



НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ

ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ І РАДІОБІОЛОГІЇ ім. Р.Є. КАВЕЦЬКОГО



## РОБОТА

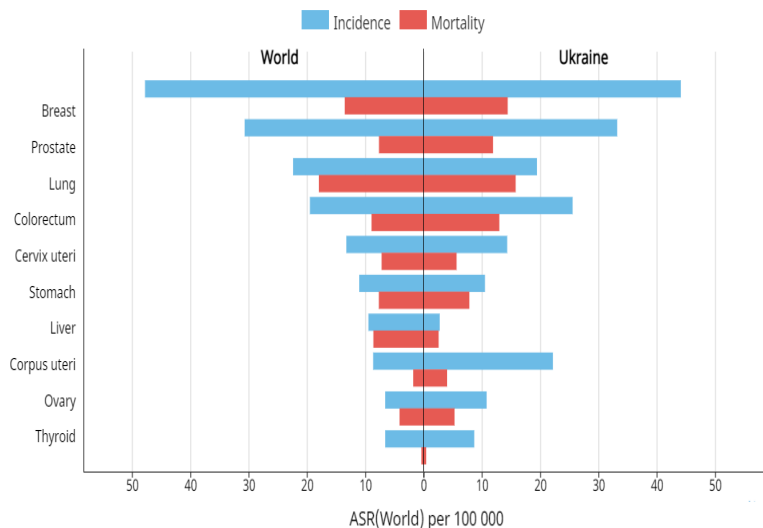
### НА ЗДОБУТТЯ ПРЕМІЇ ПРЕЗИДЕНТА УКРАЇНИ ДЛЯ МОЛОДИХ ВЧЕНИХ

# ІДЕНТИФІКАЦІЯ ПАНЕЛЕЙ БІОМАРКЕРІВ ДЛЯ ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ РАКУ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ ВИСОКОГО РИЗИКУ ПРОГРЕСІЇ

#### Автори:

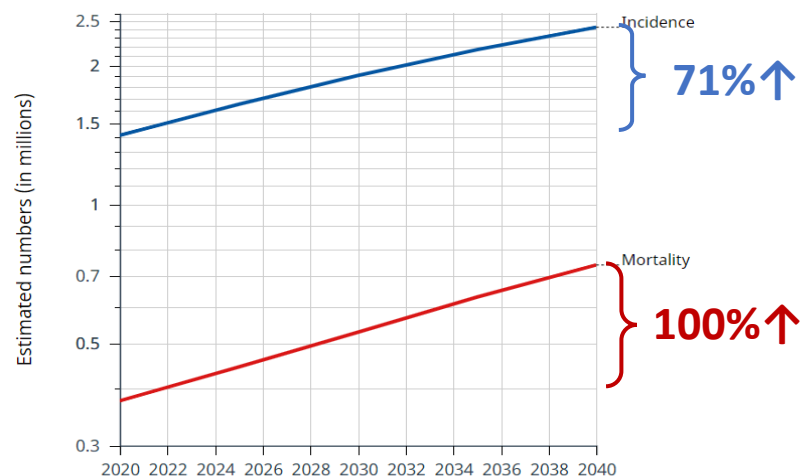
н.с. лабораторії механізмів медикаментозної  
резистентності, к.б.н. ЗАДВОРНИЙ Тарас  
аспірант відділу механізмів моніторингу пухлинного  
процесу та дизайну терапії ТИМОШЕНКО Андрій

## Показники захворюваності на рак в Україні та світі

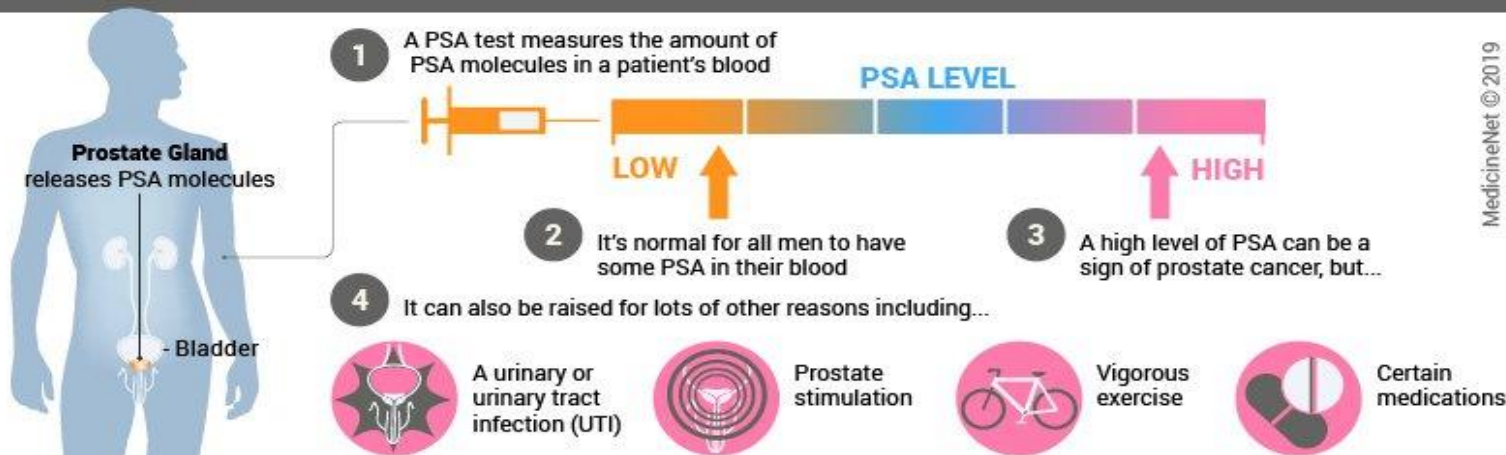


Data source: GLOBOCAN 2020  
 Graph production: Global Cancer Observatory (<http://gco.iarc.fr/>)  
 © International Agency for Research on Cancer 2021

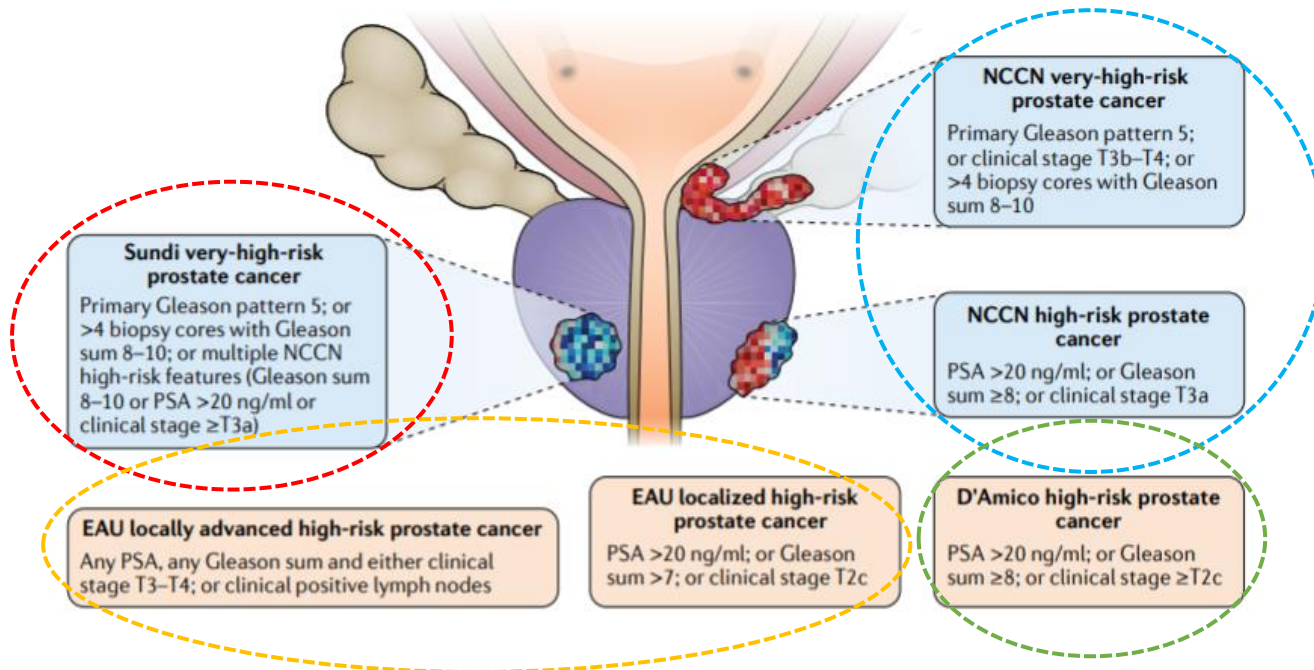
## Прогнозовані показники захворюваності на РПЗ та смертності від цієї онкопатології в світі до 2040р.



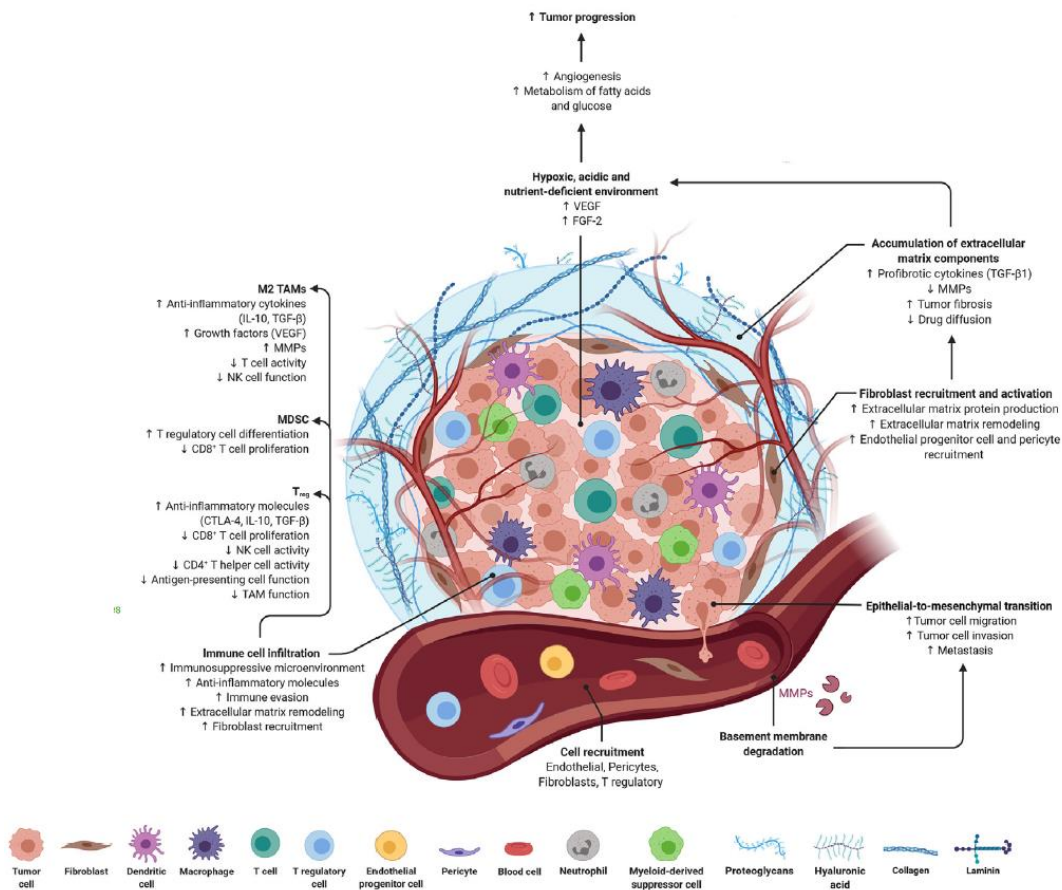
## Common Procedure | PSA Blood Test



# Стратифікація лікування раку передміхурової залози



# Роль пухлинного мікрооточення в прогресії злоякісних новоутворень



## Реактивне пухлинне мікрооточення

### Клітинні елементи

(макрофаги, фібробласти, лімфоцити і т.д.)

### Компоненти екстрацелюлярного матриксу

(колагенові та еластинові волокна і т.д.)

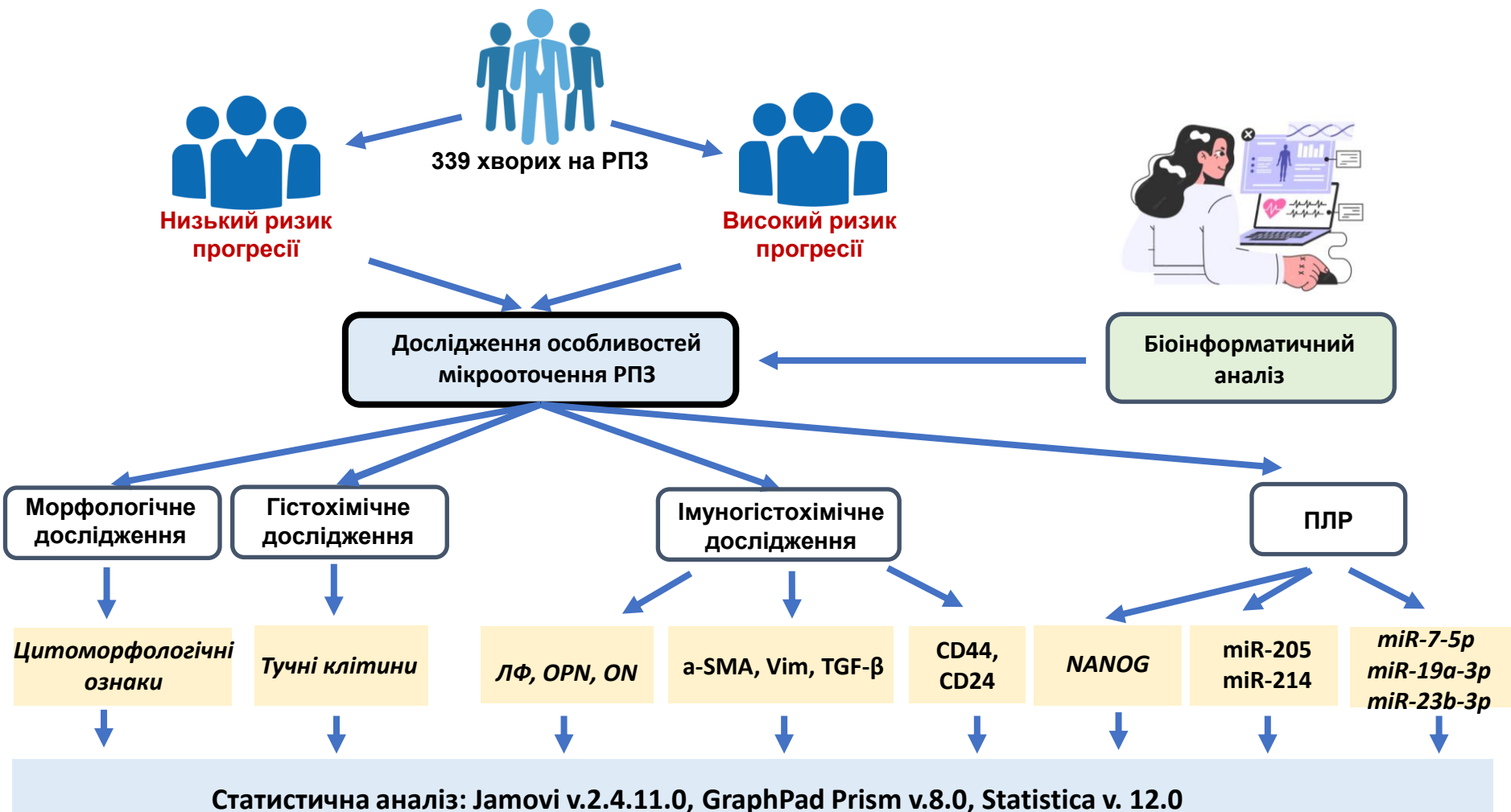
### Регуляторні молекули

(цитокіни, фактори росту, мікроРНК і т.д.)

**Взаємодія компонентів - ?**  
**Прогностичне значення - ?**

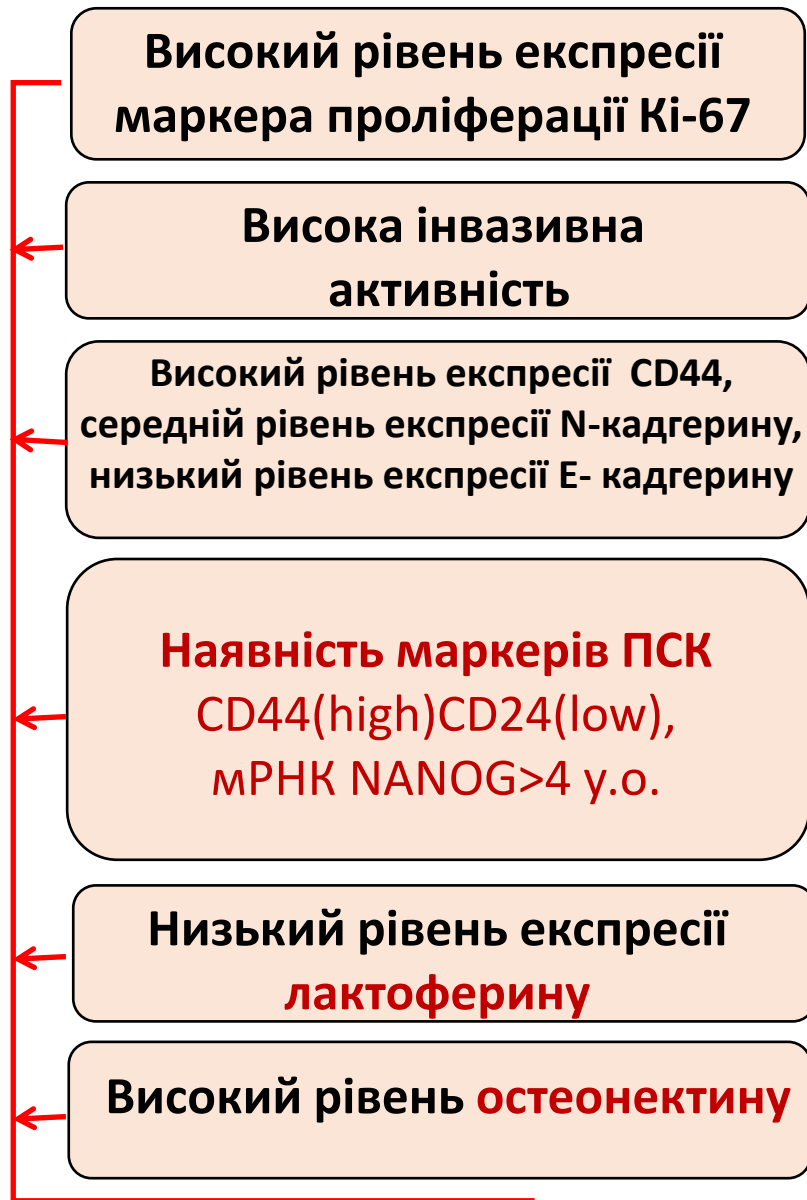
**Мета:** дослідити молекулярно-генетичні та епігенетичні особливості пухлинного мікрооточення та ідентифікувати панелі біомаркерів для прогнозування перебігу раку передміхурової залози високого ризику прогресії

## Дизайн дослідження



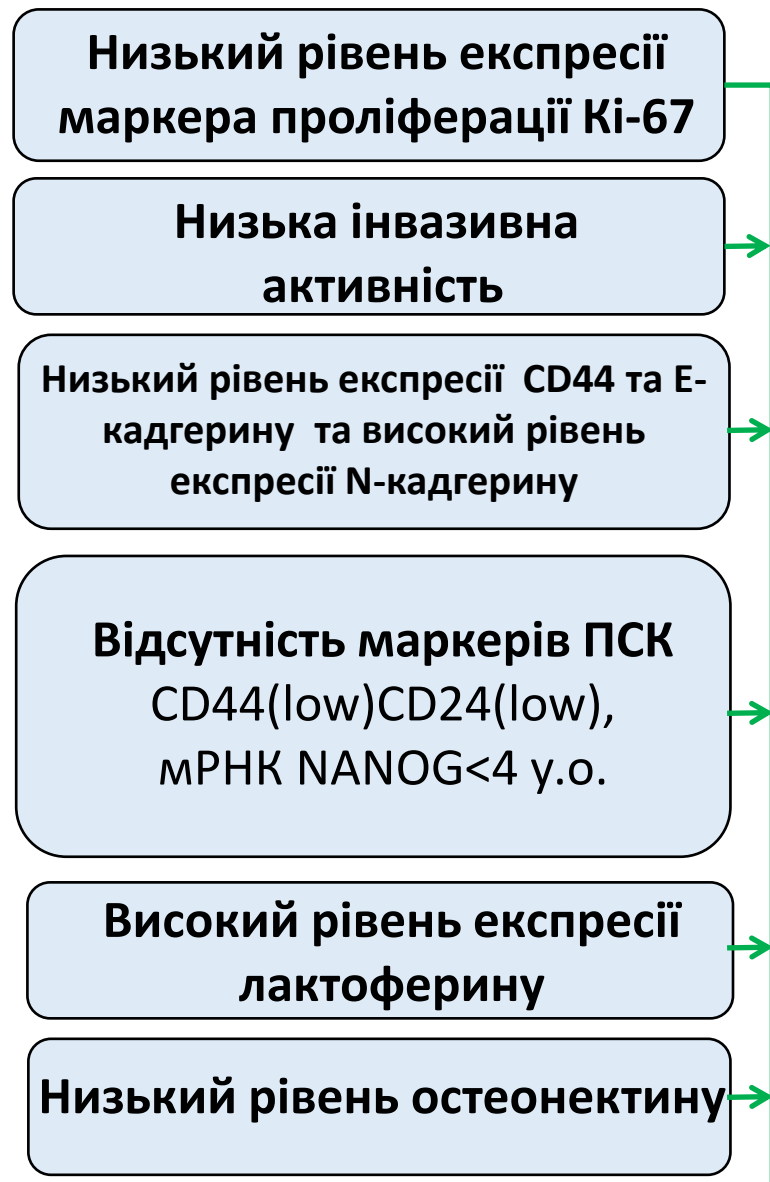
DU-145

**Високий ступінь злякисності**

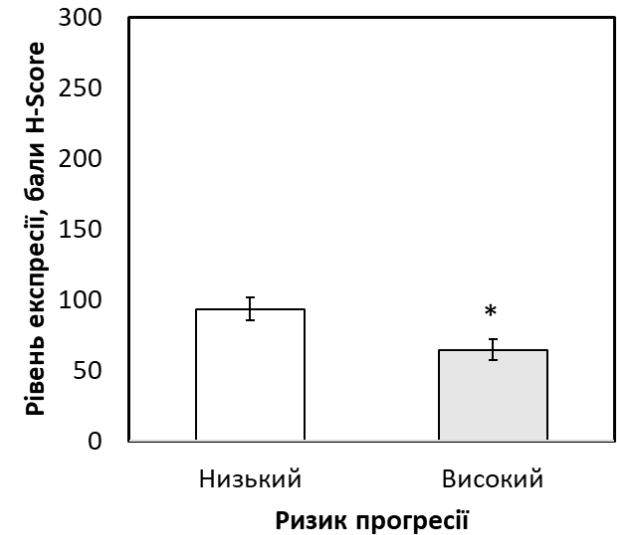
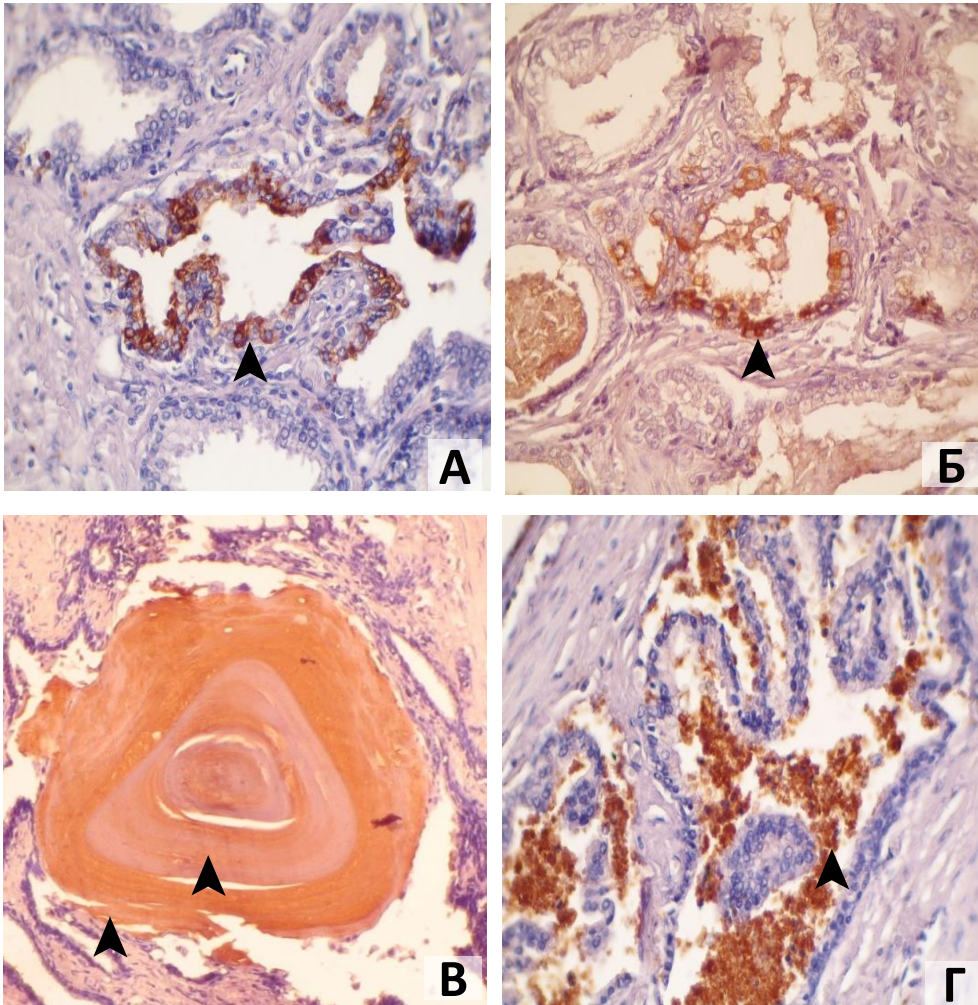


LNCaP

**Низький ступінь злякисності**



# Зв'язок експресії лактоферину у пухлинній тканині хворих з різним ризиком прогресії РПЗ

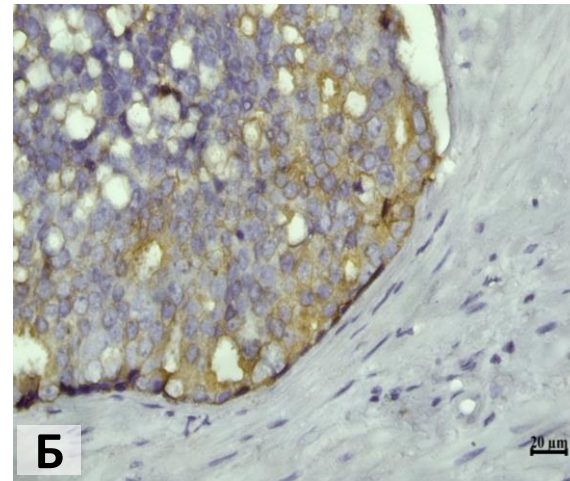
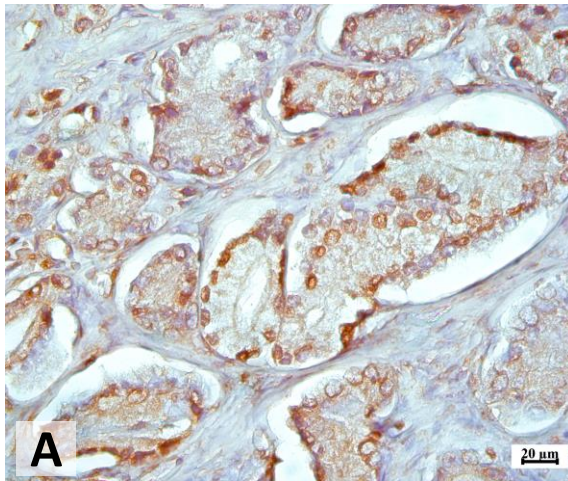
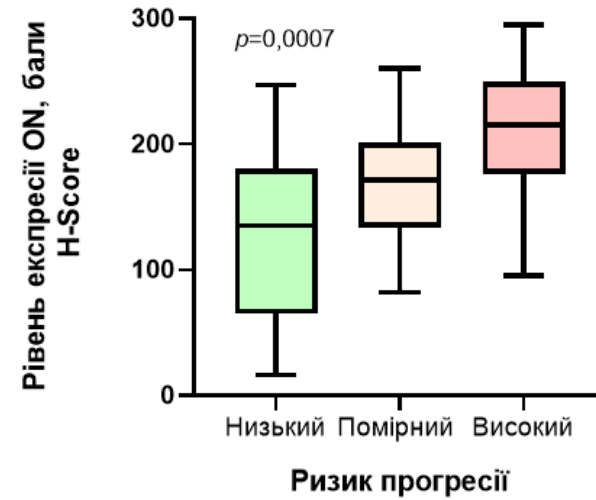
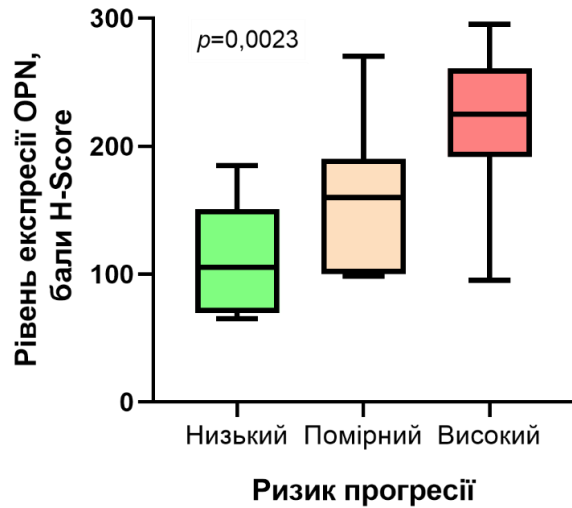


Примітка: \* – різниця у показниках достовірна ( $p < 0,05$ ).

**Експресія лактоферину в:** А, Б - в тканині РПЗ ( $\times 200$ ); В - в *corpora atylase* ( $\times 100$ ); Г - в інфільтруючих пухлинну тканину нейтрофілах ( $\times 200$ );  
**Імуногістохімічний метод, хромоген 3-діамінобензидин тетрахлориду.**  
**Дофарбовування гематоксилином.**

Chekhun V. F., Lukianova N. Yu, Polishchuk L. Z., Nalieskina L. A., Zadvornyi T. V., Storchai D. M., Todor I. N., Sobchenko S. O., Demash D. V., Yalovenko T. M., Borikun T. V., Lozovska Yu. V., Vitruk Yu. V., Chepuraty M. V., Pikul M. V., Stakhovsky O. E., Voilenko O. A., Stakhovsky E. O. Chapter 3. The role of lactoferrin expression in initiation and progression of most common hormone-dependent cancers. Horizons in Cancer Research. 2017, 66(3):51-85.

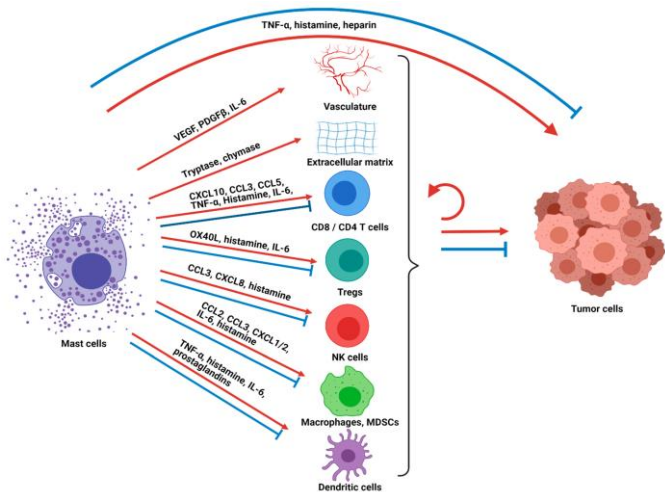
# Зв'язок експресії остеопонтину (OPN) та остеонектину (ON) у пухлинній тканині хворих з різним ризиком прогресії РПЗ



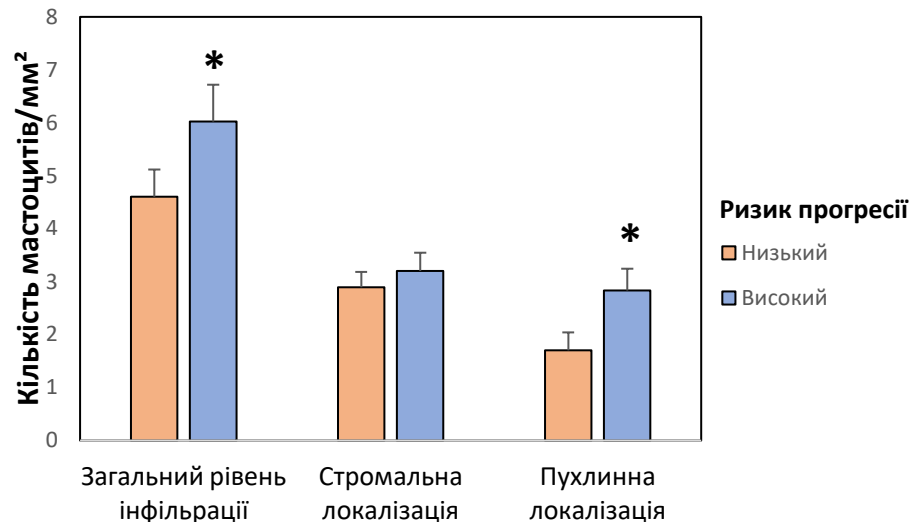
Експресія OPN (А) та ON (Б) в тканині РПЗ. Імуногістохімічний метод, дофарбовування гематоксиліном.  $\times 400$ .



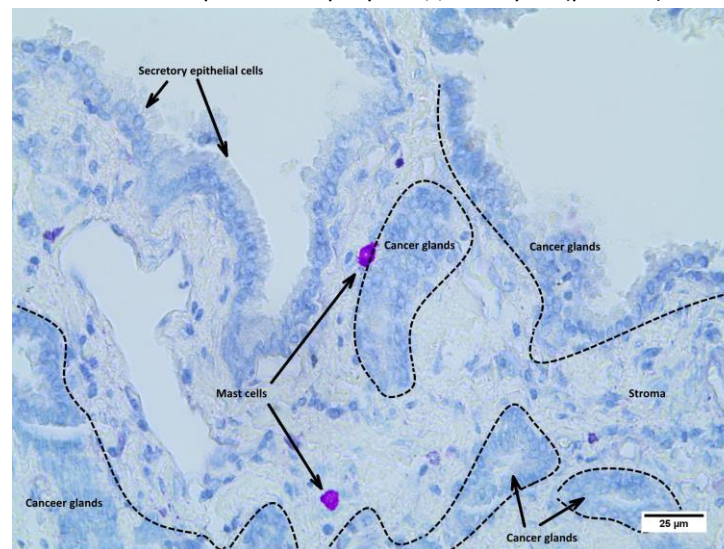
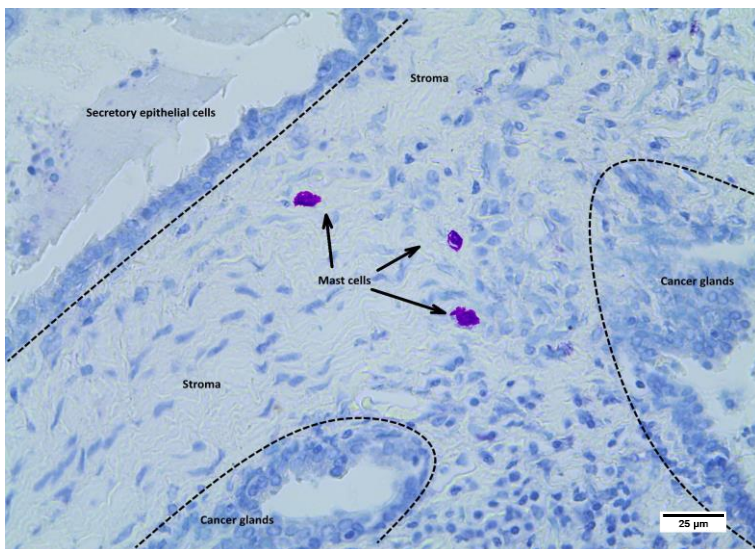
# Рівень інфільтрації та топологія мастоцитів у пухлинній тканині хворих з різним ризиком прогресії РПЗ



Lichterman JN, Reddy SM. Mast cells: A new frontier for cancer immunotherapy. *Cells* 2021; 10(6): 1270.



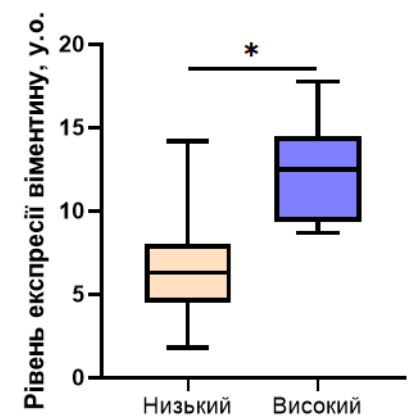
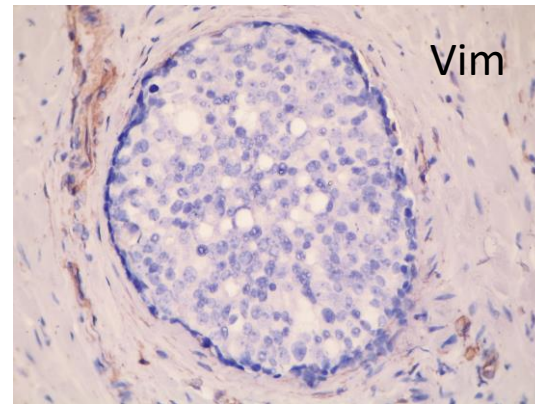
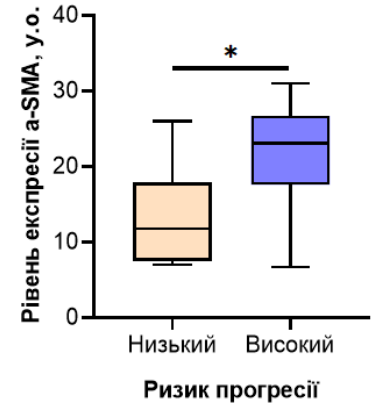
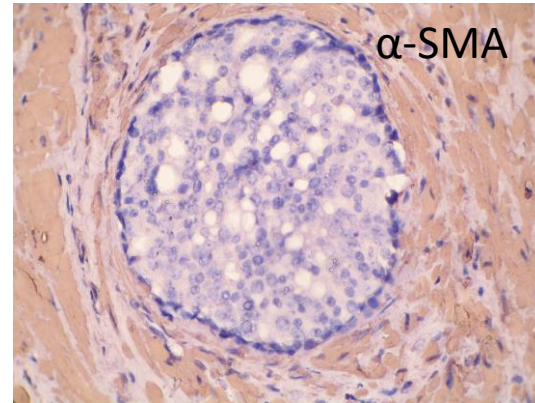
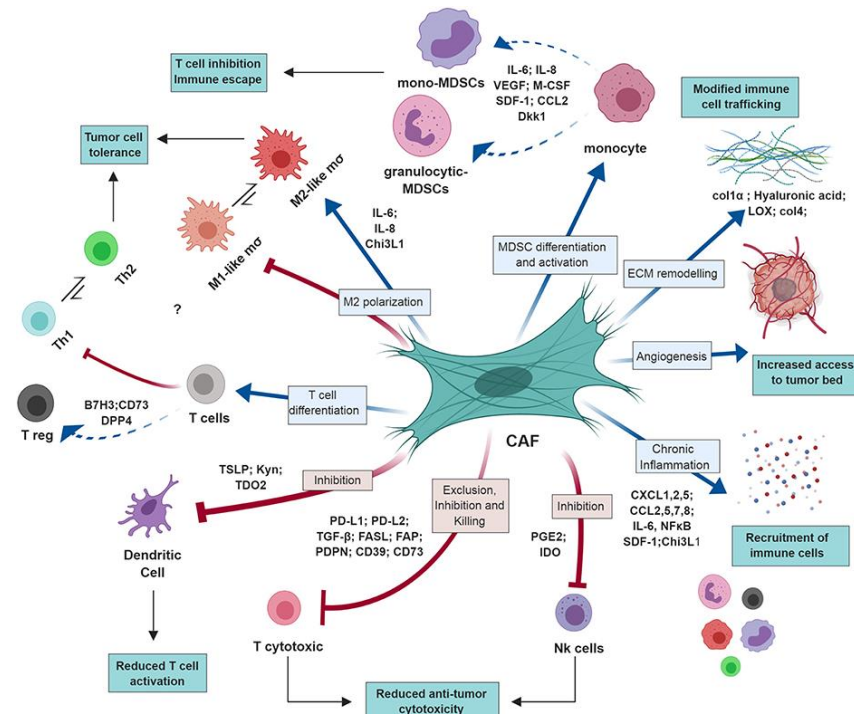
Примітка: \* – різниця у порівнянні з показниками хворих із низьким ризиком прогресії достовірна ( $p < 0,05$ ).



**Інфільтрація мастоцитами РПЗ.  $\times 400$ ; Гістохімічний метод, зафарбування толуїдиновим синім**

# Зв'язок експресії $\alpha$ -SMA та віментину у пухлинній тканині хворих з різним ризиком прогресії РПЗ

## Роль пухлинно-асоційованих фіброblastів у пухлинній прогресії



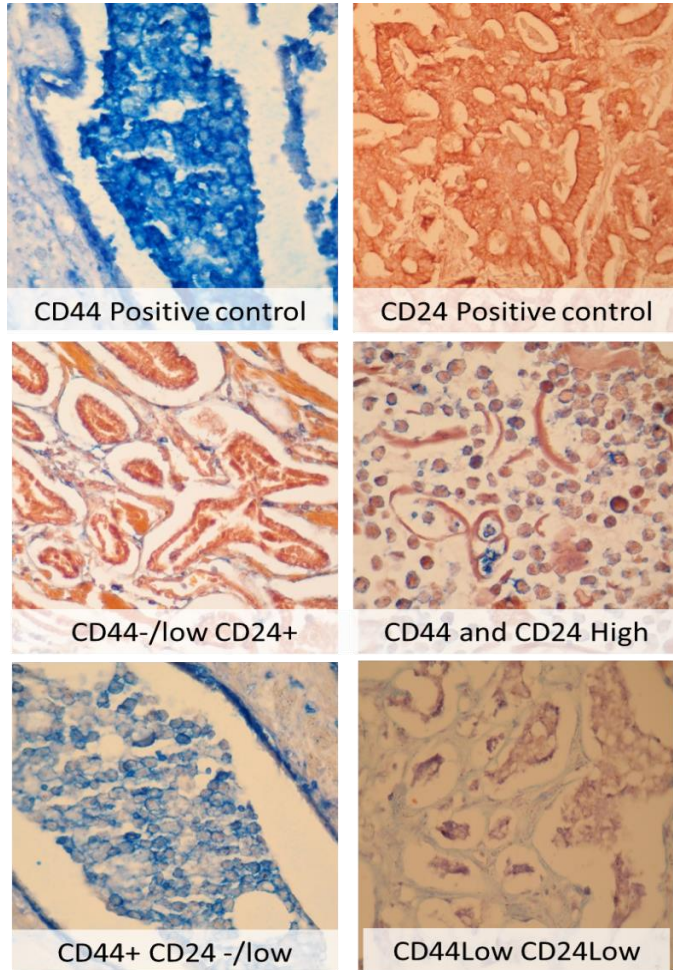
**Експресія  $\alpha$ -SMA та віментину в тканині РПЗ. Імуногістохімічний метод, дофарбовування гематоксиліном.  $\times 400$ .**

Примітка: \* – різниця у показниках достовірна ( $p < 0,05$ ).

Monteran L, Erez N. The dark side of fibroblasts: cancer-associated fibroblasts as mediators of immunosuppression in the tumor microenvironment. *Frontiers in immunology* 2019; 1835.

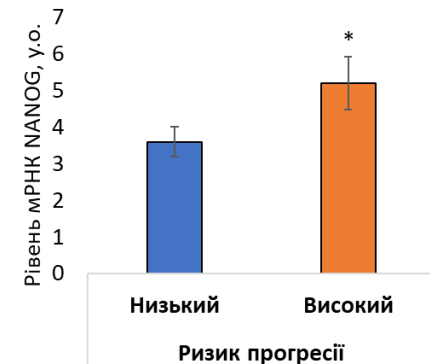
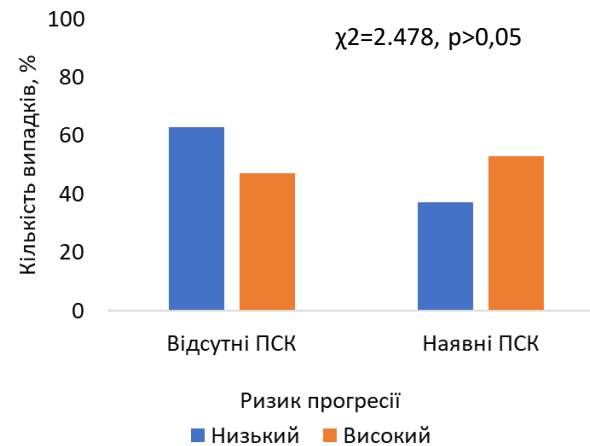
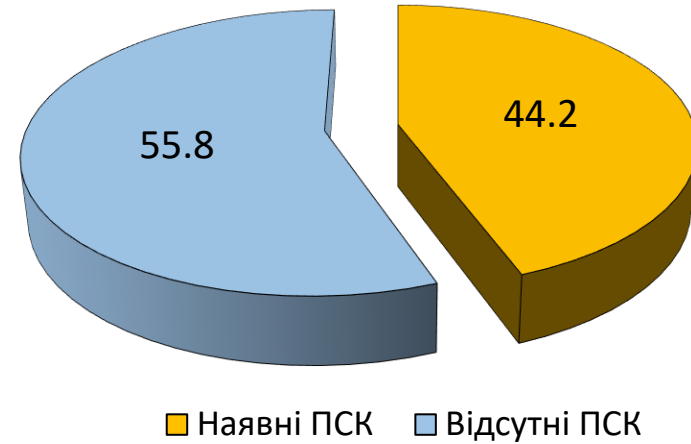
Zadvornyi T, Lukianova N, Borikun T, Chekhun V. The features of the tumor microenvironment in patients with prostate cancer with different risk progression. *J Clin Invest.* 2022; 52: 140: 6ASM-0005 doi:10.1111/eci.13796

# Зв'язок експресії маркерів пухлинних стовбурових клітин у тканині РПЗ із ризиком прогресії пухлинного процесу

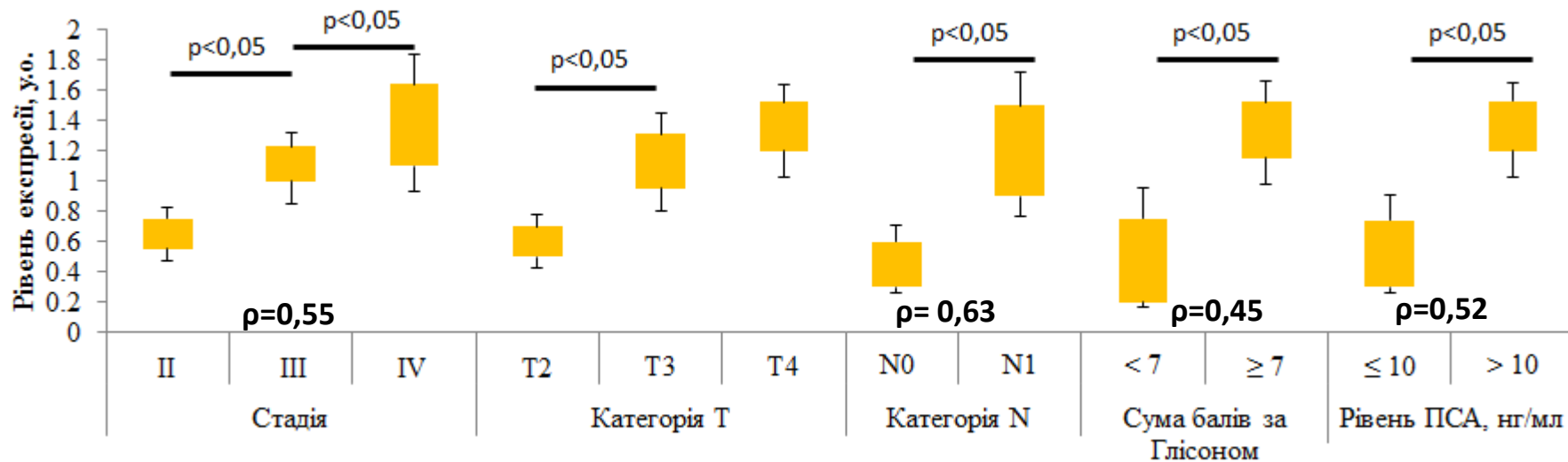
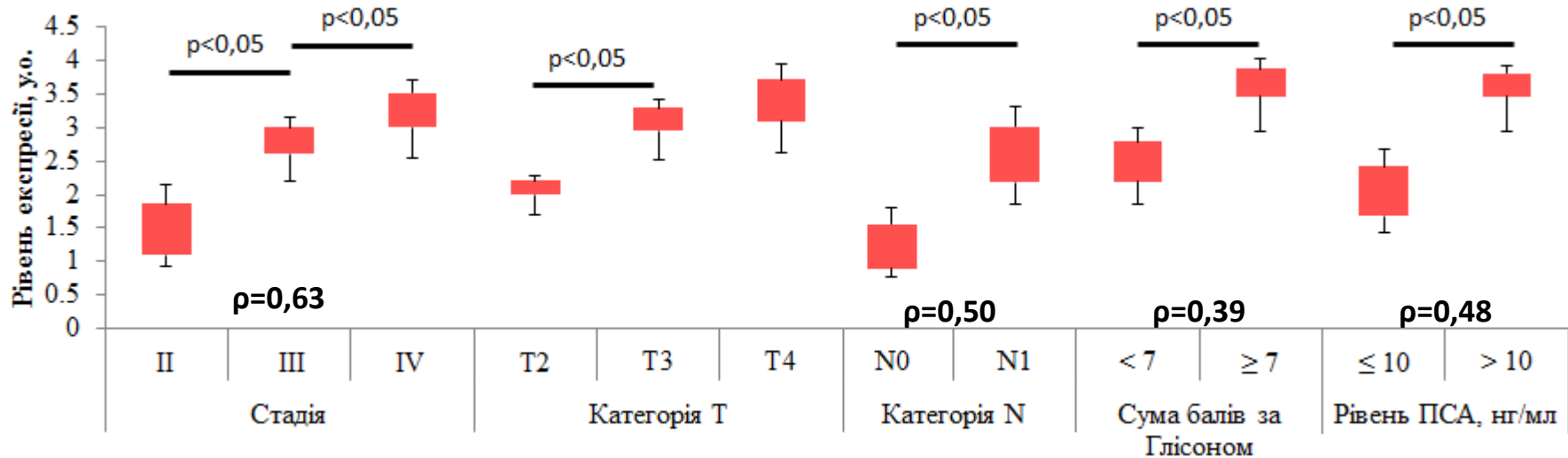


Експресія маркерів ПСК - CD44 (синій) та CD24 (червоний). Подвійна мітка. Імуногістохімія. Зб. х400.

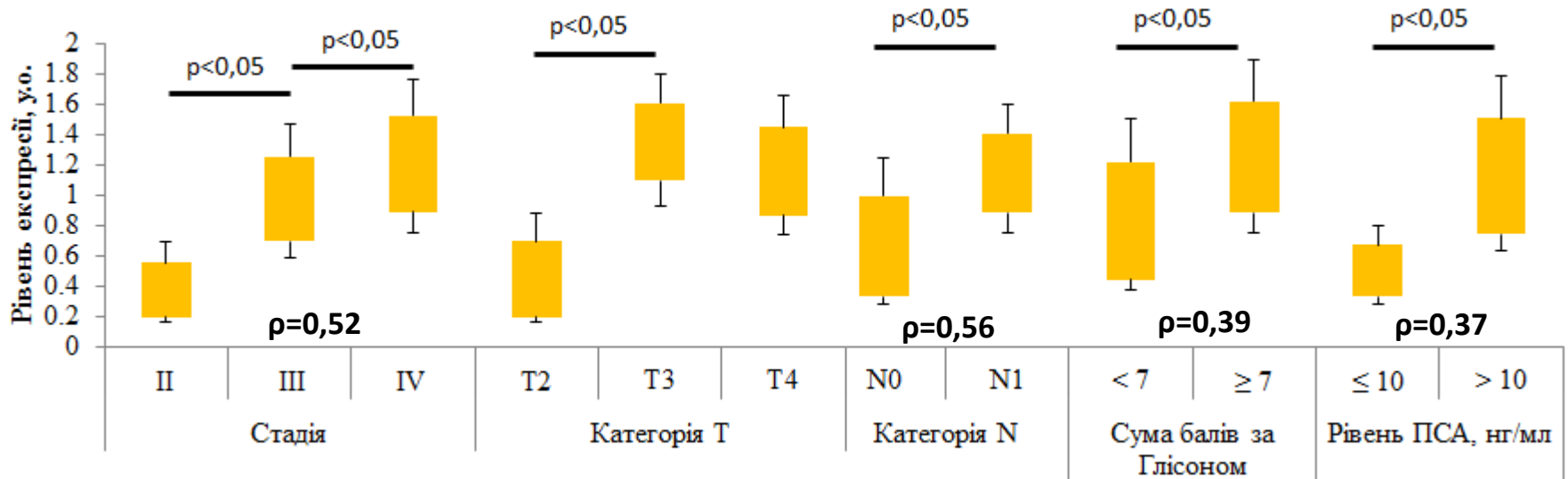
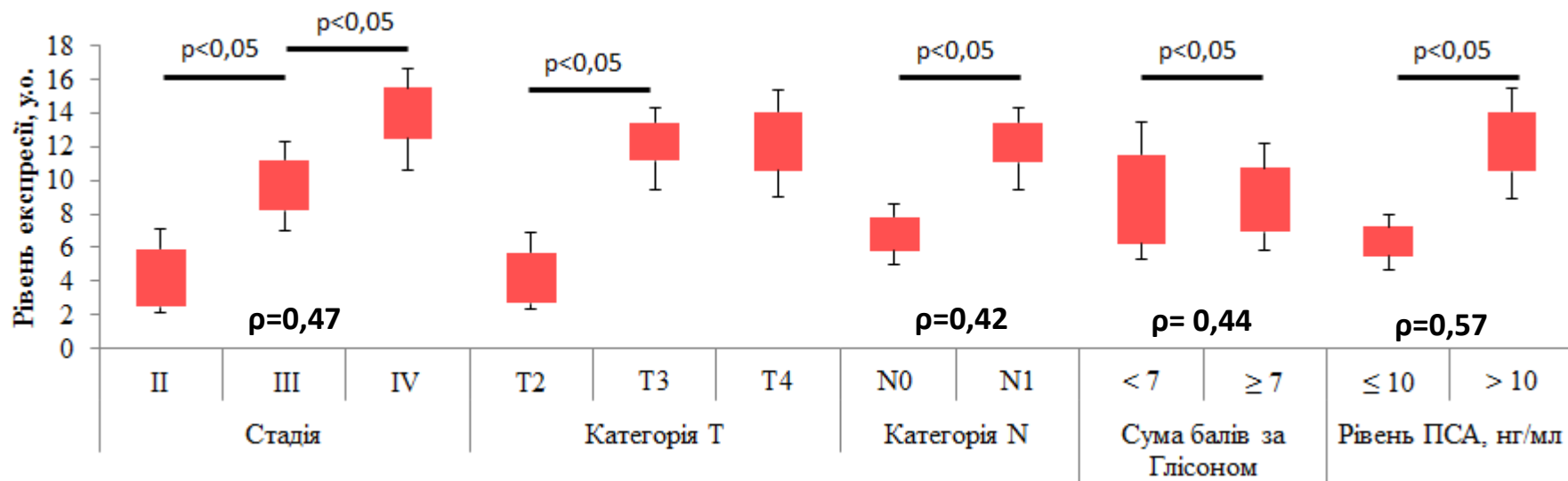
### Частота зустрічі ПСК-позитивних пухлин у хворих на РПЗ



# Особливості експресії циркулюючих мікроРНК-205 та мікроРНК-214, асоційованих зі ступенем злоякісності РПЗ

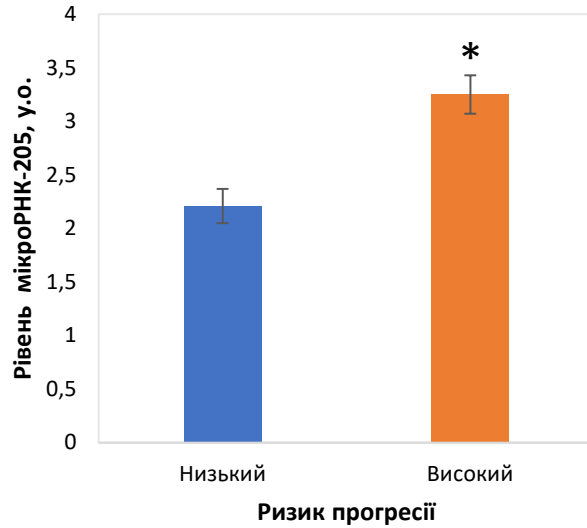


# Особливості експресії пухлино-асоційованих мікроРНК-205 та мікроРНК-214, асоційованих зі ступенем злоякісності РПЗ

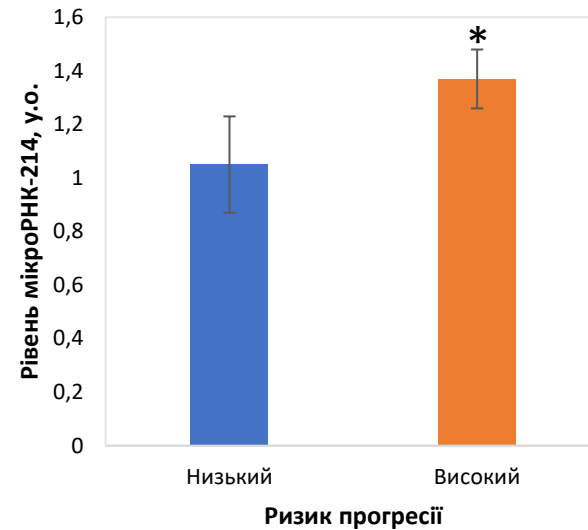
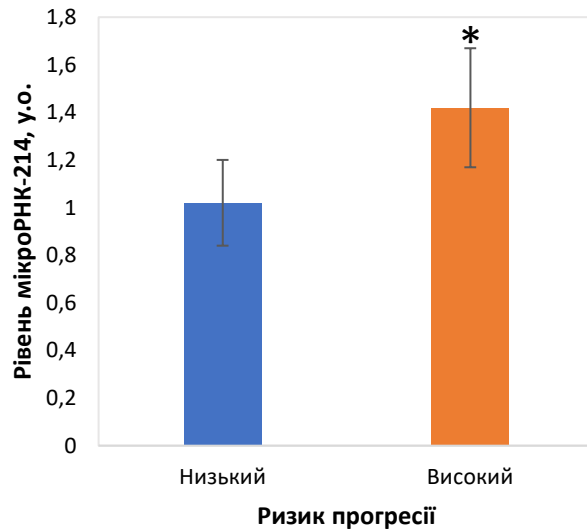
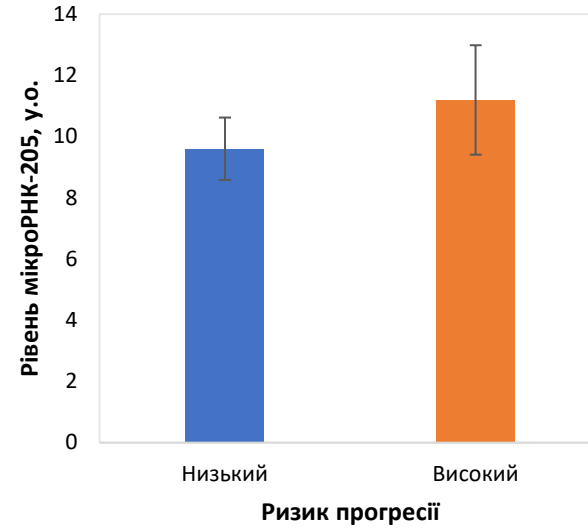


# Зв'язок експресії мікроРНК-205 та мікроРНК-214 у сироватці крові та пухлинній тканині хворих з різним ризиком прогресії РПЗ

## Сироватка крові

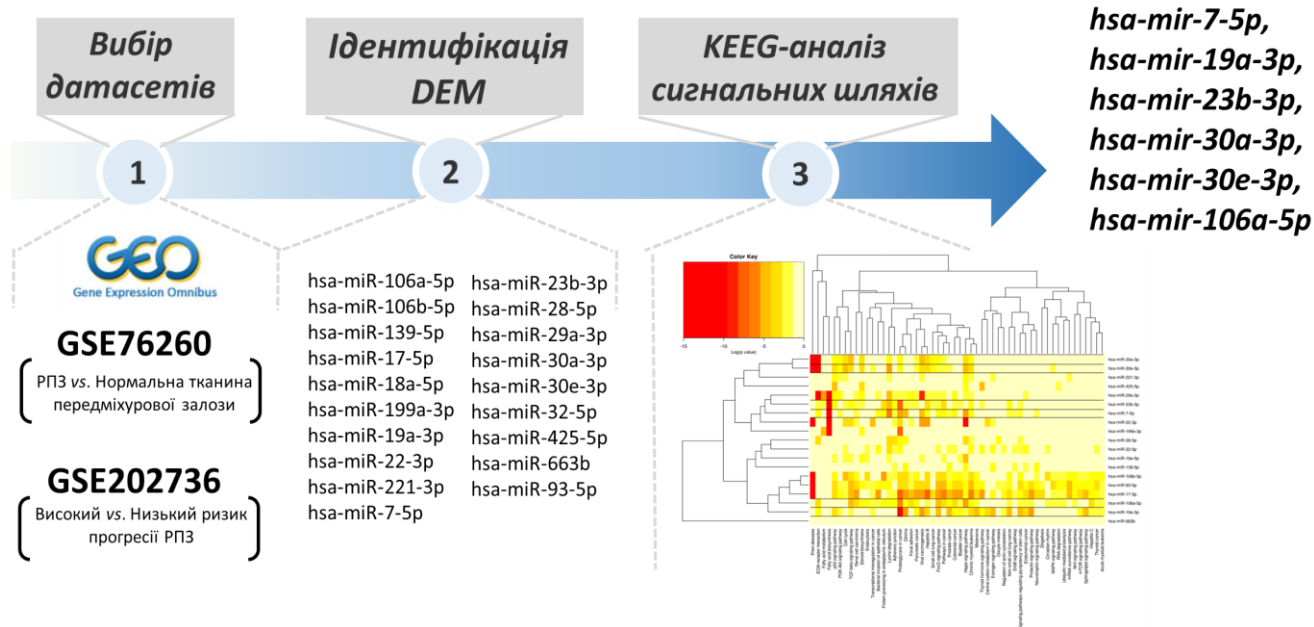


## Пухлинна тканина



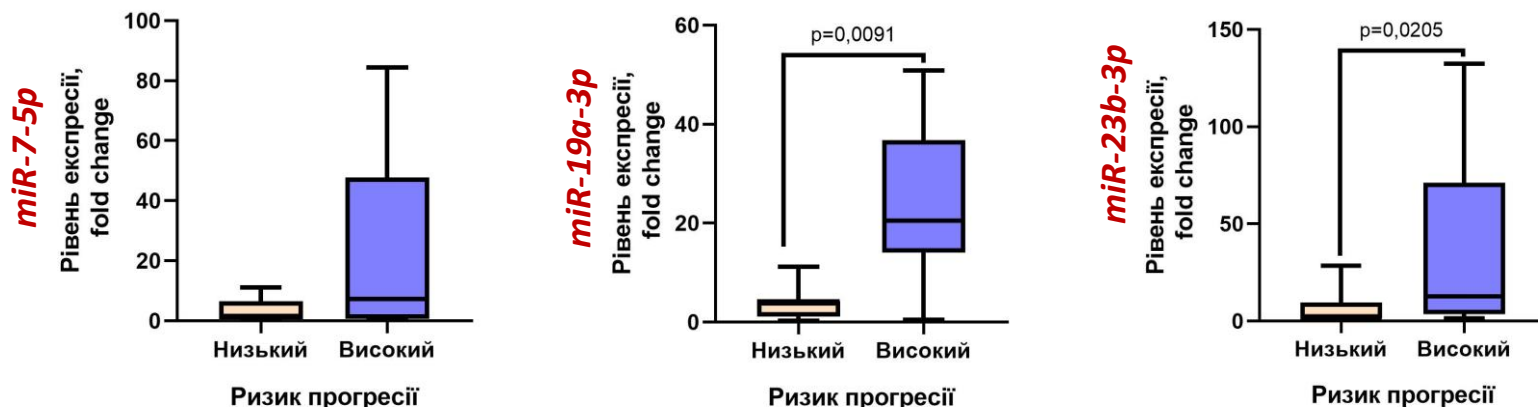
Примітка: \* – різниця у показниках достовірна ( $p < 0,05$ ).

# Ідентифікація мікроРНК, асоційованих із пухлинним мікрооточенням, та ризиком прогресії РПЗ



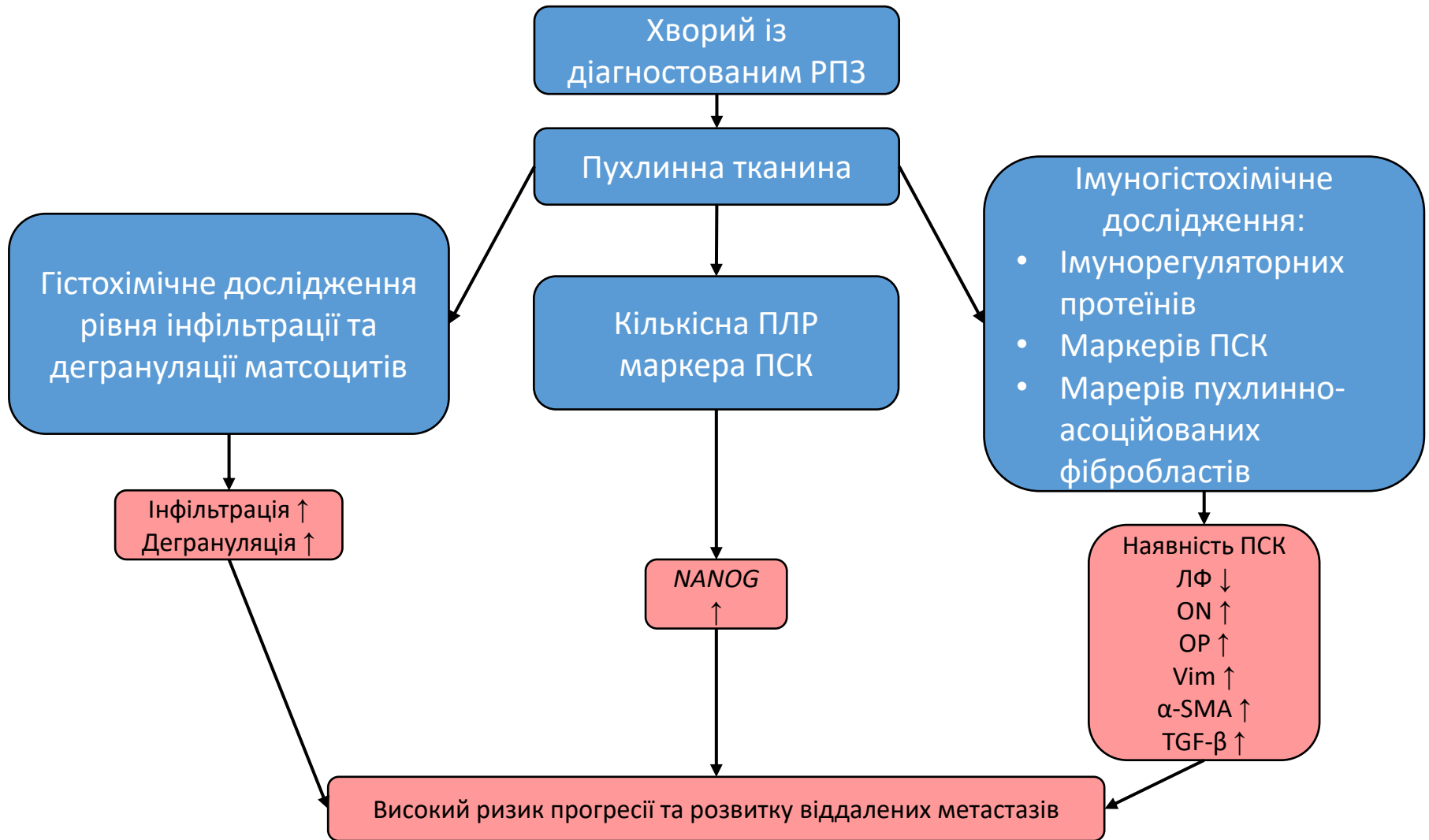
Zadvornyi T., Lukianova N., Mushii A., Pavlova A., Voronina O., Chekhun V. Features of the spatial organization of collagen in the tissues of benign and malignant prostate neoplasms. . – In press.

## Зв'язок експресії пухлино-асоційованих мікроРНК із ризиком прогресії РПЗ



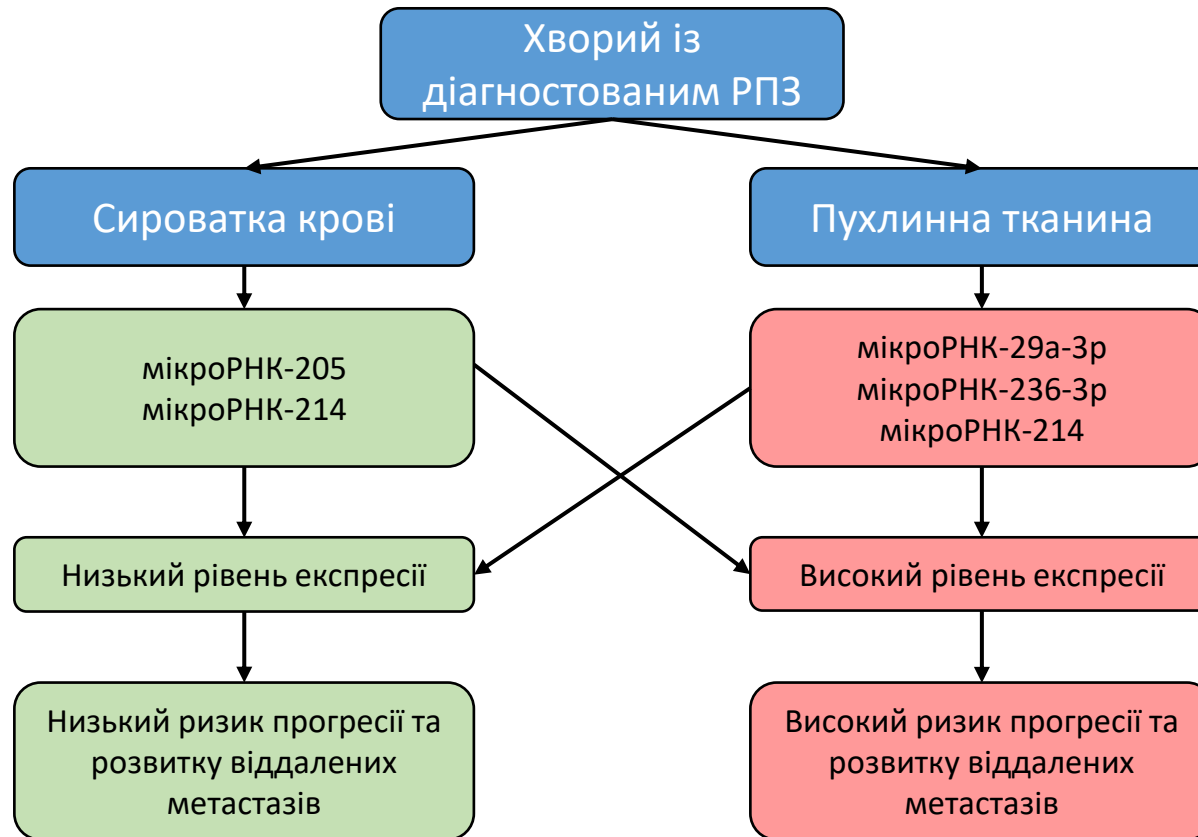
Borikun T., Mushii O., Pavlova A., Burda T., Zadvornyi T. Tumor microenvironment-associated miR-7-5p, miR-19a-3p, AND miR-23b-3p AS predictors of prostate cancer progression risk. Exp Oncol 2023;4.

# Алгоритм прогнозування перебігу пухлинного процесу на підставі дослідження молекулярно-генетичних маркерів реактивного мікрооточення тканини РПЗ





# Алгоритм прогнозування перебігу пухлинного процесу на підставі дослідження епігенетичних маркерів реактивного мікрооточення тканини РПЗ



# Висновки

1. Експериментальними дослідженнями в системі *in vitro* доведено, що ступінь злоякісності клітин РПЗ людини асоціюється з рівнем експресії імунomodulatory протеїнів (ЛФ та ON), а також маркерів ПСК. Про це свідчить наявність клітин з фенотипом ПСК (CD44<sup>high</sup>CD24<sup>low</sup>, мРНК NANOG – 3,5 ±0,2 у.о), низьким рівнем експресії ЛФ (87,0±8,0 балів H-Score) і високим рівнем ON (231,6±4,6 бали H-Score) у клітинах високого ступеня злоякісності лінії DU-145 порівняно з клітинами низького ступеня злоякісності лінії LNCaP з середніми показниками експресії ЛФ і ON (120,0±7,5 і 165,0±6,2 балів H-Score, відповідно) та відсутністю клітин з фенотипом ПСК (CD44<sup>low</sup>CD24<sup>low</sup>, мРНК NANOG – 1,1 ±0,16 у.о.).
2. *Ex vivo* на клінічному матеріалі при аналізі топології експресії імунomodulatory протеїнів з'ясовано, що рівень експресії ЛФ, OPN та ON у пухлинній тканині корелює з такими показниками злоякісності РПЗ як сума балів за Глісоном та наявність метастатичного ураження регіонарних лімфатичних вузлів. Встановлено, що 2- та 3-річна безрецидивна виживаність хворих є достовірно меншою за наявності низького рівня експресії ЛФ та високих показників OPN та ON у тканині РПЗ.
3. Продемонстровано, що високі рівні інфільтрації та дегрануляції ТК у тканині РПЗ асоційовані з такими клініко-патологічними характеристиками з хворих на РПЗ як сума балів за Глісоном та доопераційний рівень ПСА в сироватці крові. З'ясовано, що проростання новоутворень за межі капсули органу супроводжується збільшенням кількості тучних клітин, що локалізуються в інтратуморальному компоненті РПЗ.
4. У 44,2 % досліджених випадків РПЗ ідентифіковано наявність клітин з фенотипом ПСК (CD44<sup>+/high</sup>CD24<sup>-/low</sup>). Достовірно вищу частоту пухлин, позитивних за маркерами ПСК, виявлено у хворих на РПЗ з високими показниками ПСА у сироватці крові (55,8%), з новоутвореннями низького ступеня диференціювання (55,3 %), що проростають в навколишні тканини та органи (72,7 %).

5. Доведено зв'язок показників експресії циркулюючих та пухлинних мікроРНК-205 та мікроРНК-214 зі ступенем злякисності РПЗ за такими клініко-патологічними характеристиками пухлинного процесу як стадія захворювання ( $p = 0,63$ ,  $p = 0,55$  та  $p = 0,47$ ,  $p = 0,52$ ;  $p < 0,05$ ), наявність метастазів у РЛВ ( $p = 0,50$ ,  $p = 0,63$  та  $p = 0,42$ ,  $p = 0,56$ ;  $p < 0,05$ ), сума балів за Глісоном ( $p = 0,39$ ,  $p = 0,45$  та  $p = 0,44$ ,  $p = 0,39$ ;  $p < 0,05$ ) та передопераційний рівень ПСА в сироватці крові ( $p = 0,48$ ,  $p = 0,52$ ; та  $p = 0,57$ ,  $p = 0,37$ ;  $p < 0,05$ ). Найвищі рівні експресії пухлино-асоційованих мікроРНК-7-5р та мікроРНК-23b-3р зафіксовано у тканині РПЗ пацієнтів із Т3 категорію та сумою балів за Глісоном 7.
6. Встановлено, що рецидив РПЗ найчастіше діагностується у вигляді віддалених метастазів у кістки, які визначаються у 50,0% випадків. Показано, що наявність МС асоціюється із прогресією РПЗ та 25% швидшим розвитком метастазів у кістки. Визначено, що у хворих із помірним ризиком прогресії наявність МС у 1,55 рази підвищує частоту виникнення рецидиву РПЗ у вигляді метастатичного ураження кісткової тканини.
7. Виявлено, що характерною ознакою РПЗ високого ризику прогресії є порушення регуляції експресії імунomodulatory протейнів - ЛФ, ОРН та ОН, що призводить до зростання рівнів інфільтрації ТК та пухлино-асоційованих фібробластів, а також супроводжується зростанням рівня стовбуровості за рахунок підвищення рівня мРНК NANOG.
8. Встановлено, що ризик прогресії РПЗ асоціюється зі зміною співвідношення пухлино-асоційованих та циркулюючих мікроРНК, які задіяні у регуляції пухлинного мікрооточення. Найбільш високі рівні циркулюючих мікроРНК -205 та -214, а також пухлино-асоційованих мікроРНК-19a-3р, мікроРНК-23b-3р та мікроРНК-214 зафіксовано у РПЗ високого ризику прогресії.
9. В результаті комплексного дослідження у системах *in vitro* та *ex vivo* на клінічному матеріалі ідентифіковано панелі біомаркерів для прогнозування агресивності перебігу РПЗ. Доведено, що застосування створених панелей біомаркерів для прогнозування перебігу РПЗ високого ризику прогресії дозволяє підвищити безпосередні результати лікування за шкалою ВООЗ на 30 та 40 % і призводить до покращення життя пацієнтів на 12 %.

***Дякую за увагу***

