



*PROSPERITAS VESTRA FINIS NOSTRA!*

**Медицински университет – Варна  
„Проф. д-р Параскев Стоянов”**

**Факултет „Медицина“**

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

**Д-р Любен Людмилов Стоев**

**ЕКСПРЕСИЯ НА ТЕТРАСПАНИНОВИ МАРКЕРИ ПРИ  
ДОБРОКАЧЕСТВЕНА ХИПЕРПЛАЗИЯ И КАРЦИНОМ НА  
ПРОСТАТНАТА ЖЛЕЗА**

**АВТОРЕФЕРАТ**

на дисертационен труд за присъждане  
на образователна и научна степен

**„доктор“**

**Научна специалност: „Патологоанатомия и цитопатология“**

**Научен ръководител:  
Проф. д-р Мария Цанева, дм**

**Варна, 2021 г.**

Дисертационният труд съдържа 133 стандартни страници и е онагледен с 48 таблици и 38 фигури. Литературната справка включва 194 литературни източника, от които 4 на кирилица и 190 на латиница.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита на катедрен съвет на Катедрата по Обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология при МУ "Проф. Д-р Параскев Стоянов" – Варна на 22.10.2021 г.

Публичната защита на дисертационния труд ще се проведе на 20.12.2021, понеделник, в ..... ч, пред научно жури в състав:

Външни членове:

1. Проф. д-р Радина Иванова, дмн
2. Доц. д-р Веселин Беловежков, дм
3. Доц. д-р Екатерина Софтова, дм

Вътрешни членове:

1. Доц. д-р Деян Дженков, дм
2. Доц. д-р Деян Анакиевски, дм

Резервен външен член:

1. Доц. д-р Силвия Николаева Генова, дм

Резервен вътрешен член:

1. Проф. д-р Петър Генов, дм

## СЪДЪРЖАНИЕ

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ.....	2
УВОД.....	3
ЦЕЛ И ЗАДАЧИ.....	6
МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ ЗА ИЗСЛЕДВАНЕ.....	7
РЕЗУЛТАТИ.....	11
ОБСЪЖДАНЕ.....	52
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	68
ИЗВОДИ.....	70
ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	72
ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД .....	73

## ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ДПХ – доброкачествена простатна хиперплазия

ПНИ – перинеурална инвазия

СЗО – Световна здравна организация

AJCC – American joint committee of cancer

GP – Gleason pattern

ISUP – International society of urological pathology

PSA – prostate specific antigen

## УВОД

По данни на GLOBOCAN, в света за 2020 г. карциномът на простатната жлеза е вторият по честота злокачествен тумор при мъжете и е сред най-честите причини за летален изход, възникнал във връзка с неопластичната прогресия (Sung H et al., 2021). При някои пациенти това заболяване се открива в ранен стадий и има благоприятен клиничен ход, но при много от случаите към момента на поставянето на диагнозата, туморът е локално авансирал и дори е дал метастази в регионални и далечни лимфни възли, кости и по-рядко вътрешни органи (Fedewa SA et al., 2020; Jemal A et al., 2020).

За злокачествен процес с такива мащаби и социална значимост се знае твърде малко във връзка с неговата етиология. Основните установени рискови фактори за възникването на простатния карцином са възрастта, фамилната анамнеза, някои генетични мутации и етническата принадлежност (Kheirandish P and Chinegwundoh F, 2011; Rebbeck TR et al., 2013; Ferlay J EM et al., 2019). Значение се отдава и на някои фактори на средата като двигателна активност и хранене, но тяхната роля все още не е достатъчно добре установена (Chan JM et al., 2005).

За оценка на туморната прогресия с цел стратификация на пациентите за подходящо лечение се използват различни клинично-морфологични показатели. От особена важност са локалното разпространение на тумора в простатната жлеза и метастатичният статус на пациента, категоризирани чрез TNM-класификацията (Moch H et al. 2016; Amin MB et al., 2017; van der Poel H et al., 2019; Cimadamore A et al. 2020). Степента на диференциация се категоризира на базата на различни хистологични модели на туморен растеж и се определя с Gleason score. На базата на диференциацията по Gleason score туморите се разпределят в 5 различни прогностични групи (Gnanapragasam VJ et al., 2018). Друг важен клинично-лабораторен показател са

предоперативните стойности на PSA (простатно-специфичен антиген), които се използват както за стратификация на риска от рецидив, така и за проследяване ефекта от терапевтичните мероприятия в дългосрочен план (Descotes JL., 2019; Iwamoto H et al., 2019).

Съвременната медицина непрекъснато се стреми към усъвършенстване на диагностичните и лечебните методи чрез изучаване на нови молекули, които биха имали значение като прогностични фактори за оценка на риска и като потенциални молекули-мишени за таргетна терапия в онкологията. Задълбоченият анализ на разпространението и функцията на такива молекули в туморната и нетуморната тъкан може да отговори на много въпроси, свързани с биологията на неопластичните заболявания и да подобри преживяемостта и качеството на живот на пациентите чрез повлияване на ключови етапи в процесите на онкогенезата, туморната прогресия и метастазиране.

Молекули с такъв клиничен потенциал са протеините от групата на тетраспанините. Те са трансмембранни белтъци с многообразни физиологични функции и действат като посредници в процесите на клетъчната миграция и сложните клетъчни взаимодействия с екстрацелуларния матрикс (Yunusova N.V et al., 2018). Проведените научни изследвания през последните години разкриват значението им при процесите на инвазиране и метастазиране при редица неопластични заболявания (Tokuhara T et al., 2001; Hashida H et al., 2003; Zhu GH, 2010; Suzuki S et al., 2010; Voss MA et al., 2011; Lorico A et al, 2021). Два представителя на тази група – CD9 и CD151, са разглеждани в светлината на супресори и промотори на туморната прогресия, но данните при различни неоплазми са твърде противоречиви (Ang J et al., 2004; Detchokul S et al., 2013; Sadej R et al., 2014; Han R et al., 2020; Lorico A et al., 2021).

Задълбоченото им изучаване в контекста на простатния карцином не само би довело до по-добро разбиране на биологичните особености на това заболяване, но и би дало възможност за установяване на нови прогностични и предиктивни фактори, както и на нови молекули-мишени за прицелна терапия в онкологията.

## **ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД**

### **Цел**

Цел на настоящото изследване е да се анализират клиничко-морфологичните параметри на пациентите с неавансирал и авансирал простатен карцином във връзка с имунохистохимичната експресия на тетраспанините CD9 и CD151 и изясняване ролята им за туморната прогресия.

### **Задачи**

Във връзка с тази цел бяха формулирани следните основни задачи:

1. Да се проучат клиничко-морфологичните характеристики на пациентите с неавансирал и авансирал карцином на простатната жлеза.

2. Да се извърши сравнителен анализ между отделните клиничко-морфологични параметри при пациентите с неавансирал и авансирал карцином на простатната жлеза.

3. Да се изследва имунохистохимичната експресия на CD9 и CD151 в туморната тъкан на простатен карцином и да се сравни с експресията при простатната хиперплазия.

4. Да се анализира имунохистохимичната експресия на CD9 и CD151 във връзка с клиничко-морфологичните показатели при неавансирал и авансирал карцином на простатната жлеза.

## **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 към УМБАЛ „Св. Марина“ ЕАД – Варна

### **Пациенти и характеристика на проучваните групи**

В изследването са включени биопсични материали от простатна жлеза на общо 101 пациента, от които прицелната група е от 91 пациента с диагноза карцином на простатната жлеза и 10 пациента са без туморен процес и образуват контролната група.

От всички 91 пациента, 50 са без далечни метастази (M0) (неавансирани карциноми) и 41 са с карцином, проявил се с далечни метастази (M1) (авансирани карциноми).

Десетте пациента от контролната група са с диагноза ДПХ (доброкачествена простатна хиперплазия). Те са използвани за оценка на експресията на тетраспаниновите маркери CD9 и CD151 в простатната жлеза.

### **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.

За целите на това проучване са определени следните клиничко-морфологични параметри: хистологичен тип на тумора, TNM стадий, степен на диференциация, перинеурална инвазия, наличие на туморна некроза, наличие на крибриформен хистологичен строеж.



## Специфични методи за 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 **таблицы 1 и 2**. Използвани са следните антитела: Anti-CD151 мише моноклонално антитяло с каталожен №33315 и Anti-CD9 заешко моноклонално антитяло с каталожен №92726. Антителата са производство на ABCAM's RabMab technology.

При негативните контроли, вместо първичното антитяло, срези от използваните парафинови блокчета се инкубират с нормален неимунен серум. За позитивни контроли са използвани тъкани от тонзила и колоректален карцином, оцветени съответно за CD9 и CD151.

*Таблица 1. Използвани реагенти*

Антитяло	Разреждане	Позитивна контрола	Маркер за	Фирма производител
Anti-CD151 (ab33315)	1:200	Колоректален аденокарцином	Тетраспа-нин CD151	ABCAM
Anti-CD9 (ab92726)	1:600	Тонзиларна тъкан	Тетраспа-нин CD9	ABCAM

*Таблица 2. Системи за оцветяване и други реактиви*

Консуматив	Приложение	Производител
HRP-DAB System	Оригинална оцветяваща система	Dako
Mayer's hematoxylin	Counterstaining	Dako

Имунохистохимичната експресия на CD9 и CD151 се оцени чрез използване на H-score (хистологичен скор). За всяка епителна клетка от различните типове жлези (туморни и нетуморни) се определи интензитета на цитоплазмената експресия, както следва:

- 0 при липса на цитоплазмената експресия, цитоплазмата е безцветна;
- 1+ при слаба цитоплазмена експресия – цитоплазмата е светложълта;
- 2+ при умерена цитоплазмена експресия – цитоплазмата е светлокафява;
- 3+ при интензивна цитоплазмена експресия – цитоплазмата е тъмнокафява;

Определя се процентът на позитивните клетки за всеки отделен интензитет, като накрая H-score се изчислява по следната формула:  $1x$  (% клетки с 1+) +  $2x$  (% клетки с 2+) +  $3x$  (% клетки с 3+). Така изчислен, диапазонът на H-score варира от 0 до 300.

### **Статистически методи**

Използваните статистически методи са съобразени със спецификата на поставените задачи, вида на изучаваните променливи и скалите за измерването им.

Качествените променливи са представени с абсолютен брой и относителен дял при описателния анализ на демографските и клинични характеристики на участниците, а количествените, със средна стойност и стандартно отклонение/медиана и интерквартилен обхват в зависимост от разпределението.

При проверката на хипотези за връзка между две качествени променливи е използван тестът хи – квадрат. При изследване на връзката между две величини измерени по ординалната скала е използвана рангова корелация на Спийрман.

Корелацията между две количествени променливи е тествана с корелационен анализ на Пиърсън.

Сравненията между две количествени променливи са правени с t тест на Стюдънт, а при сравнения между повече от две групи - с еднофакторен дисперсионен анализ ANOVA.

Всеки показател е представен с 95% интервал на доверителност.

Всички статистически тестове са двустранни.

Резултатите са отчитани като статистически значими при допустимо ниво на грешка  $\alpha = 0.05$ .

Резултатите са представени в обобщен вид в таблици и са илюстрирани с подходящи графики.

Статистическите анализи са извършени със статистическия пакет IBM SPSS ver. 21, а графиките са построени в Microsoft Excel за Windows.

## **РЕЗУЛТАТИ**

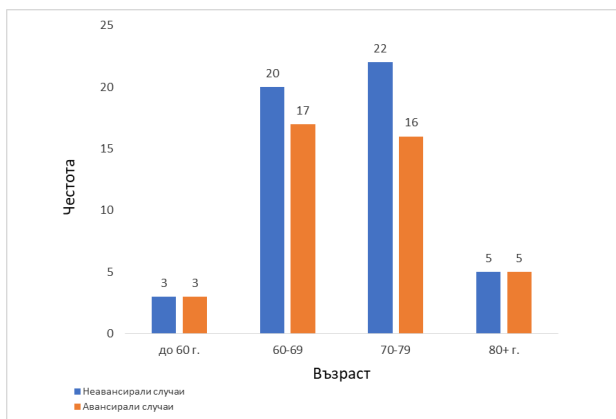
### **Клинико-морфологични характеристики на пациентите с простатен неавансирал и авансирал карцином**

#### **Биопсични материали**

От 50-те неавансирали карциноми, при 32 от тях диагнозата е поставена на резекционен материал, а при останалите 18 на дебелоиглена биопсия. Всички 41 случая на авансирал простатен карцином са оценени на материали от дебелоиглена биопсия поради това, че пациентите не подлежат на оперативно лечение след образното доказване на метастатична болест. В изследването са включени само конвенционални аденокарциноми на простатната жлеза.

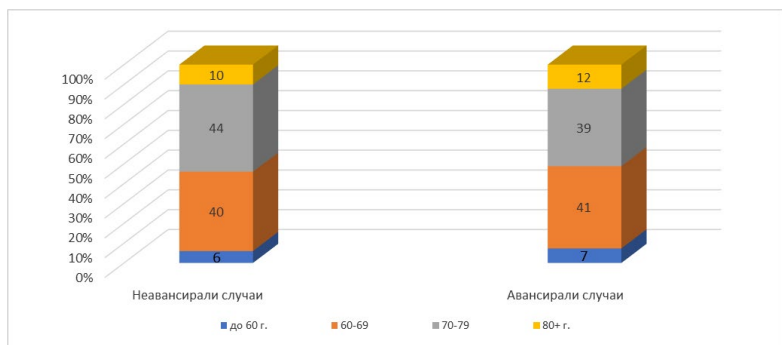
#### **Възрастово разпределение на пациентите с простатен неавансирал и авансирал карцином**

В настоящото изследване са проучени 91 пациента с простатен карцином, диагностицирани в Клиниката по обща и клинична патология към УМБАЛ „Св. Марина“ ЕАД – Варна, като 50 (54,95%) са с неавансирал карцином, а 41 (45,05%) са с авансирал карцином. Средната възраст на пациентите е  $69,39 \pm 7,98$  години, като минималната възраст е 45 години, а максималната е 90 години. В селектираната от нас група най-често карциномът на простатата се установява във възрастовите групи 60-69 години и 70-79 години, съответно 37 (40,66%) и 38 (41,76%) случая, по-рядко се среща над 80-годишна възраст – 10 (10,99%) случая, а във възрастта до 60 години са само 6 (6,59%) случая (**Фигура 1**).



**Фигура 1.** Честота на възрастовото разпределение на пациентите с неавансирал и авансирал простатен карцином

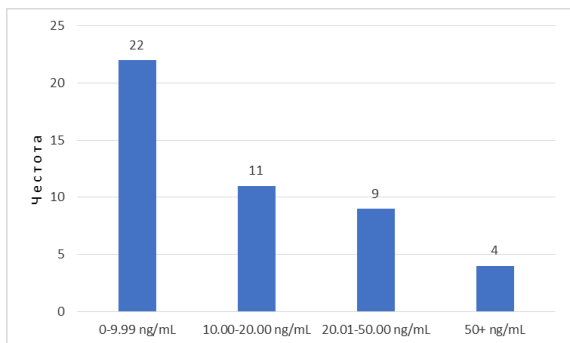
Средната възраст на пациентите с неавансирал простатен карцином е  $70,1 \pm 7,12$  години, а при авансиралия карцином тя е  $70,02 \pm 8,93$  години. На **Фигура 2** е представен относителният дял на пациентите по възрасти, като този дял за неавансиралия и авансирал карцином е най-голям във възрастовите групи 60-69 години и 70-79 години. При неавансиралите 3 (6%) случая са във възрастовата група до 60 години, 20 (40%) са в групата от 60 до 69 години, 22 (44%) са на възраст от 70 до 79 години и 5 (10%) са на над 80-годишна възраст. Подобно е разпределението и в групата на авансиралите карциноми – 7% от пациентите са до 60-годишна възраст, 41% са на възраст от 60 до 69 години, 39% са на възраст от 70 до 79 години и 12% са на над 80-годишна възраст.



**Фигура 2.** Процентно разпределение на неавансиралите и авансирани случаи по възраст

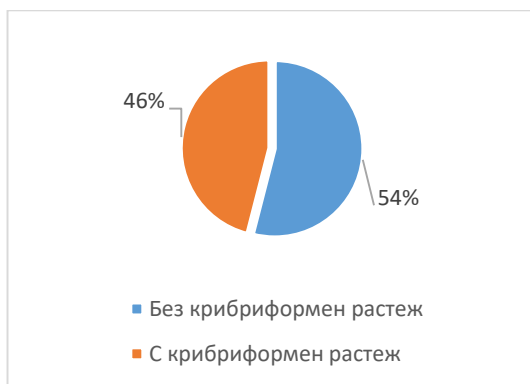
### Клинико-морфологични характеристики на пациентите с неавансирал карцином на простатната жлеза

От 50-те случая с неавансирал карцином, за 46 имаше клиничко-лабораторни данни за стойностите на PSA преди хистологичното изследване. От тези 46 случая, 22 (47,83%) бяха с PSA под 10,00 ng/mL, 11 (23,91%) с PSA между 10,00 и 20,00 ng/mL, 9 (19,57%) между 20,01 и 50,00 ng/mL и 4 (8,70%) с PSA над 50,00 ng/mL (Фигура 3).

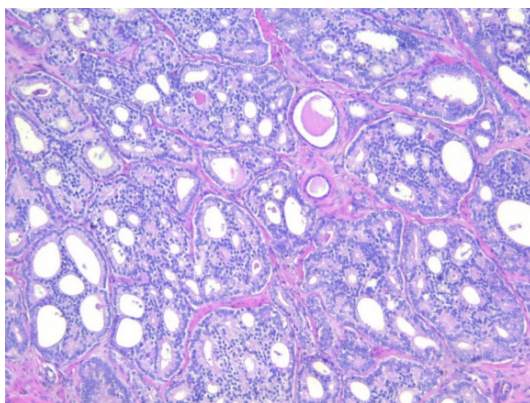


**Фигура 3.** Разпределение на стойностите на PSA при пациентите с неавансирал карцином

От всички изследвани 50 неавансирани карцинома, крибриформен модел на растеж (**Фигура 5**) се установи в 27 (54%) случая, докато при 23 (46%) случая липсваше (**Фигура 4**).

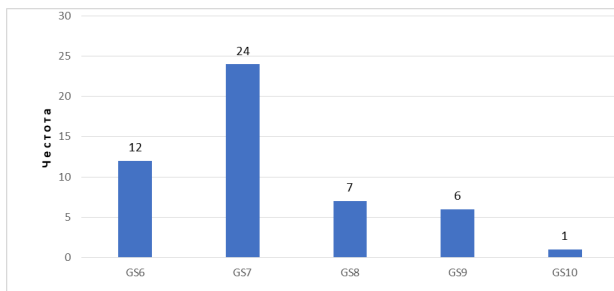


**Фигура 4.** *Относителен дял на разпределение на карциномите с крибриформен модел на растеж при неавансирания простатен карцином*

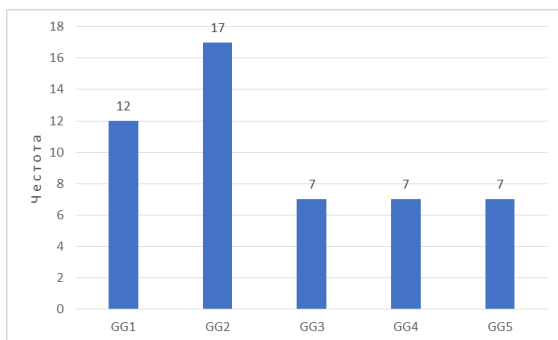


**Фигура 5.** *Крибриформен модел на растеж в простатен карцином, x100*

При 12 (24%) от неавансиралите карциноми Gleason score е 6, в 22 (44%) е 7, в 9 (18%) е 8, в 6 (12%) е 9 и само в 1 (2%) е 10 (Фигура 6). При разпределение по прогностични групи те са съответно 12 (24%) в Grade Group 1, 17 (34%) в Grade Group 2 и по 7 (14%) съответно в Grade group 3, 4 и 5 (Фигура 7).



**Фигура 6.** Разпределение на неавансиралите карциноми на простатната жлеза според Gleason score.



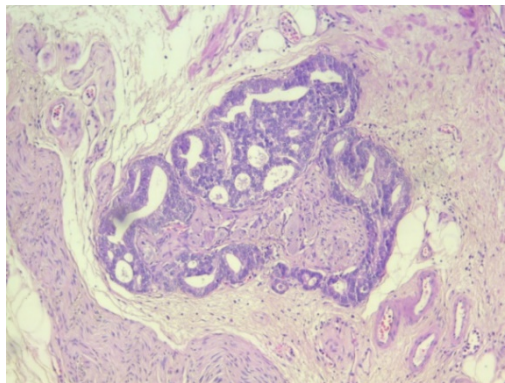
**Фигура 7.** Разпределение на неавансиралите карциноми на простатната жлеза според Grade group.

Перинеурална инвазия бе установена в 35 (70%) от всички неавансирани карциноми, докато в 15 (30%) от тях тя липсваше (Фигура 8 и Фигура 9).





**Фигура 8.** Брой случаи с периневрална инвазия в групата на неавансиралите карциноми.



**Фигура 9.** Фокус на периневрална и ганглийна инвазия от простатен карцином, x100

В нито един от изследваните 50 случая с неавансирал простатен аденокарцином не се установиха туморни некрози.

При отчитане на локалната прогресия на неавансиралите карциноми, 29 (58%) от тях са ограничени в простатната жлеза, 20 (40%) са показали екстрапростатна екстензия в капсулата или семенните мехурчета и само 1 (2%) е ангажирал съседни на простатната жлеза структури (**Таблица 3**).

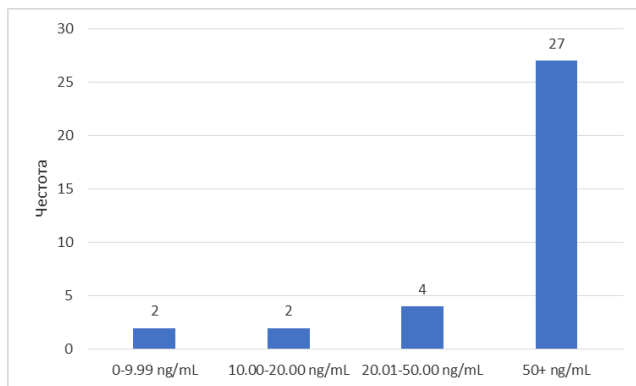
**Таблица 3.** Разпределение на случаите с неавансирал карцином според патологичен T-стадий

<b>T-стадий</b>	<b>Случаи (n)</b>	<b>%</b>
2	29	58,0
3	20	40,0
4	1	2,0
<b>Общо</b>	<b>50</b>	<b>100,0</b>

### **Авансирали карциноми на простатната жлеза**

#### **Стойности на PSA при авансиралите карциноми**

От групата на авансиралите карциноми (41 на брой) за 35 пациента имаше клинично-лабораторни данни за стойностите на PSA преди хистологичното изследване. От тези 35 случая, 2 (5,71%) бяха с PSA под 10,00 ng/mL, 2 (5,71%) с PSA между 10,00 и 20,00 ng/mL, 4 (11,43%) между 20,01 и 50,00 ng/mL и 27 (77,14%) с PSA над 50,00 ng/mL (**Фигура 10**).



**Фигура 10.** Стойностите на PSA при пациентите с авансирал карцином

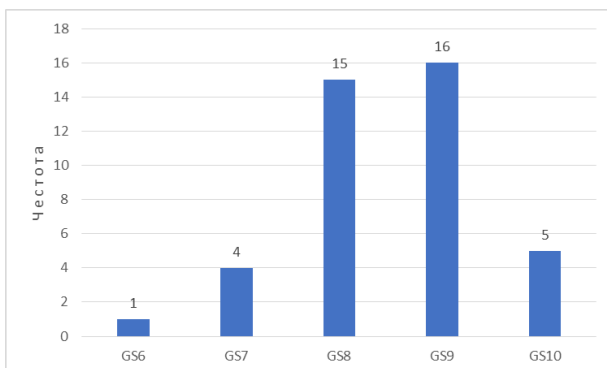
## Морфологична характеристика на авансиралите простатни карциноми

От всички 41 случая на авансиралите карциноми, при 30 (73,2%) от тях имаше крибриформен модел на растеж, докато при 11 (26,8%) случая липсваше (**Фигура 11**).

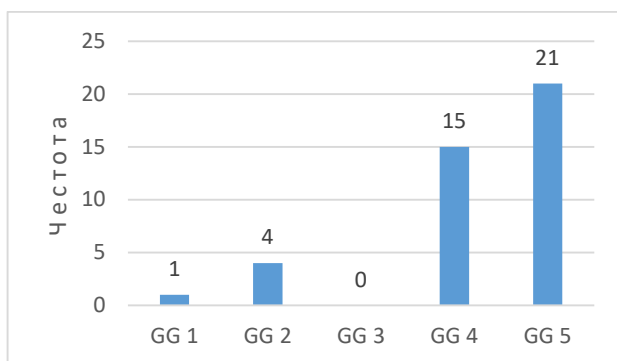


**Фигура 11.** Брой случаи с крибриформен модел на растеж при авансирал карцином

В 1 (2,4%) от авансиралите карциноми Gleason score е 6, в 4 (9,8%) е 7, в 15 (36,6%) е 8, в 16 (39%) е 9 и в 5 (12,2%) е 10 (**Фигура 12**). При разпределение по прогностични групи те са съответно 1 (2,4%) в Grade Group 1, 4 (9,8%) в Grade Group 2, 0 в Grade group 3, 15 (36,6%) в Grade group 4 и 21 (51,2%) в Grade group 5 (**Фигура 13**).

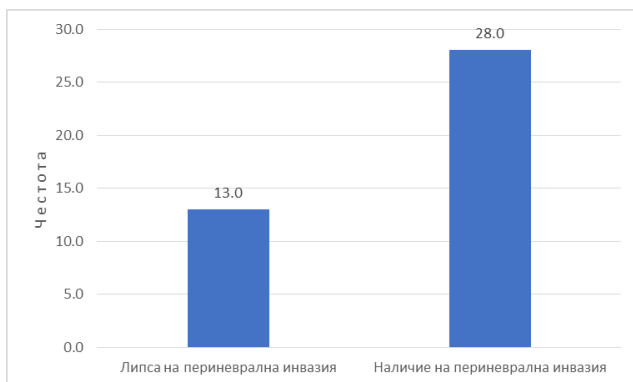


**Фигура 12.** Разпределение на метастазиралите карциноми според Gleason score



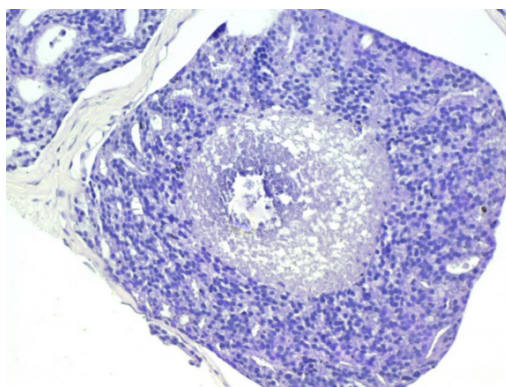
**Фигура 13.** Разпределение на авансиралите карциноми според Grade group.

В групата на авансиралите карциноми се установиха хистологични данни за периневрална инвазия в 28 (68,3%) от случаите, а в 13 (31,7%) липсваха (**Фигура 14**).



**Фигура 14.** Брой на случаите с перинеурална инвазия при авансиралите карциноми

В 4 (9,8%) от всички 41 случая на авансирал карцином бяха установени хистологични данни за туморни некрози, а в 37 (90,2%) случая те липсваха (**Фигура 15**).



**Фигура 15.** Фокус на комедонекроза в солидно туморно гнездо, GP5, x200

При отчитане на локалната прогресия на авансиралите карциноми, 35 (85,4%) от тях са ограничени в простатната жлеза, 3 (7,3%) са показали екстрапростатна екстензия в капсулата или

семенните мехурчета и 3 (7,3%) са ангажирали съседни на простатната жлеза структури (**Таблица 4**).

**Таблица 4.** *Разпределение на авансиралите карциноми в зависимост от стадия*

<b>Т-стадий</b>	<b>Случаи (n)</b>	<b>%</b>
2	35	85,4
3	3	7,3
4	3	7,3
<b>Общо</b>	<b>41</b>	<b>100</b>

От изследваните 41 случая с метастази, 36 (87,80%) бяха само с костни метастази, в 2 (4,88%) случая имаше ангажиране на кости и бял дроб, кости и далечни лимфни възли в 1 (2,44%) случай, 1 (2,44%) случай беше с метастази в кости и мозък. Изолирани метастази само в бял дроб се установиха в един (2,44%) случай (**Таблица 5**).

**Таблица 5.** *Разпределение на авансиралите случаи по локализация на далечните метастази*

<b>Локализация</b>	<b>Брой</b>	<b>%</b>
Кости	36	87,80
Кости и бял дроб	2	4,88
Кости и далечни ЛВ	1	2,44
Бял дроб	1	2,44
Кости и мозък	1	2,44
<b>Общо</b>	<b>41</b>	<b>100</b>

**Сравнителен анализ на данните между клиничко-морфологичните параметри при пациентите с неавансирал и авансирал карцином на простатната жлеза**

При сравнителния анализ на променливите възраст до и над 70 години и PSA не се установи статистически значима зависимост между тях, както в групата на неавансирани тумори ( $p=0,275$ ), така и в групата на авансиралите карциноми ( $p=0,196$ ) (Таблица 6).

*Таблица 6. Зависимост между променливите “PSA” и “възраст” при неавансирани и авансирани тумори*

Група	Брой	PSA	p
<b>Неавансирани</b>		Средно (СО)	
до 70 г.	23	13,5 (8,01)	0,275
70 +	27	67,3 (228,06)	
Общо	50	41,5 (165,4)	
<b>Авансирани</b>			
до 70 г.	20	493,4 (1238,8)	0,196
70 +	21	117,0 (135,0)	
Общо	41	289,1 (850,2)	

**Показател:**  $p=0,275$ ;  $p=0,196$

В групата на неавансиралите тумори пациентите под 70-годишна възраст имаха средна стойност на PSA 13,5 ng/mL, а тези над 70-годишна възраст – 67,3 ng/mL при подчертано високо стандартно отклонение (228,06 ng/mL). Най-високи бяха нивата на PSA при по-младите пациенти с метастази – 493,4 ng/mL при стандартно отклонение 1238,8 ng/mL. По-възрастните пациенти с авансирала болест имаха средно ниво на PSA 117,0 ng/mL.

Сравнителният анализ между променливите възраст и Gleason score показва, че във възрастовите групи 60-69 години и 70-79 години най-много са пациентите с Gleason score <8 или  $\geq 8$

(Таблица 7). Статистическа зависимост между възрастта и Gleason score  $<8$  или  $\geq 8$  не бе установена ( $p=0,202$ ). При пациентите с неавансирал простатен карцином също нямаше статистическа зависимост между възрастта и Gleason score ( $<8$  и  $\geq 8$ ) (Таблица 8). При авансиралите карциноми, между възрастта и Gleason score се откри статистически зависимост ( $p=0,023$ ). С увеличаване на възрастта (80+ години) се увеличава Gleason score (Таблица 9). Всички пациенти с далечни метастази и на възраст над 80 години имаха карцином с  $GS \geq 8$ .

*Таблица 7. Зависимост между променливите възраст и Gleason score при изследваните пациенти с простатен карцином*

Възраст	Gleason score $< 8$	Gleason score $\geq 8$
	Брой (%)	Брой (%)
До 59 г.	5 (12,2)	1 (2,0)
60-69 г.	17 (41,5)	20 (40,0)
70-79 г.	16 (39,0)	22 (44,0)
80+ г.	3 (7,3)	7 (14,0)
<b>Общо</b>	<b>41 (100)</b>	<b>50 (100)</b>

Показател:  $p=0,202$

*Таблица 8. Зависимост между променливите Възраст и Gleason score в групата на неавансиралите тумори*

Възраст	Gleason score $< 8$	Gleason score $\geq 8$
	Брой (%)	Брой (%)
До 59 г.	3 (8,3)	0 (0,0)
60-69 г.	15 (41,7)	5 (35,7)
70-79 г.	15 (41,7)	7 (50,0)
80+ г.	3 (8,3)	2 (14,3)
<b>Общо</b>	<b>36 (100,0)</b>	<b>14 (100,0)</b>

Показател:  $p=0,621$



**Таблица 9.** Зависимост между променливите Възраст и Gleason score в групата на авансиралите тумори

Възраст	Gleason score < 8	Gleason score ≥ 8
	Брой (%)	Брой (%)
До 59 г.	2 (40,0)	1 (2,8)
60-69 г.	2 (40,0)	15 (41,7)
70-79 г.	1 (20,0)	15 (41,7)
80+ г.	0 (0,0)	5 (13,9)
<b>Общо</b>	<b>5 (100,0)</b>	<b>36 (100,0)</b>

Показател:  $p=0,023$

Сравнителен анализ на данните между PSA и клинично-морфологичните параметри при пациентите с неавансирал карцином на простатната жлеза

Анализът между стойностите на PSA в групата на неавансиралите карциноми и крибриформения хистологичен растеж показва, че при високи стойности на PSA, туморите често имат крибриформени структури ( $p=0,017$ ) (Таблица 10).

**Таблица 10.** Зависимост между крибриформения модел на растеж и PSA

Крибриформени структури	Брой (n)	Средна стойност ng/mL	Стандартно отклонение ng/mL
Липсват	26	11,59	8,37
Присъстват	20	24,37	23,92
<b>Общо</b>	<b>46</b>	<b>17,27</b>	<b>18,07</b>

Показател:  $p=0,017$

Сравнителният анализ на средните стойности на PSA в групите с различен Gleason score показва тенденция към

увеличаване на PSA с увеличаване на Gleason score ( $p=0,002$ ) (Таблица 11).

*Таблица 11. Средна стойност на PSA в зависимост от Gleason score при неавансирал карцином*

Gleason score	Брой (n)	Средна стойност	Стандартно отклонение
6	10	8,7	4,36
7	24	13,9	11,67
8-9	11	32,5	27,43
<b>Общо</b>	<b>45</b>	<b>17,3</b>	<b>18,08</b>

Стойност:  $p=0,002$

Средната стойност на PSA при пациенти с Gleason score 6 беше 8,7 ng/mL, при Gleason score 7 - 13,9 ng/mL, а при пациентите с Gleason score – 32,5 ng/mL.

Средната стойността на PSA при туморите с перинеурална инвазия беше  $21,45 \pm 20,77$  ng/mL и тя бе по-висока от тази при карциномите без данни за перинеурална инвазия –  $8,93 \pm 4,58$  ng/mL и разликата е статистически значима ( $p=0,027$ ) (Таблица 12).

*Таблица 12. Средни стойности на PSA в зависимост от наличието на ПНИ при неавансирал карциноми*

ПНИ	Брой (n)	Средна стойност (ng/mL)	Стандартно отклонение (ng/mL)
ПНИ (-)	15	8,93	4,58
ПНИ (+)	30	21,45	20,77
<b>Общо</b>	<b>45</b>	<b>17,28</b>	<b>18,07</b>

Показател:  $p=0,027$

Анализът на зависимостта между PSA и Т-стадия при пациентите без метастази не показва връзка между двете променливи. Средната стойност на PSA при туморите с по-нисък

T-стадий беше  $15,32 \pm 19,40$  ng/mL. Туморите с по-напреднал локален стадий имаха средна стойност на PSA  $19,71 \pm 16,42$  ng/mL (Таблица 13).

*Таблица 13. Средни стойности на PSA в зависимост от T-стадия при неавансиралите карциноми.*

<b>T-стадий</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна стойност (ng/mL)</b>	<b>Стандартно отклонение (ng/mL)</b>
T2	25	15,32	19,40
T3, T4	20	19,71	16,42
<b>Общо</b>	<b>45</b>	<b>17,27</b>	<b>18,08</b>

Показател:  $p=0,424$

**Сравнителен анализ между стойностите на PSA и морфологичните параметри при пациентите с авансирал карцином на простатната жлеза**

При авансиралите тумори средните стойности на PSA при крибриформения модел на растеж бяха по-високи ( $127,82$  ng/mL) в сравнение със случаите, когато липсваше подобен модел ( $70,65$  ng/mL), но разликата не бе статистически значима ( $p=0,217$ ) (Таблица 14).

*Таблица 14. Зависимост между „Крибриформения модел на растеж“ и PSA при авансирали тумори*

<b>Крибриформен строеж</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна стойност ng/mL</b>	<b>Стандартно отклонение ng/mL</b>
Липсват	7	70,65	48,58
Присъстват	26	127,82	116,20
<b>Общо</b>	<b>33</b>	<b>115,70</b>	<b>107,49</b>

Показател:  $p=0,217$

Средните стойности на PSA при туморите с крибриформен строеж беше  $24,37 \pm 23,92$  ng/mL, което е повече от два пъти от стойностите при туморите при които липсваха подобни структури.

При анализ на средните стойности на PSA в групата на авансиралите тумори не се установи статистически значима зависимост между нивата на PSA и Gleason score ( $p=0,425$ ) (Таблица 15).

*Таблица 15. Средни стойности на PSA според Gleason score*

<b>Gleason score</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна стойност</b>	<b>Стандартно отклонение</b>
6	1	44,1	0
7	3	39,6	52,27
8	10	103,4	52,98
9	19	137,9	130,32
<b>Общо</b>	<b>33</b>	<b>115,7</b>	<b>107,50</b>

**Показател:**  $p=0,425$

Независимо от липсата на зависимост между двата показателя бе забелязана тенденция към покачване на средните стойности PSA спрямо Gleason score. При Gleason score 8 и 9, т.е. при нискодиференцираните тумори, стойностите бяха съответно 103,4 ng/mL и 137,9 ng/mL и те бяха по-високи спрямо високо- (Gleason score 6) и умеренкодиференцираните карциноми (Gleason score 7), съответно 44,1 ng/mL и 39,6 ng/mL.

При анализ на средните стойности на PSA в групата на метастатичните тумори не се установи статистически значима зависимост между нивата на PSA и наличието на перинеурална инвазия ( $p=0,731$ ) (Таблица 16).

*Таблица 16. Средни стойности на PSA в зависимост от наличието на ПНИ при метастатични карциноми*

<b>ПНИ</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна стойност (ng/mL)</b>	<b>Стандартно отклонение (ng/mL)</b>
ПНИ (-)	10	105,73	50,47
ПНИ (+)	23	120,03	125,30
<b>Общо</b>	<b>33</b>	<b>115,70</b>	<b>107,50</b>

**Показател:**  $p=0,731$

**Сравнителен анализ на средните стойности на „PSA“ спрямо „М-стадий“ при пациентите с простатен карцином**

Анализът на средните стойности на PSA в пациентите с простатен карцином показва тенденция за повишаване на PSA в групата на авансиралите тумори в сравнение с неавансиралите. Средното ниво на PSA при пациенти без далечни метастази бе  $17,27 \pm 18,07$  ng/mL, докато при метастатичните случаи то бе значително по-високо –  $115,70 \pm 107,49$  ng/mL и разликата е статистически значима ( $p < 0,001$ ) (Таблица 17).

*Таблица 17. Средни стойности на PSA в зависимост от М-стадия*

<b>М-стадий</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна стойност (ng/mL)</b>	<b>Стандартно отклонение (ng/mL)</b>
M0	45	17,27	18,07
M1	33	115,70	107,49
<b>Общо</b>	<b>78</b>	<b>58,91</b>	<b>85,93</b>

**Показател:**  $p < 0,001$

**Сравнителен анализ между морфологични параметри при пациентите с неавансирал карцином на простатната жлеза**

От 15-те неавансирал тумори без периневрална инвазия само при един (6,8%) случай имаше хистологични данни за

крибриформен растеж. При туморите с периневрална инвазия имаше крибриформени структури в 22 (62,9%) случая и в останалите 13 (37,1%) случая те липсваха. Сравнителният анализ между двете променливи показва, че при неавансиралите простатни карциноми крибриформен модел на растеж е свързан по-често с периневрална инвазия ( $p < 0,001$ ) (**Таблица 18**).

*Таблица 18. Зависимост между крибриформен модел на растеж и периневрална инвазия при неавансирани тумори.*

	ПНИ		Общо
	ПНИ (-)	ПНИ (+)	
<b>Крибриформен строеж</b>	Брой (%)	Брой (%)	Брой (%)
Липсват	14 (93,3)	13 (37,1)	27 (54,0)
Присъстват	1 (6,8)	22 (62,9)	23 (46,0)
<b>Общо</b>	<b>15 (100,0)</b>	<b>35 (100,0)</b>	<b>50 (100,0)</b>

Показател:  $p < 0,001$

*Таблица 19. Сравнение между степента на диференциация и периневралната инвазия при неавансиралите карциноми*

Gleason score	ПНИ -		ПНИ +		Общо	
	Брой	%	Брой	%	Брой	%
6	7	46,7%	3	8,6%	10	20,0%
7	6	40,0%	20	57,1%	26	52,0%
8	2	13,3%	5	14,3%	7	14,0%
9 и 10	0	0,0%	7	20,0%	7	14,0%
<b>Общо</b>	<b>15</b>	<b>100%</b>	<b>35</b>	<b>100%</b>	<b>50</b>	<b>100%</b>

Показател:  $p = 0,011$

В групата на неавансиралите карциноми, сравнителният анализ между Gleason score и периневралната инвазия показва

зависимост между двете променливи ( $p=0,011$ ). От 15-те случая без перинеурална инвазия, най-много бяха тези с Gleason score 6 – 7 (46,7%) случая, следвани от тези с Gleason score 7 – 6 (40,0%) случая и Gleason score 8 – 2 (13,3%) случая. В групата на карциномите без ПНИ нямаше случаи с Gleason score 9 и 10. При неавансиралите карциноми с перинеурална инвазия най-много бяха тези с Gleason score 7 – 20 (57,1%), следвани от общия Gleason score 9 и 10 – 7 (20,0%) случая. Gleason score 8 се установи при 5 (14,3%) случая и само при 3 (8,6%) случая имаше Gleason score 6 (**Таблица 19**).

При по-голямата част от туморите - 18 (66,7%) случая, които бяха в патологичен стадий T2 липсваха морфологични данни за крибриформен модел на растеж. Този модел на растеж не се откри в 9 (39,1%) от туморите в по-напреднал патологичен стадий (T3 и T4), но разликата не бе статистически значима ( $p=0,052$ ). (**Таблица 20**)

**Таблица 20.** *Зависимост между крибриформния модел на растеж и T-стадия при неавансирани карциноми*

	<b>T-стадий</b>		Общо
	T2	T3, T4	
<b>Крибриформни структури</b>	Брой (%)	Брой (%)	Брой (%)
Липсват	18 (66,7)	9 (39,1)	27 (54,0)
Присъстват	9 (33,3)	14 (60,9)	23 (46,0)
<b>Общо</b>	<b>27 (100,0)</b>	<b>23 (100,0)</b>	<b>50 (100,0)</b>

**Показател:**  $p=0,052$

Сравнителният анализ между „Gleason score” и „T-стадия“ установи статистически значима разлика между двете променливи ( $p=0,035$ ). Gleason score 6 се срещаше по-често при T2 стадий - 7 (25,9%) случая, докато случите в T3+T4 стадий бяха

3 (13,0%). Gleason score 8 и 9 се срещаше по-често при T3+T4 стадий в сравнение с T2 стадия, съответно в 9 (39,1%) случая и 5 (18,1%) случая. Gleason score 7 в T2 стадий имаше в 15 (55,6%) случая и в 11 (47,8%) в T3+T4 стадий (**Таблица 21**).

**Таблица 21.** Степен на туморна диференциация „Gleason score” в зависимост от „T-стадия“

	Т стадий		Общо
	T2	T3, T4	
<b>Gleason score</b>	Брой (%)	Брой (%)	Брой (%)
6	7 (25,9)	3 (13,0)	10 (20,0)
7	15 (55,6)	11 (47,8)	26 (52,0)
8, 9	5 (18,1)	9 (39,1)	14 (28,0)
<b>Общо</b>	<b>27 (100,0)</b>	<b>23 (100,0)</b>	<b>50 (100,0)</b>

**Показател:**  $p=0,035$

Изследването на двете променливи в групата на неавансиралите тумори показва, че при карциномите с по-напреднал T-стадий честотата на перинеуралната инвазия е 87,0% и тя е значително по-висока от тази при туморите с по-ранен T-стадий (13,0%) (**Таблица 22**).

**Таблица 22.** Зависимост между перинеуралната инвазия и T-стадия при неавансиралите карциноми

	T-стадий		Общо
	T2	T3, T4	
<b>ПНИ</b>	Брой (%)	Брой (%)	Брой (%)
ПНИ (-)	12 (44,4)	3 (13,0)	15 (30,0)
ПНИ (+)	15 (55,6)	20 (87,0)	35 (70,0)
<b>Общо</b>	<b>(100,0)</b>	<b>(100,0)</b>	<b>50 (100,0)</b>

**Показател:**  $p=0,016$



**Сравнителен анализ между морфологични параметри при пациентите с авансирал карцином на простатната жлеза**

При сравняване на двете променливи: „крибриформен модел на растеж“ и „перинеурална инвазия“ в групата на авансиралите тумори не се установи статистическа значима зависимост между тях. В групата на авансиралите простатни карциноми присъствието на крибриформени структури беше често в сравнение с липсата им, както при 13-те карцинома без перинеурална инвазия (61,5%), така и при 28-те тумора с перинеурална инвазия (78,6%) (**Таблица 23**).

*Таблица 23. Зависимост между крибриформения строеж и ПНИ при авансиралите тумори*

	ПНИ		Общо
	ПНИ (-)	ПНИ (+)	
<b>Крибриформени структури</b>	Брой (%)	Брой (%)	Брой (%)
Липсват	5 (38,5)	6 (21,4)	11 (26,8)
Присъстват	8 (61,5)	22 (78,6)	30 (73,2)
<b>Общо</b>	<b>13 (100,0)</b>	<b>28 (100,0)</b>	<b>41 (100,0)</b>

**Показател:**  $p=0,252$

При авансиралите простатни карцинома, сравнителният анализ между Gleason score и перинеуралната инвазия не показва зависимост между двете променливи ( $p=0,385$ ). При туморите с перинеурална инвазия и без перинеурална инвазия, преобладаваше високият Gleason score 9 и 10, съответно в 6 (46,2%) случая без перинеурална инвазия и 15 (53,6%) случая с перинеурална инвазия (**Таблица 24**).

**Таблица 24.** Сравнение между Gleason score и перинеуралната инвазия при авансирани карциноми

Gleason score	ПНИ -		ПНИ +		Общо	
	Брой	%	Брой	%	Брой	%
6	1	7,7%	0	0,0%	1	2,4%
7	2	15,4%	2	7,1%	4	9,8%
8	4	30,8%	11	39,2%	15	36,6%
9 и 10	6	46,2%	15	53,6%	21	51,2%
<b>Общо</b>	<b>13</b>	<b>100,0%</b>	<b>28</b>	<b>100,0%</b>	<b>41</b>	<b>100,0%</b>

Стойност:  $p = 0,385$

**Сравнителен анализ на данните между променливите „Крибриформен модел на растеж“ и „М-стадия“ при неавансирани и авансирани простатни карциноми**

Анализът на данните между двете променливи величини показва, че честотата на крибриформения модел на растеж е висока при авансиралите тумори, отколкото при неавансиралите и разликата е статистически значима ( $p=0,009$ ). При неавансиралите карциноми липсата на крибриформени структури се среща по-често в сравнение с присъствието им (54% срещу 46%). При авансиралите тумори преобладаваха туморите с крибриформен строеж (73,2%) и те бяха почти 3 пъти повече от туморите без такъв растеж (26,8%) (Таблица 25).

*Таблица 25. Зависимост между крибриформения модел на растеж и М-стадия*

	М-стадий		Общо
	М0	М1	
<b>Крибриформени структури</b>	Брой (%)	Брой (%)	Брой (%)
Присъстват	27 (54,0)	11 (26,8)	38 (41,8)
Липсват	23 (46,0)	30 (73,2)	53 (58,2)
<b>Общо</b>	<b>50 (100,0)</b>	<b>41 (100,0)</b>	<b>91 (100,0)</b>

Показател:  $p=0,009$

### **Сравнителен анализ между Gleason score и М статуса на пациентите с простатен карцином**

Сравнителният анализ между Gleason score и М стадия при пациентите с простатен карцином показва статистически значима зависимост между двете променливи ( $p<0,001$ ) (Таблица 26).

*Таблица 26. Сравнение между Gleason score и М1 статуса на пациентите с авансирал простатен карцином*

Gleason score	Пациенти с М0 стадий		Пациенти с М1 стадий		Общо	
	Брой	%	Брой	%	Брой	%
6	10	20,0%	1	2,4%	11	12,1%
7	26	52,0%	4	9,8%	30	33,0%
8	7	14,0%	15	36,6%	22	24,2%
9	6	12,0%	16	39%	22	24,2%
10	1	2,0%	5	12,2%	6	6,6%
<b>Общо</b>	<b>50</b>	<b>100%</b>	<b>41</b>	<b>100%</b>	<b>91</b>	<b>100%</b>

Стойност:  $p<0,001$

При неавансиралите карциноми преобладава Gleason score 7 – 26 (52,0%) случая, докато при пациентите с далечни метастази най-разпространен е Gleason score 9 – 16 (39,0%) случая, следван от Gleason score 8 – 15 (36,6%) случая. Gleason score 6 се среща при 10 (20,0%) случая с неавансирал карцином и само при 1 (2,4%) случай карциномът е в M1 стадий. Gleason score 8, 9 и 10 се срещат при неавансиралите карциноми съответно в 7 (14,0%) случая, 6 (12,0%) случая и 1 (2,0%) случай. Gleason score 7 и 10 при карциномите с далечни метастази се установиха съответно в 4 (9,8%) и 5 (12,2%) случая.

#### **Анализ на зависимостта между перинеуралната инвазия и M-стадия на пациентите**

При анализ на наличието на перинеурална инвазия при пациентите с карцином на простатата не установихме зависимост между перинеуралната инвазия и наличието на далечни метастази. Перинеуралната инвазия имаше сходно преобладаване и в двете групи тумори: тя се отчете в 70,0% от неавансиралите тумори и в 68,3% от туморите с далечни метастази (**Таблица 27**).

**Таблица 27.** Зависимост между перинеуралната инвазия и M-стадия

	<b>M-стадий</b>		Общо
	M0	M1	
<b>ПНИ</b>	Брой (%)	Брой (%)	Брой (%)
ПНИ (-)	15 (30,0)	13 (31,7)	28 (30,8)
ПНИ (+)	35 (70,0)	28 (68,3)	63 (69,2)
<b>Общо</b>	<b>50 (100,0)</b>	<b>41 (100,0)</b>	<b>91 (100,0)</b>

**Показател:**  $p=0,861$

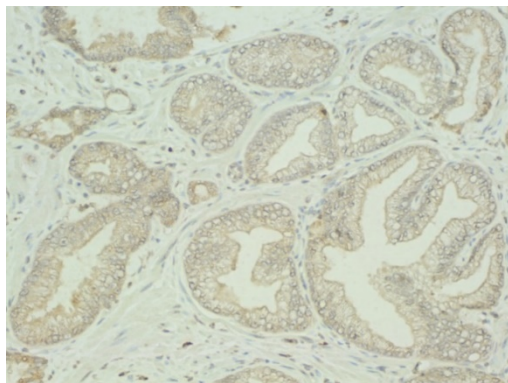
### **Анализ на средните стойности на цитоплазмена експресия на CD9 при неавансирал и авансирал карцином и ДПХ**

Най-високи средни нива на цитоплазмена експресия на CD9 се установиха в групата на ДПХ ( $91,40 \pm 57,39$ ). При карциномите стойностите бяха по-ниски, съответно  $91,40 \pm 57,39$  за неавансирал карцином и  $96,95 \pm 54,91$  за авансиралите тумори, но няма статистически значима разлика ( $p=0,314$ ) (**Таблица 28, Фигури 16-18**)

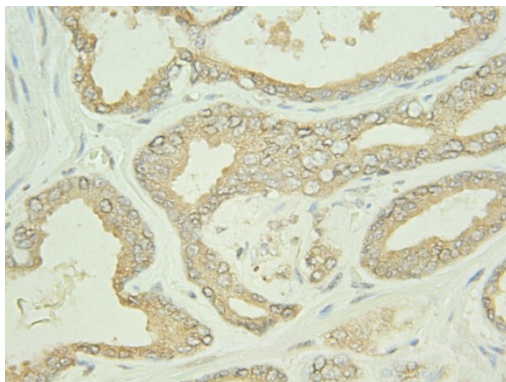
*Таблица 28. Средни стойности на цитоплазмена експресия на CD9 в трите изследвани групи пациенти*

<b>Група</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна стойност</b>	<b>Стандартно отклонение</b>
Карцином M0	50	91,40	57,39
Карцином M1	41	96,95	54,97
ДПХ	10	120,00	18,71
<b>Общо</b>	<b>101</b>	<b>96,49</b>	<b>54,06</b>

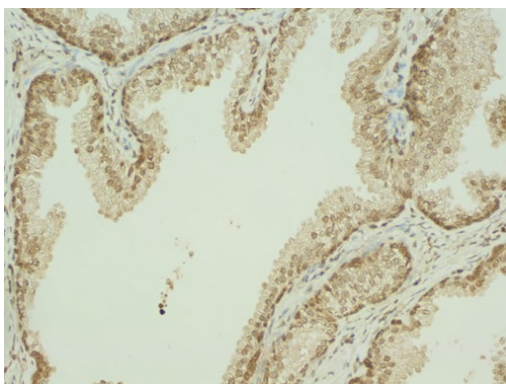
Стойност:  $p=0,314$



*Фигура 16. Цитоплазмена експресия на CD9 в неавансирал карцином,  $\times 100$*



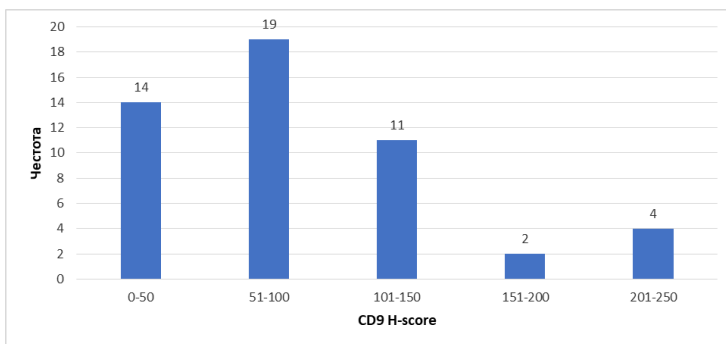
**Фигура 17.** Цитоплазмена експресия на CD9 в авансирал карцином, x200



**Фигура 18.** Цитоплазмена експресия в доброкачествени жлези, x200

### **Имунохистохимична експресия на CD9 при неавансирал карцином на простатната жлеза**

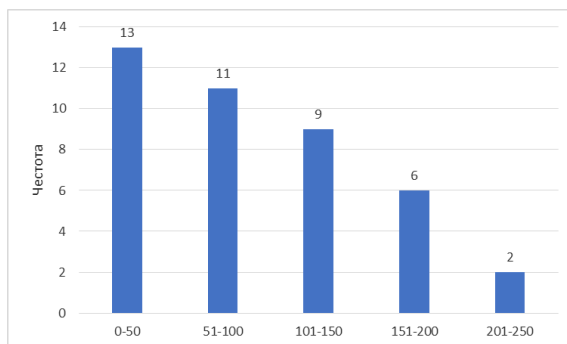
Разпределението на неавансиралите карциноми на простатната жлеза според нивата на експресия на CD9, изчислени на базата на H-score е както следва: 14 (28%) случая с H-score 0-50, 19 (38%) с 51-100, 11 (22%) с 101-150, 2 (4%) с 151-200, 4 (8%) с 201-250 (Фигура 19).



**Фигура 19.** Нива на експресия на CD9 при неавансиралите карциноми според H-score.

### **Имунохистохимична експресия на CD9 при авансирал карцином на простатната жлеза**

Разпределението на авансиралите карциноми на простатната жлеза според нивата на експресия на CD9, изчислени на базата на H-score е както следва: 13 (31,7%) случая с H-score 0-50, 11 (26,8%) с 51-100, 9 (22%) с 101-150, 6 (14,6%) с 151-200, 2 (4,9%) с 201-250 (**Фигура 20**).



**Фигура 20.** Нива на експресия на CD9 при авансиралите карциноми според H-score.

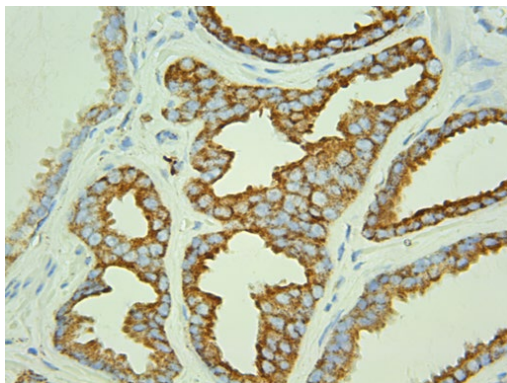
### **Анализ на средните стойности на цитоплазмена експресия на CD151 при неавансирал и авансирал карцином и ДПХ**

Изследването на средните стойности между тези групи показва най-високи нива при авансиралите карциноми (203,05±61,41), но разликата не бе статистически значима (p=0,325). Най-ниско беше средното ниво в групата на ДПХ – 181,50±26,88 (Таблица 29, Фигури 21-23).

*Таблица 29. Средни стойности на цитоплазмена експресия на CD151 в трите групи пациенти*

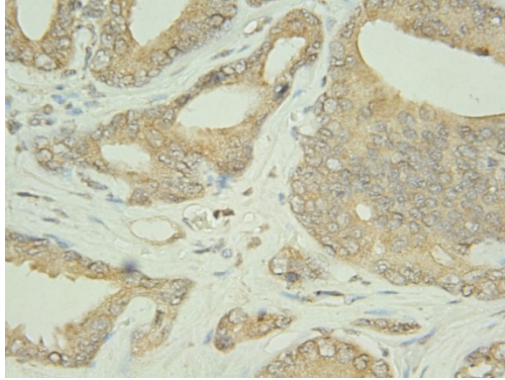
<b>Група</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна стойност</b>	<b>Стандартно отклонение</b>
M0	50	184,40	68,57
M1	41	203,05	61,41
ДПХ	10	181,50	26,88
<b>Общо</b>	<b>101</b>	<b>191,68</b>	<b>62,99</b>

Показател: p=0,325

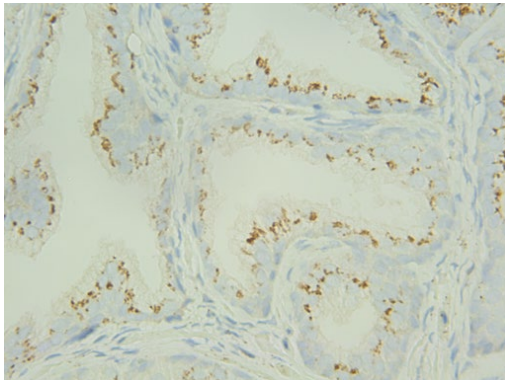


*Фигура 21. Цитоплазмена експресия на CD151 при авансирал карцином, x200*





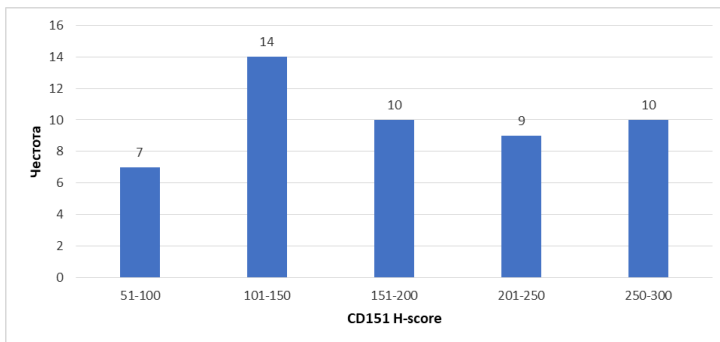
**Фигура 22.** Цитоплазмена експресия на CD151 при неавансирал карцином, x200



**Фигура 23.** Цитоплазмена експресия на CD151 при доброкачествени жлези, x200

### **Имунохистохимична експресия на CD151 при неавансирал карцином на простатната жлеза**

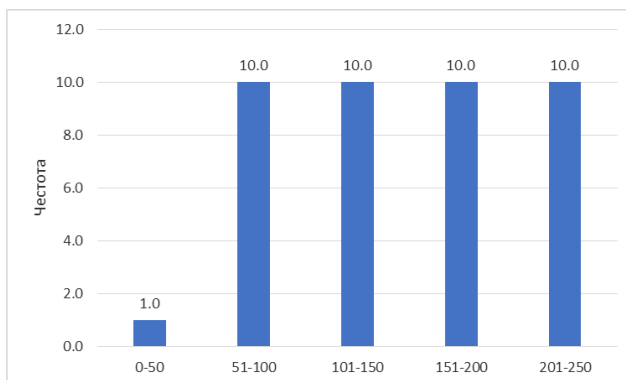
Изследването на експресията на CD151 показва, че няма карциноми без експресия (0%), 7 (14%) са с H-score 51-100, 14 (28%) със 101-150, 10 (20%) със 151-200, 9 (18%) с 201-250 и 10 (20%) с 250-300 (Фигура 24).



**Фигура 24.** Нива на експресия на CD151 при неавансирал карциноми според H-score.

### **Имунохистохимична експресия на CD151 при авансирал карцином на простатната жлеза**

Според оценката спрямо експресията на CD151 в групата на авансиралите карциноми се установи следното разпределение: нямаше случаи без експресия, 1 (2,4%) е с H-score 51-100, 10 (24,4%) със 101-150, 10 (24,4%) със 151-200, 10 (24,4%) с 201-250 и 10 (24,4%) с 250-300 (**Фигура 25**).



**Фигура 25.** Нива на експресия на CD151 при авансирал карциноми според H-score.

**Имунохистохимичната експресия на CD9 и CD151 във връзка с клинично-морфологичните показатели при неавансирал и авансирал карцином на простатната жлеза**

**Сравнителен анализ на данните между възрастта и експресията на CD9**

При сравнителния анализ между променливите: възраст и експресия на CD9 в групата на неавансиралите карциноми се установи понижаване на стойностите на CD9 при пациентите над 70-годишна възраст, което бе статистически значимо ( $p=0,012$ ). При карциномите с далечни метастази статистически значима зависимост не бе установена ( $p=0,542$ ) (**Таблица 30**).

*Таблица 30. Зависимост между променливите „възраст“ и „CD9“ в групите на неавансиралите и авансиралите карциноми*

Група	Брой (n)	CD 9 score	
<b>Неавансирали</b>		Средно (СО)	p
до 70 г.	23	113,0 (64,49)	<b>0,012</b>
70 +	27	72,9 (43,84)	
Общо	50	91,4 (57,4)	
<b>Авансирали</b>			
до 70 г.	20	91,5 (54,0)	0,542
70 +	21	102,1 (56,7)	
Общо	41	97,0 (55,0)	

**Показатели:**  $p=0,012$ ;  $p=0,542$

Средното ниво на CD9 в неавансиралата група беше 113,0 за пациенти под 70 години и 72,9 за пациентите над 70-годишна възраст. В авансиралата група разпределението бе съответно 91,5 срещу 102,1 в двете възрастови групи.

## Сравнителен анализ на данните между възрастта и експресията на CD151

При сравнителния анализ на променливите: възрастта и CD151 H-score не се откри статистически значима зависимост между изследваните групи (Таблица 31).

*Таблица 31. Зависимост между променливите „възраст“ и „CD151“ в групите на неавансиралите и авансиралите карциноми*

Група	n	CD 151 score	
<b>Неавансирали</b>		Средно (СО)	p
до 70 г.	23	182,2 (66,7)	0,835
70 +	27	186,3 (71,4)	
Общо	50	184,4 (68,6)	
<b>Авансирали</b>			
до 70 г.	20	201,8 (66,6)	0,897
70 +	21	204,3 (57,7)	
Общо	41	203,1 (61,4)	

**Показатели:** p=0,835; p=0,897

Средната стойност на CD151 в групата на неавансиралите тумори при пациентите под 70-годишна възраст беше 182,2, докато при по-възрастните пациенти тази стойност бе малко по-висока – 186,3 (p=0,835). Установихме сходно разпределение и в групата на авансиралите карциноми – съответно 201,8 и 204,3 (p=0,897).

**Имунохистохимичната експресия на CD9 във връзка с морфологичните показатели при неавансирал карцином на простатната жлеза**

В групата на неавансиралите карциноми не се установи статистически значима зависимост между крибриформния модел на растеж и нивата на цитоплазмена експресия на CD9 ( $p=0,762$ ). Средните нива на CD9 бяха по-високи при тумори без крибриформни структури ( $93,70 \pm 57,79$ ), отколкото при тези с присъствие на крибриформен модел на растеж ( $88,70 \pm 58,10$ ) (Таблица 32).

*Таблица 32. Зависимост между крибриформен строеж и цитоплазмена експресия на CD9 при неавансиралите тумори*

<b>Крибриформен строеж</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна стойност</b>	<b>Стандартно отклонение</b>
Не	27	93,70	57,79
Да	23	88,70	58,10
<b>Общо</b>	<b>50</b>	<b>91,40</b>	<b>57,39</b>

Показател:  $p=0,762$

В групата на неавансиралите карциноми не се установи зависимост между туморната диференциация по Gleason score и нивата на CD9 ( $p=0,054$ ) (Таблица 33).

**Таблица 33.** Средна стойност на CD9 в зависимост от Gleason score при неавансирал карцином

<b>Gleason score</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна Стойност</b>	<b>Стандартно отклонение</b>
6	10	64,00	25,91
7	26	112,31	65,13
8	7	67,14	37,29
9 и 10	7	77,14	52,51
<b>Общо</b>	<b>50</b>	<b>91,40</b>	<b>57,39</b>

Показател:  $p=0,054$

При туморите с ПНИ средните стойности на експресия на CD9 бяха по-високи ( $102,86 \pm 57,12$ ) в сравнение тумори без ПНИ ( $64,67 \pm 50,12$ ), и разликата е статистически значима ( $p=0,030$ ) (Таблица 34).

**Таблица 34.** Средни стойности на CD9 в зависимост от перинеуралната инвазия при тумори без далечни метастази

<b>ПНИ</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна стойност</b>	<b>Стандартно отклонение</b>
ПНИ (-)	15	64,67	50,12
ПНИ (+)	35	102,86	57,12
<b>Общо</b>	<b>50</b>	<b>91,40</b>	<b>57,39</b>

Показател:  $p=0,030$

**Имунохистохимична експресия на CD9 във връзка с морфологичните показатели при авансирал карцином**

При авансиралите тумори не се установи зависимост между двете променливи величини: крибриформен модел на растеж и цитоплазмената експресия на CD9 в туморната тъкан на простатния карцином. Средната стойност на CD9 при 11-те

авансирани тумора без крибриформен модел бе  $78,18 \pm 54,73$  и тя бе по-ниска, отколкото при 30-те тумора с крибриформени структури ( $103,83 \pm 54,32$ ), но разликата не бе статистически значима ( $p=0,189$ ) (**Таблица 35**).

*Таблица 35. Зависимост между крибриформения модел на растеж и цитоплазмената експресия на CD9 при авансиралите тумори.*

<b>Крибриформен модел</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна стойност</b>	<b>Стандартно отклонение</b>
Присъства	11	78,18	54,73
Отсъства	30	103,83	54,32
<b>Общо</b>	<b>41</b>	<b>96,95</b>	<b>54,96</b>

**Показател:**  $p=0,189$

В групата на авансиралите тумори не се установи зависимост между цитоплазмената експресия на CD9 и степента на туморна диференциация ( $p=0,44$ ) (**Таблица 36**).

*Таблица 36. Средни стойности на цитоплазмена експресия на CD9 в според степента на диференциация при авансирани карциноми*

<b>Gleason score</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна Стойност</b>	<b>Стандартно отклонение</b>
6	1	20,00	
7	4	77,50	41,13
8	15	104,67	49,08
9 и 10	21	98,81	60,68
<b>Общо</b>	<b>41</b>	<b>96,95</b>	<b>54,96</b>

**Показател:**  $p=0,44$

Анализът на средните стойности на цитоплазмената експресия на CD9 при туморите с далечни метастази не показва статистическа зависимост с периневралната инвазия ( $p=0,488$ ). Средната стойност на CD9 при липса периневрална инвазия е  $88,08 \pm 53,91$ , а при карциномите с периневрална инвазия е  $101,07 \pm 55,93$  (Таблица 37).

*Таблица 37. Средни стойности на нивата на цитоплазмена експресия на CD9 в зависимост от периневралната инвазия в групата на авансиралите тумори*

<b>ПНИ</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна стойност</b>	<b>Стандартно отклонение</b>
ПНИ (-)	13	88,08	53,91
ПНИ (+)	28	101,07	55,93
<b>Общо</b>	<b>41</b>	<b>96,95</b>	<b>54,97</b>

Показател:  $p=0,488$

#### **Имунохистохимична експресия на CD151 във връзка с морфологичните показатели при неавансирал карцином**

При сравняване на променливите „крибриформен строеж“ и „CD151“ в групата на туморите без далечни метастази се установи по-висока средна стойност на цитоплазмената експресия при карциномите с крибриформен модел –  $206,30 \pm 67,25$ , отколкото при тези без такива структури ( $165,74 \pm 65,17$ ) и разлика бе статистически значима ( $p=0,036$ ) (Таблица 38).



**Таблица 38.** Зависимост между крибриформения строеж и цитоплазмената експресия на CD151 при неавансиралите тумори

<b>Крибриформен строеж</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна стойност</b>	<b>Стандартно отклонение</b>
Не	27	165,74	65,17
Да	23	206,30	67,25
<b>Общо</b>	<b>50</b>	<b>184,40</b>	<b>68,56</b>

**Показател:**  $p=0,036$

Сравнителният анализ между „Gleason score” и “CD151” показва зависимост между двете променливи в групата на неавансиралите тумори ( $p=0,045$ ). При туморите с Gleason score 6 средната стойност на CD151 бе най-ниска – 134,00. Най-висока беше средната стойност при туморите с интермедиерен Gleason score – 203,85. При нискодиференцираните карциноми средните стойности бяха 174,29 за Gleason score 8 и 194,29 за Gleason score 9 и 10 (Таблица 39).

**Таблица 39.** Средна стойност на CD151 в зависимост от Gleason score при неавансирал карцином

<b>Gleason score</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна стойност</b>	<b>Стандартно отклонение</b>
6	10	134,00	55,01
7	26	203,85	55,62
8	7	174,29	75,24
9 и 10	7	194,29	95,89
<b>Общо</b>	<b>50</b>	<b>184,40</b>	<b>68,56</b>

**Показател:**  $p=0,045$

При туморите без далечни метастази анализът показва висока средна стойност на цитоплазмена експресия на CD151 в карциномите с перинеурална инвазия ( $197,86 \pm 69,08$ ), отколкото при карциномите, при които липсваше подобна морфологична находка ( $153,00 \pm 57,94$ ) и разликата бе статистически значима ( $p=0,033$ ) (Таблица 40).

*Таблица 40. Средни стойности на цитоплазмената експресия на CD151 в зависимост от перинеуралната инвазия при неавансиралите тумори*

<b>ПНИ</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна стойност</b>	<b>Стандартно отклонение</b>
ПНИ (-)	15	153,00	57,94
ПНИ (+)	35	197,86	69,08
<b>Общо</b>	<b>50</b>	<b>184,40</b>	<b>68,57</b>

Показател:  $p=0,033$

### **Имунохистохимичната експресия на CD151 във връзка с морфологичните показатели при авансирал карцином на простатната жлеза**

При сравняването на двете променливи величини: модел на растеж и цитоплазмената експресия CD151 в групата на туморите с далечни метастази не се установи статистически значима зависимост ( $p=0,132$ ). Средната стойност на експресия на CD151 при туморите без крибриформен модел бе  $179,10 \pm 46,78$ , а при авансиралите карциноми с крибриформени структури бе  $211,8 \pm 64,41$  (Таблица 41).

**Таблица 41.** Зависимост между крибриформния модел на растеж и цитоплазмената експресия на CD151 при авансиралите тумори

<b>Крибриформен строеж</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна стойност</b>	<b>Стандартно отклонение</b>
Не	11	179,10	46,78
Да	30	211,83	64,41
<b>Общо</b>	<b>41</b>	<b>203,05</b>	<b>61,40</b>

Показател:  $p=0,132$

В групата на авансиралите тумори не се установи зависимост между цитоплазмената експресия на CD151 и степента на туморна диференциация ( $p=0,59$ ) (Таблица 42).

**Таблица 42.** Средни стойности на цитоплазмена експресия на CD151 според степента на диференциация при авансиралите тумори

<b>Gleason score</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна Стойност</b>	<b>Стандартно отклонение</b>
6	1	160,00	
7	4	180,00	73,48
8	15	217,67	57,47
9 и 10	21	199,05	63,59
<b>Общо</b>	<b>41</b>	<b>203,05</b>	<b>61,40</b>

Показател:  $p=0,59$

При авансиралите карциноми CD9 показва по-интензивна цитоплазмена експресия ( $215,71 \pm 67,57$ ) при присъствие на перинеурална инвазия в сравнение със случаите, при които подобна хистологична находка липсваше ( $175,77 \pm 67,570$ ), но разликата не бе статистически значима ( $p=0,051$ ) (Таблица 43).

*Таблица 43. Средни стойности на цитоплазмената експресия на CD151 според периневралната инвазия при авансиралите тумори*

<b>ПНИ</b>	<b>Брой (n)</b>	<b>Средна стойност</b>	<b>Стандартно отклонение</b>
ПНИ (-)	13	175,77	67,57
ПНИ (+)	28	215,71	55,07
<b>Общо</b>	<b>41</b>	<b>203,05</b>	<b>61,41</b>

Показател:  $p=0,051$

## ОБСЪЖДАНЕ

При настоящето изследване средната възраст на пациентите с простатен карцином по време на поставяне на диагнозата е  $69,39 \pm 7,98$  години. Получените от нас данни не се различават от тези на MacKintosh FR et al. (2016), които при мащабно проучване, включващо 230 081 мъже с простатен карцином установяват средна възраст на техните пациенти от 70,7 години. Разпределението по възрастови групи при тяхното изследване е както следва: 70-79 години - 36%, 60-69 години - 32%, по-малък дял се пада на пациентите между 80 и 89 години - 17% и най-малко са пациентите във интервала 50-59 години - 15%. Независимо от малкия брой изследвани пациенти, настоящото проучване показва сходно възрастово разпределение. По-голямата част от пациентите бяха на възраст 70-79 и 60-69 години, съответно 41,76% и 40,66%, а най-възрастните и най-младите пациенти имаха най-малък относителен дял в изследваната група: 10,99% от пациентите с карцином бяха на възраст над 80 години и едва 6,59% бяха до 60-годишна възраст.

Статистическа зависимост между възрастта и Gleason score  $<8$  или  $\geq 8$  не бе установена ( $p=0,202$ ). При пациентите с неавансирал простатен карцином също нямаше статистическа зависимост между възрастта и Gleason score ( $<8$  и  $\geq 8$ ). Единствено зависимост между двете променливи беше установена при пациентите с авансирал простатен карцином: Gleason score показва тенденция към увеличаване с напредване на възрастта ( $p=0,023$ ). При авансиралите простатни карциноми Gleason score по-малък от 8 се среща предимно при пациентите под 69 години (до 59 години – 40% от случаите, между 60-69 години 40% от случаите, 20% във възрастта 70-79 години). При пациентите над 80-годишна възраст нямаше нито един с Gleason score  $<8$ . Карциномите с висок Gleason score  $\geq 8$  и в M1 стадий се

срещаха предимно при по-възрастните пациенти. Във възрастовите групи 60-69 години и 70-79 години пациентите с висок Gleason score бяха по 41,7%, а при най-възрастните пациенти относителният дял беше 13,9%.

От шестимата пациенти с простатен карцином на възраст под 60 години, само при един имаше Gleason score 9 и той беше с далечни метастази. Независимо от малкия брой пациенти във възрастовата група до 60 години, настоящото изследване показва, че при младата възраст простатният карцином се открива в по-ранен стадий, преди да е дал далечни метастази по време на поставяне на диагнозата. Подобни резултати са получили и Scosyrev E et al (2012), които установяват, че в сравнение с пациентите под 75 години, тези над 75-годишна възраст по време на поставяне на диагнозата са с авансирало заболяване и почти в половината от случаите пациентите имат далечни метастази. Най-младите пациенти в това изследване са с Gleason score под 8 и значително по-малка част от тях са имали  $GS \geq 8$ . При настоящото изследване младите пациенти, под 60 години с нисък GS бяха 12,2%, докато в същата възрастова група с висок Gleason score са 2% от пациентите, което е в подкрепа на тезата, че карциномите на простатната жлеза, развили се на по-ранна възраст, имат вероятност да са с по-нисък Gleason score и да показват по-слаба агресивност.

Изследването на MacKintosh et al. (2016) показва, че PSA по време на диагнозата при мъже на възраст между 70–89 години е по-висок ( $PSA=33,3$ ) отколкото при мъже на възраст 50–69 years ( $PSA=19,0$ ). В настоящото изследване в групата на неавансиралите тумори PSA беше по-висок при пациентите над 70-годишна възраст ( $67 \pm 228,06$  ng/mL) в сравнение с пациентите под 70 години ( $13,5 \pm 8,01$  ng/mL). Ние установихме също, че средните стойности на PSA при карциномите с далечни метастази са много по-високи, отколкото при неавансиралите тумори

(289,1±850,2 ng/mL срещу 41,5±165,4 ng/mL). Според нас, високите стойности на PSA се срещат при авансирал простатен карцином и имат прогностично значение. Получените от нас резултати не се различават от тези на MacKintosh et al. (2016), които установяват, че 54,6% от починалите във връзка с простатния карцином в рамките на 10 години след поставянето на диагнозата са били с високи нива на PSA ( $\geq 10$  ng/mL), а 39% са били с още по-високи нива ( $\geq 20$  ng/mL).

В настоящото проучване пациентите с простатен карцином с далечни метастази имаха много по-високи средни стойности на PSA (115,70±107,49 ng/mL) в сравнение с пациентите с неавансирани карциноми (17,27±18,07 ng/mL) ( $p < 0,001$ ). Статистически значима разлика между PSA и туморният стадий в групата на неавансиралите карциноми не се установи ( $p = 0,424$ ). Средните стойности на PSA при туморите в T2-стадий бяха с малко по-ниски от средните стойности на серумния маркер при неоплазмите с по-агресивно локално разпространение (T3 и T4 взети заедно) (съответно 15,32 ng/mL срещу 19,71 ng/mL).

Ние установихме, че средните стойности на PSA при неавансиралите карциноми корелираха значимо със степента на туморна диференциация ( $p = 0,002$ ). При туморите в M1 стадий подобна зависимост не бе установена ( $p = 0,425$ ), което беше очаквано, поради сравнително високите стойности на PSA сред всички авансирани карциноми. Получените от нас резултати се различават от данните на Iwamoto H et al. (2018), които установяват зависимост между PSA и T-стадия, но от друга страна те подобно на нас откриват зависимост между PSA и степента на туморна диференциация. Според нас, липсата на зависимост между PSA и T стадия на простатния карцином при настоящото изследване може да се обясни със сравнително малкия брой случаи на простатен карцином, включени в проучването. Изследването на Iwamoto H et al. (2018) е било

осъществено върху 1873 пациента с простатен карцином. Според авторите, PSA е полезен прогностичен биомаркер за общата преживяемост при пациенти с простатен карцином при нива на PSA между 20 и 70 ng/mL. При стойности на PSA над 70 ng/mL прогнозата е изключително лоша и над тези стойности PSA няма прогностично значение. Подобно на авторите, при M1 стадия на простатния карцином ние също установихме изключително високи стойности на PSA.

Ние установихме, че при M1 стадия стойностите на PSA в 77,14% от случаите са над 50,00 ng/mL, докато при M0 стадия те са само 8,70%. Сравнителният анализ на PSA при неавансирания карцином на простатната жлеза с клинично-морфологичните параметри показва зависимост от редица морфологични категории като крибриформния модел на туморен растеж ( $p=0,017$ ), Gleason score ( $p=0,002$ ) и перинеуралната инвазия ( $p=0,027$ ). Стойностите на PSA се повишават в присъствие на крибриформният модел на растеж на тумора, с увеличаване на Gleason score и с появата на перинеурална инвазия. Според нас, високите стойности на PSA над 50,00 ng/mL при M0 стадий на простатния карцином е показател и за други неблагоприятни морфологични прогностични фактори.

Моделът на туморен растеж при карцинома на простатната жлеза е въведен през 1974 г от Gleason (Gleason DF et al., 1974). Тази класификационната система се основава на архитектурата на туморните жлези, които показват подчертана морфологична хетерогенност. Терминът „крибриформен“ произлиза от латинската дума „cribrum“ (т.е. „сито“) и е въведен от Глисън, за да охарактеризира хистологичната находка от добре обособени солидни гнездни структури с формирани на лумени, изглеждащи „перфорирани“ без да са заобиколени от строма. При определяне на крибриформния модел на растеж ние се базираме на критериите на Глисън за крибриформен растеж, като от тази



категория бяха изключени т.н. „слети жлези“, които наподобяват крибриформен модел. Морфологичните критерии, насочващи към „слети жлези“ са комуникация на повечето от туморните клетки с прилежащата строма и линейната ориентация, вместо идеалната окръгленост на лумените.

Крибриформен модел на растеж ние установихме в 54% от случаите на неавансирал простатен карциноми и в 73,2% от случаите с авансирал карцином. Има проучвания, според които моделът на крибриформен растеж е с по-лоша прогноза и изход от тези на некрибриформените модели (Iczkowski KA et al., 2011; Dong F et al., 2013; Kweldam CF et al., 2015; Iczkowski KA et al., 2018).

Сред различните модели на туморен растеж, именно крибриформеният модел е обект на най-широката дискусия. Въпреки че в момента съществува концепция, че крибриформеният модел се свързва с по-лоша прогноза и клиничен отговор, неговата значимост и прогностична стойност все още не са напълно изяснени. Една от причините е, че в GP4 освен крибриформен модел, попадат и некрибриформени модели: слети, недобре оформени и гломерулоидни жлезисти структури (Iczkowski KA et al., 2011; Dong F et al., 2013; Kweldam CF et al., 2015; Iczkowski KA et al., 2018). Малко на брой са изследванията, които оценяват индивидуалната прогнозна стойност на четирите начина на растеж, отнасящи се към GP4, в повечето случаи те се разглеждат и оценяват заедно (Efsthathiou E et al., 2010; Epstein J.I., 2010; Dong F et al., 2013; Hoogland AM et al., 2014).

За да оценим прогностичната стойност на крибриформеният модел на растеж, ние го анализирахме във връзка с туморния стадий. Получените от нас резултати показват, че при T2 стадий крибриформеният модел се среща в 33,3% от случаите, докато при стадиите T3+T4 е 60,9%. Крибриформеният

модел беше по-широко представен сред туморите с далечни метастази, отколкото сред неавансиралите тумори ( $p=0,009$ ). Ние подобно на другите автори считаме, че крибриформените структури са неблагоприятна хистологична находка и прогностичен маркер за далечни метастази.

Данните от литературата сочат, че некрибриформените морфологични модели, отговарящи на Gleason pattern 4, могат да имат индолентен растеж и това би могло да повлияе на бъдещото лечение. Мултиинституционалното и мащабно проучване на McKenney JK et al. (2016) върху 1275 радикални простатектомии, показва, че крибриформният модел е свързан със значително по-лоша прогноза в сравнение с другите тумори с GP4. Kweldam CF et al. (2016) установяват, че преживяемостта на пациенти с тумори с Gleason score 3+4 без крибриформни жлези е сходна с тази при Gleason score 6. Присъствието дори на минимално количество крибриформен модел намалява преживяемостта на пациентите с простатен карцином (Kweldam CF et al., 2016).

Ние установихме, че при неавансиралния карцином с крибриформен модел на растеж средната стойност на PSA е  $24,37 \pm 23,92$  и тя значително по-висока в сравнение със случаите, когато крибриформни структури липсваха –  $11,59 \pm 8,37$  ( $p=0,017$ ). При същата група тумори установихме статистически значима зависимост между крибриформен модел и присъствието на перинеурална инвазия ( $p=0,001$ ). Според нас, крибриформният модел на туморен растеж, изисква особено внимание и задължително отразяване в биопсичния отговор на простатния карцином особено при кор биопсии дори при площ на тумора под 5% поради неблагоприятното му прогностично значение.

Според Flood et al. (2016) перинеуралната инвазия при диагностична простатна биопсия е находка, присъща за локално авансирал карцином, но като прогностичен фактор тя отстъпва на

крибриформения модел на растеж при оценка на екстрапростатното разпространение преди извършване на радикалната простатектомия. В групата на простатните карциноми с далечни метастази ние не открихме зависимост между крибриформения модел и нивата на PSA ( $p=0,217$ ) и между крибриформения модел и перинеуралната инвазия ( $p=0,252$ ). Крибриформеният модел беше по-широко представен сред туморите с далечни метастази, отколкото сред неавансиралите тумори ( $p=0,009$ ).

Dong F et al. (2013) проследяват в продължение на 10 години 241 пациенти след радикална простатектомия по повод простатен карцином с Gleason grade 4 и установяват, че 13% от пациентите с крибриформен модел развиват метастази, докато метастази имат само 2,6% от случаите, когато липсват крибриформени структури. Авторите заключават, че крибриформеният модел е независим прогностичен фактор за биохимичен рецидив, както и за поява на метастази след радикална простатектомия. Тези резултати са потвърдени и от други автори (Trudel D et al. (2014), Kir G et al. 2014 и Ku JY et al. 2017), които също подкрепят тезата, че дори и минималната крибриформеност се свързва с повишаване на риска от биохимичен рецидив. Резултатите от настоящото проучване също са в подкрепа на тезата за по-агресивно протичане на простатните карциноми при крибриформен модел на растеж. Този модел на растеж беше по-широко представен сред туморите с далечни метастази, отколкото сред неавансиралите тумори и разликата беше статистически значима ( $p=0,009$ ).

През 2013 година Kryvenko ON et al. анализират крибриформения модел на туморен растеж във връзка с лимфонодуларния статус и установяват, че при крибриформен модел туморният обем е по-голям и има лимфонодуларни метастази. По-късно Harding-Jackson N и Kryvenko ON (2016)

сравняват простатни карциноми с Gleason score 4+4 и Gleason score 3+5 и установяват, че няма разлика в преживяемостта между двете групи, но в групата на Gleason score 4+4, пациентите с крибриформен модел имат по-ниска 3-годишна преживяемост в сравнение с пациентите при които липсва този модел. През 2020 г. Bernardino RM et al. анализират връзката на крибриформения модел с редица клиничко-морфологични показатели и установяват, че крибриформеният модел е асоцииран с по-високи стойности на предоперативни нива на PSA, с екстракапсулна екстензия и инвазия в семенните мехурчета и се явява неблагоприятен прогностичен фактор за биохимичен рецидив и пациентите се нуждаят от по-интензивна адювантна лъчетерапия.

Не всички автори приемат, че крибриформеният модел има значително влияние при карцинома на простатната жлеза. Flammia S et al. (2020) анализират данните, получени от диагностични биопсии и хирургични резекции от 210 пациента  $GS \geq 7/ISUP \text{ grade} \geq 2$  и не откриват зависимост между крибриформените структури и повечето изследвани параметри, като възраст, предоперативните стойности на PSA, локален стадий, диференциация и резекционни линии. Единствено обратна зависимост авторите установяват между присъствието на крибриформени структури и перинеуралната инвазия. Перинеуралната инвазия е била по-висока в групата без крибриформени структури в сравнение групата с крибриформен строеж на простатния карцином. При пациентите с перинеурална инвазия свободната, без биохимичен рецидив преживяемост е била по-висока при пациентите с крибриформени структури в сравнение със случаите, когато те са липсвали.

Получените от нас резултати са в подкрепа на хипотезата, че крибриформеният модел на туморен растеж е неблагоприятен прогностичен фактор, защото е асоцииран с високи стойности на PSA, перинеурална инвазия и далечни метастази.

CD9 е член на семейство тетраспанини, който се намира на клетъчната повърхност, свързва се с различни молекули и модифицира множество клетъчни събития, като клетъчна адхезия, миграция, инвазия и оцеляване (Murayama Y et al, 2015; Lorico A et al. 2021). Счита се, че експресията на CD9 играе роля в няколко етапа на канцерогенезата, участва при венозната инвазия и е асоциирана с лоша прогноза (Murayama Y et al. 2015). Въпреки многобройните съобщения за ефектите на CD9 върху клетъчната миграция, молекулярните механизми, управляващи този процес, стимулирани от CD9 все още не са изяснени напълно.

Данните от литературата сочат, че при повечето злокачествени тумори, експресията на CD9 в туморната тъкан има инхибиторен ефект в канцерогенезата и появата на метастази. Понижената експресия на CD9 се свързва с влошена прогноза при редица малигнени тумори: лобуларен карцином на гърда, меланом, белодробен и колоректален карцином, неоплазми на панкреас, яйчник и простата (Si Z & Hersey P, 1993; Higashiyama M et al. 1995; Mori M et al.1998; Sho M et al. 1998; Houle CD et al. 2002; Wang JC et al. 2007; Murayama Y et al, 2015; Baek J et al. 2019).

За разлика от тези тумори при плоскоклетъчния карцином на хранопровода, експресията на CD9 е повишена в сравнение с нормалния сквамозен епител на хранопровода (Huan J et al, 2015). При миши модел на простатен карцином, аблацията на ендогенния CD9 не е имала ефект при инициране на първичен тумор *de novo*, но значително увеличава метастазите в черния дроб, но не и в белите дробове (Copeland BT et al, 2013).

Резултатите от настоящото изследване показват, че експресията на CD9 е по-висока при неавансиралите карциноми на простатата при пациентите под 70-годишна възраст в сравнение възрастта над 70 години ( $p=0.012$ ). Не всички автори

установяват подобна зависимост между възрастта и експресията на CD9 при малигнените тумори. Липсва зависимост между експресията на CD9 и възрастта на пациентите при карцином на гърда и колоректален карцином, (Kim K et al. 2016; Baek J et al. 2019).

Ние установихме, че при ДПХ има най-интензивна цитоплазмена експресия, а нивата на експресия при авансиралите срещу неавансиралите карциноми бяха приблизително еднакви. Разликите между трите групи по този показател не бяха статистически значими ( $p=0.314$ ).

Получените от нас резултати се различават от тези на Wang et al. (2007), които прилагат четиристепенна скала за оценка на имунохистохимичната експресия при аденокарцином на простатната жлеза и установяват, че загубата на експресия на CD9 е свързана с прогресия на тумора и появата на метастази. Експресията на CD9 е добре изразена при неметастатично заболяване, докато при локално авансиране на карцинома и в метастазите експресията е редуцирана или липсва. Според нас не може да се изключи възможността редуцираната CD9 експресия при изследването на Wang et al. (2007) поне отчасти да се дължи на предоперативното хормонално лечение, което е проведено преди простатектомията.

Експресията на CD9 не показва зависимост от степента на туморната диференциация, определена чрез Gleason score, нито при неавансирани, нито при авансирани простатни карциноми. Получените данни не се различават от тези на Chuan Y et al., (2005), които изследват експресията на CD9 върху хистологични материали от простатна жлеза на 79 пациента. Авторите наблюдават имунореактивност на CD9 предимно по апикалните и латерални клетъчни граници на доброкачествените жлези, а базалните клетки не са били оцветени. При карцином луминалните клетки са били оцветени както по границите, така и

цитоплазмено, като оцветяването е било значително хетерогенно, от много интензивно в някои жлези до пълна липса в други. Този модел на неравномерно разпределение и ние наблюдавахме при голяма част от случаите с карцином, докато при ДПХ оцветяването беше предимно равномерно. Интересни са резултатите на същите автори, наблюдавали експресия на CD9 при пациенти, подложени на антиандрогенна терапия (Chuan Y et al., (2005). При тези пациенти е липсвала експресия на CD9 в луминалните клетки, но е имало слаба експресия в базалния епител. Нашето изследване не може да коментира тези находки, тъй като популацията от пациенти не включваше такива, претърпели андрогенна аблация.

Интересна и неочаквана находка при анализа на CD9 в туморната тъкан е по-интензивната експресия на анти тялото в случаите с перинеурална инвазия в групата на неавансиралите карциноми в сравнение с ПНИ-отрицателните тумори ( $p=0,030$ ). В литературата липсва подобен анализ при простатен карцином, но има при колоректален карцином, но там липсва статистическа значима зависимост (Kim KJ et al, 2016).

Зависимост не беше установена в експресията на CD9 във връзка с модела на крибриформен растеж както при авансиралите ( $p=0,189$ ), така и при неавансиралите тумори ( $p=0,762$ ).

Липсата на зависимост между експресията на CD9 и хистологичната диференциация определена чрез Gleason score и крибриформения модел е в подкрепа на тезата, че CD9 има слабо влияние за туморната прогресия при простатен карцином.

Ние установихме, че най-висока експресия на CD151 имаше при простатните карциноми с далечни метастази ( $203,05\pm 61,41$ ), следвана от простатните карциноми без далечни метастази ( $184,40\pm 68,57$ ) и най-ниска при ДПХ ( $181,50\pm 26,88$ ), но разликата не е статистически значима ( $p=0,325$ ). Тези данни се различават от тези на Ang J et al. (2004), които изследват

тъканната експресия на CD151 на 106 пациента, от които 30 с ДПХ и 76 с простатен карцином. Авторите установяват, че експресията в цитоплазмата на туморните клетки е значително по-изразена в сравнение с контролната група и разликата е статистически значима. Според нас, несъответствията в резултатите между двете изследвания могат да се дължат на различните прицелни групи пациенти. В настоящото изследване пациентите бяха разпределени в три групи: ДПХ, тумори с M0 и M1, докато при изследването на Ang J et al. (2004) всички карциноми на простатната жлеза се сравняват с експресията при ДПХ.

Анализирайки експресията на CD151 в туморната тъкан чрез H-score се установи, че туморната тъкан на всички карциноми от неавансирал и авансирал тип беше позитивна. CD151 е белтък на клетъчната мембрана, който влиза в състава на десмозомите, асоцииран е със злокачествените тумори и участва на всички етапи на прогресия на малигнените тумори и в процесите на метастазиране (Sadej R et al., 2014). Участието му е свързано с много видове неоплазми, включително на гърда, бели дробове, ендометриум и простата (Zhu, J et al., 2021; Li S et al., 2021; Sadej R et al., 2014; Voss MA et al., 2011). Една от причините, поради която CD151 може да играе определяща роля в туморната прогресия, е връзката му с интегрините:  $\alpha 3\beta 1$ ,  $\alpha 6\beta 1$  и  $\alpha 6\beta 4$ , които се свързват с ламинин, ключов елемент от екстрацелуларния матрикс (Sadej R et al., 2014). Това взаимодействие позволява на CD151 да модулира интегрин-зависимите функции на клетката като миграция, сигнализиране и адхезия, да ги засилва, а всички те играят ключова роля в туморната прогресия (Sadej R et al., 2014). Освен чрез ламинин-свързващи интегрини, CD151 модулира активността на туморните клетки чрез матриксните металопроотеинази и рецептори за растежни фактори, което ясно показва многогранното му участие в канцерогенезата. Взети



заедно, тези данни предполагат участието на CD151 като потенциален диагностичен, прогностичен маркер, както и мишена за терапия на малигнените тумори.

За да изясним ролята на CD151 при простатен карцином, ние анализирахме експресията на CD151 в туморната тъкан във връзка с клинично-морфологичните показатели: възраст на пациентите с простатен карцином, крибриформен модел на растеж, Gleason score, периневрална инвазия при неавансирал и авансирал карцином на простатната жлеза. Между възрастта и CD151 H-score не се откри статистически значима зависимост при неавансиралите карциноми на простатната жлеза. Експресията на CD151 не е асоциирана с възрастта, когато пациентите бяха разпределени в две категории: под и над 70 години в двете групи простатен карцином ( $p=0,835$ ). Подобна липса на зависимост между експресията на CD151 и възрастта е установена и от Ang J et al. (2004), като те установяват и липса на зависимост между експресията на CD151 и предоперативните стойности на PSA.

Статистически значима разлика се установи между крибриформения модел на растеж и експресията на CD151 в туморната тъкан на простатните карциноми без далечни метастази. Средната стойност на цитоплазмената експресия на CD151 при карциномите с крибриформен модел беше  $206,30 \pm 67,25$ , а когато липсваше подобен модел -  $165,74 \pm 65,17$  и разлика беше статистически значима ( $p=0,036$ ). Данните от литературата показват, че средната преживяемост на пациентите с висока експресия на CD151 е 26 месеца, докато тя е 99 месеца при ниска експресия на CD151 (Ang J et al., 2004). Същите автори установяват, че нискодиференцираните тумори експресират CD151 по-силно, отколкото високодиференцираните неоплазми. При анализа на експресията на CD151 във връзка с Gleason score, ние установихме най-ниска експресия на антиялото при най-

ниския Gleason score 6, докато при Gleason score 7 и повече, стойностите бяха по-високи и разликата е статистически значима ( $p=0,045$ ). Резултатите от анализа на крибриформния модел и Gleason score във връзка с експресията на CD151, взети заедно, ясно показват, че при неавансирания простатен карцином експресията на протеин CD151 е положително свързана с двата показателя, които са утвърдени патологични критерии за преценка на клиничния стадий и злокачествената прогресия на простатния карцином.

При туморите без далечни метастази средната стойност на цитоплазмената експресия на CD151 с перинеурална инвазия беше по-висока, отколкото при карциномите при които тя липсваше и разликата бе статистически значима ( $p=0,033$ ). Известно е, че интегрин  $\alpha 6$  спомага за адхезията на туморните клетки на простатния карцином към периферните нерви, а перинеуралната инвазия е ключов фактор за появата на костни метастази (Sroka IC et al. 2010). В туморната тъкан на простатния карцином има увеличаване на нервните влакна, което означава, че перинеуралният мотилитет и инвазивност от неопластичните клетки не са пасивни процеси, а са резултат от взаимодействие между нервните влакна и туморните клетки. Според нас, CD151 може да играе ключова роля в перинеуралната инвазия и туморната прогресия поради връзката му с интегрините:  $\alpha 3\beta 1$ ,  $\alpha 6\beta 1$  и  $\alpha 6\beta 4$ , които се свързват с ламинин, ключов елемент от екстрацелуларния матрикс (Sadej R et al., 2014).

Detchokul S et al. (2013) анализират експресията CD151 при миши модел във връзка с ангиогенезата и метастатичния потенциал на простатния карцином и заключават, че CD151 има прогностична роля и може да играе роля в лимфангиогенезата. Експресията на CD151 при туморите с M0 и M1 стадий не показва статистически значима разлика ( $p=0.325$ ). Според нас, CD151 вероятно играе роля в комуникациите между самите туморни

клетки и между туморните клетки с туморната микросреда, отколкото като прогностичен фактор.

При авансиралите карциноми експресията на CD151 в туморната тъкан на простатен карцином не показва зависимост от възрастта на пациентите под и над 70 години ( $p=0,897$ ), крибриформния модел на растеж ( $p=0,132$ ), Gleason score ( $p=0.59$ ) и перинеуралната инвазия ( $p=0.051$ ).

Han R et al. (2020) анализират локализацията на експресията на CD151, като я разпределят в две категории: предимно дифузна цитоплазмена и огнищна, предимно в междуклетъчните контакти. Те установяват, че в нетуморната простатна тъкан експресията на CD151 е предимно в междуклетъчните контакти, докато при карциномите е в клетъчната цитоплазма. Авторите заключават, че с развитие на простатния карцином настъпва промяна в разпределението на CD151 от междуклетъчните контакти към клетъчната цитоплазма.

При настоящето изследване не се е отчитала изолираната експресия на CD151 в зоната на междуклетъчните контакти, а само дифузната цитоплазмена експресия и даните от проучването са в подкрепа на тезата, че повишаването на цитозолната експресия на CD151 настъпва с влошаване на клиничко-морфологичните туморни характеристики.

CD151 несъмнено играе роля в туморния растеж и метастазирание, но имайки предвид сложната и мултифункционална роля на протеина, взаимодействието с интегрини, растежни фактори и рецептори, той не осъществява тези процеси самостоятелно, а като компонент на тетраспанин-интегринови комплекси във взаимодействие с други молекули. Това налага по-задълбочени и комплексни проучвания сред по-голяма група от пациенти. Експресията на CD151 е проучена главно имунохистохимично чрез прилагане на различни

антитела, разкриващи различни епитопи на молекулата, което е от значение за клетъчното ѝ разпределение. Сравнителният имунохистохимичен анализ на тъканната експресия с различни CD151 антитела би допринесло за по-детайлно изясняване на клетъчната локализация.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

През последните години бяха постигнати значителни успехи в по-прецизното стратифициране на пациентите с простатен карцином с цел избягване на ненужни терапевтични интервенции или недостатъчно агресивно лечение при привидно нискорискови тумори. Независимо от постигнатите резултати в изясняването на механизмите на канцерогенезата, много въпроси, свързани с биологията на неопластичните заболявания остават неизяснени. Интересът към протеините от групата на тетраспанините се повиши и те все повече се утвърждават като молекулни биомаркери с изразен прогностичен и диагностичен потенциал. Ключовата им роля на координатори на клетъчния мотилитет и междуклетъчни взаимодействия в екстрацелуларния матрикс при физиологични и патологични условия ги постави във фокуса на редица научни изследвания, свързани с инвазивния и метастатичен потенциал на малигнените тумори. Изучаването на тези молекули даде много отговори, но и доведе до възникването на множество въпроси и противоречия, тъй като изглежда, че тетраспанините изпълняват различни роли в зависимост от органната локализация на първичния туморен процес.

Ето защо, с цел изясняване на молекулните механизми на CD9 и CD151 и ролята им в неопластичния процес при простатния карцином е необходимо провеждане на проучване и допълнителни изследвания. Това би довело до изясняване на зависимостта между тези протеини и някои от най-неблагоприятните клиникоморфологични параметри при простатния карцином като периневрална инвазия, ниска туморна диференциация и крибриформен модел на растеж. Бъдещите изследвания на CD9 и CD151 в контекста на взаимодействието им с техните молекулни партньори в процесите на

неопластичната прогресия и метастазиране биха изяснили комплексния им образ по отношение на тяхното прогностично значение.

## ИЗВОДИ

1. При високи стойности на PSA, честотата на крибриформните структури и перинеуралната инвазия също е висока.

2. При неавансиралия простатен карцином липсва зависимост между PSA и възрастта, както и между PSA и T-стадия на простатния карцином.

3. Перинеурална инвазия при неавансирани простатни карциноми се среща често при крибриформен модел на растеж и е асоциирана с T-стадия.

4. Крибриформният модел на растеж не показва зависимост от T-стадия при неавансирал простатен карцином.

5. При авансиралия простатен карцином има високи стойностите на PSA, но те не показват зависимост от крибриформния модел на растеж и от перинеуралната инвазия.

6. Крибриформният модел на растеж при авансиралия простатен карцином се среща 3 пъти по-често, отколкото при неавансиралия карцином.

7. При неавансиралите карциноми цитоплазмената експресия на CD9 се понижава след 70-годишна възраст.

8. При ПНИ пациентите с простатен карцином без далечни метастази имат по-висока експресия на CD9 в сравнение с пациентите с метастази.

9. При авансиралите карциноми експресията на CD9 не показва зависимост от морфологичните показатели: крибриформен модел на растеж, Gleason score и ПНИ.

10. Високата експресия на CD151 при M0 стадий на простатния карцином се среща при крибриформен модел на растеж, висок Gleason score и перинеурална инвазия.

11. При авансиралите карциноми експресията на CD151 в туморната тъкан на простатен карцином не зависи от възрастта

на пациентите, крибриформния модел на растеж, Gleason score и периневралната инвазия.



## **ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД**

### **Научни приноси с оригинален характер**

1. Осъществена е комплексна клиничко-морфологична и имунохистохимична характеристика на тетраспанини CD9 и CD151 при пациенти с простатен карцином.
2. Извършен е анализ на имунохистохимичната експресия на CD9 и CD151 с оглед изясняване ролята им за прогнозата при пациенти с простатен карцином.

### **Научни приноси с практическо-приложен характер**

1. За първи път у нас е определена прогностичната стойност на крибриформния модел на растеж при простатен карцином.
2. Оценени са различните стойности на PSA във връзка с клиничко-морфологичните показатели: възраст на пациентите, модела на туморен растеж, туморната диференциация, стадий на тумора и присъствието на далечни метастази.
3. Анализирана е експресията CD9 във връзка с клиничко-морфологичните показатели за определяне на риска от поява от далечни метастази.
4. Оценена е експресията на CD151 в туморната тъкан и е изяснена връзката ѝ с клиничко-морфологичните показатели.

## ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

### Статии:

1. **Стоев Л.** Съвременни препоръки и перспективи в морфологичната оценка на простатния аденокарцином. Варненски медицински форум, т. 10, 2021
2. **Стоев Л,** Стоева М, Цанева М. Тетраспанин 151 и ролята му в канцерогенезата. Варненски медицински форум, т. 10, 2021

### Участия:

1. **Л. Стоев,** А. Хинев, Д. Дженков. Пейджетоидно разпространение в простатни дуктуси на *in situ* уротелен преходноклетъчен карцином със синхронен клинично незначим простатен аденокарцином. XII Национален конгрес по патология 11-13 май 2017 год.