други морфологични характеристики с прогностично значение, като перинеуралната инвазия, съдовата инвазия, туморната некроза и др. (Караиванов М, 2019, Moch H et al, 2016, Humphrey PA et al, 2016). Оценката на простатния карцином, на базата на различните класификационни системи, осигурява необходимата информация за избора на подходящо лечение и по-точна прогноза за изхода от проведената терапия.

Прилаганите терапевтичните стратегии се основават на унищожаване на туморните клетки чрез индуциране на апоптоза, но някои тумори имат вродена или придобита резистентност към проапоптотични стимули. Чрез инициация на неапоптотична клетъчна смърт могат да се осигурят алтернативни пътища за отстраняване на устойчивите на апоптоза туморни клетки.

Освен основните форми на клетъчна смърт, като апоптоза, некроза и автофагия, в туморните клетки се срещат и други пътища на клетъчната смърт, некроптоза, фероптоза, ентоза, параптоза, митотична кастастрофа, аноиксис, метуоза и др. (Galluzzi L, Vitale I, 2018).

Некроптозата може да бъде задействана от същите лиганди и рецептори, които активират външния път на апоптозата, при инхибиране на каспазите и активиране на рецептор взаимодействията серин/треонин-протеин киназа 1 и 3 (RIP1 и RIP3) (Christofferson DE, Yuan J, 2010; Vandenabeele P et al, 2010; Han J et al, 2011; Galluzzi L et al, 2012).

Некроптозата, или регулираната некроза, може да възникне по RIP1 и RIP3 зависим начин, но тя може да се инициира и независимо от RIP1, което означава, че некроптозата винаги се асоциира с експресията на RIP3 (Galluzzi et al, 2012).

По-детайлното проучване на експресията на RIP3 при простатен карцином би допринесло не само до изясняване на прогностичната и предиктивна роля на протеина, но и до разкриване на нови сигнални пътища и създаване на нови терапевтични подходи.

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Цел

Да се анализира заболяемостта и смъртността при простатен карцином, да се направи оценка на експресията на маркера за некроптоза RIP3 в туморни биопсии във връзка с клинично-морфологичните показатели, както и да се определи прогностичната и предиктивната му стойност за пемивяемостта на пациентите.

Задачи

За постигане на целта определихме следните задачи:

1. Да се анализира заболяемостта и смъртността при простатен карцином в световен, европейски и национален мащаб към 2018 г.
2. Да се анализират клинично-морфологичните характеристики на пациентите с простатния карцином
3. Да се анализира общата пемивяемост на пациентите с простатен карцином във връзка с клинично-морфологичните параметри
4. Да се анализира експресията на RIP3 в туморната и нетуморна тъкан във връзката с клинично-патологичните характеристики и пемивяемостта на пациентите
5. Да се изследва прогностичната стойност на експресията на маркера за некроптоза RIP3 за ниска пемивяемост
6. Да се направи профил на пациентите с висок риск от настъпване на смърт

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ ЗА ИЗСЛЕДВАНЕ

Бази за реализиране на дисертационния труд

- Катедра по обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология, Факултет „Медицина“, Медицински университет – Варна
- Клиника по обща и клинична патология, УМБАЛ „Св. Марина“ ЕАД - Варна

Пациенти и характеристика на проучваните групи

В това проучване са включени биопсиите на общо 83 пациента, от които основна група от 73 пациента с диагноза простатен карцином, а 10 са контролна група без карцином.

От 73-мата пациенти от основната група, 36 са с ранен простатен карцином, а 37 са с авансирал карцином, с далечни метастази.

Десетте пациента от контролната група са с диагноза доброкачествена простатна хиперплазия. Те са използвани за оценка на експресията на RIP3 в бенигнени жлези и жлези с PIN, неасоциирани със злокачествен тумор.

Диагностиката и лечението на пациентите са проведени в УМБАЛ „Св.Марина“ – Варна. На всички пациенти е определена интензивността на ядрената експресия на RIP3.

Диагнозата и стадият на тумора са определени според 8-то издание на AJCC, на базата на хистологичното изследване.

Рутинни изследвания

Използвани са хистологични материали от готови парафинови блокчета от хистотеката на Клиниката по обща и клинична патология на УМБАЛ „Света Марина“- Варна, с поставена диагноза простатен карцином върху дебелоиглени биопсии, от радикални простатни резекции, и от трансуретрална резекция на простатата.

Извършена е повторна оценка на биопсиите, съгласно най-новите критерии за хистологична оценка на туморите на простатната жлеза. Подробно се анализирани хистологичните промени в участъците с туморна инфилтрация в простатния паренхим, органната капсула и перипростатните меки тъкани, както и хистологичните промени в перитуморния простатен паренхим.

Изследвани са всички лимфни възли, когато са били представени.

Биопсичните материали, постъпили в Клиниката по обща и клинична патология на УМБАЛ „Света Марина“- Варна, са фиксирани за минимум 24 ч в 10% неутрален формалин и са включени в парафин с точка на топене 52-54°C. За поставяне на морфологична диагноза са използвани хистологични срези с дебелина 4 µm, монтирани върху предметни стъкла и оцветени с хематоксилин и еозин.

За целите на това проучване са определени следните клиничко-морфологични параметри:

- Хистологичен тип на тумора

- Степен на диференциация по Gleason и Gleason скор
- Перинеурална инвазия
- Туморна некроза
- Високостепенна простатна интраепителна неоплазия
- Възпаление (простатит)
- TNM стадий
- Витален статус

Критерии за категоризиране на всеки клиничко-морфологичен параметър

Хистологичен тип на тумора. Хистологичната диагноза се базира на класификацията на СЗО за карцинома на простатната жлеза от 2016 година (Inamura K, 2016). В зависимост от хистологичната картина, карциномите се разпределиха в три групи:

- Ацинарни аденокарциноми без слузообразуване или невроендокринна диференциация
- Аденокарциноми със слузообразуване
- Карциноми с невроендокринна диференциация

Gleason score. Определянето на Gleason score се изпълни съгласно принципите, утвърдени на актуалния консенсус на ISUP от 2016 г, утвърден и от СЗО (Epstein JJ, 2018, Rao V et al, 2018). За материалите от радикалните простатни резекции се използва класическия Gleason скор, при който се сумират двете най-широко представени степени на диференциация по Gleason, докато за малките дебелоиглени и кюретажни материали се използва модифицирания Gleason скор, при който се събират стойностите на най-широко представената степен на диференциация по Gleason и най-високостепенната степен на диференциация по Gleason.

Перинеурална инвазия (ПНИ). За позитивна перинеурална инвазия се прие пълното или частично заобикаляне на нервните влакна в над 1/3 от обиколката им от туморни жлези, както и навлизането на неопластични жлези в нервните влакна, или преминаването им през тях. Отчетоха се две категории – присъствие или липса на ПНИ в изследвания материал.

Туморна некроза. За туморна некроза се приеха т.нар. комедонекрози: некротични клетки и клетъчни отломки (детрит) в лумена на туморни жлези, примесени с възпалителни клетки, предимно неутрофилни левкоцити. Отчетоха се две категории – присъствие или липса на туморна некроза в изследвания материал.

Високостепенна простатна интраепителна неоплазия (PIN). Като критерии за отчитане на PIN се приема дисплазията на простатните епителни клетки, проявена с многоредност на клетките в жлезния лумен, ядрена хиперхромазия и ясно различни нуклеоли в диспластичните клетки. Ако такива не се открият, простатната интраепителна неоплазия се приема за нискостепенна и не се отчита като PIN. Отчетоха се две категории – присъствие или липса на PIN в изследвания материал.

Възпаление. За възпаление се прие всяко групиране на възпалителни клетки в простатния паренхим, около и в простатните жлези. Изключение правят случаите с възпалителни клетки, основно неутрофилни левкоцити, в участъците с комедонекроза. Отчетоха се две категории – присъствие или липса на възпаление в изследвания материал.

TNM. Определянето на стадия по TNM класификацията се базира на актуалната 8-ма ревизия на AJCC за простатен карцином.

Стадият се определи хистологично в материалите от радикалните простатни резекции. В материалите от малки биопсии (дебелоиглени и ТУРП) се определи по клинични и образни данни.

- **T-стадий.** Туморите, при които не е направена радикална простатектомия, а карциномът е диагностициран само на трансуретрална резекция на простатата и заемат по-малко от 5% от туморния обем, се определят като T1a. Когато са в повече от 5%, се определят като T1b. Туморите, при които диагнозата е поставена само на дебелоиглена биопсия, се определят като T1c. Туморите от радикалните простатектомии, при които процесът е ограничен в анатомичните граници на простатната жлеза се приеха за pT2. За екстрапростатна екстензия се приеха сигурните хистологични белези за пробив на тумора през органната капсула, с присъствие на туморни жлези в перипростатните меки тъкани – мастна тъкан, гладка и напречно набраздена мускулатура, който се приема за стадий pT3a. За екстрапростатна екстензия се приеха също и хистологичните белези на инвазия в стената на семенните мехурчета, което се определя като стадий pT3b. Инвазията в съседните на простатната жлеза органи се приема за стадий pT4.

- **N-стадий.** Присъствието на метастази в регионалните лимфни възли в тазовия басейн се определя като N1, а липсата им като N0. Регионалният нодален статус се определи на хистологични материали от радикалните простатектомии при изследвани лимфни възли или от образните изследвания. При липса на хистологично изследване на лимфни възли или на клинични данни от образните изследвания, статусът на регионалните лимфни възли се определя като Nx. Туморите с неизвестен нодален статус (Nx) не се включиха в статистическата обработка на данните.

- **M-стадият** е определен само по клинични данни - от клиничната епикриза или от образни изследвания – костна сцинтиграфия, компютърна томография или позитронно-емисионна томография/компютърна томография (ПЕТ/КТ). При случаите с далечни метастази, стадият се определи като M1, при липсата на метастази като M0, а когато липсват клинични или образни данни данни като Mx. Туморите с неизвестен далечен метастатичен статус (Mx) не се включиха в статистическата обработка на данните. При образни данни за метастази само в нерегионални лимфни възли, стадият се определя като M1a. При костни

метастази, независимо дали има или няма метастази и в лимфните възли, стадият се определя като M1b, а когато има метастази във вътрешните органи, като черния дроб, бели дробове и др. стадият се определя като M1c, независимо дали са намерени метастази и в останалите метастатични локализации, като нерегионални лимфни възли или кости.

Витален статус. Направи се справка в болничните регистри за това дали пациентът е жив или починал. Взе се предвид датата на биопсията, когато е поставена първоначалната диагноза и се провери дали към края на петата година, пациентът все още е жив.

Специфични методи на изследване

Използван бе индиректен имунопероксидазен метод за имунохистохимичен анализ с помощта на **mini KIT high Ph DAKO K8024**.

Антителата, реактивите за оцветяване и използваните работни концентрации са представени в **таблици 9 и 10**. Използвани са следните антитела: **Anti-RIPK3**, с каталожен № **ab56164**. Антителата са производство на **ABCAM's RabMab technology**.

Негативни контроли: При негативните контроли, вместо първичното антитяло, срези от използваните парафинови блокчета се инкубират с нормален неимуноен серум.

За позитивни контроли са използвани тъкани от черен дроб, оцветени за Anti-RIPK3.

Подготовка на биопсичните материали за имунохистохимично изследване

От биопсичните материали, фиксирани в неутрален формалин и включени в парафинови блокчета, се приготвят срези с дебелина 4 µm, които се монтират върху силанизирани стъкла.

Депарафинирането се осъществява в низходяща редица от алкохолни концентрации, както следва: *Ethanol 100%* 3 минути, *Ethanol 90%* 3 минути, *Ethanol 80%* 3 минути, *Ethanol 70%* 3 минути, *Xylol* 3 x 10 минути. След това срезите се измиват с течаща вода и се поставят в дестилирана вода.

Антигенното разкриване се осъществява с предварително загрят до 65°C работен разтвор *En Vision FLEX Target Retrieval Solution* в *PT Link* контейнер. Срезите се инкубират за 20 минути при температура 97°C и pH 9. След охлаждане, пробите се промиват на стайна температура с измиващ буфер *FLEX Wash Buffer* (20x) за 1-5 минути.

Определяне на степента на експресия на RIP3 и интерпретация на резултатите

Имунохистохимичната експресия на RIP3 се оцени чрез използване на **H-score** (хистологичен скор). За всяка епителна клетка от различните типове жлези (туморни, с PIN и нетуморни) се определи интензитета на ядрената експресия, както следва:

- 0 при липса на ядрена експресия, ядрата са безцветни
- 1+ при слаба ядрена експресия - ядрата са светложълти до светлокафяви
- 2+ при умерена ядрена експресия - ядрата са светлокафяви
- 3+ при интензивна ядрена експресия - ядрата са тъмнокафяви

Определя се процентът на позитивните клетки за всеки отделен интензитет, като накрая **H-score** се изчислява по следната формула:

$$1x (\% \text{ клетки с } 1+) + 2x (\% \text{ клетки с } 2+) + 3x (\% \text{ клетки с } 3+)$$

Така изчислен, диапазонът на H-score варира от 0 до 300.

Статистически методи

Използвани са следните статистически методи за анализ на получените резултати:

- Дисперсионен анализ (ANOVA) за оценка доколко влиянието на даден фактор е статистически значим или не
- Вариационен анализ за изследване на количествените характеристики на показателите
- Корелационен анализ за оценка на зависимостта между изследваните показатели. Оценката на силата на зависимостта между променливите се базира на резултатите от коефициента на Пийърсън (r) и на Спийрман (p)
 - $0 < r(p) < 0,3$ – слаба корелация
 - $0,3 < r(p) < 0,5$ – умерена корелация
 - $0,5 < r(p) < 0,7$ – значителна корелация
 - $0,7 < r(p) < 0,9$ – висока корелация
 - $0,9 < r(p) < 1$ – много висока корелация
- Регресионен анализ за оценка на възможните функционални зависимости между изследваните показатели. Изследване на причинно-следствените връзки.
- ROC curve анализ за определяне на cut-off стойността, за тразграничаване на ниска и висока експресия на RIP3.
- Анализ на преживяемостта – Kaplan-Meier, Cox regression за изследване на преживяемостта на пациентите с простатен карцином според влиянието на ниската и високата експресия на антиятлото и изследваните клинично-патологични характеристики
- Прогностичен анализ – prognostic value:
 - Positive predictive value (PPV) за определяне на прогностичната стойност за настъпване на дадено положително събитие според конкретната извадка

PPV = Броя на истинските положителни отговори, разделен на сбора от (броя на

истинските положителни отговори + Броя на фалшиво положителните отговори)

○ Negative predictive value (NPV) за определяне на прогностичната стойност за настъпване на дадено отрицателно събитие според конкретната извадка

NPV = Броя на истинските отрицателни отговори разделен на сбора от (броя на истинските отрицателни отговори + броя на фалшиво отрицателните отговори)

➤ Сравнителен анализ (оценка на хипотези) - χ^2 , t-test, Student's за сравняване на количествени и качествени показатели и изследване на разликите между тях.

➤ Графичен и табличен метод на изобразяване на получените резултати. При всички проведени анализи се приема допустимо ниво на значимост $p < 0,05$, $p < 0,01$ и $p < 0,001$ при доверителен интервал 95%.

За обработка на данните е използван статистически софтуерен пакет – IBM SPSS for Windows, v.20.0.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Анализ на заболяемостта и смъртността при простатен карцином в световен, европейски и национален мащаб към 2018 г

Задълбоченият преглед на литературните данни за заболяемостта и смъртността от простатен карцином по отношение на географското местоположение, расата и етническата принадлежност на пациентите в световен, европейски и национален мащаб показва несъвместима, а в някои случаи и ненадеждна информация, поради различните начини на отчитане на информацията в различните страни. Въпреки това се очертават някои ясни тенденции за етническо и расово разпределение на простатния карцином.

По света. Според статистическата база данни на СЗО за злокачествените заболявания, GLOBOCAN, 2018, простатния карцином е второто най-често злокачествено заболяване при мъжете в световен мащаб, след белодробния карцином. Броят на починалите от простатен карцином през 2018 г е 358 989, което представлява 3,8% от всички смъртни случаи, причинени от злокачествени заболявания при мъжете (Rawla, 2019; Ferlay J et al, 2018; Bray F et al, 2018).

През 2018 г са отчетени 1 276 106 нови случая на простатен карцином, които представляват 7,1% от всички злокачествени заболявания при мъжете (Bray F et al, 2018).

Заболеваемостта от простатен карцином варира в широки граници в различните райони на света. Най-високата честота на простатния карцином се отчита в Австралия и Океания (79,1 случая на 100 000 мъже), и в Северна Америка (73,7/100 000), последвани от Европа (62,1/100 000), докато в Африка и Азия заболяемостта е по-ниска в сравнение от честотата ѝ в развитите страни, съответно 26,6 и 11,5/100 000 (Ferlay J et al, 2018). Разликите в заболяемостта достигат 190 пъти между популациите с най-висока честота (Франция и Гваделупе – 189/100 000) и популацията с най-ниска честота – 1/100 000 (Rawla P, 2019).

Както и заболяемостта, така и смъртността от простатен карцином варират в различните части на света. Най-висока за 2018 г е била смъртността в Централна Америка - 10,7/100 000 мъже, следвана от Австралия и Нова Зеландия – 10,2/100 000, Западна Европа – 10,1/100 000. Най-ниска смъртност е докладвана в Азия (3,3/100 000 в Южноцентрална, 4,7/100 000 в Източна и 5,4/100 000 в Югоизточна Азия) и в Северна Африка – 5,8/100 000 (Ferlay J et al, 2018).

Negoita et al, (2018) предоставят данни, показващи, че общата смъртност от простатен карцином се стабилизира от 2013 г до 2015 г (Negoita S et al, 2018). Смята се, че смъртността от простатен карцином е най-ниска в Азия и Северна Африка (Chu L et al, 2011).

Смъртността от простатен карцином нараства с възрастта, като **повече от 55% от смъртните случаи са на възраст над 65 г** (Ferlay J et al, 2018).

Въпреки по-високата честота в повечето западноевропейски страни, вкл. Финландия, Швеция, Португалия, Израел, Италия, Холандия, Норвегия и Франция, смъртността от простатен карцином там намалява (Baade PD et al, 2009). Причините за това не са съвсем ясни, но някои приемат, че това може да се дължи на по-ранната диагностика, както и на по-

навременното и по-качественото лечение (Jemal A et al, 2010). Hsing и Devesa (2001) обобщават, че отклоненията в заболеваемостта и смъртността, докладвани за много страни, вероятно се дължат на недостатъчната диагностика, липсата на адекватна система за регистрация на ракови болните, различия в скрининговите практики, различия в достъпа до здравни грижи, пропуски в знанията и информираността относно карцинома на простатната жлеза (Hsing A, Devesa S, 2001). Center M et al, (2012) твърдят, че тенденциите за смъртността от простатен карцином се влияят по-малко от диагностичните практики, отколкото от различията в лечението в световен мащаб, както и от действието на основните рискови фактори (Center M et al, 2012). В развиващите се страни, фактори като по-кратката продължителност на живота и евентуално по-ниската честота на разпространение на други рискови фактори, като хранителни навици, професионални и социално-икономически фактори, могат да помогнат да се обяснят някои от разликите в документираните статистически данни за мъже от африкански произход.

Например в Америка се забелязва отчетливо по-висока честота на простатния карцином при мъже от африкански произход, в сравнение с бели мъже, с разлика от 158,3/100 000, а смъртността при афроамериканците е приблизително двойно по-висока, отколкото при белите мъже. Този факт се отдава на разликите в социално-икономически и генетични фактори при представителите на двете раси (Rawla, 2019; Panigrahi G, 2019). Такава аномалия се наблюдава не само в Америка, но също така и при мъже от африкански и карибски произход в Европа, което се обяснява с техния общ генетичен произход (Rawla, 2019). От друга страна, Chu и съавт. (2011) съобщават за 40 пъти по-висока честота на простатния карцином сред афроамериканци, в сравнение с мъжете в Субсахарска Африка (Chu et al, 2011). Jemal и съавт. (2010), както и няколко други изследователи отбелязват, че мъжете в Африка имат най-високата честота на простатен карцином в света, като при тях има вероятност да развият карцином на простата във всяка възраст, а заболяването се развива по-рано, отколкото при мъжете от всички останали расови и етнически групи (Panigrahi GK et al, 2019, Jemal A et al, 2010). Съществуват големи и необясними различия по отношение честотата на диагностицираните случаи на карцином на простатната жлеза между страните от африканския континент. Най-висок процент на заболеваемост са регистрирани в Източна Африка, с честота от 10,7 до 38,1/100 000. При южноафриканските чернокожи мъже, честотата е между 14,3 и 21,8/100 000, а за западноафриканските страни степента е най-ниска - между 4,7 и 19,8/100 000. Несигурността относно различията в данните за заболеваемост и смъртност в Африка е проверена от A. Kambal през 1977 г. Той съобщава, че заболяванията на простатната жлеза почти не се срещат в Южен Судан, докато тези заболявания са често срещани в Северен и Централен Судан. Авторът съобщава, че честотата на простатния карцином в Зимбабве е 32 случая на 100 000 мъже, в Нигерия – 9,7 случая, в Сенегал – 4,4 случая, и 4,3 случая в Уганда. Честотата на простатния карцином при южноафриканските бели мъже е сходни с тази на британските мъже - приблизително 32,6 случая на 100 000 мъже (Kambal A, 1977).

Стойностите на заболеваемостта от простатен карцином варира в различните региони и популации (Ferlay J et al, 2018). DM. Parkin и съавт. (2003) отбелязват, че е трудно да се сравнят процентите на заболеваемост сред мъже от различни раси или да се сравняват процентите между различните страни поради различията в пътищата на откриване и събирането на данни. Например в САЩ, леталитетът при простатен карцином е значително по-висок при афроамериканците – 4,2%, срещу 2,9% за мъжете от латиноамерикански произход, 2,3% за белите мъже и 2,1% за мъжете от азиатски и тихоокеански произход (Negoita S et al, 2018). Тези непропорционални нива на заболеваемост и смъртност при афроамериканските мъже вероятно се коренят освен в споменатите по-горе генетични фактори и фактори на средата, но и в по-лошата им осведоменост и недоверие в медицината, което

може да повлияе на достъпа до медицинска помощ и събирането на данни за заболяването.

Тенденциите за заболяемост и смъртност от простатен карцином варират значително в международен план през изминалите години и са тясно свързани с използването на PSA скрининга за ранно откриване на заболяването, особено в западните страни (Taitt HE, 2018).

В Европа. Според M. Center et al, (2012), през последните години заболяемостта от простатен карцином нараства в четири от петте скандинавски страни (Дания, Исландия, Норвегия и Швеция), като най-голямо средно увеличение от 8,2% годишно се наблюдава в Дания от 1999 до 2008 г. Във Финландия, заболяемостта остава стабилна, докато в Литва и Латвия има рязко увеличение на честотата съответно с 16,4% и 10,9%. Подобно на Обединеното кралство, в Ирландия се наблюдава постоянна тенденция към увеличаване на заболяемостта от простатен карцином през последните 20 години (Center M et al, 2012).

В Западна Европа като цяло, броят на мъжете с диагноза карцином на простатата се увеличава. Това може да се дължи на увеличаване на опортюнистичния скрининг, но могат да бъдат включени и други фактори като диетата, ниската експозиция на ултравиолетови лъчи и недостиг на витамин D (Mottet N et al, 2017). По-специално, от средата на 90-те години в Австрия, Франция и Швейцария се наблюдава увеличение на заболяемостта от около 4-5% годишно. Заболяемостта в Холандия от 1999 до 2008 г остава стабилна (Mottet N et al, 2017).

Честотата на простатния карцином се увеличава бързо в България, Чехия, Унгария, Молдова, Румъния, Русия и Украйна. Най-голямо увеличение се наблюдава в Полша, която отбелязва ръст от 7,7% годишно (Center M et al, 2012).

Норвегия и Швеция показват значително понижение в смъртността, а тенденцията в Дания и Исландия е по-стабилна (Center M et al, 2012). Във Финландия смъртността намалява с приблизително 3,1% годишно от 2000 г. Въпреки нарастващата тенденция на заболяемост, наблюдавана в Ирландия, Литва и Латвия, смъртността в Ирландия намалява, като остава стабилна в Литва и в Латвия (Center M et al, 2012).

Смъртността от карцином на простата намалява в Австрия, Франция, Швейцария, Германия и Холандия, като най-голям годишен спад има в Австрия е 4.0 и най-малък в Германия и Холандия с 2.3 годишно (Center M et al, 2012).

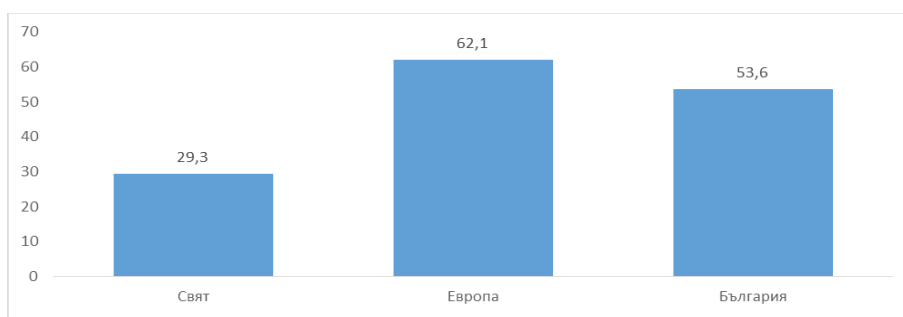
Смъртността в повечето страни от Централна и Източна Европа също се увеличава, като само Чехия и Унгария показват тенденции към спад от около 2,5% годишно от 2000 до 2009 г. (Center M et al, 2012).

В България. През 1997 г Л. Христова и съавт. правят опит да прогнозират заболяемостта от простатен карцином за периода 1968-2017 г. В тяхното изследване се съобщава за честота на простатния карцином от 7,91/100 000 за периода 1968-1972 г, 10,11/100 000 за периода 1988-1992 г и 10,90/100 000 за 1993-1997 г. Авторите съобщават за случаи на простатен карцином и при мъже под 45 г, които определят като случайни. Най-висока заболяемост наблюдават във възрастовата група 75-84 г. Въз основа на съществуващите данни, Христова и съавт. правят прогноза за заболяемостта от простатен карцином за периода 2013-2017 г, като определят прогнозна стойност от 15,0 нови случая на 100 000 мъже (Hristova L et al, 1997).

В България, простатният карцином се нарежда на четвърто място като причина за смърт при мъжете след сърдечно-съдовите заболявания, заболяванията на дихателната и храносмилателната системи, и злополуките, а от злокачествените заболявания е на трето място при мъжете, след белодробния и колоректалния карцином, с 30,6/100 000 мъже за 2018 г, което представлява 0,22% от всички причини за смърт и 10,38% от причините за смърт от злокачествени заболявания при мъжете (Национален статистически институт, <https://www.nsi.bg>).

Сравнение на заболеваемостта от простатен карцином в световен, европейски и национален мащаб

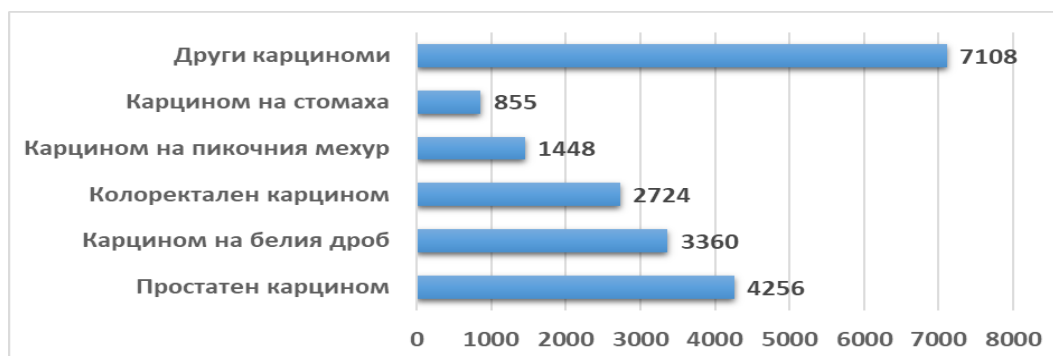
Заболеваемостта на 100 000 мъже в световен, европейски и национален мащаб е представена на **фигура 1**.



Фигура 1. Заболеваемост от простатен карцином на 100 000 мъже, за 2018 г

Заболеваемостта от простатен карцином в света за 2018 г (29,3/100 000), въпреки споменатата по-горе висока честота в Северна Америка (73,7/100 000) и още по-високата в Океания (79,1/100 000), като цяло са наполовина по-ниски от нивата в Европа (62,1/100 000) и в България (53,6/100 000), които не показват голяма разлика.

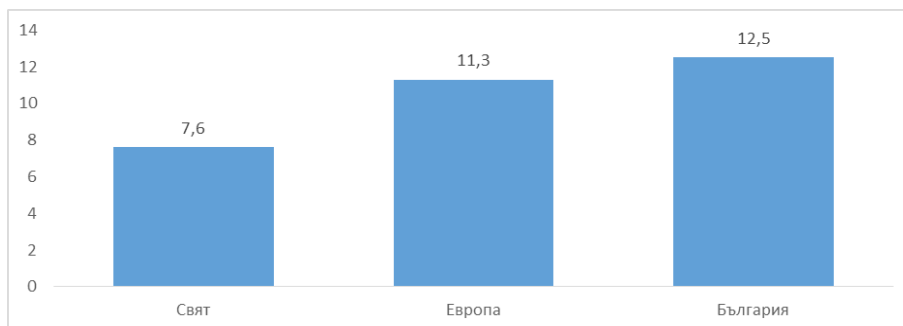
По данни на СЗО за 2018 г (GLOBOCAN, 2018), в България простатния карцином се подрежда на първо място по заболеваемост сред мъжете с 4 256 случая от общо 19 751 случая на злокачествени заболявания (**фигура 2**).



Фигура 2. Брой на новите случаи на простатен карцином при мъжете във всички възрастови групи в България (GLOBOCAN, 2018)

Сравнение на смъртността от простатен карцином в световен, европейски и национален мащаб

Смъртността на 100 000 мъже в световен, европейски и национален мащаб е представена на **фигура 3**.

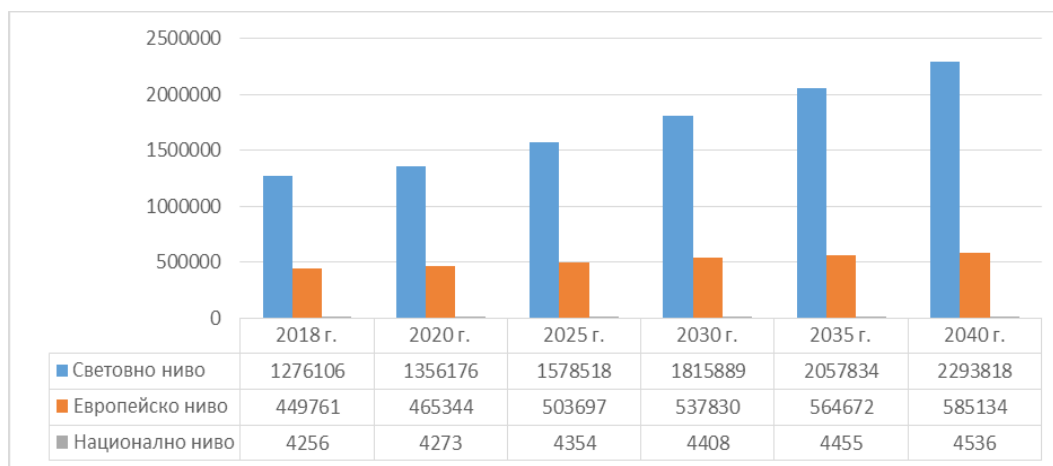


Фигура 3. Смъртност от простатен карцином на 100 000 мъже, за 2018 г

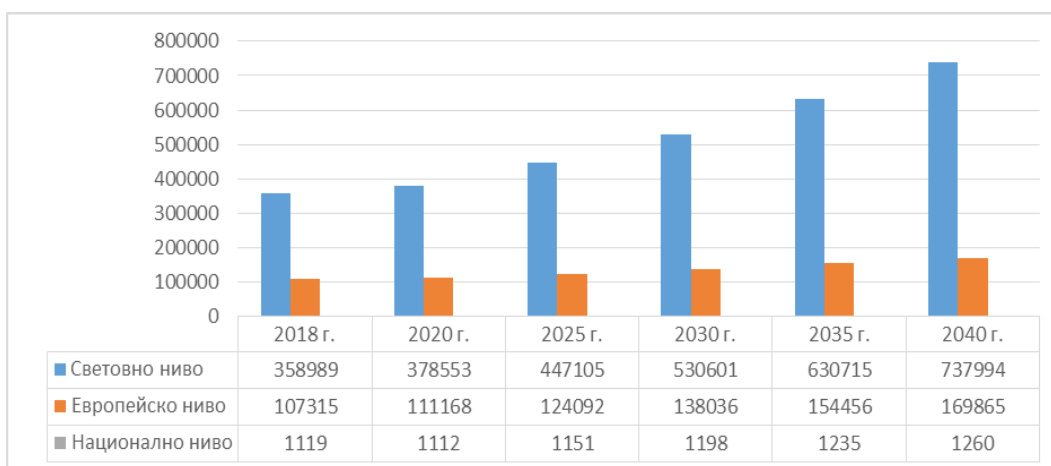
Смъртността от простатен карцином в света за 2018 г (7,6/100 000) е с около 1/3 по-ниска от нивата в Европа (11,3/100 000). В България (12,5/100 000), въпреки че е малко по-висока от европейската, смъртността е над два пъти по-ниска от най-високата смъртност за 2018 г, докладвана в Южна Африка (26,8/100 000) и се движи около нивата за Централна и Източна Европа (13,5/100 000) (Ferlay J et al, 2018).

Прогнозна заболеваемост и смъртност за периода 2018-2040 г

На **фигури 4 и 5** са представени прогнозните стойности на заболеваемостта и смъртността от простатен карцином в световен, европейски и национален мащаб за периода от 2018 до 2040 г.



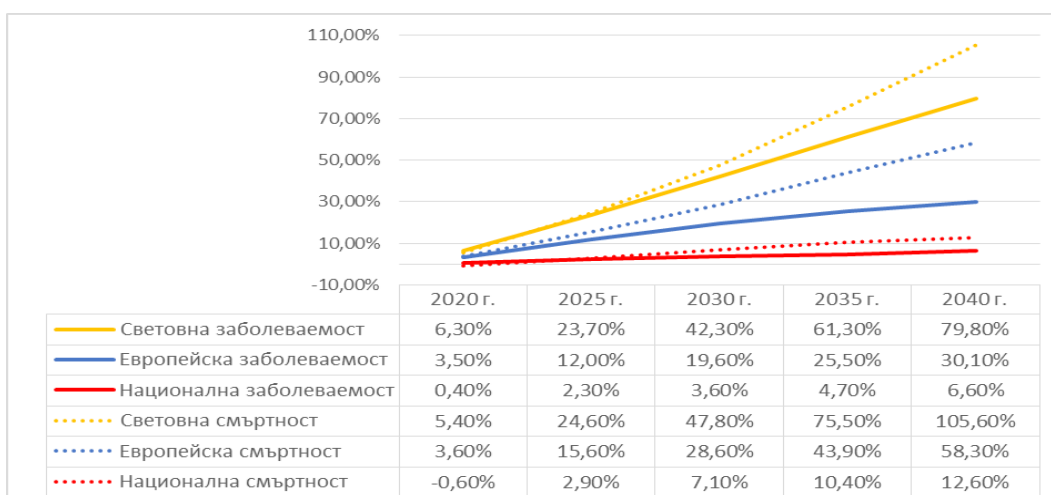
Фигура 4. Прогнозна заболеваемост при простатен карцином за периода 2018 – 2040 г.
(www.gco.iarc.fr)



Фигура 5. Прогнозна смъртност при простатен карцином за периода 2018-2040 г (www.gco.iarc.fr)

Резултатите от анализа показват постоянна тенденция към нарастване на броя на новооткритите случаи на простатен карцином и броя на починалите в световен мащаб, докато на европейско и национално ниво се установява по-плавно увеличение. Увеличението корелира тясно с увеличаването на използването на PSA скрининга в клиничната практика, за ранно откриване на заболяването (Taitt H, 2018).

На **фигура 6** са представени прогнозните изменения в заболяемостта и смъртността в световен, европейски и национален мащаб за периода 2020-2040 г.



Фигура 6. Изменение в прогнозните заболяемост и смъртност от простатен карцином на световно, европейско и национално ниво за периода 2020-2040 г (GLOBOCAN, 2018)

Резултатите представени на **фигура 16** показват, че в световен мащаб прогнозната заболяемост от простатен карцином през 2040 г се очаква да се увеличи със 79,8% спрямо 2018 г, докато смъртността ще се увеличи повече от два пъти - със 105,6 % спрямо

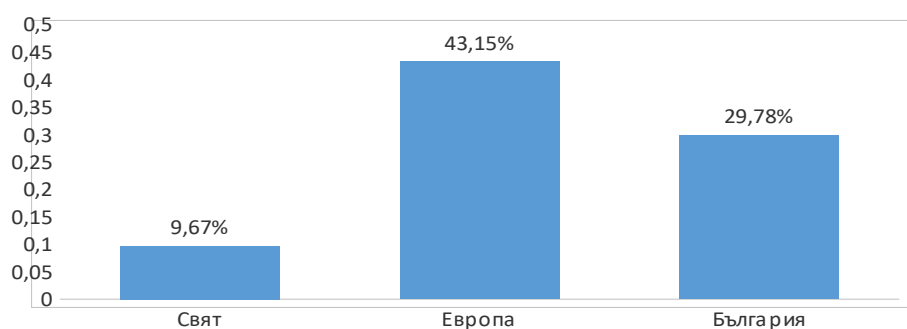
стойностите им през 2018 г.

Данните за Европа показват значително по-нисък относителен дял на заболяемостта и смъртността в сравнение със световното равнище, или увеличение на заболяемостта до 2040 г с 30,1%, а на смъртността – с 58,3% спрямо нивата през 2018 г.

За България се очаква до 2040 г. заболяемостта да е с 6,6% по-висока спрямо 2018 г, а смъртността малко над тях – 12,6%.

Преживяемост

По данни на СЗО и НСИ (GLOBOCAN, 2018) петгодишната преживяемост е представена на (фигура 7) .



Фигура 7. Петгодишна преживяемост при напредналия простатен карцином за 2018 г.

Средната 5-годишна преживяемост в световен мащаб е 9,67%, а в Европа като цяло, преживяемостта е четири пъти по-висока – 43,15%, а в България е 29,78%. Тези големи разлики се обясняват с по-широкото използване на скрининговите методи за ранно откриване на болестта в развитите страни (Taitt H, 2018). През последните години, преживяемостта се увеличава в цяла Европа, като най-голямото подобрене се наблюдава в Източна Европа, вкл. и в България (De Angelis R et al, 2014).

Възраст

По-възрастните мъже е по-вероятно да бъдат диагностицирани с високорисков напреднал простатен карцином и имат по-ниска обща преживяемост. В резултат на това, възрастта играе роля в избора на лечение (Perdana NR et al, 2016). Рискът се увеличава значително след 50-годишна възраст при бели мъже без фамилна история за простатен карцином и след 40-годишна възраст при мъже от африкански произход и такива с фамилна история за простатен карцином. Ето защо е препоръчително на по-възрастните мъже да им се прави редовно скрининг за PSA и дигитално ректално изследване, с последваща дебелоиглена биопсия (Taitt H, 2018).

По данни на СЗО (GLOBOCAN, 2018), средната най-ниска възраст при диагностициране на новооткрито заболяване е 42,2 г. Данните се потвърждават и за България, където според Националния статистически институт (НСИ) първите случаи на регистрирано заболяване се

появяват във възрастовата група 40-44 г. (НСИ, <https://www.nsi.bg>).

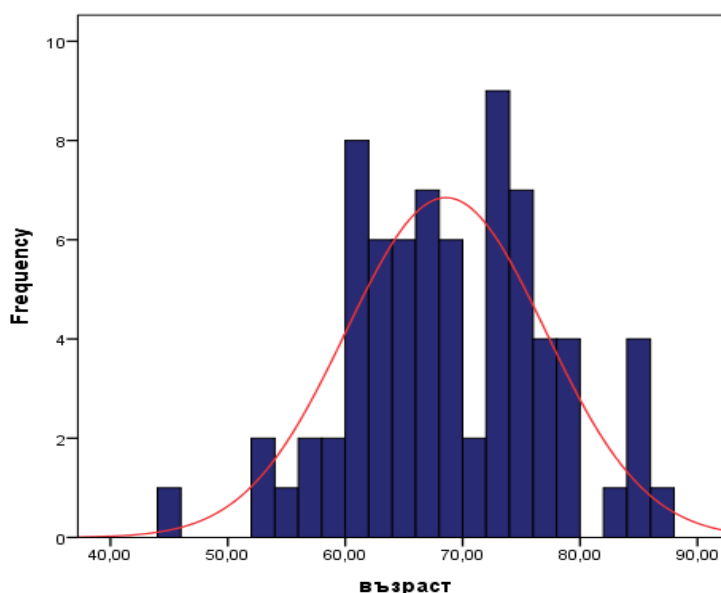
Извод

Заболеваемостта и смъртността при простатен карцином, по данни от литературата, показват тенденция към нарастване, както на световно и европейско, така и на национално ниво

Анализ на клиничко-морфологичните характеристики на пациентите с простатен карцином

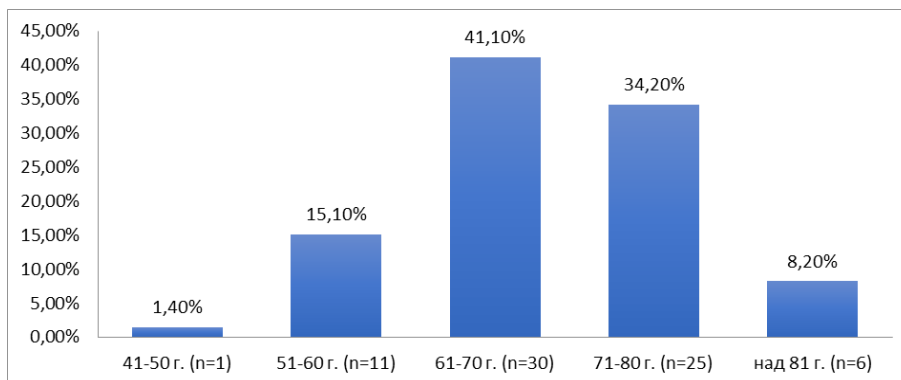
Проучени са 73 пациента с простатен карцином, диагностицирани в Клиниката по обща и клинична патология на УМБАЛ „Св. Марина“ ЕАД – Варна. Средната им възраст е $68,57 \pm 8,5$ г, като минимална възраст е 45 г, а максималната – 87 г. От тях, 36 (49,32%) от случаите са с ранен карцином, а 37 (50,68%) са с авансирал (метастатичен) карцином.

На **фигура 17** е показано изменението на честотата на простатния карцином по възрасти.



Фигура 8. Честота на възрастовото разпределение на пациентите с простатен карцином

Получените резултати показват, че най-голям е броят на пациентите с простатен карцином във възрастовата група между 61 и 70 г - 30 (41,10 %) случая, следвани от възрастовата група между 71 и 80 г - 25 (34,20 %) случая (**фигура 9**).



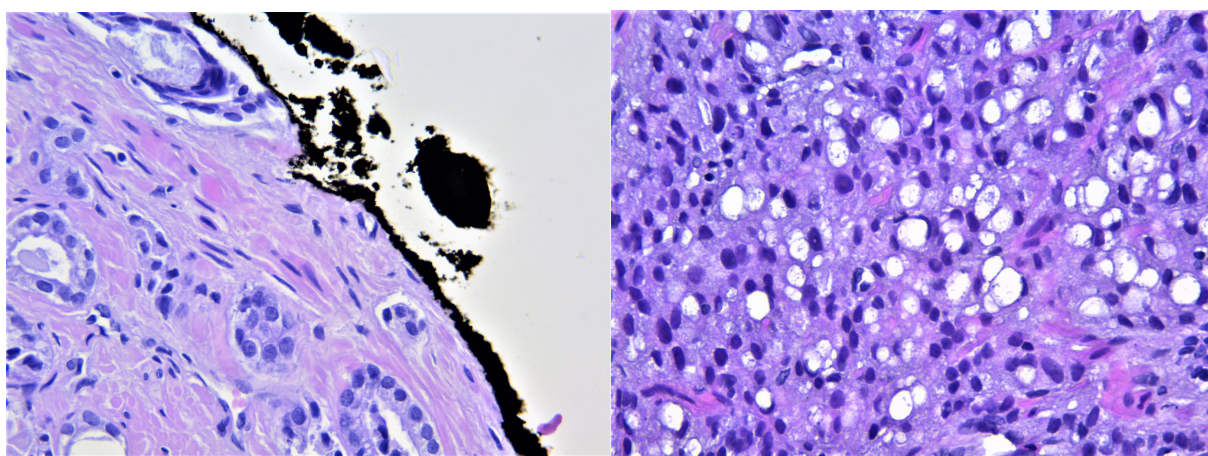
Фигура 9. Разпределение на пациентите от това проучване по възрастови групи

Резултатите от това изследване показват, че 56 (76,7%) от мъжете с диагноза простатен карцином са на възраст под 75 г.

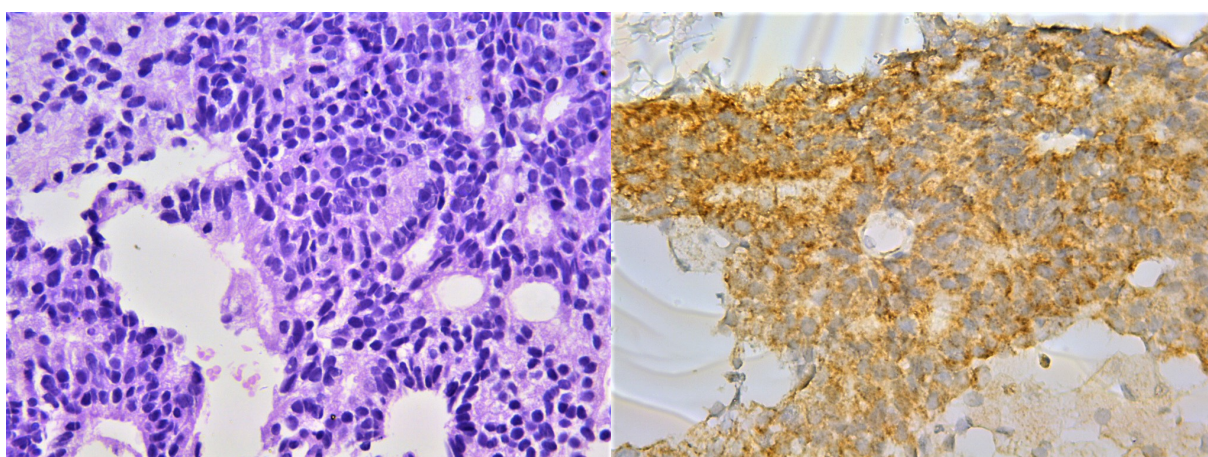
За сравнение, в САЩ 58% от мъжете с карцином на простатата са на възраст до 75 години, а почти половината от тях спадат към групата с нисък риск от заболяване (Cooperberg MR et al, 2012).

Хистологичен тип

От общо 73 изследвани случая на простатен карцином, 38 (52,1%) биопсии са с конвенционален ацинарен аденокарцином на простатната жлеза, без невроендокринна или слузна компонента, 22 (30,1%) са със слузообразуваща компонента (**фигура 10**), а останалите 13 (17,8%) случая са със невроендокринна компонента (**фигура 11**).



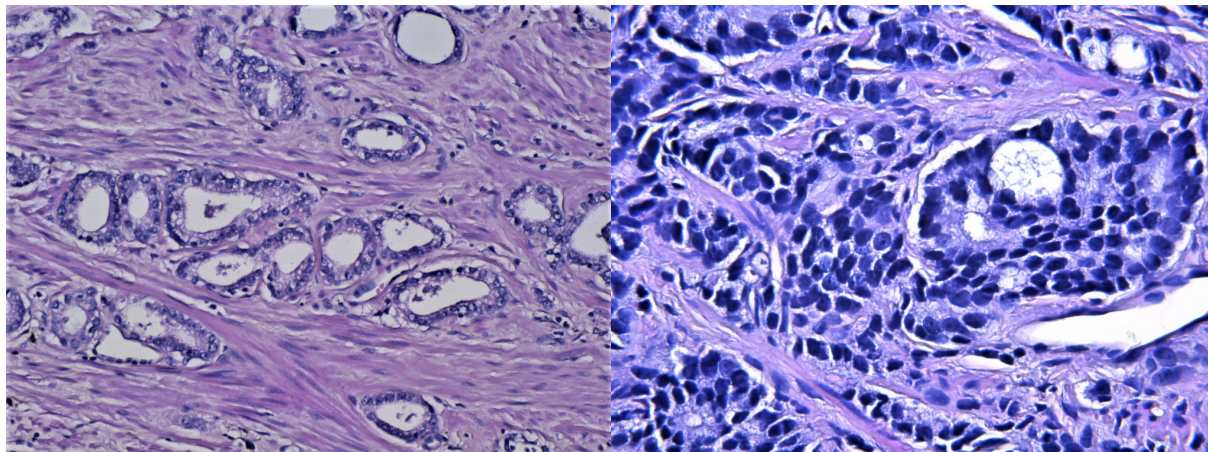
Фигура 10. Конвенционален аденокарцином, ХЕ x 400 (вляво) и пръстеневидноклетъчен карцином, ХЕ x 400 (вдясно)



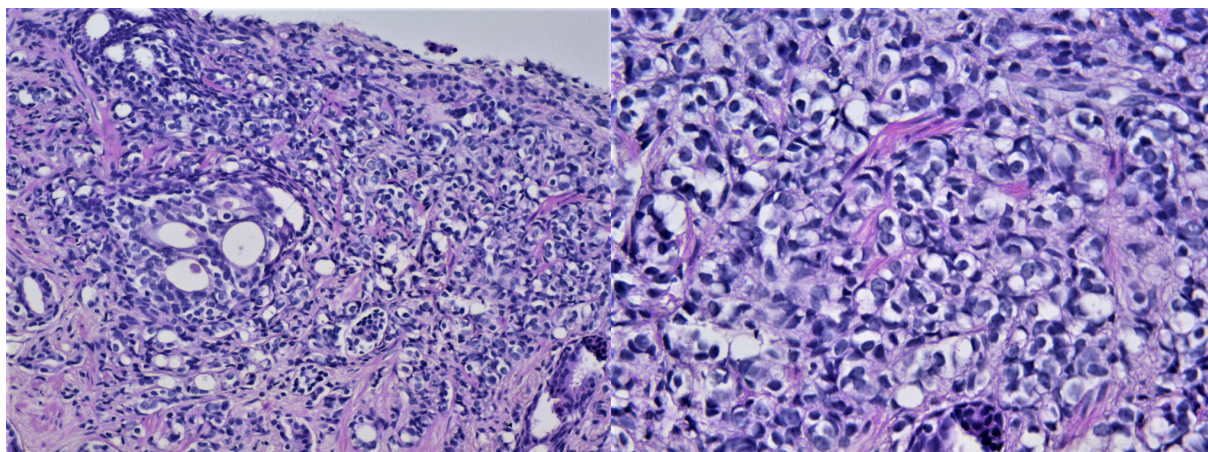
Фигура 11. Конвенционален ацинарен аденокарцином, ХЕ x 400 (вляво) и същият карцином с експресия на Chromogranin A x 400 (вдясно)

Gleason score

В 9 (12,3%) от карциномите Gleason score е 6 (**фигура 23**), в 18 (24,7%) Gleason score е 7, в 11 (15,1%) Gleason score 8 (**фигура 24**), в 32 (43,8%) Gleason score 9 (**фигура 25**) и в останалите 3 (4,1%) от случаите Gleason score е 10 (**фигура 26**).



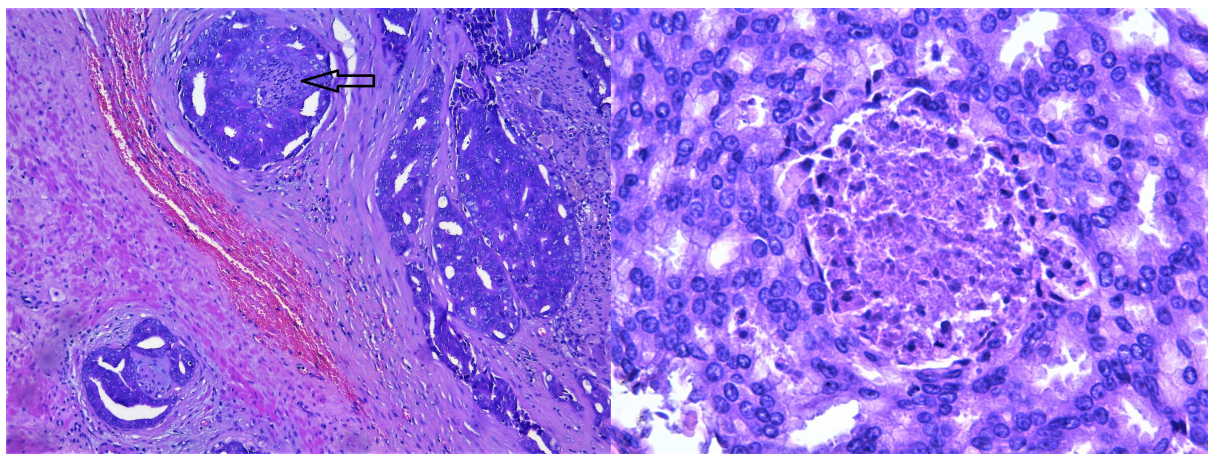
Фигура 12. Ацинарен аденокарцином, Gleason score 3, ХЕ x 200 (вляво) и крибриформени жлези с Gleason score 4+4=8, ХЕ x 200 (вдясно)



Фигура 13. Простатен карцином с модифициран Gleason score 4+5=9, ХЕ x 200 (вляво) и карцином тип „пръстен с камък“, с Gleason score 5+5=10. ХЕ x 400 (вдясно)

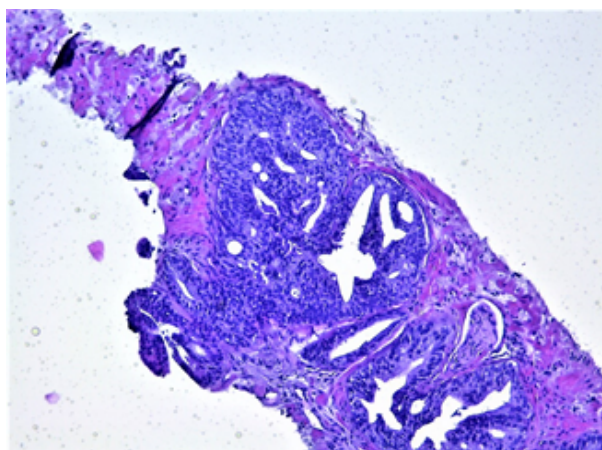
Периневрална инвазия се намери в 54 (74%) от карциномите, а в 19 (26%) от тях липсва.

Туморна некроза не се среща често при простатните карциноми, при това обичайно тя не е масивна, а е дискретна, от комедо тип. Зони на некроза са установени в 9 (12,3%) от изследваните случаи, а в останалите 64 (87,7%) тя липсва



Фигура 14. Простатен аденокарцином с нервно влакно (стрелка) и периневрална инвазия от крибриформени туморни жлези с Gleason 4, XE x 200 (вляво), комедонекроза, Gleason 5, XE x 400 (вдясно)

Високостепенна простатна интраепителна неоплазия. PIN се открива в 47 (64,4%) от изследваните простатни карциноми (фигура 29), а в останалите 26 (35,6%) такава липсва.



Фигура 15. Дебелоиглена простатна биопсия с крибриформена високостепенна простатна интраепителна неоплазия. XE x 100

Възпаление

Възпалителни промени в перитуморната тъкан на простатния карцином са открити при 58 (79,5%) от биопсиите, а в останалите 15 (20,5%) липсват подобни промени.

TNM стадий.

T-стадий. От изследваните 73 случая с простатен карцином, само един (1,37%) от пациентите е стадиран с T1c – дебелоиглена биопсия при ранен простатен карцином. От останалите, 44 (60,27%) от случаите са в стадий T2, 23 (31,51%) от случаите са в стадий T3, 4 (5,48%) от случаите са в стадий T4, а в един (1,37%) от случаите стадият не е бил определен.

N-стадий. Метастази в регионалните лимфни възли (N1), при хистологичното им изследване, са установени в 3 (4,1%) от случаите, а в 24 (32,9%) от случаите няма метастази (N2). При 46 (63%) от пациентите, данните за състоянието на регионалните лимфните възли не е определено (Nx). Тъй като голяма част от биопсичния материал е от малки биопсии (45 дебелоиглени биопсии и една ТУРП), при тях нодалният статус се определи чрез образни методи. В два от тези случаи регионалните лимфни възли са негативни, а в останалите 44 случая се отчитат метастази в регионалните лимфни възли.

M-стадий. Далечни метастази са открити при всичките 37 пациента с авансирал простатен карцином (50,7%), докато в 36-те случая на ранен карцином (49,3%) липсват метастази. Метастатичният статус е определен чрез образните методи. На базата на този критерий различаваме ранния от авансирания простатен карцином. Случаи със стадий M1a (само в далечни лимфни възли) не са установени. В стадий M1b към момента на биопсията са 33 (89,2%) от пациентите с авансирал карцином. Това са случаи с костни метастази и комбинация от костни и далечни лимфни метастази. В стадий M1c са 4 (10,8%) от пациентите с авансирал простатен карцином.

Разпределени по органи, най-много са костните метастази, като при 31 (42,47%) от пациентите има само костни метастази, в един (1,37%) от случаите има едновременно костни и белодробни метастази, в два (2,74%) от случаите има костни и лимфни метастази, при един (1,4%) има костни, чернодробни и лимфни метастази, при един (1,37%) са открити костни, чернодробни, белодробни и лимфни метастази и при един (1,37%) от пациентите има само белодробни метастази.

Таблица 1. Разпределение на далечните метастази по органи като брой и като процентен дял от метастатичните тумори

Локализация	брой	%
Костни	31	83,8%
Костни и белодробни	1	2,7%
Костни и лимфни	2	5,40%
Костни, чернодробни и лимфни	1	2,7%
Костни, чернодробни, белодробни и лимфни	1	2,7%
Белодробни	1	2,7%

От **таблица 1** ясно личи водещото значение на костните метастази при простатния карцином, като самостоятелно или в комбинация с други локализации, костни метастази има в 36 (97%) от 37-те случая на простатен карцином.

Анализ на разпределението на морфологичните показатели при ранен и авансирал простатен карцином

Хистологичен тип. По отношение на хистологичния тип, и при двата клинични стадия се наблюдава доминация на конвенционалния ацинарен простатен карцином, съответно 17 (47%) от случаите при ранния и 21 (57%) при авансиралия рак. На второ място се разпределят туморите със слузна компонента – 13 (36%) от ранните и 9 (24%) от авансиралите карциноми, а най слабо представени са туморите с невроендокринна компонента – 6 (17%) от ранните и 7 (19%) от авансиралите карциноми

Ацинарните карциноми преобладават при авансиралия карцином с 55%, в сравнение с 45% при ранните. При туморите със слузообразуване съотношението е обратното – 59% при ранния и 41% при авансиралия, а при туморите с невроендокринна компонента, 54% от карциномите са авансирали, а 46% са ранни.

Gleason score. При анализа на Gleason score по отношение на прогресията на простатния карцином, следва да се отбележи, че само в един (2,7%) от 37-те случая с авансирал карцином се отчита Gleason score 6, в 5 случая (13,52%) се отчита Gleason score 7, а всички останали 31 случая (83,78%) Gleason score е във високорисковия диапазон между 8 и 10.

В 36-те случая на ранен простатен карцином, Gleason score 6 се отчете в 8 случая (22%), Gleason score 7 в 13 случая (36%), а в останалите 15 случая (42%) Gleason score е 8 и 9, но няма нито един случай с Gleason score 10.

Разпределение на ПНИ според Gleason score. При сравнение на ПНИ с Gleason скората, от общо 54 случая с ПНИ, такава се намери при 1 случай с Gleason score 6 (1,9%), 14 случая с Gleason score 7 (25,9%), 8 случая с Gleason score 8 (14,8%), 28 случая с Gleason score 9 (51,8%) и 3 случая с Gleason score 10 (5,6%).

При разпределението на перинеуралната инвазия по Gleason score при ранния и авансиралия простатен карцином, тази зависимост показва отчетлива разлика.

Очаквано, най много случаи с ПНИ от 32-та авансирали простатни карциноми се наблюдават при високорисковия Gleason score 9 – 20 бр. (62,5%), докато при 22-та случая с ранен карцином, най-много случаи на ПНИ се намериха при Gleason score 7 – 11 бр. (50%).

Туморна некроза. При това изследване, с некроза са 9 (12,3%) от случаите, като само един случай (11,1%) е при ранен карцином, а останалите 8 (88,9%) случая са при авансирал простатен карцином.

По отношение на Gleason score и ПНИ, всичките 9 (100%) от случаите с некроза са с Gleason score 9 и перинеурална инвазия.

PIN. От 47 случая с PIN, 32 (68%) са при ранен, а 15 (32%) са при авансирал карцином.

Възпаление. Възпалителна инфилтрация при ранния простатен карцином се намери в 32 (88,9%) от случаите, а при авансиралия – в 26 случая (70,3%).

TNM. По отношение на T-стадия, най-широко е представен T2-стадия, както при ранния, така и при авансиралия карцином, съответно с 20 (56%) и с 24(65%) случая, следван от T3 и T4-стадия, а най- слабо е представен T1-стадия, без нито един случай при ранния карцином и само 2 случая (5,4%) при авансиралия. При N-стадия, всичките 3 случая с позитивен нодален статус са при ранния карцином (8%), както и повечето от негативните (N0) тумори – 22 (61%), докато при напредналия карцином в N0-стадий са само 2 (5%) от случаите. Всички останали случаи са с неизвестен (Nx) нодален статус. Всички авансирани карциноми са в стадий M1, а ранните в M0, след като това различава едните от другите.

В обобщение, при клинично-морфологичните показатели в това проучване се наблюдават следните особености:

- По отношение на **хистологичния тип**, преобладават ацинарните карциноми, следвани от тези със слезообразуване и с невроендокринна компонента, както при ранния, така и при авансиралия простатен карцином.
- При **Gleason score**, се наблюдава превалиране на Gleason score 9, предимно за сметка на авансиралия карцином. При ранния, разпределението на скората е по-равномерно.
- **ПНИ** се наблюдава в повечето (74%) от простатните карциноми, предимно за сметка на авансиралите случаи (59%), а от тях, предимно при Gleason score 9 (62%).
- 88,9% от случаите с **туморна некроза** са при авансирал простатен карцином, като всичките са с Gleason score 9.
- **PIN** се наблюдава в 64% от случаите на простатен карцином, като 68% от тях са при ранен карцином
- **Възпаление** има при 80% от всички тумори, като 68% от тях са при ранен карцином.
- По отношение на **TNM**, преобладава T2-стадия, както при ранния, така и при авансиралия карцином; повечето тумори са с N0, а всички метастатични тумори са с M1.
- При 97% от метастатичните тумори има **костни метастази**.

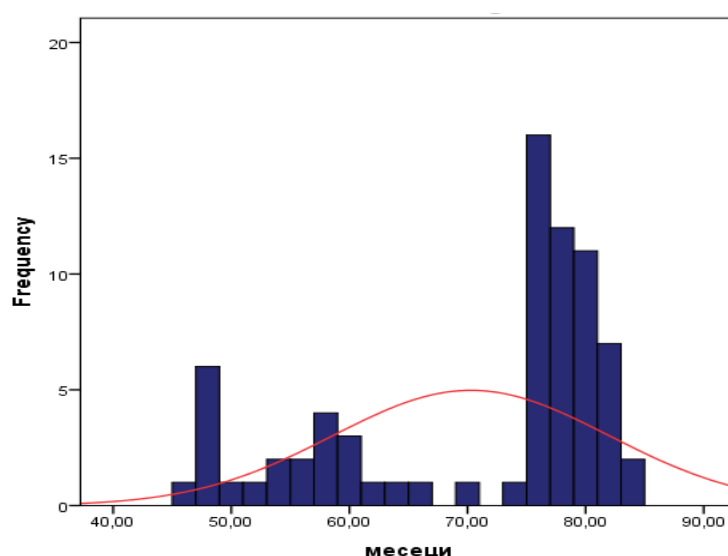
Извод

При авансиралия простатен карцином преобладават високия Gleason score > 7, по-често има перинеурална инвазия и туморна некроза, в сравнение с ранния карцином, а в 97% от случаите има костни метастази.

Анализ на преживяемостта на пациентите с простатен карцином във връзка с клинично-морфологичните параметри

По литературни данни, 5-годишната преживяемост при пациенти с простатен карцином в Съединените щати е около 98% (SEER, 2018). По данни на EUROCORE-5 (ECIS, 2018) при пациенти между 2003 и 2007 г, 5-годишната преживяемост е 83%. В Източна Европа се отчита преживяемост от 76%, докато Южна и Централна Европа тя е 88%. През годините, преживяемостта при простатен карцином показва нарастване в цяла Европа, като най-голямото подобрене се отчита в източноевропейските страни, вкл. и в България (ECIS, 2018).

Петгодишната преживяемост в нашето проучване е $70,28 \pm 11,71$ месеца, като минималната е 46 месеца, а максималната преживяемост е 83 месеца (**фигура 16**).



Фигура 16. Честота на преживяемост на пациентите с простатен карцином в месеци

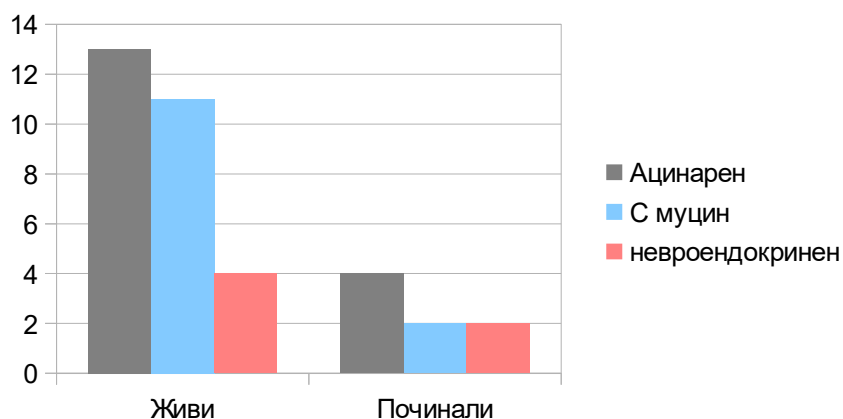
Не се установи статистически значима зависимост между възрастта на пациентите и петгодишната преживяемост ($p > 0,05$).

Хистологичен тип. Оцени се виталния статус на пациентите 5 г след поставяне на диагнозата при простатните карциноми и от трите хистологични типа. Намериха се отчетливи разлики при разпределението между живи и починали при ранния и авансирания карцином. При 36-те случая с ранен карцином, 28 (78%) са живи, а 8 (22%) са починали, докато при авансирания карцином съотношението е обърнато – 8 (22%) от случаите са живи, а 29 (78%) от пациентите са починали в рамките на 5-годишния период.

И при ранния, и при авансирания карцином, преобладават случаите с ацинарен карцином, както при живите, така и при починалите пациенти.

При случаите с неметастатичен карцином има 17 пациента (47%) с ацинарен вариант, 13 (36%) с тумори със слузообразуване и 6 (17%) с невроендокринна компонента.

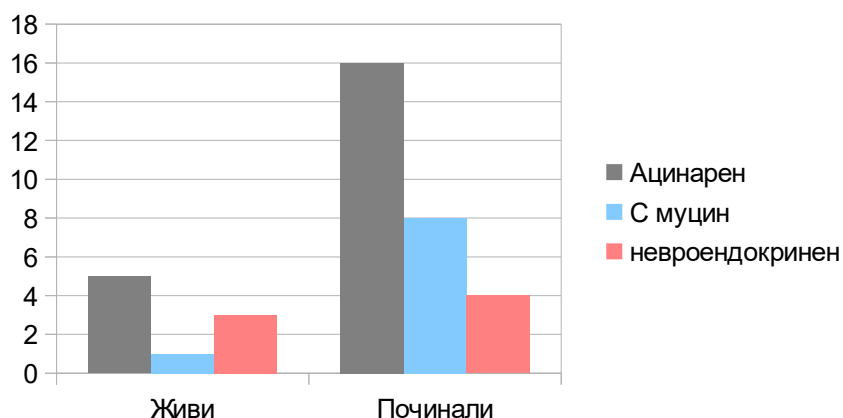
От ацинарните, 13 (76%) са живи и 4 (24%) починали; от слузообразуващите, 11 (85%) са живи и 2 (15%) починали, а от тези с невроендокринна компонента, 4 (67%) са живи и 2 (33%) са починали (**фигура 17**).



Фигура 17. Разпределение на преживяемостта при трите хистологични типа при РАНЕН карцином

При случаите с авансирал карцином има 21 пациента (57%) с ацинарен вариант, 9 (24%) с със слузообразуване и 7 (19%) с невроендокринна компонента.

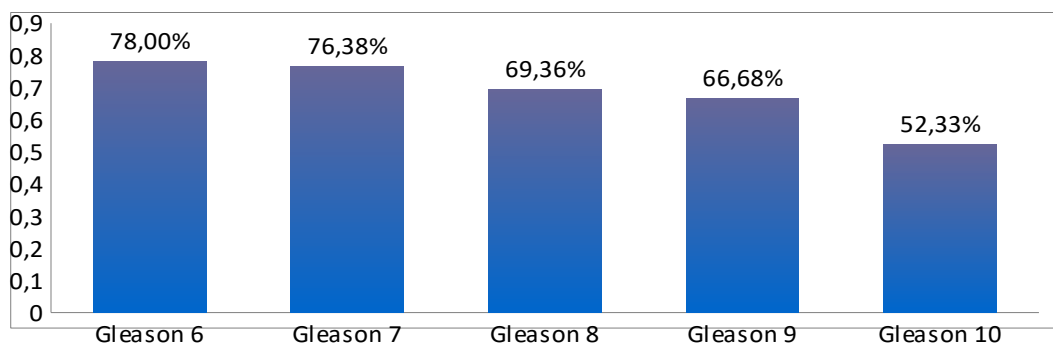
От ацинарните, 5 (24%) са живи, а 16 (76%) починали; от слузообразуващите, 1 (11%) е жив и 8 (89%) починали, а от тези с невроендокринна компонента, 3 (43%) са живи и 2 (57%) са починали (**фигура 18**).



Фигура 18. Разпределение на преживяемостта при трите хистологични типа при АВАНСИРАЛ карцином

Gleason score. Gleason score е един от най-значимите хистопатологични показатели по отношение на предиктивната стойност за смърт от карцином на простатата (Stark JR et al. 2009). Въпреки това, има значителна хетерогенност в биологичната прогресия, дори при пациенти, категоризирани с Gleason score > 7 (Stark JR et al. 2009; Sakr WA et al. 1994; Andren O et al. 2006).

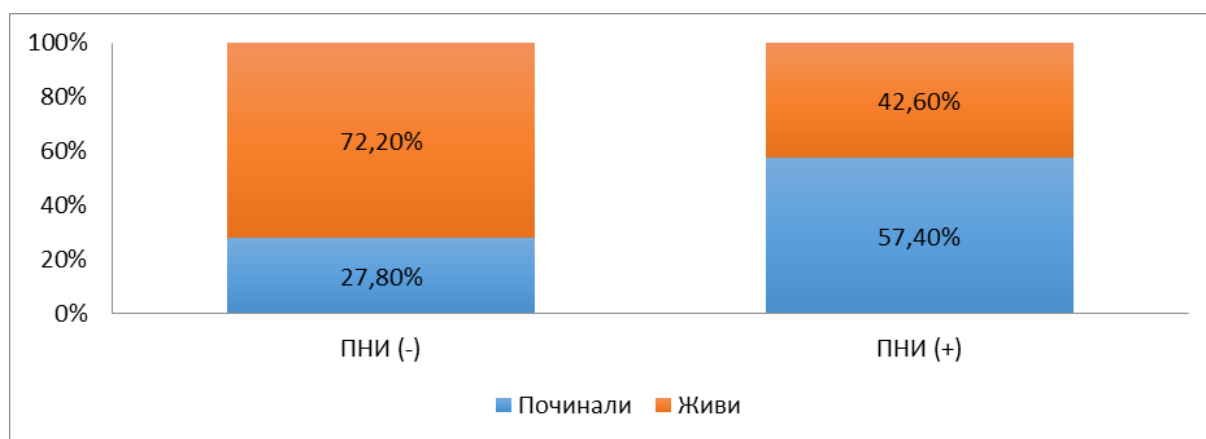
При анализа на преживяемостта и Gleason скората се установи **умерена обратнопропорционална зависимост** ($r = -0,470$; $p < 0,001$), която показва, че с увеличаването на Gleason score намалява преживяемостта на болните с простатен карцином (**фигура 19**).



Фигура 19. Преживяемост на пациентите с простатен карцином в зависимост от Gleason score

При това проучване не установи зависимост между възрастта на болните, Gleason score и Т-стадия ($p > 0,05$).

Перинеуралната инвазия е друг показател, който оказва влияние върху продължителността на живота при пациентите с простатен карцином. Тя се смята за предиктивен фактор за около 70-80% вероятност за прогресия на заболяването и биохимичен рецидив за период от 4 г след поставяне на диагнозата (Peng LC et al, 2018; Yu HH et al, 2007). Асоциира се с по-висок риск от екстрапростатна туморна екстензия и по-ниска преживяемост при радикални простатни резекции, заедно с високите стойности на PSA и Gleason score, както и по-напредналия клиничен стадий (Yu HH et al, 2007).

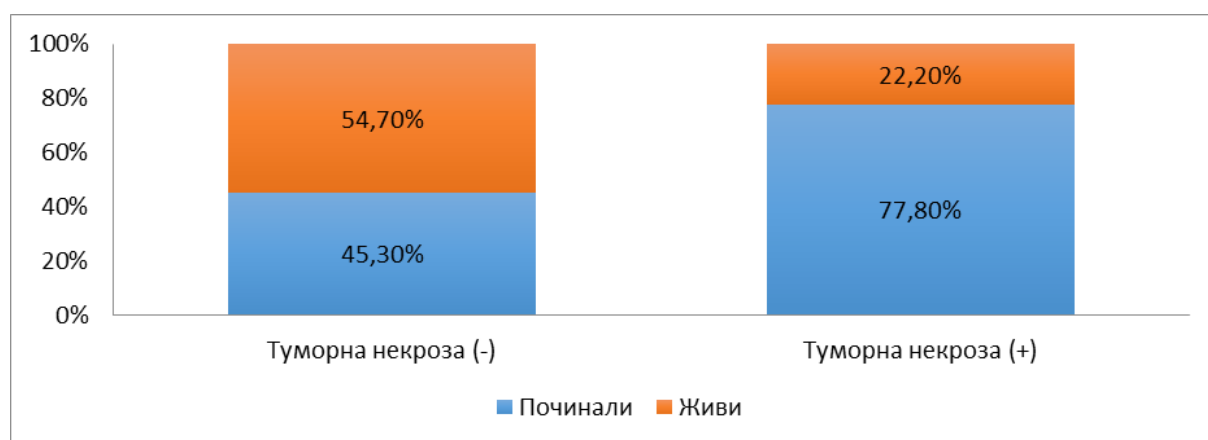


Фигура 20. Преживяемост на болните с простатен карцином в зависимост от перинеурална инвазия

Средната продължителност на живота при болни с простатен карцином и перинеурална инвазия в това проучване е $68,16 \pm 12,51$ месеца, като тя варира между 46 месеца и 83 месеца. При липса на ПНИ, тя е $76,22 \pm 6,13$ месеца, като минималната продължителност на живота е 58 месеца, а максималната е 83 месеца. Перинеуралната инвазия води до по-висок относителен дял на починалите с простатен карцином ($\chi^2=4.74$; $p=0.028$) (Фигура 20).

Вероятността пациентите с простатен карцином и ПНИ да починат в рамките на 5 г след поставяне на диагнозата е 1,69 пъти по-голяма в сравнение с пациентите без ПНИ.

Туморна некроза. Средната продължителност на живота при болните с простатен карцином и туморна некроза е $61,66 \pm 14,98$ месеца. Тя е с 14% по-малка в сравнение със случаите без туморна некроза, която е $71,5 \pm 10,77$ месеца (фигура 21).

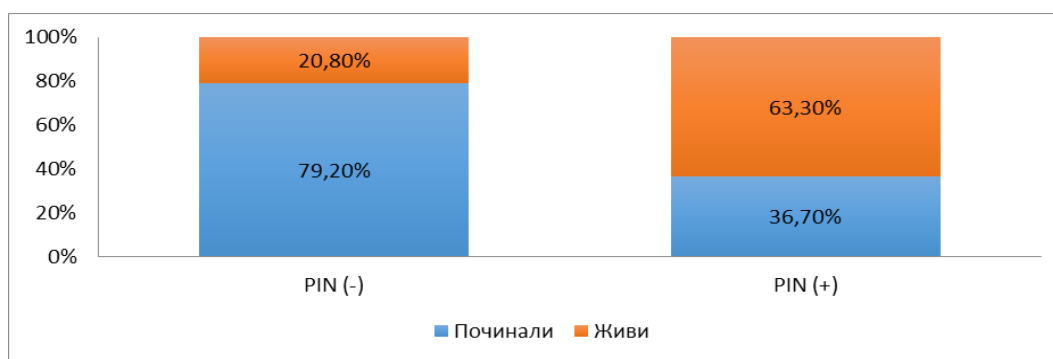


Фигура 21. Преживяемост на болните с простатен карцином в зависимост от туморната некроза

Продължителността на живота на пациентите с простатен карцином с некроза варира между 46 и 79 месеца, докато при пациентите без некроза, минималната продължителност на живота е 47 месеца, а максималната е 83 месеца. Има статистически значима разлика между двете изследвани групи ($p=0,017$).

Получените от нас данни корелират с литературните данни за по-ниска продължителност на живота при пациенти с туморна некроза, които показват статистически значима разлика дори в случаи с Gleason 5 с некроза и Gleason 5 без некроза (Acosta AM et al, 2017).

Високостепенна простатна интраепителна неоплазия. При анализа на преживяемостта на пациентите с простатен карцином и PIN установихме, че при болните с PIN относителният дял на починалите е по-голям, в сравнение със случаите, когато той липсва ($\chi^2=11.75$; $p=0.001$) (Фигура 22).



Фигура 22. Преживяемост на болните с простатен карцином в зависимост от PIN

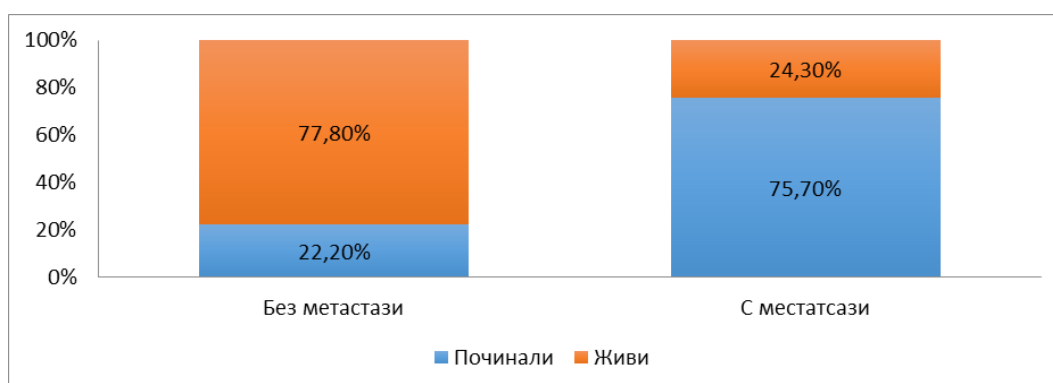
Зависимостта между смъртността на болните с простатен карцином, и липсата на PIN е умерена ($r=0.407$; $p<0.001$).

Резултатите от анализа показват, че летален изход от заболяването настъпва в 79,20% от случаите, когато липсва PIN, докато когато присъства PIN смъртността е 36,70%.

Вероятността за настъпване на смърт при болни с простатен карцином без придружаваща PIN е 2,19 пъти по-голяма. Средната продължителност на живота, след поставяне на диагнозата карцином на простатната жлеза, при пациентите без ПИН е $64,04 \pm 12,73$ месеца, като варира между 47 месеца и 81 месеца. Средната продължителност на живота при болните с PIN е $73,55 \pm 9,90$ месеца, като минималната продължителност на живота е 46 месеца, а максималната е 83 месеца.

При прегледа на литературата по темата, не се намери такава обратна зависимост между високостепенната PIN и преживяемостта. Докладва се липса на зависимост между преживяемост и високостепенна PIN (Brosman SA, 2020).

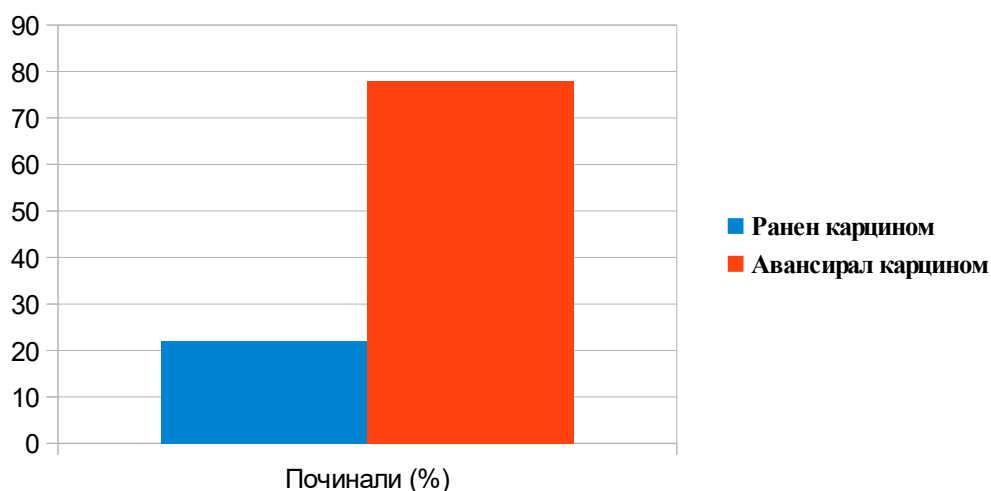
Далечни метастази. По отношение на 5-годишната преживяемост, болните с простатен карцином и далечни метастази имат по-голям относителен дял на починалите (75,7%) ($\chi^2=20.85$; $p<0.001$) (фигура 23). Вероятността пациентите с далечни метастази да починат е 3,11 пъти по-висока от пациентите без метастази.



Фигура 23. Петгодишна преживяемост на пациентите с простатен карцином в зависимост от далечните метастази

Между метастазите и преживяемостта на пациентите с простатен карцином има силна зависимост ($r=0.552$; $p<0.001$), като леталният изход на болните с простатен карцином в 30,40% от случаите е в резултат от присъствието на метастази. Средната продължителност на живот на болните с простатен карцином без метастази е $77,94\pm 1,80$ месеца, като тя варира между 76 и 81 месеца. Средната продължителност на живот при метастатична болест е $65,77\pm 11,61$ месеца, като минималната продължителност на живот е 46 месеца, а максималната е 83 месеца.

По литературни данни, 5-годишната преживяемост при метастатичен карцином се е около 29% (SEER, 2018), което кореспондира с получените от нас данни. При неметастатичните карциноми 5-годишната преживяемост се доближава до 100% (SEER, 2018), докато при нас тя е 78%.

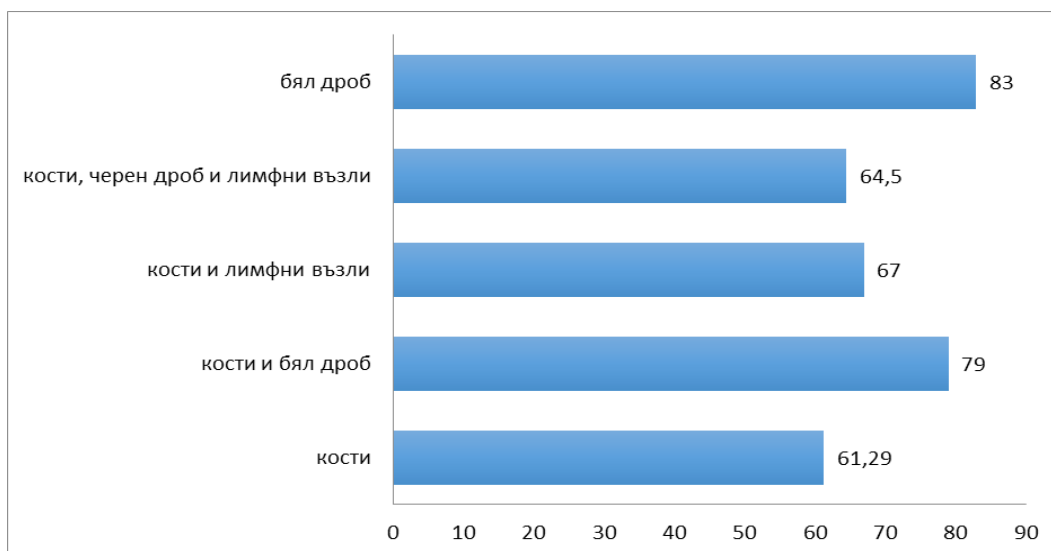


Фигура 24. Разпределение на починалите в проценти при ранен и авансирал карцином

Към датата на това проучване, в рамките на 5 г след поставяне на диагнозата са починали 36 (49,3 %) от пациентите с простатен карцином, като 28 (78%) от тях са с авансирал (метастатичен) простатен карцином, а останалите 8 (22%) са с ранен (неметастатичен) карцином (**фигура 24**).

В това изследване зависимост между продължителността на живота и броя на метастатичните локализации не се установи ($p>0,05$), но има зависимост между продължителността на живота и органите, в които са локализирани метастазите (**фигура 25**).

Най-ниска е преживяемостта на болните, при които има метастази в костите, а най-висока при пациентите с метастази в белите дробове ($F=11.08$; $p<0.001$).



Фигура 25. Зависимост между преживяемостта (в месеци) и метастазите по органи

В обобщение:

- Наблюдава се корелация между нашите и литературните данни за 5-годишната преживяемост при простатния карцином, както и влиянието върху нея на разглежданите клинично-морфологични параметри, с изключение на PIN.
- Вероятността за настъпване на смърт се увеличава с нарастване на Gleason score, както и в присъствието на ПНИ, туморна некроза и далечни метастази.
- Намери се по-голяма и статистически значима вероятност от настъпване на смърт при пациенти без PIN, отколкото при пациенти с PIN, което не корелира с литературната справка, където връзка между PIN и преживяемостта не се намира (Brosman SA, 2020).

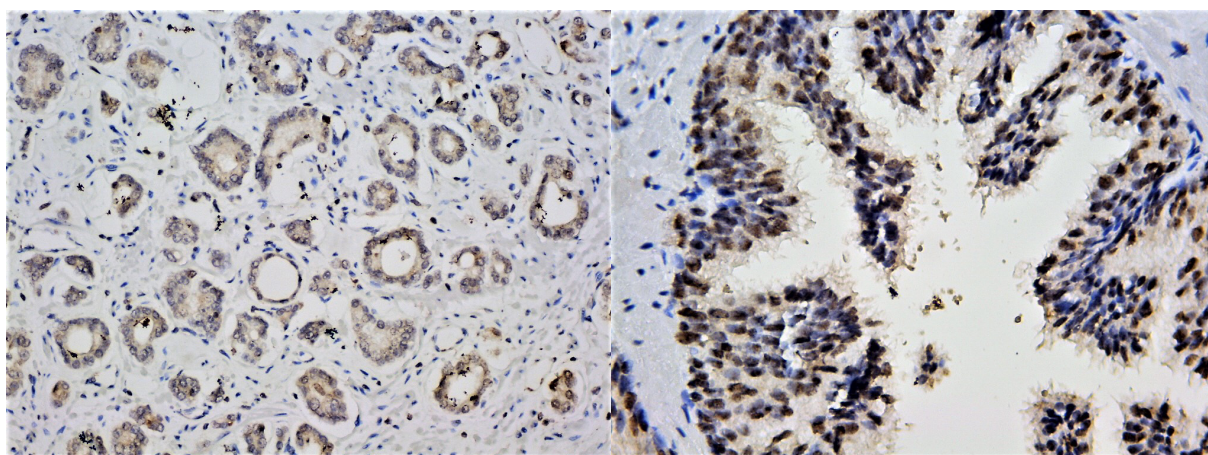
Извод

Преживяемостта на болните с простатен карцином намалява с нарастване на Gleason score, както и при появата на перинеурална инвазия и далечни метастази, особено в костите

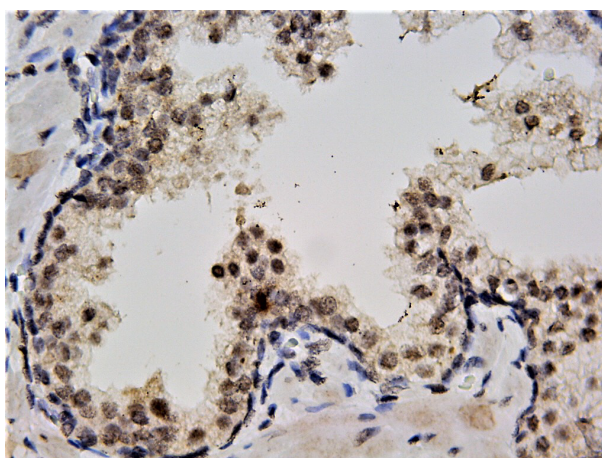
Експресия на RIP3 в туморната и нетуморна тъкан във връзка с клинично-патологичните характеристики и преживяемостта на пациентите

При повечето злокачествени тумори, експресията на маркера за некроптоза RIP3 е потисната, поради геномно метилиране (Yang C et al, 2017, Koo GB et al, 2015). В последните години имунохистохимичната ѝ експресия е проучена в карциноми с други локализации, както и върху експериментални модели на клетъчни линии, но не и в биопсичен материал от простатни карциноми при хора.

Експресия на RIP3 в туморни и нетуморни жлези. RIP3 се експресира в ядрата на туморните клетки на простатния карцином, в ядрата на клетките в жлезите с ПИНи в ядрата на клетките, тапициращи нетуморните жлези.



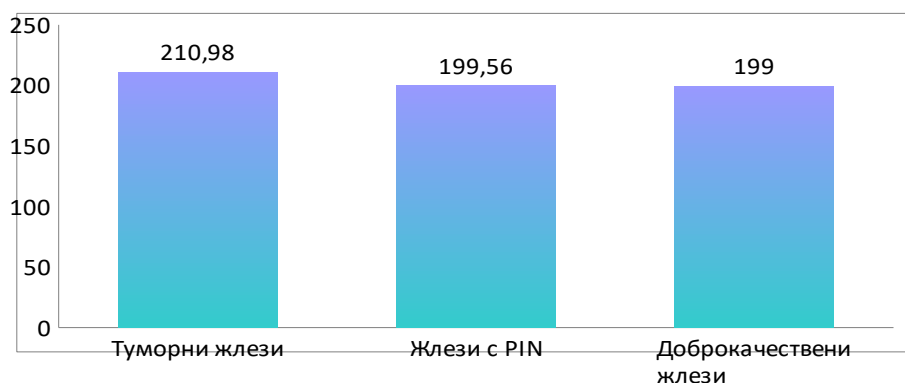
Фигура 26. Ядрена експресия на RIP3 в ацинарен аденокарцином (Gleason 3), x 100 (вляво); ядрена експресия на RIP3 в жлеза с PIN, x200 (вдясно)



Фигура 27. Ядрена експресия на RIP3 в доброкачествени жлези, x200

Експресията на RIP3 се оцени във всички препарати и в трите групи жлези, а след това се сравни експресията между различните групи по разглежданите клинично-морфологични показатели.

Средната стойност на експресията на RIP3 в туморните жлези е с H-score $210,98 \pm 15,39$, като минимумът е 115, а максимумът - 245. Средната стойност на експресията на RIP3 в участъци с PIN е $199,56 \pm 6,38$, с минимална стойност на H-score 180 и максимална 205.



Фигура 28. Средни стойности на експресията на RIP3 в туморни жлези, PIN и доброкачествени жлези

Нашите резултати за RIP3 експресията в туморните жлези са почти еднакви с експресията на RIP3 в нетуморните жлези, където средната стойност е $199,0 \pm 6,36$, с минимална стойност 180 и максимална стойност 205 (фигура 28).

Не се откриха литературни данни за стойностите на хистологичния скор на RIP3 при простатни биопсии, но при колоректален карцином, напр. стойностите може да се движат между $62,5 \pm 35,8$ и $209,1 \pm 44,1$ (Conev N et al, 2019)

По-високи средни стойности на RIP3 се установиха в туморните жлези в сравнение със средните стойности на експресията на анти тялото при жлезите с PIN и разликата е статистически значима ($p < 0,01$ или $p < 0,001$). Експресията на RIP3 в туморните клетки е по-висока в сравнение с експресията на жлезите с PIN и разликата е статистически значима за Gleason score от 6 до 9 ($p < 0,01$ или $p < 0,001$). Жлези с PIN не се откриха при карциноми с Gleason score 10. Подобна зависимост е установена между RIP3 в туморната тъкан и хистологичните категории: ПНИ, туморна некроза и възпаление, независимо дали хистологичните промени присъстват или не в туморната тъкан ($p < 0,01$ или $p < 0,001$). Подобна статистически значима разлика се откри по отношение на TNM стадия за категориите T N и M ($p < 0,01$, $p < 0,05$ или $p < 0,001$) с изключение на T1 стадия, където липсва PIN.

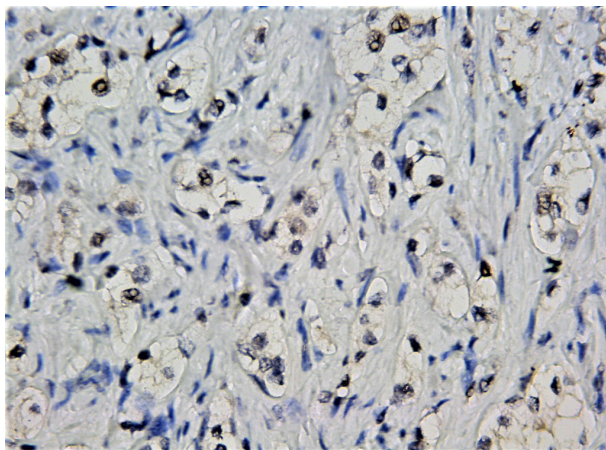
Експресията на RIP3 в туморните клетки е по-висока в сравнение с експресията на жлезите без PIN и разликата е статистически значима за всички изследвани клиникоморфологични показатели ($p < 0,01$, $p < 0,05$ или $p < 0,001$). В T1 стадий има само един пациент с карцином на простатната жлеза и не е извършен сравнителен анализ по отношение експресията на RIP3.

При експресията на RIP3 не се установи статистически значима разлика между жлезите с PIN и бенигнените жлези по отношение на изследваните показатели ($p>0,05$). Сравнителен анализ не е извършен по отношение на Gleason score 10 и T1 стадий, защото при настоящото изследване няма пациенти с такива карциноми.

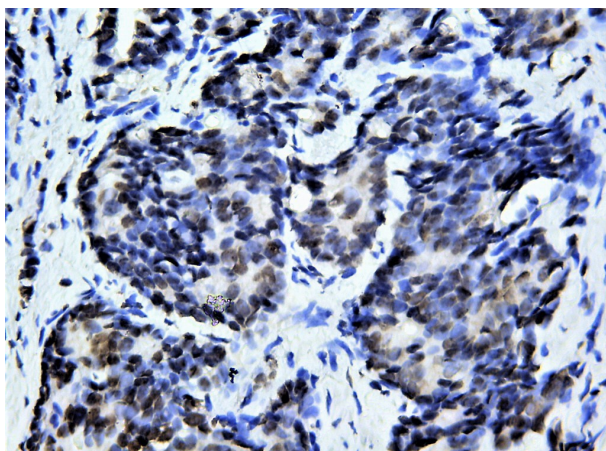
Получените резултати показват, че има съществена разлика между експресията на RIP3 в туморните, диспластични (с PIN) и доброкачествени жлези (без PIN) по отношение на разглежданите от нас показатели. Най-висока е експресията на RIP3 в туморните жлези и тя намалява в сравнение с диспластичните и бенигнените жлези. Между диспластичните жлези с PIN и бенигнените жлези без PIN не се намери съществена разлика ($p>0,05$).

При сравнението на средните стойности на RIP3 в отделните групи жлези (туморни, с PIN и без PIN) статистически значима разлика не беше намерена, с изключение на T-стадия и хистологичния тип на карцинома

Експресия на RIP3 според хистологичния тип. Най-висока е експресията на RIP3 в ядрата на туморните клетки при простатните карциноми със слузообразуване (**фигура 29**).



Фигура 29. Ядрена експресия на RIP3 при пръстеновидноклетъчен аденокарцином, x 200



Фигура 27. Ядрена експресия на RIP3 в доброкачествени жлези, x200

Средните стойности на Н-скора при тях са $220,91 \pm 6,48$, докато стойностите при ацинарните аденокарциноми и невроендокринните карциноми (**фигура 30**) са по-ниски, съответно $206,53 \pm 8,61$ и $206,54 \pm 28,82$.

Намери се статистически значима разлика между експресията на RIP3 при пациенти със слузообразуващите карциноми и класическите ацинарни карциноми ($p < 0,01$), както и между слузообразуващите карциноми и невроендокринните карциноми ($p < 0,01$).

4.4.1.3. Експресия на RIP3 според TNM

Установи се, че експресията на RIP3 намалява с увеличаване на туморния стадий T в туморните жлези ($p = 0,031$). Най-висока е експресията на RIP3 в стадий T1 (средна стойност на H-score 220), а най-ниска - в стадий T4 (средна стойност на H-score 190,0). Установена е слаба обратнопропорционална зависимост между туморния стадий T и експресията на RIP3 ($r = -0,228$; $p = 0,05$)

Зависимост между експресията на RIP и броя на метастазите не беше установена ($p > 0,05$).

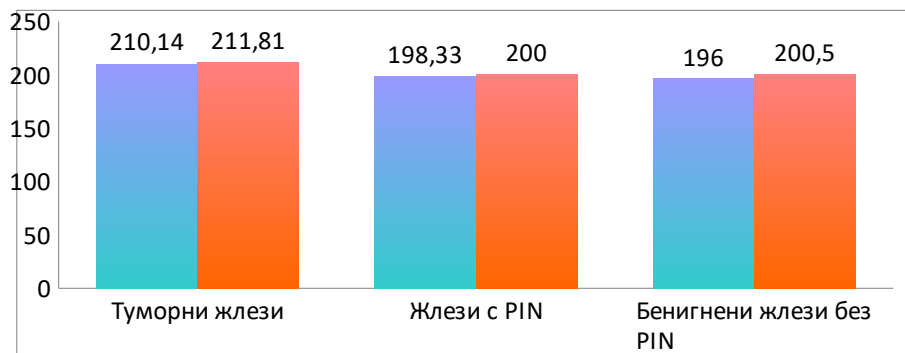
Не беше установена съществена разлика между експресията на RIP3 и възрастта на пациентите ($p > 0,05$).

Оценка на експресията на RIP3 по отношение на преживяемостта. Анализът на преживяемостта на пациентите с простатен карцином е за 5-годишен период от датата на поставяне на диагнозата карцином на простатната жлеза.

Не се установи съществена статистическа разлика между експресията на RIP3 в туморни жлези при живи и починали - съответно 211,81 за живи и 210,14 за починали ($p > 0,05$).

По отношение на експресията на RIP3 в участъци с PIN, се установиха по-ниски стойности на експресията на маркера при починалите пациенти (198,33), но разликата с експресията при живи пациенти (200,0) не е статистически значима ($p > 0,05$).

Намери се съществена разлика в експресията на RIP3 в бенигнените жлези на перитуморната тъкан, където стойностите от хистологичния скор при починали пациенти са по-ниски отколкото при живи пациенти - съответно 196,00 за починали и 200,50 за живи ($t = 2,35$; $p = 0,023$) (**Фигура 31**).



Фигура 31. Средна стойност на експресията на RIP3 при починали и живи пациенти с простатен карцином в туморната тъкан, PIN и перитуморна тъкан

Резултатите от анализа на средните стойности на експресията на RIP3 при починали и живи пациенти с простатен карцином показват, че при починалите пациенти експресията на маркера и в трите вида тъкани е по-ниска, отколкото при живите, но разликата не е статистически значима ($p>0,05$).

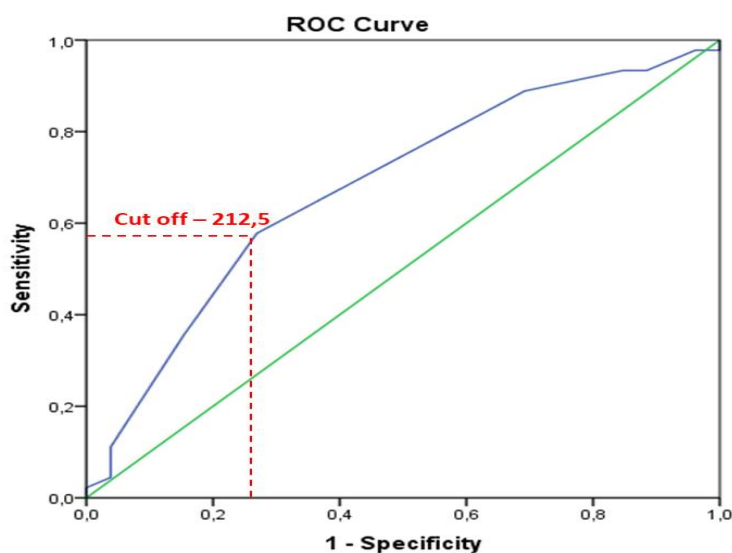
Извод

В сравнение с нетуморните жлези и жлезите с високостепенна PIN, експресията на маркера за некроптоза RIP3 в туморните жлези е по-висока

Изследване на прогностичната стойност на експресията на маркера за некроптоза RIP3 за ниска преживяемост

При анализа на прогностичната стойност на RIP3 като самостоятелен показател за ниска преживяемост не установихме съществена разлика между починалите и преживелите пациенти по отношение на клинично-морфологичните показатели ($p > 0,05$). Според нас, експресията на RIP3 не може да се използва като самостоятелен показател за ниска преживяемост, а само като допълнение към класическите прогностични показатели: T-стадий и Gleason score.

За да анализираме преживяемостта на пациентите в зависимост от експресията на RIP3 и да оценим риска от летален изход определихме cut-off стойността на хистологичния скор при RIP3. Cut-off стойността на RIP3 е 212,5. С ниска експресия са 39 (53,43%) от изследваните лица, а с висока са 34 (46,57%) пациента (**фигура 32**).



Фигура 32. ROC curve анализ за определяне на cut-off стойност на експресията на RIP3 ($AUC=0,679$ ($0,550-0,809$) $P=0,012$)

Хистологичен тип. При анализа на степента на експресия на RIP3 в туморна тъкан при пациенти с простатен карцином установихме статистически значима разлика в експресията на маркера по отношение на хистологичния тип на карцинома ($\chi^2=57,82$; $p < 0,001$). Ацинарният карцином се характеризира с ниска експресия на RIP3 в 37 (97,36 %) случая, докато всички пациенти с карцином със слузообразуване са с висока експресия. При пациентите с карцином с невроендокринна компонента, в 10 (76,92%) от общо 13 случая се установи висока експресия на маркера, а в останалите 3 (23,08%) случая експресията е ниска. Установи се силна зависимост между хистологични тип и експресията на RIP3 ($r=0.793$; $p < 0.001$), като в 62,9% от случаите промяната в експресията на маркера е свързана с хистологичния тип на карцинома.

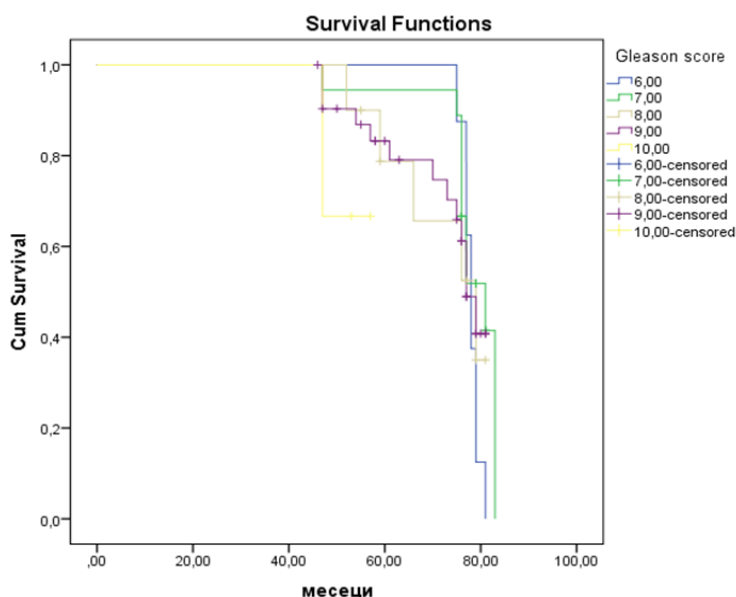
Gleason score. Gleason score показва съществена разлика в степента на експресия при пациентите с Gleason score > 7 ($\chi^2=6,31$; $p=0,011$). Относителният дял на болните с висока експресия е значително по-висок (79,41%).

Беше намерена и слаба, клоняща към умерена зависимост между експресията на анти тялото и Gleason score ($r=0.298$; $p=0.012$), като 8,88% от промените в експресията на RIP3 се асоциират с Gleason score.

При останалите показатели. ПНИ, туморна некроза, PIN, възпаление, TNM стадий и брой далечни метастази не беше установена съществена разлика със степента на експресията на RIP3 в туморна тъкан ($p>0,05$).

Преживяемост. Анализът на ниската експресия на RIP3 в туморна тъкан и преживяемостта на пациенти с простатен карцином не показва статистически значима разлика за никой от изследваните клинично-патологични показатели ($p>0,05$).

Преживяемост в зависимост от експресията на RIP3 и хистологичния тип. При пациентите с висока експресия на RIP3, най-малка преживяемост имат пациентите с невроендокринна туморна компонента (69,3 месеца), следвани от тези с муцинозна туморна



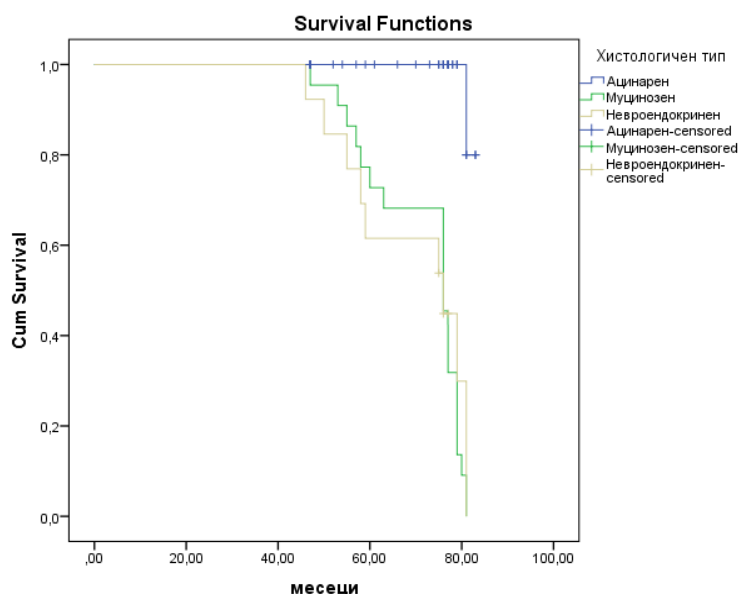
Фигура 48. *Kaplan-Meier* криви на разпределение на преживяемостта при висока експресия на RIP3 в туморна тъкан във връзка с хистологичния тип на карцинома

компонента (71,0 месеца). Най-висока преживяемост имат пациентите с класическия ацинарен карцином (82,6 месеца) ($\text{long rank } p<0,001$).

При висока експресия на маркера, хистологичният тип на карцинома е рисков фактор за ниска преживяемост ($\text{HR}=2,67$ (1,71-4,17) $p<0,001$) (фигура 48).

Преживяемост в зависимост от степента на експресия на RIP3 и Gleason score.

При изследването на преживяемостта, в зависимост от Gleason score и високата експресия на RIP3 (фигура 49), се установи значителна разлика (long rank $p = 0.01$).



Фигура 49. Kaplan-Meier криви на разпределение на преживяемостта при висока експресия на RIP3 в туморна тъкан във връзка с Gleason score

Пациентите с Gleason score ≤ 7 преживяват 80,93 месеца, докато пациентите с Gleason score > 7 преживяват 71,56 месеца. Болните с простатен карцином, които имат Gleason score > 7 са високо рискови за ниска преживяемост при висока експресия на RIP3 (HR=3,71 (1,31-10,61) $p=0,012$).

В сравнение с другите разглеждани от нас два хистологични типа, при ацинарния карцином преобладават Gleason score > 7 и висока експресия на RIP3 в 21 (55,26 %) от случаите, следвани от Gleason score ≤ 7 и ниска експресия на RIP3 в 17 (44,74 %) от случаите. При карциномите с муциозна и невроендокринна компонента по-често се среща Gleason score > 7 и висока експресия на RIP3, съответно 17 и 8 случая (77,30 % и 61,50 %) ($\chi^2=58.11$; $p<0.001$).

Установихме значителна зависимост между хистологичния тип, Gleason score и степента на експресия на RIP3 ($r=0.537$; $p<0.001$).

При липса на ПНИ, най-голям е относителният дял на болните с простатен карцином с Gleason score ≤ 7 и ниска експресия на RIP3 (52,90 %), докато присъствието на ПНИ е с най-голям относителен дял при болните с Gleason score > 7 и висока експресия на RIP3 (41,50 %) ($\chi^2=8.72$; $p=0.033$). Установихме умерена зависимост между перинеуралната инвазия, Gleason score и степента на експресия на RIP3 ($r=0.302$; $p=0.011$).

При анализа на PIN и експресията на RIP3 в туморна тъкан и Gleason score установихме, че има съществена разлика между изследваните групи ($\chi^2=11,55$; $p=0.009$). Липсата на PIN е с най-голям относителен дял при болните с Gleason score > 7 и висока експресия на RIP3 (60,90 %), докато болните с Gleason score ≤ 7 и ниска експресия на RIP3 имат най-висок относителен

дъл при пациенти, при които присъства PIN (32.60 %). Установихме умерена зависимост между PIN, Gleason score и степента на експресия на RIP3 ($r=0.374$; $p=0.002$).

Най-голям относителен дял на болни без метастази имат пациентите с Gleason score ≤ 7 и ниска експресия на RIP3 (37,1 %), докато най-висок относителен дял на болните с метастази имат пациентите с Gleason score >7 и висока експресия на RIP3 (44,4 %) ($\chi^2=15,27$; $p=0.018$).

Изводи

- Високата експресия на RIP3 преобладава при Gleason score повече над 7, при всички хистологични варианти на простатен карцином: конвенционален ацинарен, с муцинозна или с невроендокринна компонента и при перинеурална инвазия.
- Ниската експресия на RIP3 преобладава при пациенти с простатен карцином с Gleason score ≤ 7 , без метастази в лимфни възли и органни метастази.

Профил на пациентите с висок риск от настъпване на смърт

На базата на извършения унивариантен Cox регресионен анализ се установи, че преживяемостта е свързана с възраст над 65 г, висок Gleason score (Gleason score >7), високостепенна PIN, присъствие на перинеурална инвазия, на туморна некроза, с регионални лимфни метастази (N1 стадий), с появата на далечни метастази (M1 стадий) и с високата експресия на RIP3 (таблица 2).

Резултатите от анализа показват, че най-висок риск за настъпване на смърт при пациенти с простатен карцином има при перинеурална инвазия (HR 2,98 (1,15-7,68); p=0,024).

Следват присъствието на туморна некроза, на далечните метастази и високорисковия Gleason score > 7. Останалите показатели са с риск под 2.

Таблица 2. Унивариантен анализ за оценка на риска за смърт

Клинико-морфологични показатели:	Собствено проучване, 2019 (n=73)	
	HR (95% CI)	p
• Възраст	1,05 (1,01-1,09)	0,032
• Gleason score	2,23 (1,51-3,31)	< 0,001
• PIN	0,29 (0,15-0,56)	< 0,001
• ПНИ	2,98 (1,15-7,68)	0,024
• Туморна некроза	2,62 (1,13-6,07)	0,025
• Възпаление	0,56 (0,25-1,23)	0,149
• Т-стадий	1,08 (0,63-1,83)	0,784
• N-стадий	0,16 (0,06-0,44)	< 0,001
• M-стадий	2,56 (1,68-3,92)	< 0,001
• Експресия на RIP3	1,06 (0,42-2,70)	0,045

Резултатите за възпалението и Т-стадия не са статистически значими.

При болни с простатен карцином с Gleason score >7 и висока експресия на RIP3, основният рисков фактор за настъпване на смърт е присъствието на туморна некроза (HR 3,56 (1,38-9,17); p=0,009) (таблица 3).

Таблица 3. Унивариантен анализ за оценка на риска за смъртност при висок Gleason score и висока експресия на RIP3

Клинико-морфологични показатели:	Собствено проучване, 2019 (n=73)	
	HR (95% CI)	p
• Възраст	1,06 (1,01-1,12)	0,017
• PIN	0,24 (0,11-0,53)	< 0,001
• ПНИ	2,63 (0,91-7,64)	0,076
• Туморна некроза	3,56 (1,38-9,17)	0,009
• Т-стадий	1,16 (0,63-2,13)	0,641
• N-стадий	0,41 (0,17-0,93)	0,033
• M-стадий	1,84 (1,11-3,04)	0,018

На базата на комплексния анализ на експресията на RIP3 и влиянието му върху преживяемостта във връзка с клинично-патологичните показатели определихме рисковия профил на пациентите с простатен карцином. Пациентите с повишен риск за ниска преживяемост имат следните клинично-морфологични и имунохистохимични характеристики:

- Възраст > 65 г
- Gleason score > 7
- Присъствие на периневрална инвазия
- Присъствие на туморна некроза
- Присъствие на метастази
- Хистологичен тип – със слузна и с невроендокринна компонента.

Извод

Рискови фактори за ниска преживяемост на пациентите с простатен карцином са високата експресия на RIP3, муцинозната и невроендокринна компонента на простатния карцином, Gleason score >7 и периневралната инвазия

5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Простатният карцином е второто най-често диагностицирано злокачествено заболяване при мъже на възраст над 50 г и представлява социален проблем тъй като оказва влияние както върху инвалидизацията при мъжете, така и за високата смъртност в тази група.

Честотата на простатния карцином варира според различните проучвания, като в източните страни е по-ниска, докато в западните е по-висока. Подобряването на диагностичните методи, свързани със скрининговите тестове, са подобрили разработването на нови начини за диагностициране, предлагане на специфично лечение, минимизиране на ненужното лечение и намаляване на високия процент биохимични рецидиви след терапия.

За прогнозата при простатен карцином основна роля заедно или по отделно имат нивата на PSA, Gleason score и стадирането на TNM.

Съвременната медицина предлага нови прогностични критерии с клинична приложимост, които точно определят риска от рецидив, преживяемостта и подходящата медицинска терапия, както за клиничното проследяване, така и за активното лечение. Но ефекта на некроптозата върху онкогенезата и раковите метастази остава неопределен, тъй като специфичната роля на некроптозата не е универсална и варира в зависимост от различните биологични характеристики или туморната микросреда от всеки тип карцином. Дали некроптозата улеснява или потиска растежа на тумора и метастазите не може да бъде категорично определена.

Резултатите от това изследване показаха, че експресията на RIP3 не може да бъде използвана като самостоятелен прогностичен маркер при простатен карцином, а трябва да се употребява като допълнение към вече съществуващите методи. Най-добри резултати за прогнозиране на преживяемостта на болните с простатен карцином се получиха при комбинацията на Gleason score и експресията на RIP3.

6. ИЗВОДИ

1. Заболеваемостта и смъртността при простатен карцином, по данни от литературата, показват тенденция към нарастване, както на световно и европейско, така и на национално ниво

2. При авансирания простатен карцином преобладават високият Gleason score > 7 , често има периневрална инвазия и туморна некроза, в сравнение с ранния карцином, а в почти всички случаи има костни метастази

3. Преживяемостта на болните с простатен карцином намалява с нарастване на Gleason score, както и при появата на периневрална инвазия и далечни метастази, особено в костите

4. В сравнение с нетуморната тъкан и PIN, експресията на RIP3 в туморната тъкан на простатен карцином се повишава

5. Високата експресия на RIP3 преобладава при Gleason score повече над 7, при всички хистологични варианти на простатен карцином: конвенционален ацинарен, с муциозна или с невроендокринна компонента и при периневрална инвазия

6. Ниската експресия на RIP3 преобладава при пациенти с простатен карцином с Gleason score ≤ 7 , без метастази в лимфни възли и органни метастази

7. Рискови фактори за ниска преживяемост на пациентите с простатен карцином са високата експресия на RIP3, муциозната и невроендокринна компонента на простатния карцином, Gleason score >7 и периневралната инвазия

ПРИНОСИ

Научни приноси с оригинален характер:

- Направена е комплексна клиничко-морфологична и имунохистохимична характеристика на некроптозата при пациенти с простатен карцином.
- Оценена е полуколичествено експресията на RIP3, маркер за некроптоза, с оглед изясняване на прогностичната ѝ и предиктивна роля при карцинома на простатната жлеза.

Научни приноси с практическо-приложен характер:

- Определен е профилът на пациентите с карцином на простатната жлеза.
- Оценена е експресията на RIP3 в туморната и нетуморна тъкан при простатен карцином.
- Определена е преживяемостта на пациентите във връзка с клиничко-морфологичните параметри и експресията на RIP3 при пациенти с простатен карцином
- Оценена е прогностичната стойност на високата и ниска експресия на RIP3 в туморната тъкан на простатен карцином
- Определени са рисковите фактори за ниската преживяемост на пациентите с простатен карцином
- Анализирани са честотата на разпространение, заболяемост и смъртност от простатен карцином в света, Европа и България

ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Братоева К, Димитрова Е, Цонев Н, Тодоров Г, **Калчев К**, Раданова М, Донев И. Регулиране на клетъчната смърт при ракови заболявания – значение на терапевтичния ефект. Варненски медицински форум. 2017;2(6):47-53
2. Богданова М, Донев И, Цонев Н, Димитрова Е, Манев Р, Стоянов Д, Бъчваров Ч, Тодоров Г, Радева Т, Стефанова Н, **Калчев К**, Таушанова М. Некроптоза. *Studia Oncologica*. 2017;1:59-68
3. Otsetov A, **Kalchev K**, N Takova, A Hinev. Mucinous adenocarcinoma of the prostate: case report and review of the literature. *Int Clin Pathol J*. 2018; 6(2):81-83

КНИГОПИС

1. Andren O, Fall K, Franzen L, Andersson S, Johansson J, Rubin M. How well does the Gleason score predict prostate cancer death? A 20-year followup of a population based cohort in Sweden. *J Urol*. 2006;175:1337–1340
2. Baade P, Youlten D, Krnjacki L. International epidemiology of prostate cancer: Geographical distribution and secular trends. *Molecular Nutrition and Food Research*. 2009 53(2), 171–184. doi: 10.1002/mnfr.200700511
3. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R, Torre L, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6): 394–424. doi: 10.3322/caac.21492
4. Brosman SA. What is the prognosis of precancerous lesions of the prostate? *Medscape*. Updated Feb 26, 2020, available from <https://www.medscape.com/answers/447780-196236/what-is-the-prognosis-of-precancerous-lesions-of-the-prostate>
5. Center M, Jemal A, Lortet-Tieulent J, Ward E, Ferlay J. International variation in prostate cancer incidence and mortality rates. *European Urology*. 2012;61(6):1079–1092. doi:10.1016/j.eururo.2012.02.054
6. Chu L, Ritchey J, Devesa S, Quraishi S, Zhang H, Hsing A. Prostate cancer incidence rates in Africa. *Prostate Cancer*. 2011;1–6. doi:10.1155/2011/947870
7. Conev N, Dimitrova E, Bogdanova M, Kashlov Y, Chaushev B, Petrov D, Bachvarov Ch, Todorov G, Kalchev K, Popov Hr, Manev R, Donev I. RIPK3 expression as a potential predictive and prognostic marker in metastatic colon cancer. *Clinical and Investigative Medicine (Online)* 2019;42(1):31-38
8. Cooperberg M, Broering J, Carroll P. Time trends and local variation in primary treatment of localized prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28:1117-1123
9. De Angelis R, Sant M, Coleman MP, Francisci S, Baili P, Pierannunzio D, Trama A. et al. Cancer survival in Europe 1999-2007 by country and age: results of EURO CARE—5-a population-based study. *Lancet Oncol*. 2014;15(1):23–34
10. Ferlay J, Lam F, Colombet M, Mery L, Pineros M, Znaor A, Soerjomataram I. et al. Global cancer observatory: cancer today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <https://gco.iarc.fr/today>, Accessed 02 February 2019
11. Hristova L, Dimova I and Ilcheva M. Projected cancer incidence rates in Bulgaria, 1968–2017. *International Journal of Epidemiology*. 1997;26:469–475
12. Hsing A, & Devesa S. Trends and patterns of prostate cancer: What do they suggest? *Epidemiology Review*. 2001;23(1):60–67
13. Jemal A, Center M, DeSantis C, Ward, E. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*. 2010;19(8):1893–1907. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0437
14. Jemal A, Fedewa S, Ma J, Siegel R, Lin C, Brawley O, Ward E. Prostate cancer incidence and PSA testing patterns in relation to USPSTF screening recommendations. *JAMA*.

2015;314(19):2054–2061. doi: 10.1001/jama.2015.14905.

15. Kambal, A. Prostatic obstruction in Sudan. *British Journal of Urology*. 1977;49(2):139–141
16. Negoita CS, Feuer E, Mariotto A, Cronin K, Petkov V, Hussey S, Sherman R. Annual report to the nation on the status of cancer, part II: Recent changes in prostate cancer trends and disease characteristics. *Cancer*. 2018;124(13):2801–2814. doi: 10.1002/cncr.31549
17. Panigrahi G, Praharaj P, Kittaka H, Mridha A, Black O, Singh R, Mercer R. et al. Exosome proteomic analyses identify inflammatory phenotype and novel biomarkers in African American prostate cancer patients. *Cancer Med*. 2019 doi: 10.1002/cam4.1885.
18. Parkin D, Ferlay J, Hamdi-Chirif M, Sitas F, Thomas J, Wabing, H, Whelan S. (Eds.) *Cancer in Africa: Epidemiology and prevention*. 153 Lyons. France: IARC Scientific Publications
19. Peng LC, Narang AK, Gergis C, Radwan NA, Han P, Marcisano AE et al. Effects of perineural invasion on biochemical recurrence and prostate cancer-specific survival in patients treated with definitive external beam radiotherapy. *Urologic Oncology: seminars and Original Investigations*. 2018;36(6):309.e7-309.e14
20. Perdana N, Mochtar C, Umbas R, Hamid A. The Risk Factors of Prostate Cancer and Its Prevention: A Literature Review. *Acta Med Indones*. 2016;48(3):228–238
21. Rawla P. Epidemiology of Prostate Cancer. *World J Oncol*. 2019;10(2):63-89. doi: 10.14740/wjon1191
22. Sakr W, Grignon D, Crissman J, et al. High grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN) and prostatic adenocarcinoma between the ages of 20–69: an autopsy study of 249 cases. *In vivo*. 1994;8:439–443
23. Taitt H. Global Trends and Prostate Cancer: A review of incidence, detection, and mortality as influenced by race, ethnicity, and geographic location. *Am J Mens Health*. 2018;12(6):1807–1823
24. Yang C, Li J, Yu L, Zhang Z, Xu F, Jiang L et al. Regulation of RIP3 by the transcription factor Sp1 and the epigenetic regulator UHRF1 modulates cancer cell necroptosis. *Cell Death Dis*. 2017 Oct; 8(10): e3084
25. Yu HH, Song DY, Tsai YY, Thompson T, Frassica DA, DeWeese TL. Perineural invasion affects biochemical recurrence-free survival in patients with prostate cancer treated with definitive external beam radiotherapy. *Urology*. 2007; 70:111-116
26. Национален статистически институт [интернет]. Статистически данни. Демографска и социална статистика. Здравеопазване. Умирания по причини и смъртност по причини. Умирания по причини. Смъртност по причини по пол и възрастови групи. Смъртност по причини през 2018 година по пол и възрастови групи. Налично от <https://www.nsi.bg/bg/content/3359/смъртност-по-причини-по-пол-и-възрастови-групи>
27. Epidemiology of prostate cancer in Europe [Internet]. European Commission, 2015. Available from: <https://ec.europa.eu/jrc/en/publication/epidemiology-prostate-cancer-europe>
28. European Cancer Information System – ECIS [internet], European Commission 2018, <https://ecis.jrc.ec.europa.eu/>, accessed on 12 March 2019
29. Global cancer statistics, 2012 [internet]. doi: 10.3322/caac.21262

30. GLOBOCAN, 2018 [internet]. Global cancer observatory. <http://gco.iarc.fr/>

31. Medscape [Internet] Drugs & Diseases > Oncology. Updated: Mar 23, 2020. Author: Natasza M Posielski, MD;Chief Editor: E Jason Abel, MD. Available from <https://emedicine.medscape.com/article/2007051-overview>

32. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2013 [Internet]. National Cancer Institute, Bethesda, MD. 2016. Available from: https://seer.cancer.gov/csr/1975_2015/. Accessed 04 February 2019. [Internet]. SEER, 2018. Available from: <https://seer.cancer.gov/explorer/application.php>

Благодаря на проф. Генов за предоставената ми възможност и проявеното търпение!

Благодаря на проф. Цанева и доц. Софтова за неocenимата помощ, напътствия и подкрепа!

Благодаря на лаборантите от Клиниката по Обща и клинична патология на УМБАЛ Св. Марина за прекрасната им работа!