

<https://doi.org/10.29296/25877305-2019-06-17>

Клинико-морфологические показатели крови при раке предстательной железы в пожилом возрасте

Т. Павлова¹, доктор медицинских наук, профессор,
В. Куликовский¹, доктор медицинских наук, профессор,
К. Прощаев², доктор медицинских наук, профессор,
И. Павлов¹, кандидат медицинских наук,
М. Чаплыгина¹

¹Белгородский государственный национальный исследовательский университет

²Научно-исследовательский медицинский центр «Геронтология», Москва

E-mail: chaplygina@bsu.edu.ru

С применением электронной сканирующей микроскопии и иммуноферментного анализа проведено комплексное изучение особенностей крови пожилых пациентов при раке предстательной железы (РПЖ). Обследованы 110 человек, разделенных на группы и подгруппы, различающиеся по возрасту и характеру распространения опухолевого процесса. Показано, что у практически здоровых пациентов пожилого возраста процент предгемолитических форм эритроцитов выше, чем у лиц среднего возраста. В пожилом возрасте также при патологии предстательной железы в сравнении с контрольной группой того же возраста характерны снижение содержания дискоцитов, увеличение частоты встречаемости переходных форм эритроцитов и уменьшение среднего диаметра эритроцитов. Определены также тенденции к изменению концентрации биомаркеров (ТuM2Pк, интерлейкин-12, FGF, VEGF, фактор некроза опухоли-α и простатоспецифический антиген общий) у лиц пожилого возраста с разной степенью распространения опухолевого процесса при РПЖ.

Ключевые слова: онкология, эритроциты, рак предстательной железы, растровая электронная микроскопия, атомно-силовая микроскопия, опухоль-ассоциированные маркеры.

Для цитирования: Павлова Т., Куликовский В., Прощаев К. и др. Клинико-морфологические показатели крови при раке предстательной железы в пожилом возрасте // Врач. – 2019; 30 (6): 72–76. <https://doi.org/10.29296/25877305-2019-06-17>

В последние годы возрастает интерес геронтологов к морфологическому состоянию крови у пожилых людей. Его детально изучают, используя инновационные методы микропирования биологических объектов, что во многом расширяет возможности патоморфологии [1, 2]. В геронтологической мембранологии большое значение придается форменным элементам крови — эритроцитам. Кровь, находясь в состоянии постоянного обмена с органами и тканями организма, является одной из систем, наиболее показательных для

диагностики состояния здоровья [3]. Большая часть заболеваний находит отражение в гематологических показателях и наоборот. Не являются исключением и онкологические процессы [4]. Взаимоотношение между процессами старения и развитием злокачественных новообразований рассматривается рядом ведущих ученых [5]. В связи с ростом онкологической заболеваемости [6] такие исследования приобретают особое значение.

Авторами изучено морфофункциональное состояние крови при патологии предстательной железы (ПЖ) в пожилом возрасте.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследованы 110 человек, подписавших информированное согласие на участие в исследовании. Для изучения морфометрических характеристик эритроцитов были сформированы 4 группы пациентов: 1-я (n=6) — практически здоровые люди среднего возраста (возраст — в среднем $44,50 \pm 2,01$ года); 2-я (n=6) — практически здоровые люди пожилого возраста ($64,70 \pm 1,84$ года); 3-я (n=6) — пациенты пожилого возраста с доброкачественной гиперплазией ПЖ (ДГПЖ; возраст — $64,50 \pm 2,91$ года); 4-я (n=6) — пожилые пациенты с диагностированным раком ПЖ (РПЖ; $67,80 \pm 2,56$ года). Для определения количественных пороговых значений серологических биомаркеров пациенты были разделены на группы и подгруппы, различающиеся по возрасту и характеру распространения опухолевого процесса. 1-ю группу составили больные РПЖ среднего возраста ($44,34 \pm 0,80$ года); эта группа включала в себя 3 подгруппы, различающиеся по характеру распространения опухолевого процесса: больные без метастазов, с метастазами в региональных лимфатических узлах и с отдаленными метастазами. Во 2-ю группу вошли пациенты с РПЖ пожилого возраста ($69,49 \pm 0,82$ года), которая также имела 3 подгруппы в зависимости от степени метастатического поражения (без метастазов, с метастазами в региональных лимфатических узлах и с отдаленными метастазами).

Материалом для изучения служила венозная кровь. Кровь для исследования брали утром натощак в вакуумные пробирки с добавлением гепарина. В течение 30 мин производились процедура последовательного отмывания эритроцитарной массы и формирование мазков крови. Морфометрия и фотографирование клеток в полученных образцах выполнялись в растровом микроскопе FEI Quanta 200 3D. Помимо этого, клетки изучались с применением атомно-силового микроскопа (АСМ) Ntegra-Aura. Исследования проводили в режимах постоянного или прерывистого контактов. Обработку и построение АСМ-изображений выполняли, применяя программное обеспечение NOVA (НТ-МДТ, Россия) и ImageAnalysis (НТ-МДТ, Россия). Эритроциты в зависимости от размеров распределялись на 4 группы: микроциты (до 6,4 мкм), нормоциты (6,5–8,9 мкм), макроциты (9,0–10,9 мкм), мегалоциты

(>10,9 мкм). При описании морфологических характеристик эритроцитарная популяция составила следующие основные группы: 1) дискоциты; 2) переходные формы (способные к обратной трансформации): эллипсы; дискоциты с гребнем; плоские диски; дискоциты с выростом; дискоциты с множественными выростами; эритроциты в виде «тутовой ягоды»; 3) предгемолитические формы (с изменениями, носящими необратимый характер): куполообразные, сферические, в виде «спущенного мяча»; 4) дегенеративные формы.

В образцах сыворотки крови изучали концентрацию 7 наиболее часто используемых в диагностике серологических маркеров: фактор некроза опухоли- α (ФНО α), интерлейкин-12 (ИЛ12), фибробластический фактор роста (FGF); фактор роста эндотелия сосудов (VEGF); инсулиноподобный фактор роста (соматомедин) – IGF-1; опухолевая пируваткиназа типа M2 (TuM2Pk); простатоспецифический антиген – ПСА общий. Концентрацию маркеров определяли, применяя иммуноферментный анализ (ИФА) с использованием диагностических наборов фирмы Fujirebio Diagnostics (Швеция) и оборудования (ридер, вошер) фирмы StatFax (США). Полученные данные обрабатывали на персональном компьютере с последующим анализом результатов в программе Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ содержания эритроцитов показал, что во всех изучаемых группах больше всего было эритроцитов, с диаметром 6,5–8,9 мкм (нормоциты). В группе практически здоровых людей среднего возраста нормоциты составили $83,30 \pm 1,43\%$, пожилого возраста – $75,60 \pm 3,14\%$ (рис. 1), в пожилом возрасте при ДГПЖ – $63,70 \pm 3,62\%$, а у пациентов с РПЖ – $61,90 \pm 2,96\%$ (рис. 2). Содержание микроцитов у практически здоровых людей среднего возраста составило $16,30 \pm 1,52\%$, пожилого возраста – $23,30 \pm 3,28\%$, тогда как при заболеваниях ПЖ данный показатель был несколько выше. Так, в пожилом возрасте при ДГПЖ микроциты составили $35,9 \pm 3,7\%$, а при РПЖ – $34,40 \pm 3,71\%$. У практически здоровых людей среднего возраста содержание макроцитов было равно $0,40 \pm 0,14\%$; в пожилом возрасте: у практически здоровых людей – $1,10 \pm 0,28\%$, у пациентов с ДГПЖ – $0,40 \pm 0,14\%$, а при РПЖ – $3,70 \pm 1,35\%$. Наблюдалось также изменение среднего диаметра эритроцитов. В группе практически здоровых людей среднего возраста он был равен $7,10 \pm 0,04$ мкм, а у пожилых – $7,00 \pm 0,05$ мкм, в пожилом возрасте при ДГПЖ – $6,80 \pm 0,05$ мкм, при РПЖ – $6,80 \pm 0,06$ мкм.

В контрольной группе у лиц среднего возраста преобладали дискоциты – $88,67 \pm 2,44\%$. Содержание переходных форм, способных к обратной трансформации (эллипсы, дискоциты с гребнем, плоские диски, дискоциты с выростом, дискоциты с множественными выростами, эритроциты в виде «тутовой ягоды»), составило $11,00 \pm 2,39\%$, а содержание предгемолитических (необ-

ратимых) форм (куполообразные, сферические, в виде «спущенного мяча») – $0,17 \pm 0,17\%$ и столько же – дегенеративных форм (табл. 1).

Изучение морфологических характеристик эритроцитов в группе практически здоровых пациентов пожилого возраста показало следующее: дискоцитов – $86,67 \pm 0,80\%$ (рис. 3), переходных форм – $10,00 \pm 0,52\%$, предгемолитических – $3,00 \pm 0,37\%$ и дегенеративных форм – $0,33 \pm 0,21\%$. Количество обратимо измененных эритроцитов повышалось преимущественно за счет дискоцитов с множественными выростами ($8,17 \pm 0,31\%$). В данной группе встречались также единичные куполообразные эритроциты и эритроциты в виде «тутовой ягоды» и «спущенного мяча» (см. табл. 1).

Оценка морфологического состояния эритроцитов у пожилых пациентов с ДГПЖ выявила количественное изменение распределения клеточных форм в сравнении

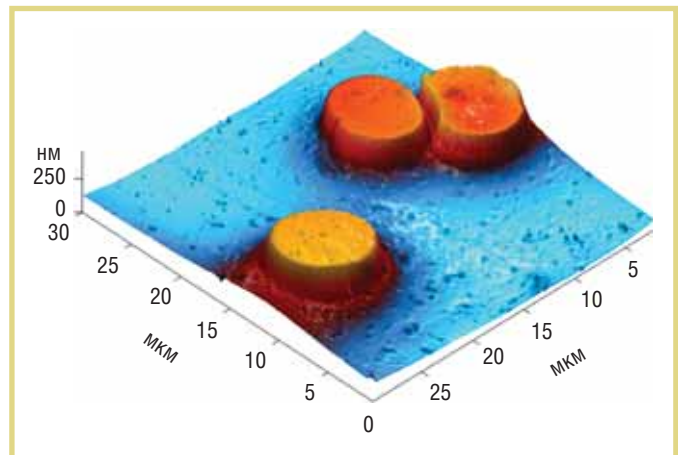


Рис. 1. Эритроциты у практически здоровых людей; наблюдаются преимущественно нормоциты; АСМ; трехмерная гистограмма

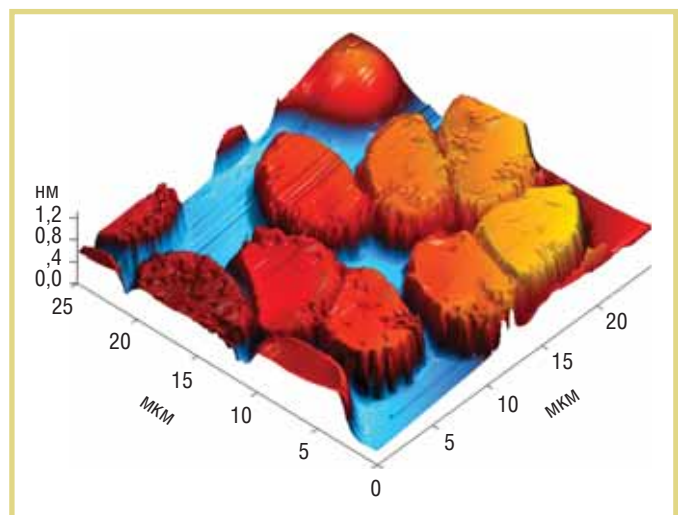


Рис. 2. Эритроциты у пациентов с РПЖ; наблюдаются преимущественно нормоциты; клетки сладжированы; форма клеток изменена, отмечается нарушение вогнутости эритроцитов; АСМ; трехмерная гистограмма

Таблица 1

Частота встречаемости морфологических форм эритроцитов при патологии ПЖ (M±m)

Морфологические формы эритроцитов, %	Практически здоровые люди		Больные с ДГПЖ пожилого возраста (64,50±2,91 года)	Больные с РПЖ пожилого возраста (67,80±2,56 года)
	среднего возраста (44,5±2,0 года)	пожилого возраста (64,7±1,84 года)		
Дискоциты	88,67±2,44	86,67±0,80	81,67±1,20*, **, ++	71,67±2,53*, **, +
Обратно измененные (переходные)	11,00±2,39	10,00±0,52	15,00±1,15**, ++	23,17±1,89*, **, +
Необратно измененные (предгемолитические)	0,17±0,17	3,00±0,37*	2,50±0,56*	4,00±0,77*
Дегенеративные	0,17±0,17	0,33±0,21	0,83±0,31	1,17±0,48

Примечание. Достоверность различий: * – с группой практически здоровых людей среднего возраста; ** – с группой практически здоровых людей пожилого возраста; + – с группой больных с ДГПЖ; ++ – с группой пожилых РПЖ; везде p<0,05.

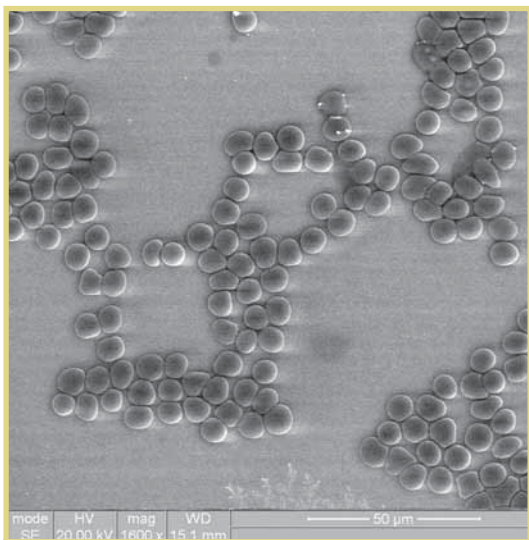


Рис. 3. Эритроциты у практически здоровых людей; наблюдаются преимущественно дискоциты; растровая электронная микроскопия (РЭМ), ×100

с таковым в контрольных группах. На фоне снижения количества дискоцитов (81,67±1,20%) отмечалось повышение количества обратно измененных форм – 15,00±1,15% (см. табл. 1). Содержание предгемолитических форм составило 2,50±0,56%, в данной подгруппе наблюдалось увеличение количества эритроцитов сферической формы (1,50±0,34%). На долю дегенеративных форм пришлось 0,83±0,31%. Увеличение содержания переходных групп эритроцитов было обусловлено нарастанием содержания дискоцитов с множественными выростами (13,17±1,33%). Помимо этого, четко прослеживалось сглаживание рельефа клеток при РПЖ.

Детальный анализ архитектоники эритроцитов в группе пожилых пациентов с РПЖ отражал морфологическую неоднородность эритроцитарной популяции. Наблюдалось снижение количества дискоцитов (71,67±2,53%) и увеличение количества эритроцитов переходных форм (23,17±1,89%) в сравнении с таковыми у практически здоровых людей. При этом содержание предгемолитических форм составило 4,00±0,77%, а дегенеративных – 1,17±0,48%. Увеличение в данной группе количества обратно измененных эритроцитов было обусловлено ростом количества дискоцитов с множественными выростами (21,00±1,86%; рис. 4, 5).

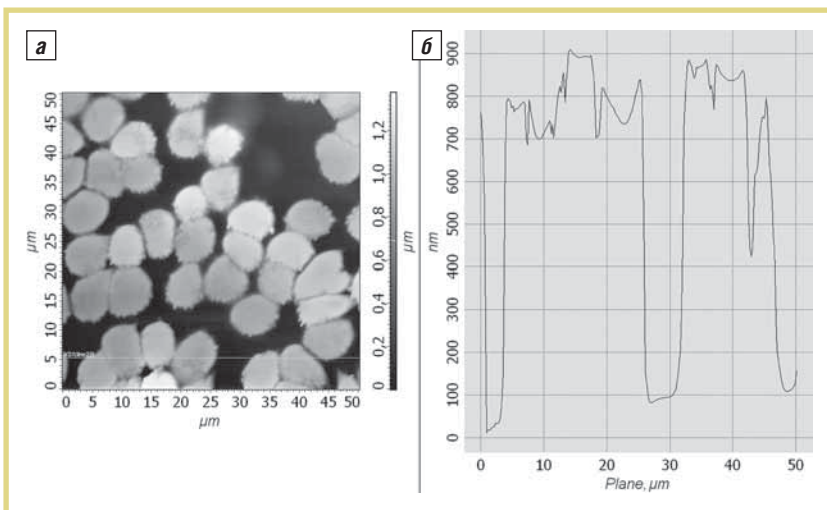


Рис. 4. Эритроциты в группе пациентов с РПЖ; наблюдаются преимущественно нормоциты вытянутой формы, среди которых увеличено содержание эритроцитов с множественными выростами; клетки сладжированы; АСМ; а – двухмерная гистограмма; б – графическое изображение размеров клеток

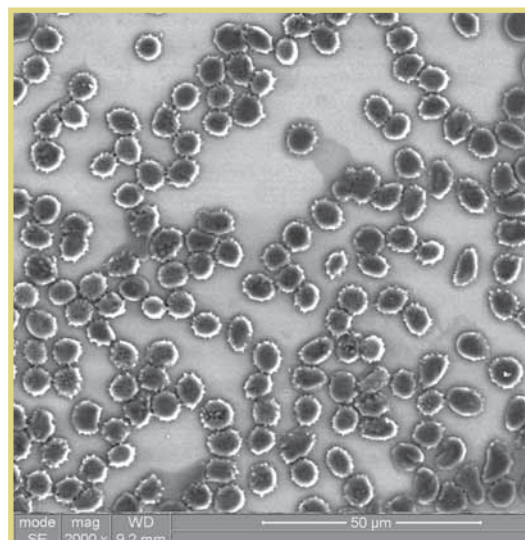


Рис. 5. Эритроциты у больных РПЖ, наблюдаются преимущественно эритроциты с множественными выростами; РЭМ, ×500

ИФА показал, что у мужчин среднего возраста с РПЖ без метастазов содержание основных опухоль-ассоциированных маркеров в плазме было равно: TuM2Pк – 24,29±0,45 Ед/мл, ИЛ12 – 59,37±1,01 пг/мл, FGF – 102,71±3,13 пг/мл, VEGF – 260,13±12,48 пг/мл, IGF-1 – 173,59±2,01 пг/мл, ФНОα – 109,12±2,81 пг/мл, ПСА общий – 43,31±1,47 нг/мл (табл. 2). У лиц этой возрастной группы с метастазами в региональных лимфатических узлах наблюдалось достоверное ($p<0,01$) увеличение всех исследуемых величин; при отдаленных метастазах также было достоверно ($p<0,01$) повышено содержание всех изучаемых маркеров в сравнении с таковым как у пациентов с отсутствием метастазов, так и с метастазами в региональных лимфатических узлах. При этом содержание ФНОα составило 173,28±2,47 пг/мл, ИЛ12 – 90,09±1,06 пг/мл, TuM2Pк – 31,91±0,67 Ед/мл, а общего ПСА – 127,13±4,21 нг/мл. Концентрация FGF достигала 144,23±1,54 пг/мл, VEGF – 576,79±14,24 пг/мл, а IGF-1 – 234,85±2,98 пг/мл.

Результаты изучения серологических биомаркеров в группе пациентов пожилого возраста с РПЖ представлены в табл. 3.

У пожилых больных РПЖ без метастазов концентрация ФНОα, TuM2Pк и общего ПСА была достоверно ($p<0,01$) выше, чем у пациентов среднего возраста с РПЖ без метастазов, а содержание ИЛ12 и FGF – достоверно ($p<0,01$) ниже, чем у пациентов среднего возраста с РПЖ всех групп.

У пожилых пациентов с наличием метастазов в региональных лимфатических узлах в сравнении с больными РПЖ без метастазов той же возрастной группы изучаемые показатели, за исключением IGF-1, были достоверно ($p<0,01$) выше. Содержание ФНОα и TuM2Pк было достоверно ($p<0,01$) выше, чем у лиц среднего возраста с метастазами в региональных лимфатических узлах, концентрация FGF и IGF-1 – достоверно ($p<0,01$) ниже, а показатель общего ПСА – достоверно ($p<0,01$) выше.

Исследование плазмы крови у пациентов пожилого возраста с диагностированным РПЖ и наличием отдаленных метастазов выявило следующие показатели

биомаркеров: ФНОα – 196,55±2,46 пг/мл, ИЛ12 – 74,25±1,08 пг/мл, FGF – 126,23±1,75 пг/мл, VEGF – 499,81±12,98 пг/мл, IGF-1 – 214,68±20,52 пг/мл, TuM2Pк – 34,66±0,55 Ед/мл, ПСА общий – 142,51±4,77 нг/мл. У этих больных в сравнении с больными РПЖ без метастазов и с метастазами в региональных лимфатических узлах были достоверно ($p<0,01$) выше все изучаемые показатели, за исключением IGF-1, в сравнении с группой лиц среднего возраста с отдаленными метастазами содержание ФНОα и TuM2Pк было достоверно ($p<0,01$) выше, а концентрация ИЛ12, FGF и VEGF – ниже.

Таблица 2

Содержание основных опухоль-ассоциированных маркеров при РПЖ у людей среднего возраста ($M\pm m$)

Показатель	Больные с РПЖ		
	без метастазов	с метастазами в региональных лимфатических узлах	с отдаленными метастазами
Возраст, годы	43,8±0,79	44,21±0,83	45,00±0,78
TuM2Pк, Ед/мл	24,29±0,45	27,16±0,58*	31,91±0,67*,**
ИЛ12, пг/мл	59,37±1,01	67,13±2,03*	90,09±1,06*,**
FGF, пг/мл	102,71±3,13	125,94±1,74*	144,23±1,54*,**
VEGF, пг/мл	260,13±12,48	387,42±8,85*	576,79±14,24*,**
IGF-1, пг/мл	173,59±2,01	192,41±1,68*	234,85±2,98*,**
ФНОα, пг/мл	109,12±2,81	143,33±2,62*	173,28±2,47*,**
ПСА общий, нг/мл	43,31±1,47	80,43±4,35*	127,13±4,21*,**

Примечание. Достоверность различий: * – с группой больных РПЖ без метастазов; ** – с группой больных РПЖ с метастазами в региональных лимфатических узлах; везде – $p<0,01$.

Таблица 3

Содержание основных опухоль-ассоциированных маркеров при РПЖ у людей пожилого возраста ($M\pm m$)

Показатель	Больные РПЖ пожилого возраста		
	без метастазов	с метастазами в региональных лимфатических узлах	с отдаленными метастазами
Возраст, годы	69,33±0,78	69,15±0,74	70,00±0,93
TuM2Pк, Ед/мл	45,98±0,95*,**,***	58,61±2,28***,+	74,25±1,08*,***,+,++
ИЛ12, пг/мл	86,29±1,95*,**,***	107,38±1,64***,***,+	126,23±1,75*,***,+,++
FGF, пг/мл	221,95±15,68*,**,***	357,35±10,30*,***,+	499,81±12,98*,**,***,+,++
VEGF, пг/мл	210,47±72,31	167,22±2,33***,***	214,68±20,52
IGF-1, пг/мл	146,33±2,48*,**,***	175,02±3,06*,**,***,+	196,55±2,46*,**,***,+,++
ФНОα, пг/мл	57,96±2,19*,**,***	101,68±4,27*,**,***,+	142,51±4,77*,**,***,+,++
ПСА общий, нг/мл	28,00±0,40*,**,***	31,42±0,56*,**,***,+	34,66±0,55*,**,***,+,++

Примечание. Достоверность различий: * – с группой больных РПЖ среднего возраста без метастазов; ** – с группой больных РПЖ среднего возраста с метастазами в региональных лимфатических узлах; *** – с группой больных РПЖ среднего возраста с отдаленными метастазами; + – с группой больных РПЖ пожилого возраста без метастазов; ++ – с группой больных РПЖ пожилого возраста с метастазами в региональных лимфатических узлах; везде – $p<0,05$.

При сравнении морфометрических показателей эритроцитов выявлено, что у практически здоровых лиц пожилого возраста в отличие от лиц среднего возраста увеличен процент предгемолитических форм эритроцитов. Данный показатель увеличен и у пожилых пациентов с заболеваниями ПЖ. Кроме того, у пожилых людей с поражением ПЖ уменьшено содержание дискоцитов и увеличено количество переходных форм эритроцитов в сравнении с таковыми у лиц контрольной группы того же возраста. Изменение процентного соотношения объясняется выраженным повышением содержания дискоцитов с множественными выростами.

При сравнении показателей пациентов с РПЖ пожилого и среднего возраста, не имеющих метастазов, обнаружено, что у пожилых пациентов выше уровень TuM2Pк, ФНО α и общего ПСА, а концентрация ИЛ12 и FGF – ниже. У пожилых пациентов с метастазами в региональных лимфатических узлах концентрация TuM2Pк, ФНО α и общего ПСА, выше, чем у пациентов среднего возраста, а содержание FGF и IGF-1 – ниже. У пожилых больных РПЖ с отдаленными метастазами концентрация TuM2Pк и ФНО α выше, а содержание ИЛ12, FGF, VEGF и IGF-1 – ниже, чем у аналогичной группы больных среднего возраста.

При диагностированном РПЖ у пациентов разных возрастных групп концентрация в плазме крови TuM2Pк, ИЛ12, FGF, VEGF, ФНО α и общего ПСА увеличивалась по мере распространения опухолевого процесса.

* * *

Конфликт интересов не заявлен.

Литература/Reference

1. Мамаева С.Н., Мунхалова Я.А., Кононова И.В. и др. Исследование эритроцитов крови методом растровой электронной микроскопии // Вестник Мордовского университета. – 2016; 26 (3): 381–90 [Мамаева С.Н., Munkhalova Ya.A., Kononova I.V. et al. Study of red blood cells by scanning electron microscopy method // Bulletin of Mordovia University. – 2016; 26 (3): 381–90 (in Russ.)].

2. Боровская М.К., Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г. и др. Структурно-функциональная характеристика мембраны эритроцита и ее изменения при патологиях разного генеза // Бюллетень ВШЦ СО РАМН. – 2010; 3 (73): 334–54 [Borovskaya M.K., Kuznetsova E.E., Gorokhova V.G. et al. Structural and functional characteristics of the erythrocyte membrane and its changes in pathologies of different genesis // Bulletin of the East-Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences. – 2010; 3 (73): 334–54 (in Russ.)].

3. Nicolson G. The Fluid–Mosaic Model of Membrane Structure: Still relevant to understanding the structure, function and dynamics of biological membranes after more than 40 years // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes. – 2014; 1838 (6): 1451–66.

4. Сергеева Н.С., Маршутина Н.В. Общие представления осерологических-биомаркерах и их месте в онкологии // Практическая онкология. – 2011; 12 (4): 147–54 [Sergeeva N.S., Marshutina N.V. General concepts of serological biomarkers and their place in oncology // Practical Oncology. – 2011; 12 (4): 147–54 (in Russ.)].

5. Wu L., Gomes A., Sinclair D. Geroncogenesis: metabolic changes during aging as a driver of tumorigenesis // Cancer Cell. – 2014; 25 (1): 12–9.

6. Мерабишвили В.М. Возрастные риски возникновения рака (аналитические показатели учета и ранней диагностики) // Успехи геронтологии. – 2017; 30 (6): 818–25 [Merabishvili V.M. Age-related risks of cancer (analytical indicators of accounting and early diagnosis) // Successes of gerontology. – 2017; 30 (6): 818–25 (in Russ.)].

BLOOD CLINICAL AND MORPHOLOGICAL PARAMETERS IN PROSTATE CANCER IN OLD AGE

Professor **T. Pavlova**¹, MD; Professor **V. Kulikovskiy**¹, MD; Professor **K. Proshchaev**², MD; **I. Pavlov**¹, Candidate of Medical Sciences; **M. Chaplygina**¹
¹Belgorod State National Research University
²Gerontology Research Medical Center, Moscow

Electron scanning microscopy and enzyme immunoassay were used to conduct a comprehensive study of blood characteristics in elderly patients with prostate cancer (PC). A total of 110 people divided into groups and subgroups, differing in age and nature of the extent of a tumor process, were examined. In apparently healthy elderly patients, the percentage of prehemolytic forms of erythrocytes were shown to be higher than that in middle-aged people. The elderly, also those with prostate pathology, versus the control group of the same age had lower content of discocytes, higher frequency of transitional forms of red blood cells, and their decreased average diameter. Tendencies toward changes in the concentration of biomarkers (TuM2Pк, interleukin-12, FGF, VEGF, tumor necrosis factor- α , and total prostate-specific antigen I) were also determined in elderly people with varying tumor extents in PC.

Key words: oncology, erythrocytes, prostate cancer, scanning electron microscopy, atomic force microscopy, tumor-associated markers.

For citation: Pavlova T., Kulikovskiy V., Proshchaev K. et al. Blood clinical and morphological parameters in prostate cancer in old age // *Vrach.* – 2019; 30 (6): 72–76. <https://doi.org/10.29296/25877305-2019-06-17>