

## ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ІМУНОГІСТОХІМІЧНИХ КРИТЕРІЇВ СТРОМИ РАКУ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ ТА ЇЇ ВПЛИВ НА МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РАКОВИХ КЛІТИН

Яковцова І.І., Івахно І.В., Ткаченко П.В., Олійник А.Є.

Харківська медична академія післядипломного навчання, кафедра патологічної анатомії, м. Харків, Україна, ORCID ID: 0000-0002-5229-0068, e-mail: docspathomorph@gmail.com

**Резюме.** Серед клініко-морфологічних критеріїв прогнозування перебігу раку передміхурової залози (РПЗ) на сьогодні відсутні рекомендації міжнародними організаціями щодо використання імуногістохімічного методу. Мета роботи – удосконалити морфологічні критерії прогнозу РПЗ шляхом дослідження імуногістохімічних маркерів і значення стромального компоненту у формуванні агресивного фенотипу пухлини. Імуногістохімічне дослідження проводили на 40 випадках РПЗ з використанням моноклональних антитіл до TGF- $\beta$ , Е-кадгерину, рецепторів андрогенів (РА), VEGF, віментину, CD34, CD4, CD8, CD3, CD20, CD68, гладком'язовий актин-альфа (ГМА- $\alpha$ ). Показана роль неоангіогенезу, стромальної експресії віментину, макрофагальної інфільтрації, як можливих прогностичних маркерів РПЗ. Досліджена епітеліально-мезенхімальна трансформація (EMT) ракових клітин. Встановлено, що поява епітеліальної експресії віментину й зниження Е-кадгерину характерна для РПЗ із СГ 8–10 ( $p < 0,05$  і  $p < 0,03$  відповідно). Показана залученість CD68+ клітин у процеси неоваскуляризації, EMT та реалізації агресивного фенотипу РПЗ.

**Ключові слова:** рак передміхурової залози, строма, прогноз, епітеліально-мезенхімальна трансформація.

**Вступ.** РПЗ в Україні серед онкологічних захворювань чоловічого населення посідає друге місце й перше в осіб, старших ніж 75 років. Щорічне зростання показника захворюваності на РПЗ в Україні становить в середньому 14,5%, а п'ятирічна виживаність хворих – на рівні 32,5% [1].

Одним із основних завдань у терапії РПЗ є попередження рецидивування й прогресування захворювання. На сьогодні запропоновано і активно використовується безліч клінічних, морфологічних і молекулярних маркерів щодо діагностики та визначення прогнозу перебігу РПЗ. До них відносяться, насамперед, біохімічні рецидивування, стадія захворювання за системою TNM, сума за Глісоном (СГ), маркер проліферації Ki-67 та інші імуногістохімічні критерії [2,4, 5,10,11]. Проте РПЗ залишається без рекомендованого міжнародними організаціями використання молекулярно-біологічних критеріїв для прогнозу й вибору лікувальної тактики [10,11]. Однією з альтернатив в оцінюванні агресивності пухлини є дослідження реактивних змін у безпосередньо пов'язаній з раковими клітинами стромі.

**Обґрунтування дослідження.** Доведено роль строми в рості й прогресуванні пухлин різної локалізації та РПЗ зокрема [12]. Дослідження стромально-судинного компоненту пухлини дозволяє виявити початкові ознаки інвазивного росту, судинну інвазію, оцінити неоангіогенез та епітеліально-мезенхімальні взаємовідносини. Робит, присвячених дослідженню впливу строми на клінічну поведінку РПЗ і реалізацію тих чи інших генетичних програм ракового епітелію у науковій літературі відносно небагато, та вони часто носять суперечливі дані [3, 4, 7, 8, 13, 14]. Має науковий інтерес дослідження впливу строми на фенотип ракових клітин, виявлення механізмів, що призводять до більш агресивної біологіч-

ної поведінки. Становить також практичний інтерес визначення молекулярно-біологічних критеріїв, які дозволять отримати характеристику біологічної агресивності, інвазивного й метастатичного потенціалу РПЗ, створити основу для визначення індивідуального прогнозу перебігу захворювання і розробки адекватних схем терапії.

**Мета роботи** – удосконалити морфологічні критерії прогнозу РПЗ шляхом дослідження імуногістохімічних маркерів і значення стромального компоненту у формуванні агресивного фенотипу пухлини.

Робота є фрагментом НДР кафедри патологічної анатомії ХМАПО «Патогістологічна та імуногістохімічна діагностика та прогноз перебігу злоякісних пухлин різної локалізації з урахуванням їх біологічних властивостей та клінічного перебігу» (№ державної реєстрації 0117U000594).

**Матеріали та методи.** Матеріалом для дослідження стали оперативно видалені передміхурові залози пацієнтів Харківського обласного клінічного центру урології і нефрології ім. В.І. Шаповала. Імуногістохімічне дослідження проводили на 40 випадках РПЗ з використанням моноклональних антитіл (МКАТ) до TGF- $\beta$ , Е-кадгерину, рецепторів андрогенів (РА), VEGF, віментину, CD34, CD4, CD8, CD3, CD20, CD68, гладком'язовий актин-альфа (ГМА- $\alpha$ ). МКАТ фірми TermoScientific і DAKO (Данія), Ready-to-Use. Для оцінки ступеня вираженості імуногістохімічної мітки використовували напівкількісну шкалу: «+» – слабка, «++» – помірна, «+++» – виражена реакція. Підрахунок щільності мікросудин (ЩМС) здійснювався в ділянці найбільшого рівня васкуляризації (hot spot) в полі зору мікроскопа на зб.  $\times 200$ , що становить 0,56 мм<sup>2</sup>.

Матеріал розподілено на групи з урахуванням показника суми за Глісоном (СГ) [6]:  $\leq 6$ , 7 (3+4), 7 (4+3), 8, 9-10 – по 8 випадків. Також сформовані групи дослідження за ознакою ризику рецидивування відповідно до рекомендацій Європейської асоціації урологів (2016 р.) [11]: I група – низького ризику (рівень ПСА крові до 10 нг / мл при стадії cT1-2a і СГ 2-6) – 4 випадки РПЗ; II група – проміжного ризику (рівень ПСА крові 10-20 нг/мл, або СГ 7, або cT2b) – 10 випадків РПЗ; III група – високого ризику (СГ 8-10, або ПСА більше 20, або cT2c) – 26 випадків РПЗ.

Взаємозв'язок між ознаками визначали за допомогою непараметричного критерію  $\chi^2$ -Пірсона. Методи непараметричної рангової статистики (критерій Спірмана та Манна-Уїтні) використовували при обробці даних імуногістохімічного дослідження. Відмінності вважали статистично достовірними при рівні надійності 0,05 й вище.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Нормальна строма ПЗ складалася з гладком'язових клітин, що експресують гладком'язовий актин-альфа (ГМА- $\alpha$ ), у її складі низький вміст фібробластів і сполучнотканинних волокон, що було видно при забарвленні Г+Е.

Рівень експресії імуногістохімічних маркерів РПЗ

Маркер, експресія	Сума за Глісоном					Достовірність
	≤6 n=8	7(3+4) n=8	7(4+3) n=8	8 n=8	9-10 n=8	
ГМА-α						
Відсутня-слабка	1	1	3	3	2	$\chi^2=8,6$ , $p=0,7$
Помірна-виражена	7	7	5	5	6	
Віментин строми						
Відсутня-слабка	5	5	3	1	0	$\chi^2=22$ , $p<0,05$
Помірна-виражена	3	3	5	7	8	
Віментин епітелію						
Відсутня-слабка	8	8	8	4	6	$\chi^2=21,5$ , $p=0,05$
Помірна-виражена	0	0	0	4	2	
Е-кадгерин						
Відсутня-слабка	0	0	1	4	5	$\chi^2=26,1$ , $p=0,03$
Помірна-виражена	8	8	6	4	3	
ЩМС	62,3±22	79,7±20	97,8±37 <sup>1</sup>	104,2±43 <sup>1</sup>	94,8 ±29,3 <sup>1</sup>	
ПМС	572±114	537±123 <sup>4</sup>	505±150 <sup>2,4</sup>	356±109 <sup>1,2,3</sup>	495±42	
VEGF						
Відсутня-слабка	8	7	4	2	3	$\chi^2=13$ , $p<0,01$
Помірна-виражена	0	1	4	6	7	
CD68+	13,3±1,5	15,7±1	19,1±1 <sup>1</sup>	20,5 ±1,8 <sup>1,2</sup>	24,2 ±1,6 <sup>1,2,3</sup>	

**Примітка:** вірогідність різниці ( $p<0,05$ ) показника між групою РПЗ із відповідною СГ: <sup>1</sup> РПЗ із СГ<6; <sup>2</sup> РПЗ із СГ<7 (3+4); <sup>3</sup> РПЗ із СГ (4+3)

Строма РПЗ була або первинною, що складалася з гладеньком'язових клітин, або представлена реактивним фіброзом (десмоплазією) різного ступеня вираженості. Наявність забарвлення ГМА-α відзначено також у міофібробластах, що відрізняло їх від фіброblastів, а, з огляду на появу цих клітин виключно в раковій стромі, визначено їх як пухлиноасоційовані фіброblastи (ПАФ). Простежувалася тенденція до зниження рівня експресії ГМА-α зі зниженням диференціювання РПЗ, проте достовірно значущої залежності не виявлено (табл. 1).

Гладком'язові клітини строми ПЗ не мали реакції забарвлення на віментин. Наявні в реактивній раковій стромі фіброblastи різного ступеня зрілості та ПАФ характеризувалися експресією віментину. Простежено залежність рівня експресії стромального віментину й СГ ( $\chi^2=22$ ,  $p<0,05$ ). Для РПЗ із СГ <6 і 7 (3+4) характерна слабка експресія віментину строною ( $\chi^2=8$ ,  $p<0,01$ ), для РПЗ із СГ 8 і 9–10 – виражена ( $\chi^2=13,6$ ,  $p<0,001$ ) (табл. 1). Виявлено також залежність між експресією віментину строною та приналежністю пацієнтів до груп ризику. Виразена експресія маркера асоціювалася з високим ризиком ( $p<0,01$ ).

Для РПЗ на відміну від доброякісної патології та нормальної ПЗ в деяких випадках була характерна поява реакції епітелію на віментин, що характеризує ЕМТ ракових клітин. Простежено зміну рівня експресії віментину епітелієм залежно від диференціювання РПЗ ( $\chi^2 = 21,5$ ,  $p<0,05$ ) (табл. 1) і приналежності до груп ризику ( $U = 24$ ,  $p<0,05$ ). Підвищення експресії віментину відзначено найбільшою мірою в структурах, які визначаються згідно з градацією за СГ як нечіткі залози з погано сформованим просвітом, що належать до 4 градації та часто зустрічаються в РПЗ із СГ 7 (4+3), 8 і 9. Ракові клітини, які експресують віментин, не набували витягнутої форми й не були схожими на клітини мезенхіми, як це відбувається під час ЕМТ у раках деяких локалізацій (товста кишка, молочна залоза, щитоподібна залоза). Однак у РПЗ ЕМТ супроводжувалася поліморфізмом ракових клітин, порушенням будови ацинусів, більш

вираженими інвазивними властивостями, частковою втратою міжклітинних зв'язків.

Втрату міжклітинних контактів, здатність до клітинного відокремлення й метастазування пов'язують зі зниженням експресії Е-кадгерину [9]. У РПЗ експресія маркера була переважно вираженою, інтенсивною, в середньому у 67,0%±31,6 клітин, залежала від диференціювання пухлини. Втрата Е-кадгерину була наявна переважно в структурах пухлини солідної будови, із розсипним розташуванням ракових клітин, із відокремленням їх однієї від одної, що притаманне для 5 ступеня за градацією Глісона. Значне зниження ІМ спостерігалось в групі високого ризику (середнє значення 53,4%±30) порівняно як з групою слабого ризику ( $U=11,5$ ,  $p<0,01$ ), так і з групою проміжного ризику ( $U=38$ ,  $p<0,01$ ), що може визначити Е-кадгерин як додатковий прогностичний критерій перебігу захворювання.

Виявлено зворотню кореляційну залежність між Е-кадгерином і віментином ( $r=0,3$ ,  $p<0,05$ ), що вказує на спільність процесів втрати епітеліального фенотипу й появи мезенхімального фенотипу. Проте не спостерігалось єдності змін експресії Е-кадгерину й віментину згідно з диференціюванням РПЗ.

Підтверджена роль TGFβ у процесах ЕМТ через регуляцію маркерів епітеліального й мезенхімального фенотипу, що вказує на спільність молекулярно-біологічних проявів ЕМТ і на залученість в її процес TGFβ. Простежено залежність між експресією раковим епітелієм TGFβ і віментину ( $r=0,32$ ,  $p<0,05$ ) та між експресією TGFβ і Е-кадгерину ( $r=0,31$ ,  $p<0,05$ ). Проте не встановлена роль TGFβ у прогнозуванні перебігу захворювання, а саме не виявлено залежності також у результаті порівняння рівня експресії TGFβ з приналежністю РПЗ до груп ризику.

Інтерес дослідження прогностичного значення експресії РА обумовлений літературними даними про регуляторний вплив андрогенної стимуляції на ріст та розвиток нормального епітелію ПЗ та проліферативну активність клітин РПЗ, які реалізується через РА як епітелію, так і строми [7, 13]. Проте виявлено відсутність

зв'язку між експресією РА епітелієм та стромі і СГ та приналежності РПЗ до груп ризику. У результаті зіставлення експресії стромального РА й цитокератину, РА й віментину, РА й Е-кадгерину, РА й TGFβ залежності не виявлено за жодним з маркерів ( $r=0,12$ ,  $p>0,05$ ,  $r=0,18$ ,  $p>0,05$ ,  $r=0,2$ ,  $p>0,05$ ,  $r=0,25$ ,  $p>0,05$  відповідно).

Невід'ємною частиною стромі є судинний компонент. ЩМС, що визначалася із застосуванням маркера CD34, у РПЗ складала  $80,1\pm 41$  і коливалася в широкіх межах від 10 до 210. Простежено зворотний взаємозв'язок між ЩМС та їх площею ( $p<0,05$ ), а низький показник площі судин, як і велика їх кількість є критеріями неоангіогенезу. Простежено залежність між ІМ VEGF стромі й ЩМС ( $r=0,9$ ,  $p<0,001$ ) і площі судин ( $r=-0,4$ ,  $p<0,03$ ). Показники ангіогенезу є прогностичними критеріями РПЗ, що визначається зменшенням показника площі мікросудин і збільшенням показника ЩМС зі зростанням ризику рецидивування й СГ (табл. 1). Площа мікросудин у раках високого ризику менша, ніж у раках низького ризику ( $p<0,0001$ ), ЩМС у раках високого ризику більша, ніж низького ( $p<0,001$ ) і проміжного ризику ( $p<0,05$ ).

Виявлено, що з досліджених клітин імуніклітинного інфільтрату (CD68 +, CD20 +, CD3 +, CD4 +, CD8 +) лише макрофаги залучені у формування агресивного фенотипу РПЗ, що здійснюється через процеси неоваскуляризації, ЕМТ і асоціюється з пухлинною прогресією. Так абсолютне число макрофагів в зонах найбільшої імуніклітинної інфільтрації зростало в РПЗ із СГ 9-10 ( $p<0,05$ ) (табл. 1), було більшим у групі високого ризику ( $p<0,05$ ). У ділянках РПЗ поблизу імуніклітинної інфільтрації периферії пухлини число CD68+ клітин асоціювалося із підвищенням ЩМС ( $p<0,05$ ), експресією VEGF ( $p<0,05$ ), TGF-β ( $p<0,05$ ), появою віментину ( $p<0,05$ ), зниженням Е-кадгерину ( $p<0,05$ ), тенденцією до збереження і підвищення експресії РА ( $p>0,05$ ) в макрофагах. Однак слід зазначити, що в результаті зіставлення абсолютного числа макрофагів у ділянках найбільшої імуніклітинної інфільтрації з ІМ маркерів у цілому в усій пухлині залежності не виявлено.

Таким чином, показана ключова роль стромі в прогресії РПЗ, формуванні агресивної біологічної поведінки пухлини з її участю в процесах зниження диференціювання й клональної селекції ракових клітин, які обумовлюють гетерогенність раку й виникнення вогнищевої ЕМТ.

Залишається актуальною проблема дослідження значення мікрооточення РПЗ, а саме імунних клітинних реакцій, неоангіогенезу, сполучнотканинного компоненту на молекулярно-біологічному рівні, що надасть можливість більш точного прогнозу РПЗ у виборі адекватної лікувальної тактики.

**Висновки.** 1. Зі зниженням диференціювання і посиленням агресивної клінічної поведінки РПЗ строма характеризувалася підвищенням експресії віментину (за рахунок збільшення числа пухлиноасоційованих міофібробластів), зростанням неоангіогенезу й інфільтрації CD68+ макрофагами.

2. ЕМТ у вигляді появи епітеліальної експресії віментину й зниження Е-кадгерину характерна для РПЗ із СГ 8–10 ( $p<0,05$  і  $p<0,03$  відповідно). Виявлено зворотну кореляційну залежність між експресією віментину й Е-кадгерину ( $p<0,05$ ); взаємозв'язок TGFβ з віментином ( $p<0,05$ ) й Е-кадгеріном ( $p<0,05$ ), що вказує на спільність молекулярно-біологічних проявів ЕМТ і на залученість в її процес фактора росту TGFβ.

3. Виявлений взаємозв'язок числа CD68+ макрофагів із ЩМС ( $p<0,05$ ), експресією VEGF ( $p<0,05$ ), TGFβ ( $p<0,05$ ), появою епітеліальної експресії віментину ( $p<0,05$ ), зменшенням Е-кадгерину ( $p<0,05$ ) вказує на

залученість CD68+ клітин у процеси неоваскуляризації та ЕМТ і реалізації агресивного фенотипу РПЗ.

#### References:

1. Fedorenko Z. P. Rak v Ukraini, 2006–2016 [Tekst] / Z.P.Fedorenko, L.O.Hulak, YE.L.Horokh [ta in.] // Byul. Natsional'noho kantser-reestru Ukrainy. – 2006-2017. – Т. 6-19. <http://www.ncru.inf.ua/>
2. Berney D. Ki-67 and outcome in clinically localised prostate cancer: analysis of conservatively treated prostate cancer patients from the Trans-Atlantic Prostate Group study / D.M. Berney, A. Gopalan, S. Kudahetti [et al.] // British Journal of Cancer. – 2009. – Vol. 100. – P. 888–893.
3. Bills Athanase. Adenocarcinoma on needle prostatic biopsies: Does reactive stroma predicts biochemical recurrence in patients following radical prostatectomy? // A.Billis, L. Meirelles, L. Freitas [et al.] // Int. Braz. J. Urol. - 2013. - Vol.39, № 3. - P. 40-56.
4. Esfahani M. Biomarkers for evaluation of prostate cancer prognosis // M. Esfahani, N. Ataei, M. Panjehpour. // Asian. Pac. J. Cancer. Prev. - 2015. Vol. 16 (7). - P. 2601-11.
5. Fisher G. Prognostic value of Ki-67 for prostate cancer death in a conservatively managed cohort / G. Fisher, Z. H. Yang, S. Kudahetti [et al.] // British Journal of Cancer. – 2013. – Vol. 108. – P. 271–277.
6. Gordetsky J. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System / J. Gordetsky, J. Epstein // Am. J. Surg. Pathol. – 2016. – Vol. 40(2). – P. 244-52.
7. Izumi K. Androgen receptor and immune inflammation in benign prostatic hyperplasia and prostate cancer / K. Izumi, Lei Li, C. Chang // Clin. Investig. (Lond.). – 2014. – Vol. 4(10). – P. 935–949.
8. Jinlu Dai. Immune mediators in the tumor microenvironment of prostate cancer / D. Jinlu, Yi Lu, Hernan Roca [et al.] // Chin. J. Cancer. - 2017. - 36:29. - 8 p.
9. Khan M.I. Role of Epithelial Mesenchymal Transition in Prostate Tumorigenesis / M. I. Khan, A. Hamid, V. M. Adhami [et al] // Curr. Pharm Des. – 2015. – Vol. 21(10). – P. 1240–1248.
10. Mohler J. NCCN clinical practice guidelines in oncology: prostate cancer / J. Mohler, R. Bahnsen, B. Boston [et al.] // J. Natl. Compr. Canc. Netw. – 2010. – Vol. 8. – P. 162–200.
11. Mottet N. EAU–ESTRO–SIOG Guidelines on Prostate Cancer. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent / N. Mottet, J. Bellmunt, M. Bolla [et al.] // Eur. Urol. – 2017. – Vol. 71 (4). – P. 618-629.
12. Tarin D. Role of the host stroma in cancer and its therapeutic significance / D. Tarin. // Cancer and Metastasis Reviews. - 2013. - Vol. 32., Issue 3-4. - P. 553 – 566.
13. Wikstrom P. Low stroma androgen receptor level in normal and tumor prostate tissue is related to poor outcome in prostate cancer patients. P. Wikstrom, J. Marusic, P. Stattin, A. Bergh. – Prostate. – 2009. – Vol. 69. – P. 799–809.
14. Wu Jian-Ping. Intensity of stromal changes is associated with tumor relapse in clinically advanced prostate cancer after castration therapy / Jian-ping Wu, Wen-Bin Huang, Hui Zhoe [et al.] // Asian J Androl. – 2014. – Vol. 16(5). – P. 710–714.

УДК 616.65-006.66-091.8

**ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИМУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ КРИТЕРИЕВ СТОМЫ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА МОЛЕКУ-**

## ЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАКОВИХ КЛЕТОК

Яковцова И.И., Ивахно И.В., Ткаченко П.,  
Олейник А.Е.

*Харьковская медицинская академия последипломного образования, кафедра патологической анатомии, м. Харьков, Украина, ORCID ID: 0000-0002-5229-0068, e-mail: docpathomorph@gmail.com*

**Резюме.** Среди клинико-морфологических критериев прогнозирования течения рака предстательной железы (РПЖ) в настоящее время отсутствуют рекомендации международными организациями по использованию иммуногистохимического метода. Цель работы – усовершенствовать морфологические критерии прогноза РПЖ путем исследования иммуногистохимических маркеров и значения стромального компонента в формировании агрессивного фенотипа опухоли. Иммуногистохимическое исследование проводили на 40 случаях РПЖ с использованием моноклональных антител к TGF- $\beta$ , E-кадгерину, рецепторов андрогенов (РА), VEGF, виментина, CD34, CD4, CD8, CD3, CD20, CD68, гладкомышечных актин-альфа (ГМА - $\alpha$ ). Показана роль неоангиогенеза, стромальной экспрессии виментина, макрофагальной инфильтрации, как возможных прогностических маркеров РПЖ. Исследована эпителиально-мезенхимальная трансформация (EMT) раковых клеток. Установлено, что появление эпителиальной экспрессии виментина и снижение E-кадгерина характерно для рака предстательной железы с СГ 8-10 ( $p < 0,05$  и  $p < 0,03$  соответственно). Показана вовлеченность CD68+ клеток в процессы неоваскуляризации, EMT и реализации агрессивного фенотипа РПЖ.

**Ключевые слова:** рак предстательной железы, строма, прогноз, эпителиально-мезенхимальная трансформация.

UDC 616.65-006.66-091.8

## PROGNOSTIC VALUE OF IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS IN STROMA FOR PROSTATE CANCER AND THEIR INFLUENCE ON MOLECULAR AND BIOLOGICAL FEATURES OF CANCER CELLS

I.I. Yakovtsova, I.V. Ivakhno, P.V. Tkachenko,  
A.Ye. Oleinik

*Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Department of Pathological Anatomy, Kharkiv, Ukraine, ORCID ID: 0000-0002-5229-0068, e-mail: docpathomorph@gmail.com*

**Abstract.** Prostate cancer (PC) in Ukraine is the second leading malignancy and the most common cancer among men aged 75. In 2006-2016, the morbidity rate of prostate cancer is expected to increase by an average of 14,5% per year.

One of the main task in treatment of PC is to prevent the recurrence and disease progression. It requires searching for the prognostic features of the cancer. But PC still

remains without International Organization recommendations of molecular biological markers for prognosis and treatment choice. One of the alternation property in estimation of the tumor behavior is the study of reactive changes which is linked to stroma's cells.

The aim of the current study is to improve morphological criteria of prognosis PC by studying the immunohistochemical markers and significance of the stromal component in the molded aggressive phenotype of tumor.

The basis of morphological and molecular studies have made histological specimens of 40 patients with surgery for PC. Immunohistochemistry using the following monoclonal antibodies TGF- $\beta$ , E-cadherin, androgen receptor (PA), VEGF, vimentin, CD34, CD4, CD8, CD3, CD20, CD68, smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA). PC were distributed into five groups according to Gleason Score (2016)  $\leq 6$ , 7 (3+4), 7 (4+3), 8, 9-10, and into three groups on the basis of the risk of recurrence (according to recommendations of the European Association of Urologists, 2016).

With decrease of differentiation and increase of aggressive clinical behavior of the PC, the stroma was characterized by increase expression of the vimentin (mostly caste by high number of tumor-associated myofibroblasts), increase neoangiogenesis and infiltration of CD68+ macrophages.

The epithelial-mesenchymal transition (EMT) of the cancer cells was investigated. Determined that the appearance of epithelial expression of vimentin and reduction of E-cadherin are characteristics for PC with GS 8-10 ( $p < 0,05$  and  $p < 0,03$  respectively). The following data are revealed: inverse correlation between expression of vimentin and E-cadherin ( $p < 0,05$ ), interrelation between TGF $\beta$  and vimentin, and E-cadherin, which indicates the unity of the molecular biological manifestations of EMT and the involvement of the TGF $\beta$  in its process.

We also demonstrated that from all immunocompetent cells (CD68+, CD20+, CD3+, CD4+, CD8+) only macrophages are involved in the formation of aggressive phenotype of PC and it is carried out by the neovascularization, EMT, and associated with tumor progression. Thus higher absolute numbers of CD68+ macrophages in the areas of the greatest infiltration were associated with GS 9-10 ( $p < 0,05$ ) and with group of high risk ( $p < 0,05$ ). In the sites near immunocompetent cells infiltration in the periphery of PC the absolute numbers of CD68+ associated with rise of microvascular density ( $p < 0,05$ ), expression of VEGF ( $p < 0,05$ ), TGF- $\beta$  ( $p < 0,05$ ), appearance of vimentin ( $p < 0,05$ ), reduction of E-cadherin ( $p < 0,05$ ), tendency for preservation and rise of expression of androgen receptor ( $p < 0,05$ ) in macrophages. However, it should be noted that because of comparison absolute numbers of CD68+ in the sites of the high immunocompetent cells infiltration and expression of the markers in all tumor no association was found.

In this way, a key role of PC stroma in the tumor progression and in formation of its aggressive biological behavior is shown, the participant of stroma in the processes of differentiation decrease and clonal selection of cancer cells, which determine the heterogeneity of cancer and appearance of the focal EMT.

**Keywords:** prostate cancer, stroma, prognosis, epithelial-mesenchymal transformation.

Стаття надійшла до редакції 15.06.2018 р.