

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – ПЛОВДИВ

Медицински факултет

Катедра по обща и клинична патология

Ръководител катедра: доц. д-р В. Беловеждов, дм



д-р Мария Стоянова Колева-Иванова

**Еозинофилна метаплазия в простатния епител:
обща характеристика, морфология, морфогенеза**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд
за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“

Научна област: Медицина

*Научна специалност „Патологоанатомия и цитопатология“,
шифър 03.01.03*

**Научен ръководител:
доц. д-р Дориян Иванчев Диков, д.м.**

Пловдив, 2020 г.

Дисертационният труд съдържа 165 страници и е онагледен с 28 таблици, 6 фигури и 75 микроскопски снимки. Използвани са 156 литературни източника, 10 на кирилица и 146 на латиница.

Бих искала да изкажа дълбока благодарност на научния си ръководител доц. д-р Дориян Диков, дм за помощта, професионалните съвети и огромното търпение, което прояви по време на разработването на дисертационния труд. На ръководителя на Катедрата по Обща и Клинична патология доц. д-р Веселин Беловеждов, дм за подкрепата, разбирането и спокойната атмосфера, както и на целия екип на отделението и катедрата. Бих искала да изкажа благодарност на проф. д-р Виктория Сарафян, дмн и доц. Кирил Симитчиев, дм за вдъхновяващата и мотивираща екипна работа. Искрено благодаря и на доц. д-р Бенямин Анави, дм, който ми разкри очарованието на патологията още от студентската скамейка.

Благодаря на семейството ми за любовта, търпението, подкрепата и споделеността.

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои нагод. отчаса в аудиторияна МУ – Пловдив, съгласно Правилника за условията и реда за придобиване на научна степен „доктор“ на МУ – Пловдив и въз основа на заповед №от.....год. на Ректора на МУ – Пловдив.

Материалите по защитата са на разположение в Катедрата по обща и клинична патология и на интернет страницата на МУ – Пловдив.

С Ъ Д Ъ Р Ж А Н И Е

I. Въведение	7
II. Цел и задачи	10
1. Цел.....	10
2. Задачи.....	10
III. Материал и методи.....	11
1. Материал	11
2. Методи	12
1. Класическа хистологична техника	12
2. Полуколичествено хистологично изследване	12
3. Хистохимична техника	13
4. Имунохистохимична техника	13
5. Статистически методи на изследване	15
IV. Резултати	16
V. Обсъждане.....	37
VI. Изводи	57
VII. Заключение.....	58
VIII. Приноси	60
Приноси с оригинален характер	60
Приноси с потвърдителен характер	61
Научно-приложни и методични приноси	62
IX. Научни публикации, свързани с дисертационния труд.....	63

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

АДМ – ацинарно-дуктална метаплазия
АХТ – алфа-1-антихимотрипсин
БКХ – базалноклетъчна простатна хиперплазия
БПХ – бенигнена простатна хиперплазия
ЕМ – еозинофилна метаплазия
ИХХ – имунохистохимия
ММ – муцинозна метаплазия
НСГП – неспецифичен грануломатозен простатит
ОХП – остър хистологичен простатит
ПЕМ – простатна епителна метаплазия
ПИН – простатна интраепителна неоплазия
Пк – простатен аденокарцином
ПКПМ – Панетоклетъчно-подобна метаплазия
ПКПП – Панетоклетъчно-подобни промени
ПМ – плоскоклетъчна метаплазия
ПСА – простат-специфичен антиген
ПСГ – простатни секреторни гранули
ТППБ – трансректална простатна пункционна биопсия
ТУРП – трансуретрална резекция на простатата
УМ – уротелна метаплазия
ХЕ – хематоксилин-еозин
ХП – хистологичен простатит, хроничен простатит тип IV по класификацията на NIH (US National Institutes of Health)
ХХП – хроничен хистологичен простатит
ХХП-ВС – хроничен хистологичен простатит от висока степен
ХХП-НС – хроничен хистологичен простатит от ниска степен
АСТН – адренкортикотропен хормон

Ck – цитокератин

HES – оцветяване с хематоксилин-еозин-сафрон

HPS – оцветяване с хематоксилин-фloxсин-сафрон

IgA – имуноглобулин А

Lamps – лизозомно-асоциирани мембранни гликопротеини

Lamp1 – лизозомно-асоцииран мембранен протеин 1

Lamp2 – лизозомно-асоцииран мембранен протеин 2

MUCs – цитоплазмени муцини

MUC1 – цитоплазмен муцин 1

MUC2 – цитоплазмен муцин 2

MUC5AC – цитоплазмен муцин 5 AC

MUC6 – цитоплазмен муцин 6

NSE – неврон специфична енолаза

PAS – оцветителна реакция с перийодна киселина и реактив на Schiff

PAS-D – оцветителна реакция с перийодна киселина и реактив на Schiff с
диастазно претретиране

PS-100 – протеин S-100

PSA – простат-специфичен антиген

PSAP – простатно специфична кисела фосфатаза

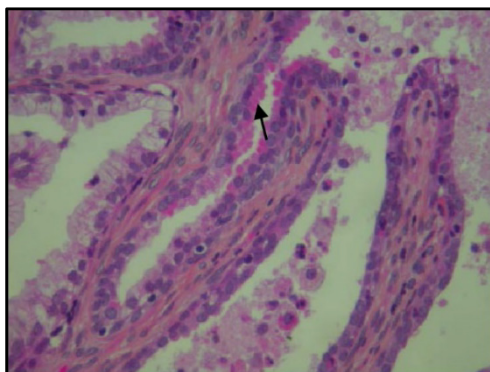
I. Въведение

Простатният карцином (Пк) и бенигнената простатна хиперплазия (БПХ) са едни от най-честите и социалнозначими заболявания на уrogenиталната система у мъжа. Множество са факторите, които се свързват с патогенезата на тези заболявания – андрогени, естрогени, растежни фактори и/или невротрансмитери, хронично простатно възпаление, но въпреки всичко, механизмите, водещи до простатното уголемяване и простатната малигнена трансформация, остават неясни (L. Feng 2018).

От самото начало на развитието на патологията като наука – до днес, на изучаването на тези две социалнозначими простатни заболявания са посветени много научни съобщения и публикации. В последните години, в ползрението на една немалка част от изследователите навлязоха научноизследователски сюжети, касаещи хроничните фонове, предракови и предхиперпластични състояния в простатната жлеза. Най-важните от тях са хроничното (неспецифично) възпаление, атрофията, постатрофичната хиперплазия, пролиферативната възпалителна атрофия. През последните години се натрупаха множество доказателства за съществената роля на възпалението и на адаптативните процеси в етиологията и патоморфогенезата на доброкачествените (БПХ) и злокачествените (Пк) пролиферативни заболявания на простатата (DeLongchamps 2008; Sfanos 2012).

Тези факти, както и недостатъчно добре проученият въпрос за еозинофилната метаплазия (ЕМ) в простатата в световната литература, както и пълната липса на подобни изследвания у нас, ни накараха да се заемем с изучаването на ЕМ в простатната жлеза.

Определение: ЕМ представлява наличие на големи, интензивно еозинофилни интрацитоплазмени гранули в бенигнен простатен епител (L. Cheng 2008) (Снимка 1). Описана е за първи път в простати с БПХ и в Пк през 1992 г. от Weaver под наименованията Paneth cell-like change – Панетоклетъчно-подобна промяна (ПКПП) (MG. Weaver 1992) и Paneth cell like-metaplasia – Панетоклетъчно-подобна метаплазия (ПКПМ) (CP. Frydman 1992).



Снимка 1. ЕМ в епитела на дилатиран екскреторен простатен канал (стрелка); вляво – нормален простатен епител. *HPS, x 200.*

Анализът на литературните данни по проблема може да се обобщи в следните изводи:

1. В литературата не се откриват данни за изследване на ЕМ в нормална простатна тъкан – както в проучванията, касаещи простатната патология, така и в тези, отнасящи се до нормалната хистология на жлезата.
2. В литературата липсват количествени хистологични изследвания на ЕМ в материали от ТУРП, касаещи:
 - 2.1. Честотата на ЕМ.
 - 2.2. Детайлно статистическо проучване на съчетанието на тази простатна метаплазия с други патологични процеси в простатната жлеза: хроничен простатит тип IV по класификацията на NIH (ХП), други видове простатни епителни метаплазии (ПЕМ), базалноклетъчна хиперплазия (БКХ), БПХ, Пк.
 - 2.3. Детайлно, полуколичествено морфологично проучване на локализацията и тъканното разпределение на ЕМ.
 - 2.4. Проучване на ЕМ в български контингент от пациенти.
3. До този момент в литературата липсват качествени изследвания на ЕМ в простатата, касаещи:
 - 3.1. Големината на цитоплазмените гранули при ЕМ. Наблюдаваните в ежедневната диагностична практика на патолога малки еозинофилни гранули (от непанетоклетъчен тип), разположени апикално или по-често дифузно в цитоплазмата на бенигнения простатен епител, не са изследвани до този момент. В проучената от нас литература, ние не намерихме описание на подобни цитоплазмени промени, нито като основна хистологична находка, нито в диференциално-диагностичен план.

- 3.2. Натурата и характера (екзокринен или лизозомен) на интрацитоплазмените гранули при ЕМ, респективно техният по-широк имунохистохимичен (ИХХ) профил.
4. До този момент в литературата липсват задълбочени изследвания, касаещи:
 - 4.1. Пато- и морфогенезата на ЕМ.
 - 4.2. Общопатологичното значение на ЕМ.
 - 4.3. Диференциалната диагноза на ЕМ с останалите еозинофилни интрацитоплазмени промени в простатния епител.
 - 4.4. Отношението на ЕМ към социалнозначимите заболявания на простатата – БПХ и Пк, индиректно, по линията на преканцерозните изменения в простатната жлеза, в частност връзката с ХП.
 - 4.5. За разлика от ЕМ в ендометриума, различните видове цитоплазмени муцини (MUCs) не са изследвани при простатната ЕМ.
5. В литературата няма данни за количествено проучване на асоциациите между отделните видове ПЕМ сред популацията на пациенти, произлизаща от болница от общ профил, в контекста на основната простатна патология (ХП, БКХ, БПХ и Пк) на ТУРП-материал.

II. Цел и задачи

1. Цел

Да се изследва количествено и качествено еозинофилната простатна метаплазия на материал от ТУРП, с оглед изясняване на патогенезата и общопатологичното значение на процеса.

2. Задачи

1. Да се проучат някои основни количествени показатели на простатната ЕМ на ТУРП-материал в две групи пациенти (българи и французи) по отношение на честота и възраст, и да се направи съпоставка на получените резултатите при двете групи.
2. Да се проучат основни клинични симптоми и нивото на серумния простат-специфичен антиген (PSA) при ЕМ.
3. Да се проучи морфологията на простатната ЕМ: общ вид, количество, локализация и големина на гранулите, съдба на гранулите, хистохимичен състав и оцветителни свойства, възможни артефакти, свързани със спецификата на ТУРП-материала, диференциална диагноза.
4. Да се проучи ИХХ-профил на гранулите при простатната ЕМ с оглед прецизиране на тяхната екзокринна, лизозомна или смесена натура. Да се изведе хистологичен и ИХХ-диагностичен и диференциално-диагностичен алгоритъм.
5. Да се проучат основните количествени и качествени хистологични показатели на простатната ЕМ на ТУРП-материал: наличие в нормална простата, съчетание с други патологични процеси в простатната жлеза – остро и хронично възпаление, други видове простатни метаплазии (плоскоклетъчна, уротелна, муцинозна), БКХ, БПХ и Пк.
6. Въз основа на получените резултати, да се изясни патогенезата и общопатологичното значение на ЕМ.

III. Материал и методи

1. Материал

Изследването включва ретроспективно проучване на общо 123 ТУРП-материала.

Материалите са разпределени в 2 основни групи:

I група – български пациенти: 61 ТУРП-материала от биопсичният масив на Отделението по клинична патология на УМБАЛ „Свети Георги“ ЕАД – гр. Пловдив, за период от 1 година (2014 г.)

II група – френски пациенти: 62 ТУРП-материала от архива на Service d'Anatomie et de cytologie pathologiques, Grand Hôpital de l'Est Francilien, Jossigny, Франция, за периоди от по 6 месеца през 2014 г. и през 2020 г. (последната група пациенти от първите 6 месеца на 2020 г. са изследвани допълнително, след дискусия по време на процедурата по отчисляване).

От тях ИХХ-но са проучени 34 случая.

Допълнително, като контролна група пациенти, с любезното съгласие на научният ръководител, се използват 19 аутопсионни простати от аутопсионния регистър на отделенията по патология и съдебна медицина на УМБАЛ „Свети Георги“ ЕАД – гр. Пловдив, и на Общинската болница в гр. Ловеч от периода 1995 – 2002 г.

Показателите на всеки изследван случай са кодирани и въведени в електронна база данни за последваща статистическа обработка на резултатите. Всяка от посочените подгрупи допълнително се подразделя в зависимост от хистологичните показатели, които подлежат на изследване.

За основните групи работен материал се използват включващи и изключващи критерии за подбор.

Включващи критерии:

1. ТУРП-случаи за съответния период български пациенти, които представят клинично така наречения простатен синдром, който е типичен за БПХ, представляваща основна индикация за хирургичната интервенция.

2. ТУРП-случаи за съответния период френски пациенти, които представят клинично така наречения простатен синдром, който е типичен за БПХ, представляваща основна индикация за хирургичната интервенция.

Изключващи критерии:

1. Случаи, при които липсват клинични данни за проведена радиационна терапия в гениталната област, химиотерапия или хормонална аблационна терапия на простатата.

2. Случаи с оптимално съхранена и фиксирана простатна тъкан с минимална или нулева автолиза и с $< 10\%$ зони с електрокоагулация при микроскопския преглед на препаратите.

2. Методи

1. Класическа хистологична техника

Хистологичното изследване на рутинно оцветени препарати с хематоксилин-еозин (ХЕ) на българските ТУРП-материали е изработено в Лабораторията на Отделението по клинична патология на УМБАЛ „Свети Георги“ ЕАД – гр. Пловдив. Хистологичните изследвания на рутинно оцветени препарати с хематоксилин-еозин-сафрон (HES) и хематоксилин-флоксин-сафрон (HPS) на френския контингент пациенти и на 20 избрани български случая с ЕМ, както и хистохимичните, и ИХХ-изследвания, са изработени в Grand Hôpital de l'Est Francilien, Jossigny, Франция.

От всеки случай са изследвани от 1 до 10 хистологични препарата в зависимост от броя на наличните парафиновите блокчета.

Материалите от простатната тъкан са рутинно фиксирани в 10-процентов разтвор на неутрален буфериран формалин и обработени по стандартната парафинова методика. Парафиновите срези с дебелина от 4 до 6 μm се депарафинират и рехидратират през алкохоли с низходяща концентрация. Оцветяванията с ХЕ, HES и HPS се извършват по стандартна методика. Хистологичните срези се включват в канадски балсам, след което се монтират покривните стъкла.

Ретроспективното хистологично и хистохимично изследване на ТУРП-материалите, както и отчитането на ИХХ-резултати се извършва на 2 нива: ниво I – от докторанта и ниво II – консултативно, от научния ръководител. За окончателен резултат се приема средната стойност от оценките на двете нива.

2. Полуколичествено хистологично изследване

ЕМ

За реализирането на полуколичествена оценка на хистологичното разпространение на ЕМ, се създаде следната скала за отчитане (M. Koleva 2020):

- ЕМ се отчита като *фокална*, когато се наблюдава само на 1 зрително поле и засяга част от един жлезен канал или лобул на умерено микроскопско увеличение (x100);

- ЕМ се отчита като *дифузна*, когато засягането е мултифокално и/или се наблюдава на няколко съседни зрителни полета, на същото микроскопско увеличение (x100).

За реализирането на полуколичествена оценка на хистологичното разпределение на ЕМ се създаде следната скала за отчитане (М. Koleva 2020):

- ЕМ касае *единични или малки групи* от клетки, когато се наблюдават < 10 клетки с еозинофилна грануларна цитоплазма;
- ЕМ касае *големи групи* от клетки, когато се наблюдава в > 10 клетки с еозинофилна грануларна цитоплазма.

За реализирането на количествена оценка (измерване) на големината на гранулите при ЕМ, се използва система за морфометрия на микроскоп Zeiss Axio Scope A1.

ХП

Хроничният хистологичен простатит (ХХП) се изразява хистологично с наличие на моноклеарен възпалителен инфилтрат, чийто интензитет е изразен в различна степен. В зависимост от това различаваме (NB. Delongchamps 2008; D. Dikov, M. Koleva непубликувано):

- ХХП от ниска степен (ХХП-НС), при който се наблюдава фокално наличие на малки групи от възпалителни моноклеарни клетки, предимно със стромна локализация, отделени от обширни зони от невъзпалена тъкан, или < 100 възпалителни клетки / 1 мм² (2 зрителни полета на ув. x 400).
- ХХП от висока степен (ХХП-ВС), при който се наблюдава дифузен характер на възпалителния инфилтрат с кофлуиращи групи от възпалителни моноклеарни клетки, с перигландуларна и стромална локализация и формиране на лимфни струпвания или фоликули, или > 100 възпалителни клетки / 1 мм² (2 зрителни полета на ув. x 400).

3. Хистохимична техника

Оцветяване с реактив на Шиф (PAS-реакция) и с контрола със слюнчена амилаза (PAS-D).

4. Имунохистохимична техника

ИХХ-то изследване е извършено в съответствие със стандартни протоколи на фирмата производител. Използвани са следните първични антитела: PSA (35H9, mouse monoclonal antibody PSA – 1:100, Leica Biosystems Newcastle Ltd), MUC1-епителен мембранен антиген (MA522,

mouse monoclonal antibody MUC-1 – 1:400, Leica Biosystems Newcastle Ltd), MUC2 (Ccp58, Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK, 1:100), MUC5 (CLH2, Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK, 1:100), MUC6 (CLH5, Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK, 1:100), AXT (Dako, Carpinteria, California, USA, 1:1000), лизозомно асоциираните мембранни протеини Lamp1 и Lamp2 (H4A3 and H4A4, dilution 1:150; Developmental Studies Hybridoma Bank, University of Iowa, Iowa City), синаптофизин (DAK-SYNAP, mouse monoclonal antibody, ready-to-Use, Dako Denmark A/S), хромогранин (5H7, mouse monoclonal antibody, ready-to-Use, Leica Biosystems Newcastle Ltd), p63 (клон 4A4, готов за употреба; Ventana Medical Systems, Tucson, AZ).

При отчитането на експресията на отделните антитела се използват съответни положителни и отрицателни външни и вътрешни (когато е възможно) контроли.

Техническите характеристики на използваните антитела и на положителните външни контроли са показани в Таблица 1.

Таблица 1. Характеристики на използваните в ИХХ-изследване антитела и външни положителни тъканни контроли

Антитяло	Клон	pH	Локализация на експресията	Положителна експресия (външни позитивни контроли)
MUC1	MA522	6	Мембранна и/или цитоплазмена	Апикалната повърхност на жлезните дуктални епителни клетки в кожа - екринни и апокринни жлези (2 случая)
MUC2	Ccp58	6	Цитоплазмена	Интестинален епител (2 случая)
MUC5	CLH2	6	Цитоплазмена	Стомах – фовеоларен епител на тялото и антрума (2 случая)
MUC6	CLH5	6	Цитоплазмена	Стомах – пилорни жлези (2 случая)
PSA	35H9	6	Цитоплазмена	Нормален простатен епител (всички изследвани случаи с ТУРП от основната група и 2 случая от радикална простатектомия)
AXT		6	Цитоплазмена	Хистиоцити от кожа с грануломатозно възпаление (2 случая)
Lamp 1	H4A3	6	Цитоплазмена	Активирани Т-лимфоцити и ендотел от кожа с грануломатозно възпаление (2 случая)
Lamp 2	H4A4	6	Цитоплазмена	Лизозомни мембрани на хистиоцити от кожа с грануломатозно възпаление (2 случая)
Хромогранин А	5H7	6	Цитоплазмена	Невроендокринни клетки в стомах (2 случая)
Синаптофизин	DAK-SYNAP	6	Цитоплазмена	Невроендокринни клетки в стомах (2 случая)
P63	Ventana	6	Ядрена	Кожен епидермис (2 случая)

5. Статистически методи на изследване

5.1. Статистически методи

Приложени са статистически хипотези с точно изчисляване на „p-value“. За приемане на нулевата хипотеза (H_0) е използван критерият „p-value“ > 0.05 (вероятността да се допусне грешка от първи род е под 5%), а за приемане на алтернативната хипотеза (H_1) е приложен критерият „p-value“ < 0.05 (вероятността за правилно взето решение е над 95%).

- За откриване на статистическа разлика между стойностите на даден параметър (възраст, PSA), представляващ непрекъсната случайна величина, бе използван непараметричния тест на *Mann-Whitney U* (при сравнението на две дефинирани групи пациенти). За приложението на формалния статистически тест бе дефинирана нулева хипотеза (H_0) – стойностите на параметъра за сравняваните групи произлизат от една и съща генерална съвкупност и алтернативна хипотеза (H_1) – стойностите на параметъра за изучаваните групи се различават статистически;
- За сравнения по отношение на променливи, заемащи дискретни значения, бе приложен Fisher's Exact Test;

5.2. Графики

За графична визуализация на данните са използвани:

- „boxplot“ диаграми, които показват 25-я, 50-я и 75-я перцентил от съвкупността на данните, както и минималната и максималната стойност на изследвания параметър, които не са „бегълци“ (outliers). Приложен е критерият 1.5 дължини на „boxplot“ за идентифициране на „бегълци“;
- „bar“ диаграми нормирани към 100% за представяне на процентния дял на дадена категория от данни;
- „pie“ диаграми за онагледяване на процентни дялове.

5.3. Приложен софтуер – изчисленията са направени с помощта на MS Excel 2016 и R-statistics (www.r-project.org).

IV. Резултати

По задача 1

В изследваните ретроспективно общо 123 ТУРП-материала (българска и френска група пациенти), в 57 случая се наблюдава ЕМ (46.3%), докато случаите, в които тя не се открива са 66 (53.7%).

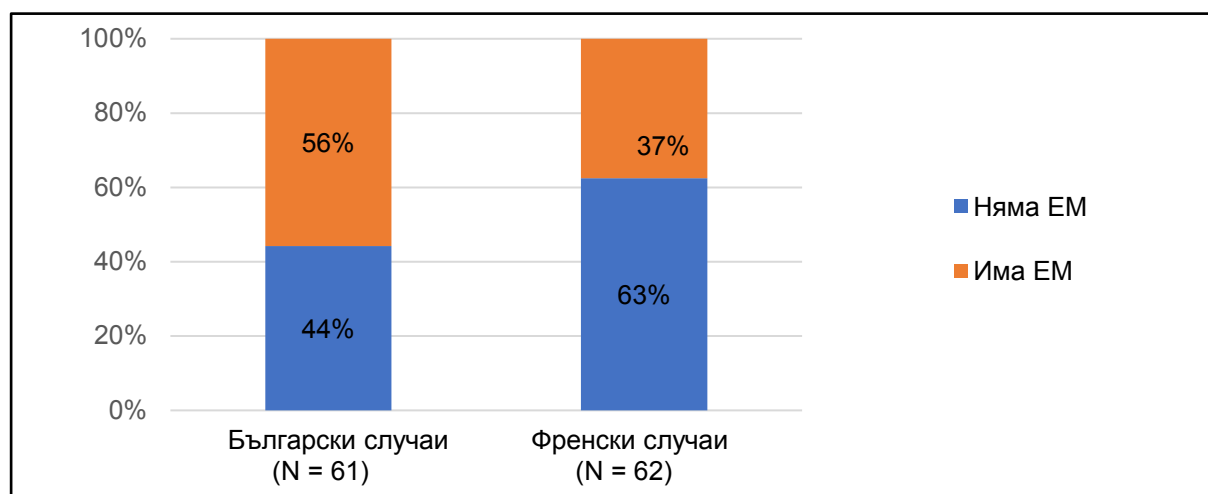
В изследваните ретроспективно 61 ТУРП-материала от български пациенти (българска група пациенти), в 34 случая се намира ЕМ (55.7%), докато в останалите 27 случая (44.3%) не се намира.

В изследваните ретроспективно 62 ТУРП-материала от френски пациенти (френска група пациенти), в 23 случая се намира ЕМ (37.1%), а в 39 (62.9%) – не се наблюдава.

Процентните дялове на ЕМ в двете групи пациенти и общо са обобщени на Таблица 2 и представени графично на Фигура 1.

Таблица 2. Честота на ЕМ на ТУРП-материал – общо и по изследвани групи пациенти

			Група		Общо
			Български случаи	Френски случаи	
Еозинофилна метаплазия	Няма ЕМ	N	27	39	66
		%	44,3%	62.9%	53.7%
	Има ЕМ	N	34	23	57
		%	55,7%	37.1%	46.3%
Общо		N	61	62	123
		%	100.0%	100.0%	100.0%



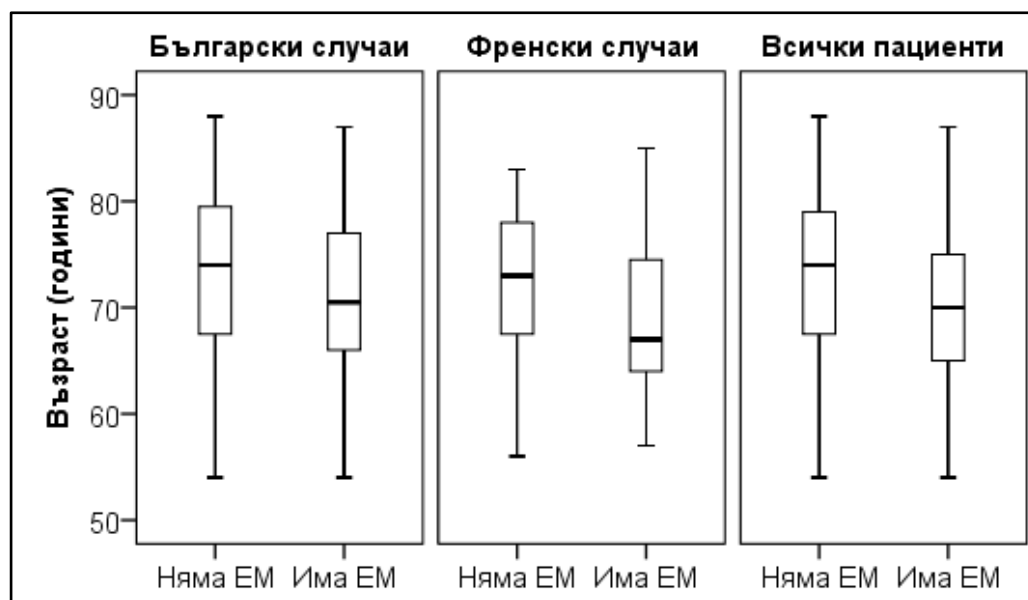
Фигура 1. Графично представяне на честота на ЕМ на ТУРП-материал по изследвани групи пациенти

Анализът на получените резултати показва, че няма статистически значима разлика по отношение на честотата на ЕМ в изследваните български и френски случаи (Fisher's Exact Test; $p = 0,131$).

Възрастовото разпределение на всички пациенти – общо и по групи (български и френски), със и без ЕМ, е обобщено на Таблица 3 и представено графично на Фигура 2.

Таблица 3. Възрастовото разпределение на пациентите с ЕМ на ТУРП-материал – общо и по изследвани групи пациенти

Вариабилни показатели	N	Средна	Стандартно отклонение	Минимална	Максимална
Всички пациенти без ЕМ	66	73	8	54	88
Всички пациенти с ЕМ	57	71	8	54	87
Български пациенти без ЕМ	27	73	9	54	88
Български пациенти с ЕМ	34	72	8	54	87
Френски пациенти без ЕМ	39	72	8	56	83
Френски пациенти с ЕМ	23	69	8	57	85



Фигура 2. Графично представяне на възрастовото разпределение на пациентите с ЕМ на ТУРП-материал – общо и по изследвани групи пациенти

Приложеният анализ (Mann-Whitney) не показва статистически значима корелация между средната възраст на всички изследвани пациенти без ЕМ спрямо тези с ЕМ ($p = 0.271$). Не се намира статистически значима разлика по отношение на средната възраст на пациентите със и без ЕМ в двете изследвани групи: българска група $p = 0.561$ и френска група $p = 0.221$. По-горе получените резултати и техният анализ показват, че няма статистически значима разлика по отношение на някои основни показатели (честота и възраст) при пациентите със и без ЕМ в зависимост от географското разпространение на този вид лезия: Източна Европа / Западна Европа.

По задача 2

Основните клинични симптоми при пациентите с ЕМ ($n = 57/123$) и без ЕМ ($n = 66/123$), както общо ($n = 123$), така и поотделно във всяка една от двете изследвани групи ($n = 34/61$ – българска група) и ($n = 23/62$ – френска група), оперирани чрез ТУРП, се представят клинично от т. нар. простатен синдром. Този синдром е типичен за БПХ и е основната клинична индикация за провеждането на оперативното лечение – ТУРП.

При всички пациенти, със или без ЕМ, простатният синдром включва клинично следните 2 вида урологични симптоми на долните пикочни пътища: симптоми на изпразване (обструктивни) и симптоми на задръжка (иритативни).

Получените резултати не показват различия по отношение на клиничните симптоми у пациентите със и без простатна ЕМ – както общо, така и поотделно във всяка една от двете изследвани групи.

Серумно ниво на PSA при пациентите с ЕМ на ТУРП-материал (френски контингент пациенти)

Нивото на основния лабораторен простатен маркер – PSA при ЕМ се изследва единствено у френския контингент пациенти, поради липса на параклинични данни в групата български пациенти.

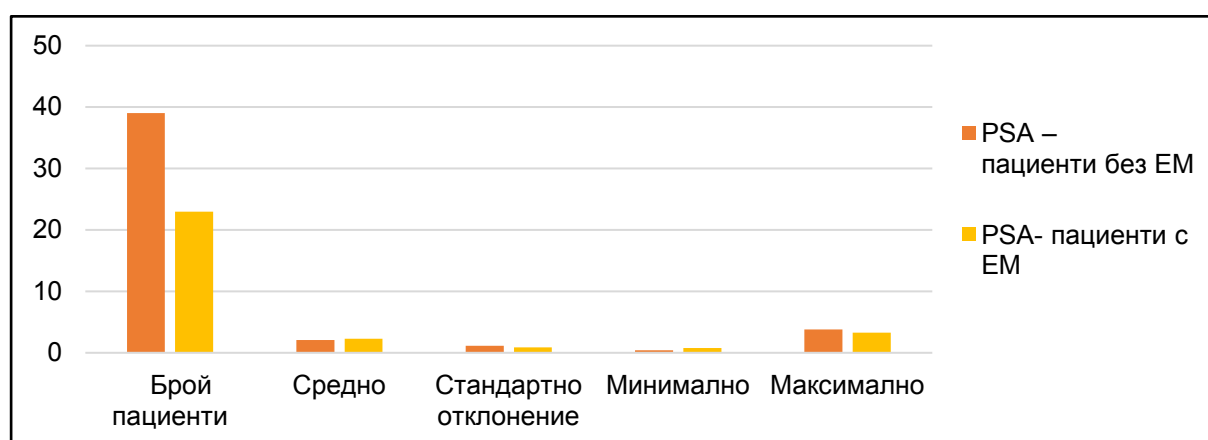
От изследваните общо 62 случая в 23 се наблюдава наличие на ЕМ (37.1%).

В тях средната стойност на изследвания PSA е 2.31 ng/ml, а минималната и максималната стойност са съответно – 0.85 ng/ml и 3.34 ng/ml. В останалите 39 случая без наличие на ЕМ (62.9%), средната стойност на PSA е 2.09 ng/ml, а минималната и максималната му стойност варират между 0.44 ng/ml и 3.85 ng/ml.

Стойностите на PSA в ТУРП-пациентите със и без ЕМ, са обобщени на Таблица 4 и представено графично на Фигура 3.

Таблица 4. Стойностите на PSA (ng/ml) при пациенти, оперирани с ТУРП със и без наличие на простатна ЕМ

Вариабилни показатели	Брой пациенти	Средно	Стандартно отклонение	Минимално	Максимално
PSA – пациенти без ЕМ	39	2,09	1,19	0,44	3,85
PSA – пациенти с ЕМ	23	2,31	0,91	0,85	3,34



Фигура 3. Графично представяне на стойностите на PSA (ng/ml) при пациенти, оперирани с ТУРП, със и без наличие на простатна ЕМ

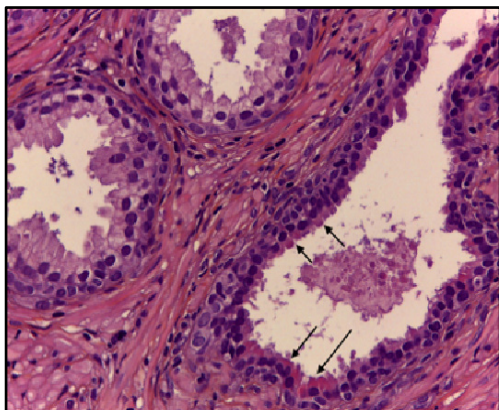
Получените от нас и обработени статистически резултати показват, че не се намира статистически значима корелация в стойностите на PSA между пациентите с ЕМ и без наличие на ЕМ (Mann-Whitney; $p = 0.621$).

По задача 3

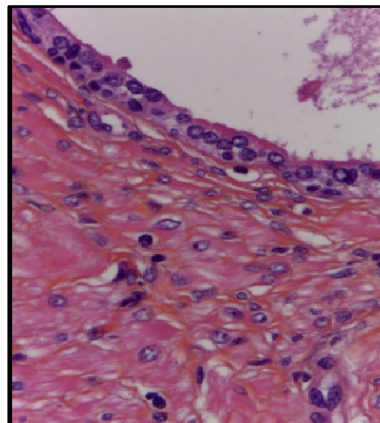
ЕМ се характеризира с наличие на интензивно оцветени еозинофилни гранули в цитоплазмата на бенигнения простатен секреторен епител. Ядрата на секреторните клетки с ЕМ са с базална локализация. Базалните клетки не съдържат еозинофилни цитоплазмени гранули. Стромата около жлезите показва лека до умерена фиброза и различен по характер и интензитет ХХП. Във всички изследвани от нас случаи, ЕМ е **локализирана в транзиторната зона** на простатата.

ЕМ в секреторните епителни клетки на простатните канали и ацини може да се наблюдава в цялата клетъчна цитоплазма (**дифузна**

локализация) (Снимка 2) или да е **частична, с предимно апикална локализация** (Снимка 3).

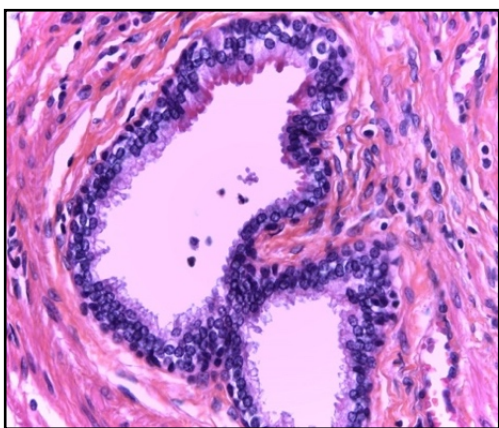


Снимка 2. ЕМ в дуктален секреторен простатен епител, ангажиращ цялата клетъчна цитоплазма (стрелки). *HES, x200.*

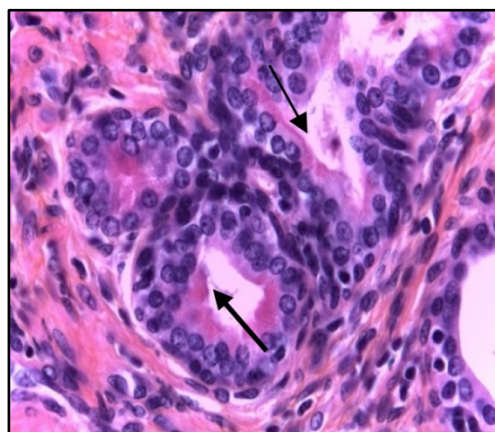


Снимка 3. ЕМ в дуктален простатен епител с частично засягане на клетъчната цитоплазма, локализирана само в апикалните части на секреторните епителни клетки. *HES, x400.*

ЕМ може да ангажира изцяло (дифузна ЕМ) или частично (фокална ЕМ) една секреторна простатна единица – простатна ацина или канал (Снимка 4), а понякога, на едно зрително поле, в една и съща простатна ацина или канал, могат да се наблюдават едновременно частична и дифузна локализация на ЕМ (Снимка 5).

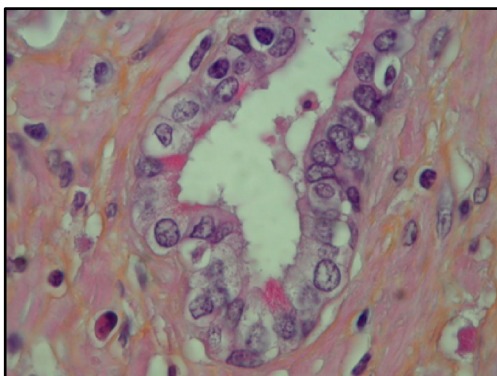


Снимка 4. Фокална ЕМ, ангажираща частично един простатен канал, с апикална цитоплазматична локализация и проминиране на базалните клетки. *HES, x400.*

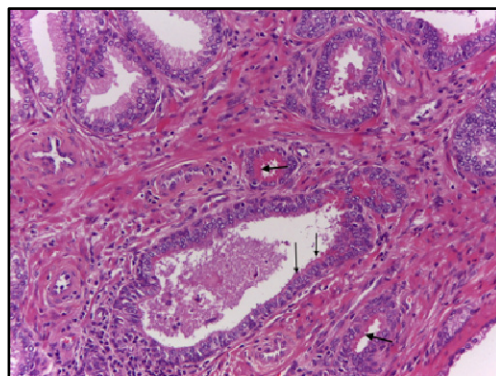


Снимка 5. ЕМ в секреторен простатен епител с частична апикална (тънки стрелки) и дифузна (дебели стрелки) цитоплазматична локализация и проминиране на базалните клетки. *HES, x630.*

ЕМ се намира в единични или малки групи от клетки (< 10 клетки) в 88.2% от случаите (Снимка 6), а в 11.8% – в големи групи от клетки (> 10 клетки) (Снимка 7).



Снимка 6. ЕМ се намира в единични клетки или в малки групи от клетки. *HES*, *x630*.



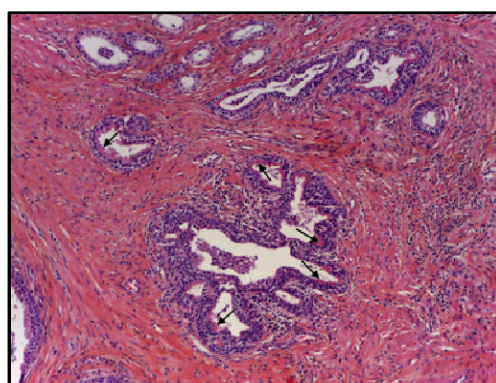
Снимка 7. ЕМ се намира в големи групи от клетки в дуктални (тънки стрелки) и ацинарни (дебели стрелки) микроанатомични тъканни структури. *HES*, *x200*.

Хистологична топографска тъканна локализация на ЕМ:

- **фокална**, когато се наблюдава само на 1 зрително поле и засяга част от един жлезен канал или лобул на умерено микроскопско увеличение (*x100*). Намира се в 73.5% от случаите (Снимка 8);
- **дифузна**, когато засягането е мултифокално и/или се наблюдава на няколко съседни зрителни полета, на умерено микроскопско увеличение (*x100*). Намира се в 26.5% от случаите (Снимка 9).

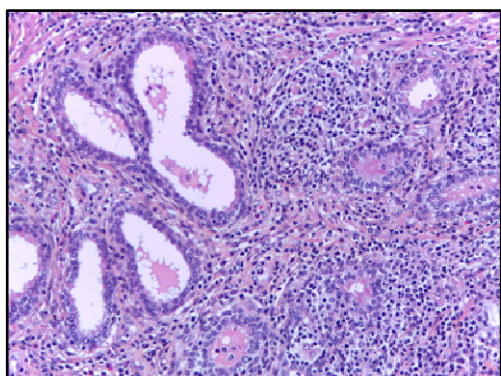


Снимка 8. Фокална ЕМ в простатни канали (стрелки); фиброза на околната простатна строма. *HES*, *x100*.



Снимка 9. Дифузно разпределение на ЕМ в перидукталните простатни ацини (стрелки); съчетание с перигландуларен ХХП-НС. *HES*, *x100*.

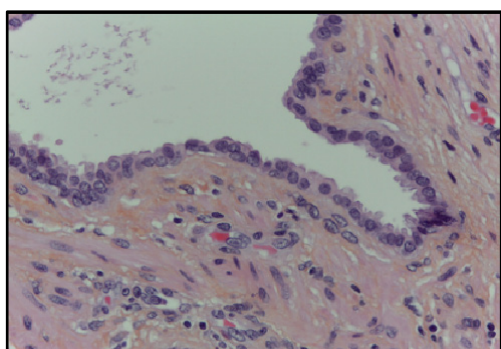
ЕМ е с предимно дуктална (в 58.8%) или предимно ацинарна локализация (в 23.6%), а в 17.6% е с едновременно дуктална и ацинарна локализация (Снимка 10).



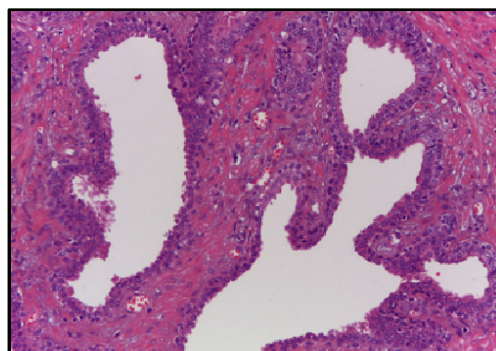
Снимка 10. ЕМ с дуктална и ацинарна локализация. *HPS*, $\times 200$.

Еозинофилните цитоплазмени гранули са с различни размери:

- когато размерът на еозинофилните гранули е между $1 - 3 \mu m$, те се наблюдават основно в секреторни епителни клетки, които са разположени предимно в **простатните канали**. Тяхната локализация в цитоплазмата е апикална, субмембранозна или дифузна (Снимка 11).
- когато размерът на еозинофилните гранули е по-голям, **над $3 - 4 \mu m$** , те са разположени по-често в **простатните жлезни ацини**. В тези случаи тяхната локализация е апикална, супра- или перинуклеарна и те много наподобяват на гранулите в интестиналните клетки на Панет (Снимка 12).

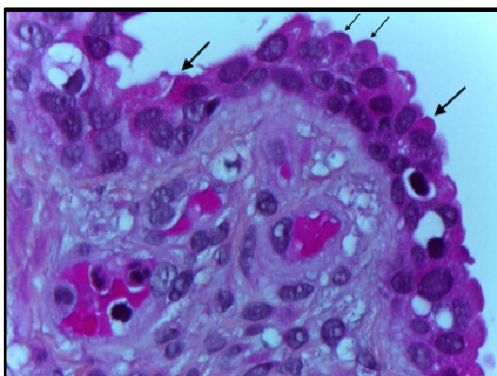


Снимка 11. ЕМ в дуктален епител с малки еозинофилни цитоплазмени гранули, с дифузна цитоплазмена локализация. *HES*, $\times 200$.



Снимка 12. ЕМ в дуктален и ацинарен епител с наличие на големи еозинофилни, цитоплазмени гранули. *HES*, $\times 200$.

Често се наблюдават зони, в които двата типа гранули се съчетават и се визуализират едновременно на едно зрително поле (Снимка 13).

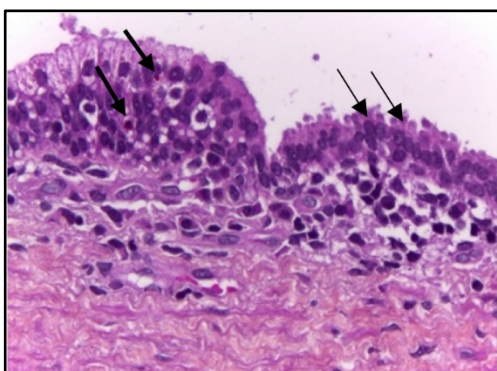


Снимка 13. ЕМ в дуктален епител с наличие на двата типа секреторни гранули – малки (тънки стрелки) и големи (дебели стрелки). *HES, x630*.

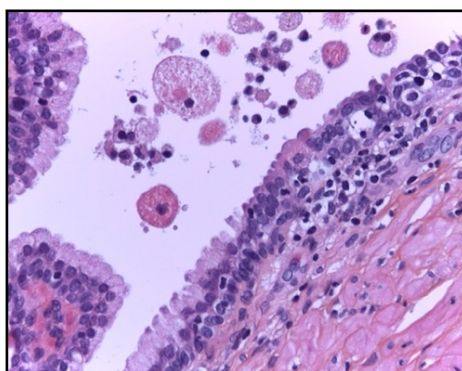
Съдба на гранулите при ЕМ

Наблюдаваме два еволюционни аспекта на еозинофилните цитоплазмни гранули при ЕМ в простатния секреторен епител:

- превръщане в липохромен пигмент – липофусцин: гранулите стават по-малко на брой, по-големи по размери и по-груби, променят цвета си от еозинофилен в кафяво-червен – липофусцинови гранули от тип 2Б (Снимка 14).
- фагоцитиране на секреторните гранули от интраепителни и/или интралуменални макрофаги (Снимка 15).



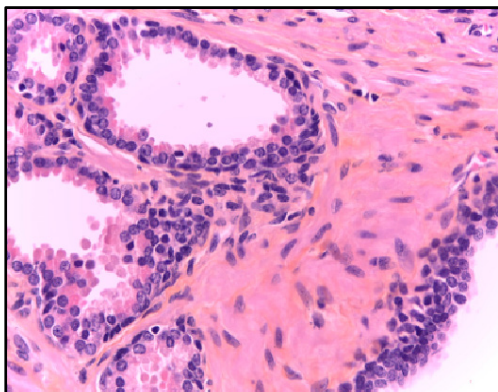
Снимка 14. ЕМ с дребни по големина гранули в секреторен дуктален епител (вдясно, тънки стрелки) в интимна асоциация с липохромен пигмент (вляво, дебели стрелки) и наличие на 3 интраепителни макрофаги със светла цитоплазма в подлежащият хиперплазирал базален епител. *HES, x400*.



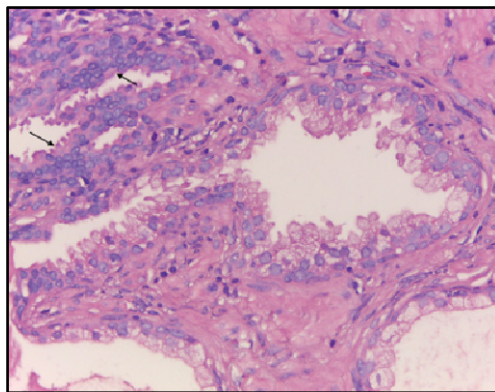
Снимка 15. ЕМ с дребни по големина гранули в секреторен дуктален епител (вдясно) и наличие на голямо количество интралуменални пенести макрофаги, някои от които са фагоцитирали еозинофилните гранули. *HES, x400*.

Оцветителни характеристики при сравнително стандартно хистологично изследване. Извършеното върху 20 случая сравнително изследване на двете стандартни хистологични оцветявания, показва по-

добра визуализация на цитоплазмените гранули на ЕМ с HPS (Снимка 16) и HES, отколкото с ХЕ (Снимка 17).



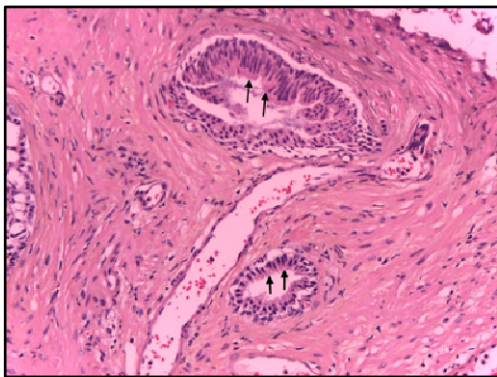
Снимка 16. ЕМ в простатен епител при оцветяване с HPS. *HPS, x400.*



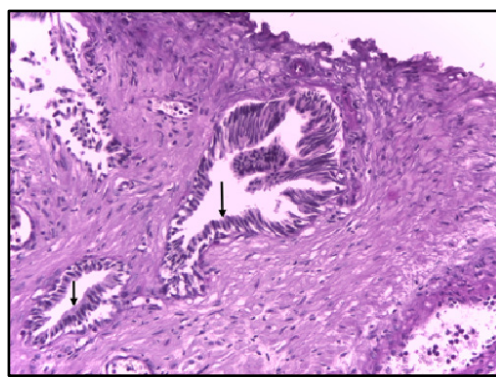
Снимка 17. ЕМ в простатен епител (стрелки) при оцветяване с ХЕ. *ХЕ, x400.*

Възможни артефакти, свързани със спецификата на използваният ТУРП-материал

Относително често, в електрокоагулираната периферия на ТУРП-фрагментите, секреторните жлезни клетки показват псевдоеозинофилна цитоплазма (Снимка 18) (електрокоагулационен артефакт, характерен за ТУРП), която е PAS-негативна (Снимка 19), за разлика от истинската ЕМ.



Снимка 18. Секреторни жлезни клетки, разположени в електрокоагулирана периферия на ТУРП-фрагмент с еозинофилна цитоплазма (стрелки). *HES, x100.*



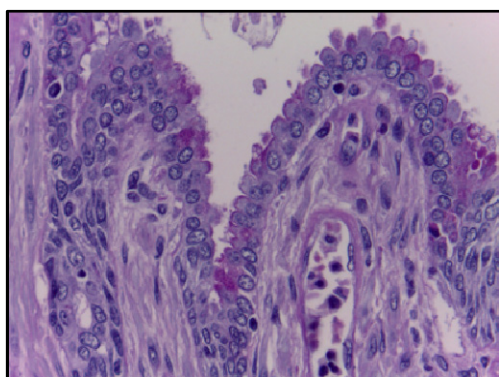
Снимка 19. Секреторните жлезни клетки с псевдо-ЕМ са негативни при оцветяване с PAS (стрелки). *PAS, x100.*

При трима от пациентите от френския контингент, при които ТУРП е реализирана с лазер енуклеация (**HOLEP**: Holmium Laser Enucleation of the Prostate), в зоните с тъканна дезинтеграция, свързана с лазера, се наблюдава

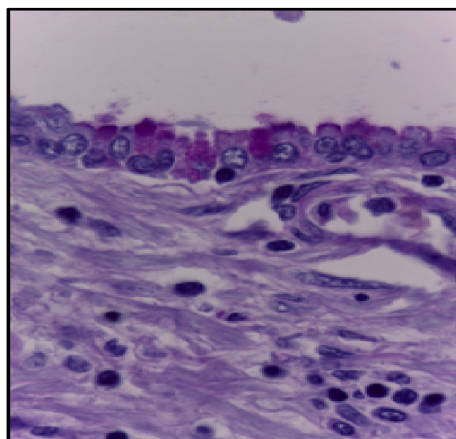
запазване на еозинофилните грануларни цитоплазмени промени в секреторните клетки с ЕМ.

Хистохимичен състав на гранулите при ЕМ

Хистохимичното изследване с PAS и PAS.D на всичките 34 случая с ЕМ от общо 61 изследвани случая (български контингент пациенти), показва, че във всички клетки с ЕМ (100%), без оглед на размерите им, гранулите са PAS и PAS.D позитивни (Снимки 20 и 21). Базалните клетки, несъдържащи еозинофилни цитоплазмени гранули, са PAS и PAS.D негативни.



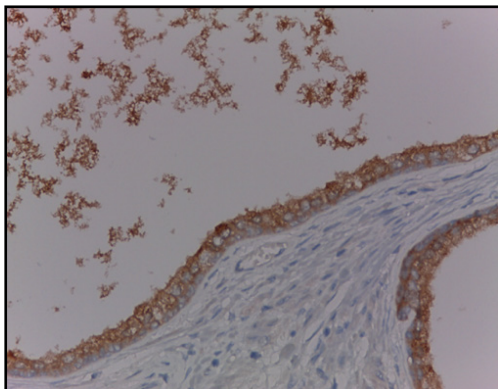
Снимка 20. Еозинофилните цитоплазмени гранули при ЕМ в секреторния простатен епител са PAS позитивни. *PAS*, *x200*.



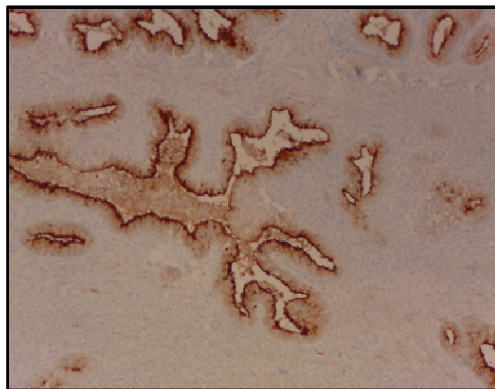
Снимка 21. Еозинофилните цитоплазмени гранули при ЕМ са PAS.D позитивни. *PAS.D*, *x400*.

По задача 4

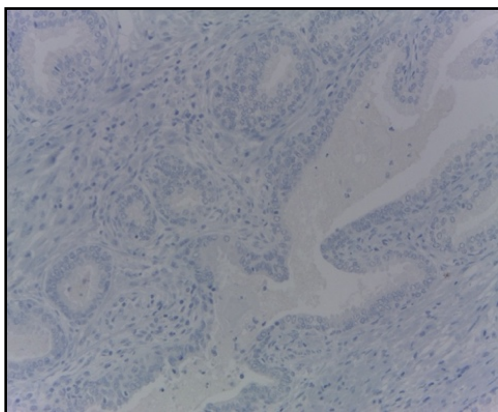
ИХХ-резултати – извършено е ИХХ-но изследване върху всичките 34 случая с наличие на ЕМ (българска група пациенти). Цитоплазмата на епителните клетки с ЕМ експресира позитивно PSA и АХТ (Снимки 22 и 23) във всички изследвани случаи (34/34). ЕМ в простатния епител е ИХХ-но негативна за хромогранин и синаптофизин във всички случаи (Снимки 24 и 25).



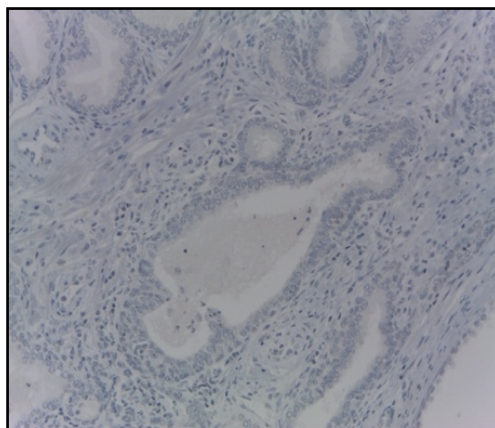
Снимка 22. Положителна експресия на PSA в секреторния простатен епител и в огнищата с ЕМ (акцентуиране на сигнала). *ИХХ, анти-PSA, x200.*



Снимка 23. Цитоплазмените гранули в секреторния простатен епител с ЕМ експресират дифузно АХТ, в огнище с неспецифичен грануломатозен простатит. *ИХХ, анти-AXT, x100.*



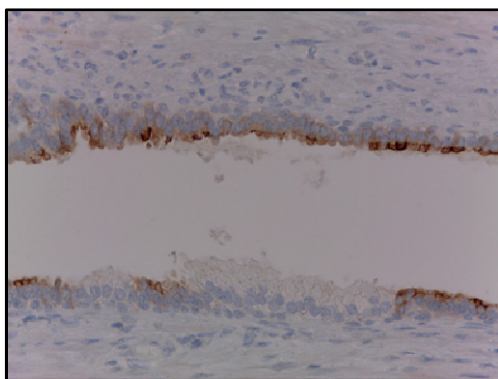
Снимка 24. ЕМ в секреторния простатен епител е имунохистохимично негативна за хромогранин. *ИХХ, анти-хромогранин-А, x200.*



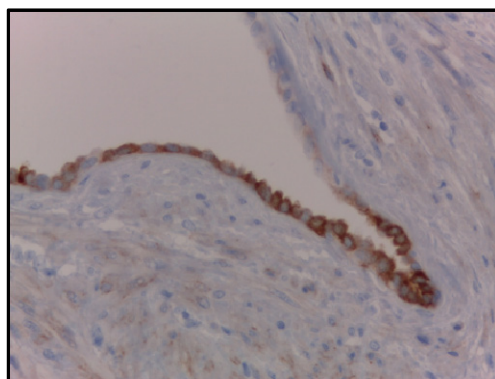
Снимка 25. ЕМ в секреторния простатен епител е имунохистохимично негативна за синаптофизин. *ИХХ, анти-синаптофизин-А, x200.*

Цитоплазмени муцини (MUC1, MUC2, MUC5 и MUC6)

MUC1: Повечето секреторни епителни клетки с ЕМ (34/34) показват слабо до силно оцветяване с MUC1-антитяло, докато заобикалящите ги базални клетки са негативни. Ние отчитаме два морфологични типа на MUC1 експресия: от нормален и аберантен тип (Снимки 26 и 27).

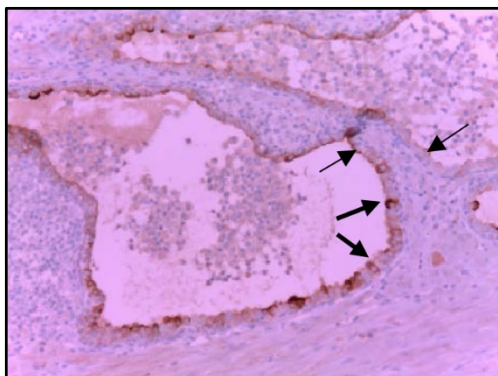


Снимка 26. ЕМ в секреторен простатен епител с положителна MUC1 имунореактивност от нормален тип (апикална-суперфициална локализация, с апикално-мембранна акцентуация) в случаите с големи еозинофилни гранули. Секреторният епител без ЕМ е негативен и служи за вътрешна негативна контрола (долу, в центъра). *ИХХ, анти-MUC1, x400.*



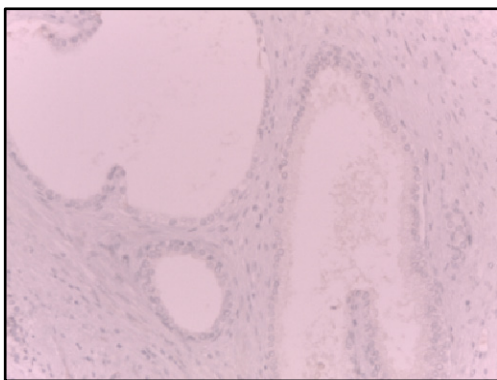
Снимка 27. ЕМ в секреторен простатен епител с положителна MUC1 имунореактивност от аберантен тип (предимно цитоплазматична перинуклеарна локализация или цитоплазматично-мембранна експресия). *ИХХ, анти-MUC1, x400.*

В зоните, в които се наблюдават едновременно и двата типа гранули, експресията е смесена – от нормален и от аберантен тип (Снимка 28).

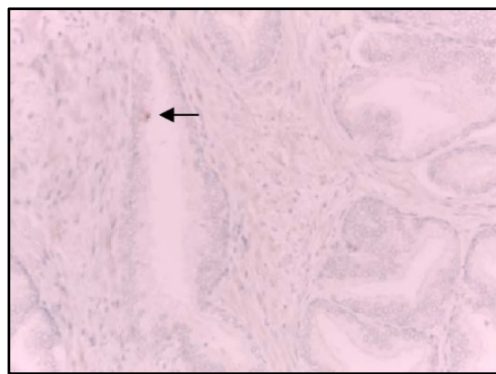


Снимка 28. ЕМ в секреторен дуктален простатен епител, в които се наблюдават едновременно и двата типа гранули, експресията на MUC1 е и от нормален (тънки стрелки), и от аберантен тип (дебели стрелки). *ИХХ, анти-MUC1, x400.*

MUC2, MUC5 и MUC6: Не се наблюдава значима експресия по отношение на тези муцини в секреторните клетки с ЕМ (Снимка 29). В нормални секреторни клетки без ЕМ се наблюдава спорадична (< 5%), MUC1 и MUC5 слаба фокална експресия от предимно аберантен тип (Снимка 30).



Снимка 29. ЕМ в секреторния простатен епител е ИХХ-негативна за MUC5. Идентични резултати по отношение на експресията на MUC2 и MUC6. ИХХ, анти-MUC5, x200.



Снимка 30. В нормалните простатни секреторни епителни клетки без ЕМ се наблюдава фокална, спорадична експресия от аберантен тип с MUC1 (стрелка). Идентични резултати по отношение на експресията на MUC5. ИХХ, анти-MUC1, x400.

Експресия и имунореактивност на епителните цитоплазмични муцини (MUCs: MUC1, MUC2, MUC5, MUC6) при простатната ЕМ е представена на Таблица 5.

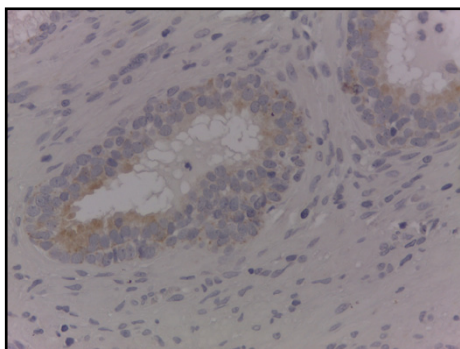
Таблица 5.

MUCs антители	MUC1	MUC2	MUC5	MUC6
Имунореактивност (случаи)	3+: 25/34	3+: 0/34	3+: 0/34	3+: 0/34
	2+: 6/34	2+: 0/34	2+: 0/34	2+: 0/34
	1+: 3/34	1+: 3/34	1+: 4/34	1+: 0/34
	-: 0/34	-: 31/34	-: 30/34	-: 34/34

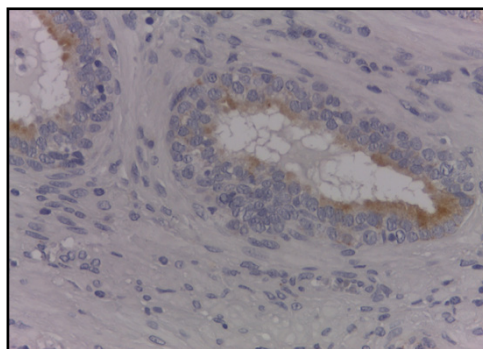
Полуколичествена скала за отчитане на имунореактивността (интензитета на ИХХ-експресия): 3+, 80% до 100% позитивни епителни клетки с ЕМ; 2+, 40% до 80% позитивни епителни клетки с ЕМ; 1+, 20% до 40% позитивни епителни клетки с ЕМ; и -, без реакция (Kaymaz et al.)

Лизозомално-асоциирани мембранни протеини – Lamp1 и Lamp2

Анализът на получените от нас резултати показва, че повечето секреторни епителни клетки с ЕМ показват слаба до силна по интензитет експресия на Lamp1 и Lamp2-антителата (Снимка 31 и 32).

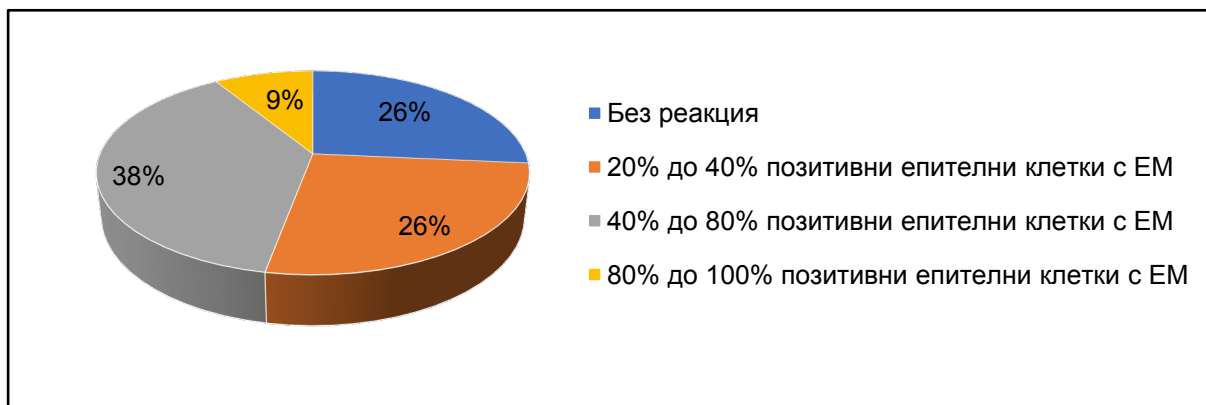


Снимка 31. ЕМ в секреторен простатен епител с положителна Lamp1 цитоплазматична експресия с интензитет на сигнала от 20% до 40%. Секреторният епител без ЕМ е негативен или слабо позитивен и служи за вътрешна контрола (сериен срез). *ИХХ, анти-Lamp1, x400.*

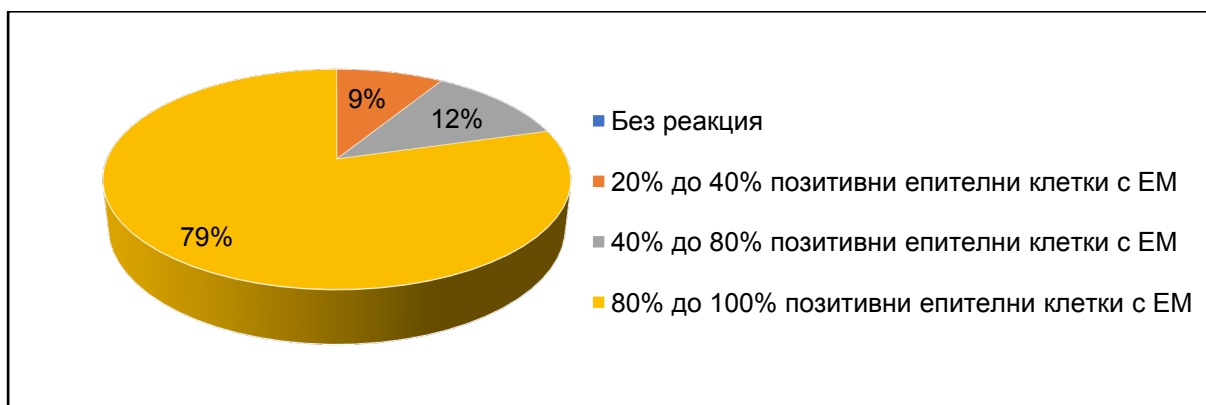


Снимка 32. ЕМ в секреторен простатен епител с положителна Lamp2 цитоплазматична експресия с интензитет на сигнала от 40% до 80%. Секреторният епител без ЕМ е негативен или слабо позитивен и служи за вътрешна контрола (сериен срез). *ИХХ, анти-Lamp2, x400.*

Процентно разпределение на ИХХ-експресията на Lamp1 и Lamp2 е представено на Фигури 4 и 5.



Фигура 4. Lamp1



Фигура 5. Lamp2

p63

ИХХ-експресия на маркера p63 е изследвана в 6 подобрани случая – по 3 типични случая с БКХ и ЕМ (ТУРП-материал на български пациенти). Във всички изследвани случаи се наблюдава експресия на p63, като сигналът е локализиран в базалните клетки – тези с хиперплазия в огнищата с БКХ и подлежащите около зоните с ЕМ.

Изграждане на хистологичен и ИХХ-диагностичен и диференциално-диагностичен алгоритъм на ЕМ

Въз основа на по-горе посочените резултати, ние предлагаме обобщен **алгоритъм от хистологични, хистохимични и ИХХ-критерии за диагностика на ЕМ** в простатния епител:

1. ЕМ се локализира в бенигнения простатен секреторен епител.
2. Еозинофилен вид на гранулите на стандартно оцветяване с ХЕ.
3. Изразена флоксинофилия при оцветяване с НРS и НЕС.
4. Различни по големина размери на цитоплазмените гранули:
 - малки гранули, с размери 1 – 3 μm , наблюдавани основно в секреторните епителни клетки на простатните канали; тяхната локализация в цитоплазмата е апикална, субмембранозна или дифузна;
 - големи гранули, с размери над 3 – 4 μm , наблюдавани основно в секреторните епителни клетки на простатните жлезни ацини; тяхната локализация е апикална, супра- или перинуклеарна и те много наподобяват на гранулите в интестиналните клетки на Панет.
6. Хистохимично, цитоплазмените гранули при ЕМ са PAS и PAS.D позитивни.
7. ИХХ-но, цитоплазмените гранули при ЕМ са PSA+, AXT+, MUC1+, Lamps+, Хромогранин-, Синаптофизин-.

Въз основа на по-горе посочените резултати и на данните от литературата, ние предлагаме **обобщен алгоритъм за диференциална диагноза на ЕМ** в простатния епител:

1. Простатен липохромен пигмент: цитоплазмените гранули са по-груби, перинуклеарно локализирани, с различен цвят (жълт, сив, кафяв до виолетов) и често с периферен базофилен пръстен (Д. Диков 2015).
2. Простатни епителни танатозоми (хиалинни телца): цитоплазмените глобули са с хиалинен вид, големи размери (> 5 μm), парануклеарна локализация, наличие на ядрени фрагменти (Д. Диков 2015).
3. Интраепителни еритроцити: различни са по форма, не винаги са окръглени, еозинофилията им варира – от интензивна, когато

- еритроцитите са с по-малки размери, до по-бледа, когато са с по-големи размери (JT. Beranek 2001; A. Dekker 1971).
4. Интраепителни еозинофилни левкоцити: тяхната цитоплазма е по-изразено гранулирана и имат двойно лобулирани ядра (Д. Диков 2015).
 5. Нормални простатни секреторни гранули (ПСГ): те експресират ИХХ-но PSA и Lamps (слаба интензивност на сигнала), но са MUC1 негативни, светли са и с пенест вид на конвенционални хистологични препарати (CS. Leung 1985; Д. Диков 2015).
 6. Меланин (гранули при простатен стромален син невус): гранулите са черни на цвят на конвенционално оцветени хистологични препарати и са с предимно стромална локализация (CS. Leung 1985; MG. Weaver 1992).
 7. Интралуминални кристалоиди: те са еозинофилни, но интралуминално разположени и с ромбовидна форма и контекстът е туморен (MG. Weaver 1992).
 8. Вирусоподобни частици. Те са с много малки размери (MG. Weaver 1992).
 9. Псевдоеозинофилни цитоплазмени промени, индуцирани от ТУРП-електрокоагулация – вж. по-горе „Диференциално-диагностичен алгоритъм на псевдоеозинофилните цитоплазмени промени, индуцирани от ТУРП-електрокоагулация и истинската ЕМ“.

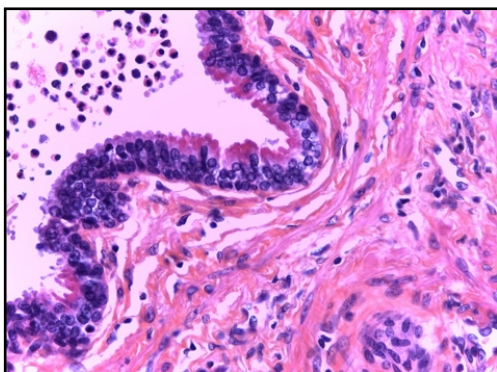
По задача 5

ЕМ в нормална простата

В нито един от контролната група пациенти (нормални аутопсионни простати без атрофия, без сигнификантен остър или хроничен възпалителен инфилтрат, с нормално ниво на интраепителните лимфоцити, без данни за БПХ, БКХ, ПИН и Пк, със средна възраст от 44,89 г.) не се открива ЕМ.

Съчетание на ЕМ с ХП

Съчетание на ЕМ с остър хистологичен простатит (ОХП) (Снимка 33), чието процентно съотношение е представено на **Таблица 6**.



Снимка 33. ЕМ в секреторен простатен епител, проминиране на базалните клетки и данни за ОХП, с наличие на неутрофилни левкоцити в лумена на дилатирания канал. *HES, x400.*

Таблица 6. Съчетание на ЕМ с ОХП на ТУРП-материал

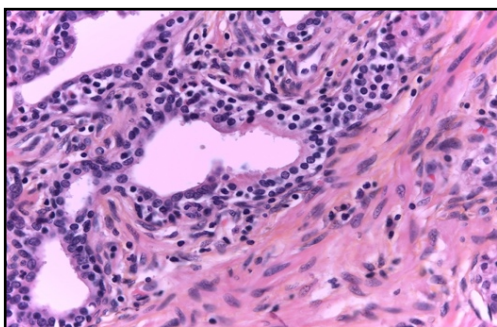
			Остро възпаление		Общо
			Няма ОВ	Има ОВ	
Еозинофилна метаплазия	Няма ЕМ	N	25	2	27
		%	51,0%	16,7%	44,3%
	Има ЕМ	N	24	10	34
		%	49%	83,3%	55,7%
Общо		N	49	12	61
		%	100,0%	100,0%	100,0%

Приложеният статистически анализ (Fisher's Exact Test) не показва статистически значима разлика между ЕМ и ОХП ($p = 0,502$).

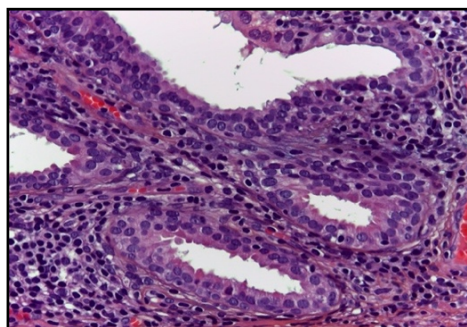
Статистически коментар: p-value е близко до граничното.

Съчетание на ЕМ с хроничен хистологичен простатит (ХХП)

ЕМ се съчетава с ХХП от ниска степен (ХХП-НС) (Снимка 34) и с ХХП от висока степен (ХХП-ВС) (Снимка 35).



Снимка 34. ЕМ в секреторен простатен епител с частична апикална цитоплазматична локализация, проминиране на базалните клетки и данни за ХХП-НС, с наличие на мононуклеарен перигландуларен възпалителен инфилтрат. *HES, x400.*



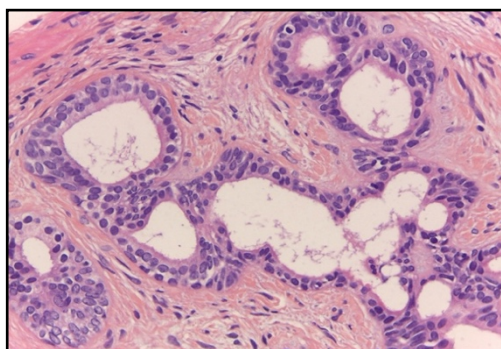
Снимка 35. ЕМ в секреторен простатен епител, проминиране на базалните клетки и данни за ХХП-ВС, с наличие на обилен мононуклеарен перигландуларен възпалителен инфилтрат с нодуларен характер. *HES, x400.*

Таблица 7. Съчетание на ЕМ с ХХП в зависимост от интензитета на възпалението на ТУРП-материал.

			ХХП			Общо
			Няма ХХП	ХХП-НС	ХХП-ТС	
Еозинофилна метаплазия	Няма ЕМ	N	14	13	0	27
		%	100,0%	29,5%	0,0%	44,3%
	Има ЕМ	N	0	31	3	34
		%	0,0%	70,5%	100,0%	55,7%
Общо		N	14	44	3	61
		%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Приложеният анализ (Fisher's Exact Test) показва статистически значима разлика между честотата на ЕМ и ХХП ($p = 0,000$).

Съчетание на ЕМ с БКХ на ТУРП-материал (Снимка 36), чието процентно съотношение е представено на **Таблица 8**.



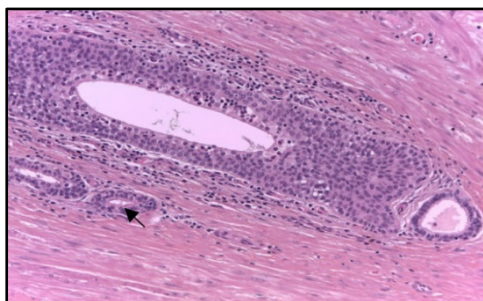
Снимка 36. БКХ с микрокистична дилатация, в интимна асоциация с ЕМ. HES, x200.

Таблица 8. Съчетание на ЕМ с БКХ на ТУРП-материал

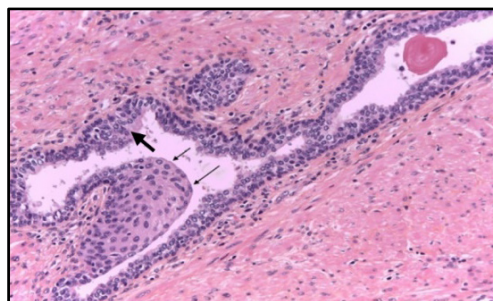
			Базалноклетъчна хиперплазия		Общо
			Няма БКХ	Има БКХ	
Еозинофилна метаплазия	Няма ЕМ	N	27	0	27
		%	73,0%	0,0%	44,3%
	Има ЕМ	N	10	24	34
		%	27,0%	100,0%	55,7%
Общо		N	37	24	61
		%	100,0%	100,0%	100,0%

Приложеният анализ (Fisher's Exact Test) показва статистически значима разлика между честотата на ЕМ и БКХ ($p = 0,000$).

Съчетание на ЕМ с ПЕМ: уротелна метаплазия (УМ), плоскоклетъчна метаплазия (ПМ) и муцинозна метаплазия (ММ) (Снимки 37, 38 и 39).



Снимка 37. УМ в голям по калибър простатен канал (център, горе) в съчетание с ЕМ в малки по размери канали (център-ляво, долу, стрелка). *HES, x100.*



Снимка 38. ПМ в среден по калибър простатен канал (вляво, тънки стрелки) в съчетание с начална ЕМ в малки по размери канали (дебела стрелка). *HES, x100.*

Таблица 9. Съчетание на ЕМ с УМ на ТУРП-материал

			Уротелна метаплазия		Общо
			Няма УМ	Има УМ	
Еозинофилна метаплазия	Няма ЕМ	N	27	0	27
		%	61,4%	0,0%	44,3%
	Има ЕМ	N	17	17	34
		%	38,6%	100,0%	55,7%
Общо		N	44	17	61
		%	100,0%	100,0%	100,0%

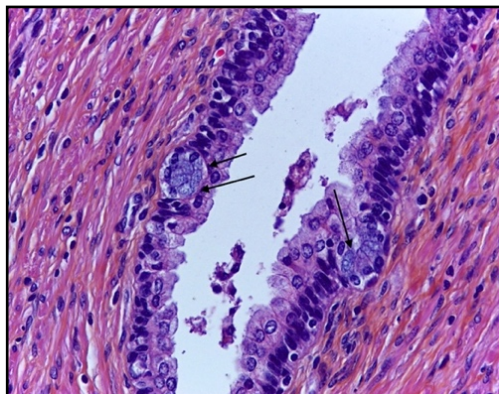
Приложеният анализ (Fisher's Exact Test) показва статистически значима разлика между честотата на ЕМ и УМ ($p = 0,000$).

Таблица 10. Съчетание на ЕМ с ПМ на ТУРП-материал

			Плоскоклетъчна метаплазия		Общо
			Няма ПМ	Има ПМ	
Еозинофилна метаплазия	Няма ЕМ	N	27	0	27
		%	50,0%	0,0%	44,3%
	Има ЕМ	N	27	7	34
		%	50,0%	100,0%	55,7%
Общо		N	54	7	61
		%	100,0%	100,0%	100,0%

Приложеният анализ (Fisher's Exact Test) показва статистически значима разлика между честотата на ЕМ и ПМ ($p = 0,014$).

Съчетание на ЕМ с ММ, БПХ и Пк



Снимка 39. ММ (стрелки) в среден по калибър простатен канал. *HES*, $\times 400$.

Таблица 11. Съчетание на ЕМ с ММ на ТУРП-материал

			Муцинозна метаплазия		Общо
			Няма ММ	Има ММ	
Еозинофилна метаплазия	Няма ЕМ	N	24	3	27
		%	41,4%	100,0%	44,3%
	Има ЕМ	N	34	0	34
		%	58,6%	0,0%	55,7%
Общо		N	58	3	61
		%	100,0%	100,0%	100,0%

Приложеният анализ (Fisher's Exact Test) не показва статистически значима разлика между честотата на съчетание на ЕМ и ММ ($p = 0,081$).

Таблица 12. Съчетание на ЕМ с БПХ на ТУРП-материал

			Бенигна простатна хиперпазия		Общо
			Няма БПХ	Има БПХ	
Еозинофилна метаплазия	Няма ЕМ	N	0	27	27
		%	0,0%	44,3%	44,3%
	Има ЕМ	N	0	34	34
		%	0,0%	55,7%	55,7%
Общо		N	0	61	61
		%	0,0%	100,0%	100,0%

Приложеният анализ (Fisher's Exact Test) не открива статистически значима разлика между честотата на съчетание на ЕМ и БПХ поради горедолу еднаквия процент (около 50%) на пациентите без/с ЕМ ($p = NA$; not available).

Статистически коментар: p -value е NA (not available) – не може да се изчисли и да се приложи статистически тест, защото реално всички пациенти имат БПХ.

Таблица 13. Съчетание на ЕМ с ПК на ТУРП-материал

			Простатен карцином		Общо
			Няма ПК	Има ПК	
Еозинофилна метаплазия	Няма ЕМ	N	23	4	27
		%	40,4%	100,0%	44,3%
	Има ЕМ	N	34	0	34
		%	59,6%	0,0%	55,7%
Общо		N	57	4	61
		%	100,0%	100,0%	100,0%

Приложеният анализ (Fisher's Exact Test) показва статистически значима разлика между честотата на съчетание на ЕМ и ПК ($p = 0,034$).

По задача 6

Резултатите, получени дотук, обобщени в задача 6, ще бъдат подробно разгледани и обсъдени в следваща глава на Дисертацията – „Обсъждане“.

V. Обсъждане

Метаплазията е обратим процес, представляващ превръщане на една тъкан в друга, сродна на първата (изходната) (M. Lugo 1984). Епителната метаплазия е резултат от адаптивно заместване на клетки, които са чувствителни спрямо вредното действие на агенти от околната среда, с други клетки, способни да издържат на такава увреда (SA. Rubio 1987). Простатният епител има ограничен репертоар от отговори срещу тъканна увреда. Тези отговори включват различни метапластични и пролиферативни лезии, които могат да имитират Пк (DG. Bostwick 2014). ПЕМ обикновено възникват вторично, в резултат на възпаление, промяна в хормоналната среда или тъканно увреждане. Най-често срещаните лезии в ежедневната практика на патолога са четирите основни категории ПЕМ (ПМ, УМ, ММ и ЕМ) и БКХ. Диагностично-прогностичното значение на ПЕМ е единствено в нейния псевдонеопластичен тъкънен характер, тъй като е доказано, че простатните метапластични епителни пролиферации не са прекурсори на Пк (DG. Bostwick 2014; P. Humphrey 2013). Честотата на ПЕМ варира от 0.6% (УМ) до 94% (ПМ), в зависимост от изследвания материал (DG. Bostwick 2014; P. Humphrey 2013). Нашите резултати, получени при изследването на ТУРП-материали, потвърждават тази висока честота на ПЕМ. Ние откриваме ПЕМ общо в 60.6% и БКХ – в 39.3% от случаите, като и двете лезии се локализируют в транзиторната зона на простатата (ТУРП-материал).

БКХ представлява увеличение на броя на базалните клетки (GB. Dermer 1978; LT. Devaraj 1993). БКХ често се наблюдава в транзиторната зона на простатата и е свързана с възпаление и простатен инфаркт (DG. Bostwick 2014). Пролиферативната активност в бенигнената простатна тъкан се увеличава два-три пъти при наличие на огнища с хронично възпаление и метаплазия, но метапластичните пролиферации не са прекурсори и не представляват рисков фактор за развитието на Пк (P. Humphrey 2013). БКХ се наблюдава най-често като вторична промяна при БПХ или в огнища с ХП (LT. Devaraj 1993). В огнища с БПХ, БКХ се локализира често в периферията на възлите, на границата със зона с простатен инфаркт (J. McNeal 2012). Смята се, че пролиферацията на базалните клетки представлява компенсаторна реакция, развиваща се при исхемия (J. McNeal 2012). Базалните клетки са основен източник за непряката ПМ и УМ в простатния епител, а при простатната склерозираща аденоза те приемат миоепителна диференциация (LT. Devaraj 1993). БКХ се среща в 3 до 15% от всички

изследвани урологични материали (GB. Dermer 1978; LT. Devaraj 1993; DG. Bostwick 2014 ; P. Humphrey 2013).

Нашите резултати на ТУРП-материал показват, че БКХ се наблюдава в 39.3% от случаите в българската група пациенти.

Обсъждане по задача 1.

До този момент, в литературата липсват количествени изследвания на ТУРП-материал, касаещи простатната ЕМ. Единственото проведено до момента полуколичествено проучване (без използване на статистически анализ) на голяма серия от пациенти на възраст над 42 г., е реализирано на материали от ТППБ и на оперативен материал от тотални простатектомии (L. Cheng 2008). Изследването установява, че честотата на ЕМ варира от 12% до 23% на ТППБ и 20% на материал от тотални простатектомии (L. Cheng 2008). На ТУРП-материал лезията е описана само в единични случаи (MG. Weaver 1992; CP. Frydman 1992). Нашите резултати показват честота на ЕМ на ТУРП-материал (общо) от 46.3% – 55.7% в българска група пациенти и 37.1% във френската група пациенти.

До този момент в литературата липсват количествени изследвания със статистически анализ, касаещи простатната ЕМ. Анализът на получените резултати показва, че няма статистически значима разлика по отношение на честотата на ЕМ в изследваните български и френски случаи ($p = 0,131$). Намерената от нас честота на ЕМ в изследваните ТУРП-материали е два пъти по-висока от тази, описана в ТППБ и в оперативен материал от тотални простатектомии (L. Cheng 2008). Обяснението на този факт е свързано с по-изразеното и по-често срещано простатно възпаление при пациентите, оперирани с ТУРП, имайки предвид, че честотата на ЕМ е в статистически значима корелация с ХХП (вж. по-долу).

До този момент в литературата липсват количествени изследвания със статистически анализ, касаещи средната възраст на пациентите с простатна ЕМ. Нашите резултати показват, че средната възраст на пациентите с ЕМ на ТУРП-материал (общо) е 71 години и варира от 54 до 87 години. В българска група пациенти тя е 72 години (54 – 87 години), а във френската група пациенти – 69 години (57 – 85 години). Тези резултати са подобни на установените в литература на другите видове простатни материали (L. Cheng 2008). Анализът на получените резултати не показва статистически значима корелация между средната възраст на пациентите и наличието или не на простатна ЕМ ($p = 0.271$).

До този момент в литературата липсват количествени изследвания със статистически анализ при простатната ЕМ, касаещи някои елементи на географска патология. Нашите резултати показват, че не се намира статистически значима разлика по отношение на някои основни показатели (честота и възраст) при пациентите със и без ЕМ в зависимост от географското разпространение на този вид метаплазия – Източна Европа/Западна Европа. Тези резултати са в подкрепа на убиквитерния характер на ЕМ, в чието развитие вероятно не се намесват локо-регионални фактори: географско разположение, климат, начин на хранене, етнически, културални и социо-икономически фактори.

Обсъждане по задача 2.

До този момент в литературата липсват количествени изследвания, касаещи основните клинични симптоми при простатната ЕМ. Получените от нас резултати не показват различия по отношение на клиничните симптоми у пациентите със и без простатна ЕМ. Основните клинични симптоми при пациентите с ЕМ (общо и поотделно в двете групи пациенти – български и френски) са неспецифични и идентични с тези на БПХ: т. нар. простатен синдром, включващ 2 вида урологични симптоми на долните пикочни пътища – симптоми на изпразване (обструктивни) и симптоми на задръжка (иритативни). Тези клинични симптоми са основна индикация за проведеното хирургично лечение – ТУРП.

До този момент в литературата липсват количествени изследвания със статистически анализ, касаещи серумното ниво на PSA при простатната ЕМ. Нашите резултати показват, че средната стойност на серумния PSA при пациенти с ЕМ на ТУРП-материал е 2.31 ng/ml (вариращ от 0.85 ng/ml и 3.34 ng/ml). Не се открива статистически значима корелация между нивото на серумния PSA при пациенти със и без ЕМ ($p = 0.621$).

Обсъждане по задача 3.

От морфологична гледна точка, наличието на еозинофилни цитоплазмени гранули в простатния епител на рутинно оцветени срези е слабо познат морфологичен феномен, който в ранните описания е известен като Панетоклетъчно-подобни промени (ПКПП) или Панетоклетъчно-подобна метаплазия (ПКПМ) (MG. Weaver 1992; CP. Frydman 1992). Гранулите се струпват предимно в апикалния полюс на секреторните клетки (MG. Weaver 1992; CP. Frydman 1992; L. Cheng 2008). Съгласно

съвременните разбирания относно простатната ЕМ, термините ПКПП и ПКПМ остават запазени само за Пк, съдържащ невроендокринни клетки с големи еозинофилни гранули (MG. Weaver 1992; CP. Frydman 1992; H. Ablakha 1994). Според актуалната дефиниция, наличието на големи еозинофилни гранули в бенигнения простатен епител се нарича „еозинофилна метаплазия” (ЕМ) (L. Cheng 2008). От друга страна, цитоплазмената еозинофилия в бенигнения дуктален и ацинарен простатен епител може да се дължи не само на големи гранули, но и на такива с по-малки размери. В ранните публикации за ЕМ, авторите описват еозинофилните цитоплазмени промени като наличие на „малки окръглени гранули, изпълващи апикалната цитоплазма на клетката“ (MG. Weaver 1992; CP. Frydman 1992). Очевидно е, че има разлики в размера на гранулите при ЕМ, които са описани в по-ранните и по-късните публикации, и че този проблем не е все още достатъчно добре проучен. Получените от нас резултати при проведеното измерване на еозинофилните цитоплазмени гранули при простатната ЕМ показва, че те са с различни размери и с различна микроанатомичната архитектурна локализация. Размерът на гранулите с предимно дуктална епителна локализация варира между 1-3 μm и тяхното цитоплазмено разположение е апикално, субмембранозно или дифузно. Когато размерът на еозинофилните гранули е по-голям, над 3-4 μm , те са разположени по-често в секреторния епител на ацините. В тези случаи тяхната локализация е апикална супра- или перинуклеарна и те много приличат на гранулите в интестиналните клетки на Панет. Често се наблюдават и зони, където двата типа гранули са комбинирани и се срещат едновременно на едно зрително поле. Наличието на канали и ацини, съдържащи едновременно и двата типа еозинофилни гранули, показва че вероятно различният размер на гранулите отразява и кореспондира с различния стадий на тяхната секреция и цитоплазмено разпространение. Константната експресия на MUC1 (вж. по-долу) и в двата вида еозинофилни цитоплазмени гранули при простатната ЕМ е в подкрепа на техния единен произход.

До този момент в литературата липсват прецизни полуколичествени морфологични изследвания, касаещи клетъчните и тъканните топографски особености на простатната ЕМ. Известно е от направената библиографската справка, че в 76% от случаите ЕМ се открива в периферната зона на простатната жлеза (L. Cheng 2008), докато в транзиторната зона има описани само единични случаи (MG. Weaver 1992; CP. Frydman 1992; L.

Cheng 2008). Нашите резултати, получени изцяло на ТУРП-материал, показват, че ЕМ се локализира много често (в 100% от случаите на ТУРП-материал) в транзиторната зона на простатната жлеза. От литературата става известно, че ЕМ се наблюдава по-често в епитела на малките и средноголемите простатни канали, отколкото в този на ацините (MG. Weaver 1992; CP. Frydman 1992), без да разполагаме до момента с цифрово измерение на тази локализационна хистологична органична предилекция. Промените са фокални и разпръснати сред простатният паренхим, могат да обхванат до 5% от простатните жлези (CP. Frydman 1992), като засегнатите канали и ацини са частично или изцяло ангажирани от лезията (MG. Weaver 1992). С цел реализиране на прецизно изследване на морфологичните особености, касаещи клетъчните и тъканни топографски характеристики на ЕМ, ние създадохме две скали за полуколичествена хистологична оценка. Те служат за оценка на хистологичното разпространение на ЕМ (фокална и дифузна ЕМ) и на хистологичното разпределение на ЕМ (ЕМ в единични или малки групи от клетки и ЕМ в големи групи от клетки). Полуколичествените резултати от нашето изследване прецизират наблюденията на други автори (L. Cheng 2008), че ЕМ е често фокална лезия (73.5%), развиваща се в малки групи от секреторни епителни клетки (88.2%) на предимно дуктални простатни структури (58.8%).

Въз основа на проведените от нас качествени и полуколичествени изследвания, ние систематизираме схематично локализацията на простатната ЕМ:

- според локализацията в секреторния простатен епител;
- според локализацията в секреторната простатна единица (ацина или канал);
- според топографската тъканна локализацията в простата;
- според микроанатомичната архитектурна локализацията в простата.

До този момент в литературата липсват качествени хистологични изследвания, касаещи съдбата на гранулите при ЕМ. Ние наблюдаваме два еволюционни аспекта на еозинофилните цитоплазмени гранули при ЕМ в простатния секреторен епител:

1. Превръщане в липохромнен пигмент (липофусцинови гранули от тип 2Б). Смята се, че у човека образуването на липохромнен пигмент в простатния епител е „белег за редуцирана метаболитна активност и на инволюция, дължаща се на относителен андрогенен дефицит“ (G. Aumüller 1977). Други автори описват наличие на големи количества липохромнен

пигмент в клетките на Пк след лечение с естрогенни препарати, което е в полза на лекарствено индуцирана цитотоксичност (BO. Nilsson 1999). Образуването на липохромен пигмент в простатния епител е резултат не само от ендогенния клетъчен метаболизъм, но и на интензивната автофагоцитоза на вътреклетъчните органели (VB. Shidham 1999). Този процес е морфологично илюстриран чрез т.нар. липохромни пигментни гранули от тип 2Б (VB. Shidham 1999; Д. Диков 2015). В светлината на тази кратка литературна справка относно простатния липохромен пигмент, ние можем да отбележим, че нашите резултати показват за първи път връзката между простатния липохромен пигмент и ЕМ. Цитоплазмените еозинофилни гранули при простатната ЕМ се фагоцитират (хетерофагоцитоза) от околните секреторни епителни клетки и в тяхната цитоплазма те се превръщат в липохромни пигментни гранули от тип 2Б.

2. Фагоцитиране на гранулите от интраепителни и/или интралуминални макрофаги. Ние не наблюдаваме, подобно на други автори и подобно на други простатни микроструктури (танатозоми), елиминиране на гранулите на клетките с ЕМ по лимфен път (JT. Beranek 2001).

Известно е от литературата, че цитоплазмените гранули при простатната ЕМ са позитивни с хистохимичната оцветителна реакция с PAS преди и след третиране с диастаза (PAS.D) (MG. Weaver 1992). Нашите резултати потвърждават в 100% от случаите на ТУРП-материал позитивността на цитоплазмените гранули при простатната ЕМ с PAS и PAS.D. По този начин ние потвърждаваме присъствието на въглехидратна негликогенна компонента в цитоплазмените гранули при ЕМ. Най-вероятното обяснение на това е наличието на секреторна екзокринна компонента в състава на тези гранули.

До този момент в литературата липсва сравнително хистологично изследване, касаещо оцветителните характеристики на ЕМ при стандартните хистологични оцветявания. Ние проведохме сравнително изследване на цитоплазмените гранули при ЕМ на три стандартни хистологични оцветявания, използвани в България и в англо-саксонските страни (ХЕ) и във франкофонските страни (HES и HPS). Нашите резултати показват за първи път, че по-добра визуализация и репродуктивна морфологична интерпретация на цитоплазмените гранули при ЕМ има при използването на оцветяванията HES и HPS. Флоксинофилията и позитивността с PAS.D показват, че цитоплазмените гранули в ЕМ съдържат протеини и въглехидрати. Флоксинът е постоянна съставка на

основната оцветителна техника (HES и HPS) във френскоговорящите страни и се използва също за визуализиране на богатите на протеин зимогенни (екзокринни) гранули (С. Doglioni 1993). Освен че са с диагностична и диференциално-диагностична цел, тези наши резултати представляват допълнително хистохимично доказателство за отчасти екзокринния характер на гранулите при простатната ЕМ.

До този момент в литературата липсват хистологични изследвания, касаещи възможните тъканни артефакти, свързани със спецификата на използвания ТУРП-материал при хистологичната диагноза и диференциална диагноза на ЕМ. Нашето изследване показва, че в електрокоагулираната периферия на резецираните ТУРП-фрагменти, в 70% от случаите се наблюдава бенигнни дуктални или ацинарни жлезни структури с цитоплазмена еозинофилия. Липсата на грануларност при стандартното хистологично оцветяване, както и негативността на клетките на тези структури с PAS.D и с MUC1, за разлика от секреторните клетки с истинска ЕМ, показва, че се касае за цитоплазмена псевдоеозинофилия. Очевидно, това е артефакт, дължащ се на електрокоагулацията по време на ТУРП-хирургична процедура. Препоръчително е, при отчитането на ТУРП-материал на една простатна лезия като ЕМ, такива зони или да не се вземат предвид, или да се използва създаденият от нас диференциално-диагностичен алгоритъм.

До този момент в литературата липсват хистологични изследвания, касаещи възможните артефакти при хистологичната диагноза и диференциалната диагноза на ЕМ, свързани със спецификата на лазер-резекцията на простатата (HOLEP: Holmium Laser Enucleation of the Prostate). Нашето изследване показва за първи път, че в зоните с тъканна дезинтеграция, свързана с лазерната простатна резекция, се наблюдава запазване на еозинофилните грануларни цитоплазмени промени в секреторните клетки с ЕМ.

Обсъждане по задача 4.

Известно е от литературата, че ИХХ-но цитоплазмените гранули в секреторните простатни клетки с ЕМ са PSA+, PSAP+ (секреторни маркери) и АХТ+ (лизозомен маркер). Гранулите са негативни по отношение на лизозим, протеин S-100 (PS-100), имуноглобулин-А (IgA) и невроендокринни маркери – хромогранин-А, серотонин, адренкортикотропен хормон (АСТН) и неврон специфична енолаза (NSE)

(MG. Weaver 1992; CP. Frydman 1992; L. Cheng 2008). От друга страна, електронно-микроскопски, цитоплазмените гранули при ЕМ показват екзокринен тип ултраструктурна морфология (MG. Weaver 1992; CP. Frydman 1992; D. Dikov 2005; L. Cheng 2008). Както се вижда, резултатите са противоречиви и нееднопосочни. Натурата и характерът на цитоплазмените гранули при ЕМ остават недостатъчно добре проучени, като единствено сигурното и видното от малкото проведени до момента изследвания е, че не се касае нито за истинска панетоклетъчна диференциация (лизозим негативен), нито за ендокринни гранули (невро-ендокринни маркери негативни; ултраструктурна морфология) (MG. Weaver 1992; CP. Frydman 1992; D. Dikov 2005; L. Cheng 2008).

Проведеното от нас ИХХ-но изследване потвърждава експресията на PSA и на АХТ и липсата на експресия на хромогранин и на синаптофизин в клетките с ЕМ. Експресията на PSA свидетелства в полза на простатен фенотипен произход на клетките с ЕМ. Наблюдаваната от нас експресия на АХТ в епител с ЕМ може да се обясни с компенсаторната мобилизация на секреторната активност в условията на хронична клетъчна увреда. Експресията на АХТ е в подкрепа на лизозомната (частична) фенотипна натура на гранулите. Липсата на експресия на хромогранин и на синаптофизин в клетките с ЕМ потвърждава липсата на ендокринен фенотип на гранулите.

До този момент в литературата липсват ИХХ-ни изследвания на простатната ЕМ по отношение на цитоплазмените епителни муцини (MUCs) и на лизозомно-асоциираните цитоплазмени гликопротеини (Lamps).

Епителните тъкани в организма са защитени от действието на патогени и други подобни увреждания от слуз – комплексна, хидрофилна смес. Тя има защитна бариерна функция, която предотвратява залепването и интернализацията на патогена. MUCs са силно гликолизирани протеини и представляват преобладаващата част от компонентите на слузта. MUC1 нормално се експресира в апикалните повърхности на почти всички жлезни и дуктални епителни клетки, включително на гърдата (клетки на Токер), бъбречни дисталните тубули, белия дроб (тип II пневмоцити), панкреаса, слюнчените жлези, кожата (екринните и апокринните жлези), активирани Т клетки, някои В клетки, моноцити, фоликуларни дендритни клетки и периневриални клетки, като експресията му е цитоплазмена или мембранна (J. Taylor-Papadimitriou 1999). Ние използваме като положителна външна контрола – екринни и апокринни жлези в кожата (два случая). В

литературата има описани случаи на изследване на муцини MUC2, MUC5 и MUC6 в ендометриални клетки, показваща муцинозна метаплазия (S. Moritani 2005).

Досега не е изследвана експресията на цитоплазмените муцини в простатния епител, въпреки че има няколко описани случая: *DG. Bostwick et al.* декларират че „... муцините MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, и MUC6 не се експресират в бенигнения простатен епител, въпреки че са констатирани различни резултати с MUC1“ (*DG. Bostwick 2014*). Други автори споменават за различна по интензитет експресия в около 4% от случаите с нормален простатен епител (*N. Rabiau 2009; C. Garbar 2008*), което ние потвърждаваме с нашите резултати. В изследваните от нас случаи се наблюдава константна, 100% имунореактивност за MUC1 в клетките с ЕМ. Ние описваме два типа експресия на MUC1 в клетките с ЕМ:

1. В случаите с ЕМ с големи еозинофилни гранули ($> 4 \mu\text{m}$) експресията на MUC1 е силна по интензитет, с предимно апикална цитоплазмена локализация с мембранна акцентуация (т. нар. експресия от нормален тип).

2. В случаите, при които експресията на MUC1 е грануларна, с предимно перинуклеарна цитоплазмена локализация (т. нар. експресия от аберантен тип), се касае за ЕМ с малки еозинофилни цитоплазмени гранули ($1 - 4 \mu\text{m}$).

В зоните, в които хистологично се наблюдават едновременно и двата типа гранули, експресията на MUC1 е и от нормален, и от аберантен тип. Константната експресия на MUC1 и в двата вида еозинофилни цитоплазмени гранули при ЕМ е в подкрепа на техния единен произход. Наличието на канали и жлези, съдържащи едновременно и двата типа еозинофилни гранули показва че вероятно различният размер на гранулите отразява и кореспондира с различния стадий на тяхната секреция и цитоплазмено разпространение. С получените от нас резултати, ние показваме за първи път, че MUC1 може да се приложи като надежден, макар и неспецифичен ИХХ-маркер за простатната ЕМ. Резултатите ни също показват, че имунофенотипа на простатната ЕМ не се влияе от размера на еозинофилните секреторни гранули. Ние не наблюдаваме значима експресия на MUC2, MUC5 и MUC6 в клетките с ЕМ. В съседните нормални простатни жлези и канали без ЕМ се наблюдава спорадична ($< 5\%$), слаба по интензитет фокална експресия на MUC1 и MUC5 от предимно аберантен тип. Известно е, че MUC1 има защитна роля по отношение на възпалителни и имунни атаки (*M. Yamamoto 1997*). Лубрификацията и хидратацията на

епитела и защитата от микробни атаки са основните функции на MUC1 (M. Yamamoto 1997). Посредством функцията си да ограничава и да разпознава повърхностни чужди антигени, MUC1 допринася за развитието на локална понижена имунна или автоимунна реакция и намалява, макар и по неспецифичен начин, интензитета на тъканната възпалителна реакция (S. Patton 1995; НН. Sung 2015). Повишената експресия на MUC1 в нормални и патологични тъкани се влияе силно от цитокините и е насочена към запазването на дуктално-ацинарна организация на епителните тъкани (J.C. O'Connor 2005). Експресията на MUC1 в ЕМ предполага, че фенотипно моделираните секреторни клетки при ЕМ се стремят да поддържат луменизацията на простатните тъканни структури в условията на хронична тъканна увреда. Естествено, в хода на тези разсъждения би могло да се отиде доста далече и дори да се обсъжда възможността – дали простатната ЕМ не трябва да бъде приета за простатна ацинарно-дуктална метаплазия (АДМ), за това обаче са необходими допълнителни изследвания, а и морфологичните промени при ЕМ не са по типа на познатата от панкреаса АДМ. Погледнато от диагностична гледна точка, еозинофилните цитоплазмени гранули при простатната ЕМ експресират MUC1, което може да служи като ИХХ-маркер за ЕМ-фенотип и да се използва в ежедневната диагностична работа на патолога. От гледна точка на изясняването на натурата на секреторните цитоплазмени гранули при простатната ЕМ, експресията на MUC1 в тях в 100% е сериозен аргумент в полза на секреторната екзокринна компонента в състава на тези гранули.

Негативността на простатната ЕМ спрямо другите муцинозни корови протеини (MUC2, MUC5 и MUC6) е недвусмислен ИХХ-ен аргумент в подкрепа на становището, че ЕМ не е форма на муцинозна диференциация (метаплазия), дори и на незряла такава (S. Moritani 2005).

Лизозомите (наречени още първични лизозоми) са мехурчета, разположени в цитоплазмата, оградени с единична мембрана и пълни със смилателни ензими. В изграждането на лизозомалната мембрана влизат няколко вида протеини: свързани с мембраната, интегрални и мембранни протеини. Силно гликозилираните трансмембранни протеини, намиращи се във всички лизозоми, са наречени лизозом-асоциирани мембранни протеини (Lamps). В структурно отношение Lamp1 и Lamp2 са изградени от: луминална област, единичен трансмембранен участък и къса цитозолна опашка. Lamp1 и Lamp2 имат много сходни първични последователности (37% хомоложни) и следователно сходни доменни структури, което

предполага и подобна функция (B.J. Winchester 2001; S. Wilke 2012). Клетъчната експресия е главно гранулирана и цитоплазмена, и е в съответствие с лизозомната локализация на протеините. Не се наблюдава експресия на клетъчната повърхност. В много случаи степента на експресията на двата протеина варира значително между различните тъкани.

В простатата, основната локализация на антигените е сходна, но интензитетът на оцветяване на дукталните клетки е много по-голям при Lamp2, отколкото при другия протеин (K. Futura 1999). В нашите изследвания използваме следните външни контроли: за Lamp1 – активирани Т-лимфоцити и ендотел от кожа с грануломатозно възпаление (два случая) и за Lamp2 – лизозомни мембрани на хистиоцити от кожа с грануломатозно възпаление (два случая). Нашите ИХХ-изследвания на простатната ЕМ показват засилена експресия на лизозом-асоциирани гликопротеини (Lamp1 и Lamp2). Въпреки че точните биологични функции на Lamp-гликопротеините не са все още напълно изяснени, сигурно е, че те са структурна компонента от лизозомалната мембрана и участват в процесите на автофагоцитоза, клетъчна пролиферация и клетъчна смърт чрез апоптоза (E-L. Eskelinen 2002; В. Сарафян 2007). Интерпретирайки комплексно нашите резултати, ИХХ-те ни изследвания показват засилена експресия на лизозом-асоциирани гликопротеини (Lamp1 и Lamp2) и на АХТ в цитоплазмените гранули при ЕМ. Подобно на нормалната простата (K. Futura 1999), в секреторните клетки с ЕМ интензитетът на експресията на Lamp2 е значително по-изразен от Lamp1. Вероятно появата на цитоплазмените гранули при простатната ЕМ отразява един компенсаторен механизъм на редукция на секрецията на нормалните простатни секреторни протеини чрез автофагоцитоза на последните, в условията на клетъчен стрес. От гледна точка на изясняването на натурата на цитоплазмените гранули при простатната ЕМ, експресията на Lamps-гликопротеините в тях е в полза на наличието на лизозомна компонента в състава на тези гранули. Възможното обяснение е, че този компенсаторен механизъм има за цел да се даде приоритет на новосинтезираната MUC1+ екзокринна компонента, участваща в клетъчната защита в условията на хронично простатно възпаление.

Освен че имат диагностична и диференциално-диагностична цел, тези наши резултати представляват допълнително хистохимично доказателство за отчасти екзокринният характер на гранулите при простатната ЕМ.

До този момент в литературата липсва изследване, подкрепено от хистологични и ИХХ-резултати, отговарящо на въпроса - какъв е характерът на цитоплазмените гранули при простатната ЕМ. Нашите изследвания допринасят значително за изясняване на точната натура на гранулите при ЕМ. Ние доказваме, че в условията на ХХП, фенотипът на простатните секреторни клетки се променя в посока на биосинтеза на продукти, които служат за клетъчна протекция в условията на хронично възпаление. Секреторните цитоплазмени гранули при ЕМ са със смесен екзокринен (PSA+, MUC1+/изразена флоксинофилия) и лизозомен (АХТ+, Lamps+) характер. Тези гранули са различни от секреторните гранули в нормалните простатни секреторни клетки. Те представляват видоизменени нормални простатни секреторни гранули, обогатени със защитни фактори (MUC1, Lamps), чиято цел е неспецифичната антивъзпалителна защита.

До този момент в литературата липсват ИХХ-ни изследвания на простатната ЕМ по отношение експресията на р63. Във всички изследвани от нас случаи се наблюдава експресия на р63 в хиперплазиралите базалните клетки, подлежащи на секреторните клетки с ЕМ. Коментар на тези получени резултати е представен по-долу.

До този момент в литературата липсва обобщен диагностичен алгоритъм за диагноза и диференциална диагноза на простатната ЕМ. Въз основа на получените от нас резултати, ние предлагаме обобщен алгоритъм от хистологични, хистохимични и ИХХ-критерии за диагноза и диференциална диагноза на простатната ЕМ. Ние смятаме, че хистологичната лезия ЕМ трябва да фигурира в хистологичното описание на рутинните отговори на патолога на простатни материали. В случаите, когато основният патологичен процес е Пк с ендокринна диференциация по типа на ПКПП, трябва да се прави диференциална диагноза между двата процеса, както изтъкваме в предходни наши изследвания.

Обсъждане по задача 5.

До този момент в литературата не се откриват данни за изследване и за описание на ЕМ в нормална простатна тъкан, както в изследванията, касаещи простатната патология, така и в такива, отнасящи се до нормалната хистология на жлезата. В проведените от нас изследвания, ние използваме контролна група аутопсионни простати. В нито един от пациентите от контролната група (нормални аутопсионни простати без атрофия, без сигнификантен остър или хроничен възпалителен инфилтрат, с нормално

ниво на интраепителните лимфоцити, без данни за БПХ, БКХ, ПИН и Пк, със средна възраст от 44.89 г.) не се открива ЕМ. Тези резултати показват недвусмислено, че простатната ЕМ е задължително патологична находка и не се среща в нормалната човешка простата.

В процеса на изучаване на възпалителната патология на простатната жлеза, използването на контролен материал представлява един трудно постижим лукс. От една страна, поради високата честота и разпространение на хроничното простатно възпаление, а от друга - поради стриктните клинични показания за инструментално изследване и вземане на простатна тъкан за хистологичен анализ. Ето защо, използването на аутопсионни простати и правилната им селекция с включване на повече рестриктивни критерии, представлява един подходящ източник на контролен материал, както и за изследвания на нормалната простата (Д. Диков 2015). Ние използваме като контролна група само случаи, които са клинично и хистологично негативни за каквато и да е простатна патология, част от които на съдебно-медицински аутопсионни простати и у пациенти на сравнително млада възраст (44.9 г. средна възраст). Ние претендираме за достоверност на нашите резултати, защото това е единственото до момента изследване на простатната ЕМ, при което е използвана контролна група пациенти.

До този момент в литературата съществува едно единствено количествено изследване, но без статистически анализ, посочващо съчетанието на ЕМ с простатното възпаление, с т.нар. NIN категория IV простатит (ХП) (L. Cheng 2008). Хроничното хистологично възпаление е често срещана морфологична находка в човешката простата и е в тясна връзка с най-важните и социалнозначими заболявания на жлезата – БПХ и Пк. Налице са епидемиологични, хистопатологични и молекулно-генетични доказателства, че възпалението е решаващо за етиологията на тези заболявания (A. De Marzo 2007). ХП протича без каквито и да е клинични симптоми, свързани с инфекция на уринарния тракт или с болка в таза, най-вероятно защото това е най-често възпаление на периферната зона на простатата (J. McNeal 1968; D. Bostwick 2014). В ежедневната практика на патолога, ХП е почти постоянна, но в същото време случайна патологична находка. Това е най-често срещаният вид простатно възпаление, диагностицирано у пациенти при биопсичен скрининг по повод на съмнение за Пк (J. Krieger 2008; E. Aglamis 2013; FU. Khan 2017). Ето защо, задачата на неговите изследователи е едновременно както много отговорна, така и

много трудна, защото се касае за дешифриране на най-честото възпалително заболяване на простатата, което протича клинично асимптоматично. Въпреки подробното морфологично описание на този възпалителен процес, етиологията и патогенезата на ХП са все още неизвестни. Възпалителният процес, развиващ се в една „нормална“ или патологична простата, може би представлява отговор на преходно и/или постоянно присъствие на иритиращи или провъзпалителни агенти: директна инфекция, химическа и физическа травма (сопрога amylacea), интрапростатен рефлукс на урина или на сперма, диетични фактори, естрогени или комбинация от два или повече от тези фактори (AM. De Marzo 2007; KS. Sfanos 2018). Всеки един от по-горе посочените фактори би могъл да доведе до увреждане на простатните епителни клетки у предразположени индивиди, като резултатът е срыв в имунната толерантност на простатата и отключване на автоимунна реакция под формата на неконтролируема хронична възпалителна реакция (ХП) (AM. De Marzo 2007; KS. Sfanos 2018). Основният вид клетки, реализиращи нормалния имунитет на простатната жлеза, са лимфоцитите, но тяхната точна роля и място в развитието на хроничното възпаление на простатата все още не са напълно изяснени (DG. Bostwick 2014; D. Dikov 2015). Лимфоцитите вземат участие както в нормалната физиология, така и в автоимунитета на простатата (DG. Bostwick 2014; D. Dikov 2015). Смята се, че под действието на различни увреждащи агенти, лимфоцитната инфилтрация в простатната тъкан преминава през няколко фази: начална диапедеза на лимфоцитите през съдовата стена на поскапилярните венули с последващо проникване в простатната строма и по-нататъшна пери- и интрагландуларна локализация, което често завършва с увреждане на жлезистия епител (DG. Bostwick 2014; D. Dikov 2015).

Честотата на ХП варира от 68% – в аутопсионни серии, до 95% и 100% – в съответно ТУРП и тотални простатектомии (NB. Delongchamps 2008; W. Blumenfeld 1992). В единственото до момента количествено проучване върху простатната ЕМ, реализирано на материали от ТТПБ и тотални простатектомии, не са използвани статистически методи на изследване (L. Cheng 2008).

ОХП е рядко срещана морфологична находка както при ЕМ като самостоятелен процес (L. Cheng 2008), така и при други заболявания на простатата като неспецифичният грануломатозен простатит (НСГП), който често се съчетава с ЕМ, което показват нашите изследвания. Острото простатно възпаление отразява последователни увреждания от различни

агенти и представлява част от така нареченото смесено (остро и хронично) възпаление, което може да бъде и автоимунен феномен. До този момент в литературата липсват количествени хистологични изследвания със статистически анализ, касаещи съчетанието на простатната ЕМ и ОХП. В проведеното от нас изследване, ЕМ се съчетава с ОХП в 83.3% от случаите. Получените от нас резултати се припокриват с тези от литературата (L. Cheng 2008). Анализът на нашите резултати показва, че не съществува статистически значима корелация между съчетанието на ЕМ и ОХП ($p = 0,502$). Резултатите, получени при изследването на българската група ТУРП-пациенти, показват p -value, което е близко до граничното.

До този момент в литературата липсват количествени хистологични изследвания със статистически анализ, касаещи съчетанието на ЕМ с ХХП. ХХП е често срещана морфологична находка в човешката простата и е в тясна връзка с най-важните и социалнозначими заболявания на жлезата – БПХ и Пк. Налице са епидемиологични, хистопатологични и молекулно-генетични доказателства, че възпалението е решаващо за етиологията на тези заболявания (AM. De Marzo 2007; S. Davidsson 2010; PF. Engelhardt 2013; AB. Porcaro 2014; AB. Porcaro 2015; AB. Porcaro et al. 2015). ХХП е често срещана морфологична находка, както при ЕМ като самостоятелен процес (L. Cheng 2008), така и при други възпалителни заболявания на простатата като НСГП, който често се съчетава с ЕМ, както посочват данните от литературата (D. Dikov 2005) и нашите собствени проучвания. В проведеното от нас количествено хистологично изследване, ЕМ се съчетава с ХХП в 100% от случаите. Получените от нас резултати се припокриват с тези от литературата (L. Cheng 2008). Анализът на резултатите ни показва, че съществува статистически значима корелация между съчетанието на ЕМ и ХХП ($p = 0,000$). Детайлизирайки нашето проучване, ние изследваме съчетанието на ЕМ с ХХП в зависимост от степента на неговата активност. В 70.5% от случаите има съчетание на ЕМ с ХХП-НС, а в 100% от случаите има съчетание на ЕМ с ХХП-ВС, което говори, че честотата на ЕМ се увеличава паралелно с интензитета на хроничното простатно възпаление. Съществуват единични наблюдения, показващи различна степен на асоциация между ЕМ и ХХП и нашите резултати потвърждават тази връзка (P. Gaudin 1999; D. Dikov 2005; L. Cheng 2008). Ние доказваме, че подобно на НСГП, наличието на ЕМ в простатния дуктален или ацинарен секреторен епител се намира в тясна корелация с ХП и представлява механизъм на фенотипна клетъчна адаптация спрямо промените в простата, дължащи се

на персистиращо активно възпаление с флукуиращ характер (D. Dikov 2005). *L. Cheng et al.* описват ЕМ като лезия, често срещана при ХП, представляваща реакция на гостоприемника към променената клетъчна среда (L. Cheng 2008). *P. Gaudin et al.* описват ЕМ в бенигна простата в 32% при пациенти с пострадиационна терапия на Пк, в тясна връзка с хроничното възпаление (P. Gaudin 1999). Доказана е връзката между хроничното простатно възпаление (НСГП) и ЕМ в ТУРП-материали (D. Dikov 2005 ; L. Cheng 2008). Доказаната от нас ИХХ-но смесена, едновременно екзокринна (PSA+/MUC1+/изразена флоксифилия) и лизозомна (AXT+/Lamps+) натура на гранулите при простатната ЕМ, представлява трето доказателство за ролята на ХХП в патогенезата на ЕМ. В контекста на нашите ИХХ-ни резултати може да се спекулира, че активните компенсаторни фенотипни промени при ЕМ, изразяващи се с MUC1-секреция, възникват в интактни простатни жлезни структури, около хронични епителни увреждания. Безусловно, те са насочени към възстановяването на тъканната цялост в местата на повтарящо се хронично възпаление. Експресията на MUC1 в ЕМ предполага, че фенотипно модулираните секреторни клетки при ЕМ се опитват да запазят и да поддържат луменизацията на тъканните структури, на които принадлежат, в условията на хронична възпалителна увреда. Наличието на MUC1-експресия в ЕМ вероятно отразява една MUC1-свързана продължителна антигенна стимулация, каквато е описана в лимфо-епителните лезии в стомаха (C. Takі 2002). De novo индуцираната експресия на MUC1 в ЕМ очевидно се обяснява със защитните и имунорегулаторни функции на MUC1-гликопротеина (S. Patton 1995).

От друга страна, изразената експанзия на лизозомния компонент в цитоплазмените гранули на ЕМ, представлява компенсаторна реакция, насочена да подпомогне инхибирания процес на интрализозомална деградация, развиващ се в съседните увредени клетки (епителни или макрофаги), в които се натрупват неразградими липидни компоненти (J.C. O'Connor 2005).

До този момент в литературата липсват количествени хистологични изследвания със статистически анализ на съчетанието на простатната ЕМ с ПЕМ и БКХ. В настоящето изследване ние откриваме БКХ в 39.3%, като във всички случаи с БКХ се намира съчетание с ЕМ (100%). В 100% от нашите изследвани ТУРП-материали, ЕМ се съчетава с БПХ и ХХП. Приложеният анализ показва статистически значима разлика между честотата на ЕМ и БКХ ($p = 0,000$). Статистически значимата асоциация на ЕМ с БКХ – от една

страна, и с ХХП – от друга, говори за водещата роля на хроничното простатно възпаление в развитието на двата процеса. Честата асоциация между ЕМ и БКХ показва, че двата процеса са взаимосвързани и е доказателство, че ЕМ е индиректна (фенотипна) епителна метаплазия (вж. по-долу).

В настоящето изследване ние откриваме статистически значима асоциация на ЕМ с УМ и с ПМ. Доказаната от нас асоциация между ЕМ и другите основни видове ПЕМ показва, че процесът е дифузен (обхваща цялата простатна жлеза), като това често съчетание се обяснява с общия етиологичен фактор, отговорен за развитието на ПЕМ–ХХП, за който процес е известно, че обхваща дифузно простатната жлеза (D. Dikov 2015).

До този момент в литература липсва количествено хистологично изследване със статистически анализ на съчетанието на простатната ЕМ с БПХ. Ние намираме висока честота на съчетание на ЕМ с БПХ без статистически значима корелация на асоциацията между двата процеса. Доказаното от нас съчетание между ЕМ и ХХП и познатата от литературата асоциация между ХХП и БПХ показва още веднъж, че основен фактор за развитието на ЕМ е хроничното простатно възпаление (NB. Delongchamps 2008). От друга страна, честото съчетание на ЕМ с БПХ е доказателство, че и двата процеса са в тясна връзка с ХХП.

До този момент в литература липсва количествено хистологично изследване със статистически анализ на съчетанието на простатната ЕМ с Пк. Ние намираме висока честота на съчетание със статистически достоверна корелация на асоциацията между ЕМ и Пк. Резултатите ни трябва да се приемат предпазливо, понеже изследваме само 6 пациента с Пк, което е нормално и се обяснява с редкостта на Пк в транзиторната зона на простатата, която е обект на ТУРП-хирургична интервенция. От друга страна, резултатите изглеждат логични, имайки предвид отдавна установената в литературата асоциация и корелация между ХХП и Пк (AM. De Marzo 2007; KS. Sfanos 2018).

Обсъждане по задача 6.

До този момент в литературата липсва изследване, подкрепено от статистически анализ на резултатите относно пато- и морфогенезата на простатната ЕМ. Съществуват единични наблюдения, показващи различна степен на връзка между ЕМ и хроничното простатно възпаление, и нашите резултати потвърждават тази връзка (PB. Gaudin 1999; L. Cheng 2008). В

простати с проведена радиационна терапия по повод на Пк, ЕМ се наблюдава в зони с нормален или атрофичен простатен епител в 21% до 32% от случаите (P.B. Gaudin 1999). При лечение с комбинация от синтетични аналози на лутеинизиращ хормон-освобождаващ хормон (LHRH) и антиандрогени (Flutamide) по повод на Пк, в един случай, 3 – 6 месеца след терапията, се открива ЕМ, а в околната тъкан има атрофия (B. Têtu 2008). Известното от литературата и от наши изследвания съчетание между НСГП и ЕМ показва, че и двата процеса отразяват в морфологично отношение състояние на уринарна обструкция, дължаща се на БПХ и на добавеното нискостепенно или високостепенно простатно възпаление (D. Dikov 2005). Тези данни, макар и без статистическа обработка на резултатите, очертават ХХП като основен патогенетичен фактор за развитието на ЕМ. Друго доказателство в тази посока е фактът, че ПЕМ и БКХ се развиват в резултат от различни фактори, увреждащи простатата като ОХП, ХХП, простатен инфаркт, лъчетерапия, хормонална терапия с резорбтивно възпаление (СД. Petraki 2007). Нашите резултати предоставят допълнителни данни за пато- и морфогенезата на ЕМ. Селекционирайки хистологично изследваните от нас ТУРП-пациенти (без лъчетерапия, без хормонално лечение и без предходна простатна хирургична интервенция), получените от нас данни показват, че основните патогенетични фактори за развитието на ЕМ е ХХП. В проведено от нас хистопатологично проучване на съчетанието между НСГП и ЕМ и в подобно изследване в епидидима (V.I. Shah 1998), наличието на ЕМ се интерпретира като интрацитоплазмено лизозомно натрупване, което служи като микроскопски индикатор за дуктална обструкция. Може би, високата честота на ЕМ, която ние откриваме в ТУРП-материалите с БПХ, би могла да се обясни и с тази обструктивна теория, според която простатната ЕМ се развива на местата с повтарящо се хронично клетъчно увреждане. Така нареченото остро хистологично простатно възпаление (ОХП) е възпаление с интралуминална локализация (J.C. Nickel 2001). Макар и без статистическа корелация, ние откриваме често хистологично съчетание между ЕМ и ОХП. Тази асоциация вероятно отразява множеството повтарящи се и последователни увреди от причинителя (-ите) на ХП и представлява част от така нареченото смесено (активно и хронично) възпаление, което може да бъде имунно и автоимунно явление (J.C. Nickel 2001). Получените от нас резултати са в подкрепа на схващането, че ЕМ около дилатирани и с данни за хронично възпаление простатни жлези и канали представлява механизъм

на фенотипна клетъчна адаптация спрямо промените в простатната микросреда, дължащи се на персистиращо активно възпаление (ХХП).

До този момент в литературата липсва изследване, подкрепено от хистологични и ИХХ-резултати, отговарящо на въпроса: ЕМ в простатата клетъчна промяна ли е или истинска епителна метаплазия? Това е напълно резонен въпрос от областта на общата патология, имайки предвид, че в по-ранните публикации авторите използват различни термини: Панетоклетъчно-подобна промяна (MG. Weaver 1992) и Панетоклетъчно-подобна метаплазия (CP. Frydman 1992). Нашите резултати показват недвусмислено, че секреторните простатни клетки с ЕМ са морфологично различни от нормалните секреторни простатни клетки при сравнение с контролната група пациенти с нормални простати. Това различие е съществено и се визуализира микроскопски чрез наличието на еозинофилни цитоплазмени гранули при ЕМ. Простатната секреторна клетка променя своята нормална морфология и своя нормален фенотип и за това ние смятаме, че се касае за истинска епителна метаплазия, а не за клетъчна промяна.

До този момент в литературата липсва изследване, подкрепено от хистологични и ИХХ-резултати, отговарящо от общо-патологична гледна точка, на въпроса какъв е точният вид на простатната ЕМ. През целия живот на индивида новите и непрекъснато променящи се условия за развитие на зрелите стволови клетки водят до чести метапластични процеси в някои органи (MP. Herfs 2009). Тези обратими епителни замествания почти винаги се наблюдават във връзка с хронично възпаление и продължително тъканно дразнене. Възпалителните медиатори (цитокини) и други разтворими фактори, отделяни както от епителни клетки, така и от клетките на възпалението, могат да променят профила на експресия на транскрипционния фактор на стволовите клетки и да доведат до възникване на метаплазия (MP. Herfs 2009). Нашите ИХХ-ни изследвания доказват, че транзиторната зона на простатната жлеза се увеличава в резултат на пролиферацията на p63+ базални прогениторни стволови клетки, както това става в други органи (M. Jiang 2017). Подобно на молекулярната патогенеза при Баретовия езофаг, може да се спекулира че има активация на специфични транскрипционни фактори, водещи до експресия на различен метапластичен тип гени, които водят до възникване на ЕМ, която, безспорно, е от индиректен тип (фенотипна) метаплазия (M. Lugo 1984; M. Jiang 2017). Секреторните простатни клетки с ЕМ са фенотипно различни от

нормалните при сравнение с контролната група пациенти с нормални простати. Диференциацията на клетките с ЕМ е в посока различна от нормалната и е свързана с появата на нов в морфологично и фенотипно отношение тип простатни цитоплазмени гранули. Като допълнително доказателство за непрекия характер на ЕМ можем да добавим факта, че процесът се придружава от пролиферация на p63+ камбиални клетъчни елементи от подлежащия базален простатен епител и статистически погледнато, ЕМ е в корелационно съчетание с БКХ. Всички тези наши резултати доказват, че ЕМ представлява една непряка по вид епителна метаплазия. Морфологичното визуализиране на ЕМ, която представлява фенотипна епителна метаплазия, са еозинофилните цитоплазмени секреторни гранули в простатните клетки с ЕМ. Тези характерни и несрещащи се в нормалната простата цитоплазмени гранули могат да се използват като характерен, макар и неспецифичен детектор на персистиращото простатно възпаление и е много вероятно да отразяват началото на неговата автоимунна фаза, подобно на ЕМ при НСГП, което ние доказваме в предходни наши изследвания.

Освен като микроскопски феномен в бенигнен простатен епител, наблюдаването на ЕМ в простатата има диагностична и диференциално-диагностична стойност. ЕМ е относително често срещан хистологичен маркер за хронично простатно възпаление. ЕМ може да се използва като допълнителен морфологичен диагностичен белег за наличие на ХХП, особено когато интерпретация се прави комплексно и в съответния епидемиологичен, клиничен и патофизиологичен контекст.

Познаването на ЕМ в простатата обогатява хистопатологичния кръгзор на патолога и улеснява неговите ежедневни усилия за диагноза или морфологична констатация на хроничното простатно възпаление.

VI. Изводи

Въз основа на извършените изследвания и обсъждането на резултатите могат да се формулират следните изводи:

1. Честотата на ЕМ на ТУРП-материал е два пъти по-висока от описаната в литературата на друг тип простатни материали. Средната възраст на пациентите с ЕМ на ТУРП-материал е подобна на установената в литературата на друг тип простатни материали. Клиничните симптоми и средната стойност на серумния PSA при пациенти с ЕМ на ТУРП-материал са неспецифични и идентични с тези на БПХ.
2. Цитоплазмените гранули при простатната ЕМ са с различни размери, с предимно фокална и дуктална тъканна локализация. Те са PAS.D позитивни и показват изразена флоксифилия. Съдбата на гранулите при ЕМ е превръщането им в липохромен простатен пигмент (липофусцин) и/или фагоцитирането им от околните макрофаги.
3. В електрокоагулираната периферия на ТУРП-фрагментите се наблюдават бенигнени жлезни структури с цитоплазмена псевдоеозинофилия, която имитира хистологично ЕМ. В зоните с тъканна дезинтеграция, свързана с лазерната резекция на простатата (HOLEP), се наблюдава запазване на еозинofilните грануларни цитоплазмени промени в секреторните клетки с ЕМ.
4. MUC1 е диагностичен ИХХ-маркер за ЕМ-фенотип. Простатната ЕМ не е форма на муцинозна метаплазия.
5. Цитоплазмените гранули при простатната ЕМ имат различна големина и едновременно екзокринен и лизозомен характер.
6. ЕМ се съчетава много често и е в корелационна връзка с БКХ и с основните видове ПЕМ – УМ и ПМ.
7. Простатната ЕМ е задължително патологична находка и не се среща в нормална човешка простата. От гледна точка на общата патология, простатната ЕМ е истинска метаплазия, а не клетъчна промяна и представлява непряка епителна метаплазия. Патогенезата на простатната ЕМ е тясно свързана с простатита от категория IV.

VII. Заключение

Настоящият труд представлява комплексно морфологично проучване на някои по-слабо познати области от нетуморната патология на човешката простатата.

Чрез широк набор от класически и съвременни методики се изследват простатите на голям брой пациенти на ТУРП-материали – едни от най-честите в ежедневната практика на патолога.

Поставените за изследване задачи и получените резултати са тясно свързани помежду си и нерядко това представляваше реален проблем в тяхното отделно излагане с оглед спазването на структурираност и последователност в предлагания текст.

Освен с подробно морфологично описание на наблюдаваните промени, ние се опитахме да ги подкрепим с цифри и статистически резултати, както и да им придадем морфо-функционален и клинико-лабораторен характер с оглед диагноза и диференциална диагноза.

В хода на изследването, занимавайки се в началото само с изучаването на елементи от специалната адаптативна и възпалителна патология на простатата, ние се натъкнахме на много интересни въпроси от областта на общата патология.

Беше отговорено на всички поставени въпроси в литературния обзор и в раздела „Цел и задачи“.

Простатната ЕМ е задължително патологична находка в човешката простата.

Простатната ЕМ се среща много често на ТУРП-материал.

Клиничните симптоми и параклинични изменения при ЕМ са неспецифични и идентични с тези на БПХ.

Простатната ЕМ се съчетава много често и е в корелационна връзка с БКХ.

Цитоплазмените гранули при простатната ЕМ имат различна големина и едновременно екзокринен и лизозомен характер.

MUC1 е диагностичен ИХХ-маркер за ЕМ-фенотип.

Простатната ЕМ е истинска метаплазия, а не клетъчна промяна.

Простатната ЕМ е непряка епителна метаплазия, дължаща се и представляваща неделим елемент от простатита от категория IV.

Резултатите от проведеното проучване очертават много перспективи за бъдещи изследвания. Някои от тях:

- разгърнато статистическо изследване на връзката на простатната ЕМ с бенигнените лимфо-епителни възпалителни лезии в простатните дуктуси в хода на простатита от категория IV;
- роля и място на простатната ЕМ в имунната и автоимунна хипотеза за патогенезата на простатита от категория IV;
- изучаване на постатрофичната простатна хиперплазия с ЕМ и нейните клинично-лабораторни (PSA) корелации при пациенти, намиращи се в т. нар. grenz zone (гранична зона) на Пк;
- проучване, от общопатологична гледна точка на връзката на ЕМ в простатата с ацинарно-дукталната метаплазия (АДМ).

VIII. Приноси

Приноси с оригинален характер

1. За първи път се прави системно количествено проучване на някои основни показатели (честота, възраст) на простатната ЕМ на ТУРП-материал, включително на българска група пациенти.
2. За първи път се прави проучване на основните клинични симптоми и нивото на серумния PSA при пациенти с ЕМ.
3. За първи път се прави количествено проучване на основни показатели (честота, възраст и основни клинични симптоми) на простатната ЕМ.
4. За първи път се прави системно проучване на големината на еозинофилните цитоплазмени гранули при простатната ЕМ и се доказва, че те могат да бъдат с различни размери.
5. Разширява се съвременната дефиниция за простатна ЕМ: ЕМ е наличие на еозинофилни цитоплазмени гранули с различни размери в бенигнен простатен епител.
6. За първи път се прави системно топографско проучване на локализацията на ЕМ в транзиторната зона на простатната жлеза.
7. За първи път се прави систематизирано и схематично класифициране на простатната ЕМ по отношение на нейната локализация.
8. За първи път се прави наблюдение и обобщение на възможни изходи от процеса на простатната ЕМ.
9. За първи път се доказва, че – в хистохимичен аспект, секреторните гранули при простатната ЕМ съдържат протеини и въглехидрати.
10. За първи път се доказва, че еозинофилните цитоплазмени гранули при простатната ЕМ експресират MUC1, което може да служи като надежден ИХХ-маркер за ЕМ-фенотип.
11. За първи път се доказва липса на експресия на другите муцинозни корови протеини (MUC2, MUC5 и MUC6) в секреторните цитоплазмени гранули при простатната ЕМ, което доказва, че ЕМ не е форма на муцинозна метаплазия.
12. За първи път се доказва, че еозинофилните цитоплазмени гранули при простатната ЕМ експресират едновременно екзокринни (PSA и MUC1)

и лизозомни (АХТ и Lamps) маркери, което е доказателство за смесения екзокринен и лизозомен характер на тези гранули.

13. За първи път, от общопатологична гледна точка, се доказва, че простатната ЕМ е индиректна (фенотипен вид) метаплазия.
14. За първи път се доказва, че ЕМ е задължително патологична находка и не се наблюдава в нормалната човешка простата.
15. За първи път се доказва, че ХХП стои в основата на развитието на ЕМ и на БКХ, които много често се развиват заедно.
16. За първи път се доказва, че ЕМ е патогенетично свързана с NIN-категория IV простатит (ХП).
17. За първи път се доказва, че от общопатологична гледна точка, простатната ЕМ представлява непряка епителна метаплазия.

Приноси с потвърдителен характер

1. Получените от нас резултати потвърждават средната възраст на пациентите с ЕМ, описана в литературата; тя е идентична, независимо от вида на изследвания простатен материал.
2. Получените от нас резултати потвърждават хистологично наличието на еозинофилни цитоплазмени гранули в бенигнен епител при простатната ЕМ.
3. Получените от нас резултати потвърждават хистохимично позитивността на цитоплазмени гранули при ЕМ по отношение на PAS и PAS.D.
4. Получените от нас резултати потвърждават експресията на PSA и АХТ и липсата на експресия на хромогранин и на синаптофизин в цитоплазмените гранули при простатната ЕМ.
5. Честото съчетание на ЕМ с ХХП – от една страна, и на ХХП с Пк – от друга, потвърждава ролята на хроничното простатно възпаление в патогенезата на двата процеса.
6. ПЕМ се наблюдават много често в ТУРП-материал.
7. Простатната ЕМ е истинска епителна метаплазия, а не клетъчна промяна.

Научно-приложни и методични приноси

1. С цел прецизно изследване на морфологичните особености, касаещи клетъчните и тъканни топографски характеристики на ЕМ, ние създадохме две скали за полуколичествена хистологична оценка: на хистологичното разпространение на ЕМ (фокална и дифузна ЕМ) и на хистологичното разпределение на ЕМ (ЕМ в единични или малки групи от клетки и ЕМ в големи групи от клетки).
2. Въз основа на проведените от нас качествени и полуколичествени изследвания, ние систематизираме схематично локализацията на простатната ЕМ: според локализацията в секреторния простатен епител; според локализацията в секреторната простатна единица (ацина или канал); според топографската тъканна локализацията в простатата, според микроанатомичната архитектурна локализацията в простатата.
3. За първи път се доказва преимуществото на стандартните хистологични оцветявания HES и HPS за по-лесната тъканна идентификация на цитоплазмените гранули при простатната ЕМ.
4. За първи път се прави наблюдение на тъканен артефакт, имитиращ хистологично ЕМ, свързан с натурата на ТУРП-материала. Създаден е диференциално-диагностичен алгоритъм за различаване на истинската ЕМ от тъканната цитоплазмена псевдоеозинофилия.
5. За първи път се прави наблюдение на ЕМ в материал от лазерната резекция на простатата (HOLEP), където еозинофилните грануларни цитоплазмени промени в секреторните клетки с ЕМ се запазват.
6. За първи път се обособяват алгоритмично морфологичните и ИХХ-те критерии за тъканна диагноза и диференциална диагноза на простатната ЕМ.
7. За първи път се доказва, че освен като микроскопски тъканен феномен в бенигнен простатен епител, ЕМ има диагностична и диференциално-диагностична стойност по отношение на хроничното простатно възпаление.

IX. Научни публикации, свързани с дисертационния труд

1. Dikov DI, **Koleva MS**, Peshev ZK, Belovezhdov VT. Nonspecific granulomatous prostatitis in association with eosinophilic epithelial metaplasia and prostatic adenocarcinoma. *Indian J Pathol Microbiol.* 2017; 60:409-411.
2. **Koleva M**, Dikov D. Histoepidemiological study of prostatic epithelial metaplasia's association in transurethral resection of the prostate. *Acta morphologica et anthropologica.* 2019; 26 (3-4):15-19.
3. Dikov D, **Koleva M**, Boivin JF, Lisner T, Belovezhdov V, Sarafian V. Histopathology of nonspecific granulomatous prostatitis with special reference to eosinophilic epithelial metaplasia: Pathophysiologic, diagnostic and differential diagnostic correlations. *Indian J Pathol Microbiol.* 2020; 63:34-40.