

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Вовденко Станислав Викторович

**Клинико-морфологическая оценка прогноза течения и эффективности
лечения рака простаты путем определения гликолитического фенотипа
опухолевых клеток**

3.1.13. Урология и андрология

Диссертация

на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Безруков Евгений Алексеевич

Москва – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР И АНАЛИЗ ДАННЫХ МИРОВОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1 Эпидемиология рака простаты.....	11
1.2 Особенности энергетического обмена в здоровой ткани предстательной железы, а также в ткани аденокарциномы простаты различной степени злокачественности.....	12
1.2.1 Метаболизм глюкозы и ее производных в простатических клетках.....	13
1.2.2 Особенности метаболизма глюкозы и монокарбоксилатов в клетках рака простаты на разных стадиях заболевания.....	15
1.3 Роль переносчиков монокарбоксилатов (MCTs) в метаболизме клеток рака простаты.....	19
1.4 Роль переносчиков глюкозы (GLUTs) в метаболизме клеток рака простаты.....	23
1.5 Роль глутамина и глутаминазы 1 типа (GLS1) в метаболизме клеток аденокарциномы простаты.....	26
1.6 Роль лактатдегидрогеназы 5 типа (LDH-5) в метаболизме клеток аденокарциномы простаты.....	27
1.7 Роль синтазы жирных кислот (FASN) в метаболизме аденокарциномы простаты.....	29
1.8 Роль карбоновой ангидразы 9 типа (CAIX) в метаболизме аденокарциномы простаты	30
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	32
2.1 Вид, общая характеристика исследования.....	32
2.2 Клинические центры, участвующие в исследовании.....	33
2.3 Критерии включения/невключения/исключения.....	34
2.4 Отбор гистологических препаратов.....	34
2.5 Показатели, учитываемые в исследовании.....	35
2.6 Методика иммуногистохимического исследования	36

2.7 Интерпретация данных иммуногистохимического исследования.....	38
2.8 Методы статистической обработки полученных данных.....	42
2.9 Характеристика пациентов.....	42
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕДЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	46
3.1 Оценка связи уровня экспрессии оцениваемых маркеров с клинико- морфологическими параметрами.....	46
3.1.1 Оценка связи уровня экспрессии MCT1 с клинико-морфологическими параметрами.....	46
3.1.2 Оценка связи уровня экспрессии MCT4 с клинико-морфологическими параметрами	48
3.1.3 Оценка связи уровня экспрессии GLUT1 с клинико-морфологическими параметрами.....	57
3.1.4 Оценка связи уровня экспрессии глутаминазы с клинико- морфологическими параметрами.....	62
3.1.5 Оценка связи уровня экспрессии CAIX с клинико-морфологическими параметрами.....	71
3.1.6 Оценка связи уровня экспрессии LDH5 с клинико-морфологическими параметрами.....	72
3.1.7 Оценка связи уровня экспрессии FASN с клинико-морфологическими параметрами.....	72
3.2 Анализ пятилетней выживаемости пациентов.....	75
3.3 Анализ безрецидивной выживаемости у исследуемых в зависимости от наличия преобладания стромальной экспрессии MCT4 над паренхиматозной.....	78
3.4 Интерпретация и обсуждение полученных данных.....	80
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	83
ВЫВОДЫ.....	87
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	89
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	90
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	91

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Рак простаты стоит на первом месте в списке наиболее частых онкологических заболеваний среди пожилых мужчин. Прогноз течения рака простаты зависит от таких показателей, как стадия заболевания, морфологические характеристики опухоли, в частности, степень ее дифференцировки, а также уровень простатспецифического антигена (ПСА) сыворотки крови. Сегодня, согласно имеющимся клиническим рекомендациям, активное лечение оправдано лишь при клинически значимом раке простаты (Loeb et al, 2014). Тем не менее, несмотря на развитие современных инструментальных и лабораторных методов диагностики, до сих пор повсеместно наблюдается как лечение больных клинически незначимым раком простаты, так и несвоевременное выявление потенциально неблагоприятных форм заболевания, требующих дополнительных методов лечения (Catalona et al, 2018). Поиск новых высокочувствительных методов диагностики клинически значимого рака простаты на данный момент актуален как никогда.

Для многих онкологических заболеваний характерны различные нарушения метаболизма. Одним из таких нарушений является эффект Варбурга, выражающийся в гиперпродукции клеткой лактата (анаэробном гликолизе) даже при адекватном снабжении кислородом. Однако, у рака простаты имеются свои особенности метаболизма. Нормальные клетки простаты имеют в основе своего метаболизма анаэробный гликолиз, при этом клетки рака простаты на ранних стадиях используют окислительное фосфорилирование. При более поздних стадиях, характерным для более агрессивного рака является преобладание зон гипоксии и анаэробного гликолиза. Существуют исследования, указывающие на зависимость прогноза течения заболевания от экспрессии переносчиков монокарбоксилазы (monocarboxylate transporters, МСТ) МСТ1 и МСТ4, а также уровня лактата в клетках рака простаты. (Andersen et al, 2015; Pertega-Gomes et al,

2014). Определение гликолитического фенотипа клеток рака простаты может стать новым маркером для стратификации риска и определения дальнейшей тактики лечения.

Степень разработанности темы исследования

На сегодняшний день цели прогнозирования течения заболевания после радикальной простатэктомии служат определение группы риска по d'Amico (включающее клиническую стадию заболевания, уровень ПСА до операции, степень злокачественности по Глисону по данным биопсии простаты), а также данные гистологического исследования операционного материала, предоставляющие информацию о патологической стадии заболевания, финальной степени злокачественности по Глисону. Несмотря на широкий арсенал имеющихся диагностических методик, повсеместно наблюдаются случаи как гипердиагностики и лечения рака предстательной железы низкой степени злокачественности, так и пропуск «агрессивных» форм заболевания. В этой связи актуальным является поиск новых, дополнительных методов стратификации риска. Перспективной кандидатурой на место одного из таких методов является определение особенностей метаболизма в клетках опухоли, а также в окружающей их соединительнотканной строме. Тема научного исследования, посвященная изучению метаболического фенотипа опухолевых клеток различной степени злокачественности с определением его взаимосвязи с клиническими параметрами, а также фактом биохимического рецидива после операции актуальна и практически значима.

Цель и задачи исследования

Цель исследования: улучшить результаты лечения больных раком простаты путем определения особенностей метаболизма лактата, экспрессии маркеров гликолиза, гипоксии, липолиза и глутаминолиза в клетках аденокарциномы простаты методом иммуногистохимии с последующей оценкой прогностической ценности полученных данных, определением взаимосвязи со стадией заболевания, степенью злокачественности опухоли и риском биохимического рецидива после радикальной простатэктомии.

Задачи исследования:

1. Определение особенностей экспрессии маркеров метаболизма (MCT1, MCT4, GLUT1, CAIX, FASN, LDH5, GLS) в ткани аденокарциномы простаты различной степени злокачественности.
2. Оценка связи метаболического фенотипа аденокарциномы простаты со стадией заболевания, степенью злокачественности по ISUP и другими клинико-морфологическими характеристиками.
3. Определение прогностической ценности анализа метаболического фенотипа аденокарциномы простаты в предсказывании вероятности биохимического рецидива после радикальной простатэктомии
4. Оценка влияния экспрессии метаболических маркеров на безрецидивную, канцер-специфическую и общую выживаемость пациентов после радикальной простатэктомии

Научная новизна

1. Впервые проведено определение метаболического фенотипа аденокарциномы простаты с использованием следующей панели биомаркеров: MCT1, MCT4, GLUT1, CAIX, FASN, LDH5, GLS

2. Определена взаимосвязь между экспрессией вышеописанных биомаркеров и стадией заболевания, степенью злокачественности аденокарциномы простаты по ISUP, фактом наличия биохимического рецидива после радикальной простатэктомии и другими клинико-морфологическими параметрами

3. Исследование экспрессии метаболических маркеров позволило лучше понять изменения, происходящие в ткани аденокарциномы простаты при различной степени злокачественности

Теоретическая и практическая значимость работы

Была получена дополнительная информация о патофизиологии аденокарциномы простаты, взаимодействии опухолевых клеток с клетками прилегающей соединительнотканной стромы.

Были получены данные об ассоциации между экспрессией ряда метаболических маркеров и клиническими параметрами, а также фактом биохимического рецидива после радикальной простатэктомии.

Была разработана прогностическая модель вероятности развития биохимического рецидива после радикальной простатэктомии на основании уровня экспрессии маркеров метаболизма.

Методология и методы исследования

Проведено ретропроспективное исследование на базе Института урологии и репродуктивного здоровья человека, Института клинической морфологии и цифровой патологии в период с 2020 по 2023 г. Среди 90 пациентов со стадией заболевания не выше pT3bNoMo после радикальной простатэктомии, выполненной в 2015-2017 гг. был определен факт биохимического рецидива в течение 5 лет после операции. Критерием биохимического рецидива считалось повышение уровня общего ПСА >0.2 нг/мл. Было выполнено иммуногистохимическое (ИГХ)

исследование архивного гистологического материала со следующими антителами: ANTI-SLC16A1, ANTI-SLC16A3, кроличьи моноклональные антитела к GLUT 1, рекомбинантные моноклональные антитела к LDH5, кроличьи моноклональные антитела к CAIX, кроличьи моноклональные антитела к FASN.

Личный вклад автора

Ключевая роль в определении тематики и методологии исследования, формулировке его цели и задач, сборе и статистической обработке клинического материала, интерпретации полученных результатов. Осуществление наблюдения за включенными в исследование пациентами в течение всего срока проведения исследования. Подготовка публикаций по теме исследования.

Положения, выносимые на защиту

1. Определение метаболического фенотипа в ткани аденокарциномы простаты различной степени злокачественности позволяет получить дополнительную информацию о патофизиологии заболевания.

2. Экспрессия MCT1, MCT4, GLUT1, FASN, GLS в ткани аденокарциномы простаты коррелирует с рядом клинико-морфологических параметров (степень злокачественности заболевания, уровень ПСА, стадия заболевания, наличие экстракапсулярного распространения, лимфоваскулярной инвазии, биохимический рецидив в течение 5 лет после радикальной простатэктомии).

3. Показатель отношения экспрессии переносчика монокарбоксилатов 4 типа (MCT4) в клетках паренхимы и стромы опухоли можно использовать с целью прогнозирования пятилетней безрецидивной выживаемости у больных с

верифицированной аденокарциномой простаты после радикальной простатэктомии.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

В соответствии с пунктом 2 паспорта научной специальности 3.1.13. Урология и андрология в диссертации разработаны прогностические модели развития биохимического рецидива в течение после радикальной простатэктомии. Использование данных моделей в клинической урологии может улучшить результаты лечения рака предстательной железы за счет более качественной стратификации риска. Область настоящего диссертационного исследования включает определение прогностически важных маркеров метаболизма аденокарциномы простаты с целью прогнозирования развития биохимического рецидива среди больных с раком предстательной железы (РПЖ) после выполнения радикальной простатэктомии. Суть метода заключается в оценке иммуногистохимической экспрессии маркеров метаболизма в ткани аденокарциномы простаты различной степени злокачественности, определении ассоциаций с клиническими параметрами, фактором развития биохимического рецидива с последующим построением прогностических моделей.

Степень достоверности и апробация результатов

Дизайн исследования, расчет размера выборки с использованием статистических критериев, применение высокотехнологичных диагностических методов и статистической обработки данных обуславливают высокую степень достоверности полученных результатов.

Материалы и основные положения диссертации доложены и обсуждены на следующих научно-практических конференциях: XVI Международный конгресс Российского общества онкоурологов, Москва, 2021 г.; V юбилейный

международный форум онкологии и радиотерапии, Москва, 2022 г.; II Евразийский конгресс урологов, Уфа, 2023 г.

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 3 работы, в том числе 3 статьи в изданиях, индексируемых в международных базах (Scopus, PubMed), из них 1 обзорная статья.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, перечня практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений и библиографического списка. Содержит 99 страниц, 39 таблиц, 33 диаграммы, 13 рисунков. Список литературы содержит 78 ссылок, из которых 4 отечественные и 74 зарубежные.

ГЛАВА 1. ОБЗОР И АНАЛИЗ ДАННЫХ МИРОВОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Эпидемиология рака простаты

Рак предстательной железы впервые был описан британским исследователем J. Adams в 1853 г. в ходе гистологического исследования предстательной железы [5]. Столь позднее, практически случайное открытие данной патологии обусловлено особенностями ее клинической картины – неспецифичностью и проявлением лишь на поздних стадиях заболевания. Именно поэтому автором публикации было ошибочно высказано предположение о редкости данного заболевания. Однако, на сегодняшний день, благодаря бурному развитию методов диагностики и внедрения скрининга онкологических заболеваний, известны истинные масштабы распространенности рака простаты как в России, так и в мире.

На 2020 г., по данным Globocan, рак простаты занимает 4 место по числу новых случаев в мире (1 414 259; 7,3% или 30,7 на 100 000 чел.), уступая лишь раку молочной железы (2 261 419; 11,7%), легких (2 206 771; 11,4%) и колоректальному раку (1 931 590; 10%). По смертности в мире, рак простаты занимает 8 место (375 304; 4,7% или 7,7 на 100 000 чел.). Наибольшая выявляемость характерна для стран Европы, Северной Америки, Австралии и Новой Зеландии, что связано с высоким общим уровнем медицины и существованием программ скрининга рака простаты. По аналогичной причине, из всех стран Азии, наибольшая заболеваемость раком простаты наблюдается в Японии. Наибольшая смертность при значительно меньшей заболеваемости регистрируется в странах Африки. Данный показатель может быть связан как с низким качеством диагностики онкологических заболеваний в данном регионе (что приводит к диагностике рака простаты на поздних стадиях, когда радикальное лечение не представляется возможным), так и с генетической предрасположенностью к развитию рака простаты у этноса, населяющего африканский континент [25,38,63].

В Российской Федерации рак простаты занимает пятое место в структуре общей онкологической заболеваемости среди обоих полов (6,8%). При этом, среди

мужского населения, рак простаты занимает второе место в структуре заболеваемости (14,9%), а среди мужчин старше шестидесяти лет занимает первое место (18,4). (Рисунок 1) [1]

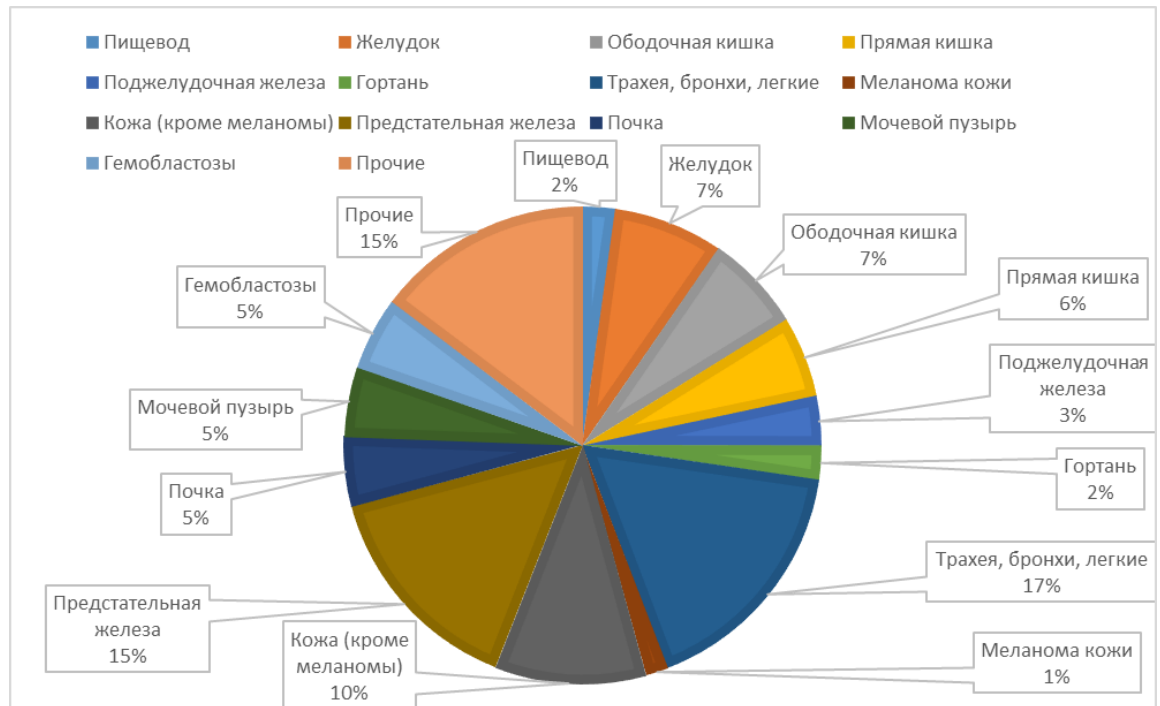


Рисунок 1 - Структура заболеваемости злокачественными новообразованиями мужского населения России в 2018 г. (по Каприну и соавт., 2019 г.)

1.2 Особенности энергетического обмена в здоровой ткани предстательной железы, а также в ткани аденокарциномы простаты различной степени злокачественности

В данном разделе будет сформулирована метаболическая функция белков-переносчиков глюкозы и монокарбоксилатов, а также ряда ферментов, отвечающих за поддержание гомеостаза в клетках в условиях гипоксии, участвующих в обмене глутамина, жирных кислот, лактата, как в здоровых клетках ткани простаты, так и при развитии аденокарциномы простаты различной степени злокачественности.

1.2.1 Метаболизм глюкозы и ее производных в простатических клетках

Предстательная железа человека представляет из себя орган, состоящий из различных по происхождению зон, отличающихся друг от друга как функционально, так и морфологически. К ним относятся: периферическая зона, занимающая около 70% объёма железы, центральная зона, представленная 25% ткани простаты, а также транзиторная зона, в норме занимающая около 5% органа. [47]

Метаболизм глюкозы в клетках предстательной железы имеет ряд особенностей, что позволяет выделить их на фоне большинства других типов клеток человеческого организма. Кратко клетки простаты можно охарактеризовать как «накапливающие цинк и продуцирующие цитрат». Периферическая зона простаты, а также секрет предстательной железы содержат крайне высокие концентрации цитрата и цинка по сравнению с другими тканями организма и плазмой крови. (Таблица 1) [16]

Таблица 1 - Концентрация цитрата и цинка в различных тканях [7]

Локализация	Цитрат (нмоль/г)	Цинк (нмоль/г)
Периферическая зона простаты	10000-13000	2000-4000
Центральная зона простаты	1000-3000	800-1000
Периферическая зона простаты при РПЖ	500-2000	500-900
Другие мягкие ткани	150-450	100-500
Секрет простаты в норме	40000-150000	7000-9000
Секрет простаты при РПЖ	6000-10000	800-1000
Плазма крови	90-110	13-17

В различных количествах цитрат синтезируется во всех клетках организма. Его образование происходит в митохондриях из оксалоацетата и ацетил-КоА при участии фермента цитратсинтазы. Далее, цитрат может либо перейти в цикл Кребса, претерпевая дальнейшие метаболические изменения, либо поступить в цитозоль клетки, впоследствии участвуя в липогенезе. В здоровых клетках простаты отмечается увеличение концентрации цинка и его выделение за пределы клетки при помощи белка-переносчика цитрата. Это происходит вследствие отсутствия функции фермента м-аконитазы, отвечающей за переход цитрата в изоцитрат, из-за высокой концентрации цинка. [16,9] (Рисунок 2) Вследствие данных особенностей, метаболизм является энергетически менее выгодным, поскольку, по сравнению с другими соматическими клетками организма, синтезируется на 24 молекулы АТФ меньше. Данная особенность может быть обусловлена физиологической функцией предстательной железы, за счет высокой концентрации цитрата в секрете, обеспечивающей оптимальный для функции сперматозоидов рН и вязкость. [9,14]

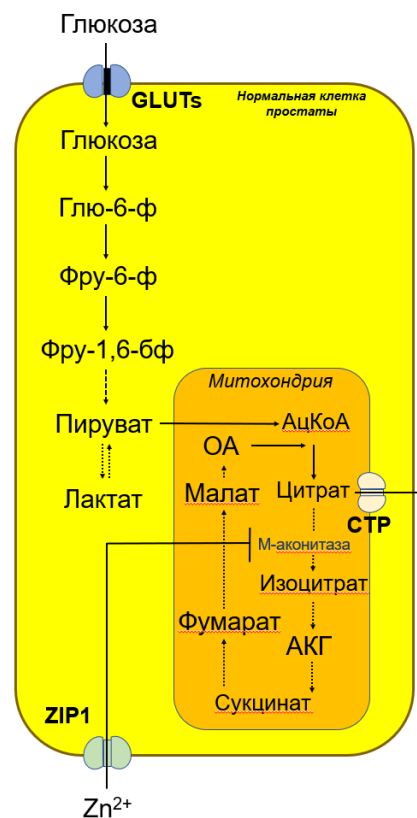


Рисунок 2 - Схема метаболизма глюкозы в здоровых клетках простаты

1.2.2 Особенности метаболизма глюкозы и монокарбоксилатов в клетках рака простаты на разных стадиях заболевания

Ключевым свойством метаболизма рака простаты на ранних стадиях является снижение внутриклеточной и внутримитохондриальной концентрации цинка вследствие снижения функции его переносчика ZIP1. На фоне падения концентрации цинка, возобновляет свою работу фермент м-аконитаза, что позволяет клеткам метаболизировать цитрат в изоцитрат и восстановить полный цикл трикарбоновых кислот, переходя на более энергетически эффективный механизм метаболизма глюкозы, характерный для большинства соматических клеток человека. Это влечет за собой снижение внутриклеточной концентрации и, следовательно, выделения в межклеточное пространство простатическими клетками цитрата. [16,66,36] Цинк способствует апоптозу, активируя каспазы, высвобождая цитохром-с в митохондриальной системе и подавляя действие антиапоптотического фактора NF-κB. [12] Уменьшение уровня цинка приводит к ослаблению апоптоза в ткани простаты, что повышает риск образования злокачественных клеток. [2,18,70] Также имеются данные, что одним из факторов, способствующих переходу простатических клеток на окислительное фосфорилирование, является пониженная экспрессия микро-РНК-132 (miR-132). В исследовании Qi и соавторов было показано, что уровень экспрессии miR-132 в ткани рака простаты ниже, чем в здоровой ткани. miR-132 играет ключевую роль в подавлении пролиферации раковых клеток простаты, воздействуя на GLUT-1 — белок, который участвует в транспортировке глюкозы через клеточную мембрану, снижая его экспрессию. Снижение уровня miR-132 в простатической ткани способствует переключению клеточного метаболизма с гликолиза на окислительное фосфорилирование. [4,2,50]

Интенсивность поглощения глюкозы клетками рака простаты варьируется в зависимости от степени злокачественности опухоли. При низкой степени злокачественности клетки практически не поглощают глюкозу, что

подтверждается низкой чувствительностью позитронно-эмиссионной компьютерной томографии (ПЭТ-КТ) с использованием глюкозы ((18)F-FDG-PET) при выявлении рака простаты с низким баллом по Глисону. В то же время поглощение глюкозы значительно возрастает у опухолей с высоким баллом по Глисону, что указывает на их усиленную гликолитическую активность. [62,3] Эти данные предполагают, что на ранних стадиях рака простаты глюкоза не является основным источником энергии для опухолевых клеток. Вместо этого, на начальных этапах заболевания, клетки могут использовать пируват или лактат в качестве основных источников энергии. [3,56]

Проблему недостатка питательных веществ в ткани рака простаты на ранних стадиях решает особый механизм взаимодействия между опухолевыми клетками и клетками стромы, находящимися с ними в непосредственной близости – канцер-ассоциированными фибробластами (cancer-associated fibroblasts, CAFs). Под воздействием различных веществ, секретируемых опухолью (таких как ИЛ-6, сиртулин-3, фактор, индуцируемый гипоксией-1 (HIF-1), и активные формы кислорода), CAFs испытывают оксидативный стресс, который приводит к изменению их метаболизма. В результате клетки начинают усиленно поглощать глюкозу и выделять значительные количества лактата в межклеточное пространство. У фибробластов увеличивается экспрессия белков GLUT1, отвечающего за транспорт глюкозы через мембрану, и MCT4, транспортирующего монокарбоксилаты за пределы клетки. [3,72,31,73,41] В это же время клетки опухоли активно поглощают выделяемый лактат, что подтверждается снижением его концентрации в межклеточном матриксе и повышенной экспрессией белка MCT1 в клетках рака простаты, расположенных рядом с CAFs. MCT1 отвечает за транспорт монокарбоксилатов внутрь клеток. Таким образом, стромальные клетки «подкармливают» опухолевые клетки основными метаболическими субстратами. Этот процесс, известный как «лактатный шаттл» или «обратный эффект Варбурга», играет важную роль в поддержании роста и развития опухоли. [3,64,75] Впервые обратный эффект Варбурга был описан Pavlides и соавторами на примере рака молочной железы. [3,71] (Рисунок 3, Рисунок 4)

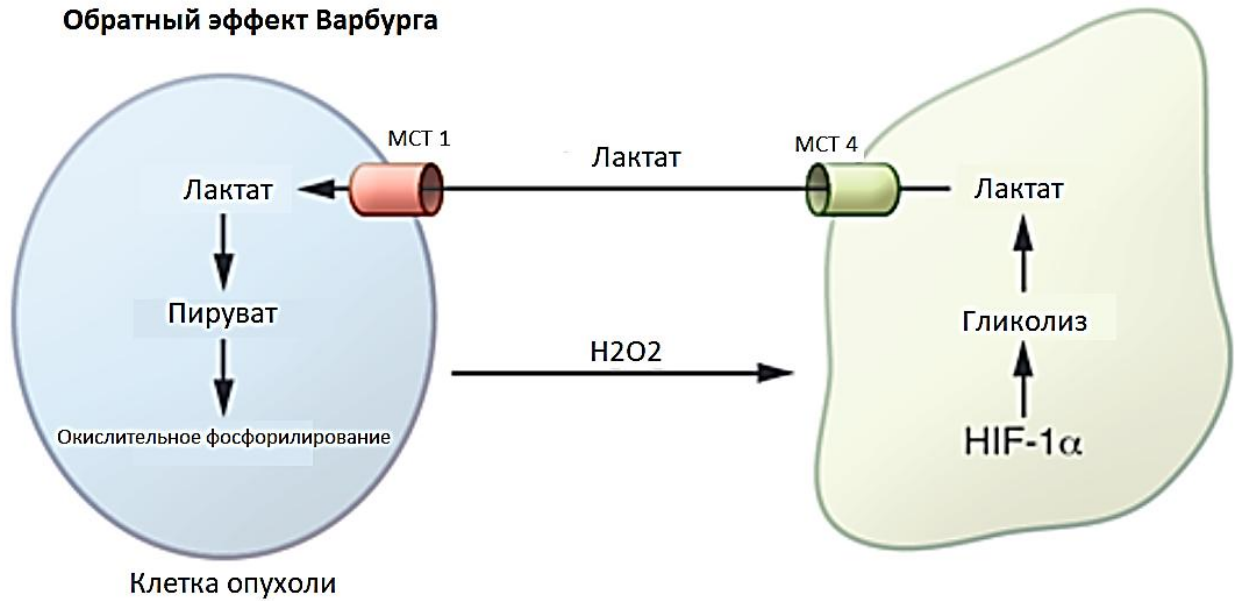


Рисунок 3 - Механизм обратного эффекта Варбурга

Исследования показывают, что наличие лактатного шаттла связано с неблагоприятным прогнозом у пациентов с раком простаты. Коэкспрессия белков MCT4 в CAFs и MCT1 в опухолевых клетках коррелировала с pT3 стадией заболевания. Кроме того, совместно с повышенной экспрессией CAIX в стромальных клетках, это ассоциировалось с повышенным риском биохимического рецидива. [3,6,55] Аналогичная картина наблюдалась в случае нейроэндокринного рака простаты. [2,68]

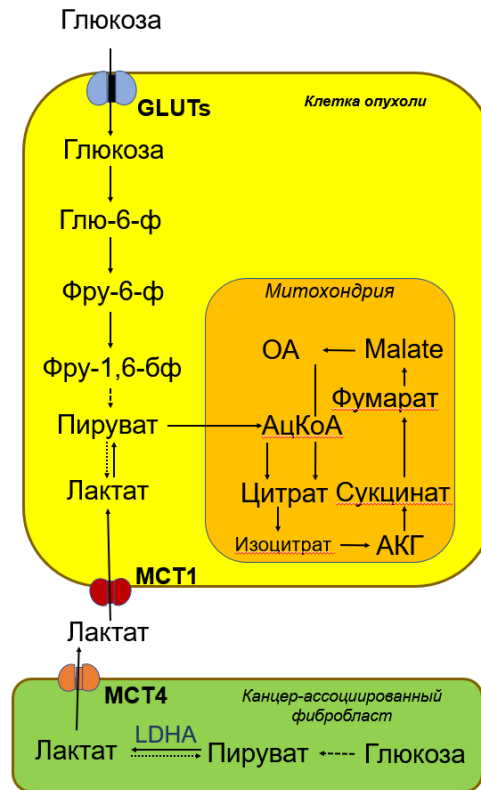


Рисунок 4 - Схема энергетического метаболизма клетки аденокарциномы простаты на ранних стадиях заболевания

С ростом злокачественности заболевания происходит дальнейшая дедифференцировка клеток рака простаты, при которой метаболизм опухолевых клеток меняется с активного поглощения лактата на поглощение глюкозы с последующим гликолизом и выделением больших объемов лактата в межклеточный матрикс, тем самым заменяя обратный эффект Варбурга на прямой. (Рисунок 5) Доказательством наличия прямого эффекта Варбурга в клетках РПЖ высокой степени злокачественности является повышенная экспрессия в них лактатдегидрогеназы (ЛДГ) [35,74] и GLUT-1 [7]. При этом, участки, в которых активно происходит гликолиз, становятся хорошо заметны при использовании ^{18}F -FDG-PET [27].

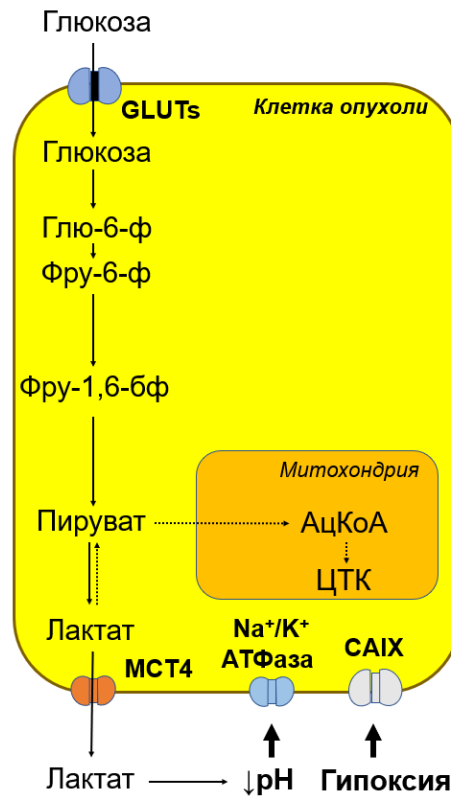


Рисунок 5 - Схема энергетического метаболизма клеток аденокарциномы простаты на поздних стадиях заболевания

1.3 Роль переносчиков монокарбоксилатов (MCTs) в метаболизме клеток рака простаты

Семейство MCTs включает 14 различных типов, однако только MCT1-MCT4 были экспериментально подтверждены в качестве участников транспорта таких метаболически значимых веществ, как лактат, пируват и кетоновые тела через клеточную мембрану. [2,59] MCT1 является наиболее распространённым типом и играет ключевую роль в переносе монокарбоксилатов через клеточную мембрану, обладая наибольшей аффинностью к L-лактату. MCT2, хоть и встречается реже, демонстрирует схожие функции и даже более высокую аффинность к L-лактату и другим монокарбоксилатам, по сравнению с MCT1. Третий тип, MCT3, локализуется исключительно в пигменте сетчатки и сосудах глазного дна. [2,37,78]

МСТ4 наиболее активен в тканях, где происходит интенсивный гликолиз, таких как белые волокна скелетных мышц, астроциты, лейкоциты и хондроциты. Этот тип переносчиков отвечает за экспорт монокарбоксилатов из клеток, что особенно важно для поддержания гомеостаза в условиях активного обмена веществ. [2,32].

Проведено множество исследований, посвященных анализу экспрессии переносчиков монокарбоксилатов в клетках рака простаты с различной степенью злокачественности. Эти исследования включают как клетки, полученные из ткани после радикальной простатэктомии, так и лабораторно культивируемые линии, такие как LNCaP и PC-3. Также, исследовались клетки с признаками простатической интраэпителиальной неоплазии (ПИН), клетки доброкачественной гиперплазии простаты и нормальные простатические клетки. Множество работ указывает на повышенную экспрессию МСТ2 и МСТ4 в клетках ПИН и рака простаты как в тканях, полученных после РПЭ, так и в клетках аденокарциномы, культивируемых в лабораторных условиях. Уровень экспрессии ряда метаболических маркеров прямо коррелировал со степенью злокачественности по шкале Глисона, а также с предоперационным уровнем ПСА среди пациентов, включенных в исследования. Например, в работе НАО et al. отмечено увеличение экспрессии МСТ4 наряду с маркерами инвазии опухоли, такими как CD147 и CD44v3-10, в клетках рака простаты из первичного очага. При этом степень их экспрессии была связана с уровнем ПСА и прогрессированием заболевания, включая стадию по Глисону и местное распространение опухоли с вовлечением регионарных лимфатических узлов. [2,15,65] В исследовании, проведенном Pérttega-Gomes et al., было зафиксировано увеличение экспрессии МСТ2 и МСТ4 наряду с ростом злокачественности. Уровень экспрессии МСТ1 оказался выше в тканях с простатической интраэпителиальной неоплазией (ПИН) по сравнению со здоровыми клетками простаты. Кроме того, МСТ2 демонстрировал повышенную экспрессию в клетках ПИН, не отличающуюся от уровня в злокачественных клетках. Была установлена корреляция между повышением экспрессии МСТ4 + CD147 и возрастом пациентов, уровнем ПСА, более высокой патоморфологической стадией заболевания, высоким баллом по Глисону, а также

с наличием перинеуральной инвазии и биохимическим рецидивом. Эти данные подчеркивают важность МСТ2 и МСТ4 как потенциальных маркеров прогрессирования рака простаты и их связь с клиническими характеристиками заболевания. [2,52,65] Экспрессия МСТ4 варьировалась в зависимости от фенотипа рака простаты. В частности, андроген-нечувствительная линия клеток рака простаты PC3 демонстрировала более высокий уровень МСТ4 по сравнению с андроген-чувствительной линией LNCaP. Клетки PC3 имеют более выраженный гликолитический фенотип, что проявляется их способностью к высокой продукции лактата и его выведению через МСТ4. В отличие от клеток LNCaP, которые имеют более низкий уровень экспрессии МСТ4, клетки PC3 активно используют аэробный гликолиз, что способствует их выживанию и прогрессированию опухоли. Эти различия в экспрессии МСТ4 также могут указывать на адаптацию клеток к условиям гипоксии и метаболическим требованиям опухоли, что делает МСТ4 потенциальной мишенью для терапевтического вмешательства в лечении рака простаты. [2,7,65] Также, было доказано, что высокий уровень МСТ4 в клетках рака простаты PC-3 увеличивал их способность к инвазии. [2,65,67] В клетках рака простаты наблюдается значительная экспрессия МСТ2 в сочетании с АМАСР (альфа-метилацил-КоА-рацемаза), ферментом, который играет важную роль в метаболизме жирных кислот. Это наблюдение актуально независимо от степени злокачественности по шкале Глисона. АМАСР, являющийся онкомаркером, участвует в бета-окислении разветвленных жирных кислот и синтезе желчных кислот, а также способствует свободнорадикальным процессам и повреждению ДНК. Высокая экспрессия АМАСР чаще всего фиксируется именно при раке предстательной железы, что делает его полезным для дифференциальной диагностики с другими заболеваниями предстательной железы. Таким образом, сочетание МСТ2 и АМАСР может служить важным диагностическим показателем, позволяющим более точно оценить состояние клеток рака простаты. [2,49,65] При более детальном анализе было установлено, что, помимо увеличения уровня экспрессии МСТ2 в злокачественных клетках, изменяется и его внутриклеточное распределение. Исследования *in vitro* продемонстрировали, что в нормальных

клетках простаты МСТ2 в основном находится в цитоплазме. В клетках локализованного рака простаты наблюдается преобладание МСТ2 в пероксисомах, тогда как в метастатических линиях рака простаты фиксируется снижение концентрации МСТ2 в пероксисомах и его увеличение в цитоплазме. Авторы исследования также подчеркивают, что МСТ2 может играть ключевую роль в катаболизме жирных кислот в клетках рака простаты и его миграция в пероксисомы может инициировать злокачественный процесс. [2,45,65] (Таблица 2)

Таблица 2 - Список работ, оценивающих экспрессию переносчиков монокарбоксилатов в клетках рака простаты [2,65]

Автор, год	Переносчик	Выводы
Нао и соавт., 2010	МСТ4	Экспрессия МСТ4 совместно с CD147 и CD44v3-10 коррелировала с уровнем ПСА и стадией заболевания
Pértega-Gomes и соавт., 2011	МСТ1, МСТ2, МСТ4	Экспрессия МСТ2 и МСТ4 выше в ПИН и аденокарциноме простаты, повышение МСТ4 и CD147 ассоциировано с худшим прогнозом заболевания
Vaz и соавт., 2012	МСТ4	Экспрессия МСТ4 выше в андроген-нечувствительной линии клеток рака простаты по сравнению с андроген-чувствительной
Sun и соавт., 2019	МСТ4	Клетки рака простаты с высокой экспрессией МСТ4 обладали большей способностью к инвазии
Pértega-Gomes и соавт., 2013	МСТ2	Экспрессия МСТ2 и АМАСР выше в клетках рака простаты независимо от их злокачественности
Valença и соавт., 2015	МСТ2	В клетках рака простаты преобладает экспрессия МСТ2 в пероксисомах. МСТ2 может служить инициатором злокачественного процесса.

Существуют работы, подтверждающие значимость переносчиков монокарбоксилатов в жизненном цикле клеток рака простаты путем оценки

влияния на них таргетного ингибирования МСТ в культуре опухолевых клеток. В работе Kim et al. на моделях животных с ксенотрансплантатами клеток рака простаты было показано, что ингибирование МСТ1 с помощью LAPC-4 не оказало статистически значимого влияния на рост опухоли, однако привело к увеличению доли некротизированных клеток внутри нее.[2,12] В работе Fiaschi и соавт. было отмечено ингибирование роста опухоли на 50% в присутствии CAFs при блокировании МСТ1. [2,64] Ингибирование МСТ4 с использованием антисенс олигонуклеотидов, нацеленных на МСТ4 (МСТ4 ASO), продемонстрировало положительный эффект как в клеточных культурах, так и в живых организмах при исследовании гормон-резистентного рака простаты PC-3. В результате экспериментов *in vitro* было зафиксировано уменьшение секреции лактата, снижение потребления глюкозы и подавление экспрессии генов, участвующих в гликолизе, таких как GAPDH, PGK1, PGAM1 и ENO1. В условиях *in vivo* наблюдалось замедление роста опухоли и увеличение уровня апоптоза. Кроме того, применение МСТ4 ASO способствовало улучшению противоопухолевого иммунного ответа. Эти результаты подчеркивают потенциал МСТ4 как терапевтической мишени для лечения гормон-резистентного рака простаты. [2,71]

1.4 Роль переносчиков глюкозы (GLUTs) в метаболизме клеток рака простаты

Функция семейства переносчиков глюкозы заключается в энергетически независимом транспорте гексоз, включая глюкозу, через клеточную мембрану согласно градиенту концентрации. В мировой научной литературе описано 13 различных типов этих переносчиков, которые обладают различной аффинностью к глюкозе.[4] Наиболее чувствительными к ней являются переносчики типа GLUT1, GLUT2, GLUT3 и GLUT4.[30] Анализ литературных данных показывает, что среди всех переносчиков глюкозы, связанных с раком простаты, наибольшее внимание

уделяется GLUT1. Тем не менее, несмотря на обширные исследования, информация о его роли остается противоречивой и неоднородной. В одном из первых исследований, посвященных экспрессии переносчиков глюкозы в клетках аденокарциномы и гиперплазии простаты, было установлено, что в образцах гиперплазии наблюдается только экспрессия GLUT1. В то же время клетки рака простаты демонстрируют экспрессию как GLUT1, так и GLUT12. [4,20,65]

Анализируя экспрессию GLUT1 в различных типах тканей, можно отметить, что он выявляется только в здоровой ткани простаты, гиперплазии и внутрипротоковом раке простаты. В отличие от этих типов, аденокарцинома простаты не демонстрирует экспрессию GLUT1. Это подтверждается данными из исследования К. Reinicke et al., где было установлено, что GLUT1 определялся лишь в первых трех категориях тканей. [4,13,65]

В последующих исследованиях была зафиксирована повышенная экспрессия GLUT1 в лабораторных клеточных линиях аденокарциномы простаты, таких как LNCaP, LNCaP-R, PC-3 и DU-145. Эти данные подтверждают важность GLUT1 в метаболизме раковых клеток. Например, одно из исследований показало, что ингибирование GLUT1 значительно подавляет рост клеток и гликолиз как *in vitro*, так и *in vivo*, особенно в контексте кастрационно-рефрактерного рака простаты (CRPC). [4,27,30,29,28,53,51,61,65]

Наблюдалась связь между высокой экспрессией упомянутого маркера и баллом по Глисону, превышающим 7, а также уровнем простат-специфического антигена, превышающим 20 нг/мл. [4,30,65]

Среди пациентов, перенесших радикальную простатэктомию, была выявлена ассоциация между повышенной экспрессией GLUT1 и ухудшением показателей выживаемости. В частности, высокая экспрессия этого маркера коррелировала с более низкими показателями безрецидивной выживаемости, выживаемости без метастазирования и выживаемости без кастрационной рефрактерности. Эти результаты подчеркивают важность GLUT1 как потенциального прогностического маркера в клинической практике для оценки исходов лечения рака простаты после хирургического вмешательства [4,27,65]

GLUT1 играет ключевую роль в поддержании стабильности клеток рака простаты в условиях оксидативного стресса,

возникающего при недостатке глюкозы. В исследовании Gonzalez-Menendez было показано, что лабораторная линия гормон-чувствительного рака простаты (LNCaP) демонстрирует большую устойчивость к оксидативному стрессу по сравнению с гормонально рефрактерной линией (LNCaP-R). Этот феномен объясняется тем, что дефицит глюкозы активирует андрогенные рецепторы, что, в свою очередь, усиливает экспрессию GLUT1. Повышение уровня GLUT1 способствует активации фермента супероксид-дисмутаза-2 (SOD2) и увеличивает содержание глутатиона в клетках. Эти процессы значительно повышают устойчивость клеток к некрозу, позволяя им выживать в неблагоприятных условиях. Таким образом, GLUT1 не только обеспечивает транспорт глюкозы, но и играет важную роль в защитных механизмах клеток рака простаты против оксидативного стресса.[29] В ретроспективном исследовании Gasinska и соавт. была выявлена значительная роль экспрессии GLUT в более чем 19,1% клеток, наряду с уровнем простат-специфического антигена (ПСА) выше 8 нг/мл, экспрессией VEGF менее 11,0% и hTERT менее 6,7%. Эти факторы оказались независимыми прогностическими маркерами риска рецидива после радикальной простатэктомии (РПЭ). [4,2,61,65]

Существует ряд исследований, посвященных таргетному ингибированию GLUT1 и его воздействию на опухолевые клетки. В работе Wang и соавт. было показано, что ингибирование GLUT1 с помощью STF-31, а также применение энзалутамида как в комбинации, так и по отдельности, приводили к снижению скорости пролиферации клеток и уменьшению интенсивности гликолиза. [2,28,65] В исследовании Garlapati и соавт. было отмечено, что в лабораторных клеточных линиях рака простаты PC3 и DU-145 наблюдается повышенная экспрессия GLUT1. При этом, на фоне снижения активности GLUT1 с использованием моноэтаноламидов, в опухолевых клетках развивался биоэнергетический стресс и апоптоз. [2,53,65]

Касательно переносчиков глюкозы других типов, объем опубликованной литературы значительно меньше. Было отмечено снижение уровня экспрессии GLUT3 в лабораторных клеточных линиях гормон-нечувствительного рака простаты по сравнению с линиями гормонально чувствительной опухоли. По

утверждению авторов, определение GLUT3 в опухоли может стать новым предиктором чувствительности к гормональной терапии в будущем.[7] Определение экспрессии GLUT5 показало снижение в ткани ПИН по сравнению со здоровой и гиперплазированной тканью простаты. При этом, экспрессия GLUT5 в ткани аденокарциномы простаты полностью отсутствовала. GLUT11 экспрессировалась сильнее в ткани аденокарциномы при сравнении с тканью гиперплазии, что может говорить о повышении потребления фруктозы опухолевыми клетками.[13] Для нейроэндокринной формы рака простаты характерно повышение активности глюкокиназы наряду с супрессией GLUT12. [17] Стоит также обратить внимание на взаимосвязь лечения РПЖ энзалутамидом и экспрессии GLUT4. Так, в работе Hoshi и соавт, клетки аденокарциномы простаты, устойчивые к энзалутамиду, потребляли больше глюкозы по сравнению с стандартной лабораторной линией клеток рака простаты LNCaP за счет более высокой экспрессии GLUT4. Авторы указывают, что таргетное ингибирование GLUT4 может стать крайне полезно в терапии устойчивого к энзалутамиду рака простаты. [76]

1.5 Роль глутамина и глутаминазы 1 типа (GLS1) в метаболизме клеток аденокарциномы простаты

Глутамин – важнейшая аминокислота, являющаяся ключевым элементом цикла Кребса и формирования жирных кислот. [26] При помощи фермента глутаминазы 1 типа (GLS1) глутамин переходит в глутамат, который в свою очередь переходит в α -кетоглутарат (α -KG). В цикле трикарбоновых кислот глутамин является строительным блоком для синтеза глутатиона. [2,69] Глутамин играет ключевую роль в метаболизме опухолевых клеток, выступая донором азота для синтеза аминокислот, нуклеотидов и других метаболитов, необходимых для их роста. В последнее время метаболизм глутамина стал привлекательной целью для

терапии, особенно в контексте рака простаты, где его влияние на прогрессирование заболевания становится все более очевидным. [2,54,19] В работе Pan и соавт. была указана роль фермента глутаминазы в регуляции поглощения глюкозы клетками рака простаты. Так, клетки лабораторной линией рака простаты после ингибирования GLS1 значительно снижали объем поглощаемой глюкозы. Также отмечалось снижение интенсивности роста клеток и концентрации АТФ внутри клетки. Частота повышенной экспрессии была выше в клетках РПЖ по сравнению с гиперплазированной тканью простаты, а степень экспрессии прямо коррелировала с возрастом пациента, баллом по Глисон, стадией заболевания. [19] Таргетное ингибирование метаболизма глутамин в клетках рака простаты приводило к повреждению ДНК оксидативному стрессу, что проявлялось в виде повышения их чувствительности к лучевой терапии. [54]

1.6 Роль лактатдегидрогеназы 5 типа (LDH-5) в метаболизме клеток аденокарциномы простаты

Лактатдегидрогеназа – фермент, катализирующий обратимую трансформацию пирувата в лактат. [77] В условиях достаточного снабжения кислородом, пируват, являющийся конечным продуктом гликолиза, входит в цикл трикарбоновых кислот для продуцирования АТФ. В условиях гипоксии пируват переходит в лактат, необходимый для синтеза АТФ и NAD⁺ (который, в свою очередь, необходим для продолжения реакции гликолиза). [33] Таким образом, повышение уровня ЛДГ в клетке способствует активации анаэробного гликолиза и снижению потребности в кислороде. Существуют 5 изоферментов ЛДГ (LDH 1-5), которые за счет различных комбинаций полипептидных цепей обладают различными функциями. Так, LDH-1 преимущественно катализируют конверсию пирувата в ацетил-КоА, тогда как LDH-5 – переход пирувата в лактат. В работе Koukourakis и соавт, посвященной оценке экспрессии LDH-1 и LDH-5 в

доброкачественных клетках и в клетках рака легких, молочной железы, эндометрия, мочевого пузыря и толстой кишки, экспрессия LDH-1 наблюдалась практически во всех типах клеток, тогда как повышенная экспрессия LDH-5 была характерна только для злокачественных опухолей. LDH-5 была связана с повышением экспрессии фактора, индуцированного гипоксией 1-альфа (HIF-1-alpha), что указывает на преобладание выработки этого фермента в условиях недостатка кислорода. Исследования показывают, что HIF-1 α активируется в гипоксических условиях и способствует регуляции метаболических процессов, включая экспрессию LDH-5 и GLUT1, которые играют ключевую роль в энергетическом обмене опухолевых клеток. Например, в одном из исследований было установлено, что экспрессия LDH-5 имеет сильную корреляцию с уровнем HIF-1 α в опухолевых тканях, что подтверждает его участие в адаптации клеток к гипоксии и поддержании их жизнеспособности при недостатке кислорода. Это взаимодействие подчеркивает важность LDH-5 как маркера метаболических изменений в опухолях и его потенциальную роль в терапевтических стратегиях, направленных на борьбу с раком. [2,42] Среди пациентов с плоскоклеточным раком головы и шеи, повышение экспрессии LDH-5 клетками опухоли было ассоциировано со стадией T4 ($p = 0,04$) и экспрессией фактора гипоксии-1альфа (HIF-1альфа) ($p = 0,002$), с худшей выживаемостью без отдаленных метастазов ($p = 0,01$) и канцер-специфической выживаемостью ($p = 0.009$), с худшей безрецидивной выживаемостью ($p = 0,009$) и общей выживаемостью ($p = 0,01$). [43] Среди пациентов после лучевой терапии рака простаты, высокая экспрессия LDH-5 была ассоциирована со степенью злокачественности по Глиссону ($p=0.02$), стадией заболевания T3 ($p=0.001$), худшей безрецидивной выживаемостью ($p= 0.03$), местным рецидивом заболевания ($p= 0.01$). [44]

1.7 Роль синтазы жирных кислот (FASN) в метаболизме аденокарциномы простаты

Синтаза жирных кислот (FASN) является ключевым компонентом синтеза липидов. Изменения активности данного фермента наблюдались в различных видах злокачественных опухолей. [22,48] В клетки жирные кислоты поступают либо извне, либо синтезируются при помощи фермента FASN. Источником для синтеза длинноцепочечных жирных кислот являются ацетил-КоА и малонил-КоА. [48] В здоровой ткани, при нормальном уровне поступления экзогенных жирных кислот, влияние фермента FASN (синтаза жирных кислот) минимально и заключается в преобразовании избыточных углеводов в жирные кислоты. Однако искусственное усиление экспрессии FASN в лабораторных клеточных линиях рака простаты, таких как LNCaP и PC3, приводит к увеличению темпов их пролиферации как *in vitro*, так и *in vivo*. Исследования показывают, что FASN может действовать как онкоген, способствуя росту опухолевых клеток и подавляя апоптоз. Например, в одном из исследований было установлено, что ингибирование FASN вызывает апоптоз в клетках рака простаты, что подчеркивает важность этого фермента в развитии аденокарциномы простаты. [2,23] Имеется ряд исследований, указывающих на то, что повышенная экспрессия FASN является одним из наиболее ранних признаков злокачественной трансформации клеток. [57,34] При прогрессировании заболевания, уровень экспрессии FASN коррелирует с суммой баллов по Глисон и уровнем ПСА. [39] Прослеживается также зависимость экспрессии FASN от уровня экспрессии рецепторов андрогенов и условий гипоксии. [8,24] Таким образом, повышение экспрессии FASN в клетках РПЖ, а также корреляция со степенью злокачественности заболевания, делают его потенциальной целью для таргетной терапии заболевания. [22]

1.8 Роль карбоновой ангидразы 9 типа (CAIX) в метаболизме аденокарциномы простаты

Карбоновые ангидразы представляют собой группу металлоферментов, содержащих цинк, которые играют важную роль в регуляции внутриклеточного рН. Эти ферменты способны к обратимому преобразованию углекислого газа в протоны и бикарбонат, что позволяет поддерживать оптимальные значения рН в пределах 6.9-7.0. Это критически важно для выживания клеток в условиях гипоксии. [4,60,58] В первом исследовании, посвященном оценке иммуноэкспрессии CAIX в ткани гиперплазии и рака простаты не было получено данных за ее наличие во всех исследованных образцах. Авторы предположили наличие иных механизмов регуляции рН клетками рака простаты в зонах гипоксии. [4,9] В исследовании Donato и соавт. была зафиксирована высокая иммуноэкспрессия углекислой ангидразы IX (CAIX) в различных опухолях, таких как светлоклеточная почечноклеточная карцинома, уротелиальная карцинома, опухоли клеток Сертоли и светлоклеточная аденокарцинома. Однако CAIX не экспрессировалась в здоровых клетках простаты, клетках аденокарциномы и мелкоклеточной карциномы. [4,21] Тем не менее, в ряде более поздних исследований была отмечена выраженная иммуноэкспрессия углекислой ангидразы IX (CAIX) опухолевыми клетками простаты. В частности, в работе Fiashi и соавт. была выявлена высокая иммуноэкспрессия CAIX в лабораторных линиях клеток рака простаты, таких как PC-3, LNCaP и DU-145, а также в стромальных клетках, прилежащих к опухолевым клеткам, известных как CAFs. [4,10] В работе Ambrosio и соавт. была выявлена повышенная цитоплазматическая и ядерная экспрессия углекислой ангидразы IX (CAIX) как в лабораторных линиях клеток рака простаты (LNCaP и PC-3), так и в биоптатах простаты с опухолевыми клетками. Наличие экспрессии CAIX было ассоциировано с присутствием фактора, индуцированного гипоксией 1-альфа (HIF-1 α) в тканях, а степень экспрессии CAIX

коррелировала со степенью злокачественности опухоли. [4,11] В эксперименте, посвященном таргетному ингибированию CAIX в ткани предстательной железы, было установлено, что это приводит к снижению внутриклеточного pH, уменьшению скорости деления клеток и увеличению интенсивности апоптоза. Эти результаты подчеркивают важность CAIX в поддержании гомеостаза клеток в условиях гипоксии. [4,40]

Таким образом, согласно данным литературы, переносчики монокарбоксилатов, переносчики глюкозы, глутаминаза, синтаза жирных кислот и лактатдегидрогеназа могут играть важную роль в метаболизме аденокарциномы простаты, коррелировать с такими клиническими параметрами, как степень злокачественности, стадия заболевания, уровень ПСА и др., а также являться потенциальными новыми мишенями для противоопухолевой терапии. Тем не менее, имеющиеся данные крайне гетерогенны, а также изредка даже противоречат друг другу. Этот факт обуславливает необходимость проведения дальнейших исследований в данной области, поскольку потенциальным результатом может стать повышение эффективности персонализированного лечения рака предстательной железы.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Вид, общая характеристика исследования

Ретроспективный анализ проспективно собранной базы данных, наблюдательное исследование.

На данное исследование было получено одобрение Локального этического Комитета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) от 09.12.2020 (протокол №34-20).

Была проанализирована база данных, содержащая информацию о проведенных простатэктомиях в Институте урологии и репродуктивного здоровья человека Сеченовского Университета с 2015 г. по 2017 г. В базу вошли пациенты после позадилоной, лапароскопической и робот-ассистированной простатэктомии как с расширенной тазовой лимфаденэктомией, так и без, выполненными четырьмя хирургами. Предварительно всем пациентам была выполнена систематическая трансректальная биопсия под УЗИ-контролем, сатурационная или Fusion-биопсия, определена стадия заболевания и степень онкологического риска (Таблица 3), определена целесообразность расширенной ТЛАЭ с использованием номограмм POOU и Briganti.

Таблица 3 - Группы риска по биохимическому рецидиву локализованного и местнораспространенного рака предстательной железы

Определение			
Низкий риск	Промежуточный риск	Высокий риск	
ПСА < 10 нг/мл, индекс Глисона < 7 (группа ISUP 1), стадия cT1-2a	ПСА 10-20 нг/мл или индекс Глисона = 7 (Группа ISUP 2/3) или стадия cT2b	ПСА > 20 нг/мл, индекс Глисона > 7 (группа ISUP 4/5), стадия cT2c	Любой уровень ПСА Любой индекс Глисона cT3-4 или cN+ Любая группа ISUP
Локализованный процесс			Местнораспространенный процесс

Весь послеоперационный гистологический материал проходил обработку в гистологической лаборатории на базе Института клинической морфологии и цифровой патологии в соответствии с действующими стандартами. Материал окрашивался гематоксилином и эозином, определялась распространенность онкологического процесса, индекс Глисона. С целью оценки динамики и выявления биохимического рецидива рака простаты, пациентам после РПЭ проводился анализ ПСА сыворотки крови каждые 3 месяца. Критерием биохимического рецидива являлся уровень ПСА сыворотки крови $>0,2$ нг/мл.

2.2 Клинические центры, участвующие в исследовании

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Министерства Здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

1. Институт урологии и репродуктивного здоровья человека.
2. Институт клинической морфологии и цифровой патологии

2.3 Критерии включения/невключения/исключения

Отбор пациентов проводился по следующим критериям:

Критерии включения:

1. Гистологически подтвержденная аденокарцинома простаты;
2. Стадия заболевания не выше pT3bNoMo.

Критерии неключения:

1. Невозможность связаться с пациентом для определения факта биохимического рецидива рака простаты и динамики ПСА.

Критерии исключения:

1. Отказ пациента от участия в исследовании;
2. Несоответствия качества препарата для проведения иммуногистохимического исследования.

2.4 Отбор гистологических препаратов

В случае соответствия критериям включения, пациенту предлагалось ознакомиться с формой информированного согласия на участие в исследовании. Это согласие являлось добровольным и было основано на полном понимании всех аспектов исследования, включая цели, методы исследования. В случае согласия, собиралась информация о наличии или отсутствии биохимического рецидива рака простаты в течение 5 лет после операции, а также динамика уровня ПСА. Все собранные данные вносились в базу данных для дальнейшего анализа и оценки результатов исследования.

В архиве Института клинической морфологии и цифровой патологии Сеченовского Университета идентифицированы препараты простаты после радикальной простатэктомии в виде парафиновых блоков, проанализированы на предмет возможности иммуногистохимического исследования. В случае

несоответствия качества препарата для проведения иммуногистохимической реакции, пациент исключался из исследования.

Пациенты были распределены по группам степени злокачественности рака предстательной железы Международного общества уропатологов 2014 г. (ISUP). (Таблица 4)

Таблица 4 - Группа степени злокачественности рака предстательной железы Международного общества уропатологов 2014 г. (ISUP)

Индекс Глисона	Группа
2-6	1
7 (3+4)	2
7 (4+3)	3
8 (4+4) или (3+5) или (5+3)	4
9-10	5

Характеристики групп пациентов будут рассмотрены в главе диссертации «Статистическая обработка полученных данных».

2.5 Показатели, учитываемые в исследовании

Ниже в Таблице 5 приведен список показателей, учитываемых в исследовании с расшифровкой.

Таблица 5 - Список клинических показателей, учитываемых в исследовании

Показатель	Расшифровка
ID пациента	Номер пациента в исследовании с целью анонимизации

Продолжение Таблицы 5

ФИО	Фамилия, Имя, Отчество
Возраст, год рождения	Возраст на момент операции
ПСАисх	Уровень ПСА до операции
Объем предстательной железы	До операции по данным МРТ органов малого таза, ТРУЗИ
ISUP	Степень злокачественности по данным биопсии, по данным исследования послеоперационного материала
Стадия pTNM	Стадия заболевания по классификации TNM, определенная по результатам гистологического исследования
Лимфоваскулярная инвазия	Наличие/отсутствие лимфоваскулярной инвазии по результатам гистологического исследования
Вид радикальной простатэктомии	Ретроперитонеоскопическая радикальная простатэктомия, лапароскопическая радикальная простатэктомия, робот-ассистированная радикальная простатэктомия
Биохимический рецидив	Наличие/отсутствие

2.6 Методика иммуногистохимического исследования

Иммуногистохимическое исследование проводилось согласно стандартной методике.

В ходе ИГХ-исследования для проведения реакции использовались следующие антитела (подробная информация приведена в Таблице 6):

1. ANTI-SLC16A1
2. ANTI-SLC16A3
3. Кроличьи моноклональные антитела к GLUT1
4. Рекомбинантные моноклональные антитела к LDH5
5. Кроличьи моноклональные антитела к CAIX

6. Кроличьи моноклональные антитела к FASN

Таблица 6 - Список антител, используемых в ИГХ исследовании

Белок	Антитело	Изготовитель	Раствор антитела	Период инкубации	Система детекции
МСТ1	ANTI-SLC16A1	Sigma-Aldrich Co. LLC, США	1:400	30 мин	Nichirei Histofine® Simple Stain™ MAX PO (MULTI) Universal Polymer Anti-Mouse and – Rabbit, Nichirei Biosciences Inc, Япония
МСТ4	ANTI-SLC16A3	Sigma-Aldrich Co. LLC, США	1:400	30 мин	Nichirei Histofine® Simple Stain™ MAX PO (MULTI) Universal Polymer Anti-Mouse and – Rabbit, Nichirei Biosciences Inc, Япония
GLUT1	Кроличьи моноклональные антитела Glut 1, AC-0132A	Epitomics, Inc., США	1:200	30 мин	Nichirei Histofine® Simple Stain™ MAX PO (MULTI) Universal Polymer Anti-Mouse and – Rabbit, Nichirei Biosciences Inc, Япония

Продолжение Таблицы 6

Белок	Антитело	Изготовитель	Раствор антитела	Период инкубации	Система детекции
LDH5	Recombinant Lactate Dehydrogenase Monoclonal Antibody, ET1608-57	HUABIO Research, США	1:200	30 мин	Nichirei Histofine [®] Simple Stain [™] MAX PO (MULTI) Universal Polymer Anti-Mouse and – Rabbit, Nichirei Biosciences Inc, Япония
CAIX	Кроличьи моноклональные антитела Carbonic Anhydrase IX (CA IX), 379R-14 RUO	Cell Marque, США	1:400	30 мин	Nichirei Histofine [®] Simple Stain [™] MAX PO (MULTI) Universal Polymer Anti-Mouse and – Rabbit, Nichirei Biosciences Inc, Япония
FASN	Anti-FASN antibody produced in rabbit, Anti-OA-519	Sigma-Aldrich Co. LLC, США	1:400	30 мин	Nichirei Histofine [®] Simple Stain [™] MAX PO (MULTI) Universal Polymer Anti-Mouse and – Rabbit, Nichirei Biosciences Inc, Япония

2.7 Интерпретация данных иммуногистохимического исследования

Для маркеров MCT1, MCT4, GLUT1, глутаминазы, CAIX 0% окрашенных опухолевых клеток расценивалось как отсутствие реакции, слабовыраженная реакция выражалась в окраске <20% опухолевых клеток, умеренно выраженная при окраске 20-40% клеток, а сильновыраженная – при >40% окрашенных опухолевых

клеток. Аналогичным образом оценивалась ИГХ экспрессия МСТ4 в клетках соединительнотканной стромы опухоли.

Для маркеров LDH5 и FASN оценивалось лишь наличие (экспрессия > 0%) и отсутствие окрашивания клеток.

Независимо друг от друга оценивалась интенсивность окрашивания как эпителиальных клеток опухоли, так и соединительнотканной стромальной клеток. С целью определения доли положительно окрашенных клеток, был учтен весь объем опухолевой ткани, помещенной на предметное стекло. (Рисунок 6-12)

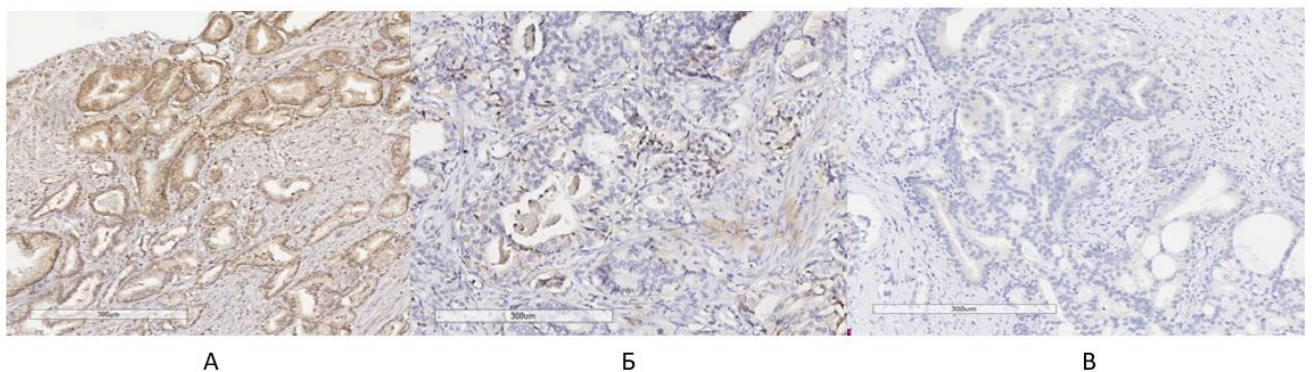


Рисунок 6 – Отношения интенсивности ИГХ окрашивания на МСТ4 в клетках опухоли и соединительнотканной стромы аденокарциномы простаты разных групп ISUP. А – равная интенсивность окрашивания опухолевых и стромальных клеток, образец ISUP1. Б – преобладание окрашивания опухолевых клеток над соединительнотканной стромой, ISUP 3. В – слабоположительное окрашивание в клетках опухоли с отсутствием реакции в соединительнотканной строме, ISUP 5

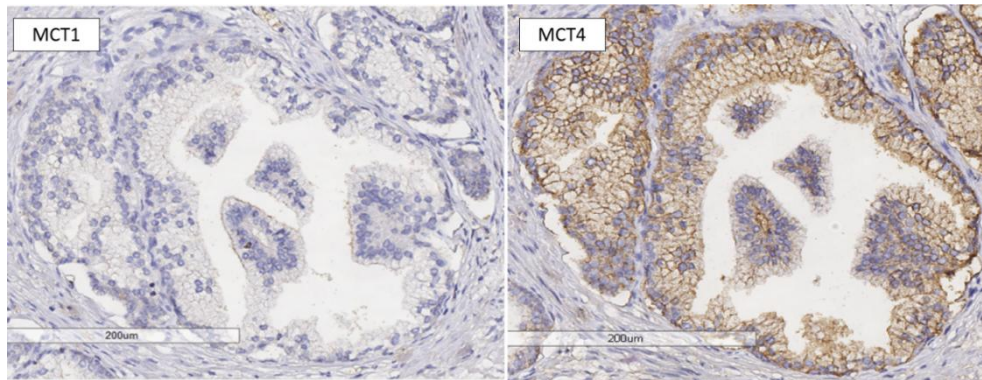


Рисунок 7 - Интенсивность окрашивания опухолевых клеток на MCT1 и MCT4, ISUP 1

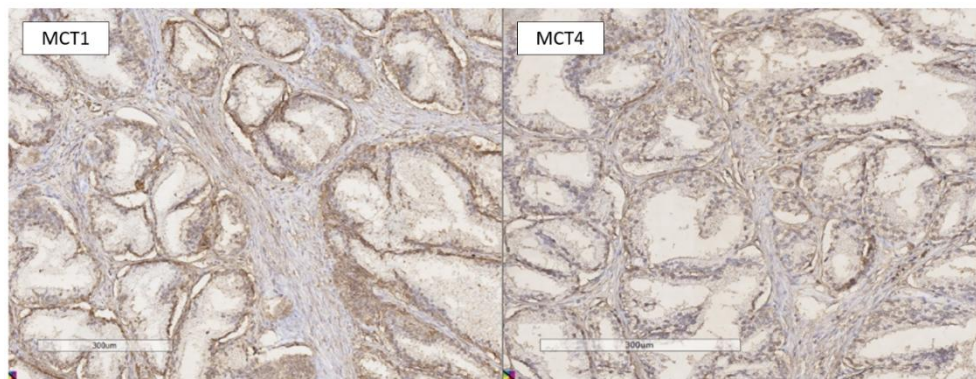


Рисунок 8 - Интенсивность окрашивания опухолевых клеток на MCT1 и MCT4, ISUP 2

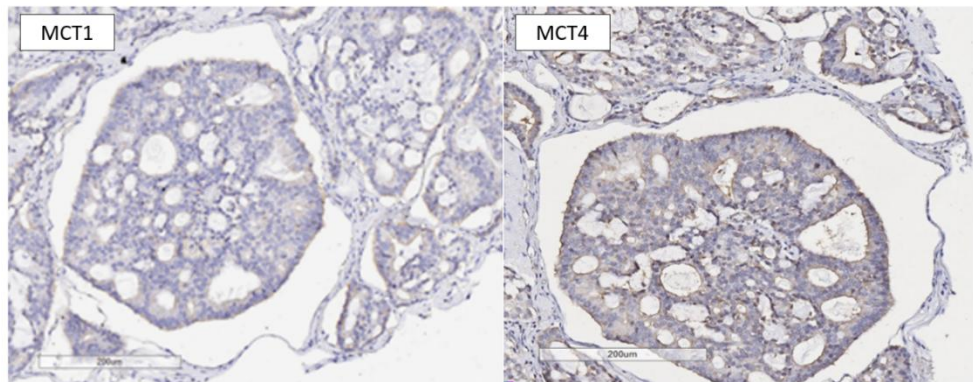


Рисунок 9 - Интенсивность окрашивания опухолевых клеток на MCT1 и MCT4, ISUP 3

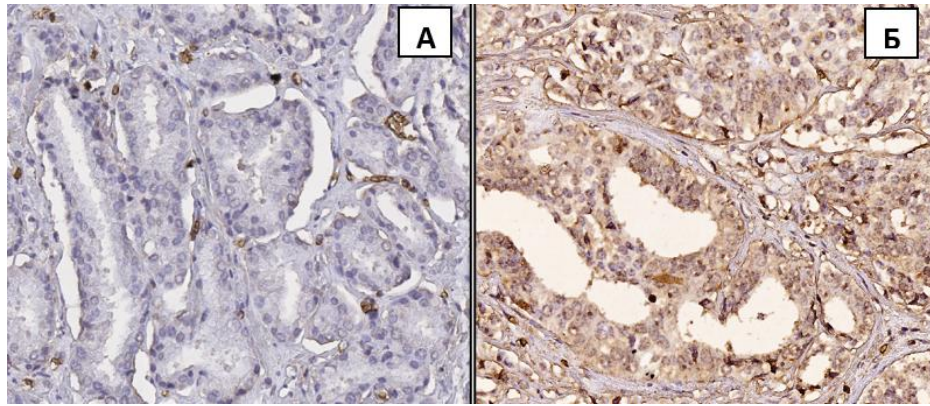


Рисунок 10 - Интенсивность окрашивания опухолевых клеток на MCT1 и MCT4, ISUP 4-5

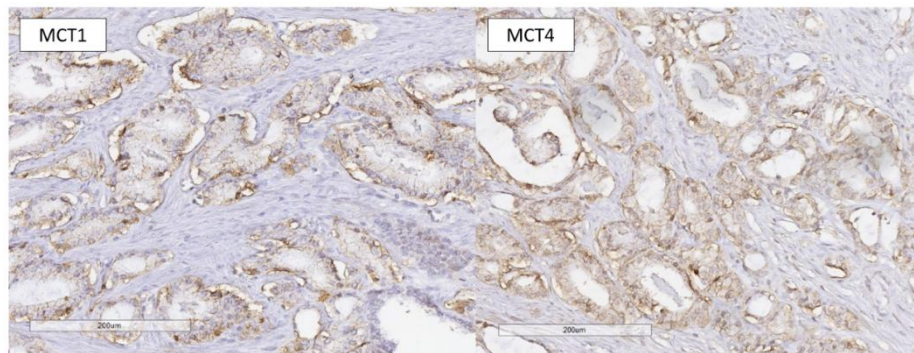


Рисунок 11 - Экспрессия GLUT 1 опухолевыми клетками аденокарциномы простаты групп ISUP 1 (А) и ISUP 4 и 5 (Б). Иммуногистохимическое окрашивание. x20

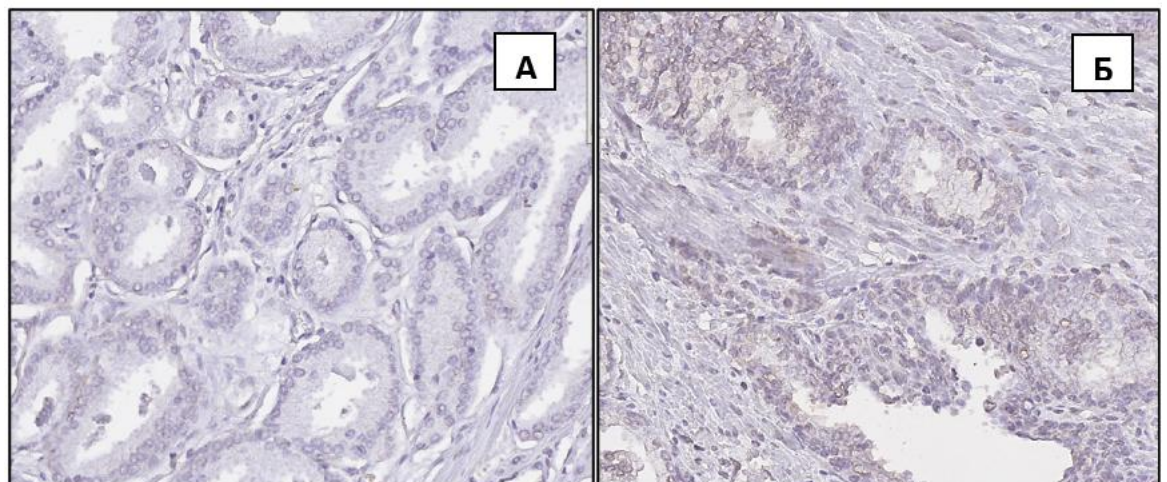


Рисунок 12 - Результаты иммуногистохимической реакции аденокарциномы простаты с антителами к CAIX. А. Отсутствие ИГХ реакции, ISUP3. (увеличение x20). Б. Слабоположительная ИГХ реакция ISUP 4,5. (увеличение x10).

2.8 Методы статистической обработки полученных данных

Статистическая обработка выполнялась с использованием программного обеспечения StatTech 3.0.9, IBM SPSS Statistics 26. Для каждого параметра был выполнен расчёт среднего арифметического, медианы и среднеквадратичного отклонения. Нормальность распределения была оценена при помощи критерия Колмогорова-Смирнова (при ненормальном распределении данные представлялись в виде медианы и квартилей). Межгрупповое сравнение признаков оценивалось с использованием U-критерия Манна-Уитни, критерия Краскела Уоллиса, критерия хи-квадрат Пирсона, точного критерия фишера. Корреляции были подсчитаны с использованием коэффициента Спирмена для категориальных переменных, критерия Пирсона – для числовых. Методом логистической регрессии формировались прогностические модели вероятности определенного исхода. Диагностическая значимость оценивалась путем анализа ROC-кривых. Для оценки выживаемости применялся метод Каплана-Майера. Статистически значимым считался уровень $p < 0,05$.

2.9 Характеристика пациентов

Всего в исследование было включено 90 пациентов. Из них, 29 – после лапароскопической радикальной простатэктомии, 48 – после робот-ассистированной радикальной простатэктомии, 13 – после позадилоной радикальной простатэктомии. (Рисунок 13) Количественные и категориальные переменные представлены в Таблице 7 и Таблице 8.

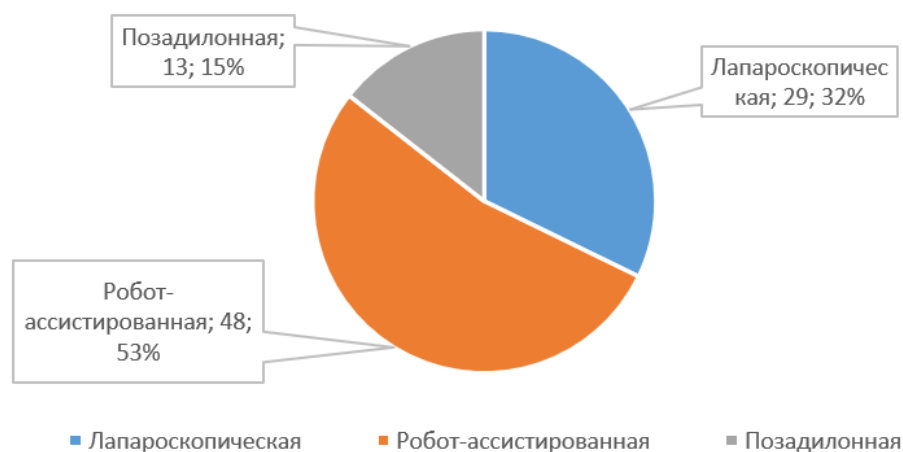


Рисунок 13 - Распределение пациентов по методам радикальной простатэктомии

Таблица 7 - Данные количественных переменных

Показатели	Me	Q ₁ – Q ₃	min	max
Возраст (лет)	64	59 – 69	46	77
ПСА до операции (нг/мл)	12,2400	7,5050 – 19,6750	4,0300	140,7000
Плотность ПСА	0,35	0,22 – 0,46	0,10	2,51
Объем простаты (см ³)	38	28 – 51	17	105

Таблица 8 - Описательная статистика категориальных переменных

Показатели	Категории	Абс.	%	95% ДИ
ISUP	ISUP 1	18	20,0	12,3 – 29,8
	ISUP 2	18	20,0	12,3 – 29,8
	ISUP 3	21	23,3	15,1 – 33,4
	ISUP 4-5	33	36,7	26,8 – 47,5
pT	pT2a	2	2,2	0,3 – 7,8
	pT2b	5	5,6	1,8 – 12,5
	pT2c	48	53,3	42,5 – 63,9
	pT3a	12	13,3	7,1 – 22,1
	pT3b	23	25,6	16,9 – 35,8
Наличие биохимического рецидива	Отсутствие БХ рецидива	64	71,1	60,6 – 80,2
	Наличие БХ рецидива	26	28,9	19,8 – 39,4

Продолжение Таблицы 8

Показатели	Категории	Абс.	%	95% ДИ
Периневральная инвазия	Отсутствие периневральной инвазии	67	74,4	64,2 – 83,1
	Наличие периневральной инвазии	23	25,6	16,9 – 35,8
Лимфоваскулярная инвазия	Отсутствие лимфоваскулярной инвазии	84	93,3	86,1 – 97,5
	Наличие лимфоваскулярной инвазии	6	6,7	2,5 – 13,9
Экстракапсулярное распространение	Отсутствие экстракапсулярного распространения	64	71,1	60,6 – 80,2
	Наличие экстракапсулярного распространения	26	28,9	19,8 – 39,4
MCT1	Отсутствие экспрессии	14	15,6	8,8 – 24,7
	<20% клеток	35	38,9	28,8 – 49,7
	20-40% клеток	26	28,9	19,8 – 39,4
	>40% клеток	15	16,7	9,6 – 26,0
MCT4 в строме опухоли	Отсутствие экспрессии	11	12,2	6,3 – 20,8
	<20% клеток	52	57,8	46,9 – 68,1
	20-40% клеток	27	30,0	20,8 – 40,6
MCT4 в паренхиме опухоли	Нет экспрессии	2	2,2	0,3 – 7,8
	<20% клеток	26	28,9	19,8 – 39,4
	20-40% клеток	24	26,7	17,9 – 37,0
	>40% клеток	38	42,2	31,9 – 53,1
Преобладание паренхиматозной экспрессии MCT4 над стромальной	MCT4пар.<MCT4стром.	76	84,4	75,3 – 91,2
	MCT4пар.>MCT4стром.	14	15,6	8,8 – 24,7
CAIX	Нет экспрессии CAIX	81	90,0	81,9 – 95,3
	<20% клеток	9	10,0	4,7 – 18,1
GLUT1	Нет экспрессии	1	1,1	0,0 – 6,0
	<20% клеток	53	58,9	48,0 – 69,2
	20-40% клеток	36	40,0	29,8 – 50,9

Продолжение Таблицы 8

Показатели	Категории	Абс.	%	95% ДИ
LDH5	Нет экспрессии	3	3,3	0,7 – 9,4
	Есть экспрессия	87	96,7	90,6 – 99,3
FASN	Нет экспрессии	48	53,3	42,5 – 63,9
	Есть экспрессия	42	46,7	36,1 – 57,5
Экспрессия глутаминазы	<20% клеток	6	6,7	2,5 – 13,9
	20-40% клеток	71	78,9	69,0 – 86,8
	>40% клеток	13	14,4	7,9 – 23,4

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕДЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Оценка связи уровня экспрессии оцениваемых маркеров с клинко-морфологическими параметрами

3.1.1 Оценка связи уровня экспрессии МСТ1 с клинко-морфологическими параметрами

Разница в экспрессии МСТ4 в строме ($p=0,05$) и паренхиме ($p<0,005$) опухоли в зависимости от МСТ1 была статистически значимой. (Таблица 9, Таблица 10, Диаграмма 1) (используемый метод: Хи-квадрат Пирсона).

Наблюдалась статистически значимая прямая корреляция между экспрессией МСТ1 и МСТ4 в строме и паренхиме опухоли ($r=0,314$ и $0,391$ соответственно, $p<0.01$) (используемый метод: корреляция Спирмена).

Таблица 9 – Показатель экспрессии МСТ4 в строме опухоли в зависимости от МСТ1

Показатель	Категории	МСТ1				p
		Отсутствие экспрессии	<20% клеток	20-40% клеток	>40% клеток	
МСТ4 в строме опухоли	Отсутствие экспрессии	2 (14,3)	8 (22,9)	1 (3,8)	0 (0,0)	0,050*
	<20% клеток	11 (78,6)	18 (51,4)	15 (57,7)	8 (53,3)	
	20-40% клеток	1 (7,1)	9 (25,7)	10 (38,5)	7 (46,7)	

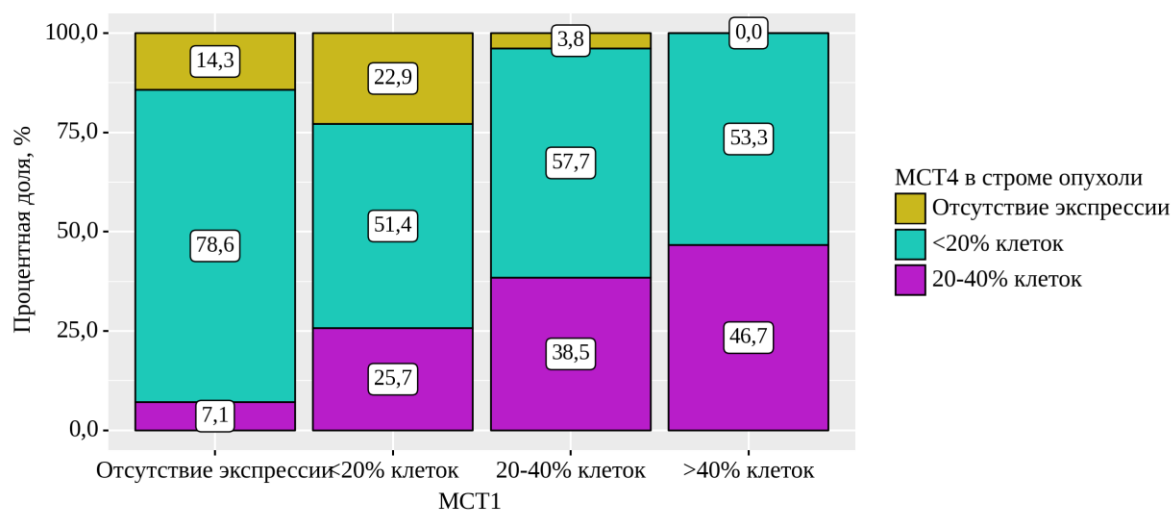


Диаграмма 1 – Показатели зависимости экспрессии МСТ4 от МСТ1 в строме опухоли

Таблица 10 – Экспрессия МСТ4 в клетках опухоли в зависимости от экспрессии МСТ1

Показатель	Категории	МСТ1				p
		Отсутствие экспрессии	<20% клеток	20-40% клеток	>40% клеток	
МСТ4 в паренхиме опухоли	Нет экспрессии	1 (7,1)	1 (2,9)	0 (0,0)	0 (0,0)	< 0,001* p _{Отсутствие экспрессии – 20-40% клеток} = 0,006
	<20% клеток	7 (50,0)	16 (45,7)	1 (3,8)	2 (13,3)	
	20-40% клеток	2 (14,3)	6 (17,1)	15 (57,7)	1 (6,7)	p _{<20% клеток – 20-40% клеток} = 0,004
	>40% клеток	4 (28,6)	12 (34,3)	10 (38,5)	12 (80,0)	

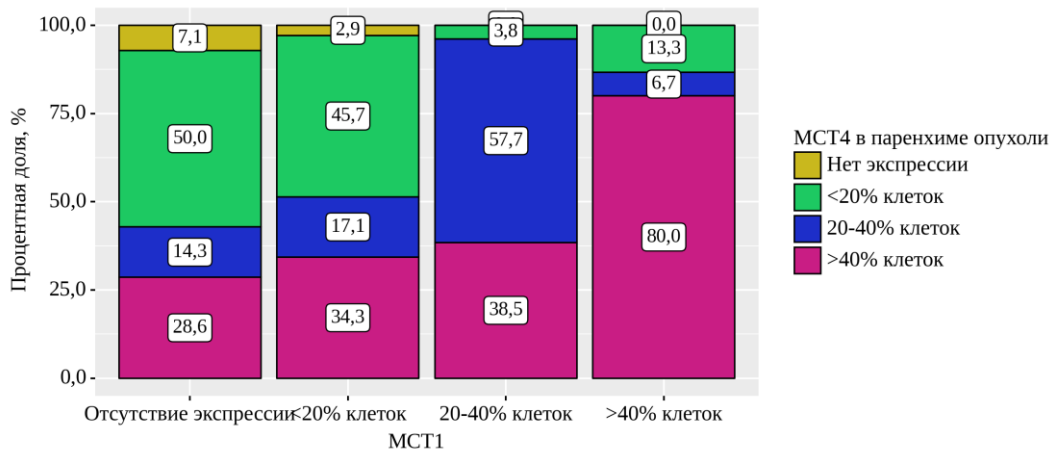


Диаграмма 2 – Уровень экспрессии МСТ4 в паренхиме опухоли в зависимости от экспрессии МСТ1

При оценке уровня ПСА до операции ($p = 0,433$), показателя ISUP ($p = 0,695$), стадии pT ($p = 0,715$), наличия биохимического рецидива ($p = 0,112$), наличия лимфоваскулярной инвазии ($p = 0,456$), периневральной инвазии ($p = 0,316$), экстракапсулярного распространения ($p = 0,842$), показателя экспрессии CAIX ($p = 0,379$), GLUT1 ($p = 0,197$), LDH5 ($p = 0,651$), FASN ($p = 0,218$), глутаминазы ($p = 0,512$) в зависимости от МСТ1, нам не удалось установить статистически значимых различий. (Диаграмма 2) (используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса, Хи-квадрат Пирсона).

3.1.2 Оценка связи уровня экспрессии МСТ4 с клиничко-морфологическими параметрами

Помимо описанной выше зависимости экспрессии МСТ4 в строме и паренхиме опухоли от экспрессии МСТ1, нам удалось установить статистически значимую связь между наличием лимфоваскулярной инвазии и экспрессией МСТ4 в строме опухоли ($p = 0,013-0,025$). (Диаграмма 3) (используемый метод: Хи-квадрат Пирсона).

Наблюдалась статистически значимая прямая корреляция между наличием лимфоваскулярной инвазии и экспрессией МСТ4 в строме опухоли ($r=0.291$, $p < 0.01$) (используемый метод: корреляция Спирмена). (Таблица 11)

Таблица 11 – Зависимость наличия лимфоваскулярной инвазии от интенсивности экспрессии МСТ4 в строме опухоли

Показатель	Категории	МСТ4 в строме опухоли			p
		Отсутствие экспрессии	<20% клеток	20-40% клеток	
Лимфоваскулярная инвазия	Отсутствие лимфоваскулярной инвазии	11 (100,0)	51 (98,1)	22 (81,5)	0,013* $p_{<20\% \text{ клеток} - 20-40\% \text{ клеток}} = 0,025$
	Наличие лимфоваскулярной инвазии	0 (0,0)	1 (1,9)	5 (18,5)	

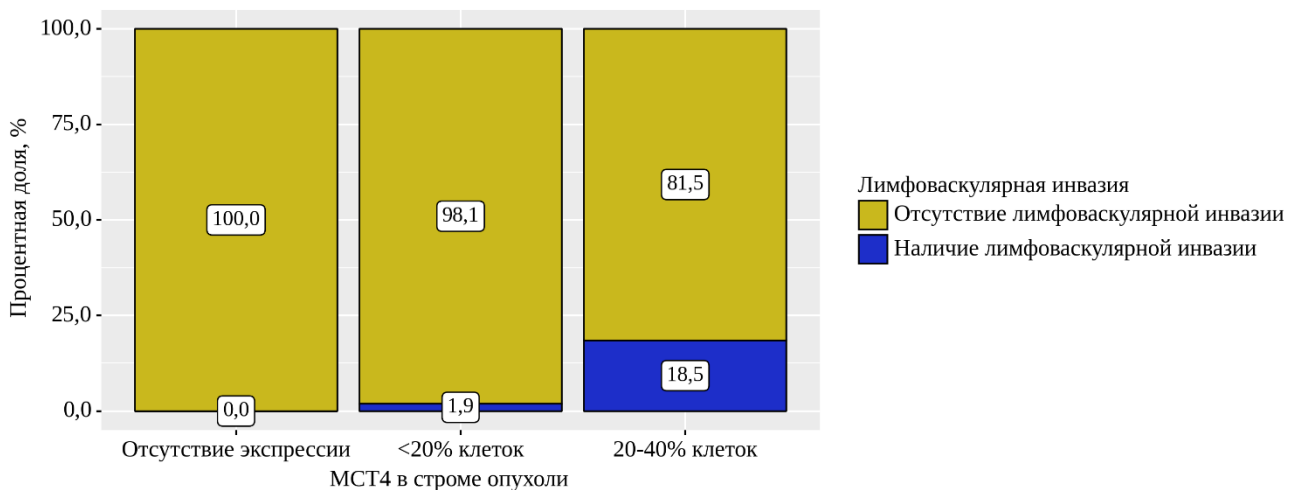


Диаграмма 3 – Зависимость наличия лимфоваскулярной инвазии от показателя экспрессии МСТ4 в строме опухоли

Интенсивность экспрессии МСТ4 увеличивалась на фоне повышения экспрессии МСТ4 клетками стромы ($p=0,011-0,039$). (используемый метод: Хи-квадрат Пирсона). (Таблица 12)

Наблюдалась статистически значимая прямая корреляция между паренхиматозной и стромальной экспрессией МСТ4 ($r=0.340$, $p < 0.01$) (используемый метод: корреляция Спирмена). (Диаграмма 4)

Таблица 12 – Показатели экспрессии МСТ4 в паренхиме опухоли в зависимости от экспрессии МСТ4 в строме опухоли

Показатель	Категории	МСТ4 в строме опухоли			p
		Отсутствие экспрессии	<20% клеток	20-40% клеток	
МСТ4 в паренхиме опухоли	Нет экспрессии	0 (0,0)	2 (3,8)	0 (0,0)	0,011* $p_{\text{Отсутствие экспрессии} - <20\% \text{ клеток}} = 0,039$
	<20% клеток	8 (72,7)	14 (26,9)	4 (14,8)	
	20-40% клеток	3 (27,3)	13 (25,0)	8 (29,6)	
	>40% клеток	0 (0,0)	23 (44,2)	15 (55,6)	

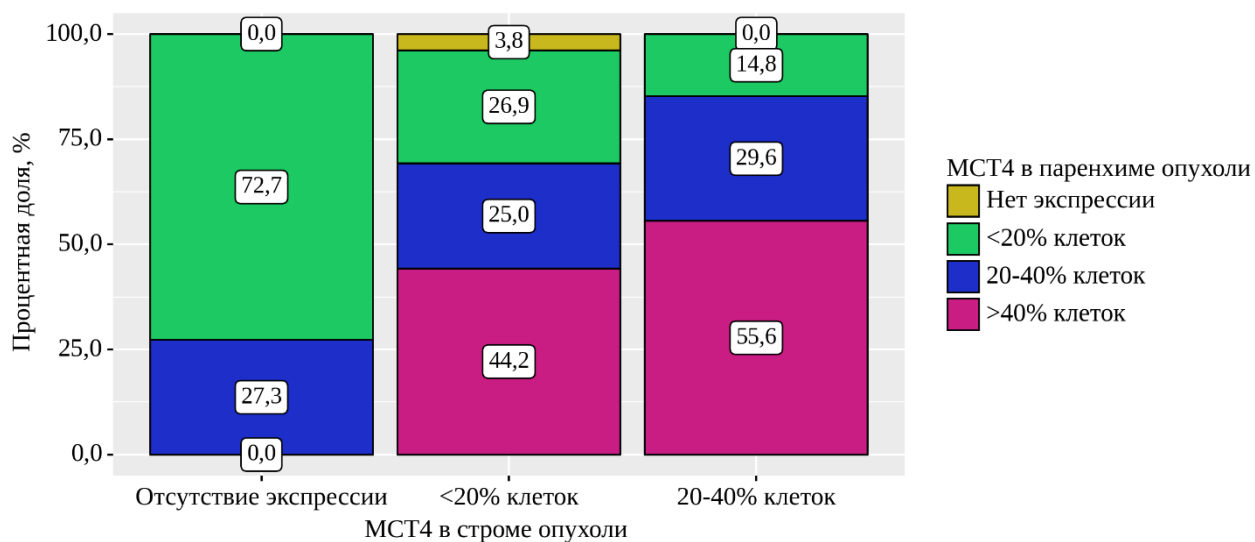


Диаграмма 4 – Анализ МСТ4 в паренхиме опухоли в зависимости от МСТ4 в строме опухоли

Имелась статистически значимая связь между наличием биохимического рецидива после операции и преобладанием стромальной экспрессии МСТ4 над

паренхиматозной ($p < 0,001$) (используемый метод: Точный критерий Фишера). (Диаграмма 5)

Преобладание экспрессии МСТ4 в строме опухоли над паренхимой коррелировало с наличием биохимического рецидива в течение 5 лет после радикальной простатэктомии. Сила корреляции была оценена как средняя. ($r=0.403$, $p<0.01$) (используемый метод: корреляция Спирмена). (Таблица 13)

Таблица 13 – Показатели наличия биохимического рецидива в зависимости от преобладания стромальной экспрессии МСТ4 над паренхиматозной

Показатель	Категори и	Преобладание стромальной экспрессии МСТ4 над паренхиматозной		p
		МСТ4стром.<МСТ4п ар.	МСТ4стром.>МСТ4п ар.	
Наличие биохимическо го рецидива в группе ISUP1- 2	Отсутств ие БХ рецидива в группе ISUP 1-2	75 (98,7)	12 (85,7)	0,06 2
	Наличие БХ рецидива в группе ISUP 1-2	1 (1,3)	2 (14,3)	

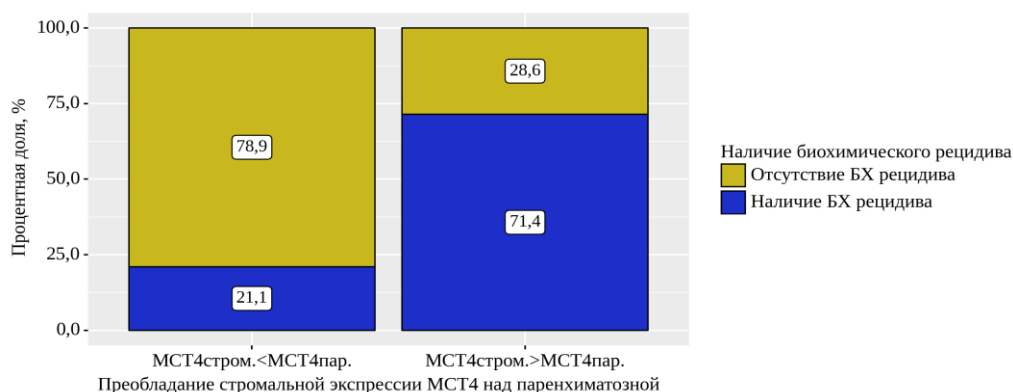


Диаграмма 5 – Доля наличия биохимического рецидива в зависимости от наличия преобладания стромальной экспрессии МСТ4 над паренхиматозной

Шанс возникновения биохимического рецидива в течение 5 лет после радикальной простатэктомии был статистически значимо выше в 9,375 раза в группе преобладания стромальной экспрессии МСТ4 над паренхиматозной (95% ДИ: 2,596 – 33,853). (Таблица 14, Диаграмма 6)

Методом бинарной логистической регрессии была разработана прогностическая модель, определяющая вероятность развития биохимического рецидива после РПЭ в зависимости от наличия или отсутствия преобладающей над паренхиматозной стромальной экспрессии МСТ4, описываемая уравнением $P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\%$; $z = -1,322 + 2,238X_{\text{МСТ4стром.}>\text{МСТ4пар.}}$, где P – вероятность наличия биохимического рецидива, $X_{\text{МСТ4стром.}>\text{МСТ4пар.}}$ – показатель наличия преобладания стромальной экспрессии МСТ4 над паренхиматозной (0 – МСТ4стром.<МСТ4пар., 1 – МСТ4стром.>МСТ4пар.). Модель объясняла 19.5% дисперсии показателя наличия биохимического рецидива после РПЭ.

Таблица 14 – Связь преобладания стромальной экспрессии МСТ4 над паренхиматозной с вероятностью выявления наличия биохимического рецидива после радикальной простатэктомии

Предикторы	Unadjusted		Adjusted	
	COR; 95% ДИ	p	AOR; 95% ДИ	p
Преобладание стромальной экспрессии МСТ4 над паренхиматозной: МСТ4стром. > МСТ4пар.	9,375; 2,596 – 33,852	0,001*	9,375; 2,596 – 33,852	0,001*

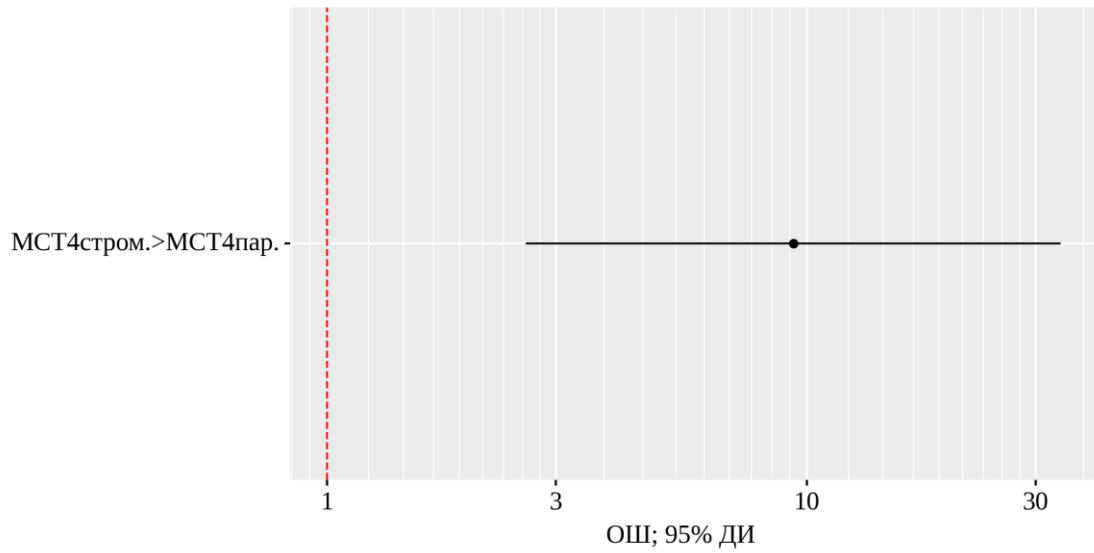


Диаграмма 6 – График отношения шансов с 95% ДИ для МСТ4стром. > МСТ4пар.

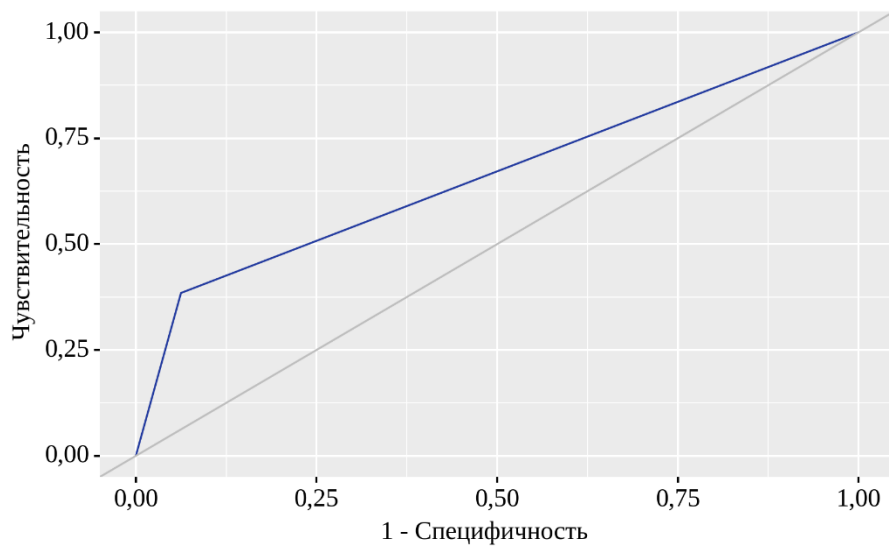


Диаграмма 7 – ROC-кривая зависимости вероятности наличия биохимического рецидива после РПЭ

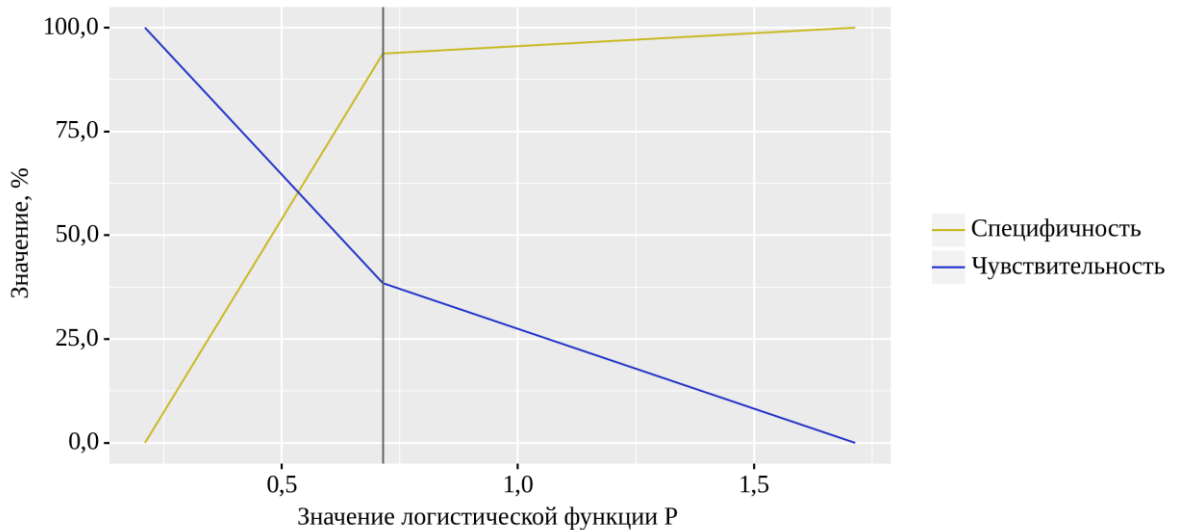


Диаграмма 8 – Анализ чувствительности и специфичности модели в зависимости от пороговых значений логистической функции P

AUC (area under curve) составила $0,661 \pm 0,066$ с 95% ДИ: 0,532 – 0,791. Чувствительность и специфичность модели составили 38,5% и 93,8%, соответственно. Пороговое значение логистической функции P составило 0,714. (Диаграмма 7, Диаграмма 8)

Учитывая низкую чувствительность (38,5%) и AUC (0.66) вышеописанной модели, отдельно была разработана аналогичная прогностическая модель для группы ISUP1-2, описываемая уравнением $P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\%$; $z = -4,317 + 2,526X_{\text{MCT4стром.}>\text{MCT4пар.}}$, где P – вероятность наличия биохимического рецидива в группе ISUP 1-2, $X_{\text{MCT4стром.}>\text{MCT4пар.}}$ – преобладание стромальной экспрессии MCT4 над паренхиматозной (0 – MCT4стром.<MCT4пар., 1 – MCT4стром.>MCT4пар.) Модель объясняла 17,9% наблюдаемой дисперсии наличия биохимического рецидива после РПЭ в группе ISUP1-2.

При оценке шансов возникновения БХ рецидива на фоне преобладания стромальной экспрессии MCT4 над паренхиматозной шансы наличия БХ рецидива в группе ISUP 1-2 увеличивались при наличии MCT4стром.>MCT4пар. в 12,500 раза. (Таблица 15, Диаграмма 9)

Таблица 15 – Характеристики связи МСТ4стром.>МСТ4пар. с вероятностью выявления БХ рецидива в группе ISUP1-2

Предикторы	Unadjusted		Adjusted	
	COR; 95% ДИ	p	AOR; 95% ДИ	p
Преобладание паренхиматозной экспрессии МСТ4 над стромальной: МСТ4стром.>МСТ4пар.	12,500; 1,050 – 148,710	0,046*	12,500; 1,050 – 148,710	0,046*

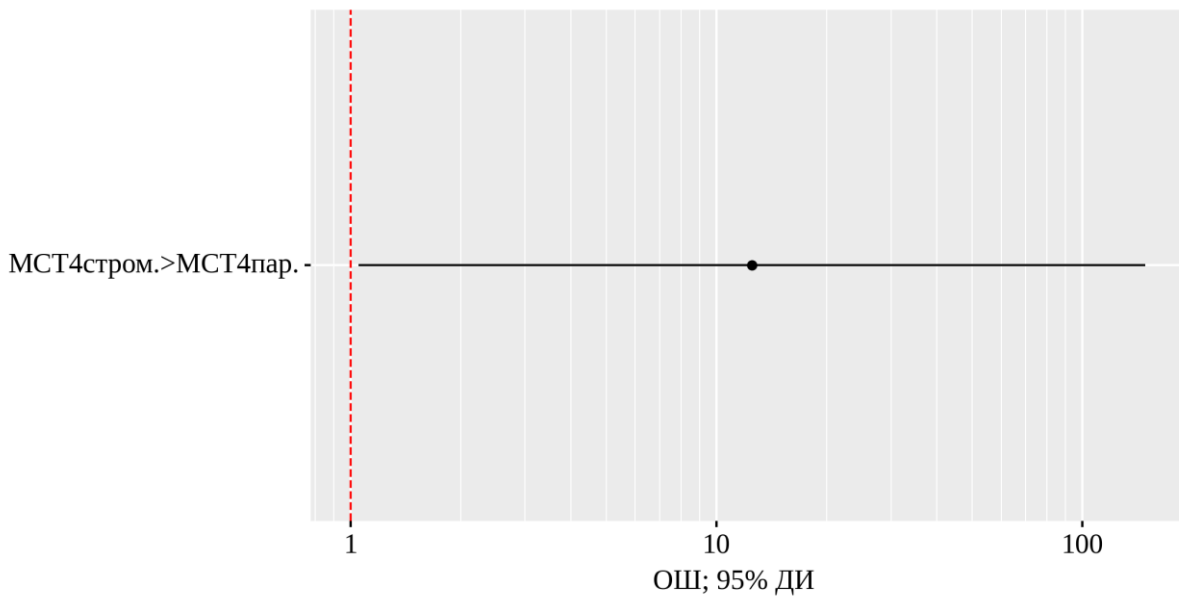


Диаграмма 9 – График отношения шансов с 95% ДИ для МСТ4стром.> МСТ4пар. в группе ISUP1-2

При оценке зависимости вероятности наличия БХ рецидива от значения логистической функции P с помощью ROC-анализа была получена следующая кривая. (Диаграмма 10)

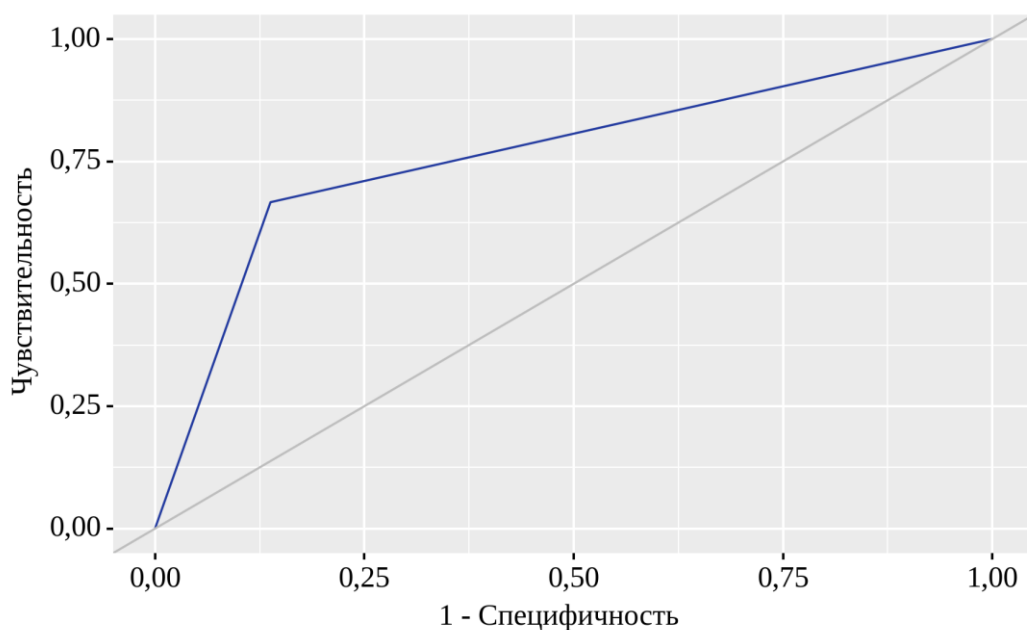


Диаграмма 10 – ROC-кривая зависимости вероятности развития биохимического рецидива в группе ISUP1-2

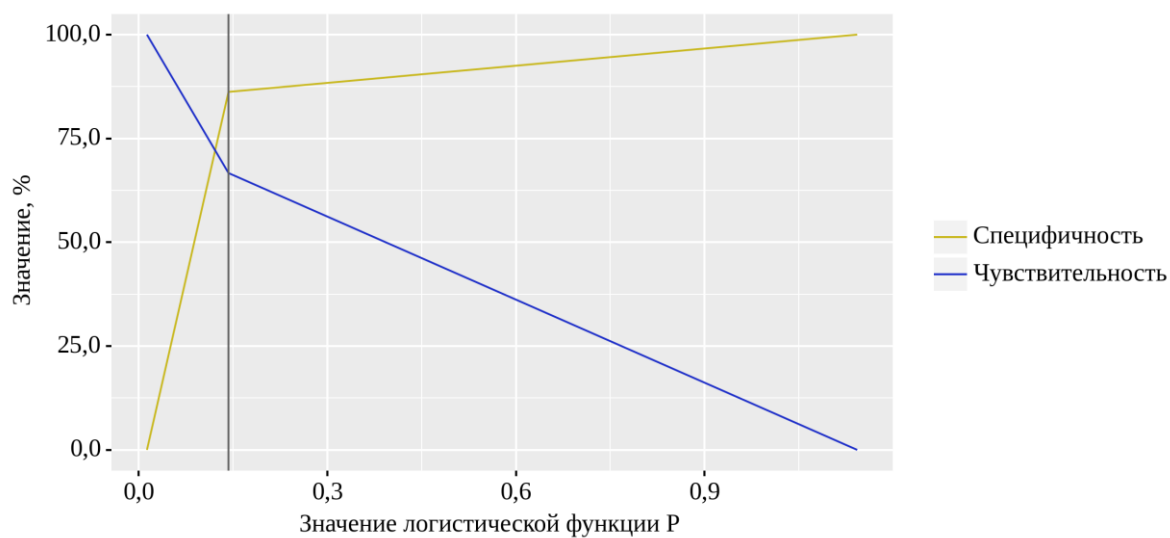


Диаграмма 11 – Анализ чувствительности и специфичности модели в зависимости от пороговых значений логистической функции P

Таблица 16 – Значения логистической функции

Порог	Чувствительность (Se), %	Специфичность (Sp), %	PPV	NPV
0,143	66,7	86,2	82,9	72,1

AUC составила $0,764 \pm 0,163$ с 95% ДИ: 0,444 – 1,000. Полученная модель была статистически значимой ($p = 0,013$). Пороговое значение логистической функции P составило 0,143. Чувствительность и специфичность модели составили 66,7% и 86,2%, соответственно. (Диаграмма 11) При оценке уровня ПСА до операции, показателя ISUP, стадии pT, наличия лимфоваскулярной инвазии, периневральной инвазии, экстракапсулярного распространения, показателя экспрессии CAIX, GLUT1, LDH5, FASN, глутаминазы в зависимости от МСТ4 в строме и паренхиме опухоли, преобладания паренхиматозной экспрессии МСТ4 над стромальной, статистически значимых различий не было выявлено. (Таблица 16)

3.1.3 Оценка связи уровня экспрессии GLUT1 с клинико-морфологическими параметрами

Была выявлена статистически значимая связь между уровнем ПСА и интенсивности экспрессии GLUT1 в клетках опухоли ($p = 0,001$) (используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса). Наблюдалась статистически значимая прямая корреляция между уровнем ПСА до операции и экспрессией GLUT1 ($r=0.378$, $p<0.01$) (используемый метод: корреляция Спирмена). (Таблица 17, Диаграмма 12)

Таблица 17 – Показатели ПСА до операции в зависимости от экспрессии GLUT1

Показатель	Категории	ПСА до операции (нг/мл)			p
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
GLUT1	Нет экспрессии	4,0300	4,0300 – 4,0300	1	0,001* P _{20-40% клеток} – <20% клеток = 0,003
	<20% клеток	8,7000	7,0100 – 16,4000	53	
	20-40% клеток	15,4000	11,9750 – 24,2900	36	

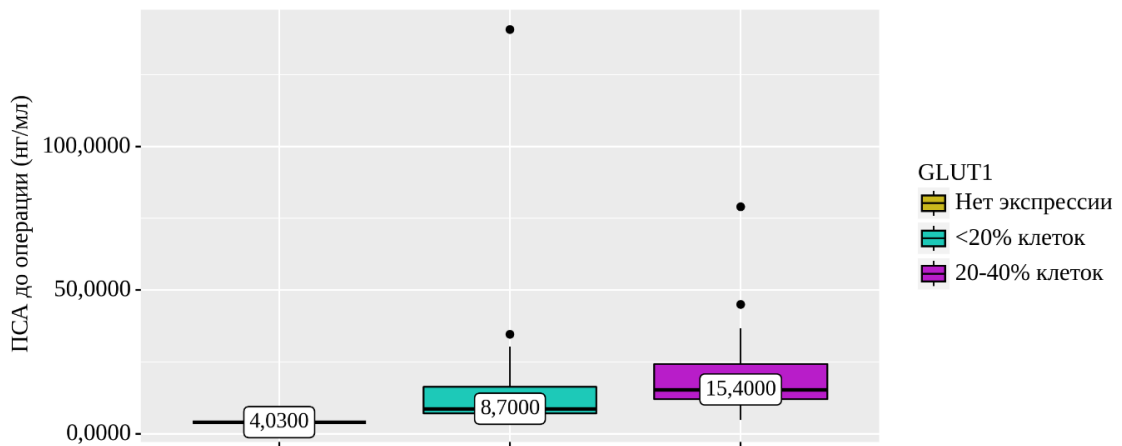


Диаграмма 12 – Уровень ПСА до операции в зависимости от экспрессии GLUT1

Была определена статистически значимая зависимость стадии ISUP от экспрессии GLUT1 ($p < 0,001$). Наблюдалась статистически значимая прямая корреляция между экспрессией GLUT1 и CAIX ($r=0.331$, $p < 0.01$) (используемый метод: корреляция Спирмена). (Таблица 18, Диаграмма 13)

Таблица 18 – Зависимость показателя ISUP от экспрессии GLUT1

Показатель	Категории	GLUT1			p
		Нет экспрессии	<20% клеток	20-40% клеток	
ISUP	ISUP 1	0 (0,0)	15 (28,3)	3 (8,3)	< 0,001*
	ISUP 2	0 (0,0)	16 (30,2)	2 (5,6)	
	ISUP 3	1 (100,0)	14 (26,4)	6 (16,7)	
	ISUP 4-5	0 (0,0)	8 (15,1)	25 (69,4)	

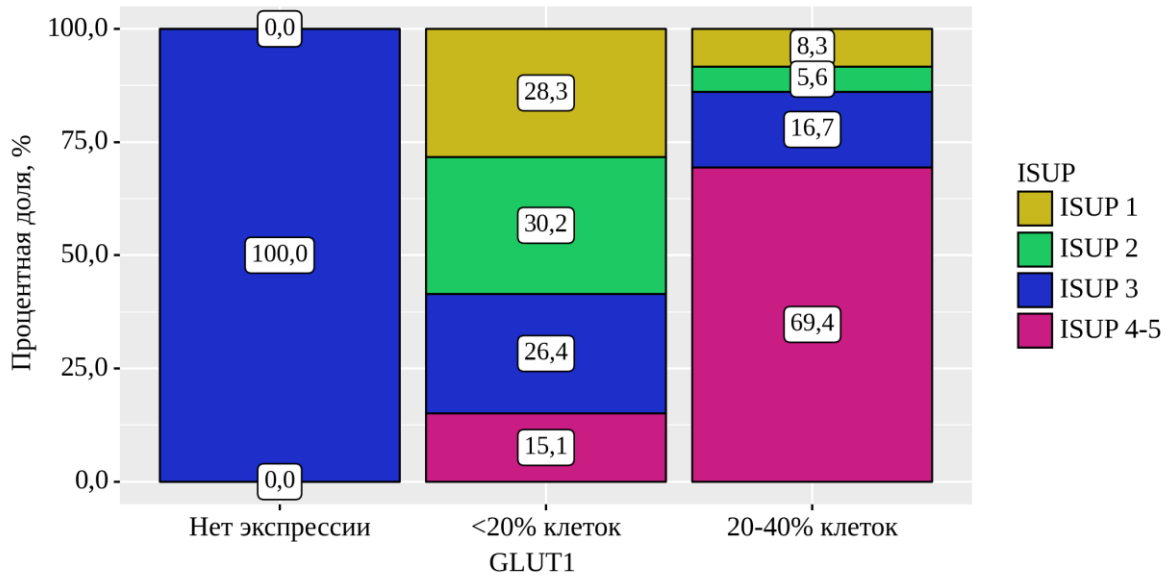


Диаграмма 13 – Показатель ISUP в зависимости от экспрессии GLUT1

Наличие экстракапсулярного распространения статистически значимо зависело от экспрессии GLUT1. ($p = 0,007$) (Диаграмма 14). Обнаружена прямая корреляция между экстракапсулярным распространением и экспрессией GLUT1 ($r=0.333$, $p < 0.01$) (используемый метод: корреляция Спирмена). (Таблица 19)

Таблица 19 – Показатель экстракапсулярного распространения в зависимости от показателя экспрессии GLUT1

Показатель	Категории	GLUT1			p
		Нет экспрессии	<20% клеток	20-40% клеток	
Экстракапсулярное распространение	Отсутствие экстракапсулярного распространения	1 (100,0)	44 (83,0)	19 (52,8)	0,007* P<20% клеток – 20-40% клеток = 0,006
	Наличие экстракапсулярного распространения	0 (0,0)	9 (17,0)	17 (47,2)	

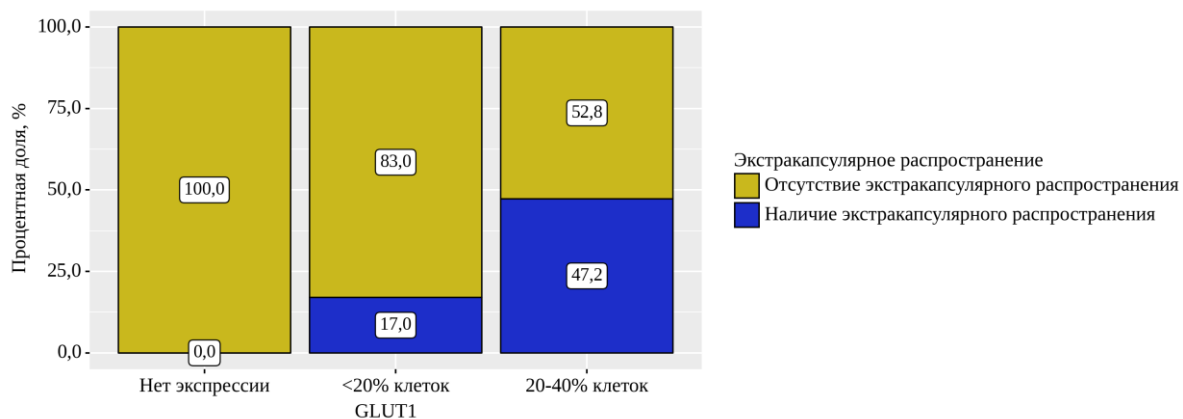


Диаграмма 14 – Показатель экстракапсулярного распространения в зависимости от показателя экспрессии GLUT1

Имелась статистически значимая зависимость стадии pT от показателя экспрессии GLUT1 опухолевыми клетками. ($p = 0,010$) (Диаграмма 15). Наблюдалась статистически значимая прямая корреляция между экспрессией GLUT1 и стадией pT3b ($r=0.355$, $p < 0.01$), обратная корреляция со стадией pT2c ($r=-0.423$, $p < 0.01$) (используемый метод: корреляция Спирмена). (Таблица 20)

Таблица 20 – Зависимость стадии pT от показателя экспрессии GLUT1

Показатель	Категории	GLUT1			p
		Нет экспрессии	<20% клеток	20-40% клеток	
pT	pT2a	0 (0,0)	2 (3,8)	0 (0,0)	0,010* P<20% клеток – 20-40% клеток = 0,002
	pT2b	0 (0,0)	2 (3,8)	3 (8,3)	
	pT2c	1 (100,0)	37 (69,8)	10 (27,8)	
	pT3a	0 (0,0)	5 (9,4)	7 (19,4)	
	pT3b	0 (0,0)	7 (13,2)	16 (44,4)	

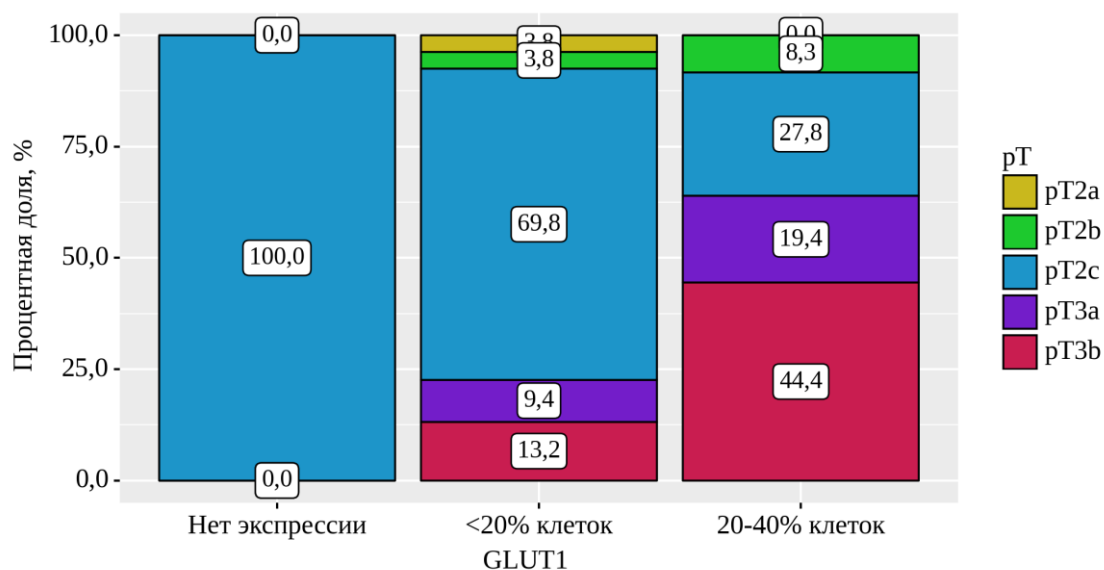


Диаграмма 15 – Стадия pT в зависимости от показателя экспрессии GLUT1

Экспрессия CAIX статистически значимо была связана с экспрессией GLUT1. ($p = 0,007$) (Таблица 21, Диаграмма 16)

Таблица 21 – Зависимость экспрессии CAIX в зависимости от показателя экспрессии GLUT1

Показатель	Категории	GLUT1			p
		Нет экспрессии	<20% клеток	20-40% клеток	
CAIX	Нет экспрессии CAIX	1 (100,0)	52 (98,1)	28 (77,8)	0,007* P<20% клеток – 20-40% клеток = 0,005
	<20% клеток	0 (0,0)	1 (1,9)	8 (22,2)	

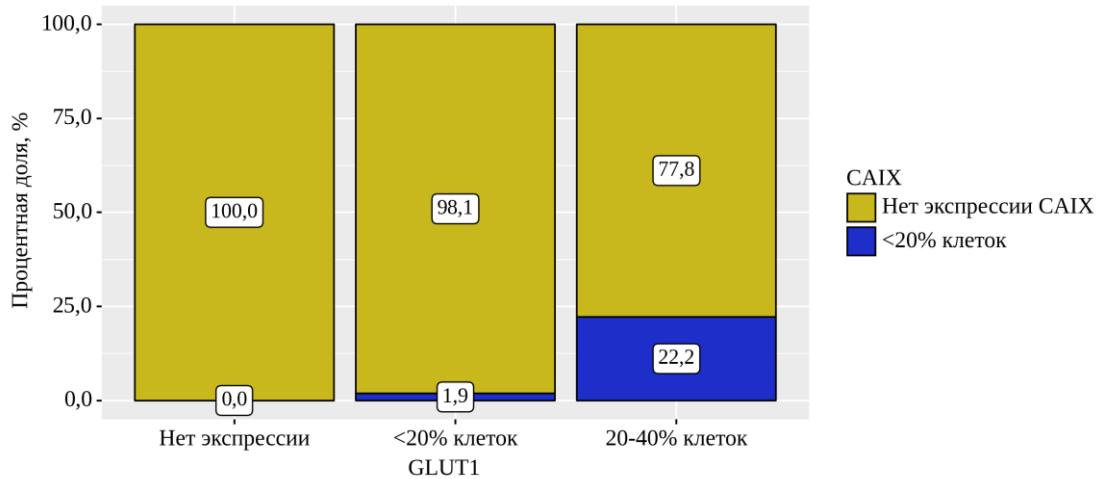


Диаграмма 16 – Уровень экспрессии CAIX в зависимости от показателя экспрессии GLUT1

При оценке наличия связи биохимического рецидива после операции ($p=0,205$), наличия лимфоваскулярной инвазии ($p=0,901$), периневральной инвазии ($p=0,133$), показателя экспрессии MCT1 ($p=0,197$), MCT4 в строме опухоли, паренхиме опухоли, преобладания паренхиматозной экспрессии MCT4 над стромальной, высокой паренхиматозной экспрессии MCT4, низкой паренхиматозной экспрессии MCT4 ($p=0,436$; $0,929$; $0,893$; $0,227$; $0,787$; $0,787$), LDH5 ($p=0,338$), FASN ($p=0,062$), глутаминазы ($p=0,237$) с уровнем экспрессии GLUT1, связи обнаружено не было.

3.1.4 Оценка связи уровня экспрессии глутаминазы с клинико-морфологическими параметрами

Предоперационный уровень ПСА зависел от экспрессии глутаминазы ($p = 0,012$) (Таблица 22, Диаграмма 17). Наблюдалась статистически значимая прямая корреляция между уровнем ПСА до операции и экспрессией глутаминазы ($r=0.307$, $p < 0.01$) (используемый метод: корреляция Спирмена).

Таблица 22 – Уровень ПСА до операции в зависимости от экспрессии глутаминазы

Показатель	Категории	ПСА до операции (нг/мл)			p
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
Экспрессия глутаминазы	<20% клеток	7,6400	6,2200 – 11,2950	6	0,012*
	20-40% клеток	11,5000	7,2900 – 17,0000	71	p>40% клеток – <20% клеток = 0,030
	>40% клеток	19,3000	14,1400 – 24,2900	13	p>40% клеток – 20-40% клеток = 0,018

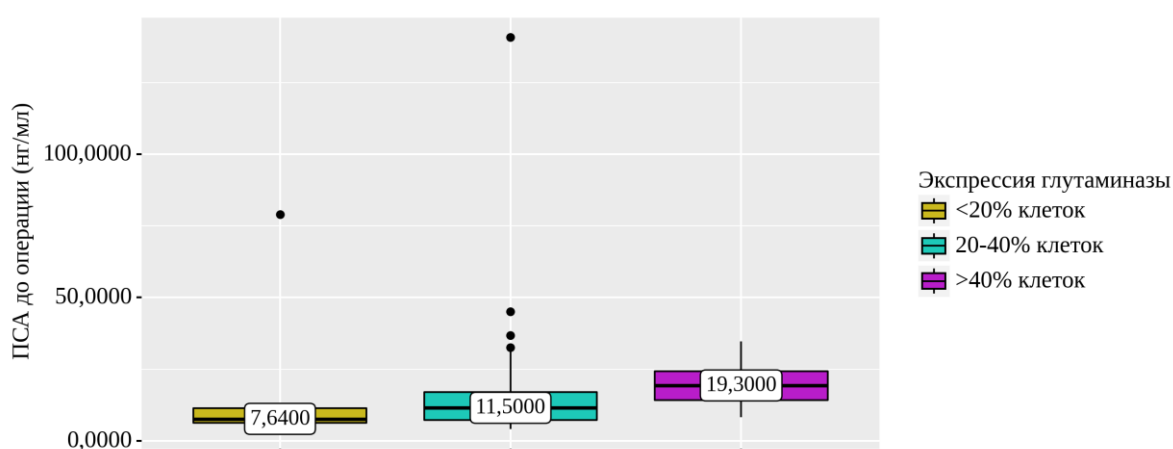


Диаграмма 17 – Показатели уровня ПСА до операции в зависимости от экспрессии глутаминазы

Стадия ISUP статистически значимо зависела от уровня экспрессии глутаминазы. ($p < 0,001$) (Таблица 23, Диаграмма 18). Стадия ISUP 4-5 прямо коррелировала с уровнем экспрессии глутаминазы ($r=0.384$, $p<0.01$), стадия ISUP 1 обратно коррелировала с уровнем экспрессии глутаминазы ($r=0.328$, $p<0.01$) (используемый метод: корреляция Спирмена).

Таблица 23 – Стадия ISUP при различных уровнях экспрессии глутаминазы

Показатель	Категории	Экспрессия глутаминазы			p
		<20% клеток	20-40% клеток	>40% клеток	
ISUP	ISUP 1	4 (66,7)	14 (19,7)	0 (0,0)	< 0,001* p _{20-40% клеток – >40% клеток} = 0,005
	ISUP 2	0 (0,0)	18 (25,4)	0 (0,0)	
	ISUP 3	1 (16,7)	18 (25,4)	2 (15,4)	
	ISUP 4-5	1 (16,7)	21 (29,6)	11 (84,6)	

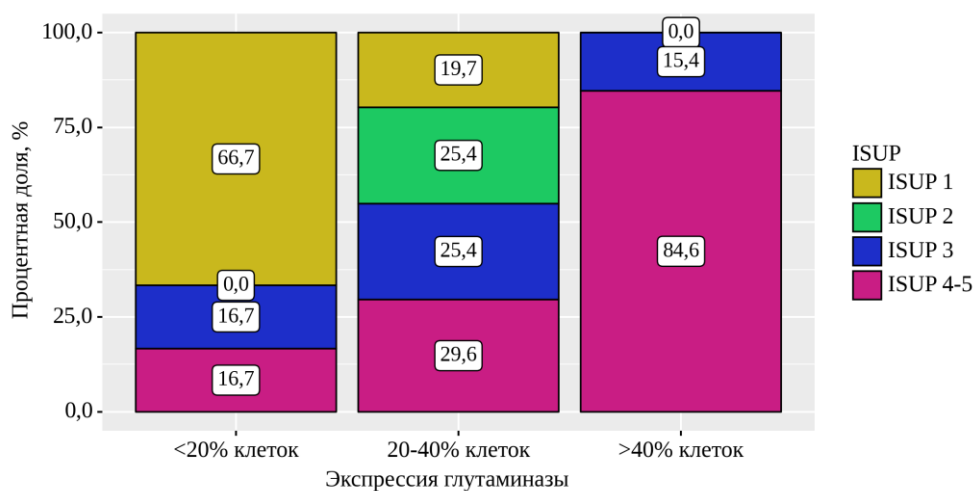


Диаграмма 18 – График зависимости стадии ISUP от степени экспрессии глутаминазы

Стадия pT зависела от уровня экспрессии глутаминазы. ($p = 0,022$) (Таблица 24, Диаграмма 19). Стадии pT3a и pT3b прямо коррелировали с уровнем экспрессии глутаминазы ($r=0.229$ и 0.238 соответственно, $p < 0.01$). Имелась обратная корреляция со стадией pT2c ($r=-0.333$, $p < 0,01$) (используемый метод: корреляция Спирмена).

Таблица 24 - Зависимость стадии рТ от уровня экспрессии глутаминазы

Показатель	Категории	Экспрессия глутаминазы			p
		<20% клеток	20-40% клеток	>40% клеток	
pT	pT2a	0 (0,0)	2 (2,8)	0 (0,0)	0,022* p _{20-40% клеток – >40% клеток} = 0,016
	pT2b	0 (0,0)	5 (7,0)	0 (0,0)	
	pT2c	5 (83,3)	41 (57,7)	2 (15,4)	
	pT3a	1 (16,7)	6 (8,5)	5 (38,5)	
	pT3b	0 (0,0)	17 (23,9)	6 (46,2)	

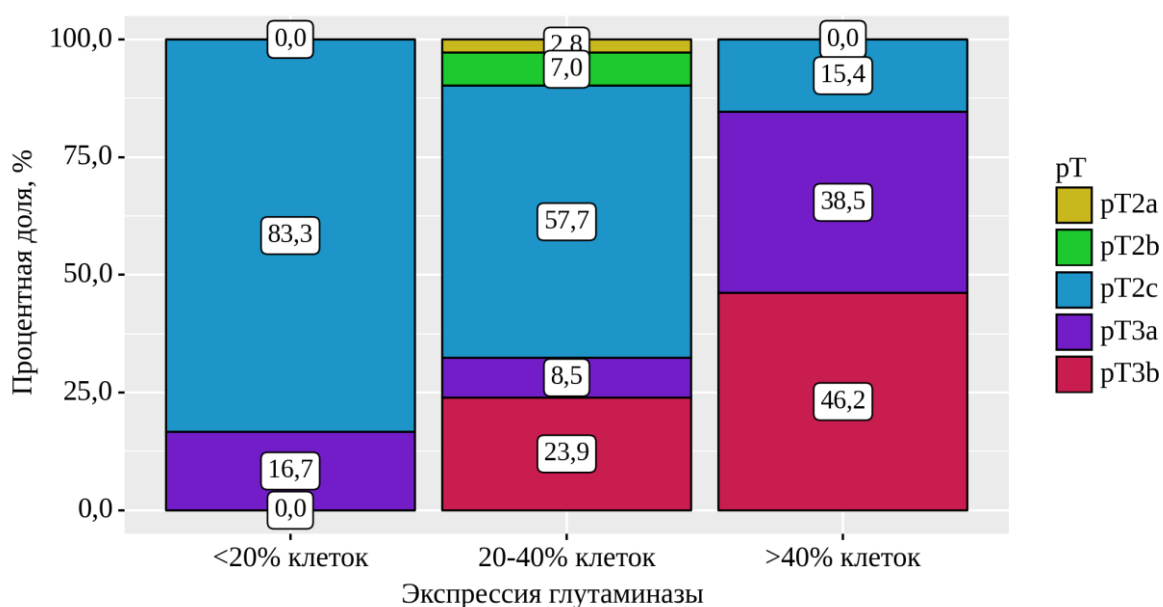


Диаграмма 19 – График зависимости стадии рТ от степени экспрессии глутаминазы

Наличие периневральной инвазии и экстракапсулярного распространения зависело от степени экспрессии глутаминазы. ($p = 0,040; 0,022$) (Таблица 25).

Таблица 25 – Оценка зависимости наличия периневральной инвазии от экспрессии глутаминазы

Показатель	Категории	Экспрессия глутаминазы			p
		<20% клеток	20-40% клеток	>40% клеток	
Периневральная инвазия	Отсутствие периневральной инвазии	5 (83,3)	56 (78,9)	6 (46,2)	0,040* P _{20-40%} клеток – >40% клеток = 0,041
	Наличие периневральной инвазии	1 (16,7)	15 (21,1)	7 (53,8)	

Таблица 26 – Показатель наличия экстракапсулярного распространения в зависимости от экспрессии глутаминазы

Показатель	Категории	Экспрессия глутаминазы			p
		<20% клеток	20-40% клеток	>40% клеток	
Экстракапсулярное распространение	Отсутствие экстракапсулярного распространения	5 (83,3)	56 (78,9)	3 (23,1)	< 0,001* P _{<20%} клеток – >40% клеток = 0,027 P _{20-40%} клеток – >40% клеток < 0,001
	Наличие экстракапсулярного распространения	1 (16,7)	15 (21,1)	10 (76,9)	

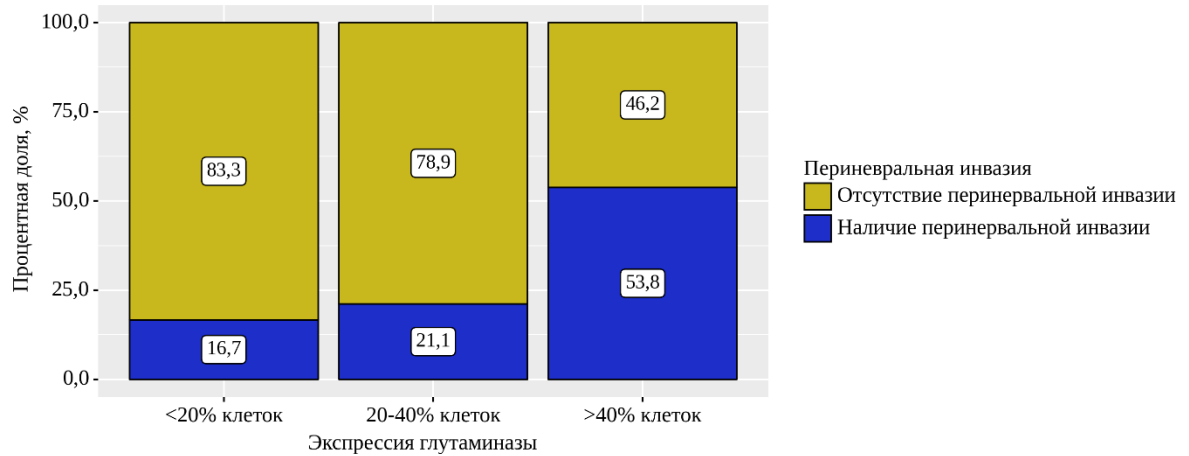


Диаграмма 20 – Оценка наличия перинервальной инвазии в зависимости от экспрессии глутаминазы

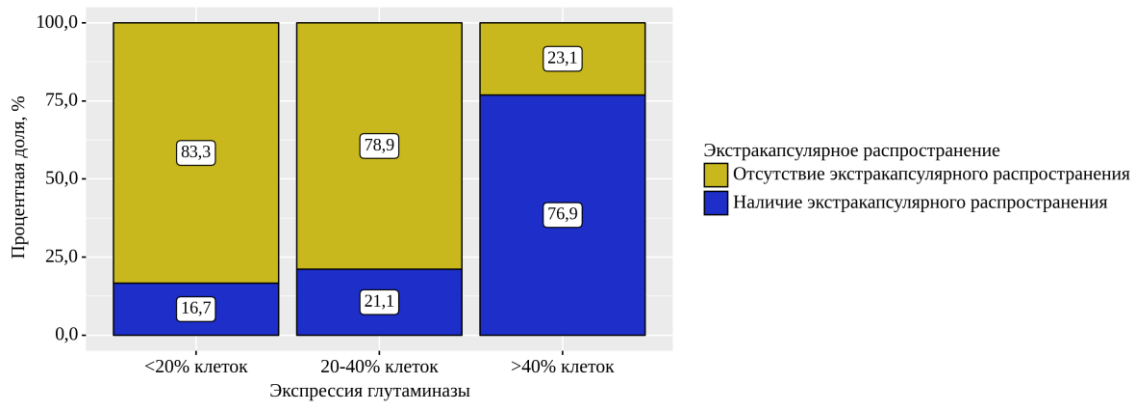


Диаграмма 21 – Оценка наличия экстракапсулярного распространения в зависимости от экспрессии глутаминазы

Наблюдалась статистически значимая прямая корреляция между экспрессией глутаминазы и перинервальной инвазией, экстракапсулярным распространением ($r=0.241$, 0.385 соответственно, $p < 0.01$) (используемый метод: корреляция Спирмена). (Таблица 25, Таблица 26, Диаграмма 20, Диаграмма 21) Наличие биохимического рецидива было ассоциировано с уровнем экспрессии глутаминазы, были установлены существенные различия ($p < 0,001$) (Таблица 27).

Таблица 27 – Оценка показателя наличия биохимического рецидива в зависимости от экспрессии глутаминазы

Показатель	Категории	Экспрессия глутаминазы			p
		<20% клеток	20-40% клеток	>40% клеток	
Наличие биохимического рецидива	Отсутствие БХ рецидива	5 (83,3)	56 (78,9)	3 (23,1)	$p_{<20\% \text{ клеток} - >40\% \text{ клеток}} = 0,027$ $p_{20-40\% \text{ клеток} - >40\% \text{ клеток}} < 0,001$
	Наличие БХ рецидива	1 (16,7)	15 (21,1)	10 (76,9)	

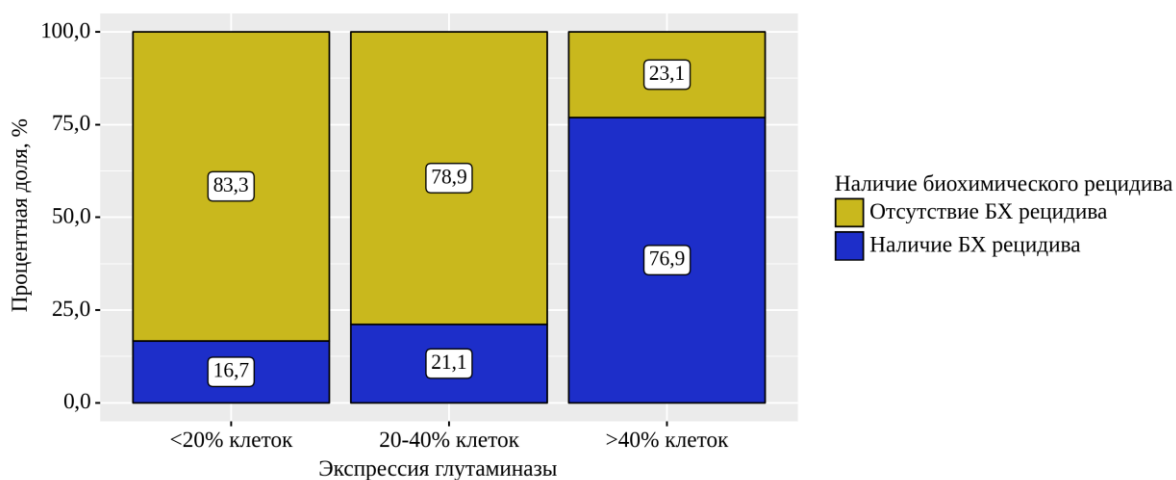


Диаграмма 22 – Оценка показателя наличия биохимического рецидива в зависимости от экспрессии глутаминазы

Наблюдалась статистически значимая прямая корреляция между наличием биохимического рецидива и экспрессией глутаминазы ($r=0.385$, $p<0.01$) (Диаграмма 22). Методом бинарной логистической регрессии разработана статистически значимая прогностическая модель, описываемая формулой $T = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\%$; $z = -1,609 + 0,292X_{20-40\% \text{ клеток}} + 2,813X_{>40\% \text{ клеток}}$, где T – вероятность

наличия БХ рецидива, $X_{20-40\% \text{ клеток}}$ – экспрессия глутаминазы (0 – <20% клеток, 1 – 20-40% клеток), $X_{>40\% \text{ клеток}}$ – экспрессия глутаминазы (0 – <20% клеток, 1 – >40% клеток). ($p < 0.001$) Модель объясняет 22,7% наблюдаемой дисперсии наличия биохимического рецидива. Шансы наличия биохимического рецидива увеличивались при уровне экспрессии глутаминазы >40% в 16,6 раза. (Таблица 28, Диаграмма 23)

Таблица 28 – Связь предикторов с вероятностью наличия биохимического рецидива после операции

Предикторы	Unadjusted		Adjusted	
	COR; 95% ДИ	p	AOR; 95% ДИ	p
Экспрессия глутаминазы: 20-40% клеток	1,339; 0,145 – 12,342	0,797	1,339; 0,145 – 12,342	0,797
Экспрессия глутаминазы: >40% клеток	16,666; 1,362 – 203,976	0,028*	16,666; 1,362 – 203,976	0,028*

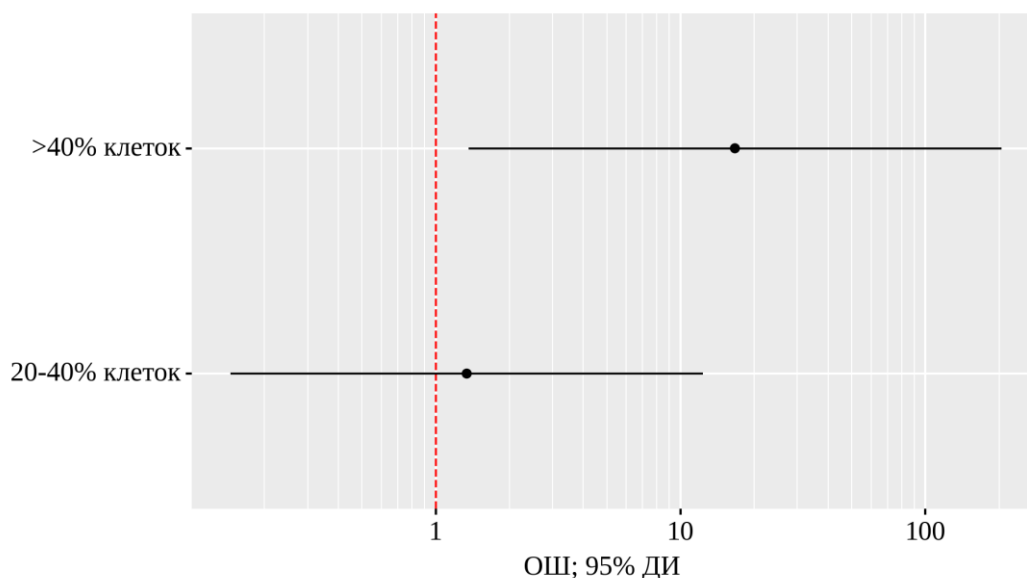


Диаграмма 23 – Отношение шансов для предикторов модели

Выполнен ROC-анализ прогностической модели.

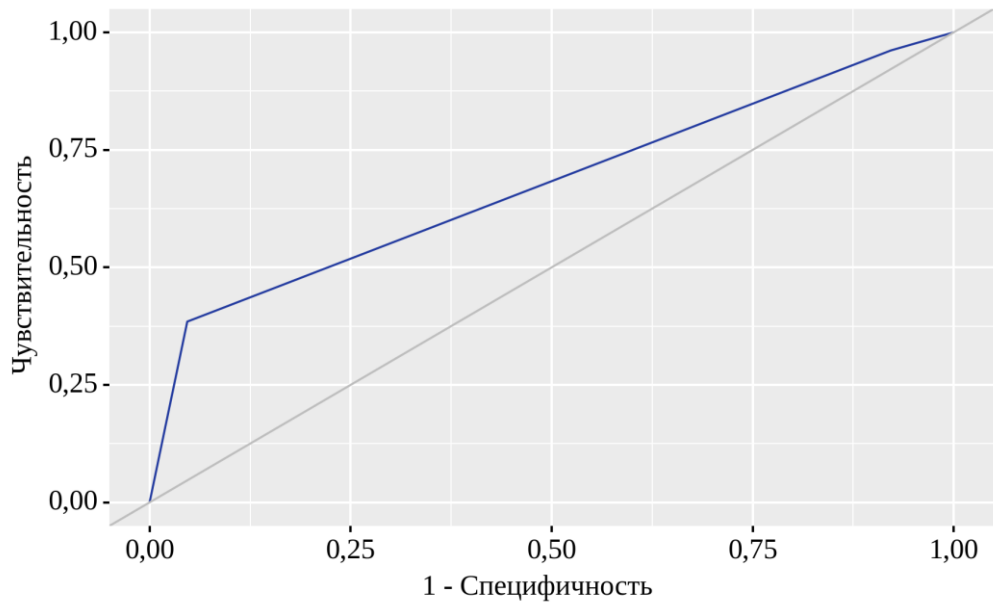


Диаграмма 24 – ROC-кривая для прогностической модели

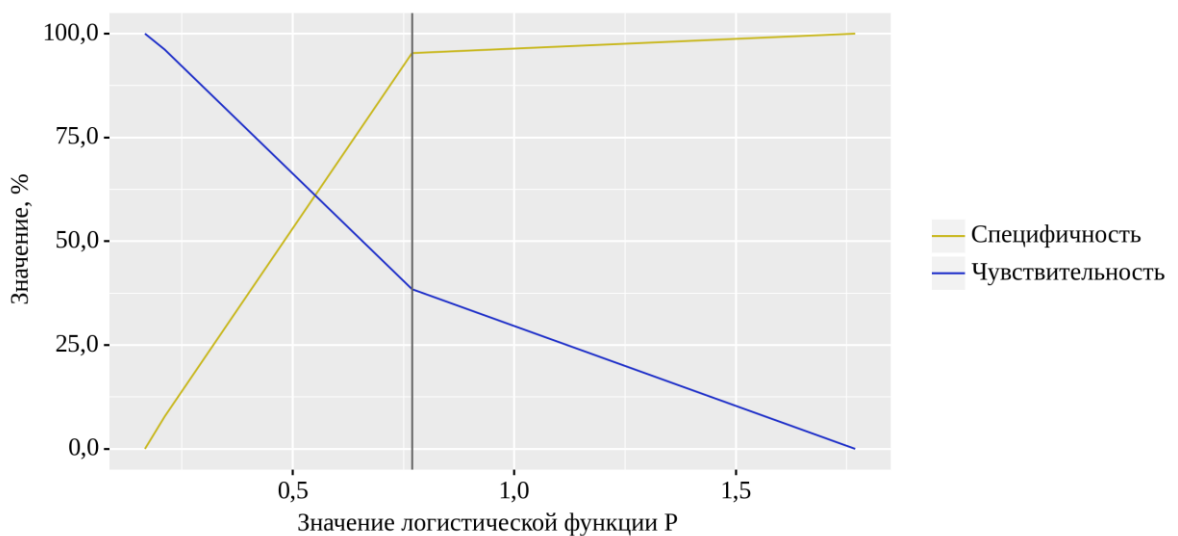


Диаграмма 25 – график чувствительности и специфичности модели

AUC составила $0,675 \pm 0,065$ (95% CI 0,546 – 0,803, $p < 0,001$). (Диаграмма 24) Пороговое значение логистической функции P составило 0,769. Чувствительность и специфичность составили 38,5% и 95,3%, соответственно. (Диаграмма 25) При оценке связи с экспрессией глутаминазы наличия лимфоваскулярной инвазии ($p=0,343$), показателя экспрессии МСТ1 ($p=0,512$), МСТ4 в строме опухоли ($p=0,337$), паренхиме опухоли ($p=0,785$), преобладания паренхиматозной экспрессии МСТ4 над стромальной ($p=0,173$), высокой паренхиматозной

экспрессии MCT4 ($p=0,634$), низкой паренхиматозной экспрессии MCT4 ($p=0,634$), CAIX ($p=0,094$), GLUT1 ($p=0,237$), LDH5 ($p=0,660$), FASN ($p=0,595$), ассоциаций установлено не было.

3.1.5 Оценка связи уровня экспрессии CAIX с клиничко-морфологическими параметрами

Экспрессия GLUT1 статистически значимо зависела от степени экспрессии CAIX. ($p = 0,007$) (Таблица 29, Диаграмма 26).

Таблица 29 – Экспрессия GLUT1 в зависимости от показателя экспрессии CAIX

Показатель	Категории	CAIX		p
		Нет экспрессии CAIX	<20% клеток	
GLUT1	Нет экспрессии	1 (1,2)	0 (0,0)	0,007*
	<20% клеток	52 (64,2)	1 (11,1)	
	20-40% клеток	28 (34,6)	8 (88,9)	

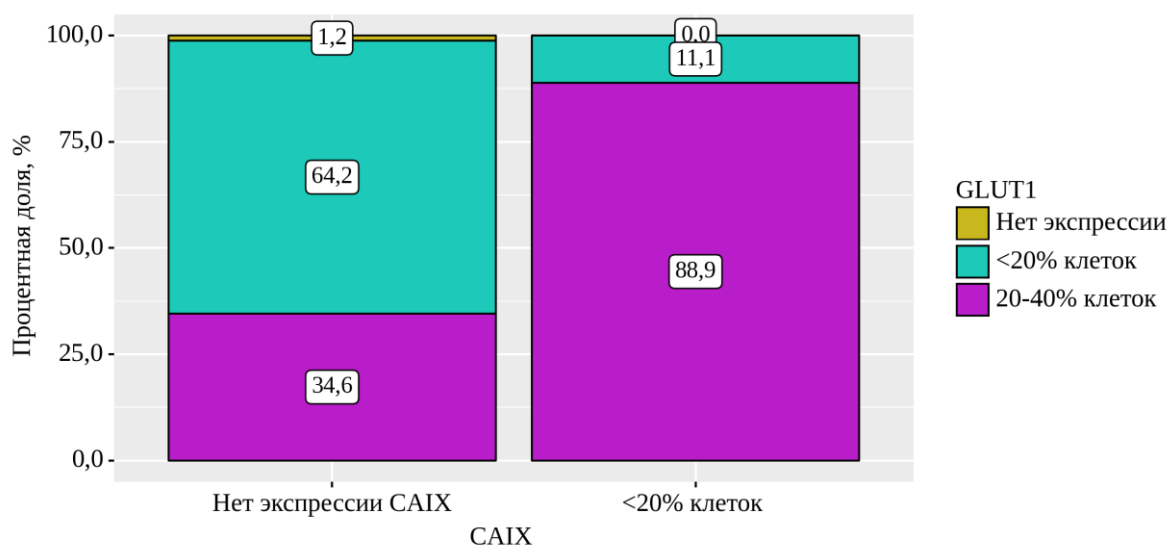


Диаграмма 26 – Уровень GLUT1 в зависимости от экспрессии CAIX

При оценке уровня ПСА перед операцией ($p=0,619$), показателя ISUP ($p=0,391$), стадии заболевания pT ($p=0,172$), наличия биохимического рецидива после операции ($p=0,438$), наличия лимфоваскулярной инвазии ($p=0,479$), периневральной инвазии ($p=0,688$), экстракапсулярного распространения ($p=0,275$), показателя экспрессии MCT1 ($p=0,379$), MCT4 в строме опухоли, паренхиме опухоли, преобладания паренхиматозной экспрессии MCT4 над стромальной ($p=0,598$; $0,120$; $0,345$), LDH5 ($p=1,00$), FASN ($p=1,00$), глутаминазы ($p=0,094$) в зависимости от уровня CAIX, ассоциаций установлено не было.

3.1.6 Оценка связи уровня экспрессии LDH5 с клиничко-морфологическими параметрами

При оценке уровня ПСА перед операцией ($p=0,108$), стадии заболевания pT ($p=0,607$), наличия биохимического рецидива после операции ($p=0,554$), наличия лимфоваскулярной инвазии ($p=1,000$), периневральной инвазии ($p=0,567$), экстракапсулярного распространения ($p=0,554$), показателя экспрессии MCT1 ($p=0,651$), MCT4 в строме опухоли, паренхиме опухоли, преобладания паренхиматозной экспрессии MCT4 над стромальной ($p=0,322$; $0,716$; $1,000$), LDH5 ($p=1,00$), GLUT1 ($p=0,338$), FASN ($p=0,098$), глутаминазы ($p=0,660$) в зависимости от уровня LDH5, ассоциаций установлено не было.

3.1.7 Оценка связи уровня экспрессии FASN с клиничко-морфологическими параметрами

Уровень ПСА до операции зависел от наличия экспрессии FASN. ($p = 0,003$) (Таблица 30). Имелась обратная корреляция между наличием экспрессии FASN в

опухоли и показателем ПСА до операции ($r=-0.312$, $p<0.01$) (Диаграмма 27) (используемый метод: корреляция Спирмена).

Таблица 30 – Анализ уровня ПСА до операции в зависимости от наличия экспрессии FASN

Показатель	Категории	ПСА до операции (нг/мл)			p
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
FASN	Нет экспрессии	15,4000	9,4775 – 21,1750	48	0,003*
	Есть экспрессия	7,9150	6,8575 – 14,4100	42	

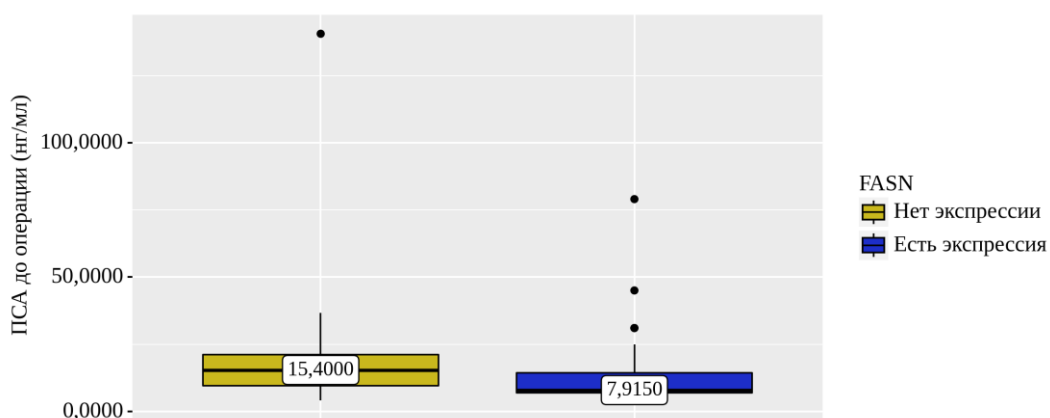


Диаграмма 27 – Анализ уровня ПСА до операции в зависимости от наличия экспрессии FASN

Плотность ПСА зависела от наличия экспрессии FASN. ($p = 0,009$) (Таблица 31, Диаграмма 28).

Таблица 31 – Показатель плотности ПСА в зависимости от экспрессии FASN

Показатель	Категории	Плотность ПСА			p
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
FASN	Нет экспрессии	0,40	0,23 – 0,54	48	0,009*
	Есть экспрессия	0,26	0,16 – 0,41	42	

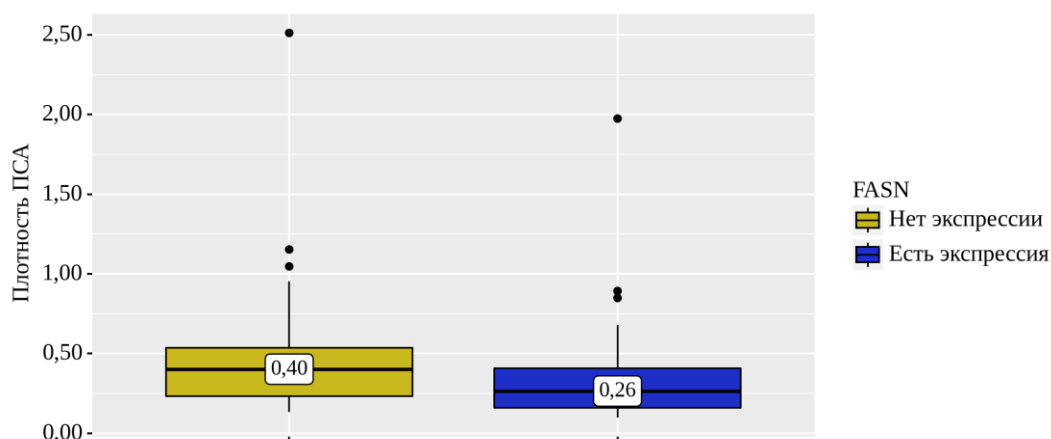


Диаграмма 28 – Показатели плотности ПСА в зависимости от экспрессии FASN

Стадия ISUP статистически значимо зависела от наличия экспрессии FASN. ($p < 0,001$) (Таблица 32, Диаграмма 29)

Таблица 32 – Анализ показателя ISUP в зависимости от наличия экспрессии FASN

Показатель	Категории	FASN		p
		Нет экспрессии	Есть экспрессия	
ISUP	ISUP 1	6 (12,5)	12 (28,6)	< 0,001*
	ISUP 2	1 (2,1)	17 (40,5)	
	ISUP 3	16 (33,3)	5 (11,9)	
	ISUP 4-5	25 (52,1)	8 (19,0)	

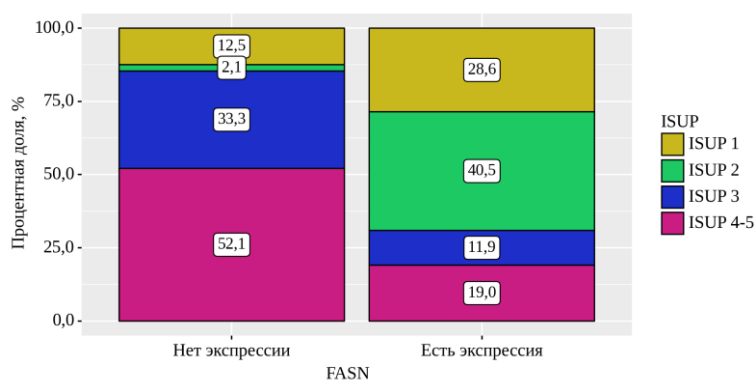


Диаграмма 29 – Экспрессия FASN в зависимости от показателя ISUP

Наблюдалась статистически значимая обратная корреляция между наличием в опухоли экспрессии FASN и баллом ISUP 3, ISUP 4-5 ($r=-0.253$, -0.342 соответственно, $p < 0.05$, < 0.01), прямая корреляция с баллом ISUP 2 ($r=0.498$) (используемый метод: корреляция Спирмена). При оценке связи с наличием экспрессии FASN стадии заболевания pT ($p=0,212$), наличия биохимического рецидива после операции ($p=0,144$), наличия лимфоваскулярной инвазии ($p=1,000$), периневральной инвазии ($p=0,722$), экстракапсулярного распространения ($p=0,320$), показателя экспрессии MCT1 ($p=0,218$), MCT4 в строме опухоли, паренхиме опухоли, преобладания паренхиматозной экспрессии MCT4 над стромальной ($p=0,686$; $0,208$; $0,780$), CAIX ($p=1,00$), LDH5 ($p=0,098$), GLUT1 ($p=0,062$), глутаминазы ($p=0,595$) ассоциаций не было обнаружено.

3.2 Анализ пятилетней выживаемости пациентов

Анализ общей выживаемости был проведен по методу Каплана-Майера (Диаграмма 30, Таблица 33).

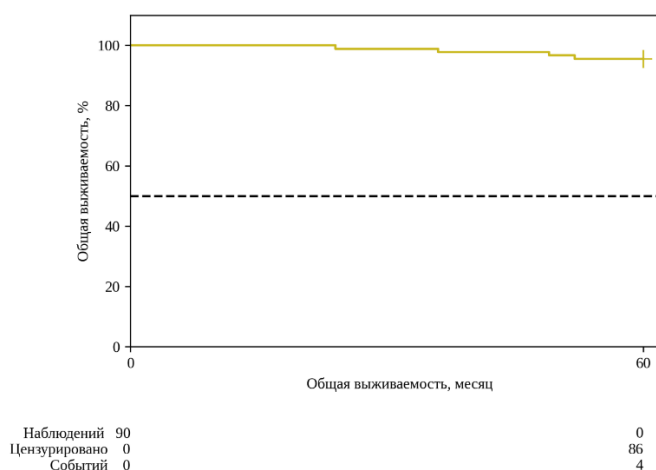


Диаграмма 30 - Кривая общей 5-летней выживаемости

Таблица 33 - Значения общей выживаемости

Общая выживаемость	95% ДИ
95,6%	88,6-98,3

Был проведен анализ канцер-специфической выживаемости у исследуемых по методу Каплана-Майера (Диаграмма 31, Таблица 34).

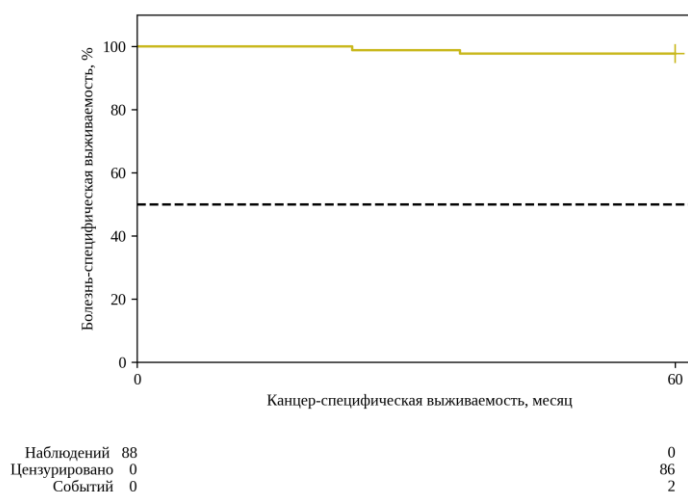


Диаграмма 31 - Кривая канцер-специфической выживаемости

Таблица 34 - Значения канцер-специфической выживаемости

Канцер-специфическая выживаемость	95% ДИ
97,8%	91,4 – 99,4

Статистически значимые предикторы канцер-специфической выживаемости выявлены не были.

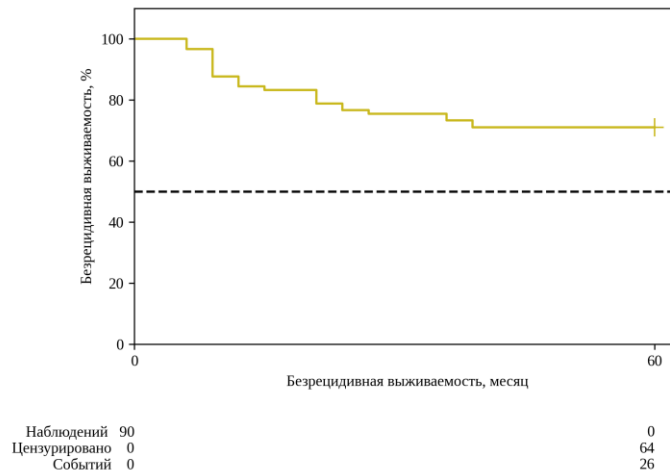


Диаграмма 32 – График безрецидивной выживаемости

Таблица 35 – Значения безрецидивной выживаемости и риска биохимического рецидива

	Срок наблюдения, мес.	%	95% ДИ
Безрецидивная выживаемость	60	71,1	60,6 – 79,3
Вероятность БХ рецидива	60	28,9	39,4 – 20,7

По методу регрессии Кокса в зависимости от экспрессии анализируемых биомаркеров выполнена оценка безрецидивной выживаемости. (Таблица 35, Диаграмма 32)

3.3 Анализ безрецидивной выживаемости у исследуемых в зависимости от наличия преобладания стромальной экспрессии МСТ4 над паренхиматозной

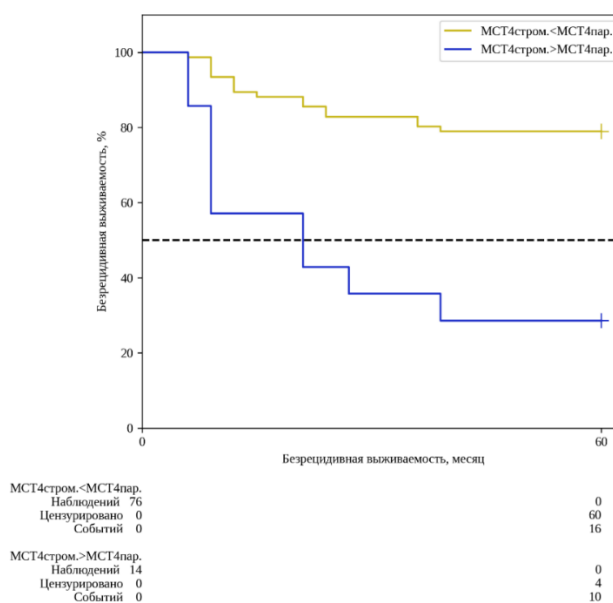


Диаграмма 33 - Кривая безрецидивной выживаемости в зависимости от наличия преобладания стромальной экспрессии МСТ4 над паренхиматозной

Таблица 36 - Значения безрецидивной выживаемости

Срок наблюдения, мес.	MCT4strom.<MCT4пар.		MCT4strom.>MCT4пар.	
	Безрецидивная выживаемость	95% ДИ	Безрецидивная выживаемость	95% ДИ
60,0	78,9	68,0 – 86,5	28,6	8,8 – 52,4

Таблица 37 - Значения срока дожития

Группа	Медиана срока дожития	75 процентиль срока дожития	25 процентиль срока дожития
MCT4strom.<MCT4пар.	Не достигнута	Не достигнут	Не достигнут
MCT4strom.>MCT4пар.	21 месяц	9 месяцев	Не достигнут

Тест отношения правдоподобия выявил статистически значимые различия безрецидивной выживаемости между группами ($p < 0,001$). (Таблица 36, Таблица 37, Диаграмма 33) При помощи метода регрессии Кокса была составлена модель пропорциональных рисков развития биохимического рецидива в зависимости от преобладания стромальной экспрессии МСТ4 над паренхиматозной: $h_i(t) = h_0(t) \times \exp(1,667 \times X_{\text{МСТ4стром.}>\text{МСТ4пар.}})$, где $h_i(t)$ – прогнозируемый риск наличия БХ рецидива для i -того элемента наблюдения (в %), $h_0(t)$ – базовый риск наличия БХ рецидива за определенный временной период t (в %), $X_{\text{МСТ4стром.}>\text{МСТ4пар.}}$ – МСТ4стром.>МСТ4пар. (Таблица 38, Таблица 39)

Таблица 38 - Значения базового риска наличия биохимического рецидива для разных временных периодов

Временные периоды, мес	Значения базового риска $h_0(t)$, %
6	1,998
9	7,771
12	10,417
15	11,323
21	14,98
24	17,047
27	18,102
36	20,337
39	22,623
60	22,623

Таблица 39 - Изменения рисков наличия биохимического рецидива в зависимости от влияния преобладания стромальной экспрессии МСТ4 над паренхиматозной

Фактор риска	Unadjusted		Adjusted	
	HR; 95% ДИ	p	HR; 95% ДИ	p
Преобладание стромальной экспрессии МСТ4 над паренхиматозной: МСТ4стром.>МСТ4пар.	5,297; 2,390 – 11,741	< 0,001*	5,297; 2,390 – 11,741	< 0,001*

При выполнении анализа влияния других оцениваемых биомаркеров на безрецидивную выживаемость исследуемых, статистически значимых результатов получено не было.

3.4 Интерпретация и обсуждение полученных данных

1. Наличие экспрессии FASN в ткани рака простаты преимущественно среди пациентов с низким баллом ISUP (корреляция с ISUP2 ($r=0.498$, $p<0.01$), обратная корреляция с ISUP 3 ($r=-0.253$, $p<0.05$); обратная корреляция с ISUP4-5 ($r=-0.342$, $p<0.01$)) говорит о том, что активный синтез жирных кислот клетками аденокарциномы простаты характерен для клеток низкой степени злокачественности. Снижение доли пациентов с наличием FASN в ткани аденокарциномы при ISUP 3-5 и более высоких показателях ПСА свидетельствует о том, что с ростом злокачественности заболевания, образование жирных кислот *de novo* в ткани опухоли практически прекращается.

2. Зависимость стромальной экспрессии MCT4 от экспрессии MCT1 паренхимой опухоли ($r=0.311$, $p<0.01$) указывает на то, что чем активнее опухолевая клетка потребляет лактат – тем активнее стромальные клетки выделяют его в межклеточное пространство. Данная ассоциация служит иллюстрацией формирования обратного эффекта Варбурга.

3. Повышение экспрессии MCT4 в паренхиме опухоли на фоне роста стромальной экспрессии MCT4 (корреляция между уровнем экспрессии MCT4 в строме и MCT4 в опухоли $r=0.400$, $p<0.01$) можно объяснить защитным механизмом, направленным на сохранение гомеостаза внутри опухолевой клетки. Интенсификация лактатного шаттла между стромальными и опухолевыми клетками приводит к накоплению лактата в последних, что приводит к снижению pH. С целью нормализации pH, клетка начинает экспрессировать MCT4 для вывода излишков лактата в межклеточное пространство.

4. Преобладание стромальной экспрессии МСТ4 над паренхиматозной отражает преобладание выделения лактата стромой над поглощением его опухолевыми клетками. Такой эффект может быть следствием более активного выделения клетками аденокарциномы простаты пероксида водорода, что может говорить об ускоренном делении клеток и росте опухоли. Преобладание стромальной экспрессии МСТ4 над паренхиматозной было ассоциировано с 9-кратным увеличением риска биохимического рецидива среди всех групп злокачественности по ISUP и 12-кратным увеличением риска биохимического рецидива в группе ISUP 1-2. Также, преобладание стромальной экспрессии МСТ4 над паренхиматозной служило предиктором худшей безрецидивной выживаемости после РПЭ.

5. Дальнейшая дедифференцировка клеток аденокарциномы простаты сопровождается интенсификацией метаболических процессов, сопровождающейся повышенной потребностью в питательных веществах. На данном этапе основными энергетическими обменными процессами в клетке являются гликолиз и глутаминолиз, что объясняется ростом экспрессии GLUT1 и глутаминазы параллельно увеличению балла по ISUP, ПСА, стадии pT. Переход на более энергоэффективную метаболическую ступень провоцирует увеличение пролиферации и инвазии опухолевых клеток, что отражено в повышении вероятности экстракапсулярного распространения на фоне роста экспрессии GLUT1 и глутаминазы и перинервальной инвазии при росте экспрессии глутаминазы.

6. Повышение вероятности биохимического рецидива на фоне экспрессии глутаминазы ($r=0.378$, $p<0.01$) может быть обусловлено протективным действием глутатиона, образующегося в процессе глутаминолиза. Одной из функций глутатиона является защита клетки от оксидативного стресса, присутствующего в ткани опухоли.

7. Несмотря на малое количество наблюдений, в которых отмечалась экспрессия CAIX, имелась статистически значимая связь с экспрессией GLUT1, что

может говорить о росте гипоксии на фоне активного метаболизма глюкозы в опухоли.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Целью данного исследования было изучение метаболического фенотипа клеток аденокарциномы предстательной железы с разной степенью злокачественности по шкале ISUP на различных стадиях заболевания согласно классификации TNM. Также оценивалась связь метаболических маркеров с клинически значимыми показателями, такими как биохимический рецидив после радикальной простатэктомии, с целью дальнейшей оценки потенциала применения полученных результатов в клинической практике. Актуальным данное исследование делает большое число работ в мировой литературе, посвященных метаболизму клеток аденокарциномы, что отражает общую заинтересованность в проблеме. Тем не менее, при систематическом анализе данных отмечается их гетерогенность за счет того, что исследуемым материалом может являться как удаленная ткань предстательной железы в ходе РПЭ, так и выращенные в лабораторных условиях клеточные линии аденокарциномы простаты, в том числе и полученные исходно из метастазов РПЖ. За счет этого результаты работ крайне неоднородны, а в некоторых случаях даже противоречат друг другу. Нами была проведена оценка экспрессии ряда маркеров, отражающих особенности метаболизма опухолевых клеток в послеоперационном материале больных, перенесших радикальную простатэктомию на стадии заболевания не выше pT3bNoMo.

Полученные нами данные позволили сформировать единую картину изменения энергетического метаболизма клеток аденокарциномы на фоне различной степени злокачественности по ISUP, стадии pT. Кратко изложим ее ниже.

Данные мировой литературы утверждают, что синтез жирных кислот является одним из наиболее ранних маркеров метаболизма рака простаты. Полученные данные косвенно подтверждают этот факт, так как нами наблюдалась повышенная экспрессия синтазы жирных кислот (FASN) клетками опухоли преимущественно на стадии ISUP 1-2. При том, с ростом злокачественности и

уровня ПСА, экспрессия FASN снижалась. Этот факт можно объяснить тем, что на фоне низкой степени злокачественности энергетические потребности клеток обеспечиваются в полном объеме, за счет чего излишки запасаются путем формирования жирных кислот.

Основным источником энергии для окислительного фосфорилирования, восстановленного за счет снижения концентрации цинка в клетках рака простаты, на фоне низкой степени злокачественности является не глюкоза, а лактат. Основная часть лактата клеткам поставляется канцер-ассоциированными фибробластами, формирующими т.н. лактатный шаттл. Подтверждается данная теория выявлением в паренхиме опухоли экспрессии MCT1, отвечающего за транспорт лактата внутрь клетки, и MCT4 в строме, отвечающего за транспорт лактата из клетки. Зависимость экспрессии MCT4 в строме от экспрессии MCT1 в паренхиме говорит нам о способности опухолевых клеток приводить к увеличению выделения лактата стромальными клетками на фоне увеличения потребности в питательных веществах.

С дальнейшей дедифференцировкой клеток связано повышение интенсивности метаболических процессов, скорости деления клеток и, соответственно, энергетических потребностей опухоли. Происходит смена основного энергетического субстрата опухоли с лактата на глюкозу, что отражается в росте экспрессии GLUT1 на фоне роста степени злокачественности по ISUP, ПСА, местного распространения опухоли. Также, растет уровень глутаминолиза (это доказывает рост экспрессии глутаминазы), в ходе которого образуется глутамат, участвующий в цикле трикарбоновых кислот и глутатион. На фоне бурного роста опухолевой ткани наблюдается нарастание гипоксии, вследствие чего метаболизм глюкозы идет по анаэробному пути с образованием лактата. Чтобы избежать апоптоза, вызванного снижением pH внутри клетки и образованием пероксида водорода, клетка использует ряд защитных механизмов. Вместо MCT1, клетка начинает экспрессировать MCT4, выпуская лактат в межклеточное пространство, нормализуя уровень кислотности. Глутатион, формирующийся при глутаминолизе, обладает функцией защиты клеток от

пероксида водорода, также возникающего на фоне гипоксии. Преобладание стромальной экспрессии МСТ4 над паренхиматозной, повышенная экспрессия глутаминазы являлись предикторами развития биохимического рецидива после РПЭ. Также, стоит отметить важную роль преобладания стромальной экспрессии МСТ4 над паренхиматозной как предиктора БХ рецидива в группе ISUP1-2. Можно предположить, что такой эффект обусловлен более активным воздействием опухолевых клеток на стромальные вследствие повышения их метаболической активности. Еще одним способом нормализации рН для клетки может служить повышение экспрессии CAIX. В мировой литературе имеется множество данных, иногда противоречащих друг другу, касательно экспрессии данного фермента аденокарциномой простаты. По нашим данным экспрессия CAIX наблюдалась лишь в 10% образцов и обладала низкой выраженностью. Несмотря на наличие статистически значимой ассоциации между экспрессией CAIX и GLUT1, которая может указывать на рост гипоксии на фоне увеличения поглощения клетками глюкозы, в связи с малым количеством позитивных образцов, можно сделать вывод, что CAIX хоть и может являться инструментом поддержания рН внутри опухолевой клетки, для аденокарциномы простаты данный механизм поддержки гомеостаза не является основным.

Несмотря на участие ЛДГ5 в метаболизме лактата, а также данные мировой литературы, указывающие на ассоциацию между экспрессией ЛДГ5, стадией заболевания T4, степенью злокачественности по Глисон, в нашей работе статистически значимых результатов получено не было. Не исключено, что многообещающие результаты о диагностической ценности ЛДГ5 были связаны с тем, что в исследованиях участвовали пациенты с местнораспространенным или метастатическим раком простаты, а также использовались лабораторные линии клеток рака простаты.

В клинической практике полученные данные возможно использовать на стадии оценки морфологического материала как после биопсии простаты при выявлении рака простаты низкого онкологического риска, так и после радикальной простатэктомии. В первом случае определение экспрессии метаболических

маркеров у пациентов с раком простаты низкого онкологического риска может быть ключом к прогнозированию прогрессирования заболевания, тем самым склонив чашу весов как в сторону динамического наблюдения, так и в сторону активного лечения, а также являться показанием к выполнению тазовой лимфаденэктомии во время операции. В случае определения дальнейшей тактики лечения после выполненной радикальной простатэктомии, уровень экспрессии маркеров метаболизма, ассоциированных с развитием биохимического рецидива, а также являющихся предикторами неблагоприятной безрецидивной выживаемости, можно использовать в качестве определения показаний для назначения дополнительных методов терапии, таких как лучевая или химиотерапия. Для формулирования конкретных рекомендаций, необходимо проведение дальнейших проспективных исследований, включающих большую выборку пациентов.

ВЫВОДЫ

1. Обратная корреляция между экспрессией FASN и стадиями ISUP 3,4,5, прямая корреляция со стадией ISUP 2 свидетельствует о повышении синтеза жирных кислот в клетках низкой степени злокачественности, снижении интенсивности синтеза жирных кислот в клетках с ростом злокачественности.

2. Лактат является основным субстратом энергетического метаболизма локализованного рака простаты низкой степени злокачественности, на что указывает обратная корреляция между ISUP 1,2 и переносчиком глюкозы 1 типа (GLUT1) в клетках опухоли.

3. Рост потребления лактата клетками опухоли ассоциирован с повышением выделения лактата в межклеточное пространство канцер-ассоциированными фибробластами, что обусловлено корреляцией между экспрессией MCT1 в клетках паренхимы опухоли и MCT4 в клетках стромы опухоли.

4. Использование клетками аденокарциномы простаты глюкозы как основного субстрата энергетического метаболизма, а также повышение интенсивности глутаминолиза ассоциированы с местным распространением опухоли, степенью злокачественности ISUP 4-5, ростом ПСА, что обусловлено повышенной экспрессией GLUT1 и GLS при наличии данных клинических параметров.

5. Преобладание экспрессии MCT4 стромальными клетками над экспрессией MCT4 паренхимой опухоли, а также повышенная экспрессия глутаминазы ассоциированы с биохимическим рецидивом после радикальной простатэктомии. Также, преобладание экспрессии MCT4 клетками опухоли над стромальной экспрессией является предиктором биохимического рецидива в группах злокачественности ISUP 1-2.

6. Экспрессия CAIX, LDH5 в клетках аденокарциномы простаты различной степени злокачественности на стадии заболевания не выше pT3bNoMo статистически значимо не коррелирует с исследуемыми клинико-

морфологическими параметрами и не влияет на общую, канцер-специфическую и безрецидивную выживаемость.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Определение экспрессии переносчиков монокарбоксилатов 4 типа (MCT4) в строме и непосредственно в паренхиме аденокарциномы простаты может быть рекомендовано в качестве дополнительного инструмента стратификации риска биохимического рецидива, а также прогнозирования сроков безрецидивной выживаемости пациентов после радикальной простатэктомии.

2. Разработанная прогностическая модель, учитывающая экспрессию глутаминазы в опухолевой ткани аденокарциномы простаты, может с может быть рекомендована в качестве дополнительного инструмента стратификации риска биохимического рецидива после радикальной простатэктомии.

3. Прогностическая модель, основанная на определении соотношения стромальной и паренхиматозной экспрессии MCT4 в опухоли может быть рекомендована в качестве дополнительного инструмента стратификации риска биохимического рецидива после радикальной простатэктомии среди пациентов с аденокарциномой ISUP 1-2.

4. Учитывая взаимосвязь экспрессии маркеров MCT1, MCT4, GLUT1, FASN, GLS с важными клинико-морфологическими параметрами, допустимо их применение в качестве дополнительных инструментов определения тактики лечения после радикальной простатэктомии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- ПСА – простатспецифический антиген
- МСТ1 - переносчик монокарбоксилатов 1 типа
- МСТ4 - переносчик монокарбоксилатов 4 типа
- ISUP – international society of urological pathology
- GLUT1 - переносчик глюкозы 1 типа
- CAIX – карбоновая ангидраза IX типа
- FASN – синтаза жирных кислот
- LDH5 – лактатдегидрогеназа 5 типа
- РПЖ – рак предстательной железы
- СТР – citrate transport protein
- АТФ – аденозинтрифосфат
- CAFs – cancer-associated fibroblasts
- ИЛ-6 – интерлейкин-6
- HIF1 – фактор индуцируемый гипоксией
- ЛДГ – лактатдегидрогеназа
- ПИН – простатическая интраэпителиальная неоплазия
- АМАСР - альфа-метилацил-КоА-рацемаза
- РПЭ – радикальная простатэктомия
- РООУ – Российское общество онкоурологов
- ТЛАЭ – тазовая лимфаденэктомия
- УЗ – ультразвуковой
- МРТ – магнитно-резонансная томография
- ИГХ – иммуногистохимия
- Me – медиана
- БХ – биохимический
- ДИ – доверительный интервал

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Каприн, А. Д. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность) / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, Г. В. Петрова. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, - 2019. - илл. - 250 с. ISBN 978-5-85502-251-3, 2019. – С. 4-9
2. Переносчики монокарбоксилатов и глюкозы как биомаркеры степени злокачественности рака предстательной железы / С. В. Вовденко, А. О. Морозов, С. Т. Аврамова [и др.] // Вопросы урологии и андрологии. – 2020. – Vol. 8. – № 4. – С. 5-11.
3. Роль экспрессии монокарбоксилатов первого и четвертого типов (MCT1, MCT4) опухолевыми и стромальными клетками рака простаты в определении прогноза заболевания и эффективности радикального лечения / С. В. Вовденко, А. О. Морозов, С. Т. Аврамова [и др.] // Урология. – 2022. – Vol. 5. – С. 64-70.
4. Роль экспрессии переносчика глюкозы первого типа (GLUT1) и карбоновой ангидразы 9 типа (CAIX) тканью аденокарциномы простаты в определении прогноза заболевания и эффективности радикального лечения / С. В. Вовденко, А. О. Морозов, С. Т. Аврамова [и др.] // Вестник урологии. – 2022. – Vol. 10. – № 4. – С. 13-20.
5. Adams, J. The case of scirrhus of the prostate gland with corresponding affliction of the lymphatic glands in the lumbar region and in the pelvis / J. Adams // Lancet. – 1853. – Vol. 1. – № 1. – P. 393.
6. A lactate shuttle system between tumour and stromal cells is associated with poor prognosis in prostate cancer / N. Pértega-Gomes, J. R. Vizcaíno, J. Attig [et al.] // BMC Cancer. – 2014. – Vol. 14. – № 1.
7. Androgen-responsive and nonresponsive prostate cancer cells present a distinct glycolytic metabolism profile / C. V. Vaz, M. G. Alves, R. Marques [et al.] // International Journal of Biochemistry and Cell Biology. – 2012. – Vol. 44. – № 11. – P. 2077-2084.

8. Androgens stimulate fatty acid synthase in the human prostate cancer cell line LNCaP. / J. V Swinnen, M. Esquenet, K. Goossens [et al.] // *Cancer research*. – 1997. – Vol. 57. – № 6. – P. 1086-1090.
9. Carbonic anhydrase IX expression in prostate cancer / L. G. Smyth, G. O’Hurley, A. O’Grady [et al.] // *Prostate cancer and prostatic diseases*. – 2010. – Vol. 13. – № 2. – P. 178-181.
10. Carbonic anhydrase IX from cancer-associated fibroblasts drives epithelial-mesenchymal transition in prostate carcinoma cells / T. Fiaschi, E. Giannoni, M. L. Taddei [et al.] // *Cell cycle (Georgetown, Tex.)*. – 2013. – Vol. 12. – № 11. – P. 1791-1801.
11. Carbonic anhydrase IX is a marker of hypoxia and correlates with higher Gleason scores and ISUP grading in prostate cancer / M. R. Ambrosio, C. Di Serio, G. Danza [et al.] // *Diagnostic pathology*. – 2016. – Vol. 11. – № 1.
12. Carbohydrate restriction and lactate transporter inhibition in a mouse xenograft model of human prostate cancer / H. S. Kim, E. M. Masko, S. L. Poulton [et al.] // *BJU International*. – 2012. – Vol. 110. – № 7. – P. 1062-1069.
13. Cellular distribution of glut-1 and glut-5 in benign and malignant human prostate tissue / K. Reinicke, P. Sotomayor, P. Cisterna [et al.] // *Journal of Cellular Biochemistry*. – 2012. – Vol. 113. – № 2. – P. 553-562.
14. Citrate transport and metabolism in mammalian cells: Prostate epithelial cells and prostate cancer. Vol. 31 / M. E. Mycielska, A. Patel, N. Rizaner [et al.]. – *Bioessays*. - 2009. - Vol. 31. - №1. - P. 10-20.
15. Coexpression of CD147 (EMMPRIN), CD44v3-10, MDR1 and monocarboxylate transporters is associated with prostate cancer drug resistance and progression / J. Hao, H. Chen, M. C. Madigan [et al.] // *British Journal of Cancer*. – 2010. – Vol. 103. – № 7. – P. 1008-1018.
16. Costello, L. C. A comprehensive review of the role of zinc in normal prostate function and metabolism; and its implications in prostate cancer / L. C. Costello, R. B. Franklin // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 2016. – Vol. 611. – P. 100-112.

17. Differential Expression of Glucose Transporters and Hexokinases in Prostate Cancer with a Neuroendocrine Gene Signature: A Mechanistic Perspective for 18F-FDG Imaging of PSMA-Suppressed Tumors / M. K. Bakht, J. M. Lovnicki, J. Tubman [et al.] // *Journal of Nuclear Medicine*. – 2020. – Vol. 61. – № 6. – P. 904.
18. Diverse effects of zinc on NF- κ B and AP-1 transcription factors: Implications for prostate cancer progression / R. G. Uzzo, P. L. Crispen, K. Golovine [et al.] // *Carcinogenesis*. – 2006. – Vol. 27. – № 10. – P. 1980-1990.
19. Elevated expression of glutaminase confers glucose utilization via glutaminolysis in prostate cancer / T. Pan, L. Gao, G. Wu [et al.] // *Biochemical and biophysical research communications*. – 2015. – Vol. 456. – № 1. – P. 452-458.
20. Expression and localization of GLUT1 and GLUT12 in prostate carcinoma / J. D. Chandler, E. D. Williams, J. L. Slavin [et al.] // *Cancer*. – 2003. – Vol. 97. – № 8. – P. 2035-2042.
21. Expression of carbonic anhydrase IX in genitourinary and adrenal tumours / D. P. Donato, M. T. Johnson, X. J. Yang, D. L. Zynger // *Histopathology*. – 2011. – Vol. 59. – № 6. – P. 1229-1239.
22. Fatty acid synthase as a potential therapeutic target in cancer / R. Flavin, S. Peluso, P. L. Nguyen, M. Loda // *Future oncology (London, England)*. – 2010. – Vol. 6. – № 4. – P. 551-562.
23. Fatty acid synthase: a metabolic enzyme and candidate oncogene in prostate cancer / M. Loda, T. Migita, S. Ruiz [et al.] // *Journal of the National Cancer Institute*. – 2009. – Vol. 101. – № 7. – P. 519-532.
24. Fatty acid synthase gene is up-regulated by hypoxia via activation of Akt and sterol regulatory element binding protein-1 / E. Furuta, S. K. Pai, R. Zhan [et al.] // *Cancer research*. – 2008. – Vol. 68. – № 4. – P. 1003-1011.
25. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries / H. Sung, J. Ferlay, R. L. Siegel [et al.] // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 2021. – Vol. 71. – № 3. – P. 209-249.

26. Glutamine Transporters are Targets of Multiple Oncogenic Signaling Pathways in Prostate Cancer / M. A. White, C. Lin, K. Rajapakshe [et al.] // *Molecular cancer research : MCR.* – 2017. – Vol. 15. – № 8. – P. 1017.
27. GLUT1 expression in high-risk prostate cancer: correlation with 18F-FDG-PET/CT and clinical outcome / S. Meziou, C. Ringuette Goulet, H. Hovington [et al.] // *Prostate Cancer and Prostatic Diseases.* – 2020. – Vol. 23. – № 3. – P. 441-448.
28. GLUT1 is an AR target contributing to tumor growth and glycolysis in castration-resistant and enzalutamide-resistant prostate cancers / J. Wang, W. Xu, B. Wang [et al.] // *Cancer Letters.* – 2020. – Vol. 485. – P. 45-55.
29. GLUT1 protects prostate cancer cells from glucose deprivation-induced oxidative stress / P. Gonzalez-Menendez, D. Hevia, R. Alonso-Arias [et al.] // *Redox Biology.* – 2018. – Vol. 17. – P. 112-127.
30. GLUT1 regulates cell glycolysis and proliferation in prostate cancer / H. Xiao, J. Wang, W. Yan [et al.] // *Prostate.* – 2018. – Vol. 78. – № 2. – P. 86-94.
31. Glycolytic cancer associated fibroblasts promote breast cancer tumor growth, without a measurable increase in angiogenesis: Evidence for stromal-epithelial metabolic coupling / G. Migneco, D. Whitaker-Menezes, B. Chiavarina [et al.] // *Cell Cycle.* – 2010. – Vol. 9. – № 12. – P. 2412-2422.
32. Halestrap, A. P. The SLC16 gene family - From monocarboxylate transporters (MCTs) to aromatic amino acid transporters and beyond / A. P. Halestrap, D. Meredith. // *Pflugers Arch.* - 2004. - Vol. 447. - №5. - P. 619-628.
33. Harris, A. L. Hypoxia--a key regulatory factor in tumour growth / A. L. Harris // *Nature reviews. Cancer.* – 2002. – Vol. 2. – № 1. – P. 38-47.
34. High-level expression of fatty acid synthase in human prostate cancer tissues is linked to activation and nuclear localization of Akt/PKB / T. Van de Sande, T. Roskams, E. Lerut [et al.] // *The Journal of pathology.* – 2005. – Vol. 206. – № 2. – P. 214-219.
35. Hyperpolarized ¹³C-pyruvate MRI detects real-time metabolic flux in prostate cancer metastases to bone and liver: a clinical feasibility study / H.-Y. Chen, R. Aggarwal, R. A. Bok [et al.] // *Prostate Cancer and Prostatic Diseases* – 2019. – Vol. 23. – № 2. – P. 269-276.

36. hZIP1 zinc uptake transporter down regulation and zinc depletion in prostate cancer / R. B. Franklin, P. Feng, B. Milon [et al.] // *Molecular Cancer*. – 2005. – Vol. 4. - №32.
37. Identification of a unique monocarboxylate transporter (MCT3) in retinal pigment epithelium / H. Yoon, A. Fanelli, E. F. Grollman, N. J. Philp // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 1997. – Vol. 234. – № 1. – P. 90-94.
38. Immune mechanisms behind prostate cancer in men of African ancestry: A review / D. Sentana-Lledo, O. Sartor, S. P. Balk, D. J. Einstein // *The Prostate*. – 2022. – Vol. 82. – № 8. – P. 883-893.
39. Increased fatty acid synthase expression in prostate biopsy cores predicts higher Gleason score in radical prostatectomy specimen / S. Hamada, A. Horiguchi, K. Kuroda [et al.] // *BMC clinical pathology*. – 2014. – Vol. 14. – № 1.
40. Inhibition of Carbonic Anhydrase IX by Ureidosulfonamide Inhibitor U104 Reduces Prostate Cancer Cell Growth, But Does Not Modulate Daunorubicin or Cisplatin Cytotoxicity / A. Riemann, A. Güttler, V. Haupt [et al.] // *Oncology research*. – 2018. – Vol. 26. – № 2. – P. 191-200.
41. Integrated gene and miRNA expression analysis of prostate cancer associated fibroblasts supports a prominent role for interleukin-6 in fibroblast activation / V. Doldi, M. Callari, E. Giannoni [et al.] // *Oncotarget*. – 2015. – Vol. 6. – № 31. – P. 31441-31460.
42. Koukourakis, M. I. Lactate dehydrogenase isoenzymes 1 and 5: differential expression by neoplastic and stromal cells in non-small cell lung cancer and other epithelial malignant tumors / M. I. Koukourakis, A. Giatromanolaki, E. Sivridis // *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*. – 2003. – Vol. 24. – № 4. – P. 199-202.
43. Lactate dehydrogenase 5 expression in squamous cell head and neck cancer relates to prognosis following radical or postoperative radiotherapy / M. I. Koukourakis, A. Giatromanolaki, S. Winter [et al.] // *Oncology*. – 2009. – Vol. 77. – № 5. – P. 285-292.
44. Lactate dehydrogenase 5 isoenzyme overexpression defines resistance of prostate cancer to radiotherapy / M. I. Koukourakis, A. Giatromanolaki, M. Panteliadou [et al.] // *British Journal of Cancer*. – 2014. – Vol. 110. – № 9. – P. 2217.

45. Localization of MCT2 at peroxisomes is associated with malignant transformation in prostate cancer / I. Valença, N. Pértega-Gomes, J. R. Vizcaino [et al.] // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. – 2015. – Vol. 19. – № 4. – P. 723-733.
46. Macheda, M. L. Molecular and cellular regulation of glucose transporter (GLUT) proteins in cancer / M. L. Macheda, S. Rogers, J. D. Best // *Journal of Cellular Physiology*. – 2005. – Vol. 202. – № 3. – P. 654-662.
47. McNeal, J. E. Normal histology of the prostate / J. E. McNeal // *American Journal of Surgical Pathology*. – 1988. – Vol. 12. – № 8. – P. 619-633.
48. Menendez, J. A. Fatty acid synthase and the lipogenic phenotype in cancer pathogenesis / J. A. Menendez, R. Lupu // *Nature reviews. Cancer*. – 2007. – Vol. 7. – № 10. – P. 763-777.
49. Monocarboxylate transporter 2 (MCT2) as putative biomarker in prostate cancer / N. Pértega-Gomes, J. R. Vizcaíno, C. Gouveia [et al.] // *Prostate*. – 2013. – Vol. 73. – № 7. – P. 763-769.
50. miR-132 mediates a metabolic shift in prostate cancer cells by targeting Glut1 / W. Qu, S. mei Ding, G. Cao [et al.] // *FEBS Open Bio*. – 2016. – Vol. 6. – № 7. – P. 735-741.
51. MiR-378a inhibits glucose metabolism by suppressing GLUT1 in prostate cancer / A. Cannistraci, P. Hascoet, A. Ali [et al.] // *Oncogene*. – 2022. - Vol. 41. - №10. - P. 1445-1455.
52. Monocarboxylate transporter 4 (MCT4) and CD147 overexpression is associated with poor prognosis in prostate cancer / N. Pértega-Gomes, J. R. Vizcaíno, V. Miranda-Gonçalves [et al.] // *BMC Cancer*. – 2011. – Vol. 11.
53. Monoethanolamine-induced glucose deprivation promotes apoptosis through metabolic rewiring in prostate cancer / C. Garlapati, S. Joshi, R. C. Turaga [et al.] // *Theranostics*. – 2021. – Vol. 11. – № 18. – P. 9089.
54. Mukha, A. Targeting glutamine metabolism and autophagy: the combination for prostate cancer radiosensitization / A. Mukha, U. Kahya, A. Dubrovska // *Autophagy*. – 2021. – Vol. 17. – № 11. – P. 3879.

55. Organized metabolic crime in prostate cancer: The coexpression of MCT1 in tumor and MCT4 in stroma is an independent prognosticator for biochemical failure / S. Andersen, Ø. Solstad, L. Moi [et al.] // *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*. – 2015. – Vol. 33. – № 8. – P. 338.e9-338.e17.
56. Organ-specific cancer metabolism and its potential for therapy / I. Elia, R. Schmieder, S. Christen, S. M. Fendt // *Handbook of Experimental Pharmacology*. – 2016. – Vol. 233. – P. 321-353.
57. Overexpression of fatty acid synthase is an early and common event in the development of prostate cancer / J. V. Swinnen, T. Roskams, S. Joniau [et al.] // *International journal of cancer*. – 2002. – Vol. 98. – № 1. – P. 19-22.
58. Parkkila, S. Significance of pH regulation and carbonic anhydrases in tumour progression and implications for diagnostic and therapeutic approaches / S. Parkkila // *BJU international*. – 2008. – Vol. 101 Suppl. – № SUPPL.4. – P. 16-21.
59. Pértega-Gomes, N. Lactate transporters in the context of prostate cancer metabolism: What do we know? Vol. 15 / N. Pértega-Gomes, F. Baltazar // *Int J Mol Sci*. - 2014. - Vol. 15. - №10. - P. 18333-18348.
60. Potter, C. Hypoxia inducible carbonic anhydrase IX, marker of tumour hypoxia, survival pathway and therapy target / C. Potter, L. A. Harris // *Cell Cycle*. – 2004. – Vol. 2. – P. 164-7.
61. Prognostic Significance of Serum PSA Level and Telomerase, VEGF and GLUT-1 Protein Expression for the Biochemical Recurrence in Prostate Cancer Patients after Radical Prostatectomy / A. Gasinska, J. Jaszczynski, U. Rychlik [et al.] // *Pathology oncology research : POR*. – 2020. – Vol. 26. – № 2. – P. 1049-1056.
62. Prostate cancer PET tracers: Essentials for the urologist / T. J. Fraum, D. R. Ludwig, E. H. Kim [et al.] // *Canadian Journal of Urology*. – 2018. – Vol. 25. – № 4. – P. 9371-9383.
63. Rebbeck, T. R. Prostate Cancer Genetics: Variation by Race, Ethnicity, and Geography / T. R. Rebbeck // *Seminars in radiation oncology*. – 2017. – Vol. 27. – № 1. – P. 3-10.

64. Reciprocal metabolic reprogramming through lactate shuttle coordinately influences tumor-stroma interplay / T. Fiaschi, A. Marini, E. Giannoni [et al.] // *Cancer Research*. – 2012. – Vol. 72. – № 19. – P. 5130-5140.
65. Role of monocarboxylate transporters and glucose transporters in prostate cancer / S. Vovdenko, A. Morozov, S. Ali [et al.] // *Urologia*. – 2022. – Vol. 90. - №3. - P. 491-498
66. Role of zinc in the pathogenesis and treatment of prostate cancer: Critical issues to resolve / L. C. Costello, P. Feng, B. Milon [et al.] // *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*. – 2004. – Vol. 7. – № 2. – P. 111-117.
67. Sun, Q. MCT4 promotes cell proliferation and invasion of castration-resistant prostate cancer PC-3 cell line / Q. Sun, L. L. Hu, Q. Fu // *EXCLI Journal*. – 2019. – Vol. 18. – P. 187-194.
68. Targeting MCT4 to reduce lactic acid secretion and glycolysis for treatment of neuroendocrine prostate cancer / S. Y. C. Choi, S. L. Ettinger, D. Lin [et al.] // *Cancer Medicine*. – 2018. – Vol. 7. – № 7. – P. 3385-3392.
69. The AlkB Family of Fe(II)/ α -Ketoglutarate-dependent Dioxygenases: Repairing Nucleic Acid Alkylation Damage and Beyond / B. I. Fedeles, V. Singh, J. C. Delaney [et al.] // *The Journal of Biological Chemistry*. – 2015. – Vol. 290. – № 34. – P. 20734.
70. The involvement of Bax in zinc-induced mitochondrial apoptogenesis in malignant prostate cells / P. Feng, T. Li, Z. Guan [et al.] // *Molecular Cancer*. – 2008. – Vol. 7. - №25.
71. The MCT4 gene: A novel, potential target for therapy of advanced prostate cancer / S. Y. C. Choi, H. Xue, R. Wu [et al.] // *Clinical Cancer Research*. – 2016. – Vol. 22. – № 11. – P. 2721-2733.
72. The reverse Warburg effect: Aerobic glycolysis in cancer associated fibroblasts and the tumor stroma / S. Pavlides, D. Whitaker-Menezes, R. Castello-Cros [et al.] // *Cell Cycle*. – 2009. – Vol. 8. – № 23. – P. 3984-4001.
73. The reverse Warburg effect: Glycolysis inhibitors prevent the tumor promoting effects of caveolin-1 deficient cancer associated fibroblasts / G. Bonucci, D. Whitaker-Menezes, R. Castello-Cros [et al.] // *Cell Cycle*. – 2010. – Vol. 9. – № 10. – P. 1960-1971.

74. The Role of Lactate Metabolism in Prostate Cancer Progression and Metastases Revealed by Dual-Agent Hyperpolarized ^{13}C MRSI / R. Bok, J. Lee, R. Sriram [et al.] // *Cancers*. – 2019. – Vol. 11. – № 2. – P. 257.
75. Tumor-stroma metabolic relationship based on lactate shuttle can sustain prostate cancer progression / P. Sanità, M. Capulli, A. Teti [et al.] // *BMC Cancer*. – 2014. – Vol. 14. – № 1.
76. Upregulation of glucocorticoid receptor-mediated glucose transporter 4 in enzalutamide-resistant prostate cancer / S. Hoshi, S. Meguro, H. Imai [et al.] // *Cancer Science*. – 2021. – Vol. 112. – № 5. – P. 1899.
77. Wong, S. S. Lactate Dehydrogenase and its Isoenzymes / S. S. Wong; -Totowa, NJ: Humana Press, 1998. – P. 171-190.; ISBN 978-1-4612-1806-7.
78. Yoon, H. Genomic structure and developmental expression of the chicken monocarboxylate transporter MCT3 gene / H. Yoon, N. J. Philp // *Experimental Eye Research*. – 1998. – Vol. 67. – № 4. – P. 417-424.