



3616367231352456

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

КАБАЧЕНКО ВАЛЕРІЯ ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК: 616.373/.375-006.66-039.36-091.811

**ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЕПІТЕЛІАЛЬНО-
МЕЗЕНХІМАЛЬНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ ТА СТОVBУРОВИХ КЛІТИН
ПРИ ПРОГРЕСУВАННІ ПРОТОКОВОЇ АДЕНОКАРЦИНОМИ
ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ**

222 Медицина

22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ В. О. Кабаченко

Науковий керівник – **Шишкін Максим Андрійович**, доктор медичних наук,
професор

Запоріжжя – 2025



3616367231352456

АНОТАЦІЯ

Кабаченко В.О. Патоморфологічна характеристика епітеліально-мезенхімальної трансформації та стовбурових клітин при прогресуванні протокової аденокарциноми підшлункової залози. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеню доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина», (22 Охорона здоров'я) – Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, МОЗ України, Запоріжжя, 2025.

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, МОЗ України, Запоріжжя, 2025.

Робота виконана на базі лабораторії патгістологічного дослідження університетської клініки Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

Метою даної роботи було удосконалити патоморфологічну діагностику та прогнозування перебігу протокової аденокарциноми підшлункової залози на основі патоморфологічного та імуногістохімічного аналізу трепанбіопсійного та операційного матеріалу.

Дисертаційна робота виконана на основі власних досліджень і аналізі отриманих результатів. Проведено мікроскопічне, морфологічне та імуногістохімічне дослідження трепанбіопсійного та біопсійного матеріалу підшлункової залози, отриманого під час операцій, виконаних в період з 2012 по 2020 рр. в хірургічних відділеннях ТОВ «Віта-Центр» м. Запоріжжя, КУ «Міської клінічної багатoproфільної лікарні №3» ЗОР м. Запоріжжя, КУ «Запорізької обласної клінічної лікарні» ЗОР м. Запоріжжя, а також секційний матеріал, як контрольна група, від КУ «Запорізького обласного бюро СМЕ» Запорізької обласної ради.

Основну групу склали 139 пацієнтів із протоковою аденокарциномою підшлункової залози (74 трепан-біопсій, 65 зразків операційного матеріалу. Контрольна група – 10 зразків аутопсійного матеріалу. Вік пацієнтів основної



групи коливався в діапазоні 36-84 роки, середній склав $61,68 \pm 7,75$ років. Вік пацієнтів контрольної групи 56-73 роки, середній вік – $64,5 \pm 2,33$ років.

В залежності від розміру пухлини виділені дві групи: I група – пухлини менше 3 см (51 випадків), II група – пухлини більше 3 см (88 випадків). Кожна група поділена на підгрупи в залежності від ступеню диференціювання Ia підгрупа – пухлини з помірним (G_2) рівнем диференціюванням (35 випадків), Ib підгрупа – пухлини з низьким (G_3) рівнем диференціюванням (16 випадків); IIa підгрупа – пухлини з G_2 рівнем диференціюванням (34 випадків), IIb підгрупа – пухлини з G_3 рівнем диференціюванням (54 випадки). Ступені диференціювання G_1 та G_4 були виключені через малі вибірки.

Використані стандартизоване гістологічне забарвлення гематоксиліном та еозином, фіброзна строма вивчалась при забарвленні матеріалу за методом Массон-трихром, проведений імуногістохімічний аналіз параметрів експресії Е-кадгерину, β -катеніну, CK7, CK18, α SMA та віментину, а також експресії маркерів стовбурових клітин (CD44 та EpCAM).

Відповідно отриманим результатам, в пухлинах протокової аденокарциноми підшлункової залози присутні раковий залозисто-протоковий та стромальний компартменти, а також зони епітеліально-мезенхімальної трансформації, які включають в себе залозисто-протоковий компонент та «відшнуровані» клітини і їх скупчення.

Збільшення розміру пухлини і погіршення ступеню диференціювання супроводжується прогресивним порушенням гістоархітекtonіки пухлини до повної її руйнації і накопиченням фібропластичної строми (від 24,92% при G_2 в пухлинах менше 3 см до 80,02% при G_3 в пухлинах більше 3 см) за рахунок зменшення площі залозисто-протокового компартменту. Виражений розвиток фіброзної строми підтверджує розвиток онкопроцесу не тільки в раковому вузлі, а також підтверджена важлива роль фіброзної строми в прогресуванні і агресивному перебігу ПАПЗ.

Мікроскопічна картина фібропластичної строми в проведених дослідженнях була представлена щільним інфільтратом неракових



стромальних клітин та компонентів екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ), який є відмінною рисою ПАПЗ.

Встановлений сильний корелятивний зв'язок між тубулярними і трабекулярними структурами раково-залозистого патерну (коефіцієнт Пірсона $r=-0,83$, $p<0,05$; коефіцієнт Манна-Вітні $z=+5,16$, $p<0,05$). Між окремими компонентами паренхіматозного компартменту і фіброзною стромою встановлений достовірний зворотний зв'язок.

Паралельний аналіз онкомаркерів в залозисто-протоковому компартменті виявив прогресивну втрату раковими клітинами епітеліального фенотипу і збільшення клітин з мезенхімальним фенотипом, що демонструє роль ЕМТ в прогресуванні ПАПЗ і зв'язок ЕМТ з агресивністю онкопроцесу.

Встановлене достовірне прогресивне зниження показника Е-кадгерину зі збільшенням розміру пухлини. В пухлинах менше 3 см показник склав 33,76% (22,88; 41,38), в пухлинах більше 3 см - 28,27% (22,48; 37,81) при $p<0,05$. Також встановлено достовірне зниження експресії β -катеніну зі збільшенням розміру пухлини і погіршенням ступеню диференціації, більш виражене в порівнянні з Е-кадгерином. В пухлинах менше 3 см показник маркеру склав 22,11% (8,35;15,89), в пухлинах більше 3 см – 17,68% (11,55;27,07). На відміну від Е-кадгерину, інтенсивність β -катеніну зменшувалась в тубулярних структурах в бік просвіту, в трабекулярних структурах, навпаки, в бік базальної мембрани.

Паралельний ІГХ аналіз маркерів цитоскелету підтверджує втрату ознак епітеліального фенотипу раковими клітинами ПАПЗ. Відносна площа СК7 склала $Me=17,93\%$ (10,23; 25,73), $S_{min}=1,82\%$, $S_{max}=41,37\%$, при $p<0,05$, СК18-позитивних клітин - $Me=12,87\%$ (8,22; 28,23), $S_{min}=1,09\%$, $S_{max}=49,02\%$, при $p<0,05$. Встановлений достовірний зв'язок за критерієм Манна Вітні (U Test) між епітеліальними маркерами Е-кадгерином, β -катеніном та маркерами цитоскелету СК7, СК18 ($p<0,05$).

В досліджуваному матеріалі зони ЕМТ відрізнялись від раково-залозистого компартменту прогресуючими морфологічними змінами, а саме:



утворенням комплексів з раковосптоворених тубулярних, трабекулярних структур, в пухлинах більше 3 см низького ступеню диференціювання відзначались криброзні структури з вираженим атипізмом, наявністю «відшнурованих» раковосптоворених клітин та їх скупчень. Також визначено достовірну втрату Е-кадгерину та цитокератинів і накопичення β -катеніну в зоні ЕМТ в порівнянні із залозисто-протоковим компартментом. Встановлена залежність експресії маркерів від розміру і ступеню диференціювання пухлини. Більш виражена динаміка показників даних онкобілків спостерігалась у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях. Натомість в зоні ЕМТ встановлена експресія мезенхімальних маркерів α -SMA і віментину раковими сптовореними клітинами, що локалізувалися поодинокі навколо тубулярних, трабекулярних та криброзних структур, або формували ракові пласти чи криброзні структури. Відносна площа α -SMA $Me=17,65\%$ (13,54; 22,84), $S_{min}=5,70\%$, $S_{max}=29,68\%$. Відносна площа віментину $Me=18,76\%$ (11,06; 23,37), $S_{min}=3,59\%$, $S_{max}=28,37\%$. Експресія зазначених мезенхімальних маркерів достовірно зростала зі зростанням розміру пухлини. Достовірне зростання показника з погіршенням ступеню диференціювання спостерігалась тільки для віментину.

Строма характеризувалась високою експресією мезенхімальних маркерів, показники яких були майже вдвічі вищі, ніж в зоні ЕМТ. Експресія маркерів α SMA і віментину в 100% випадків мала дифузне мембрано-цитоплазматичне забарвлення, відносна площа складала відповідно $Me=35,46\%$ (32,23; 42,83), $S_{min}=27,01\%$, $S_{max}=62,21\%$; $Me=36,58\%$ (33,83; 41,77), $S_{min}=28,45\%$, $S_{max}=62,21\%$. Встановлений статистично достовірний прямий зв'язок між маркерами в стромі і ЕМТ (коефіцієнт Пірсона для α SMA $r=0,33$, для віментину - $p<0,05$ $r=0,65$, $p<0,05$).

Встановлено достовірне зниження експресії маркеру EpCAM і достовірне зростання експресії CD44 зі збільшенням розміру пухлини і погіршенням ступеню диференціювання ($p<0,05$). Відповідно між обома



маркерами встановлений достовірний негативний критерій Манна-Вітні та коефіцієнт Пірсона.

Виявлена в проведеній роботі одночасна експресія раковими клітинами епітеліальних і мезенхімальних маркерів свідчить про гібридний, проміжний, фенотип клітин ПАПЗ, який сприяє збільшенню клітин із рисами стовбуровості, обумовлюючи метастазування, рецидивування, обумовлює вроджену хіміорезистентність цих клітин і відповідно більшу агресивність ПАПЗ.

Отримані результати морфологічних, морфометричних, гістологічних і імуногістохімічних досліджень демонструють, що ключова роль в ініціації і прогресуванні ПАПЗ належить процесу ЕМТ.

Також результати досліджень доводять доцільність комплексного підходу до ранньої діагностики і прогнозування ПАПЗ з використанням морфологічного, гістологічного і маркерів імуногістохімічного дослідження, а саме Е-кадгерину, β -катеніну, CK7,18, α SMA, віментину, CD44, EpiCAM.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше в порівняльному аналізі вивчені та визначені імуногістохімічні параметри прогресування протокової аденокарциноми підшлункової залози, експресії маркерів епітеліально-мезенхімальної трансформації та стовбурових клітин в кожному варіанті протокової аденокарциноми підшлункової залози (за останньою класифікацією ВООЗ 2019 р.). Вперше було встановлено важливу роль та особливості експресії епітеліальних, мезенхімальних маркерів та маркерів стовбурових клітин в пухлинах ПАПЗ менше та більше 3 см різного ступеню диференціювання. Відмічалась значна втрата Е-кадгерину, CK7 та CK18 в епітеліально-мезенхімально трансформованих клітинах та значне зростання експресії β -катеніну в цих же клітинах. Також у «відшнурованих» клітинах та у їх скупченнях (епітеліально-мезенхімально трансформовані клітини) була встановлена слабка та помірна експресія мезенхімальних маркерів, які не характерні для епітеліальних клітин. При погіршенні ступеню диференціювання та прогресуванні розміру пухлини від менше до більше 3



см було встановлено значне зниження експресії Е-кадгерину, СК7 та СК18 в епітеліально-мезенхімально трансформованих клітинах та значне зростання експресії β -катеніну в цих же клітинах, значне зростання мезенхімальних маркерів α -SMA та Vim у «відшнурованих» клітинах та у їх скупченнях (епітеліально-мезенхімально трансформовані клітини).

Отримані нові дані щодо значного розвитку щільної фібропластичної стромы в ПАПЗ, що прогресувала в пухлинах від помірного до низького ступеню диференціювання та в пухлинах від менше до більше 3 см.

Практичне значення отриманих результатів. Результати роботи можна використовувати в ранній патоморфологічній діагностиці протокової аденокарциноми підшлункової залози. Також встановлені відмінності імуногістохімічних та морфометричних параметрів клітин та структур ракового залозисто-протокового компартменту, зон епітеліально-мезенхімальної трансформації та стромального компартменту ПАПЗ в пухлинах менше та більше 3 см. За результатами проведених досліджень виділені прогностично несприятливі ІГХ параметри протокової аденокарциноми підшлункової залози в залежності від розміру пухлини та її ступеню диференціювання. Зі збільшенням розміру пухлини та погіршенням її ступеню диференціювання було статистично достовірне зниження експресії епітеліальних маркерів (Е-кадгерин, СК7 та СК18) та статистично достовірне зростання β -катеніну не тільки в раковому залозисто-протоковому компартменті, але й більш виражене в залозисто-протоковому комплексі та у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях зон епітеліально-мезенхімальної трансформації, достовірне зростання маркерів мезенхімального фенотипу (віментин та гладко-м'язовий актин) в зону ЕМТ, більш виражене у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях. Зі збільшенням розміру пухлини та погіршенням ступеню диференціювання було встановлено статистично достовірне підвищення показників експресії мезенхімальних маркерів (віментин та гладко-м'язовий актин) в стромальному компартменті протокової аденокарциноми підшлункової залози. Паралельні результати



дослідження стовбурових клітин також показали прогностичні параметри погіршення протокової аденокарицноми підшлункової залози.

Результати дисертаційної роботи впровадженні в практичну діяльність Дніпропетровського обласного патологоанатомічного бюро, Запорізького патологоанатомічного бюро, Львівського патологоанатомічного відділення при обласній клінічній лікарні та Черкаського патологоанатомічного відділення при обласній лікарні. Нові теоретичні положення дисертації використовуються в навчальному процесі на кафедрах патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медико-фармацевтичного університету МОЗ України, патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету МОЗ України, кафедрі морфології, клінічної патології та судової медицини Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л.Шупика, кафедрі патологічної анатомії НН Медичного інституту Сумського державного університету МОН України.

Публікації результатів дослідження. За результатами дисертаційної роботи опубліковано 11 наукових праць, серед них 6 статей у провідних фахових журналах України (з них 1 стаття – моноавторська), з них 1 стаття у науковому фаховому журналі, що індексується міжнародними наукометричними базами, зокрема Web of Science CC, 1 стаття – в закордонному польському науковому фаховому журналі; 5 тез в матеріалах міжнародних і всеукраїнських науково-практичних конференціях.

Ключові слова: *підшлункова залоза, протокова аденокарцинома, епітеліально-мезенхімальна трансформація, E-кадгерин, β -катенін, цитокератин 7 (CK7), цитокератин 18 (CK18), α -SMA (гладко-м'язовий актин), віментин (Vim), CD44, EpCAM, імуногістохімічне дослідження, цифрова морфометрія.*



ANNOTATION

Kabachenko V.O. Pathomorphological characteristics of epithelial-mesenchymal transformation and stem cells in the progression of pancreatic ductal adenocarcinoma. – Qualification Scientific Work on the Handwriting Rights.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 222 "Medicine", (22 Health Care) - Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2025.

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2025.

The work was carried out on the basis of the laboratory of pathohistological research of the university clinic of the Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University.

The aim of this work was to improve the pathomorphological diagnostics and prediction of course of pancreatic ductal adenocarcinoma based on pathomorphological and immunohistochemical analysis of trepanobiopsy and surgical material.

The dissertation work was carried out on the basis of own research and analysis of the obtained results. Microscopic, morphological and immunohistochemical study of trepanobiopsy and biopsy material of the pancreas obtained during operations performed in the period from 2012 to 2020 in the surgical departments of LLC "Vita-Center" Zaporizhzhia, KU "City Clinical Multidisciplinary Hospital No. 3" ZOR Zaporizhzhia, KU "Zaporizhzhya Regional Clinical Hospital" ZOR Zaporizhzhia, as well as from KU "Zaporizhzhya Regional Bureau of SME" of the Zaporizhzhia Regional Council.

The main group consisted of 139 patients with pancreatic ductal adenocarcinoma (74 core biopsies, 65 samples of surgical material. The control group consisted of 10 samples of autopsy material. The age of the patients in the main group ranged from 36 to 84 years, the average was $61,68 \pm 7,75$ years. The age of the patients in the control group was 56-73 years, the average age was $64,5 \pm 2,33$ years. Depending on the size of the tumor, two groups were distinguished: Group I



- tumors less 3 cm (51 cases), Group II - tumors more 3 cm (88 cases). Each group was divided into subgroups depending on the degree of differentiation: subgroup Ia - tumors with a moderate (G_2) level of differentiation (35 cases), subgroup Ib - tumors with a low (G_3) level of differentiation (16 cases); subgroup IIa - tumors with a G_2 level differentiation (34 cases), subgroup IIb - tumors with G_3 level of differentiation (54 cases). Degrees of differentiation G_1 and G_4 were excluded due to small samples.

Standardized histological staining with hematoxylin and eosin were used, fibrous stroma was studied when staining the material by the Masson-trichrome method, immunohistochemical analysis of the expression parameters of E-cadherin, β -catenin, CK7, CK18, α -SMA and vimentin, as well as the expression of stem cell markers (CD44 and EpCAM) was performed.

According to the results obtained, in pancreatic ductal adenocarcinoma tumors there are cancerous glandular-ductal and stromal compartments, as well as zones of epithelial-mesenchymal transformation, which include the glandular-ductal component and "unlaced" cells and their clusters.

The increase in tumor size and deterioration of the degree of differentiation is accompanied by a progressive violation of the histoarchitectonics of the tumor until its complete destruction and the accumulation of fibroplastic stroma (from 24,92% at G_2 in tumors less 3 cm to 80,02% at G_3 in tumors more 3 cm) due to a decrease in the area of the glandular-ductal compartment. The pronounced development of fibrous stroma confirms the development of the oncoprocess not only in the cancerous node, and also confirms the important role of fibrous stroma in the progression and aggressive course of PDAC.

The microscopic picture of fibroplastic stroma in the conducted studies was represented by a dense infiltrate of non-cancerous stromal cells and components of the extracellular matrix (ECM), which is a distinctive feature of PDAC.

A strong correlation was established between the tubular and trabecular structures of the cancer-glandular pattern (Pearson coefficient $r=-0,83$, $p<0,05$; Mann-Whitney coefficient $z=+5,16$, $p<0,05$). A significant inverse relationship was



established between the individual components of the parenchymal compartment and the fibrous stroma.

Parallel analysis of tumor markers in the glandular-ductal compartment revealed a progressive loss of epithelial phenotype by cancer cells and an increase in cells with a mesenchymal phenotype, demonstrating the role of EMT in the progression of PDAC and the relationship of EMT with the aggressiveness of the oncoprocess.

A significant progressive decrease in the E-cadherin index with increasing tumor size was established. In tumors less 3 cm, the indicator was 33,76% (22,88; 41,38), in tumors more 3 cm – 28,27% (22,48; 37,81) at $p < 0,05$. Also, a significant decrease in β -catenin expression was found with an increase in tumor size and deterioration of the degree of differentiation, more pronounced in comparison with E-cadherin. In tumors less 3 cm, the marker indicator was 22.11% (8,35; 15,89), in tumors more 3 cm – 17,68% (11,55; 27,07). Unlike E-cadherin, the intensity of β -catenin decreased in tubular structures towards the lumen, in trabeculae p structures, on the contrary, towards the basement membrane.

Parallel IHHh analysis of cytoskeletal markers confirms the loss of signs of epithelial phenotype by PDAC cancer cells. The relative area of CK7 was $Me=17,93\%$ (10,23; 25,,73), $S_{min}=1,82\%$, $S_{max}=41,37\%$, at $p < 0,05$, CK18-positive cells - $Me=12,87\%$ (8,22; 28,23), $S_{min}=1,09\%$, $S_{max}=49,02\%$, at $p < 0,05$. A significant relationship was established according to the Mann-Whitney criterion (U Test) between epithelial markers E-cadherin, β -catenin and cytoskeletal markers CK7, CK18 ($p < 0,05$).

In the studied material, the EMT zones differed from the cancer-glandular compartment by progressive morphological changes, namely: the formation of complexes of cancer-deformed tubular, trabecular structures, in tumors more than 3 cm of low degree of differentiation, cribrous structures with pronounced atypism, the presence of “unlaced” cancer-deformed cells and their clusters were noted. Also, a significant loss of E-cadherin and cytokeratins and accumulation of β -catenin in the EMT zone in comparison with the glandular-ductal compartment were



determined. The dependence of the expression of markers on the size and degree of tumor differentiation was established. More pronounced dynamics of the indicators of these oncoproteins was observed in “unlaced” cells and their clusters. Instead, in the EMT zone, the expression of mesenchymal markers α -SMA and vimentin was established by cancer-deformed cells that were localized singly around tubular, trabecular and cribriform structures, or formed cancer layers or cribriform structures. The relative area of α SMA Me=17,65% (13,54; 22,84), $S_{\min}$ -5,70%, $S_{\max}$ -29,68%. The relative area of vimentin Me=18,76% (11,06; 23,37), $S_{\min}$ -3,59%, $S_{\max}$ -28,37%. The expression of these mesenchymal markers significantly increased with increasing tumor size. A significant increase in the indicator with worsening differentiation was observed only for vimentin.

The stroma was characterized by high expression of mesenchymal markers, the indicators of which were almost twice as high as in the EMT zone. The expression of α -SMA and vimentin markers in 100% of cases had a diffuse membrane-cytoplasmic staining, the relative area was respectively Me=35,46% (32,23; 42.83), $S_{\min}$ -27,01%, $S_{\max}$ -62,21%; Me=36,58% (33,83; 41,77), $S_{\min}$ -28,45%, $S_{\max}$ -62,21%. A statistically significant direct relationship between markers in the stroma and EMT was established (Pearson's coefficient for α -SMA $r=0,33$, for vimentin - $p<0,05$ $r=0.65$, $p<0,05$).

A significant decrease in the expression of the EpCAM marker and a significant increase in the expression of CD44 with an increase in tumor size and deterioration of the degree of differentiation were established ($p<0.05$). Accordingly, a significant negative Mann-Whitney test and Pearson coefficient were established between both markers.

The simultaneous expression of epithelial and mesenchymal markers by cancer cells revealed in the work indicates a hybrid, intermediate, phenotype of PDAC cells, which promotes the increase of cells with stemness features, causing metastasis, recurrence, causes innate chemoresistance of these cells and, accordingly, greater aggressiveness of PDAC.



The obtained results of morphological, morphometric, histological and immunohistochemical studies demonstrate that the key role in the initiation and progression of PAP belongs to the EMT process.

Also, the results of the research prove the feasibility of a comprehensive approach to early diagnosis and prognosis of PDAC using morphological, histological and immunohistochemical markers, namely E-cadherin, β -catenin, CK7,18, α SMA, vimentin, CD44, EpCAM.

Scientific novelty of the results obtained. For the first time in the comparative analysis, the immunohistochemical parameters of the progression of the ductal adenocarcinoma of the pancreas, the expression of markers of epithelial-mesenchymal transformation and stem cells in each variant of the ductal adenocarcinoma of the pancreas were studied and identified. For the first time, an important role and features of the expression of epithelial, mesenchymal markers and markers of trunk cells in the papz tumors less and more 3 cm of varying degrees of differentiation were identified. There was a significant loss of e-cadgerin, SK7 and SK18 in epithelial-mesenchimically transformed cells and a significant increase in β -cathenin expression in the same cells. Also, in "derivated" cells and in their clusters (epithelial-mesenchymally transformed cells), poor and moderate expression of mesenchymal markers, which are not characteristic of epithelial cells, were established. With the deterioration of differentiation and progression of tumor size from less to more than 3 cm, a significant decrease in the expression of e-kadgerin, SK7 and SK18 in epithelial-mesenchymally transformed cells and a significant increase in β -cathenin expression in the same cells, and a significant increase "Detrimental" cells and in their clusters (epithelial-mesenchimically transformed cells).

New data on the significant development of dense fibroplastic stroma in the Papz, which progressed in tumors from moderate to low differentiation and in tumors from less to more 3cm.

The practical importance of the results obtained. The results of the work can be used for practical use in early pathomorphological diagnosis of the ductal



adenocarcinoma of the pancreas. Also established differences of immunohistochemical and morphometric parameters of cells and structures of cancer glandular-prototy depending on the size of the tumor and its degree of differentiation. With the increase in the size of the tumor and the deterioration of its degree of differentiation, a statistically significant decrease in the expression of epithelial markers (E-Kadgerin, SK7 and SK7) and statistically significant growth The "detrimental" cells and their accumulations of epithelial-mesenchymal transformation zones, the significant growth of markers of mesenchymal phenotype (vmitry and smooth-muscular actin) into the EMT zone, more pronounced in "detached" cells and their clusters. With the increase in the size of the tumor and the deterioration of the degree of differentiation, a statistically significant increase in the expression of mesenchymal markers (girls and smooth-muscular actin) in the stromal compartment of the ductal adenocarcinoma of the pancreas was established. The parallel results of the study of stem cells also showed the prognostic parameters of the deterioration of the ductal adenocarcinoma of the pancreas.

The results of the thesis research are introduced into practice at the research the Dnipropetrovsk regional pathoanatomical bureau, the Zaporozhye Pathologic Anatomical Bureau, the Lviv Pathological Anatomical Department at the Regional Clinical Hospital and the Cherkasy Pathologic Anatomical Department at the Regional Hospital. The new theoretical provisions of the dissertation are used in the learning process at the pathological anatomy and forensic medicine of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of Ukraine, pathological physiology with a course of normal physiology of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of Ukraine, Department of Morphology, Clinical Pathology and Forensic Medicine of the National University of Health of Ukraine named after PL Shupyk, Department of Pathological Anatomy of NN Medical Institute of Sumy State University of the Ministry of Education and Science of Ukraine.

Publications of research results. According to the results of the dissertation, 11 scientific works were published, including 6 articles in the leading professional



journals of Ukraine (of which 1 article is monauthorus), including 1 article in a scientific professional journal, which is indexed by international scientific databases, including WEB of SCIENSE; 1 article - in a foreign Polish scientific professional journal; 5 abstracts in materials of international and all-Ukrainian scientific and practical conferences.

Keywords: *pancreas, ductal adenocarcinoma, epithelial-mesenchymal transformation, E-cadherin, β -catenin, cytokeratin 7 (CK7), cytokeratin 18 (CK18), α -SMA (smooth muscle actin), vimentin (Vim), CD44, EpCAM, immunohistochemical study, digital morphometry.*



СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ НА ТЕМУ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Кабаченко В.О., Шишкін М.А. (2024). Імуногістохімічна характеристика епітеліально-мезенхімальної трансформації в протоковій аденокарциномі підшлункової залози. *Запорізький медичний журнал*. 2024. Т.26, № 2(143). С. 127-133. DOI: 10.14739/2310-1210.2024.2.297243 (Кабаченко В.О. – підбір матеріалу, аналіз результатів гістологічного та імуногістохімічного досліджень, статистична обробка даних, Шишкін М.А. – остаточне затвердження статті)
2. Кабаченко В.О., Шишкін М.А. (2024). Епідеміологія раку підшлункової залози в Україні та Запорізькій області. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2024 Т.17, №2(45). С.169-175 <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.2.299555> (Кабаченко В.О. – підбір матеріалу, аналіз результатів досліджень, статистична обробка даних, Шишкін М.А. – остаточне затвердження статті)
3. Кабаченко В.О., Шишкін М.А. (2023). Мікроскопічна та імуногістохімічна характеристика епітеліально-мезенхімальної трансформації в протоковій аденокарциномі підшлункової залози помірного та низького ступеню диференціювання. *Morphologia*. 2023;17(4):60-73. Ukrainian. <https://morphology.dmu.edu.ua/pro-zurnal/arhiv-nomeriv/2023-vol-17-4> DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.60-73> (Кабаченко В.О. – підбір матеріалу, аналіз результатів гістологічного та імуногістохімічного досліджень, статистична обробка даних, Шишкін М.А. – остаточне затвердження статті)
4. V.O.Kabachenko. M.A.Shishkin (2022). IHC characteristics of stem cell markers in PDAC with different degrees of differentiation. *Journal of Education, Health and Sport*. 2022. 12(6) 229-237. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2022.12.06.023> <https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/JEHS.2022.12.06.023> <https://zenodo.org/record/6678066> (Кабаченко В.О. – підбір матеріалу, аналіз результатів гістологічного та імуногістохімічного досліджень,



статистична обробка даних, Шишкін М.А. – остаточне затвердження статті)

5. Кабаченко В.О. Шишкін М.А. (2022). Особливості фіброзної стромі в протоковій аденокарциноми підшлункової залози в залежності від розміру пухлини. *Morphologia*. 2022;16(2):51-9. Ukrainian. <https://morphology.dmu.edu.ua/pro-zurnal/arhiv-nomeriv/2023-vol-17-4> DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.2.51-59> (Кабаченко В.О. – підбір матеріалу, аналіз результатів гістологічного та імуногістохімічного досліджень, статистична обробка даних, Шишкін М.А. – остаточне затвердження статті)

6. Кабаченко В.О. (2021) Протокова аденокарцинома підшлункової залози: аналіз первинної діагностики та імуногістохімічні особливості пухлини. *Морфологія*. 2021. Т.15, №4. С62-70. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.4.62-70>

7. Кабаченко В.О. (2019, травень). Епітеліально-мезенхімальна трансформація клітин протокової аденокарциноми підшлункової залози. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019*: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів (м. Запоріжжя, 13-17 травня 2019р.). Запоріжжя, 2019. С.8.

8. Кабаченко В.О. (2021, квітень). Протокова аденокарцинома підшлункової залози; аналіз захворюваності і характерні патоморфологічні особливості пухлини. *Наукові дослідження патологоанатомів України: досягнення та перспективи розвитку*: матеріали міжнародної науково-практичної онлайн-конференції (м. Запоріжжя, 22-23 квітня 2021р.). м.Запоріжжя, 2021р. С.22.

9. Кабаченко В.О. (2021, жовтень). Десмопластична строма в протоковій аденокарциномі підшлункової залози. *УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії*: матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної



3616367231352456

конференції з міжнародною участю (м. Полтава, 8 жовтня 2021р.). Полтава, 2021. С66-67.

10. Кабаченко В.О (2022, травень). ІГХ характеристика фіброзної стромы в протоковій аденокарциномі підшлункової залози при різному ступені диференціювання пухлини *Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2022: матеріали* всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів (м. Запоріжжя, 17 травня 2022р.). м.Запоріжжя, 2022р. С.47-48.

<http://dspace.zsmu.edu.ua/handle/123456789/18515>

11. Kabachenko V.O. (2022, травень) Epithelial-mesenchymal transition in ductal adenocarcinoma of the pancreas depending on the size of the tumor. *YOUNG SCIENCE 4.0* матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених (м. Київ, 30 травня 2022р.). Київ, 2022. С.28-29.

<http://dspace.zsmu.edu.ua/bitstream/123456789/20200/1/c28-29.pdf>



ЗМІСТ

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ НА ТЕМУ ДИСЕРТАЦІЇ	
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	23
ВСТУП.....	25
РОЗДІЛ 1 ГІСТОЛОГІЧНІ, ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ТА КЛІНІКО- МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРОТОВОЇ АДЕНОКАРЦИНОМИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ (огляд літератури).....	33
1.1 Епідеміологія протокової аденокарциноми підшлункової залози.....	33
1.2 Класифікація, клініко-морфологічна та патогістологічна характеристика протокової аденокарциноми підшлункової залози.....	35
1.3 Імуногістохімічні основи прогресування протокової аденокарциноми підшлункової залози.....	47
1.3.1 Концепція епітеліально-мезенхімальної трансформації та її значущість у розвитку та прогресуванні протокової аденокарциноми підшлункової залози.....	47
1.3.2 Концепція ракових стовбурових клітин та її значущість у розвитку та прогресуванні протокової аденокарциноми підшлункової залози.....	61
1.3.3 Особливості взаємодії ракових клітин та мікрооточення та їх значення у прогресуванні протокової аденокарциноми підшлункової залози.....	65
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	70
2.1 Матеріали дослідження.....	70
2.2 Методи та методики дослідження.....	71
РОЗДІЛ 3 АНАЛІЗ ЗАХВОРЮВАНOSTІ ТА СМЕРТНОСТІ ПРИ ПРОТОВОЇ АДЕНОКАРЦИНОМИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ В УКРАЇНІ ТА ЗАПОРІЗЬКІЙ ОБЛАСТІ.....	76
РОЗДІЛ 4 МІКРОСКОПІЧНІ, ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРОТОВОЇ АДЕНОКАРЦИНОМИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ.....	87
4.1 Гістологічні, гістохімічні та морфометричні особливості гістоархітекtonіки протокової аденокарциноми підшлункової залози.....	92



4.2 Імуногістохімічні та морфометричні особливості раково-залозистого компартменту протокової аденокарциноми підшлункової залози.....	99
4.3 Імуногістохімічні та морфометричні особливості епітеліально-мезенхімальної трансформації протокової аденокарциноми підшлункової залози.....	101
4.4 Імуногістохімічні та морфометричні особливості стромального компартменту протокової аденокарциноми підшлункової залози.....	104
4.5 Імуногістохімічні та морфометричні особливості стовбурових клітин протокової аденокарциноми підшлункової залози.....	106
РОЗДІЛ 5 МІКРОСКОПІЧНІ, ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРОТОВОЇ АДЕНОКАРЦИНОМИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ В ПУХЛИНАХ МЕНШЕ ТА БІЛЬШЕ 3 СМ.....	112
5.1.1 Гістологічні, гістохімічні та морфометричні особливості гістоархітекtonіки протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах менше 3 см.....	112
5.1.2 Імуногістохімічні та морфометричні особливості раково-залозистого компартменту протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах розміром менше 3 см.....	117
5.1.3 Імуногістохімічні та морфометричні особливості епітеліально-мезенхімальної трансформації протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах розміром менше 3 см.....	124
5.1.4 Імуногістохімічні та морфометричні особливості стромального компартменту протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах розміром менше 3 см.....	134
5.1.5 Імуногістохімічні та морфометричні особливості стовбурових клітин протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах розміром менше 3 см.....	137
5.2.1 Гістологічні, гістохімічні та морфометричні особливості гістоархітекtonіки протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах більше 3 см.....	143



5.2.2 Імуногістохімічні та морфометричні особливості раково-залозистого компартменту протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах розміром більше 3 см.....	150
5.2.3 Імуногістохімічні та морфометричні особливості епітеліально-мезенхімальної трансформації протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах розміром більше 3 см.....	155
5.2.4 Імуногістохімічні та морфометричні особливості стромального компартменту протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах розміром більше 3 см.....	166
5.2.5 Імуногістохімічні та морфометричні особливості стовбурових клітин протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах розміром більше 3 см.....	169
РОЗДІЛ 6 ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ПУХЛИН ПРОТОВОЇ АДЕНОКАРЦИНОМИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ МЕНШЕ ТА БІЛЬШЕ 3 СМ.....	177
6.1 Порівняльна характеристика гістологічних, гістохімічних та морфометричних особливостей протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах менше та більше 3 см.....	177
6.2 Порівняльна характеристика імуногістохімічних та морфометричних особливостей раково-залозистого компартменту протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах менше та більше 3 см.....	178
6.3 Порівняльна характеристика імуногістохімічних та морфометричних особливостей епітеліально-мезенхімальної трансформації протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах менше та більше 3 см...	181
6.4 Порівняльна характеристика імуногістохімічних та морфометричних особливостей стромального компартменту протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах менше та більше 3 см.....	185
6.5 Порівняльна характеристика імуногістохімічних та морфометричних особливостей стовбурових клітин протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах менше та більше 3 см.....	187



3616367231332456

РОЗДІЛ 7 АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ...	191
ВИСНОВКИ.....	215
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	218
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	219
ДОДАТОК А АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ.....	261
ДОДАТОК Б СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ.....	269
ДОДАТОК В ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ ДИСЕРТАЦІЇ.....	272



ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- α - SMA – альфа-гладеньком'язовий актин
- Віментин (Vim) – проміжний філамент клітин мезенхімального походження
- CD44 – поверхневий глікопротеїн, рецептор гіалуронової кислоти
- CK7 – проміжний філамент епітеліальних клітин
- CK18 – проміжний філамент епітеліальних клітин
- ЗН – злоякісні новоутворення
- ЗКПЗ – зірчасті клітини підшлункової залози
- CAF - канцерасоційовані фібробласти
- Залоз/прот комп – залозисто-протоковий компартмент (компонет)
- Скуп кліт – скупчення клітин
- ІГХ – імуногістохімічне (дослідження)
- ЕМТ – епітеліально-мезенхімальний трансформація
- ЕрСМ – молекула адгезії епітеліальних клітин
- МФМ – морфометричне (дослідження)
- Me – медіана
- ІМПЗ – имунопозитивні (клітини)
- РСК – ракові стовбурові клітини
- РПЗ – рак підшлункових залози
- ПАПЗ – протокова аденокарцинома підшлункової залози
- ПЗК/а ПЗК – панкреатичні зірчасті клітини / активовані панкреатичні зірчасті клітини
- СПЗМ – стандартизоване поле зору мікроскопа
- KRAS – протоонкоген, що кодує білок RAS
- r – коефіцієнт кореляції Пірсона
- β -катенін – протеїн, молекула міжклітинної адгезії
- Е-кадгерин – мембранний глікопротеїн, молекула міжклітинної адгезії
- β -катенін⁺ – мунопозитивні клітини на β -катенін
- Е-кадгерин⁺ – мунопозитивні клітини на Е-кадгерин



361636723132456

Wnt/ β -катеніновий каскад – внутрішньоклітинний сигнальний каскад,
центральним компонентом якого є β -катенін



ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. З усіх випадків раку підшлункової залози протокова аденокарцинома підшлункової залози складає приблизно 90%, яка швидко прогресує через високий ступінь інвазивності та високий метастатичний потенціал. Кількість пацієнтів із протоковою аденокарциномою підшлункової залози (ПАПЗ) продовжує зростати у всьому світі, в тому числі і в Україні, і згідно з оцінками Глобальної обсерваторії раку Міжнародної агенції з досліджень раку підшлункової залози, до 2040 р. очікується зростання на 61,7% і може посісти друге місце за рівнем смертності. У більшості пацієнтів пухлина діагностується на IV стадії при наявності метастазів і загальна 5-річна виживаність хворих складає всього 3%. В зв'язку з цим оперативне лікування є радикальним лише в 15-20%. При цьому, навіть після радикальних операцій, тривалість життя та тривалість безрецидивного періоду не перевищують 12–14 місяців, що є найгіршим показником серед всіх злоякісних пухлин черевної порожнини. Обмежена доступність діагностичних підходів та хірургічне втручання як єдино існуючий варіант лікування з можливістю виживання лише 10% діагностичних пацієнтів збільшує страшність цього захворювання. При цьому діагностика протокової аденокарциноми підшлункової залози є достатньо складною і в клінічному, і морфологічному аспектах.

В теперішній час ведеться посилений пошук критеріїв прогнозу раків різних локалізацій. Важливим механізмом розвитку канцерогенезу вважається епітеліально-мезенхімальна трансформація, роль якої залишається предметом постійного вивчення через неможливість контролю перехідних та оборотних фенотипів останньої. Крім того роль і особливості впливу епітеліально-мезенхімальної трансформації на прогресування і агресивність протокової аденокарциноми підшлункової залози потребують подальшого вивчення.

Висока проліферативна активність, адгезивні властивості, порушення ядерного апарату пухлинних клітин і контролю клітинного поділу з



порушенням процесів апоптозу забезпечують високу агресивність, швидкий ріст, метастазування та рецидивування протокової аденокарциноми підшлункової залози. Для оцінки інвазивних властивостей злоякісних новоутворень і визначення підвищеного метастатичного потенціалу необхідно дослідження експресії різних маркерів. З цієї точки зору вивчення морфології пухлини і особливостей експресії маркерів, асоційованих з підвищеними інвазивними властивостями, при раку підшлункової залози є вельми актуальними.

Ракові клітини, які зазнають епітеліального переходу в мезенхімальний, набувають властивостей, подібних до стовбурових клітин. Ракові стовбурові клітини — це підгрупа ракових клітин, які мають здатність до самовідновлення, пластичності клітин, ініціювати та підтримувати ріст пухлини, також володіють унікальними маркерами клітинної поверхні, які підкреслюють їх гетерогенність, здатність значно змінювати свій фенотип у відповідь на стимул або наслідок хіміотерапії, і таким чином допомагають створити стійкість до лікування та уникнути протипухлинного імунітету.

Імуногістохімічна оцінка зразківів пухлини сприяє обґрунтуванню клінічного діагнозу. Визначення імуногістохімічних маркерів є «золотим стандартом» у діагностиці пухлин, оскільки уточнений клініко-морфоімуногістохімічний діагноз надає можливість коригувати протипухлинне лікування, здійснювати ефективне диспансерне спостереження, оцінювати прогноз захворювання та здійснювати правильне кодування у канцер-реєстрі.

У зв'язку з усім вищезазначеним обрана тема дисертаційного дослідження, присвячена вивченню патогістологічних та імуногістохімічних особливостей протокової аденокарциноми підшлункової залози в залежності від розміру пухлини і ступеню диференціювання, ролі епітеліально-мезенхімальної трансформації, строми в прогресуванні патології, може сприяти поліпшенню розуміння діагностичних методів, прогнозування, ведення пацієнтів із цією патологією та є вкрай актуальною.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертація є фрагментом двох НДР Запорізького державного медико-фармацевтичного університету «Коморбідні стани, серцево-судинні та онкологічні захворювання в загальноклінічній практиці: розробка сучасних діагностичних та лікувальних заходів» 2020-2023рр (№ державної реєстрації 0120U101587). Тема дисертації затверджена Вченою радою Запорізького державного медичного університету 26 жовтня 2021 року (протокол № 3 від 26.10.2021 р.).

Мета і завдання дослідження. Мета – удосконалити патоморфологічну діагностику та прогнозування перебігу протокової аденокарциноми підшлункової залози на основі патоморфологічного та імуногістохімічного аналізу трепанбіопсійного та оперіційного матеріалу.

Для досягнення поставленої мети були поставлені наступні задачі:

1. Вивчити патоморфологічні особливості протокової аденокарциноми підшлункової залози в залежності від розміру та ступеню диференціювання пухлини.

2. Дослідити гістохімічними, імуногістохімічними (Е-кадгерин, β -катенін, CK7, CK18) і морфометричними методами особливості залозисто-протоковому компартменту в пухлинах протокової аденокарциноми підшлункової залози в залежності від розміру і ступеню диференціювання

3. Дослідити гістохімічними, імуногістохімічними (Е-кадгерин, β -катенін, CK7, CK18, α SMA, Vim) і морфометричними методами особливості епітеліально-мезенхімальної трансформації в пухлинах протокової аденокарциноми підшлункової залози в залежності від розміру і ступеню диференціювання.

4. Дослідити гістохімічними, імуногістохімічними (α SMA, Vim) і морфометричними методами фібропластичну строму та її роль в прогресуванні протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах до 3-х і більше 3-х см різного ступеню диференціювання.



5. Дослідити особливості імуногістохімічної експресії маркерів стовбурових клітин (CD44, EpCAM) при прогресуванні протокової аденокарциноми ПЗ в пухлинах до 3-х і більше 3-х см.

6. Розробити нові дані для раннього патоморфологічного прогнозування перебігу протокової аденокарциноми ПЗ в біоптатах хворих для своєчасного попередження прогресування цієї хвороби.

Об'єкт дослідження: протокова аденокарцинома підшлункової залози

Предмет дослідження: патоморфологічні параметри ЕМТ та роль стовбурових клітин при прогресуванні протокової аденокарциноми підшлункової залози (в пухлинах до 3 см і більше 3 см).

Методи дослідження: Патогістологічний (забарвлення зрізів гематоксиліном та еозином), гістохімічний (забарвлення зрізів методом Масон-трихром), імуногістохімічний (дослідження рівня експресії CK7, CK18, α -SMA, Е-кадгерин, β -катенін, Vimentin, CD44, EpCAM). Морфометричний аналіз гістохімічних і імуногістохімічних параметрів ракових клітин і панкреатичних фібробластів в програмі обробки цифрових зображень Image J. Статистична обробка, порівняльний та кореляційний аналізи кількісних даних.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше в порівняльному аналізі вивчені та визначені імуногістохімічні параметри прогресування протокової аденокарциноми підшлункової залози, експресії маркерів епітеліально-мезенхімальної трансформації та стовбурових клітин в кожному варіанті протокової аденокарциноми підшлункової залози (за останньою класифікацією ВООЗ 2019 р.). Вперше було встановлено важливу роль та особливості експресії епітеліальних, мезенхімальних маркерів та маркерів стовбурових клітин в пухлинах протокової аденокарциноми підшлункової залози менше та більше 3 см різного ступеню диференціювання. Відмічалась значна втрата Е-кадгерину, CK7 та CK18 в епітеліально-мезенхімально трансформованих клітинах та значне зростання експресії β -катеніну в цих же клітинах. Також у «відшнурованих» клітинах та у їх скупченнях (епітеліально-мезенхімально трансформовані клітини) була встановлена



слабка та помірна експресія мезенхімальних маркерів, які не характерні для епітеліальних клітин. При погіршенні ступеню диференціювання та прогресуванні розміру пухлини від менше до більше 3 см було встановлено значне зниження експресії Е-кадгерину, CK7 та CK18 в епітеліально-мезенхімально трансформованих клітинах та значне зростання експресії β -катеніну в цих же клітинах, значне зростання мезенхімальних маркерів α -SMA та Vim у «відшнурованих» клітинах та у їх скупченнях (епітеліально-мезенхімально трансформовані клітини).

Отримані нові дані щодо значного розвитку щільної фібропластичної стромы в протоковій аденокарциномі підшлункової залози, що прогресувала в пухлинах від помірного до низького ступеню диференціювання та в пухлинах від менше до більше 3 см.

Практичне значення отриманих результатів. Результати роботи можна використовувати в ранній патоморфологічній діагностиці протокової аденокарциноми підшлункової залози. Також встановлені відмінності імуногістохімічних та морфометричних параметрів клітин та структур ракового залозисто-протокового компартменту, зон епітеліально-мезенхімальної трансформації та стромального компартменту протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах менше та більше 3 см. За результатами проведених досліджень виділені прогностично несприятливі ІГХ параметри протокової аденокарциноми підшлункової залози в залежності від розміру пухлини та її ступеню диференціювання. Зі збільшенням розміру пухлини та погіршенням її ступеню диференціювання було статистично достовірне зниження експресії епітеліальних маркерів (Е-кадгерин, CK7 та CK18) та статистично достовірне зростання β -катеніну не тільки в раковому залозисто-протоковому компартменті, але й більш виражене в залозисто-протоковому комплексі та у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях зон епітеліально-мезенхімальної трансформації, достовірне зростання маркерів мезенхімального фенотипу (віментин та гладко-м'язовий актин) в зоні епітеліально-мезенхімальної трансформації, більш виражене у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях. Зі



збільшенням розміру пухлини та погіршенням ступеню диференціювання було встановлено статистично достовірне підвищення показників експресії мезенхімальних маркерів (віментин та гладко-м'язовий актин) в стромальному компартменті протокової аденокарциноми підшлункової залози. Паралельні результати дослідження стовбурових клітин також показали прогностичні параметри погіршення протокової аденокарциноми підшлункової залози.

Результати дисертаційної роботи впровадженні в практичну діяльність Дніпропетровського обласного патологоанатомічного бюро, Запорізького патологоанатомічного бюро, Львівського патологоанатомічного відділення при обласній клінічній лікарні та Черкаського патологоанатомічного відділення при обласній лікарні. Нові теоретичні положення дисертації використовуються в навчальному процесі на кафедрах патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медико-фармацевтичного університету МОЗ України, патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету МОЗ України, кафедрі морфології, клінічної патології та судової медицини Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л.Шупика, кафедрі патологічної анатомії НН Медичного інституту Сумського державного університету МОН України.

Особистий внесок дисертанта. Дисертаційна робота є самостійно виконаним дослідженням авторки, науковим керівником визначена тема, мета і завдання роботи. Дисертантка особисто виконала патентно-інформаційний пошук, систематизацію і аналіз літератури, а також патогістологічні, імуногістохімічні (ІГХ) і морфометричні (МФМ) дослідження матеріалу всіх хворих; провела статистичний аналіз отриманих даних, систематизувала та інтерпретувала отримані результати; написала всі розділи дисертації; сформулювала висновки та практичні рекомендації. Молекулярно-генетичні дослідження патоморфологічного матеріалу виконані дисертанткою в ПЛР-лабораторії Запорізького державного медичного університету. У наукових



працях, опублікованих у співавторстві, викладено матеріал досліджень здобувачки, не були використані результати та ідеї співавторів.

Апробація результатів дисертації. Отримані результати дисертаційної роботи висвітлені та обговорювались на науково-практичній конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів *«Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019»* (13-17 травня 2019р. м. Запоріжжя), міжнародній науково-практичній онлайн-конференції *«Наукові дослідження патологоанатомів України: досягнення та перспективи розвитку»* (22-23 квітня 2021р. м. Запоріжжя.), Всеукраїнській міждисциплінарній науково-практичній конференції з міжнародною участю *«УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)»* присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії» (8 жовтня 2021р., м. Полтава), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів *«Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2022»* (17 травня 2022р., м. Запоріжжя), науково-практичній конференції з міжнародною участю молодих вчених *«YOUNG SCIENCE 4.0»* (30 травня 2022р., м. Київ).

Апробація дисертаційної роботи проводилася на міжкафедральному засіданні кафедр патологічної анатомії і судової медицини; анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії; гістології, цитології та ембріології; патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету МОЗ України – 20.03.2025 року.

Публікації. За результатами дисертаційної роботи опубліковано 11 наукових праць, серед них 6 статей у провідних фахових журналах України (з них 1 стаття – моноавторська), з них 1 стаття у науковому фаховому журналі, що індексується міжнародними наукометричними базами, зокрема Web of Science CC, 1 стаття – в закордонному (польському) науковому нефармацевтичному журналі; 5 тез в матеріалах міжнародних і всеукраїнських науково-практичних конференціях.



3616367231352456

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота виконана на 272 сторінок машинопису і складається з анатоції, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 4 розділи власних досліджень, аналізу та обговоренню отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, додатків. Робота ілюстрована 64 рисунками та 39 таблицями. Список літератури містить 299 Джерел (26 кирилицею та 273 латинцею).



РОЗДІЛ 1

ГІСТОЛОГІЧНІ, ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ТА КЛІНІКО- МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРОТОКОВОЇ АДЕНОКАРЦИНОМИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Епідеміологія протокової аденокарциноми підшлункової залози

Рак підшлункової залози (РПЗ) (код МКХ-10 – C25), (ICD-0 cod 8500/3) вперше був описаний Джованні Баттиста Морган'ї в 1760 роках в науковій праці «De Sedibus et Causis Morborum per Anatomen Indigatis». Захворювання вважається рідкісним, посідає 11-14 місце в світі серед онкологічної патології після найбільш розповсюджених раків легень, товстої кишки, молочної залози, передміхурової залози та інш. [84,92,95,133,139,236,246] та 7 місце за смертністю [50,84,92,103,133,139,246,280]. Основним гістологічним підтипом РПЗ є протокова аденокарцинома, що становить 85-95% усіх випадків РПЗ і відрізняється агресивністю, високою швидкістю метастазування [44,107,117,175,232,252,256]. Кількість пацієнтів із протоковою аденокарциномою підшлункової залози (ПАПЗ) продовжує зростати у всьому світі. За оцінками GLOBOCAN у 2020 році кількість нових випадків ПАПЗ склала 495773, що помістило його на чотирнадцяте місце в списку найпоширеніших видів раку. При цьому кількість вторинних смертей від ПАПЗ становила 466003 на рік, що робить його сьомою причиною смертей від раку [50,95,128,130,177,239,281]. Щорічно виявляється 0,46 млн нових випадків зі зростанням щороку на 0,3-0,5% [50,70,95,102,177,236,280,281], а за деякими даними - на 1,03% [225], і до 2040 р. збільшиться на 77,7%. Згідно з оцінками Глобальної обсерваторії раку Міжнародної агенції з досліджень раку підшлункової залози, до 2040 р. очікується зростання на 61,7% у загальній кількості випадків у всьому світі [107,187,212,235,252]. Середній ризик



розвитку ПАПЗ впродовж життя складає, за різними даними, 1 на 64-67 [144,177,214].

Незважаючи на те, що рівень смертності пацієнтів з раком шлунка, колоректального та печінкового раку зменшується через прогрес у лікуванні, не було жодних ознак зниження смертності пацієнтів із ПАПЗ, яка є п'ятою провідною причиною смертності від раку в західних країнах і її частота зросла за останні 40 років [214,232,235]. На жаль, прогноз залишається поганим, і до 2030 р ПАПЗ буде другою причиною смерті від раку після легеневої карциноми [148,150]. За прогнозами GLOBOCAN-2018 до 2040 р. смертність від ПАПЗ збільшиться на 79,9% [212,252]. Коефіцієнт захворюваності/смертності складає 94%, у США, європейських країнах, Японії, Китаї цей коефіцієнт сягає 98% [175,203].

Пік захворюваності припадає на сьоме-восьме десятиліття. Вкрай рідко спостерігається до 30 років і зростає до 55 років [148,150,248,249]. Однак Національний інститут раку виявляє вікову тенденцію до збільшення рівня захворюваності на ПАПЗ у вікових групах 20-29 років і >80 років у Сполучених Штатах [175,177,297]. При цьому принаймні 90% смертей від ПАПЗ зареєстровано у пацієнтів віком ≥ 55 років [175,248,249,260].

У гендерному відношенні в світі чоловіки хворіють в 1,5-1,6 рази частіше [50,95,102,175,232,239,281]. За іншими даними статевий коефіцієнт захворюваності складає 5,5-5,7 у чоловіків проти 4,0-4,1 у жінок [50,95,102,175,232,239,281]. Ця невідповідність виявляється більшою у країнах із вищим рівнем розвитку [50,95,102,103,175,212,227,236].

Захворюваність на ПАПЗ залежить від рівня розвитку. Тому найвищі показники реєструються в Європі (7,8%, 7,2 смерті на 100000 осіб) та Північній Америці (8%, 6,5 на 100000 осіб). Найнижчий – в країнах Південно-Східної Азії, серед яких в лідерах є Китай. Найнижчий рівень смертності від ПАПЗ спостерігається в Східній Африці (1,2 на 100 000 осіб) та різна в різних країнах і Центральній Азії [50,54,95,107,297]. Різняться і віковий пік захворюваності. В Індії пік припадає на шосте десятиліття життя



[50,54,95,107,297], тоді як у Сполучених Штатах - на сьоме десятиліття життя [50,95,107,175,212,239].

Вважається, що причинами регіональних відмінностей у захворюваності та смертності пацієнтів із ПАПЗ є расові відмінності в різних факторах ризику та прогрес в діагностиці та лікуванні. Рівень смертності пацієнтів з ПАПЗ у країнах з низьким або середнім рівнем розвитку приблизно в 4–5 разів вищий, ніж у країнах з високим рівнем розвитку [95,103,144,175,236,237,259,280]. Таким чином, діагностика та лікування ПАПЗ мають бути стандартизованими на міжнародному рівні.

1.2 Класифікація, клініко-морфологічна та патогістологічна характеристика протокової аденокарциноми підшлункової залози

Маніфестація клінічних симптомів ПАПЗ відбувається на більш пізніх стадіях. Вважається, що від початку мутації в ПЗ до розвитку метастазів при ПАПЗ проходить майже 21 рік [216,289]. Це забезпечує широке вікно для ранньої діагностики патології [144,297]. Однак, за даними USNCI (U.S. National Cancer Institute), незалежно від раси, статі, ПАПЗ в локалізованій стадії діагностується лише в 9,4%, в 52% виявляється в стадії віддаленого метастазування і в 26% відбувається ураження регіонарних лімфатичних вузлів [67,95,102,144,145,175,251,288]. За іншими даними, на стадіях 0 та I ПАПЗ складають лише близько 2% усіх випадків [67,95,145,147,251,288]. В зв'язку з цим всього у 15–20% пацієнтів проводиться радикальна резекція; у решти 80–85% діагностують метастатичне або місцево поширене захворювання. При цьому, навіть після радикальних операцій, тривалість життя та тривалість безрецидивного періоду не перевищують 12–14 місяців, що є найгіршим показником серед усіх злоякісних пухлин черевної порожнини. Проблеми із ранньою діагностикою впливають на виживаність. Річний коефіцієнт загальної виживаності (ЗВ) пацієнтів із ПАПЗ є дуже низьким (24%) [67,100,103,104,155]. Світовий 5-річний рівень ЗВ хворих на



ПАПЗ становить приблизно 6%, але в опублікованій літературі він варіює від <2% до 9% і навіть 15% [67,95,107,112,145,175,177,238].

В залежності від стадії захворювання на початку лікування рівень п'ятирічної виживаності складає при 0 стадії 85,8%, при Ia стадії — 68,7% і стадії Ib — 59,7%, що вище, ніж показники виживаності на II і більш пізніх стадіях [67,95,111,146,250,260,288]. Згідно інших досліджень, навіть при стадії Tins п'ятирічна загальна виживаність не перевищує 32% [112,145,155,224].

Скринінг груп ризику є найбільш практичним методом ідентифікації ранніх стадій ПАПЗ та попередніх злоякісних ушкоджень. Кілька захворювань пов'язані з високим ризиком розвитку ПК, і їх можна класифікувати як спадкові або неспадкові. Вік >55 років, куріння, ожиріння, зловживання алкоголем, діабет, дієтичні фактори, вплив токсичних речовин та хронічний панкреатит - загальні неспадкові фактори ризику виникнення ПК [33,95,111,113,250,260,288,297]. До спадкових факторів належать сімейний рак підшлункової залози (FPC), синдром Peutz-Jeghers, сімейний аденоматозний поліпоз (FAP) та сімейна атипова багатоплідна меланома (FAMMM) [95,111,146,175,250,260,288,297].

Рак підшлункової залози вважається дуже складним, гетерогенної природи захворюванням і останнім часом – генетичним. Це пояснює велику кількість гістологічних, морфологічних. молекулярних класифікацій, що обумовлено розвитком медичної науки і практики, накопиченням знань про цю патологію, прагненням кращого розуміння патогенезу в кожному окремому випадку і, відповідно, можливості більш індивідуалізованого лікування.

В першу чергу розрізняють пухлини, які розвиваються з екзокринної і ендокринної частин підшлункової залози. Аденокарциноми екзокринної частини в 9 разів частіше походять з епітелія протоків, ніж з ацинарних клітин. Важливе значення має локалізація процесу в головному протоку ПЗ або однієї з бічних гілок. Вважається, що приблизно в 70% випадків злоякісні клітини,



включаючи карциному *in situ*, виявляються в основних протоках, лише в 25% виявляється ураження бічних гілок [86,93,232].

Гістологічна класифікація пухлин шлунково-кишкового тракту (ВООЗ, 2010 р.) виділяла наступні варіанти протокової карциноми: колоїдний рак, гепатоїдна карцинома, медулярна карцинома, персневидно-клітинна карцинома (ПКК), недиференційований (анапластичний), недиференційований рак з остеокластоподібними гігантськими клітинами, змішані форми [90,222]. Недиференційовані раки ПЗ складають 5% всіх гістологічних варіантів ПАПЗ [90,97,222].

Класифікація ВООЗ 2019 р. була суттєво доповнена. Гістологічні типи/різновиди протокової аденокарциноми (ICD-O code 8500/3) включають: колоїдну карциному (ICD-O code 8480/3), погано когезивну карциному (ICD-O code 8490/3), карциному з перснеподібних клітин (ICD-O code 8490/3), медулярну карциному, NOS (ICD-O code 8510/3), аденосквамозну карциному (ICD-O code 8560/3), епідермоїдну карциному (ICD-O code 8576/3), великоклітинний рак з рабдоїдним фенотипом (ICD-O code 8014/3), карциному недиференційовану, NOS (ICD-O code 8020/3), недиференційовану карциному з гігантськими остеокластоподібними клітинами (ICD-O code 8035/3). Окремо виділені різновиди раку, які розвиваються з ацинарних клітин – ацинарно-клітинний рак (ICD-O code 8550/3), а саме: ацинарно-клітинна цистаденокарцинома (ICD-O code 8551/3), змішана ацинарно-нейроендокринна карцинома (ICD-O code 8154/3), змішана ацинарно-ендокринно-протокова карцинома (ICD-O code 8154/3), змішана ацинарно-протокова карцинома (ICD-O code 8552/3); панкреатобластома (ICD-O code 8971/3). В класифікацію також включена солідна псевдопапілярна неоплазія ПЗ (ICD-O code 8452/3), в якій виділяють різновиди: солідне псевдопапілярне новоутворення з дисплазією високого ступеня, або з домінуванням протокової аденокарциноми ПЗ [80,153,162,228,255].

Найважливішою відмінністю ПАПЗ від інших видів раку є неоднорідність геному кожного пацієнта з індивідуальною геномною ознакою



[50,96,175,216,269], що є результатом накопичення мутацій соматичних генів [55,56]. Сучасний геномний аналіз дозволив виявити 32 періодично мутовані гени [27,92,290]. Інші літературні джерела наводять 60 [50,175,242] і навіть 63 [47,57-62,290] генетичні зміни для кожного раку підшлункової залози. На основі молекулярних особливостей в літературі наводяться різні системи класифікації.

Відповідно виділеним генам, розрізняють 4 підгрупи ПАПЗ: 1) плоскоклітинний, 2) попередник підшлункової залози, 3) імуногенний, 4) аберантно диференційований ендокринний екзокрин (ADEX), кожен з яких має свою унікальну генну структуру, відповідний гістопатологічний патерн та прогноз [175].

Інші автори [175] на підставі аналізу транскриптомів, згідно Міжнародному консорціуму геномного раку [175], виділили три підтипи: класичний, квазімезенхімальний, екзокриноподібний. Ці підтипи авторами були модифіковані як попередники, плоскоклітинний, аберантно диференційований ендокринний екзокринний тип (ADEX) і доповнені імуногенним підтипом.

Виділені підтипи відрізняються генетично і патогістологічно. Сквамозний підтип пов'язаний з аденосквамозним гістологічним варіантом аденокарциноми підшлункової залози, має переважно мутації TP53 та KDM6A, має поганий прогноз, подібний до базальних карцином інших органів, погано реагує на хіміотерапію [175]. Пухлини попередники підшлункової залози експресують гени раннього розвитку органу (FOXA2/3, PDX1, MNX1). Пухлини ADEX беруть участь в активації генів KRAS, генів екзокринної (NR5A2, RBPJL) та ендокринної (NEUROD1, NKX 2-2) диференціації. Вважається, що цей підтип виник внаслідок забруднення ацинарними клітинами ПЗ. Імуногенні підтипи містять регульовані імунні мережі і можуть бути пов'язані із набутим пригніченням імунітету [40,105,144,119,190,202,290].



В 5-10% випадків карциноми підшлункової залози відзначаються генетичні мутації. Генетичний фон ПАПЗ добре відомий [40,45,112,168]. Оскільки мутації Kras є ключовими рушіями ПАПЗ [144,210], 80% цих мутацій виявляються спорадичними [68,137,144,153,168].

Чисельні структурні варіації, зокрема внутрішньохромосомні перебудови, делеції, ампліфікації, дали можливість на підставі послідовності геному та аналізу варіації копій виділити наступні чотири підтипи ПАПЗ:

- 1) стабільний,
- 2) локально переставлений,
- 3) розсіяний,
- 4) нестійкий [50].

Відомо, що важливу роль в онкопроцесі відіграє мікросередовище. На підставі вивчення експресії генів останнього раніше були виділені два підтипи: 1) базальноподібний, 2) класичний. Пізніше були представлені п'ять підтипів ПАПЗ: 1) чисто базальний, 2) як строма, 3) десмопластичний, 4) чистий класичний, 5) імунний класичний, що узгоджується з набором даних Міжнародного консорціуму геному раку та набору даних ПАПЗ Консорціуму геному раку [208].

Вивчення послідовності РНК клітин строми виявив два підтипи, подібні до клітин ПАПЗ: нормальний і активований підтипи [175]. Перший підтип схожий із зірчастими клітинами підшлункової залози; активований, або запальний, має імуногенні ознаки. Кожен підтип відрізняється і експресією генів, що може свідчити про взаємодію стромальних і пухлинних клітин і визначати складну гетерогенну природу пухлини [175].

Ці дані можуть свідчити про різницю в молекулярній еволюції підтипів раку підшлункової залози та визначають можливості для більш ранньої точної діагностики і розвитку терапевтичних можливостей.

Класифікація пухлин ПЗ за AJCC [80,151,160,226]:

Пухлина (Т)

- ТХ — первинна пухлина не може бути виявлена



- T0 — нема ознак первинної пухлини
- Tis — карцинома in situ
- T1 — пухлина обмежена підшлунковою залозою розміром ≤ 2 см в найбільшому вимірі
- T2 — пухлина обмежена підшлунковою залозою розміром > 2 см в найбільшому вимірі
- T3 — поширення пухлини за межі підшлункової залози (дванадцятипала кишка, жовчні протоки, ВВ або ВБВ), але без залучення черевного стовбура або верхньої брижової (оточинної) артерії
- T4 — пухлина поширюється на черевний стовбур або верхню брижову (оточинну) артерію

Регіонарні лімфатичні вузли (N)

- NX — регіонарні лімфатичні вузли не залучені
- N0 — нема регіонарного метастазування в лімфатичні вузли
- N1 — метастаз в регіонарний лімфатичний вузол
- Віддалений метастаз (M)
- MX — віддалені метастази не можуть бути оцінені
- M0 — нема віддалених метастазів
- M1 — віддалені метастази

Стадії раку підшлункової залози:

- Ст. 0 — Tis, N0, M0
- Ст. IA — T1, N0, M0
- Ст. IB — T2, N0, M0
- Ст. IIA — T3, N0, M0
- Ст. IIB — T1–3, N1, M0
- Ст. III — T4, будь який N, M0
- Ст. IV — T будь яка, N будь який, M1 (NCCN Guidelines (2018);

Ducieux M. et al. (2015))

Морфологічні варіанти аденокарциноми ПЗ, визнані у класифікації BOOЗ пухлин ПЗ, мають різні гістологічні особливості порівняно зі



звичайними аденокарциномами підшлункової залози. Ці варіанти також відрізняються з точки зору прогнозу та можуть мати різний молекулярний підпис [175,255]. Вважається, що всі протокові пухлини ПЗ є муцинозними, оскільки продукція муцину є ознакою диференціювання протоків. Різні типи пухлин розвиваються із дерева протоків, відповідно ступінь продукції, розподіл та накопичення внутрішньоклітинного та позаклітинного муцину варіюється.

Таблиця 1.1 – Морфологічні варіанти аденокарцином підшлункової залози (за даними BOO3)

Морфологічний варіант	Характеристики
Аденосквамозна карцинома	Значні компоненти протокової/залізистої та плоскоклітинної диференціації (не менше 30%). Два компоненти можуть бути тісно змішані, або вони можуть бути топографічно розділені у новоутворенні. Частіше розвивається у хвості ПЗ. Надзвичайно агресивне новоутворення
Колоїдно/муциозна карцинома	інфільтруюча аденокарцинома, для якої характерні продукуючі муцин пухлинні епітеліальні клітини, суспендовані («плаваючі») у великих пулах позаклітинного муцину. Колоїдний компонент повинен становити не менше 80% новоутворення. Більшість колоїдних карцином виникають у зв'язку з IPMN, і ці IPMN зазвичай мають папілли кишкового типу. Вважається, що має більш сприятливий прогноз, ніж аденокарцинома підшлункової залози
Недиференційована/анапластична карцинома	Мінімальна диференціація або її відсутність; дуже атипові клітини, які можуть виглядати веретеноподібними або саркомоподібними, часто змішані з остеокластоподібними гігантськими клітинами. Одна з найагресивніших форм раку підшлункової залози з надзвичайно низькою виживаністю
Перстеноподібна карцинома	Дискогезивні, одноінвазивні клітини з внутрішньоцитоплазматичним муцином, який може зміщувати ядро. Подібні пухлини по всьому шлунково-кишкового тракту. Дуже рідкісна форма раку підшлункової залози з прогнозом, подібним до аденокарциноми підшлункової залози
Медулярна карцинома	Синцитіальне розташування плеоморфних епітеліальних клітин з асоційованим внутрішньопухлинним лімфоїдним інфільтратом. Прогноз трохи кращий, ніж при аденокарциномі підшлункової залози
Гепатоподібна карцинома	Морфологічна схожість з гепатоцелюлярною карциномою. Може виробляти жовч. Дуже рідкісна пухлина з поганим прогнозом, подібним до аденокарциноми підшлункової залози



Наприклад, накопичення позаклітинного муцину виявляється при колоїдній карциномі, але не зустрічається у звичайних ПАПЗ, однак певний ступінь внутрішньоклітинного муцину присутній у більшості пухлин ПАПЗ.

За даними ВООЗ виділяються наступні основні варіанти аденокарцином, представлені в таблиці 1.1 [175,222,255].

В літературі наводиться також класифікація наступних субтипів муцинозної некистозної карциноми: колоїдна карцинома (8489/3), погано когезивна карцинома (8490/3), перснеподібноклітинна карцинома (8490/3), медулярна карцинома NOS (8510/3), аденосквамозна карцинома (8560/3), гепатоїдна карцинома (8576/3), великоклітинна карцинома рабдоїдного фенотипу (8014/3), карцинома, недиференційована, NOS (8020/3), недиференційована карцинома з остеокластними гігантськими клітинами (8035/3) [51].

Незважаючи на превалювання протокового фенотипу карцином підшлункової залози, в літературі продовжуються дискусії щодо походження клітин цих новоутворень. Найчастіше (80%) аденокарцинома розвивається з дуктальних панкреатичних клітин. Клітини аденокарциноми, як і протокові клітини, продукують муцин, не містять секреторні гранули і мають морфологічні особливості протокових клітин, що свідчить про походження аденокарцином із протокових клітин. В науковій літературі описані нейроендокринна і ацинарна диференціація протокових пухлин підшлункової залози, що свідчить про плюрипотентну природу клітин [107]. Протоковий фенотип аденокарцином також може бути результатом трансформації, дедиференціації та / або метаблазії ацинарних клітин. Не виключається роль і нейроендокринних клітин у розвитку ПАПЗ [107].

За різними даними голівка є основним місцем локалізації ПАПЗ і складає від 50-60, до 70-80%, в 20-35% можливе тотальне ураження ПЗ, в тілі процес розвивається в 5-15%, у хвості – від 5-8% до 10-15%, 2-3% - у перешийку, 0,5% - у гачкоподібному відростку, від 10% до 20% випадків ПАПЗ має мультифокальний характер. У випадку прогресування може бути важко



визначити місце походження між підшлунковою залозою, ампулою і загальним жовчним протоком [83,230].

В науковій літературі значущим незалежним прогностичним фактором для ПАПЗ визначено розмір пухлини (Ning Pu et al., 2021; Daniel J Rowan et al., 2020) [180]. Вважається, що розмір пухлини діаметром 3 см і більше корелює з агресивною біологічною поведінкою, такою, як локальна інвазія, судинна інвазія, метастазування [52].

У більшості пацієнтів ПАПЗ діагностують на запущеній стадії (T3 або T4, приблизно у 80% пацієнтів), що унеможлиблює радикальне хірургічне лікування і позбавляє шансу на одужання [38]. Пухлини T₃ поширюються за межі підшлункової залози, але не вражають вісь целиакиї або верхню мезентеріальну артерію. Пухлини T₄ вражають чревну вісь або верхню брижову артерію. Пухлини голівки ПЗ у 25% поширюються на стінку дванадцятипалої кишки [83,230]. За іншими даними ураження дванадцятипалої кишки зустрічається в 68% порівняно з іншими локалізаціями 41% метастазів [83,230].

В 75% аденокарциноми протоків є солідними пухлинами. Пухлини тіла і хвоста зазвичай крупніші на момент постановки діагнозу, оскільки при такій локалізації клініка з'являється пізно. ПАПЗ, як правило, одиночне ураження, макроскопічно описується як щільний горбистий вузол різних розмірів або багатовузлова склеротична пухлина без чітких контурів. На розрізі злоякісна тканина білястого та / або світло-жовтого кольору, є окремі ділянки розпаду. При важкій формі раку ПЗ можливий панкреонекроз (деструктивне захворювання ПЗ). Вище злоякісного утворення паренхіма ПЗ зазвичай атрофічна, головна протока може бути розширена [109].

Гістопатологічна оцінка ПАПЗ є важливим прогностичним фактором і проводиться відповідно до визначених критеріїв ВООЗ, включаючи наявність трубчастих структур у порівнянні з твердим зростанням, наявність муцину, ядерний поліморфізм і кількість мітозів [110]. Десмопластична стромальна реакція менш розвинена і відсутня у погано диференційованих ПАПЗ [110].



В міжнародній науці вивчаються типові диференційно-діагностичні патоморфологічні ознаки ПАПЗ [124,149], а також найбільш характерні патоморфологічні критерії, які обумовлюють агресивність ПАПЗ. Головною особливістю ПАПЗ є наявність основних ракових епітеліальних клітин, які утворюють клітинні скупчення, залозистоподібні та протоковоподібні структури, а також наявність значного об'єму фібропластичної [183] стромы, яка відіграє важливу роль у прогресуванні ПАПЗ та обумовлює її агресивний перебіг [57,84,183].

Мікроскопічний (гістологічний) опис

- Добре проникає в погано сформовані структури залоз/проток, оточені помітно десмопластичною стромою
- Продукція муцину специфічна для протокового походження порівняно з ацинарним або нейроендокринним диференціюванням
- Периневральна інвазія присутня у 90%, як правило, з більш диференційованими залозами
- Ангіолімфатична інвазія у 50% випадків; інвазія вакууму може імітувати PanIN
- Добре диференційований: рожева апікальна смуга, що складається з гранул муцину, може здаватися доброякісною, але має неправильну форму та розподіл; десмоплазія, виражений ядерний плеоморфізм з ядерцями, втрата полярності, мітотичні фігури
- Від помірної до слабодиференційованої: спостерігається у більшості пухлин; абортівні трубчасті структури, глибоко інфільтративний характер зростання, часті мітози, нерегулярна та абортівна продукція муцину (Am J Surg Pathol 2012; 36: 235).
- Система гістологічної класифікації TNM, рекомендована Коледжем американських патологів, заснована на ступені диференціювання залоз: G₁ - добре диференційована (>95% пухлина складається із залоз), G₂ - помірно диференційована (50-95% залоз), G₃ - слабо диференційована (<49 залоз), G₄ - ні або мінімальне диференціювання [115].



- Система класифікації Клеппеля: від G_1 (добре) до G_3 (слабко диференційована) на основі чотирьох критеріїв: ступінь залозистої диференціювання, продукція муцину (нижчий ступінь, більше муцину), мітоз ($<5/10\text{HPF}$, $6-10/10\text{HPF}$, $>10/10\text{HPF}$) і ядерні особливості.

В класифікації ПАПЗ, представлений ВООЗ (2019), ПАПЗ розподілена відповідно ступеню гістологічного диференціювання: G_x - неможливо встановити ступінь диференціювання, G_1 — високий, G_2 - помірний, G_3 - низький ступінь та G_4 — недиференційований ступінь або анапластична карцинома ПЗ [51].

G_4 - є рідкісною пухлиною підшлункової залози, що становить 2–7 % усіх екзокринних злоякісних новоутворень підшлункової залози [230], розташовується в голівці підшлункової залози у 61% пацієнтів із середнім діаметром пухлини 4 см, що оцінюється в патологоанатомічних препаратах [230]. При загальному патологоанатомічному дослідженні G_4 виявляється переважно у вигляді твердої або гумової маси і може мати кістозні або м'які м'ясисті компоненти. Деякі пухлини дають макроскопічно видимі некротичні уламки [230].

Високий ступінь диференціювання G_1 мікроскопічно характеризується збереженою гістоархітектонікою: трубчасті, протокоподібні новоутворення середніх розмірів із соскочковими відростками, дуктули вислані муцинпродукуючими клітинами, що нагадують клітини циліндричного епітелія, але за розмірами вони можуть бути більшими, мати еозинофілну, оптично порожню цитоплазмою, ядра мають базальне розташування в клітині, розміри їх незначно варіюють, слабо поліморфні, мітозів нараховується від одного до п'яти в 5 стандартизованих полях зору. Помірний ступінь - G_2 — відрізняється стертою гістоархітектонікою ПЗ, протокоподібні структури середнього та малого калібру, вислані кубічним епітелієм, у порівнянні з G_1 продукція муцину клітинами спотвореного протокового епітелія знижена. Ядра та ядерця помірно поліморфні, розміщені на різному рівні, кількість мітозів в п'яти стандартизованих полях зору 5-10. В пухлинах із G_3 ступенем



диференціювання мікроскопічно спостерігається зруйнована гістоархітектоніка, відмічаються солідні структури, поодинокі клітини інфільтрації. Клітини спотворені, полігональні, поліморфні. Клітини епітеліального типу перетворюються на мезенхімальний – веретеноподібні, тому втрачають здатність до продукції муцину. Ядра та ядерця поліморфні. Кількість мітозів від 10 та більше в п'яти полях зору. Серед недиференційованих пухлин ПАПЗ, згідно класифікації, виділяють три типи G₄ ступеня диференціювання: анапластичний тип (гігантсько-клітинна карцинома, плейоморфна крупноклітинна карцинома), яка має остеокластний характер, гігантсько-клітинна плейоморфна та змішана форма гігантсько-клітинної пухлини. Остеокластний тип недиференційованої пухлини ПЗ характеризуються наявністю двох видів клітин: гігантських гістіоцитарних клітин з великою кількістю дрібних ядер (ядерець), а також веретеноподібних (яйцеподібні мононуклеари) клітин, що дають найбільш гірший прогноз для виживання. Веретеноподібні клітини однорідні, мають мезенхімальне диференціювання, високий мітотичний індекс. Остеокластні клітини, навпаки, мають більше 20 дрібних ядер без атипових мітозів. Гістіоцитарні мононуклеарні клітини зберігають правильну мікроскопічну форму без ознак атипії та мають одне ядро, інші гістіоцитарні мононуклеари – мають овоїдну форму, наявні ознаки атипії та спотворене ядро. Гігантські клітини розташовані дифузно по всьому об'єму пухлини, але поруч із геморагічними вогнищами. Другий тип походить з дуктулярної карциноми, представлений плейоморфними, або саркомоподібними пухлинами, які складаються з одно-/багатоядерних клітин з чисельними атиповими мітозами та саркомоподібною структурою зросту. Високий мітотичний потенціал пухлини визначає агресію у вигляді швидкого метастазування через лімфатичні та венозні судини, а також периневральну інвазію. При мікроскопічному дослідженні виявляються три види клітин: плейоморфні, веретеноподібні та маленькі, правильної округлої форми клітини, які замуrowані в десмопластичну строму. Змішаний тип недиференційованих пухлин ПЗ відображає змішану мікроскопічну



картину перших двох форм. За літературними даними, кожний ступінь диференціювання та гістологічний тип раку ПЗ може давати як позитивний прогноз для життя, так і негативний. Так, наприклад, плеїоморфний тип гігантсько-клітинної пухлини ПЗ G₄ ступеню диференціювання має гірший прогноз для життя, аніж протокова аденокарцинома ПЗ. Остеокластний тип має позитивний прогноз. Всі прогностичні оцінки для життя пацієнта залежать від прогресії та агресії пухлини [66,84].

1.3 Імуногістохімічні основи прогресування протокової аденокарциноми підшлункової залози

Хоча гістологія та генетичний характер канцерогенезу підшлункової залози були добре описані [94], молекулярні механізми, що обумовлюють виникнення та прогресування ПАПЗ, менш чіткі [94]. Ці механізми включають здатність ракових клітин відриватися від позаклітинного матриксу (ECM) і долати процес апоптозу. Така поведінка була пов'язана з раннім переходом епітелія до мезенхіми (EMT) при передозлоякісних ураженнях [94].

1.3.1 Концепція епітеліально-мезенхімальної трансформації та її значущість у розвитку та прогресуванні протокової аденокарциноми підшлункової залози

Епітеліально-мезенхімальна трансформація (EMT) вважається важливим механізмом розвитку канцерогенезу. Але через неможливість контролю перехідних та оборотних фенотипів EMT роль її залишається предметом постійного вивчення [26,31,32,147,201,211,218,263].

Рак характеризується гетерогенністю. Неоднорідність злоякісних пухлин навіть у межах однієї пухлини обумовлена особливостями мікросередовища, генетичної мутації та оборотних змін клітинних властивостей. Важливу роль у розвитку гетерогенності відіграє EMT. В



сучасній науці широко визнано, що при епітеліальних раках, в тому числі і при ПАПЗ, ЕМТ пов'язана з основними етапами канцерогенезу: інвазія, дисемінація та метастазування [147,158,165,211,217,221,291].

ЕМТ – це добре скоординований процес, який запускається багатьма сигнальними шляхами, морфологічна клітинна програма фенотипового переходу від епітеліального до мезенхімального стану, втрата епітеліальними клітинами апікально-базальної адгезії та набуття мезенхімальних ознак. Однак, в літературі описані проміжні гібридні епітеліальні і мезенхімальні фенотипи, які є частковими ЕМТ [115,268]. Мезенхімальний фенотип має потенціал для прогресії або зворотного ЕМТ і називається «метастабільним». Крім того, більш «мезенхімальний» фенотип виявляє вищу стійкість до лікарських засобів [31,101,115,223,231,295]. Епітеліальний фенотип є стабільним і здатним до колонізації. Гібридний фенотип, який є частковим ЕМТ, має потенціал для прогресування або реверсії ЕМТ і називається метастабільним [160,167,214]. Ракові клітини часто можуть зазнати неповної або часткової ЕМТ, демонструючи як епітеліальні, так і мезенхімальні маркери [101,223]. Гібридний стан було описано в клітинах клітинних ліній молочної залози, яєчників, легенів, колоректального раку, раку простати та нирок [69,187]. Завдяки ЕМТ циркулюючі пухлинні клітини відіграють життєво важливу роль в процесі колонізації і метастазування онкопроцесу. Однак, доля ракових клітин, які пройшли ЕМТ в первинних пухлинах, низька, натомість більшість ракових клітин проявляють одночасно епітеліальні і мезенхімальні ознаки, що може свідчити про процес ЕМТ вже при поширенні ракових клітин [80,147]. Численні дослідження підтверджують, що агресивність раку підшлункової залози корелює з ЕМТ [158,217,221,268,291]. Однак, деякі автори піддають сумніву, наскільки ЕМТ є передумовою метастазування, особливо колонізації [151,164,221,213,268].

Наукові дослідження виявили, що онкогенна трансформація протоки підшлункової залози виникає від двох типів уражень: екзофітного з поширенням процесу базально з малих проток, та ендофітного з поширенням



в просвіт більших проток. Екзофітні ураження відрізняються більшою агресивністю за рахунок більш вираженої ЕМТ і більшою активністю CAF [106,132]. CAF, у свою чергу, стимулюють інвазію ракових клітин через прямий контакт з пухлинними клітинами [106,132].

Згідно літературних даних, ЕМТ виникає на інвазійному фронті пухлини, який функціонально відрізняється від основної маси пухлини [80,151,268].

Втрата окремих факторів може не перешкоджати інвазії та розповсюдженню клітин, особливо при РПЗ, в якому присутні навіть нормальні клітини без сильних епітеліальних властивостей [213,268]. Вважається, що ЕМТ відіграє вирішальну роль у ранніх метастазуваннях, навіть на стадії передзлоякісного ураження [213,268]. Крім того, є дані, що клітини первинної пухлини проходять ЕМТ [93,94,231], відповідно іншим даним, супресія ЕМТ не блокує розвиток інвазивної ПАПЗ, системне поширення або метастазування [93,94,250,268], що суперечить гіпотезі необхідності ЕМТ/MET в канцерогенезі. Клітини, які проходять ЕМТ, стають інвазивними та набувають стійкості до хіміотерапевтичних засобів і, навпаки, ЕМТ може бути викликаний хіміотерапевтичними препаратами та стресовими станами, такими як опромінення або гіпоксія [85,93,94,213,250].

Аналіз літературних даних свідчить про різну роль ЕМТ при раку ПЗ в порівнянні з іншими карциномами, зокрема раком молочної залози, що може бути проявом різноманітності функції ЕМТ при різних видах раку [110,151,156,226,231]. Також виявлена різна схильність раку до різних станів ЕМТ в залежності від стадії [31,110,151,160,221,226].

Таким чином, точний вплив ЕМТ на біологічну поведінку ракових клітин та його вплив на клінічну терапію, участь ЕМТ в розповсюдженні і колонізації раку підшлункової залози залишається предметом дискусій [80,110,151,158,160,226,268] і потребує подальшого вивчення.

Трансформація новоутвореного раку та подальше його прогресування пов'язані зі стійкою дестабілізацією міжклітинних контактів. Серед останніх



виділяють гомологічний адгезивний зв'язок між однорідними клітинами і гетерологічний між клітинами і іншими структурами. Перехід гомологічної адгезії до гетерологічної обумовлює дисемінацію [227,291].

Найважливішою молекулярною подією в ЕМТ і злоякісній трансформації є порушення експресії трансмембранного кальцій-залежного Е-кадгерину і внутрішньоклітинного білка β -катеніну, що забезпечують адгезивні міжклітинні зв'язки, полярність клітин, архітектоніку цитоскелету [31,94,160,221]. При цьому науковці не прийшли остаточного висновку стосовно, чи втрата Е-кадгерину є причиною, чи наслідком ЕМТ, тим не менш функціональна втрата Е-кадгерину часто асоціюється з поганим прогнозом та виживаністю у пацієнтів з різними видами раку [128,176,276].

Кадгерини – сімейство протеїнів з чисельними функціями і відомими більше 110 видів, об'єднаних в класичні, десмосомальні і атипові кадгерини, а також протокадгерини і асоційовані з кадгеринами сигнальні протеїни [227]. Молекули кадгеринів забезпечують гомофільний кальційзалежний і гетерофільний зв'язок клітин [227]. Кадгерини всіх груп, за літературними даними, можуть відігравати відповідну роль в розвитку будь якого патологічного процесу і онкопатології зокрема [291].

Особливе значення в розвитку організму в нормі і в канцерогенезі приділяється Е-кадгерину (епітеліальний), N-кадгерину (нейрональний) і Р-кадгерину (плацентарний) (класичні кадгерини), а також VE-кадгерину (судинний ендотеліальний) (кадгерин II типу) [26,27,158,217,240,276,287].

Е-кадгерин - ключовий глікопротеїн, закріплений на актин-міозиновому цитоскелеті, забезпечує клітинну проліферацію і диференціювання, а також епітеліальний фенотип і поляризацію епітеліальних шарів, бере участь в утворенні адгезивних зв'язків, що є характерною особливістю епітеліальних тканин [26,27,158,217,240,276,287]. Він складається з 728 амінокислотних залишків, має трансмембранний, цитоплазматичний (внутрішньоклітинний) домени і ектодомен (позаклітинний). Цитоплазматичний домен включає важливий субдомен - β -катенінзв'язаний (БЗД) [26,27,158,217,240,276,287].



Порушення експресії Е-кадгерину вважається найважливішою молекулярною подією в ЕМТ, характерною для більшості типів карцином від зменшення до повної відсутності маркеру, зокрема при гепатоцелюлярній карциномі, плоскоклітинному раку шкіри, раку голови, ший, раку стравоходу, меланомі, у різних гістотипах пухлин, таких як яєчники, молочна залоза, нирки та легені [194,205,208,240]. Вважається, що зниження чи втрата експресії Е-кадгерину корелює з агресивністю пухлини і несприятливим прогнозом [31,80,151,160,240].

Причиною порушення регуляції експресії даного онкобілка переважно є епігенетичні фактори. Але можуть бути і генетичні зміни, як, наприклад, спадковий рак шлунка. При раку молочної залози рівень експресії маркеру залежить від типу: при інвазійній протоковій карциномі зниження експресії виявляється в 50%, при інвазійній дольковій – до 85-90% [80,151,240]. Різке зниження Е-кадгерину описано в карциномах стравоходу, шлунка, гепатокарциномах. Для плоскоклітинного раку голови, ший, недрібноклітинного раку легень, раку передміхурової залози, раку товстої кишки характерне збереження експресії Е-кадгерину в доброякісних варіантах із повільним ростом і різке зниження при злоякісних формах [181,208,240]. Зокрема, при колоректальному раку в 37,3% відзначається висока експресія Е-кадгерину [26].

ПАПЗ відрізняється змінною експресією Е-кадгерину: від повної втрати в некогезійних та недиференційованих фенотипах з поганим прогнозом до вираженої мембранної експресії, яка спостерігається в когезійних та диференційованих вогнищах [208,240].

Однак існують дані, що при ПАПЗ клітини зберігають особливості диференційованих епітеліальних клітин і, навпаки, у 50-70% підтримують мембранну експресію Е-кадгерину [94,208,240]. При ПАПЗ повна чи часткова втрата експресії відзначається лише в 43% [160]. Зниження показника корелює із загальною виживаністю, смертністю, хіміорезистентністю, периневральною інвазією, метастазуванням [151,164]. Навпаки, відновлення рівня Е-кадгерину



покращувало відповідь на хіміотерапію. Прогресування процесу, поява метастазів супроводжуються мембранною експресією Е-кадгерину і β -катеніну з негативною кореляцією, незалежно від локалізації пухлини і її гістологічного типу [66,240,242]. Знижена експресія Е-кадгерину була пов'язана з вищим рівнем диференціювання пухлини. Подібним чином низькодиференційовані клітинні лінії раку ПЗ демонстрували нижчий рівень Е-кадгерину порівняно із помірно диференційованими пухлинами [94,146]. Інші літературні джерела вказують на зникнення мембранного забарвлення і появу різного ступеню інтенсивності цитоплазматичного Е-кадгерину: в 68,7% клітин залозистих структур спостерігається помірно-виражена цитоплазматична експресія, в 30,1% - виражена. В анапластичному компоненті спостерігається негативна як мембранна, так і цитоплазматична експресія білка. Також встановлений зв'язок ступеню експресивності онкомаркеру від ступеню диференціювання ПАПЗ: слабке забарвлення відзначається при помірному (62,2%) та високому (26,7%) ступенях диференціювання, сильне забарвлення частіше виявлене при помірному (50%) та низькому ступенях диференціювання [208]. При вираженій експресії дифузне забарвлення маркеру спостерігається у 81,3%. При слабкому забарвленні дифузний характер зберігається лише у 24,4%, а у 57,8% випадків забарвлення залишалось фокальним [208].

Також наводяться гендерні особливості експресії онкобілка Е-кадгерину при ПАПЗ. Для чоловіків характерна більш низька експресія (60%), у жінок частіше (81,3%) спостерігався вищий рівень експресії [208].

Чисельні дані свідчать про різний рівень експресії Е-кадгерину в клітинах пухлин ПАПЗ, що, відповідно літературним даним, може давати можливість розрізняти епітеліоподібні добре диференційовані або мезенхімальні фібробластоподібні фенотипи, що відрізняються інвазивним потенціалом [78,240].

Тобто, завдяки частковому ЕМТ клітини ПАПЗ можуть зберігати високу експресію Е-кадгерину на плазматичній мембрані на межах клітин і мати



функціональні адгезивні зв'язки при очевидному високому інвазивному потенціалі, іншими словами, пухлини ПАПЗ зберігають диференційований епітеліальний фенотип при вираженій агресивності [78,80,178,220,287]. Більше того, висока експресія онкобілка не виключає факту процесу ЕМТ в клітині, так як ЕМТ може бути сильно локалізованим і тимчасовим, може функціонувати як коротка програма [66,78,152,221,240,287]. Відповідно, вважається, зворотна кореляція між експресією Е-кадгерину та інвазивним потенціалом клітин карцином не є абсолютним. Подібні особливості в літературі пояснюються багатоступеневістю процесу ЕМТ, що складається з широкого кола фенотипових змін, які не відбуваються послідовно і не всі ці етапи обов'язково відбуваються. Це може обумовлювати клітинну неоднорідність більшості пухлин і відсутність переваги чіткого фенотипу [66,78,158,217,240,287,291].

Проміжний фенотип, отриманий з епітеліальних клітин, що зазнають часткової ЕМТ, виявляє як епітеліальні, так і мезенхімальні ознаки, забезпечуючи важливу умову для прогресування онкопроцесу [11,66,240,292,295]. Часткові ЕМТ свідчать про значну пластичність між епітеліальними і мезенхімальними станами. Крім того, проміжний стан ЕМТ також сприяє збільшенню клітин із рисами стовбурових, що спостерігалось в клітинах ПЗ [48,164,189,292]. Важливу роль в цьому процесі відіграє Е-кадгерин, який також, в свою чергу, може ініціювати ЕМТ [66,71,189,208,292].

β -катенін вважається одним з ключових факторів активації Wnt-сигнального шляху, внаслідок чого відбувається ядерна транслокація цього білка. Відомі три форми β -катеніну: мембранна, цитоплазматична і ядерна. Мембранна форма формує адгезивний комплекс з Е-кадгериним і актиновим цитоскелетом за участі α -катеніну [164,240,287]. Цитоплазматичний β -катенін регулює адгезію клітин і рівень Е-кадгерину. Порушення цього зв'язку призводить до зниження β -катеніну і активації Wnt-сигнального шляху [73,189,205,263,293]. Крім того, β -катенін бере участь в процесах клітинного циклу, проліферації [78,164,240,287]. Незважаючи на доведену роль β -



катеніну в канцерогенезі, зокрема, мутації генів виявлені при колоректальному раку в 80%, меланомі, гепатоцелюлярній карциномі, раку тіла матки, і інших пухлинах [66,164,242,287], в літературі наводяться суперечливі дані стосовно експресії β -катеніну при злоякісних процесах. Згідно одних даних, рівень експресії цього маркеру корелює з поганим прогнозом і клініко-морфологічними особливостями канцерогенезу [66,197,229,242] на противагу інших досліджень, що не підтверджують зв'язок між даним маркером і параметрами новоутворення. Тим не менш, в останні роки β -катеніну відводиться принципова роль в розвитку злоякісного процесу.

В нормальній тканині ПЗ β -катенін переважно локалізується на мембрані протокових клітин, однак згідно літературних даних, в 1-3% може виявлятися цитоплазматична і ядерна експресія [66,164,242,287].

При ПАПЗ позитивна реакція експресії β -катеніну рідше виявлялась в трабекулярних структурах і в групах пухлинних клітин в порівнянні з іншими структурами інфільтративного компоненту. Низька експресія відзначається в дискретних групах пухлинних клітин в порівнянні із залозистоподібними і солідними структурами пухлини. В різних структурах паренхіматозного компоненту інтенсивність експресії β -катеніну не відрізнялась [284]. Рівень експресії маркеру, згідно літературним даним, нижчий в зоні інвазії в порівнянні із масивом пухлини, а також відзначається залежність інтенсивності експресії від ступеню диференціювання і стадії розвитку онкопроцесу [66,197,229,242,293].

Маркерами проліферації при епітеліально-клітинних карциномах з добре визначеними характеристиками є цитокератини. Це кератинові білки проміжних філаментів (ПФ), які разом з мікротрубочками і мікрофіламентами є складовими цитоскелету епітеліальних клітин. Цитокератини впливають на клітинну адгезію і взаємодіють зі сполучною тканиною основи базальних клітин. Цитокератини важливі як для стабільності та цілісності епітеліальних клітин, так і для функціонування у внутрішньоклітинній передачі сигналів - від загоєння ран до апоптозу [66,134,242].



Вид цитокератину в значному ступені залежить від типу епітелія, розташування клітини в епітеліальному пласті, моменту термінального диференціювання та стадії розвитку, що дозволяє за профілем цитокератинів ідентифікувати епітеліальні клітини, визначати ступінь диференціації, прогресування пухлини [66,151,242,287]. Будь який пошкоджуючий фактор, як то травма чи хвороба, провокує зміну експресії, клітинну локалізацію або посттрансляційні модифікації цитокератинів. Як наслідок, модулюються різноманітні процеси, включаючи міграцію клітин, ріст і метастазування пухлин, розвиток інфекцій і, відповідно, запальний процес, що супроводжує будь який інфекційний та злоякісний процеси [66,78,151,242]. Розчинні фрагменти цитокератинів виводяться сечею внаслідок апоптозу або некрозу в концентрації, пропорційній обсягу загиблих клітин. Тому онкомаркери цитокератинів можуть бути незамінними в діагностиці і веденні пухлинних і непухлинних захворювань, як дешевий і надійний метод [66,78,151,242,287].

На сьогодні відомі 20 типів цитокератинів СК1-СК20 двох категорій, пронумерованих в порядку зниження розміру від низькомолекулярного (LMWCK) до високомолекулярного (HMWCK): I тип (СК 9-20) – кислі цитокератини, II тип (СК 1-8) - лужні або нейтральні, які знаходяться в гетеродимерних парах кислотних і лужних субодиниць однакового розміру.

Для одношарового епітелія характерні СК8 і СК18, СК7 і СК19 [65,78]. В клітинах простого одношарового епітелія печінки, підшлункової залози, більшості ендокринних клітин, епітеліальних клітинах проксимальних каналців нирок виявляється експресія низькомолекулярних цитокератинів 8 і 18. В епітеліальних клітинах шлунково-кишкового тракту, жовчних протоків і протоків підшлункової залози, легневих альвеол, ендометрія, збиральних трубочок нирок відзначається експресія СК7 і СК19 [78,138]. Цитокератин 7 міститься в нормальних клітинах фолікулів щитовидної залози, натомість не містяться СК19 і СК20 [25,78,138].

Для епітеліальних злоякісних пухлин залишається експресія цитокератинів, притаманних незміненим клітинам відповідного гістогенезу.



При аденокарциномах спостерігається експресія в основному низькомолекулярних цитокератинів одношарового епітелія (СК8, 18, 7, 19) [65,120,138]. При цьому, відсутність СК7 і додаткова наявність СК5 характерні для плоскоклітинного раку. Для аденокарциноми підшлункової залози, а також для перехідноклітинного раку сечового міхура, муцинозного раку яєчників, аденокарциноми шлунка характерна комбінація експресії СК7 і СК20 [66,120].

В нормальній підшлунковій залозі характерна специфічна експресія цитокератинів для ацинарних і острівцевих клітин. При злоякісній трансформації ця специфічність в основному зберігається [66,78197,229,242,287].

Експресія СК7 характерна для підгрупи залозистого епітелія і його пухлин, а експресія СК18 для залозистого епітелія травного, дихального, уrogenітального трактів, ендокринних і екзокринних клітин, мезотеліальних клітин, а також похідних з перерахованих клітин аденокарцином [65,66,78,120,197,229,242,258].

Цитокератин 7 вважається класичним проміжним філаментом протокової клітини підшлункової залози і використовується для ідентифікації нормальних та новоутворених протоків ПЗ [66,240,197,258,287,288].

СК18 в нормальній тканині реагує з клітинами секреторного епітелія, злоякісними клітинами, що походять з секреторного епітелія, деякими плоскоклітинними карциномами. Для диференціації клітин епітеліального походження часто використовується кератин 18 разом з СК8 і СК19 [Lai Y.C, et al., 2017]. Підвищення рівня СК18 пов'язують зі зниженням загальної виживаності, хіміорезистентністю, прогресуванням онкопроцесу [65,66,197,240,288].

Відповідно науковим даним, СК18 експресують стовпчасти клітини, які експресують і Е-кадгерин, що характерно для клітин просвітнього епітелія залозистої тканини [Lai Y.C, et al., 2017]. Другий тип клітин – веретеноподібні – є міоепітеліальними клітинами просвіту, експресують СК5 та α -SMA



[66,197,240,288]. Е-кадгерин також забезпечує взаємодію між цими типами клітин. Можливо, мотиви в певних цитокератинах роблять їх імовірними субстратами для деградації.

В доступній літературі недостатньо інформації про особливості експресії цитокератинів різних пар, зокрема СК7 і СК18 при ПАПЗ.

Для диференційної діагностики раків, окрім визначення цитокератинів, має значення маркер віментину. При позитивній реакції на низькомолекулярні цитокератини негативна реакція на віментин може бути характерна для низькодиференційованих раків, герміноми, для деяких інших пухлин.

Відмінною ознакою ПАПЗ, в порівнянні з іншими солідними пухлинами, є розвиток вираженої щільної фібропластичної строми, що може сягати 90% відносної площі пухлини [26,84,31,172,215].

Згідно сучасних наукових досліджень, при ПАПЗ можливі різні підтипи строми. Виділяють підтип строми, що характеризується профілями зірчастих клітин, а також можливий більш агресивний підтип, що характеризується активованими фібробластами і альтернативно активованими макрофагами [52,69,84,163,172,228].

Зірчасті клітини підшлункової залози (ЗКПЗ) – резидентні ліпіднакопичувальні клітини, екзокринні функціональні міофібробласти з автокринною і паракринною регуляцією. Ці клітини складають 4-7% паренхіматозних клітин і локалізуються навколо ацинусів екзокринної частини підшлункової залози [34,57,153,207], проявляють різний фенотип і відповідну експресію маркерів в нормальній підшлунковій залозі, при хронічному панкреатиті та ПАПЗ, що є також відображенням активності строми відповідної тканини [29,154,199].

Активовані зірчасті клітини перетворюються на міофібробластні клітини, що схожі з веретеноподібними стромальними клітинами [32,253], відрізняються підвищеною експресією α -гладком'язового актину (α -SMA), що є активованим маркером ЗКПЗ [193], і надмірним вивільненням білків екстрацелюлярного матриксу (ECM) [32,35,161,199,273].



Білок α SMA є специфічним для міофібробластів і ніколи не експресується в ракових клітинах, які пройшли ЕМТ. Крім того, кількість асоційованих міофібробластів суттєво зростає із збільшенням розміру пухлини, що підтверджується кореляцією розміру пухлини з площею α SMA+ [32,57,196,207,228,271].

Однак, на сьогодні питання походження колагенпродукуючих міофібробластів залишається відкритим. По перше, вважається, що міофібробласти в підшлунковій залозі можуть походити не тільки з зірчастих клітин, але і з інших фіброгенних клітин [170,185,191]. По друге, була встановлена функціональна неоднорідність зірчастих клітин і існування їхніх різних субпопуляцій, які мають відповідні різні функції, зокрема, при панкреатиті і раку ПЗ вони можуть як пригнічувати процес, так і сприяти прогресуванню канцерогенезу. Наукові дані свідчать, що виділені з різних тканин ЗКПЗ підтримують різний фенотип, відображаючи стромальну активність похідної тканини [170,185,191,192].

Різні субпопуляції відрізняються також рівнем експресії маркерів, зокрема віментину, α -SMA. В нормальній підшлунковій залозі виявляється негативний або слабкий рівень α -SMA [170], навпаки, активація супроводжується зростанням експресії [170,272,193]. Однак, є дані, відповідно яким високий рівень експресії α -SMA в стромі пухлини корелює з кращою виживаністю при ПАПЗ, що може свідчити про захисну роль стромы в канцерогенезі [271,272].

Авторами Öhlund та ін. (2017) була виділена субпопуляція зірчастих клітин, які локалізуються віддалено від неопластичних клітин і не відрізняються підвищенням експресії α -SMA, що підтверджує гетерогенність канцерасоційованих фібробластів (CAF) при ПАПЗ [191,192,193,262,272].

Експресія епітеліальних маркерів у ЗКПЗ зменшувалась разом із збільшенням експресії інтерстиціальних маркерів та зростанням міграційного потенціалу, що підтверджувало роль ЗКПЗ в ініціації процесу ЕМТ ракових клітин підшлункової залози [29,122,228,241,253].



В острівцях підшлункової залози була виділена ще одна підгрупа зірчастих клітин, які, взаємодіючи з β -клітинами, беруть участь в патогенезі цукрового діабету 2 типу, призводять до фіброзу острівців і втрати ендокринної функції при ХП і ПАПЗ [215,241,277]. Але схильність цих клітин до розповсюдження та міграції значно нижча, ніж у типових зірчастих клітин підшлункової залози [215,241,277].

Зірчасті клітини можуть окремо і синергічно впливати на патологічні процеси в підшлунковій залозі. Сучасна наукова думка стверджує, що взаємодія ЗКПЗ-строма та ракові клітини є динамічним та залежним від стадії, із захисним ефектом на самій ранній стадії та шкідливим ефектом на пізніх стадіях. Крім того, існування субпопуляцій цих клітин може обумовлювати і відповідний різний рівень експресії молекулярних маркерів, що підвищує важливість їх визначення для ідентифікації гетерогенності зірчастих клітин і вдосконалення діагностики ПАПЗ [34,122,196,264,271,277].

Найбільш поширеними маркерами ЗКПЗ є актин α -гладкої мускулатури (α -SMA) [57,59,159,193,277], віментин [57,59,159,170,271,277].

Під час прогресування ЕМТ епітеліальні клітини втрачають не тільки характерні для них адгезійні клітин-клітинні зв'язки, змінюють свою полярність, але і модулюють організацію своїх цитоскелетних систем, переключаючи експресію з кератинових на проміжні нитки типу віментину, що призводить до їхньої ізолюваності, рухливості [78,143,185,267,268,277].

Віментин – білок III класу цитоплазматичних проміжних філаментів, експресується мезенхімальними клітинами, підтримує клітинну цілісність і забезпечує стійкість до стресу [185,277]. Ракові клітини активно діляться і синтезують набагато більше віментину, тому підвищення експресії віментину характерне для багатьох видів раку, в тому числі молочної залози, легень, кишечника, меланоми, підшлункової залози [26,29,127,187]. Це свідчить про активацію ЕМТ і появу таких властивостей, як швидкий ріст, інвазивність, неоангіогенез, метастазування, несприятливий прогноз, хіміорезистентність [185,277]. При цьому відзначається нерівномірність експресії віментину



клітинами пухлинного вузла і перитуморозного оточення, також спостерігаються як групи віментинпозитивних клітин, так і віментиннегативних [126,185]. Експресія віментину також залежить від ембріогенезу органу і гістологічної будови пухлини. Наприклад, при світлоклітинному раку нирки, як органі мезенхімального походження, визначається найбільш висока експресія маркеру. В раках шлунку і легень рівень експресії залежить від гістологічної будови пухлини, пов'язаної або з гістогенезом, як при раках легень, або особливостями онкогенезу, як при раках шлунку [26,29,187] При дрібноклітинному раку легень експресія віментину пов'язана з низькою диференціацією [26,29,187,126]. Вважається, що при раках в цих органах експресія віментину може мати прогностичне значення [26,29,187,126].

При аденокарциномах частота повної ЕМТ з експресією віментину складає 44,1%, серед плоскоклітинних і нейроендокринних – 16,7%, втрата панцитокератину не супроводжується появою експресії віментину [126,185].

При ПАПЗ віментин може експресуватися не тільки в раковій клітині підшлункової залози, стромальному компоненті пухлини, її визначають також у фібробластах, тумор-асоційованих фібробластах і інших компонентах пухлини [185]. Багато досліджень вказують на корелятивний зв'язок віментину з поганою диференціацією, наявністю метастазів та гіршим прогнозом, при цьому не підтверджена кореляція маркеру зі стадією процесу, в зв'язку з цим визначення віментину пропонується використовувати для визначення ступеню диференціювання [37,41,185]. Рівень експресії віментину при ПАПЗ складає 52,8% [150]. Також є дані, що віментин-позитивні САФ без коекспресії α -SMA були пов'язані з поганою виживаністю при ПАПЗ. При цьому САФ відрізнялись молекулярною та функціональною неоднорідністю [126,180,185,277].



1.3.2 Концепція ракових стовбурових клітин та її значущість у розвитку та прогресуванні протокової аденокарциноми підшлункової залози

Раковими клітинами оперативно називаються клітини, які зазнають епітеліального переходу в мезенхімальний (МТ), набувають властивостей, подібних до стовбурових клітин, можуть виключно регенерувати пухлини. Ракові стовбурові клітини (РСК) є виключно пухлинними, плюрипотентними, локалізовані серед ракових клітин, мають властивості, подібні до стовбурових клітин, складають за різними даними 0,2-0,8%, 1-5% від загальної кількості пухлинних клітин [84,92,116,133,139,198,246]. Цим клітинам притаманні характеристики ЕМТ, які сприяють поширенню ракових клітин, метастазуванню. Однак, вважається доведеним фактом, що індукція ЕМТ в ракових клітинах сприяє появі в них ознак РСК, що ЕМТ відіграє вирішальну роль у генерації РСК [220,226,278,299]. Однак існують дані про роз'єднання ЕМТ та РСК, тобто ЕМТ і РСК можуть бути визначені як паралельні шляхи, а не як один і той же шлях, особливо вже на етапі метастазування [220,274,299].

Вважається, що появі рис стовбурових клітин сприяє проміжний стан ЕМТ, що підтверджено саме при ПАПЗ [6,116,129,198,268]. Проміжний фенотип, отриманий епітеліальними клітинами при частковому ЕМТ, мають як епітеліальні, так і мезенхімальні ознаки, що є важливою умовою для прогресування онкопроцесу [6,198,268], і, відповідно, експресія Е-кадгерину є важливою для канцерогенезу або появи ознак стовбуровості. Це є проявом пластичності між епітеліальними і мезенхімальними станами, які вважаються частковими ЕМТ та ілюструють мінливість поведінки пухлини навіть у межах одного генетичного фону [6,268]. Таким чином, наявність РСК може вказувати на ЕМТ в первинній пухлині [268,229]. В науковій літературі наводяться дані про динамічну рівновагу РСК з більш диференційованими раковими клітинами через двоспрямовану регенерацію або взаємоперетворення диференційованих ракових клітин у РСК, викликану різними факторами.



Встановлена роль клітинних сигнальних шляхів в регуляції здатності РСК до самовідновлення та контролю їх взаємоперетворення між станом спокою і подальшою реактивацією після метастазування [30,142,188]. Зокрема, сигнальний шлях Wnt відіграє важливу роль в регуляції РСК в солідних пухлинах, включаючи ПАПЗ в нішевих середовищах. Передача сигналів Wnt/ β -катеніну бере участь у проліферації клітин, міграції, апоптозі, диференціації та самовідновленні РСК при різних типах раку. Порушення регуляції сигнального шляху Wnt/ β -катеніну пов'язане також з резистентністю до хіміотерапії при ПАПЗ. Відомим є також факт ролі ядерного β -катеніну у ЕМТ [207,219]. Науковими дослідженнями встановлений зв'язок між РСК, регульованими сигнальним каскадом Wnt, і прогресуванням раку молочної залози, колоректального раку, гематологічного раку, раку легенів, шкіри і ПЗ, а також хіміорезистентністю [194]. Однак роль РСК у метастазуванні ПАПЗ залишається суперечливою [184].

Субпопуляція недиференційованих ракових стовбурових клітин опосередковує не тільки пухлиноутворення, метастазування, але й резистентність до всіх видів терапії [75,98]. Проте, очевидно, існує значна гетерогенність у субпопуляціях ракових стовбурових клітин [60,99,173,261]. Наукові дослідження свідчать, що РСК зупиняються на G_0 -подібній фазі клітинного циклу або контрольній точці. Ця особливість РСК разом із так званим специфічним мікросередовищем – «нішею» стовбурових клітин відіграють важливу роль не тільки у резистентності до терапії, а і у відновленні пухлини після проведеного лікування, генеруванні багатолінійної диференціації [41,75,84,98]. Дослідження ПАПЗ продемонструвало прямий кореляційний зв'язок кількісної оцінки РСК із ЕМТ, низьким рівнем Е-кадгерину, низьким ступенем диференціації, прогресуванням пухлини та гіршою загальною виживаністю [184].

Походження РСК підшлункової залози залишається невідомим [60]. Гіпотетичні джерела включають: 1) тканинні стовбурові клітини або клітини-попередники, 2) стовбурові клітини, отримані з кісткового мозку, і 3)



диференційовані клітини в результаті генетичної мутації. Однак специфічні генетичні зміни або біомаркери для РСК підшлункової залози в популяції ракових клітин підшлункової залози ще не з'ясовані [171,184,261]. Також ці клітини характеризуються високим співвідношенням ядер до цитоплазми з довгими розширеннями, здатністю генерувати різні типи клітин [184,261].

РСК мають унікальні маркери клітинної поверхні. Для РСК ПАПЗ було описано декілька біомаркерів. Однак, не було виявлено жодного унікального маркера для виділення РСК з різних типів пухлин. У зв'язку з цим пропонується комбінація кількох маркерів для підвищення чистоти ізольованих РСК [195]. Маркери клітинної поверхні підкреслюють гетерогенність РСК, здатність значно змінювати свій фенотип у відповідь на терапію і, відповідно, обумовлюють резистентність, необмежене самовідновлення [195,243]. Завдяки клональній різноманітності, різні субпопуляції РСК асоціюються з рецидивами, метастазуванням та прогресуванням захворювання в процесі розвитку пухлини [27,72,169].

Біомаркерами клітинної поверхні РСК ПАПЗ визначені CD24, CD44, EpCAM. Експресія цих маркерів пов'язана із низьким ступенем диференціації та високою проліферативною активністю клітин. Клітини CD44+CD24+ESA в 100 разів більш агресивні в порівнянні з іншими раковими клітинами [45,46,49,108,184,254,282,283]. Крім того, пухлини, утворені цими клітинами за морфологічними ознаками подібні до первинної ПАПЗ. Це підтверджує зв'язок між фенотипами ЕМТ та РСК, а також роль РСК в ініціації пухлини та самовідновленні [45,46,49,108,184,282,299], причетність до регуляції ЕМТ та адаптивної пластичності ракових клітин [62].

CD44 є некіназним рецептором трансмембранної адгезії, доброякісним молекулярним маркером РСК, кластером диференціювання. Експресію CD44 пов'язують із регуляцією ЕМТ. Літературні дані свідчать про кореляцію між надекспресією маркеру CD44 і низьким ступенем диференціювання, високою проліферативною активністю, вищим метастатичним потенціалом в печінку і лімфатичні вузли [84,92,133,139,185,246,261,283]. Гіперекспресія CD44,



згідно літературним даним, може бути наслідком втрати функціонального p53, що призводить до втрати контролю над клітинним циклом і порушенням процесу апоптозу [41,185,294]. Білок CD44 може служити прогностичним біомаркером хіміорезистентності, та предиктором раннього рецидиву [123]. Науковими дослідженнями встановлено, відновлення пухлини після лікування відбувається саме за рахунок CD44+ клітин [133,294].

В якості ще одного біомаркеру РСК використовується молекула епітеліально-клітинної адгезії ЕpСAM, також відомий як епітеліальний специфічний маркер (ESA). ЕpСAM - це епітеліальний трансмембранний глікопротеїн I типу і гомофільна Ca^{2+} -незалежна молекула клітино-клітинної адгезії. ЕpСAM демонструє широкий функціональний спектр у багатьох фізіологічних процесах, розвитку та патологічних процесах [125]. Він сприяє гомеостатичній підтримці епітеліальних тканин за допомогою регуляції гомофільної клітинно-клітинної адгезії, сигнальних шляхів, клітинної проліферації, полярності та рухливості [125]. Крім процесів розвитку, ЕpСAM посилюється або експресується *de novo* в більшості епітеліальних пухлинних тканин і похідних метастазів, включаючи ПАПЗ. Встановлений вплив ЕpСAM на клітинну проліферацію, частковий зв'язок із ЕMT і, відповідно, позитивний корелятивний зв'язок з прогресуванням ПАПЗ [84,92,133,139,246]. Дослідження свідчать про (частковий) зв'язок експресії ЕpСAM з ЕMT при ПАПЗ: клітини ЕpСAM+ мають підвищений пухлинний потенціал порівняно з клітинами ЕpСAM- [220,226]. ЕpСAM корелює з добре диференційованим гістологічним типом ПАПЗ [132]. Незважаючи на чисельні докази, що підтверджують роль ЕpСAM у стимулюванні пухлин, також було відмічено його протипухлинну дію [84,139,246]. Залишається предметом дискусій клінічне значення ЕpСAM та його вплив на клінічний прогноз. В окремих літературних джерелах висока експресія ЕpСAM пов'язується з хорошим прогнозом [227,278,299], інші дослідження пов'язують високу експресію маркеру з поганим прогнозом. Така розбіжність може відображати різну роль ЕpСAM при кожному типі раку. Наприклад, при розвиненій ПАПЗ



гіперекспресія є фактором поганого прогнозу з меншим періодом виживання до 48 місяців проти 70 місяців при негативній експресії ЕрСАМ. Навпаки, після радикального хірургічного лікування експресія маркера свідчила про сприятливий прогноз, що пояснюють пригнічувальним ефектом білка на активність онкопроцесу [201,220,227]. Також є дані про пряму кореляцію ЕрСАМ із добре диференційованим гістологічним типом ПАПЗ і обернений зв'язок із венозною інвазією [201,220,227].

РСК відрізняються більшою кількістю диференційованих клітинних ознак навіть в одній пухлині, що може обумовлювати різні патерни експресії цих маркерів на різних стадіях прогресування і диференціювання [92,227,277,278,299]. Крім того, CD44 і ЕрСАМ експресуються також на нормальних стовбурових клітинах [278,284,285,299]. Таким чином, дослідження особливостей експресії маркерів клітинної поверхні при різних ступенях диференціювання ПАПЗ необхідне для ранньої діагностики і профілактики метастазування та рецидивування.

1.3.3 Особливості взаємодії ракових клітин та мікрооточення та їх значення у прогресуванні протокової аденокарциноми підшлункової залози

Одним із перспективних напрямків оцінки потенціалу ракової пухлини є вивчення взаємодії клітин між собою та мікрооточенням і остаточні механізми взаємодії ракових клітин і строми не вивчені, у зв'язку з чим наводяться суперечливі дані про роль десмоплазії в канцерогенезі. Одні дані свідчать про розвиток пухлин низького ступеню диференціювання, швидке прогресування і поганий прогноз при пригніченні стромальних клітин. Однак, присутні дані про супресорний ефект строми при ПАПЗ. Також вважається, що стан строми впливає на стадію процесу: на ранній стадії строма може мати пригнічувальний ефект на канцерогенез, на пізній – стимулюючий [28,32,84,135,271].



Мікросередовище відрізняється непостійністю, динамічністю, неоднорідністю складу. Воно складається з клітинного і безклітинного компонентів. Перший складається з вираженої строми, канцерасоційованих фібробластів, міофібробластів, зірчастих клітин ПЗ, інших. При цьому при ПАПЗ фібробласти можуть складати від 15% до 85%, а ракові клітини мають невелику частку строми ПАПЗ [26,36,153,266]. Безклітинний компонент строми – це екстрацелюлярний матрикс (ЕСМ), який охоплює до 70-90% мікросередовища пухлини і, відповідно, відіграє дуже важливу роль [32,36,38,91,131,175,275,298]. ЕСМ складається з колагену, фібронектину, цитокінів, тощо [32,131,135,136,175,275,296]. Усі білки, інші компоненти ЕСМ, як правило, продукуються епітеліальними та стромальними клітинами, які забезпечують відділення епітеліального і стромального компартментів. Основними типами клітин десмопластичної строми і критично важливими для продукції і ремоделювання ЕСМ є активовані зірчасті клітини [34,57,131,153,207,266]. Однак, при блокуванні матричної реакції зірчасті клітини можуть взаємодіяти з раковими клітинами ПЗ і пригнічувати розвиток пухлини [34,122,185,196,264].

Запуск перепрограмування зірчастих клітин в міофібробласти є одним з механізмів індукції здатності ініціювати пухлину для ЕМТ [29,122,196,228,253,264]. В свою чергу, в процесі розвитку десмоплазії, індукованої зірчастими клітинами, важливу роль відіграє ЕМТ. Відбувається активація проліферації канцерасоційованих фібробластів (CAF), стимуляція злоякісної трансформації епітеліальних і стромальних клітин [34,42,81,260,263,271,285], що, як наслідок, призводить до розвитку фіброзу [32,228,285]. Фіброз при ПАПЗ відрізняється дисбалансом у синтезі та деградації ЕСМ. Саме деградація ЕСМ є важливим етапом в прогресуванні і метастазуванні. Однак, роль CAF в ЕМТ та формуванні резистентності залишається дискусійною [27,28,74,114,126,170,277]. Згідно одних даних, втрата адгезії і інвазія пов'язані з ущільненням пухлинної строми, на думку інших авторів, агресивний потенціал пухлини обумовлений менш щільною



строною [161,264]. Вважається, що адгезія пухлинних клітин є органоспецифічною і модифікується умовами мікрооточення, яке відіграє ключову роль як модулятор фенотипу, поведінки та хіміорезистентності ракових клітин [26,32,34,153,200,207,228,273].

Активовані тумор-асоційовані фібробласти і зірчасті клітини відповідають за секрецію декількох факторів, які прискорюють проліферацію пухлини, ріст, інвазію, метастазування і, перш за все, хіміорезистентність. Вони також беруть участь у створенні гіпоксичного мікросередовища, що обумовлює інвазивний фенотип ракових пухлин [43,74,76,77,81,154,170]. Саме при твердому раку активовані фібробласти стають сприятливим фактором для прогресування пухлини, зокрема, туморасоційовані фібробласти утворюють міцні зв'язки з раковими клітинами, що забезпечує переваги для обох типів клітин [34,43,122,196,263,264]. Тобто, з одного боку ракові клітини ініціюють і підтримують активацію туморасоційованих фібробластів, в свою чергу останні підтримують ріст, рухливість та інвазію ракових клітин, сприяють метастазуванню та хіміорезистентність [10,14,20,28,29,43].

Виділяють кілька підтипів CAF, включаючи міофібробластичні CAF (myCAFs), запальні CAF (iCAFs) та антигенпрезентаційні CAF (apCAFs). CAF з міофібробластичним фенотипом продукують α -SMA і відіграють важливу роль у регуляції морфології внутрішньопухлинного колагену. Є дані, що розсипчаста строма може бути сприятливою для інфільтрації, метастазування, пов'язана з гіршою диференціацією пухлини. Також наводяться результати досліджень, що великі пухки CAF, які вважаються незрілими і складають 17,3%-26,2% маси пухлини [37,256,284,285,286], обумовлюють розвиток незрілої десмоплазії, пов'язаної з більшою агресивністю раку. Однак, щільна волокниста тканина може по-різному впливати на ракові процеси. Встановлено, що лінеалізовані волокна жорсткіші, ніж волокна з менш структурованою морфологією. Жорсткість тканини змінює поведінку клітин (наприклад, міграцію, адгезію клітина-клітина та проліферацію), які необхідні для ангіогенезу, а також посилює експресію N-кадгерину на поверхні



ендотеліальних клітин, таким чином посилюючи взаємодію між пухлинними клітинами та ендотеліальними клітинами [241,284,285]. Розвиток подовжених волокон свідчить не тільки про кількість міофібробластів, а і про ступінь гетерогенності α -SMA-позитивної популяції міофібробластів, тобто здатність генерувати видовжені колагенові волокна обмежена субпопуляцією клітин [185,206,241]. Висока секреція ЕСМ призводить також до підвищення інтерстиціального тиску, що призводить не тільки до посилення міграції, інвазії, а також до виснаження компонентів строми. Як наслідок, - більша агресивність, недиференційований ступінь пухлини, вища проліферація. Однак, існує думка, що залежно від структури колагену, строма може поводитися як бар'єр або промотор для метастатичного розповсюдження раку [42,76,161,114,126,185].

Разом з іншими клітинними компонентами у мікросередовищі співіснують ракові стовбурові клітини (РСК), які збільшують ріст, інвазію та метастатичний потенціал ракових клітин ПАПЗ. В свою чергу, білки позаклітинного матриксу, архітектура та жорсткість самого матриксу, разом з іншими нераковими клітинами, ймовірно, також відіграють визначальну роль у процесах та стані РСК. Зв'язок між стромою ПАПЗ підтверджується збільшенням CD44⁺ РСК зі збільшенням частоти нещільної строми [132,166,213,299].

Таким чином, складність взаємозв'язків ракових клітин і мікросередовища обумовлює необхідність подальшого дослідження.

Резюме

Аналіз сучасної наукової літератури висвітлює ключові питання щодо своєчасної ефективної діагностики протокової аденокарциноми підшлункової залози задля прогнозування перебігу і попередження прогресування цієї патології. У кількох дослідженнях розмір пухлини 3 см і більше визначений як прогностичний фактор для ПАПЗ, який корелює із агресивною біологічною



поведінкою пухлини. При цьому в літературі відсутній комплексний порівняльний аналіз патоморфологічних, імуногістохімічних параметрів пухлин ПАПЗ менше і більше 3 см різного ступеню диференціювання. Незважаючи на чисельні роботи, присвячені вивченню епітеіально-мезенхімальної трансформації, залишається дискусійною роль ЕМТ в розвитку онкопатології. Недостатньо даних в науковій літературі, особливо у вітчизняній, про особливості ЕМТ при ПАПЗ, недостатньо описані імуногістохімічні параметри окремих компонентів ЕМТ в пухлинах ПАПЗ, не описані відповідні імуногістохімічні параметри в пухлинах в залежності від розміру і ступеню диференціювання. Актуальність вивчення ЕМТ обумовлюється тим, що ЕМТ відводиться ключова роль в запуску катапластичних процесів, тому є важливим визначення критеріїв прогресування ПАПЗ. В останні роки в науковій літературі актуалізується концепція ракових стовбурових клітин, які, як вважається, є причиною як запуску, так і прогресування онкопроцесу. У зв'язку з цим ідентифікація якісних та / або кількісних показників експресії маркерів стовбурових клітин при ПАПЗ потенційно дає можливість оцінки її агресивності. Окреслені фактори підтверджують актуальність обраної теми і обґрунтованість поставлених задач.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Матеріали дослідження

Для проведення мікроскопічних, ІГХ та морфологічних досліджень бралися трепанбіопсійні 4 стовпчики тканини підшлункової залози під контролем УЗД, вологий операційний матеріал підшлункової залози після органозберігаючої операції з подальшим формуванням панкреатосюнодуодено-анастомозу (операція професора, доктора медичних наук Клименка В.М.), блоки операційного матеріалу пацієнтів, що були прооперовані в хірургічному відділенні ТОВ «Віта-Центр» м. Запоріжжя, КУ «Міська клінічна багатoproфільна лікарня №3» ЗОР м. Запоріжжя, КУ «Запорізька обласна клінічна лікарня» ЗОР м. Запоріжжя, отримані від КУ «Запорізьке обласне бюро СМЕ» Запорізької обласної ради. У якості контрольної групи відібрано секційний матеріал нормальної підшлункової залози (без клініко-морфологічних захворювань) 10 померлих.

Зроблений аналіз операційного матеріалу хворих, що знаходились на лікуванні у вище зазначених лікувальних закладах в період з 2012 по 2020 рр. Основна група - 139 пацієнтів зі протоковою аденокарциномою підшлункової залози з них: трепан-біопсій – 74 випадків, операційний матеріал – 65 випадків. В якості контрольної групи – 10 випадків аутопсійного матеріалу. Вік пацієнтів контрольної групи 56-73 роки, середній вік – $64,5 \pm 2,33$ років. Вік пацієнтів основної групи коливався в діапазоні 36-84 роки. Показник середнього віку усіх хворих склав $61,68 \pm 7,75$ років. Вік жінок варіював від 41 до 78 років, в середньому склав - $62,17 \pm 7,36$ років. Вік чоловіків коливався в більш широкіх межах, аніж у жінок – 36-84 роки, але середній вік майже не відрізнявся ($61,17 \pm 8,09$ років).

Матеріал для мікроскопічного, ІГХ та морфометричних методів дослідження було розподілено на 2 групи. І група – пацієнти з розміром пухлини



ПАПЗ до 3-х см (51 випадків), II група – пацієнти з розміром пухлини ПАПЗ більше 3-х см (88 випадків). Найменший діаметр пухлини був до 2см, найбільш діаметр – до 7 см. В кожній групі виділяли по дві підгрупи: Ia підгрупа – пухлини з помірним (G_2) рівнем диференціюванням (35 випадків), Ib підгрупа - пухлини з низьким (G_3) рівнем диференціюванням (16 випадків); Pa підгрупа – пухлини з G_2 рівнем диференціюванням (34 випадків), Pb підгрупа - пухлини з G_3 рівнем диференціюванням (54 випадки). Ступені диференціювання G_1 та G_4 були виключені через малі вибірки. Для імуногістохімічного дослідження відібрано 35 випадків пухлин менше 3 см і 69 – більше 3.

Усі досліджувані групи та підгрупи порівнювалися між собою для диференційної діагностики.

2.1 Методи та методики дослідження

Для гістологічного, гістохімічного, імуногістохімічного та морфометричного досліджень використовувався архівний матеріал: шматочки тканини підшлункової залози фіксувалися в 10% забуференому формаліні, наступний етап - заливка у парафін. На прецезійному ротаційному мікротомі НМ 3600 «MICROM Laborgerate GmbH» – Німеччина) з парафінових блоків виготовлялися серійні зрізи товщиною 4 μ m, що розмішували на предметних скельцях (для оглядового патогістологічного забарвлення), на адгезивні скельця фірми «Thermo Scientific» Німеччина «SUPER FROST PLUS» - для ІГХ-досліджень.

Гістологічні, гістохімічні, ІГХ та морфологічні методи дослідження

Для діагностики особливостей гістоархітекtonіки раку підшлункової залози, його морфологічні варіанти, розповсюдженість пухлини, ступінь гістологічного диференціювання ПАПЗ визначали при мікроскопічному дослідженні мікропрепаратів, стандартизоване гістологічне забарвлення гематоксиліном та еозином.



Для визначення ступеню розвитку фіброзної стромы ПЗ використовували гістохімічний метод забарвлення мікропрепаратів трепанбіоптатів та операційного матеріалу за методом Массон-трихром.

ІГХ дослідження виконувалося у парафінових зрізах з використанням моноклональних та поліклональних антитіл. Після депарафінації, регідратації зрізів проводили високотемпературне демаскування антигенів у РТ-модулі в трис-ЕДТА (pH=9,0) буфері, після проводилося пригнічення активності ендогенної пероксидази 3% розчином перекису водню (H_2O_2) та наносили блокуючу сироватку. Інкубацію з первинними та вторинними антитілами проводили згідно інструкціям виробників, візуалізацію ІГХ-реакцій виконували з використанням системи візуалізації UltraVision Quanto HRP + DAB System («Thermo Scientific», США). Зрізи дофарбовуються гематоксиліном Майєра, заключення канадським бальзамом. Оцінка результатів ІГХ-дослідження проводилася за допомогою мікроскопа AxioPlan 2 («Carl Zeiss», Німеччина), зрізи фотографували цифровою фотокамерою «AxioCam 105 Color ZEISS» (Німеччина) в 5 полях стандартизованого поля зору мікроскопа (СПЗМ) при збільшенні x200 (окуляр x 10, об'єктив x 20).

З використанням медичної програми обробки цифрового зображення ImageJ [13] в кожному випадку проводилося морфометричне вимірювання площі стромального компартменту пухлини (при гістохімічному забарвленні зрізів методом Массон-трихром) в 5 полях стандартизованого поля гістологічного зрізу (СПГЗ) при збільшенні x200 (окуляр x 10, об'єктив x 20). Для гістохімічного методу Массон-трихром використовували фільтр Masson Trichrom цифрового зображення та встановлено поріг чутливості (інструмент «Threshold»), усі пікселі цифрового зображення сегментували на білі (не забарвлені) і чорні (позитивно забарвлені) та обчислювали відносну площу позитивно забарвлених структур, як відсоткове співвідношення кількості пікселів цифрового зображення імунно-позитивно забарвлених структур до загальної кількості пікселів в зображенні та фіксували результати у %. Відносну площу позитивно забарвлених структур в пухлині градували на



низьку (показник відносної площі позитивних структур складав від 0 до 25%), помірну (відносна площа позитивних структур від 26% до 75%) та високу (відносна площа позитивних структур дорівнювала від 76% до 100%).

З використанням медичної програми обробки цифрового зображення ImageJ в кожному випадку проводилося морфометричне вимірювання площі експресії епітеліальних, стромальних та стовбурових імуногістохімічних маркерів в 5 полях стандартизованого поля гістологічного зрізу (СПГЗ) при збільшенні x200 (окуляр x 10, об'єктив x 20). У відфільтрованому DAB-каналі цифрового зображення встановлювали стандартизований поріг чутливості (інструмент «Threshold»), усі пікселі цифрового зображення сегментували на білі (не забарвлені) і чорні (позитивно забарвлені) та обчислювали відносну площу позитивно забарвлених структур, як відсоткове співвідношення кількості пікселів цифрового зображення іmunно-позитивно забарвлених структур до загальної кількості пікселів в зображенні та фіксували результати у %. Відносну площу позитивно забарвлених структур в пухлині градували на низьку (показник відносної площі позитивних структур складав від 0 до 25%), помірну (відносна площа позитивних структур від 26% до 75%) та високу (відносна площа позитивних структур дорівнювала від 76% до 100%).

З метою вивчення та дослідження в ПАПЗ ракового залозисто-протокового компартменту проведено ІГХ-дослідження з використанням антитіл проти Е-кадгерину (Мо a-Hu E-Cadherin (*Clone EP 700 Y*), «Thermo Scientific», США), β -катеніну (Мо a Hu Beta-Catenin (*Clone E-247*) «Thermo Scientific», США), цитокератину 7 (Мо a Hu Keratine 7 (*Clone OV-TL 12/30*), «Thermo Scientific», США), цитокератину 18 (Мо a-Hu Cytokeratine 18 (*Clone DC10*) «DAKO», Данія). Відносну площу експресії Е-кадгерину, β -катеніну, цитокератину 7 та 18 визначали за допомогою цифрової фотоморфометрії, оцінювалось у % та градувалось на 3 рівня (низький, помірний, високий) за вище описаною методикою.

З метою вивчення та дослідження в ПАПЗ зон ЕМТ проведено ІГХ-дослідження з використанням антитіл проти Е-кадгерину (Мо a-Hu E-Cadherin



(*Clone EP 700 Y*), «Thermo Scientific», США), β -катеніну (Мо а Hu Beta-Catenin (*Clone E-247*) «Thermo Scientific», США), цитокератину 7 (Мо а Hu Keratine 7 (*Clone OV-TL 12/30*), «Thermo Scientific», США), цитокератину 18 (Мо а-Hu Cytokeratine 18 (*Clone DC10*) «DAKO», Данія), гладко-м'язового актину α -SMA (Мо Alpha Smooth Muscle Actin (*Clone 1A4*) «DAKO», Данія), віментину (Мо а Hu Vimentin Ab-2, «Thermo Scientific», США). Відносну площу експресії Е-кадгерину, β -катеніну, цитокератину 7 та 18, гладко-м'язового актину та віментину визначали за допомогою цифрової фотоморфометрії, оцінювалось у % та градувалось на 3 рівня (низький, помірний, високий) за вище описаною методикою.

Для оцінки розвитку фіброзної стромы у досліджуваному матеріалі, зрізи забарвлено первинними антитілами проти гладко-м'язового актину α -SMA (Мо Alpha Smooth Muscle Actin (*Clone 1A4*) «DAKO», Данія), віментину (Мо а Hu Vimentin Ab-2, «Thermo Scientific», США). Відносну площу імуні-позитивних клітин підраховували за вище вказаною методикою та градували на 3 рівня (низький, помірний, високий).

ІГХ досліджено експресію марерів стовбурових клітин з використанням первинних антитіл проти Rb а Hu EpCAM (ThermoScientific, США) та Мо а Hu CD44 Std./HCAM Ab-4 (*Clone 156-3C11*) (ThermoScientific, США) у розвитку та прогресії ПАПЗ. Результати ІГХ-дослідження онкомаркерів CD44 та EpCAM оцінювали за допомогою цифрової фотоморфометрії та вираховували відносну площу імуні-позитивно забарвлених клітин за вище вказаною методикою.

Статистична обробка отриманих даних ІГХ-досліджень

Статистичну обробку отриманих результатів проводили на персональному комп'ютері у програмі в програмі «STATISTICA® for Windows 13.0» (StatSoft Inc., США, ліцензія № JPZ804I382130ARCN10-J). Гіпотезу про нормальність розподілу досліджуваних показників перевіряли з використанням критерія Шапіро-Вілка.



Обчислювали медіану, нижній та верхній квартилі, дані представляли у вигляді Me (Q_1 , Q_3). Проводили також кореляційний аналіз з використанням коефіцієнта кореляції Пірсона (r), значення якого від 0,1 до 0,29 свідчило про слабкий зв'язок ознак; від 0,3 до 0,69 – помірний ступінь сполучення ознак; від 0,7 і вище – сильний зв'язок між ознаками, що вивчаються. Також за допомогою коефіцієнта кореляції Пірсона визначали прямий та зворотний взаємозв'язок, що відображалось r зі знаком « $-$ » - зворотний зв'язок взаємодії, а r зі знаком « $+$ » - прямий взаємозв'язок. Достовірність відмінностей порівнюваних величин визначали за допомогою критерію Стюдента (T). Результати вважали достовірними при $p < 0,05$.

Порівняння отриманих даних у 2 групах проводили за допомогою непараметричного U -критерія Манна-Вітні для незалежних вибірок. Для порівняння даних в 3 та більше групах спостереження використовувався непараметричний одно факторний дисперсійний аналіз Краскела-Воліса, де H_0 – статистично значимих відмінностей між результатами груп немає, H_1 – відмінності між результатами груп статистично значущі.

Для всіх видів аналізу відмінності вважали достовірними при $p < 0,05$.



РОЗДІЛ 3

АНАЛІЗ ЗАХВОРЮВАНOSTІ ТА СМЕРТНОСТІ ПРИ ПРОТOKOВІЙ АДЕНОКАРЦИНОМІ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ В УКРАЇНІ ТА ЗАПОРІЗЬКІЙ ОБЛАСТІ

За даними GLOBOCAN (2018), кількість випадків злоякісних новоутворень ПЗ щороку збільшується на 0,46 млн та 0,43 млн смертей від РПЗ [1-9,50,54-56,103,280]. В науковій літературі для пояснення негативної динаміки РПЗ висувається гіпотеза впливу зміни способу життя у всьому світі [50,54-56,103,280].

При цьому даних про епідеміологію РПЗ доступно дуже мало. Тенденції розвитку раку є важливим показником зміни структури захворюваності на рак та дають уявлення про можливі причини та фактори, які можуть впливати на онкопатологію. Тому аналіз епідеміології РПЗ може бути вирішальним фактором до розуміння етіології і наріжним каменем розробки ефективної стратегії профілактики цієї патології.

В Україні загальна реєстрація всієї онкопатології впроваджена з 2002 р. в Національному канцер-реєстрі. Дані реєстру дають можливість оцінити не тільки динаміку захворюваності, смертності від онкопатології, а й обсяг протиракових заходів, спеціалізованої медичної допомоги.

Виконаний аналіз даних Національного канцер-реєстру захворюваності РПЗ в Україні за 2014-2023 рр. (рис. 3.1). Інформація, що використовувалась у дослідженнях, була переглянута та затверджена Комісією з питань біоетики ЗДМУ, витяг з протоколу №2 від 19.02.2019 р. [1-10,14,17,20-23]

Аналіз показав, що впродовж 2014-2023 років відзначалась тенденція до збільшення числа хворих на РПЗ. В 2016 р. спостерігалось деяке зниження на 1,97%, але в 2017 - 2018 рр. спостерігалось постійне зростання на 1,53% і 2,19% відповідно. У 2019 р. темп приросту суттєво знизився і був 0,60%, в абсолютних величинах склавши найвищий показник захворюваності за досліджуваний період - 4527 випадків за рік.



3616367231352456

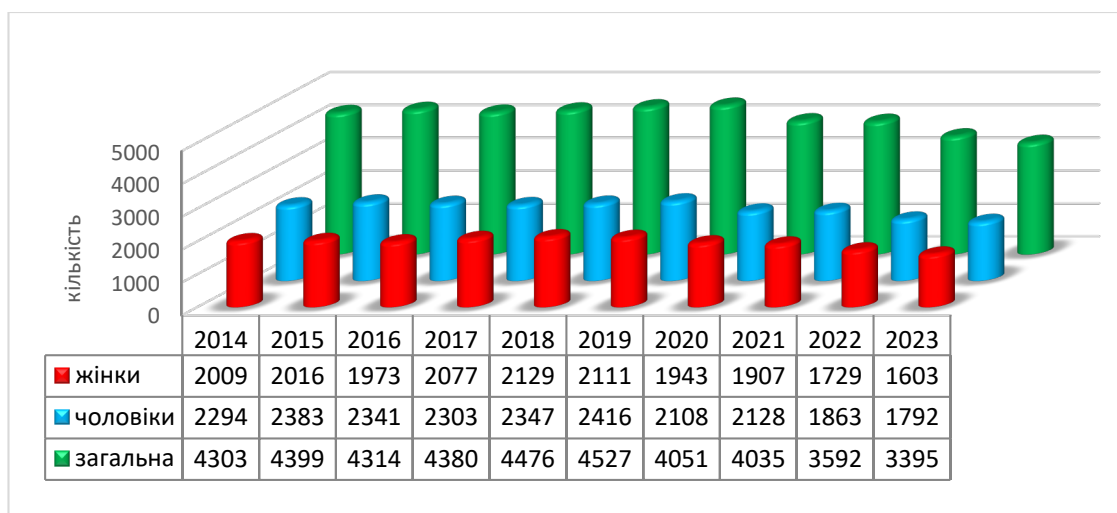


Рисунок 3.1 - Статистика захворюваності на злоякісні новоутворення підшлункової залози серед чоловіків та жінок в Україні (2014-2023рр.).

Пандемія коронавірусної інфекції (COVID-19) негативно вплинула на діагностику та лікування РПЗ через обмеження доступу до онкологічної допомоги [2-5,179,280]. Також із затримкою відбувалась кількісна оцінка вторинних наслідків пандемії. Так, наразі доступні лише показники захворюваності на рак і смертності до 2018 і 2019 років відповідно [3-6]. У 2020 р. спостерігається суттєве зниження випадків РПЗ на 12,50% по відношенню до 2019 р. і ще на 5,20% у 2021 р., в цілому на 17,05% по відношенню до 2019 р., таким чином 2021 р. відзначений найнижчою захворюваністю на РПЗ за останні 8 років в Україні. Загальна кількість виявлених в 2022 р. злоякісних новоутворень ПЗ в порівнянні з 2021 р. зменшилась на 13,9%, що пов'язано з активними воєнними діями, окупацією територій, міграцією населення [9].

Кількісні дані про захворюваність і смертність в 2022-2023 роках слід розглядати з урахуванням таких чинників як зменшення чисельності населення України через міграцію значної кількості громадян за кордон, окупації значної частини не лише Донецької та Луганської, але й інших областей, а також активне переміщення населення всередині країни.

В умовах активних воєнних дій робота системи реєстрації раку ускладнилась, і не лише внаслідок окупації територій та міграції населення.



Показник «не прожили року після виявлення злоякісних новоутворень в 2022 році», який характеризує ефективність діагностично-лікувальних зусиль щодо первинних хворих, зменшився в Україні до 23,9% порівняно з 2021 р. В Дніпропетровській, Закарпатській, Кіровоградській, Тернопільській, Хмельницькій, Черкаській, Чернігівській областях зареєстровано значне перевищення середньоукраїнського рівня (від 30,2 до 37,3%). Проте, через очевидний недооблік смертей онкологічних хворих у багатьох ОКР у минулі роки, що посилюється в 2022-2023 роках, реальні значення показників дорічної летальності хворих 2022 року в таких областях, як Донецька, Запорізька, Київська, Луганська, Львівська, Миколаївська, Одеська, Полтавська, Рівненська, Сумська, Харківська, Херсонська, Чернівецька та у м. Київ, як і середнє по Україні, безперечно є вищими за обчислені на основі даних, зареєстрованих нині у цих регіонах [8,9].

Про стан діагностики в 2023 році свідчить високий показник занедбаності (виявлення хвороби у 4-й стадії) 20,8%, хоча порівняно з 2020-2022 роками його значення зменшилось. Проте, одночасно зросла питома вага захворювань, стадія яких лишилась не визначеною.

Рівень морфологічної верифікації захворювань на рак порівняно з 2022 роком зріс на 1,9% і становив 86,5%.

Середнє по Україні значення показника охоплення спеціальним лікуванням первинних хворих 2023 року – 73,5% – було вище, ніж у попередньому році,

Питома вага хворих, які не пережили року після виявлення злоякісного новоутворення, складала в середньому по Україні 23,9%, проте при ЗН підшлункової залози – 60,2-62,3%,

Реєстрація смертей онкологічних хворих в НКРУ далі погіршується, зокрема через наслідки активних воєнних дій, окупації регіонів та міграції населення. Дослідження НКРУ показали, що кількість померлих онкологічних хворих, а отже і значення показників дорічної летальності хворих в таких областях як Донецька, Запорізька, Київська, Луганська, Львівська,



Миколаївська, Одеська, Полтавська, Рівненська, Сумська, Харківська, Херсонська, Чернівецька та у м. Київ, як і середнє по Україні, є заниженими і не відповідають реальним [8,9].

В Запоріжжі і Запорізькій області в 2015-2022 рр. динаміка захворюваності РПЗ співпадає з динамікою по країні (рис. 3.2).

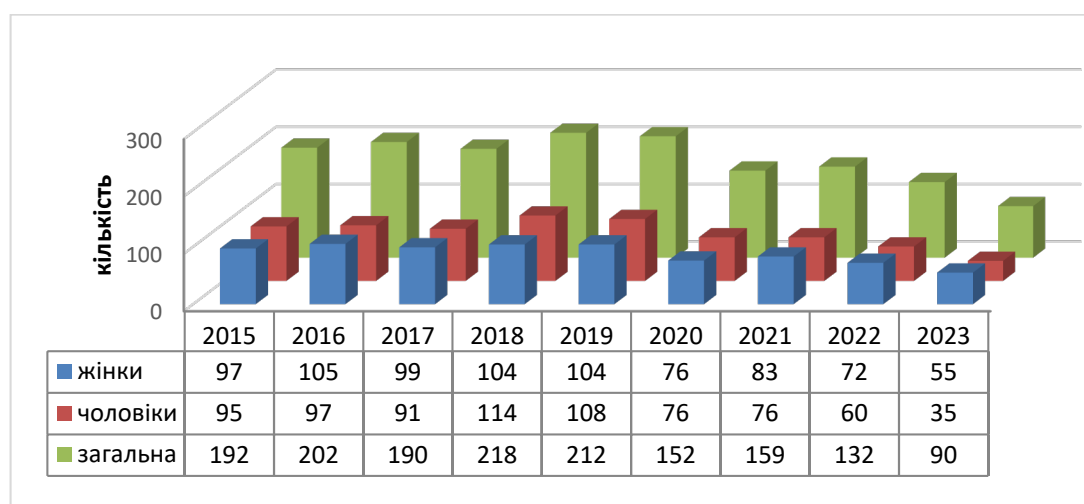


Рисунок 3.2 - Статистика захворюваності на злоякісні новоутворення підшлункової залози серед чоловіків та жінок в Запоріжжі та Запорізькій області (2015-2023рр.).

У 2015-2017 рр. захворюваність склала 192-202 випадки на рік. У 2018 р., як і в Україні, відбувся стрибок в середньому на 9%, що вище, ніж в середньому по країні. Через рік, у 2020 р., кількість випадків РПЗ склала всього 152, що на 30,26% нижче в порівнянні з найбільш несприятливим, 2018, роком і майже вдвічі відсоток вищий за середній по Україні.

Віковий інтервал захворюваності на РПЗ в Україні складає від 30 до 87 років. Пік захворюваності по Україні, Запоріжжю і Запорізькій області впродовж аналізованого періоду припадає на вікову групу старше 70 років. Пік захворюваності серед чоловіків припадає на вік 70-74 роки, серед жінок – 80-84 роки.

По Україні чоловіки хворіють частіше. Причому до 60 років чоловіки хворіють в 2-3 рази частіше за жінок. В більш старших вікових групах ця



різниця поступово зменшується і складає 1,1-1,5 рази. Подібне співвідношення не має тенденції до змін з роками. У 2022 році на фоні зниження ЗН ПЗ відбулось достовірне зростання цієї патології у жінок – на 1,3% [1], за рахунок чого РПЗ збільшив свій внесок в структурі захворюваності на ЗН жінок в 2022 році до 3,2% і витіснив з числа 10-ти найбільш частих локалізацій рак щитовидної залози (3,0%).

По Запоріжжю і Запорізькій області у 2015-2017 рр. захворюваність серед жінок по відношенню до чоловіків була вищою і це співвідношення зросло від 1,02 до 1,09. У 2018-2019 роках, навпаки, чоловіки хворіли в 1,9 та 1,0 рази частіше. З 2020 р. чоловіки і жінки хворіли однаково часто.

Рання діагностика РПЗ в Україні, згідно статистики, залишається на достатньо низькому рівні (рис. 3.3).

З 2015 року по 2022 рік частота діагностики ранніх стадій РПЗ знизилась на 10,40%: з 36,40% в 2015 р. до 26,00% в 2022 р. Відповідно зросла кількість запущених стадій – на 6,10%. Частота III і IV в 2015 р. склала 13,00% і 33,80%, у 2022 р., на превеликий жаль, більш суттєво зросла частота IV стадії – до 43,50%, частота III стадії склала у 2022 р. 12,80%. За аналізованій період відзначається негативна тенденція діагностики РПЗ невизначеної стадії: з 16,00% у 2015 р. до 19,10% у 2021 р., у 2022 р. – 16,50%. За даними Національного канцер реєстру у 2022 р. понад 40,0% випадків раку шлунка та ПЗ хвороба були діагностовані в занедбаній стадії, в 16,9% випадків ЗН ПЗ була не визначена стадія.

Порівняння показника занедбаності 2021 року з показником попереднього року в більшості регіонів не виявило значного зростання його значення: середньоукраїнський показник занедбаності для всіх ЗН зріс на 0,5%.

В Запоріжжі і Запорізькій області найчастіше I-II стадії РПЗ діагностувались в 2017-2018 рр - 42,00-43,60% відповідно, в 2019 р. цей показник знизився до 34,60%, найнижчий рівень діагностики спостерігався у 2020 р – 31,10% (рис. 3.4).



Ситуація дещо покращилась у 2021 р. – I-II стадії склала 37,80%, але у 2022 р. знову частота виявлення РПЗ знизилась до 30,70%. Частота запущених стадій РПЗ по Запоріжжю і Запорізькій області вища, ніж по Україні. Виявлення РПЗ в III стадії по Запоріжжю і Запорізькій області є всього на рівні 8,90-15,50%. Частота РПЗ в IV стадії у 2019-2021 рр. досягла більше половини зареєстрованих випадків РПЗ – 51,10-51,90% проти 37,60-51,30% в попередні роки. У 2022 р. частота РПЗ IV стадії зросла до 58,80%. В 3,70-6,90% випадків РПЗ не діагностується за життя, що майже втричі менше показника по Україні (рис. 3.4).

Залишається високою смертність від РПЗ (рис. 3.5). За останні вісім років в Україні вона складає 76,88-82,27% від загальної кількості хворих на цю патологію. Чоловіки помирають на 14,55-19,02% частіше за жінок. У 2020 р. зареєстровано значуще зниження порівняно до 2019 р. рівня смертності від РПЗ чоловічого населення України на 11,3%.

У всіх вікових групах після 45 років і у чоловіків і жінок РПЗ є переважаючою причиною смерті поруч із ЗН легені, шлунка, колоректальним раком у чоловіків і раком грудної залози, шлунка, колоректальним раком, а також ЗН яєчника у жінок. Зокрема, у 2021р. серед основних 5 нозологічних форм ЗН в статеві-віковій структурі смертності населення України від ЗН у чоловіків 30-54 років РПЗ посіла 4 місце і склала 6,4%, у жінок смертність від РПЗ відзначена у віці 75+, була на 5 місці і склала 7,3%.

У 2022 р. смертність від РПЗ серед основних 10 нозологічних форм ЗН в структурі смертності від ЗН населення України у чоловіків опустилась на 6 місце і склала 5,6%, у жінок посіла 7 місце і склала 6,0%. У статеві-віковій структурі смертності у 2022 р. питома вага РПЗ серед основних 7 нозологічних форм ЗН серед чоловіків 30-44 років посіла 5 місце і склала 5,6%, у віковій групі 45-64 р. – 4 місце, 6,5%, в старших вікових групах 65-74 та 75+ показник смертності від РПЗ опустився на 6 і 7 місця і склав 5,3 та 4,4% відповідно. Серед жінок смертність від РПЗ у статеві-віковій структурі основних 7 нозологічних форм ЗН відзначена лише у вікових групах 65-74 р. та 75+,



посідає 6 та 4 місця відповідно, але у відсотковому відношенні перевищує показники серед чоловіків – 6,5 та 7,2% відповідно.

В Запорізькій області смертність в період 2015-2018 рр. поступово знижувалась від 99,48% у 2015 р. до 87,61% у 2018 р., але перевищувала національний показник (рис. 3.6).

З початком пандемії смертність зросла у 2019 р. до 95,75%, а у 2020 р. - до 111,18%, що може бути обумовлене зниженням звернення про допомогу. У 2021 р. смертність знизилась до 86,16%, у 2022 р. - до 58,68%, що також може бути наслідком пандемії. В регіоні чоловіки і жінки з РПЗ помирають із однаковою частотою.

П'ятирічна виживаність реєструється усього у 3-5,1% хворих на РПЗ [10-14]. В нозологічній структурі 5-річних контингентів хворих на ЗН РПЗ знаходиться на 15 місці як серед жінок, так і серед чоловіків. При цьому п'ятирічна виживаність чоловіків вища – 1,7-1,8% проти 1,2-1,3% виживаності жінок.

Спостерігається позитивна динаміка однорічної виживаності як по Україні, так і в Запорізькому регіоні. Смертність впродовж 1 року по Україні зменшилась на 11,20% з 75,20% у 2014 до 64,0% у 2021 р. (рис. 3.7)

В Запоріжжі і Запорізькій області динаміка дещо гірша (рис. 3.8). Смертність знизилась на 6,6% з найвищого показника у 2015 р. – 77,30% до у 2020 р – 70,70%, що на 4,10% вище за відповідний рік по Україні, але у 2021 р. в регіоні відбулось суттєве зниження смертності впродовж року від РПЗ на 11,80% до 58,90%, що нижче показника по країні на 5,10%.

За даними Національного канцер-реєстру України (2014-2022 рр.) РПЗ морфологічно підтверджується всього 34,30%-42,70% без певної динаміки (рис. 3.9).

В Запоріжжі і Запорізькій області показник морфологічно підтверджених випадків РПЗ помітно нижчий за республіканський і становить 28,10%-35,80% також без певної динаміки (рис. 3.10).



3616367231352456

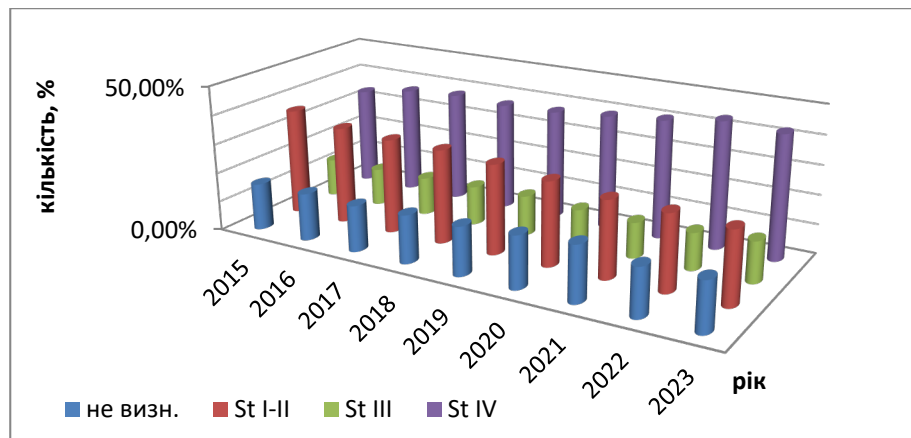


Рисунок 3.3 - Аналіз захворюваності на РПЗ за стадіями згідно TNM-класифікації по Україні за 2015-2023 рр.

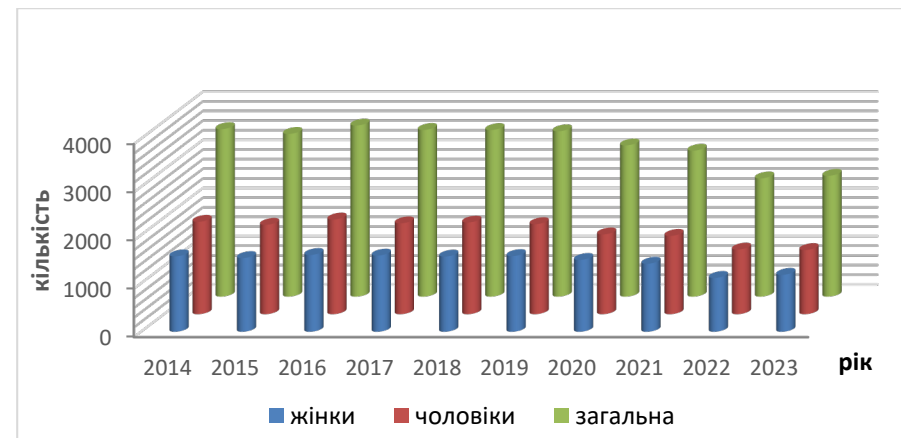


Рисунок 3.5 - Аналіз смертності від РПЗ серед чоловіків та жінок в Україні (2014-2023 рр.).

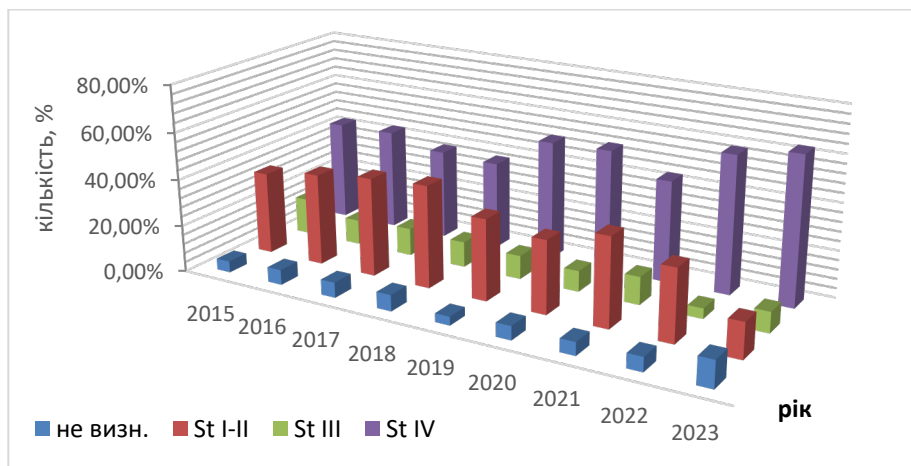


Рисунок 3.4 - Аналіз РПЗ за стадіями згідно TNM-класифікації по Запоріжжю та Запорізькій області 2015-2023рр.

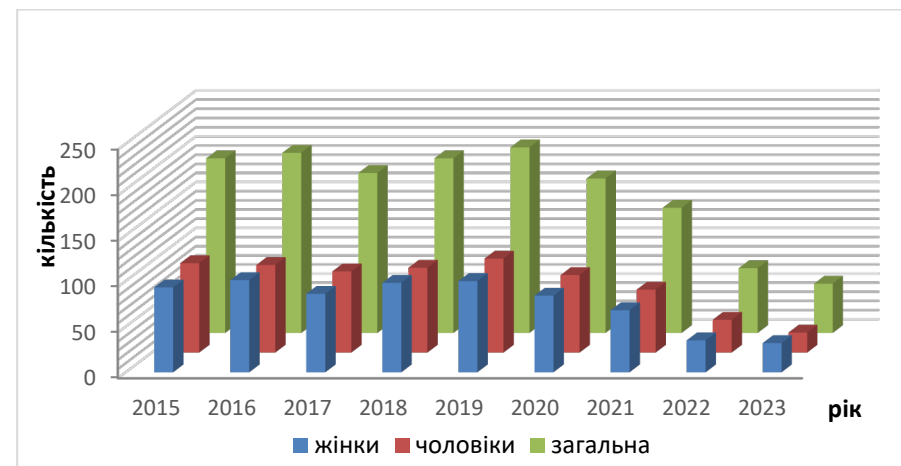


Рисунок 3.6 - Аналіз смертності від РПЗ серед чоловіків та жінок у Запоріжжі та Запорізькій області (2015-2023 рр.).



3616367234552456

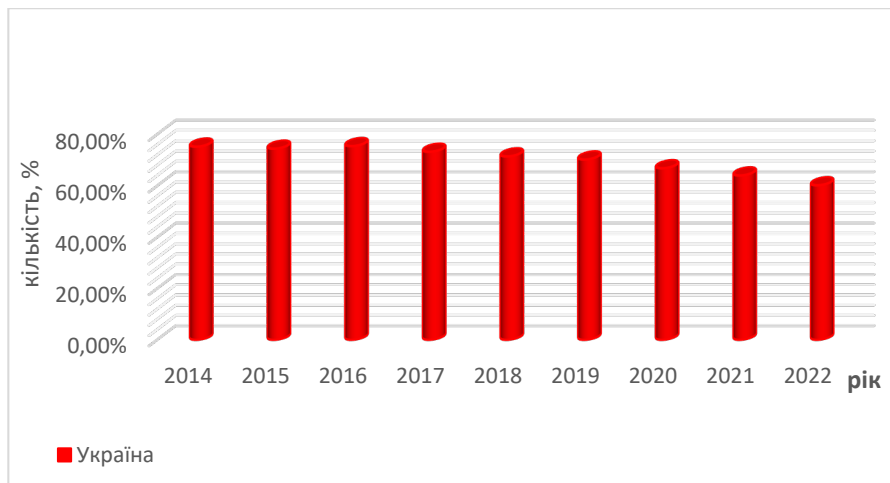


Рисунок 3.7 - Аналіз виживаності менше 1 року при РПЗ в Україні (2014-2022 рр.).

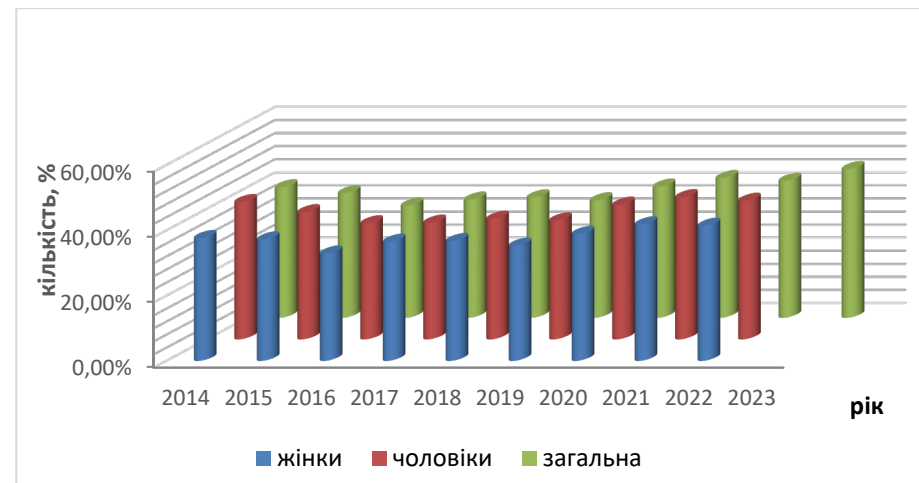


Рисунок 3.9 - Аналіз морфологічно підтверджених випадків РПЗ в Україні (2014-2023 рр.).

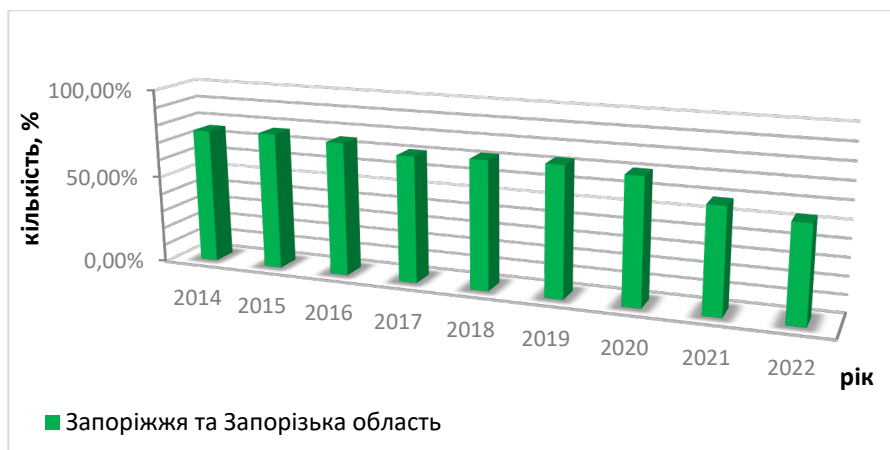


Рисунок 3.8 - Аналіз виживаності менше 1 року при РПЗ в Запоріжжі і запорізькій області (2014-2022 рр.).

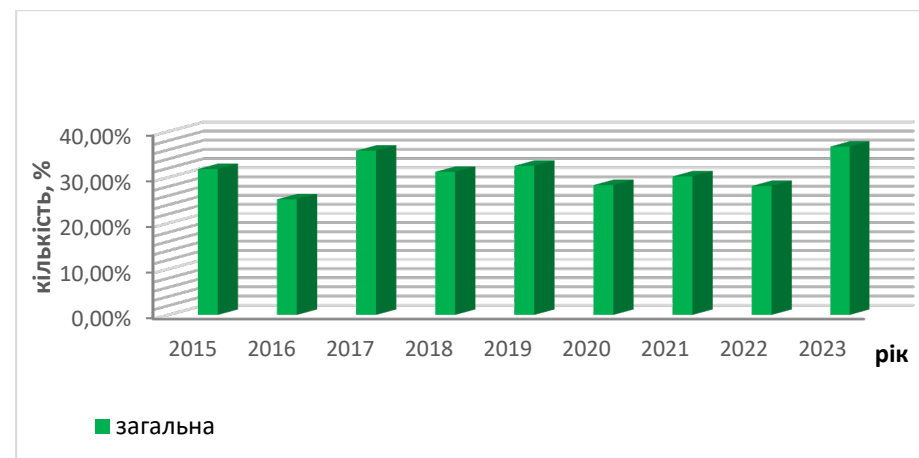


Рисунок 3.10 - Аналіз морфологічно підтверджених випадків РПЗ у Запоріжжі та Запорізькій області (2015-2023 рр.).



3616367239352456

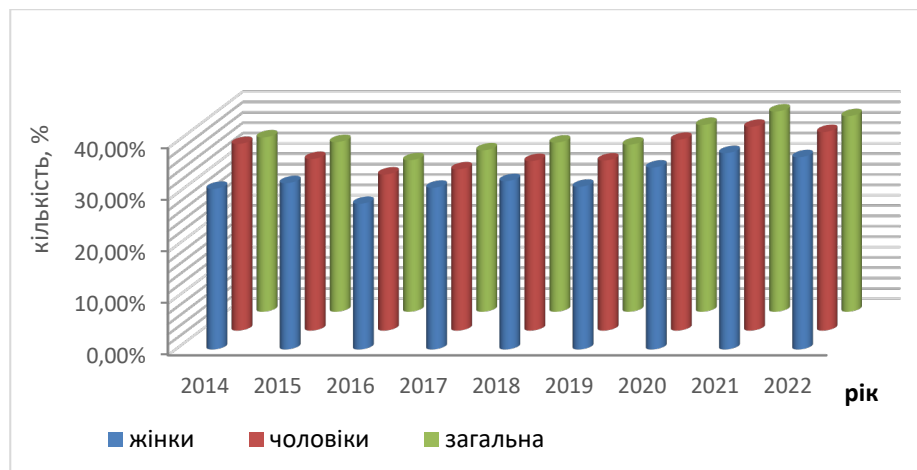


Рисунок 3.11 - Аналіз гістологічно підтверджених випадків РПЗ в Україні (2014-2022 рр.).

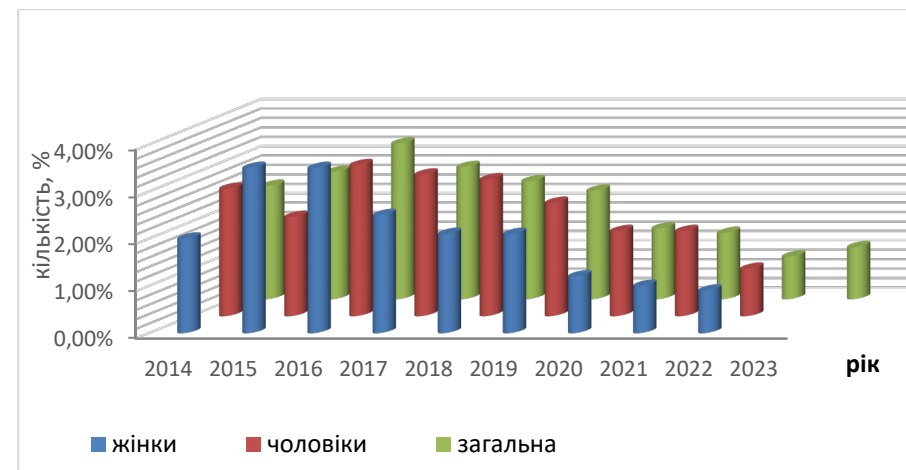


Рисунок 3.13 - Аналіз ефективності профілактичних оглядів в Україні (2014-2023 рр.).

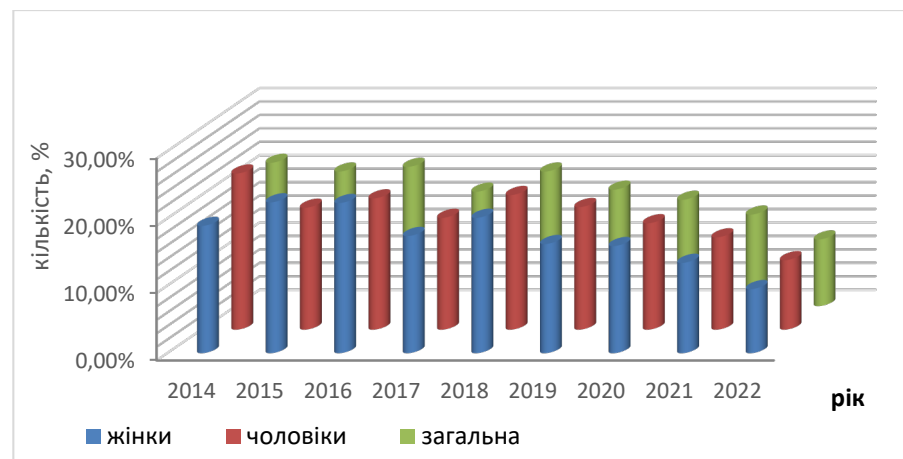


Рисунок 3.12 - Аналіз не визначених морфологічних типів верифікованих випадків РПЗ в Україні (2014-2022 рр.).

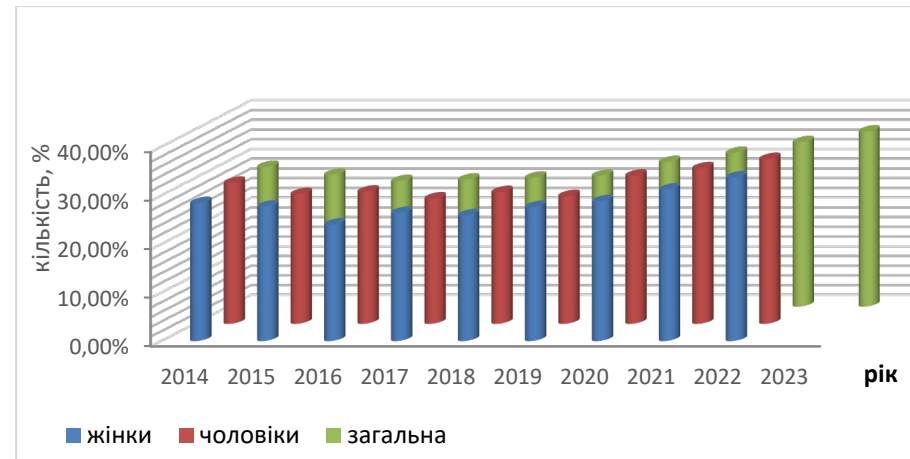


Рисунок 3.14 - Аналіз охоплення спеціальним лікуванням первинних хворих на РПЗ в Україні (2014-2023 рр.).



Гістологічна верифікація РПЗ в Україні знаходиться в межах 29,30%-38,70% з несуттєвою позитивною динамікою впродовж аналізуємого періоду 2014-2022 рр (рис. 3.11).

Даних про гістологічно підтверджені випадки РПЗ в Запоріжжі і області в Національному канцер-реєстрі відсутні.

Дані канцер-реєстру демонструють зменшення кількості випадків не визначених морфологічних типів верифікованого РПЗ в Україні з 21,30% у 2014 р. до 16,50% в 2022 р. (рис. 3.12) По Запоріжжю і області дані відсутні.

Ефективність профілактичних оглядів в діагностиці РПЗ в Україні і Запорізькому регіоні за даними канцер-реєстру складає від 0,90% до 3,30% (рис. 3.13).

За аналізуємий період (2014-2022 рр.) не спостерігається збільшення числа первинних пацієнтів, охоплених спеціальним лікуванням. По Україні цей показник не перевищує 31,90% (рис. 3.14).

Регіональний показник нижчий і коливається в межах 17,90%-28,20%.

Опубліковані роботи за темою розділу [14,15,17]



РОЗДІЛ 4

МІКРОСКОПІЧНІ, ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРОТОКОВОЇ АДЕНОКАРЦИНОМИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ

В групі дослідження чоловіків із ПАПЗ було 76 (54,88%), жінок – 63 (45,32%). Коефіцієнт співвідношення чоловіки / жінки - 1,2, тобто чоловіки в 1,2 рази хворіють на ПАПЗ частіше за жінок. Розподіл жінок і чоловіків по вікових групах був співставний.

Розподіл пацієнтів із ПАПЗ за віком і статтю представлений в табл.4.1.

Таблиця 4.1 - Характеристика пацієнтів із ПАПЗ за віком і статтю

Вікові групи Стать	<40 р.	41-50	51-60	61-70	71-80	>80 р.	Разом
Жінки	-	7 11,11%	16 25,39%	28 44,44%	12 19,05%	-	63 45,32%
Чоловіки	5 6,58%	6 7,89%	19 25,00%	33 43,42%	12 15,79%	1 1,32%	76 54,88%
Всього	5 3,59%	13 9,35%	37 26,62%	59 42,45%	24 17,27%	1 0,72%	139

Як видно із таблиці, пік захворюваності у обох статей припадає на вік від 61 до 70 років (44,44% випадків у жінок, 42,45% - у чоловіків).

ПАПЗ діагностується при розмірах пухлини >3 см в 1,73 р. частіше, ніж при розмірах ≤3 см (табл. 4.2).

При цьому пухлини ≤3 см майже з однаковою частотою відзначаються у чоловіків (17,98%) і жінок (18,71%). Пухлини більших розмірів частіше зустрічаються у чоловіків (36,69% проти 26,62% у жінок). Але аналіз розмірів пухлин у вікових групах виявив у чоловіків до 40 років відносний показник пухлин ≤3 см майже втричі вищий (12,00% проти 3,92% пухлин >3 см). В другій віковій групі виявлені тільки пухлини >3 см, після 80 років – тільки пухлини ≤3 см. У віці від 50 до 80 років кількість чоловіків з пухлинами ≤3 см і >3 см були співставні.



3616367231352456

Серед жінок у віці 41-50 років кількість випадків пухлин ≤ 3 см у відносних величинах майже вдвічі більша (15,38%), ніж кількість пухлин > 3 см (8,11%). У віковій групі 71-80 років це співвідношення сягає 3 (≤ 3 см - 30,76%, > 3 см – 10,81%). У віковий період 51-70 років переважають випадки пухлин > 3 см, ця різниця більш виражена у віці 51-60 р. (≤ 3 см - 15,38%, > 3 см - 32,43%) в порівнянні з віком 61-70 р. (≤ 3 см - 38,46%, > 3 см - 48,65%).

Таблиця 4.2 - Порівняльна характеристика пацієнтів із ПАПЗ в клінічних групах за віком і статтю

Вікові групи Стать Розмір пухлини		<40 р.	41-50	51-60	61-70	71-80	>80 р.	Разом
Жінки	≤ 3 см		4 15,38%	4 15,38%	10 38,46%	8 30,76%		26 41,27%
	> 3 см		3 8,11%	12 32,43%	18 48,65%	4 10,81%		37 58,73%
Чоловіки	≤ 3 см	3 12,00%	-	7 28,00%	11 44,00%	3 12,00%	1 4,00%	25 32,89%
	> 3 см	2 3,92%	6 11,76%	12 23,53%	22 43,14%	9 17,65%		51 67,11%
Разом	≤ 3 см	3 5,88%	4 7,84%	11 21,57%	21 41,18%	11 21,57%	1 1,96%	51 36,69%
Разом	> 3 см	2 2,27%	9 10,23%	24 27,27%	40 45,45%	13 14,77%		88 63,31%

Таблиця 4.3 - Порівняльна характеристика клінічних груп за ступенем диференціювання ПАПЗ (G)

Вікові групи Ступінь диференціювання			<40 р.	41-50	51-60	61-70	71-80	>80 р.	Разом
Жінки	≤ 3 см	G ₂		3	3	8	5		19 (73,08%)
		G ₃		1	1	2	3		7 (26,92%)
	> 3 см	G ₂		1+ G ₁	4	7	2		15 (40,54%)
		G ₃		1	8	11	2		22 (59,46%)
Чоловіки	≤ 3 см	G ₂	1		5	8	2		16 (64,00%)
		G ₃	2		2	3	1	1 G ₄	9 (36,00%)
	> 3 см	G ₂	1	1	5	9	4		20 (39,22%)
		G ₃	1	5	7	11 G ₄₋₂	5		31 (60,78%)



За результатами аналізу ступеню диференціювання пухлин (табл. 4.3) в I клінічній групі G_2 – 68,63%, G_3 – 31,37%, серед жінок пухлини G_2 діагностовані в 2,71 рази частіше (73,08%), ніж G_3 (26,92%), серед чоловіків G_2 діагностувався в 1,77 рази частіше (64,00%), ніж G_3 (36,00%).

В II клінічній групі G_2 – 39,22%, G_3 – 60,78%, серед жінок і чоловіків частота G_3 майже однаково перевищує G_2 (в 1,47 і 1,55 рази відповідно).

За локалізацією ПАПЗ найчастіше уражає голівку – 109 випадків - 78,42%, тіло – 12 випадків – 8,63%, мультифокальне ураження (тіло-хвіст) і ураження хвоста залози склало по 9 випадків - 6,47%, у двох випадках процес локалізувався в перешийку – 1,44% (табл.4.4).

Таблиця 4.4 - Порівняльна характеристика локалізації пухлин ПАПЗ

Локалізація ступінь диференціювання, розмір пухлини	Голівка	Тіло	тіло-хвіст	Хвіст
G_2	65 92,86%	3 30,00%	3 33,33%	2 2,22%
G_3	44 40,74%	9 70,00%	4 66,66%+2 перешийок	7 77,77%
≤ 3 см	47 43,12%	2 30,00%	2	
> 3 см	62 56,88%	10 70,00%	5+2-перешийок	9
Чоловіки	61 80,00%	3 3,95%	4+2 7,89%	6 7,89%
Жінки	48 76,19%	9 14,29%	3 4,76%	3 4,76%
Разом	109 78,42%	12 8,63%	7-5,03%+2- 1,44%	9 6,47%

При цьому у чоловіків і жінок в голівці процес виявлявся майже з однаковою частотою, тоді як інші локалізації вдвічі частіше були характерні для чоловіків. В голівці залози пухлини ≤ 3 см виявлялись на 13,76% частіше (56,88%), ніж пухлини > 3 см (43,12%). В тілі залози пухлини > 3 см переважали більше, ніж в 2 рази – 70,00%, пухлини ≤ 3 см склали всього 30%. Мультифокальні ураження, пухлини у хвості залози діагностувались тільки при розмірах > 3 см.



Привертає увагу аналогічна залежність від локалізації процесу і ступінь диференціювання. В голівці переважають пухлини G₂ - 65-(59,63%), кількість пухлин G₃ склала - 44-(40,74%). При інших локалізаціях пухлини G₃ діагностувалися в 2-3 рази частіше, ніж пухлини G₂ ступеню диференціювання. В тілі пухлини G₂ склали 3-30,00%, G₃ – 9-70,00%, мультифокальні пухлини G₂ склали 3-33,33%, G₃ – 6-66,66%, в хвості G₂ ступінь виявлений в 2 випадках – 22,22%, G₃ – в 7 випадках – 77,77%. Пухлини перешийка відрізнялися недиференційованим ступенем G₄.

Метастази виявлені у 44,60% випадків (табл. 4.5).

Таблиця 4.5 - Порівняльна характеристика метастазування ПАПЗ в досліджуваних групах

Локалізація метастазування Розмір пухлини, ступінь диференціювання,	Печінка	Дванадцять типала кишка	Лімфовуз ли	Периневр альна інвазія	інвазія	Інші локалізації
≤3 см	3 8,11%	2 5,41%	2(4) 5,41%	4 10,82%	1 2,70%	
>3 см	10 12,50%	12 15,00%	18(19) 22,50%	4 5,00%		3
G ₂	2(5) 4,26%	7(9) 14,89%	9(15) 19,15%	2(3) 4,26%		1
G ₃	3(8) 6,98%	4(5) 9,30%	5(8) 11,63%	2(5) 4,65%	1 2,70%	2
Чоловіки-69,35%	9	9	16	5	1	3
Жінки-30,65%	4	5	7	3		
Разом	13	14	23	8	1	3

На долю чоловіків випадків метастазування припадає більш, ніж у 2 рази частіше (69,35%), ніж у жінок (30,65%). Взагалі у чоловіків на стадії метастазування захворювання виявлялось у 56,58%, у жінок – 30,16%. Однак, незалежно від статі, з однаковою пропорційністю частіше метастазування відзначалось у лімфатичні вузли, рідше і з однаковою частотою метастази спостерігались у печінку і дванадцятипалу кишку, рідше виявлялись



периневральна інвазія. У чоловіків було виявлено поширення процесу і воротну і селезінкову вени, сальник.

Виявлення процесу на стадії метастазування відбувається при локалізації пухлини в тілі, хвості, перешийку і мультифокальному ураженні – 55,56% при локалізації в хвості, 57,14% - при локалізації процесу в тілі і мультифокальному ураженні. Всі випадки процесу в перешийку супроводжувались метастазуванням в сальник, воротну, селезінкову вени, дванадцятипалу кишку.

Найчастіше для ПАПЗ характерне ураження лімфовузлів (37,09%), майже з однаковою частотою характерне метастазування у дванадцятипалу кишку (23,33%) і печінку (20,97%), периневральна інвазія відзначена у 12,90%, поширення процесу у селезінкову, воротну вени і сальник виявлені у 4,84%.

Висока частота метастазування у лімфовузли пов'язана з локалізацією процесу в голівці (42,22%). Рідше для локалізації пухлини в голівці характерне метастазування у дванадцятипалу кишку (26,67%), метастазування в печінку і периневральна інвазія склали по 11,11%, інші локалізації були у 6,66%. При локалізації пухлини в тілі органу майже з однаковою частотою спостерігались різні локалізації метастазування. Ураження хвоста органу ускладнювалось тільки метастазуванням в печінку.

Розміри діагностованих пухлин варіювали від менше 2 см до 7 см (середній розмір пухлини складав 4,22 см). Макроскопічно операційний матеріал пухлини ПАПЗ мав вигляд вузла з нечіткими контурами, сіро-білого кольору, щільної, кам'янистої консистенції, у центрі відмічалися осередки крововиливів та некрозів. Макроскопічно трепанбіопсійний матеріал (малоінвазивна операція) пухлини ПАПЗ мав вигляд дрібних стовпчиків тканини (у кількості від 4 до 6), сіро-білого кольору, з дрібними осередками крововиливів.



4.1 Гістологічні, гістохімічні та морфометричні особливості гістоархітекτονіки протокової аденокарциноми підшлункової залози

За результатами гістологічного (забарвлення гематоксиліном та еозином) та гістохімічного (метод Массон-трихром) методів дослідження операційного та трепанбіопсійного матеріалу було встановлено неоднорідність мікроскопічної будови ПАПЗ. Гістоархітектоніка ПАПЗ складалася з двох головних компартментів: ракового залозисто-протокового та стромального. Залозисто-протоковий компартмент був представлений залозистоподібними або тубулярними та великими трабекулярними комплексами (рис.4.1), дрібними та великими пластами з ракових спотворених клітин різноманітної форми від округлої до грушоподібної, різним за розміром ядром та кількістю ядерців.

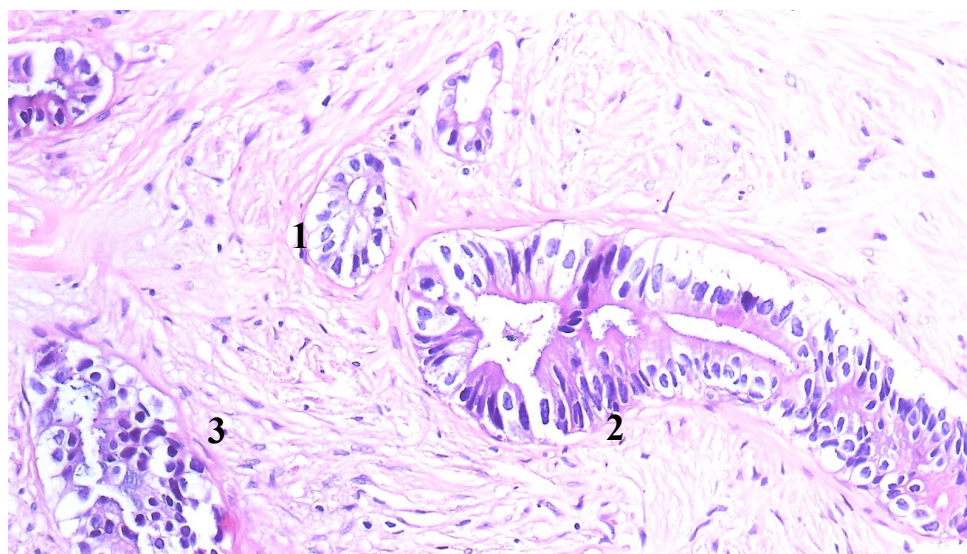


Рисунок 4.1 – Тубулярна (1), трабекулярна (2), крибозна (3) структура, замуровані у фібропластичну строму. Забарвлення: гематоксилін-еозин.

Зб.:x200.

Залозистоподібними або тубулярними структурами вважалися структури, що мали просвіт, висланий в один шар атиповими, раковозміненими клітинами кубічної або сплющеної форми.

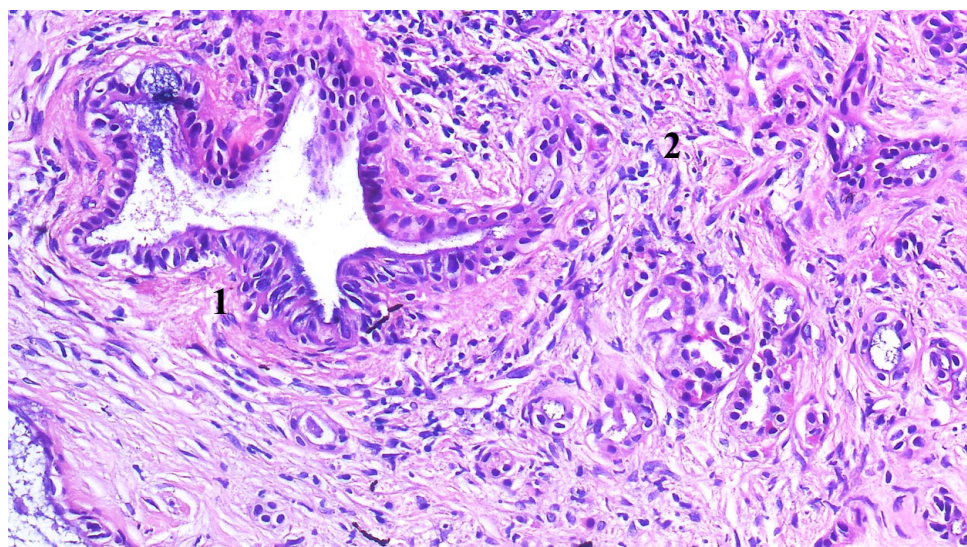


Рисунок 4.2 – Залозисто-протоковий компартмент (трабекула) (1), зона ЕМТ(2). Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.:х200.

Ядра в цих клітинах округлої форми або з вираженим поліморфізмом, з різноманітним співвідношенням ядра до цитоплазми. Також у клітинах була присутня невелика кількість слизу.

Трабекулярні структури – великі розгалужені структури різної форми, з просвітом, що був заповнений слизовим короком та злущеними клітинами, мають 2-3 ряди відносно мономорфних клітин середнього розміру, витягнутої форми та з дещо зміненим ядерно-цитоплазматичним співвідношенням (рис. 4.2). В таких клітинах спостерігалось нормохромне або гіперхромне ядро з декількома ядерцями та помірно виражена цитоплазма.

Серед залозисто-тубулярного / дуктулоподібного, стромального компартменту та в поширених осередках сполучної тканини визначалися зони ЕМТ. При мікроскопічному дослідженні зони ЕМТ були сформовані брунькованими та фрагментованими залозисто-тубулярними/дуктулоподібними структурами, «відшнурованими» епітеліальними атиповими раковими клітинами або їх солідними скупченнями, великими атиповими раковими клітинами з



поліморфнозміненими ядрами, а також атиповими фібробластоподібними клітинами з поліморфнозміненими гіперхромними ядрами (рис. 4.3-4.5).

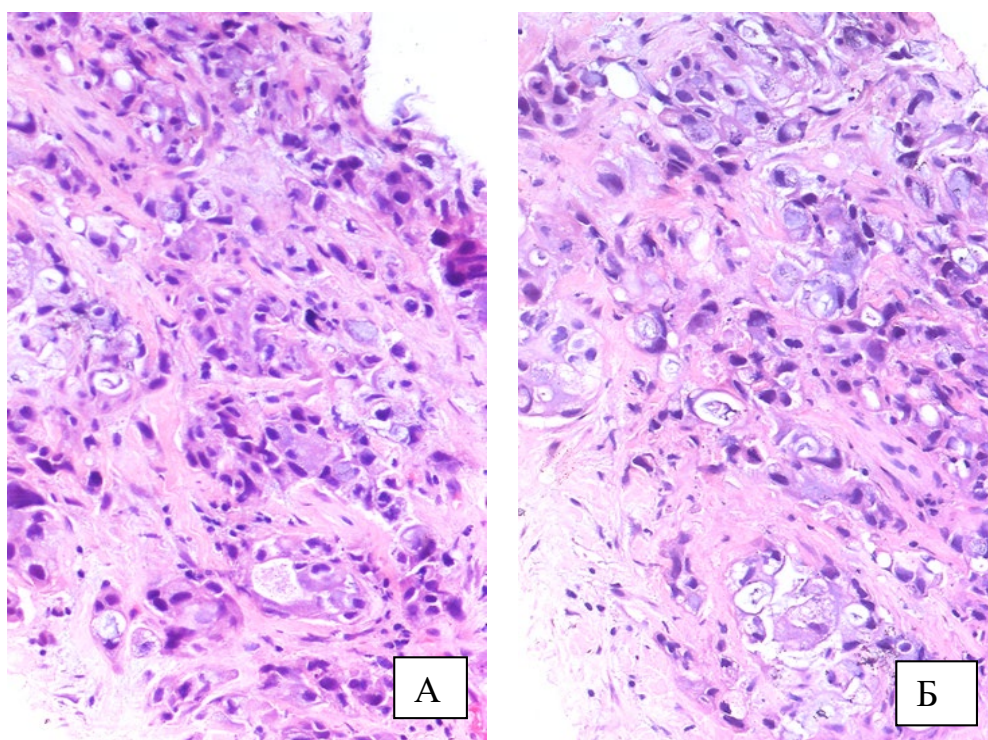


Рисунок 4.3 – А,Б Раково-спотворені клітини, «відшнуровані» клітини та їх скупчення в зоні ЕМТ. А,Б: забарвлення: гематоксилін та еозин.

Зб.:x400.

Криброзними структурами вважалися скупчення поліморфних ракових клітин різного розміру, округлої, овальної або овоїдної форми, які утворювали тубулоподібні або трабекулоподібні структури без чітко сформованого просвіту. Крім того, ядра клітин криброзних структур відрізнялися варіабельністю розмірів та локалізацією по центру або на периферії клітини. Окремо спостерігались пласти ракових клітин, що знаходилися у стані епітеліально-мезенхімального переходу, та ракові клітини дрібного та великого розміру, що формували солідні пласти. Для ракових клітин був відмічений значний поліморфізм ядер, ядерця дрібні, округлої форми, їх кількість варіювалась. У досліджуваному матеріалі спостерігались фігури мітозу від 1 до 14 фігур у 5 СПГЗ.



3616367231352456

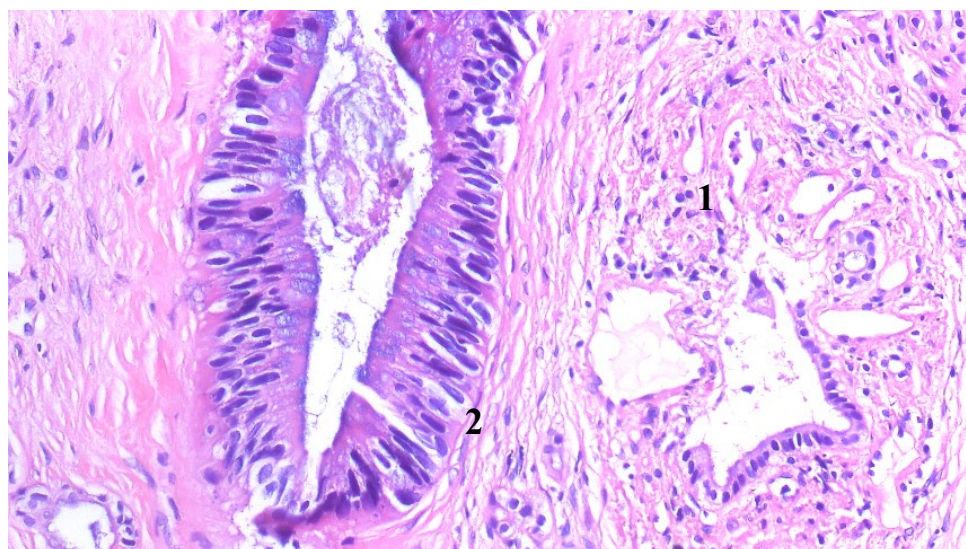


Рисунок 4.4 – Раково-спотворені клітини, «відшнуровані» клітини та їх скупчення в зоні ЕМТ (1) навколо трабекули (2). Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.:х400.

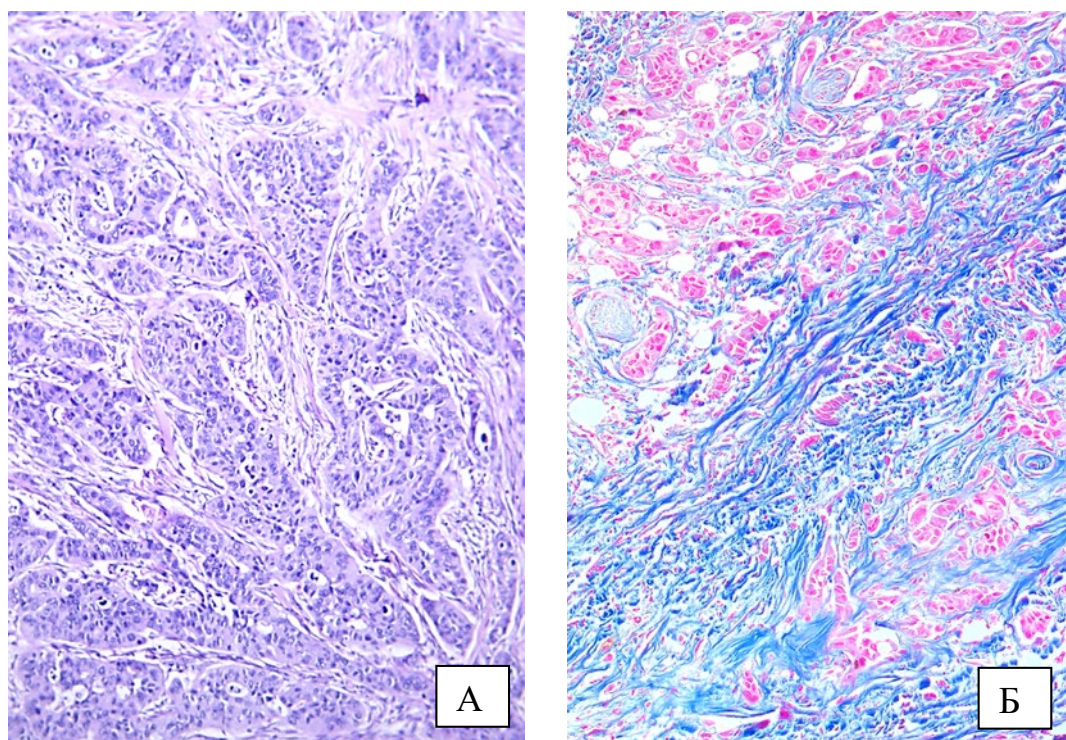


Рисунок 4.5 – А,Б раковоспотворені тубулярні, трабекулярні та криброзні структури утворювали залозисто-протокові комплекси в зоні ЕМТ.
А: забарвлення: гематоксилін та еозин Б: забарвлення за методом Массон-трихром. Зб.:х200.



Усі паренхіматозні структури були замуrowані у щільний мезенхімальний компартмент (рис.4.6).

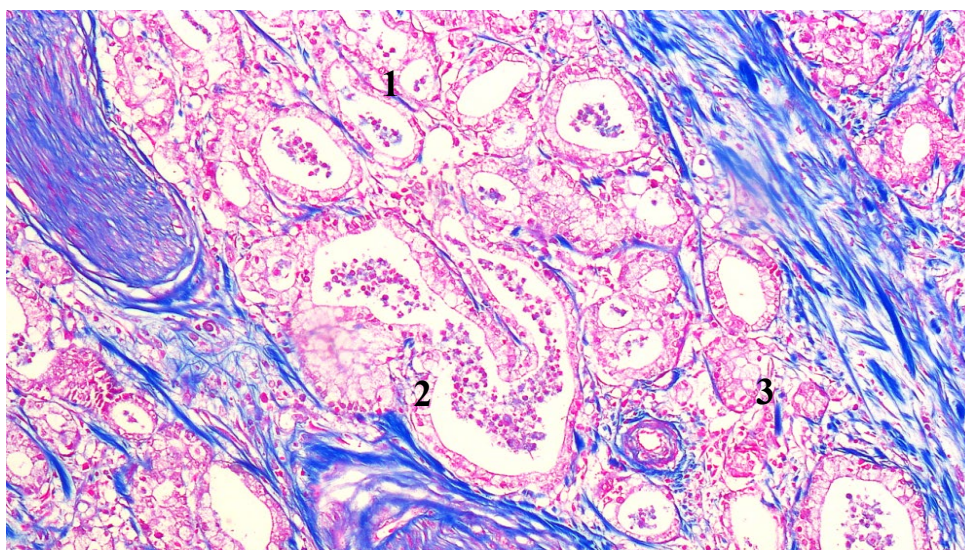


Рисунок 4.6 – Раковоспотворені тубулярні (1), трабекулярні (2) та криброзні (3) структури утворювали залозисто-протокові комплекси зони ЕМТ замуrowані у фібропластичну строму. Забарвлення за методом Массон-трихром. Зб.:x200

Стромальний компартмент представляв собою фіброзну/фібропластичну строму різного ступеню вираженості в залежності від розміру пухлини та її диференціювання (рис.4.7.).

В ній спостерігались фібробластоподібні клітини веретеноподібної форми, панкреатичні зірчасті клітини у стані спокою та активності, та дрібні мікросудинні сітки. Головним компонентом фіброзної стромы ПАПЗ є колагенові волокна та складні сполуки екстрацелюлярного матриксу.

Спостерігався ефект ретракції - артефакт у вигляді «проміжку» або «щілини» між фіброзною стромою пухлини та паренхіматозними структурами. Визначалися вогнища некрозу та запальної клітинної інфільтрації. Запальна лімфогістіоцитарна інфільтрація була представлена лейкоцитами, лімфоцитами, гістіоцитами. Ступінь вираженості запальної



3616367231352456

інфільтрації клітинами оцінювали, як низький (1 бал), помірний (2 бали) та високий ступінь (3 бали).

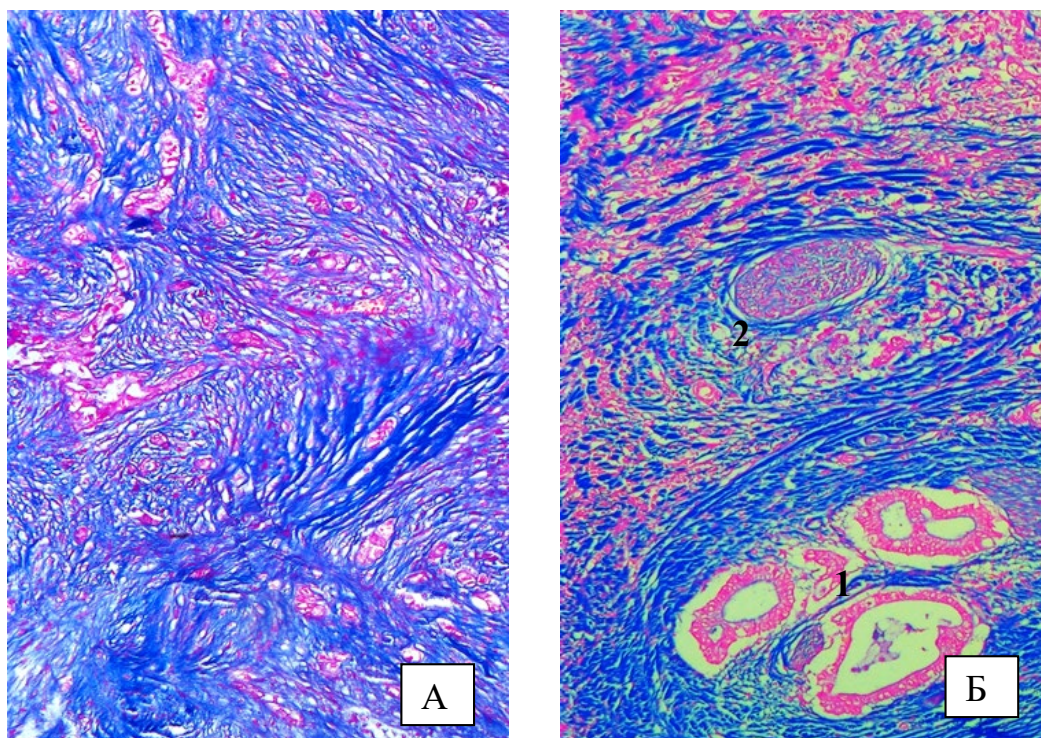


Рисунок 4.7 – А. Щільна фібропластична строма, Б. раковосптворені тубулярні, трабекулярні структури залозисто-протокового компартменту (1) замуrowані у щільну фібропластичну строму, зона ЕМТ (2). А, Б: забарвлення за методом Массон-трихром. Зб.:x200.

Загальна відносна площа тубулярних та трабекулярних структур склала $Me=41,77\%$ (23,94; 66,89), $S_{min} - 15,76\%$, $S_{max} - 89,81\%$. При цьому відносна площа тубулярних структур та комплексів перевищувала показник відносної площі трабекулярних структур майже в 3 рази (відповідно: $Me=27,01\%$, $S_{min} - 6,00\%$; $S_{max} - 37,00\%$; $Me=8,94\%$ (6,00; 13,01) ($p<0,05$), $S_{min} - 1,00\%$, $S_{max} - 21,00\%$, $p < 0,05$) (табл.4.5.)

Встановлено при ПАПЗ помірний ступінь розвитку мезенхімального компоненту: відносна площа фібропластичної строми $Me=64,47\%$ (56,00; 77,26) ($p<0,05$), $S_{min} - 12,38\%$, $S_{max} - 89,00\%$.



Таблиця 4.5 - Показники відносної площі ракового залозисто-протокового та стромального компартменту в ПАПЗ

Компонент Me (Q1;Q3)	Тубулярні структури	Трабекулярні структури	Фібозна строма
Основна група	27,01% (6,00%; 37,00%)	8,94% (6,00%;13,01%)	64,47% (56,00%; 77,26%)
Контрольна група	84,92% (72,81; 92,13)	—	15,02% (6,69; 26,17)
Значення p	p<0,05		p<0,05

Примітка. статистично достовірна різниця $p<0,05$

В мікропрепаратах ПАПЗ з недиференційованим (G₄) ступенем диференціювання, що не увійшли у дослідження, було встановлено найбільший розвиток фіброзної строми – більше 90%. Залозисто-протоковий компартмент в даній групі був мінімальний та представляв собою ракові спотворені криброзні структури та великі ракові спотворені клітини.

Встановлений сильний зворотний зв'язок між тубулярним та трабекулярним компонентами залозисто-протокового компартменту (коефіцієнт Пірсона $r=-0,83$, $p<0,05$), між тубулярним компонентом та фіброзною стромою - прямий слабкий зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r=0,03$, $p>0,05$), між трабекулярним компонентом та фіброзною стромою - слабкий зворотний зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r=-0,08$, $p>0,05$).

За критерієм Манна-Вітні (U Test) між тубулярними та трабекулярними структурами встановлено прямий зв'язок $z=5,16$, при $p<0,05$, між структурами залозисто-протокового та стромального компартменту - зворотний зв'язок: тубулярний компонент та фібропластична строма U Test - $z=-6,22$, при $p<0,05$, та трабекулярно-фібропластичне – $z=-10,39$, при $p<0,05$.



4.2 Імуногістохімічні та морфометричні особливості раково-залозистого компартменту протокової аденокарциноми підшлункової залози

Імуно-гістохімічні особливості ракового залозисто-протокового компартменту в пухлинах ПАПЗ характеризувалась достовірною втратою відносної площі експресії Е-кадгерину $Me=29,05\%$ (22,68; 38,09), при $p<0,05$ (табл. 4.6).

Таблиця 4.6 - Показники відносної площі експресії CK7, CK18, Е-кадгерину і β -катеніну в раковому залозисто-протоковому компартменті в пухлинах ПАПЗ

Маркер Me (Q1;Q3)	Е-кадгерин	β -катенін	CK7	CK18
Основна група	29,05% (22,68; 38,09)	5,59% (2,42; 7,16)	17,93% (10,23; 25,73)	12,87% (8,22; 28,23)
Контрольна група	57,96% (47,96; 67,21)	5,84% (4,16; 11,79)	24,61% (14,13; 32,31)	24,63% (18,87; 35,20)
Значення р	$p<0,05$	$p>0,05$	$p<0,05$	$p<0,05$

Примітк. статистично достовірна різниця $p<0,05$

Експресія епітеліального маркеру Е-кадгерину відмічалась в усіх структурах компартменту мембранного або мембрано-цитоплазматичного забарвлення з дифузним характером в тубулярних і трабекулярних структурах та з гранулярним в криброзних. Відмічались осередки зміни полярності експресії маркеру в тубулярних і більше в трабекулярних структурах від просвіту структури до її базальної мембрани. Також відмічалась зміна інтенсивності забарвлення клітин у клітино-клітинному та клітино-базальному зв'язку, що могло свідчити про втрату адгезії між ними та перехід з епітеліального фенотипу клітин до мезенхімального.

При паралельному ІГХ-дослідженні в залозисто-протоковому компартменті іншого епітеліального маркеру β -катеніну було встановлено також мембранне та мембрано-цитоплазматичне коричневе забарвлення



дифузного характеру в трабекулярних і тубулярних структурах та гранулярного в криброзних. Відмічались вогнища зміни інтенсивності забарвлення клітин. В осередках, де була помічена втрата Е-кадгерину, відмічали появу експресії β -катеніну, що свідчило саме про втрату адгезивних зв'язків, зміну полярності клітин. На відміну від Е-кадгерину, осередки зміни полярності експресії β -катеніну в тубулярних і більше в трабекулярних структурах відзначались у зворотному напрямку – від базальної мембрани у просвіт структури. Аналогічно експресії Е-кадгерину для β -катеніну також була характерна зміна інтенсивності забарвлення клітин у клітино-клітинному та клітино-базальному зв'язку, що також могло свідчити про втрату адгезії між ними та перехід з епітеліального фенотипу клітин до мезенхімального. Відносна площа експресії β -катеніну в раковому залозисто-протоковому компартменті дорівнювала $Me=5,59\%$ (2,42; 7,16) і була достовірно нижчою показника Е-кадгерину (при $p<0,05$).

Кореляційний аналіз встановив статистично недостовірний слабкий зворотній зв'язок між експресіями Е-кадгерину та β -катеніну в залозисто-протоковому компартменті - коефіцієнт Пірсона $r=-0,09$, при $p>0,05$, за критерієм Манна-Вітні (U Test) - статистично достовірний зв'язок $z=10,55$, при $p<0,05$.

Для дослідження цитоскелетного каркасу епітеліальних клітин в ПАПЗ були використані цитокератини 7 та 18. В першу чергу втрата маркерів цитоскелету і зниження інтенсивності забарвлення відмічалась в ацинарній тканині ПЗ, а вже потім в тубулярних, трабекулярних структурах, де експресія мала вигляд дифузного коричневого забарвлення мембран, а також траплялися вогнища клітин із мембрано-цитоплазматичним забарвленням. В криброзних структурах експресія обох маркерів була найнижчою і мала гранулярний мембранний, низької інтенсивності характер забарвлення, також спостерігались вогнища повної втрати СК18. Зниження відносної площі СК18-позитивних клітин ($Me=12,87\%$ (8,22; 28,23), $S_{min} - 1,09\%$, $S_{max} - 49,02\%$)



достовірно переважало зниження відносної площі експресії СК7 ($Me=17,93\%$ (10,23; 25,73), $S_{min} - 1,82\%$, $S_{max} - 41,37\%$) при $p<0,05$.

Встановлений прямий дуже слабкий зв'язок (критерій Пірсона $r=0,05$, при $p>0,05$) між показниками відносних площин експресій СК7 та СК18.

Встановлено зв'язок за критерієм Манна-Вітні між показниками експресій Е-кадгерину, β -катеніну, СК7 та 18. Статистично достовірний зв'язок виявлено Е-кадгерин-цитокератин 7 ($z=6,52$) та Е-кадгерин-цитокератин 18 ($z=6,93$), при $p<0,05$. Статистично достовірне співвідношення виявлено й між показниками експресії маркерами цитоскелету та β -катеніном. U Test СК7- β -катенін $z=6,82$ ($p<0,05$), СК18- β -катенін $z=6,66$ ($p<0,05$). Статистично недостовірний зв'язок встановлено між показниками СК7 та СК18 - U Test $z=0,28$, при $p>0,05$.

4.3 Імуногістохімічні та морфометричні особливості епітеліально-мезенхімальної трансформації протокової аденокарциноми підшлункової залози

Таблиця 4.7 – Показники відносної площі експресії СК7, СК18, Е-кадгерину і β -катеніну в зоні ЕМТ ПАПЗ

Маркер Me (Q1;Q3)	Е-кадгерин	β -катенін	СК7	СК18
Основна група ЕМТ залоз/прот компл	9,26% (6,61; 12,82)	17,68% (11,61; 27,75)	6,89% (5,54; 13,79)	8,63% (3,89; 13,80)
Основна група ЕМТ клітини і скупчення	12,23% (7,96; 17,15)	11,56% (5,15; 18,75)	8,06% (4,09; 10,62)	2,85% (0,22; 5,69)
Контрольна група	57,96% (47,96; 67,21)	5,84% (4,16; 11,79)	24,61% (14,13; 32,31)	24,63% (18,87; 35,20)
Значення р	$p<0,05$	$p<0,05$	$p<0,05$	$p<0,05$

Примітка. достовірність між Основною групою ЕМТ залоз/прот комп, основною групою ЕМТ клітин і скупчень та групою контролю ($p<0,05$)

При дослідженні зон ЕМТ були використані епітеліальні маркери Е-кадгерин, β -катенін, цитокератин 7 та 18 в ракових спотворених залозисто-



протокових структурах, мезенхімальні маркери – гладком’язовий актин та віментин – в спотворених ракових клітинах різного розміру та форми, що утворювали великі ракові пласти.

Експресія Е-кадгерину в залозисто-протоковому комплексі зон ЕМТ мала виключно мембрано-цитоплазматичне забарвлення дифузного характеру і гранулярного в криброзних структурах. Відносна площа маркеру в загальній групі склала $Me=9,26\%$ (6,61; 12,82), при $p<0,05$ (табл. 4.7).

Спостерігалась тенденція до зниження експресії маркеру та зниження інтенсивності забарвлення від тубулярних, трабекулярних до криброзних структур.

Експресія Е-кадгерину в ракових спотворених клітинах та в пластах, що сформовані ними, мала виключно мембрано-цитоплазматичне забарвлення гранулярного або дифузного характеру. Відносна площа імунно-позитивних клітин в загальній групі склала $Me=12,23\%$ (7,96; 17,15), при $p<0,05$.

На відміну від Е-кадгерину, відносна площа експресії β -катеніну в зонах ЕМТ зростала. Імунно-позитивне забарвлення також було дифузне мембрано-цитоплазматичне в залозисто-протоковому компоненті, показник відносної площі β -катенінпозитивних клітин дорівнював $Me=17,68\%$ (11,61; 27,75). В ракових спотворених клітинах та в пластах, що сформовані ними, мала виключно мембрано-цитоплазматичне забарвлення гранулярного або дифузного характеру, відносна площа в загальній групі склала $Me=11,56\%$ (5,15; 18,75), при $p<0,05$.

Кореляційний аналіз Пірсона виявив зворотний слабкий зв’язок між експресіями Е-кадгерину та β -катеніну в зонах ЕМТ $r=-0,06$, при $p>0,05$.

Паралельне дослідження СК7 та СК18 в залозисто-протоковому комплексі зон ЕМТ демонструвало імунопозитивні клітини з мембрано-цитоплазматичним та мембранним забарвленням дифузного та частково гранулярним забарвленням в криброзних структурах, при цьому інтенсивність експресії СК18 була менш вираженою. Відносна площа експресії СК7 $Me=6,89\%$ (5,54; 13,79). СК18 - $Me=8,63\%$ (3,89; 13,80).



ІГХ-дослідження в зонах ЕМТ «відшнурованих» клітин та пластів, що були ними сформовані, із використанням СК7 та 18. СК7 позитивні клітини зон ЕМТ мали слабе мембранне гранулярне забарвлення. Відносна площа експресії СК7 $Me=8,06\%$ (4,09; 10,62), СК18 – $Me=2,85$ (0,22; 5,69). При цьому спостерігались осередки «відшнурованих» клітин або їх дрібних пластів, які мали повну втрату експресії СК7 та СК18.

За порівняльним критерієм Манна-Вітні виявлено статистично достовірну різницю в експресіях епітеліальних маркерів в зоні трансформації при ПАПЗ (U Test $z=-5,46$, при $p<0,05$).

Встановлено, що ракові спотворені клітини, що локалізувалися поодинокі навколо тубулярних, трабекулярних та криброзних структур, або формували ракові пласти або самі криброзні структури, давали позитивну реакцію на α -SMA та віментин виключно дифузного коричневого мембрано-цитоплазматичного забарвлення. Загальний показник відносної площі α -SMA позитивних клітин склав $Me=17,65\%$ (13,54; 22,84), $S_{min}=5,70\%$, $S_{max}=29,68\%$, Vim-позитивних клітин - $Me=18,76\%$ (11,06; 23,37), $S_{min}=3,59\%$, $S_{max}=28,37\%$ (табл.4.8).

Таблиця 4.8 – Показники відносної площі експресії віментину та гладко-м'язового актину в зоні ЕМТ ПАПЗ

Маркер Me (Q1;Q3)	Віментин	Гладко-м'язовий актин	Значення p
Основна група ЕМТ залоз/прот комп	18,76% (11,06; 23,37)	17,65% (13,54; 22,84)	$p>0,05$
Контрольна група	12,43% (6,69; 26,17)	19,71% (11,87; 23,60)	$p<0,05$
Значення p	$p<0,05$	$p<0,05$	

Примітка. статистично достовірна різниця $p<0,05$

Кореляційний аналіз Пірсона між показниками відносних площин експресії α -SMA та віментину виявив статистично достовірний прямий помірний зв'язок $r=0,53$, при $p<0,05$; статистично недостовірний зворотний слабкий зв'язок між Е-кадгерином та α -SMA - $r=-0,13$, при $p>0,05$; статистично



недостовірний зворотний слабкий зв'язок між Е-кадгерином та віментин - $r=-0,10$, при $p>0,05$; β -катенін та α -SMA - статистично недостовірний прямий слабкий зв'язок $r=0,19$, при $p>0,05$; β -катенін та віментин - статистично недостовірний прямий дуже слабкий зв'язок $r=0,08$, при $p>0,05$.

За критерієм Манна-Вітні (U Test) було виявлено статистично недостовірну різницю між мезенхімальними маркерами в зоні ЕМТ ($z=0,36$, при $p>0,05$). Встановлена статистично достовірна різниця між епітеліальним маркером Е-кадгерином та мезенхімальними маркерами: з α -SMA - $z=4,06$ ($p<0,05$), з віментином - $z=3,64$ ($p<0,05$). Між β -катеніном та мезенхімальними маркерами відмічено, навпаки, статично недостовірну різницю: з α -SMA - $z=0,79$ ($p>0,05$), з віментином - $z=1,23$ ($p>0,05$).

4.4 Імуногістохімічні та морфометричні особливості стромального компартменту протокової аденокарциноми підшлункової залози

ПАПЗ, на відміну від інших видів раку, відрізняється рясно розвиненою фібропластичною строю, яка має щільну, кам'янисту структуру та превалує над паренхіматозним компонентом. До складу фібропластичної строми входять активовані ПЗК, які підтримують запальну реакцію, білки екстрацелюлярного матриксу, волокна колагену, туморасоційовані фібробласти та веретеноподібні клітини. Усі перелічені клітини формують щільний фіброзний каркас, який замурує структури залозисто-протокового компартменту ПАПЗ. Для ІГХ-дослідження використовували гладком'язовий актин та віментин.

Експресія α -SMA і віментину в клітинах строми мала в 100% випадків дифузне мембрано-цитоплазматичне забарвлення ($Me=35,46\%$ (32,23; 42,83), $S_{min}=27,01\%$, $S_{max}=62,21\%$; $Me=36,58\%$ (33,83; 41,77), $S_{min}=28,45\%$, $S_{max}=62,21\%$ відповідно) (табл.4.9).



Таблиця 4.9 – Показники відносної площі експресії віментину та гладко-м'язового актину в стромальному компартменті ПАПЗ

Маркер Me (Q1;Q3)	Віментин	Гладко-м'язовий актин	Значення р
Основна група	36,58% (33,83; 41,77)	35,46% (32,23; 42,83)	$p>0,05$
Контрольна група	12,43% (6,69; 26,17)	19,71% (11,87; 23,60)	$p<0,05$
Значення р	$p<0,05$	$p<0,05$	

Примітка. статистично достовірна різниця $p<0,05$

Встановлений статистично достовірний прямий помірний зв'язок між експресіями α -SMA та віментином в клітинах строми (коефіцієнт Пірсона $r=0,46$, $p<0,05$), прямий помірний зв'язок в експресії α -SMA в зоні EMT та строми (коефіцієнт Пірсона $r=0,33$, $p<0,05$), прямий помірний зв'язок віментину в зоні EMT та строми (коефіцієнт Пірсона $r=0,65$, $p<0,05$). Між експресіями епітеліальних маркерів в раковому залозисто-протоковому компартменті та експресії мезенхімальних маркерів в стромальному компартменті встановлено статистично недостовірний зв'язок. Статистично достовірний зв'язок був встановлений між β -катеніном та мезенхімальними маркерами α -SMA, віментином (коефіцієнт Пірсона $r=0,39$ та $r=0,47$), відповідно, $p<0,05$).

Таблиця 4.10 – Показники кореляційного аналізу маркерів в ПАПЗ за критерієм Манна-Вітні

	α SMA строма/ Vim, строма	Е- кадгерин протоки/ α -SMA, строма	Е- кадгерин протоки/ Vim, строма	β -катенін протоки/ α -SMA, строма	β -катенін протоки/ Vim, строма	α SMA EMT/ α -SMA, строма	Vim EMT/ Vim, строма
U Test (z)	0,22	2,88	3,07	13,50*	13,46*	7,44*	7,74*

Примітка. * - статистично достовірна відмінність експресії між маркерами ($p<0,05$).

За методом Манна-Вітні встановлено статистично недостовірну різницю між експресіями α -SMA та віментину в стромальному компартменті $z=-0,65$ ($p>0,05$); статистично недостовірну різницю між Е-кадгеріном в залозисто-



протоковому компартменті та мезенхімальними маркерами в стромальному компартменті (табл. 4.10); статистично достовірну різницю між епітеліальним маркером (β -катенін) та мезенхімальними маркерами та між самими мезенхімальними маркерами в зоні ЕМТ та стромальному компартменті

4.5 Імуногістохімічні та морфометричні особливості стовбурових клітин протокової аденокарциноми підшлункової залози

В ПАПЗ експресія стовбурового маркеру ЕрСАР спостерігалась в тубулярних, трабекулярних, криброзних структурах ракового залозисто-протокового компартменту та в аналогічних структурах зон ЕМТ і в ацинарній тканині. В усіх структурах відмічалось в 100% мембранне забарвлення маркеру гранулярного характеру і спостерігались вогнища збереженого дифузного забарвлення. Відносна площа експресії даного маркеру - $Me=27,62\%$ (22,77; 32,25), $S_{min}=7,88\%$, $S_{max}=40,54\%$, що достовірно перевищує показник в групі контролю, ($p<0,05$).

Експресія CD44, на відміну від ЕрСАР, спостерігалась не тільки в клітинах залозисто-протокового, але й в стромальному компартменті, а в зоні ЕМТ – в ракових спотворених клітинах. В усіх структурах спостерігалось дифузне та гранулярне мембранне або мембрано-цитоплазматичне забарвлення клітин. Загальний показник відносної площі експресії CD44 дорівнював – $Me=33,81\%$ (26,18; 39,47), $S_{min}=15,66\%$, $S_{max}=55,51\%$, що достовірно перевищує показник в групі контролю, ($p<0,05$).

Встановлено статистично достовірний зворотний помірний зв'язок між експресіями маркерів стовбурових клітин (коефіцієнт Пірсона $r=-0,34$, $p<0,05$) (табл.4.11.), статистично недостовірний зворотний слабкий зв'язок між експресією Е-кадгерину в залозисто-протоковому компартменті та ЕрСАР (коефіцієнт Пірсона – $r=-0,14$, $p>0,05$) та в комбінації Е-кадгерин (експресія в зоні ЕМТ) - ЕрСАР (коефіцієнт Пірсона $r=-0,03$, $p>0,05$).



3616367231352456

Таблиця 4.11 – Показники кореляції між епітеліальними маркерами та ЕрСМ в ПАПЗ за методом Пірсона

Маркер Коефіцієнт	ЕрСМ/ CD44	Е р С А М	Е р С А М	Е р С А М	Е р С А М	Е р С А М	Е р С А М
R	-0,34*	-0,14	-0,03	-0,57*	-0,12*	-0,31*	-0,60*

Примітка. * - статистично достовірна різниця ($p < 0,05$).

Статистично достовірний зворотний зв'язок виявлений у двох комбінаціях маркерів: β -катенін (експресія в залозисто-протоковому компартменті) - ЕрСМ (коефіцієнт Пірсона $r = -0,57$, $p < 0,05$) та β -катенін (експресія в зонах ЕМТ)-ЕрСМ (коефіцієнт Пірсона $r = -0,12$, $p < 0,05$). Також статистично достовірний зв'язок виявлений між маркерами цитоскелету та ЕрСМ: помірний зворотний зв'язок СК7-ЕрСМ – $r = -0,31$ ($p < 0,05$), зворотний сильний зв'язок СК18-ЕрСМ – $r = -0,60$ ($p < 0,05$).

Таблиця 4.12 - Показники кореляційного аналізу між мезенхімальними маркерами та ЕрСМ в ПАПЗ за методом Пірсона

Маркери коефіцієнт	Е α -SMA, ЕМТ С	Е α -SMA, стром С	Е Vim, ЕМТ С	Е Vim, строма С
R	-0,29*	0,11	-0,42*	-0,19

Примітка. * - статистично достовірна різниця ($p < 0,05$).

Встановлений статистично достовірний зворотний помірний зв'язок між мезенхімальними маркерами в зонах ЕМТ та маркером стовбурових клітин (ЕрСМ) (табл.4.12.): ЕрСМ- α -SMA коефіцієнт Пірсона $r = -0,29$ ($p < 0,05$); ЕрСМ - Vim - $r = -0,42$ ($p < 0,05$). При цьому між мезенхімальними маркерами, що мали експресію в стромальному компартменті, не встановлено статистично достовірного зв'язку з маркером стовбурових клітин.

Корелятивний зв'язок за Пірсоном між епітеліальними, мезенхімальними маркерами та маркером CD44 (табл. 4.13, табл. 4.14). Майже



в усіх групах порівняння між маркерами не було виявлено статистичної достовірності, окрім груп CD44-CK18 ($r=-0,56$, $p<0,05$) та CD44/Vim EMT ($r=-0,28$, $p<0,05$), відповідно. В обох випадках коефіцієнт Пірсона мав зворотний помірний зв'язок.

Таблиця 4.13 – Показники кореляційного аналізу між епітеліальними маркерами та CD44 в ПАПЗ за методом Пірсона

Маркери коефіцієнт	CD44/E- кадгерин, протоки	C D 4	C D 4	C D 4	C D 4	C D 4
R	-0,02	-0,19	-0,04	-0,18	-0,05	-0,56*

Примітка. * - статистично достовірна різниця ($p<0,05$).

Таблиця 4.14 – Показники кореляційного аналізу між мезенхімальними маркерами та CD44 в ПАПЗ за методом Пірсона

Маркери коефіцієнт	CD44/ α -SMA, EMT	CD44/ α SMA, строма	CD44/Vim, EMT	CD44/Vim, строма
R	-0,17	-0,01	-0,28*	-0,09

Примітка. * - статистично достовірна різниця ($p<0,05$).

Таблиця 4.15 – Показники кореляційного аналізу маркерів в ПАПЗ за критерієм Манна-Вітні між епітеліальними та стовбуровими маркерами

Маркери Маркери	CD44	E- кадгерин, протоки	E- кадгерин, EMT	β - катенін, протоки	β - катенін, EMT	CK7	CK18
EpCAM	-4,16*	1,54	7,28*	10,34*	3,85*	4,91*	5,15*
CD44	-	1,49	9,42*	12,69*	6,68*	7,68*	7,95*

Примітка. * - статистично достовірна різниця ($p<0,05$).

Встановлено статистично достовірну різницю за методикою Манна-Вітні $z=-4,16$ ($p<0,05$) між відносними площинами експресії маркерів стовбурових клітин, (табл.4.16).



Таблиця 4.16 – Показники кореляційного аналізу маркерів в ПАПЗ за критерієм Манна-Вітні між мезенхімальними та стовбуровими маркерами

Маркери \ Маркери	α -SMA, EMT	α SMA, строма	Vim, EMT	Vim, строма
EpCAM	4,42*	4,19*	4,62*	4,38*
CD44	6,89*	1,65	7,05*	1,89

Примітка. * - статистично достовірна різниця ($p < 0,05$).

Резюме

Досліджено параметри гістоархітекτονіки, епітеліально-мезенхімальної трансформації, строми та особливості експресії стовбурових клітин в пухлинах ПАПЗ менше 3 см.

В пухлинах ПАПЗ встановлений помірний ступінь розвитку фібропластичної строми – 64,47%, яка може сягати 89,00%, навіть більше 90% в пухлинах G₄ ступеню диференціювання, і достовірно перевищує площу залозисто-протокових структур (41,77%) в 1,54 рази, на 22,70%. При цьому відносна площа тубулярних структур і комплексів перевищує відносну площу трабекулярних структур і комплексів в 3,02 рази ($p < 0,05$).

Експресія досліджуваних онкобілків в основному мали дифузне коричневе мембрано-цитоплазматичне забарвлення.

Раково-залозистий компартмент характеризувався достовірною втратою епітеліального маркеру Е-кадгерину, появою аберантної експресії β -катеніну. Про втрату адгезивних зв'язків та перехід до мезенхімального фенотипу свідчили зміна інтенсивності забарвлення Е-кадгерин-позитивних клітин у клітино-клітинному та клітино-базальному зв'язку та поява β -катенін-позитивних клітин в осередках втрати Е-кадгерину.

Встановлена достовірна втрата цитокератинів 7,18. Втрата СК18 була в 1,39 рази вища.

В зоні EMT відносна площа Е-кадгерину в 3,14 рази була нижчою, ніж в раково-залозистому компартменті ($p < 0,05$), β -катеніну, навпаки, в 3,16 рази



вищою ($p < 0,05$). Також в зоні ЕМТ встановлено достовірне зростання мезенхімальних маркерів α -SMA та віментину. Стромальний компартмент відрізняється достовірним зростанням мезенхімальних маркерів в порівнянні із зоною ЕМТ. Показники відносної площі α -SMA в 2,01 та віментину 1,95 рази перевищують показники в зоні ЕМТ ($p < 0,05$).

Також при ПАПЗ встановлене достовірне зростання маркерів клітинної поверхні ЕрСАН та CD44, при цьому рівень експресії CD44 на 6,19% перевищує рівень експресії ЕрСАН.

Корелятивний аналіз виявив сильний зв'язок між тубулярними і трабекулярними компонентами раково-залозистого компартменту (коефіцієнт Пірсона $r = -0,83$, $p < 0,05$; коефіцієнт Манна-Вітні $z = +5,16$, $p < 0,05$). Між окремими компонентами паренхіматозного компартменту і фіброзною стромою встановлений достовірний зворотний зв'язок.

В раково-залозистому компартменті встановлений достовірний зв'язок між епітеліальними маркерами, між епітеліальними маркерами та цитокератинами за критерієм Манна-Вітні. Між цитокератинами корелятивний зв'язок недостовірний.

В зоні ЕМТ встановлений достовірний негативний коефіцієнт Манна-Вітні між епітеліальними маркерами. Між мезенхімальними маркерами в зоні ЕМТ встановлений достовірний прямий помірний зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r = +0,53$, $p < 0,05$). Також встановлений достовірний корелятивний зв'язок (критерій Манна-Вітні) між Е-кадгерином і обома мезенхімальними маркерами. На відміну від зони ЕМТ, в стромальному компартменті встановлений достовірний прямий помірний зв'язок між мезенхімальними маркерами (коефіцієнт Пірсона). Встановлений достовірний прямий помірний зв'язок (коефіцієнт Пірсона) між мезенхімальними маркерами в зоні ЕМТ і стромі.

Встановлений достовірний негативний критерій Манна-Вітні та коефіцієнт Пірсона між маркерами стовбурових клітин. Достовірний негативний корелятивний зв'язок встановлений між експресією ЕрСАН з β -



3616367231352456

катеніном в раково-залозистому компартменті і зоні ЕМТ, з цитокератинами 7,18 та з мезенхімальними маркерами в зоні ЕМТ. Коефіцієнт Пірсона був достовірно негативний між CD44 і віментином в зоні ЕМТ. Критерій Манна-Вітні був достовірним між усіма маркерами, окрім між експресією Е-кадгерину в протоках і маркерами стовбурових клітин, а також між CD44 і мезенхімальними маркерами в стромі.

Опубліковані роботи за темою розділу [14-16,18]



РОЗДІЛ 5

МІКРОСКОПІЧНІ, ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРОТОВОЇ АДЕНОКАРЦИНОМИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ В ПУХЛИНАХ МЕНШЕ ТА БІЛЬШЕ 3 см

5.1.1 Гістологічні, гістохімічні та морфометричні особливості гістоархітекtonіки протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах менше 3 см У зв'язку зі складністю ранньої діагностики ПАПЗ мінімальні розміри виявлених пухлин були до 2 см. Відповідно кількість пухлин менше 3 см склала всього 36,69% (51 випадок).

При гістологічному дослідженні залозисто-протоковий компартмент в пухлинах розміром до 3 см складався з залозистоподібних, дрібних трабекулярних та тубулярних комплексів, дуктулоподібних та дрібних груп пухлинних клітин, що мають мономорфну будову, був більш виражений на периферії, ніж в центрі пухлини, тобто стромальний компартмент превалює в центрі пухлини. Відносна площа стромального компартменту підшлункової залози в групі контролю склала $Me=15,02\%$ ($Q_1=6,69$; $Q_3=26,17$). Другий компартмент був представлений фіброзною строною з фібропластичною реакцією, включаючи фібробласти, міофібробласти, запальні клітини. Площа фіброзної строми склала 10-46%: $Me=28,73\%$ ($Q_1=15,88$; $Q_3=42,43$), мінімальний показник відносної площі 10,19%, максимальний – 46,03%.

Пухлини розміром менше 3 см із помірним (G_2) ступенем диференціювання характеризувалися наявністю залозисто-подібних компонентів та тубулярних і трабекулярних структур у залозисто-протоковому компартменті в 100% випадків. Спостерігалися дрібні та великі поодинокі ракові клітини. Показники відносної площі тубулярних структур $Me=72,05\%$ (65,79%; 76,97%), трабекулярні структури займали всього $Me=3,14\%$ (3,08%; 4,09%) (табл. 5.1) (рис. 5.1).



3616367231352456

Таблиця 5.1 – Показники відносної площі ракового залозисто-протокового та стромального компартменту в пухлинах ПАПЗ <3 см при G₂, G₃ ступенях диференціювання

Компонент Ступені диференціювання	Тубулярні структури	Трабекулярні структури	Фібозна строма
G ₂ (n=35)	72,05% (65,79%;76,97%)	3,14% (3,08%;4,09;)	24,92% (18,92%;30,76%)
G ₃ (n=16)	27,98% (25,21%;30,17%)	8,68% (7,62%;9,11;)	63,83% (61,82%;65,86%)
Значення р	p<0,05	p<0,05	p<0,05

Примітка. статистично достовірна різниця (p<0,05)

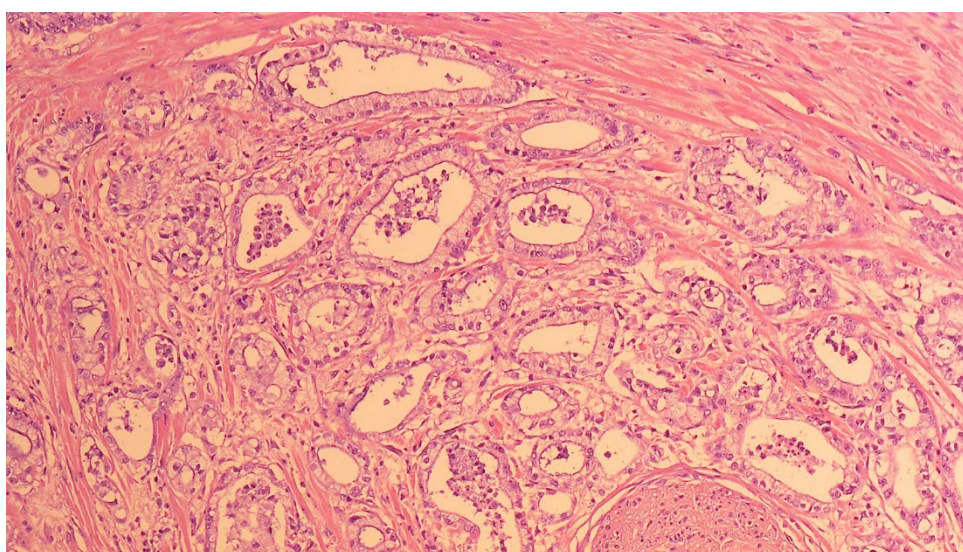


Рисунок 5.1 – Тубулярний комплекс в протоковій аденокарциномі підшлункової залози в пухлині менше 3см з помірним ступенем диференціювання. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.:x200.

В 27% випадків в пухлинах з помірним ступенем диференціювання зустрічався низький ступінь клітинного поліморфізму, а в 73% - помірний ступінь. Ядра мали відносно однаковий розмір, але разом із нормохромними ядрами зустрічалися дрібні вогнища клітин із гіперхромними ядрами. В клітинах, що складали великі трабекулярні структури, спостерігались ядра з декількома ядерцями. Відзначались поодинокі фігури мітозу у 5 СПГЗ.

Стромальний компонент при G₂ у 100% випадків був представлений слабким ступенем фіброзу Me=24,92% (18,92%; 30,76%). Клітинна запальна



інфільтрація спостерігалась в 100% випадків. В 27% зразків спостерігався низький ступінь запальної інфільтрації, в 18% випадків – помірний ступінь та в 55% досліджень разом з помірним ступенем запальної інфільтрації відмічався і високий ступінь. В 36% спостерігались вогнища периваскулярної та периневральної інвазії. (рис. 5.2)

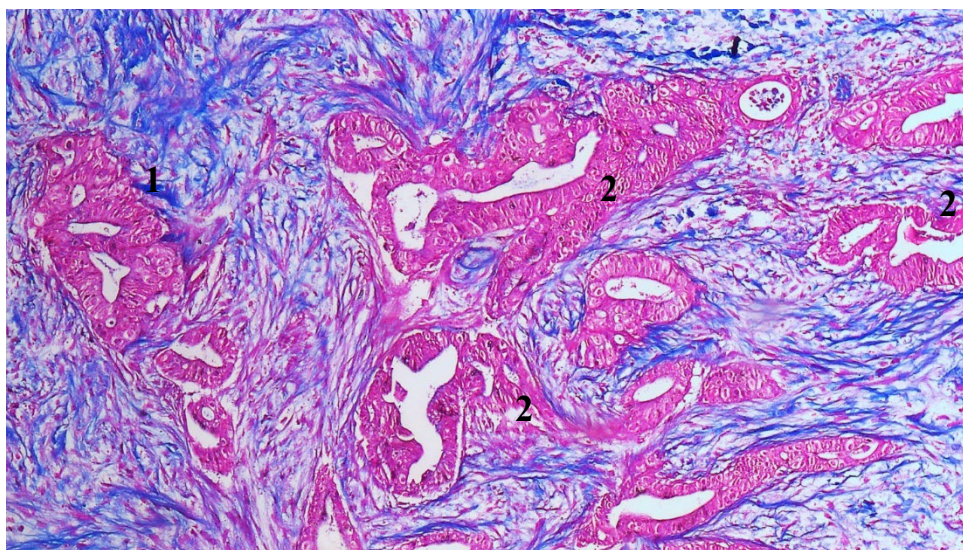


Рисунок 5.2 – Протокова аденокарцинома підшлункової залози помірного ступеню диференціювання, розміром менше 3см. Дрібні тубулярні (1) та трабекулярні (2) комплекси замуrowані в фібропластичну строму слабого ступеню розвитку. Забарвлення: Массон-трихром. 3б.:x200.

Гістологічні та гістохімічні дослідження пухлин діаметром менше 3 см з низьким (G3) ступенем диференціювання мали більш виражену гетерогенність мікроскопічної будови. В паренхіматозному патерні відмічалися тубулярні (залозисто-подібні) та трабекулярні структури із дрібними пластами ракових клітин. На відміну від помірного ступеню диференціювання, при низькому ступені з'являються поодинокі дрібні спотворені криброзні структури (рис. 5.3).

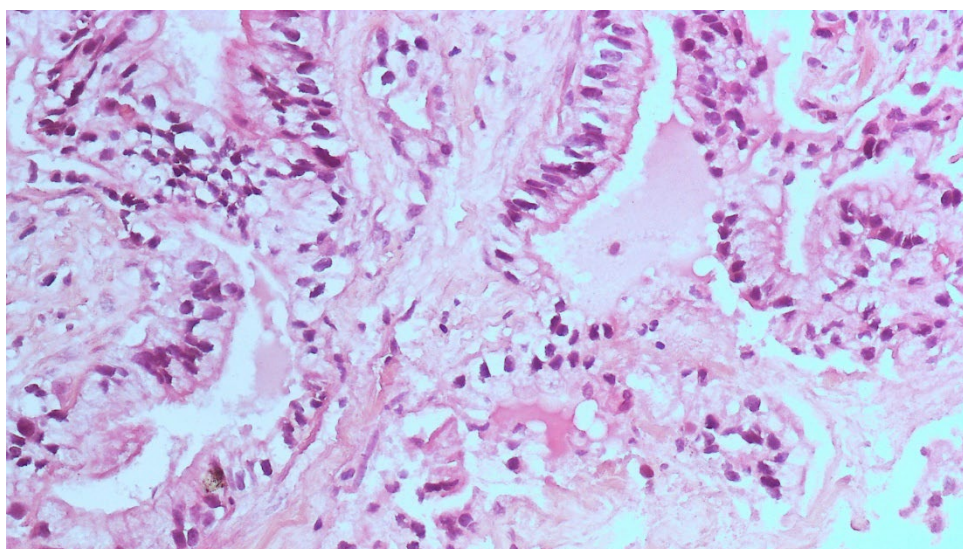


Рисунок. 5.3 – Трабекулярний комплекс та криброзні структури в протоковій аденокарциномі підшлункової залози в пухлині менше 3см з низьким ступенем диференціювання. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.:x400.

Звертає на себе увагу, що пухлини ПАПЗ із погіршенням гістологічного фенотипу суттєво втрачають залозисто-протоковий компартмент за рахунок тубулярних структур (Me=27,98% (25,21% 30,17%)), що майже втричі менше аналогічного показника в пухлинах помірного ступеню диференціювання, при цьому спостерігається зростання площі трабекулярних структур в 2,76 рази – Me=8,68% (7,62%; 9,11%). Примітно, що співвідношення елементів залозисто-протокового компартменту при G3 складає всього - 3,22, при G₂ цей показник майже в 6 разів вищий - 22,95. Поодинокі дрібні вогнища пластів з ракових клітин спостерігались на периферії пухлини у 100% спостережень. Високий ступінь поліморфізму клітин спостерігався у 50% випадків, у 25% - помірний ступінь поліморфізму, та у 25% досліджень – разом із помірним ступенем відмічався високий ступінь поліморфізму. Клітини низького ступеню диференціації відрізняються більш вираженою різноманітністю розмірів, плейоморфністю ядер та кількістю ядерців в них. Кількість фігур мітозу перевищувала 10 фігур мітозу у 5 СПГЗ.

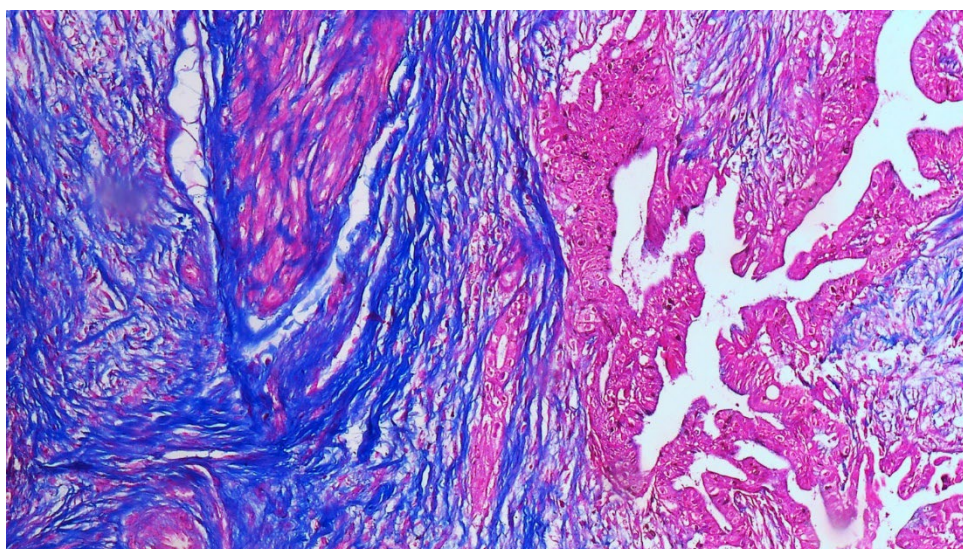


Рисунок 5.4 – Протокова аденокарцинома підшлункової залози низького ступеню диференціювання, розміром менше 3см. Трабекулярні комплекси замуrowані в фібропластичну строму помірного ступеню розвитку. Забарвлення: Массон-трихром. Зб.:x200.

Більш виражена втрата залозисто-протокового компартменту зі зниженням диференціювання супроводжується, відповідно, більш суттєвим зростанням стромального компартменту в 2,56 рази в порівнянні з вищим ступенем диференціювання. При G3 у 100% спостережень стромальний компартмент відрізнявся помірним ступенем фіброзної строми - $Me=63,83\%$ (61,82%; 65,86%) (рис. 5.4). В самій стромі спостерігався ефект ретракції навколо великих трабекулярних структур у 100% випадків. Клітинна запальна інфільтрація відрізнялась високим ступенем і спостерігалась як на периферії пухлин, так і по центру. Периваскулярна та периневральна інвазія спостерігалась в 63% випадків.



5.1.2 Імуногістохімічні та морфометричні особливості раково-залозистого компартменту протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах розміром менше 3 см

Перехід нормального епітелія протоки ПЗ в рак з подальшою дисемінацією ракових клітин обумовлені втратою гомологічного клітино-клітинного адгезивного зв'язку і переходом на гетерологічний зв'язок, реорганізацією цитоскелету. Більшість пухлин людини, в тому числі і ПАПЗ, характеризуються клітинною неоднорідністю без чіткої переваги певного фенотипу. Визначені особливості експресії ключових показників аберантної адгезії та фенотипу клітин раково-залозистого компартменту Е-кадгерину, β -катеніну, цитокератинів 7,18 при різних ступенях диференціації в пухлинах менше 3 см.

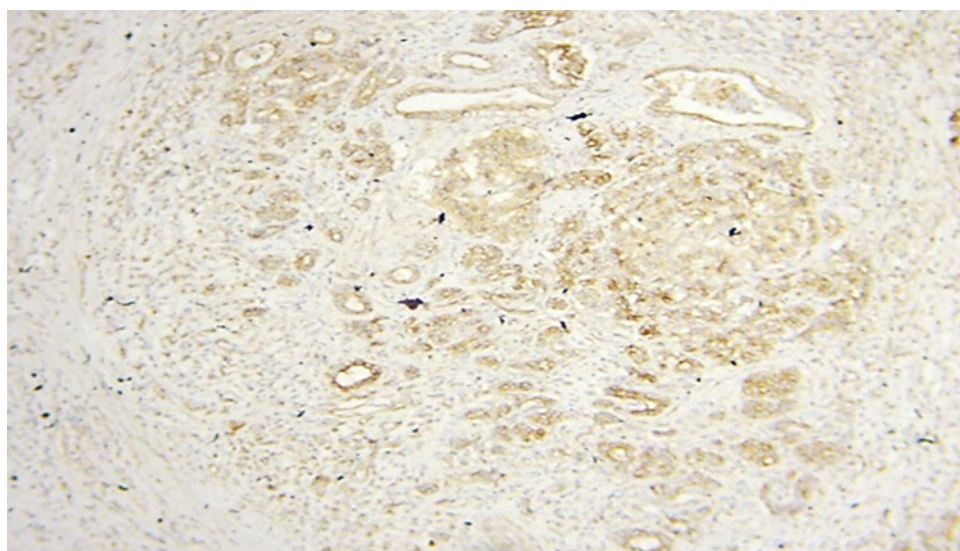


Рисунок 5.5 – Протокова аденокарцинома підшлункової залози G₂ ступеню диференціювання. Мембранна та мембрано-цитоплазматична експресія Е-кадгерину в клітинах залозисто-протокового компартменту.

Забарвлення: Мо а-Hu E-Cadherin, Clone EP 700 Y. 36.x200



Також відмічалась експресія в ацинарній тканині підшлункової залози. При мікроскопічному дослідженні траплялися осередки, як дифузного так і гранулярного характеру експресії Е-кадгерину в клітинах трабекул та тубул.

Таблиця 5.2 – Показники відносної площі експресії епітеліальних маркерів в залозисто-протоковому компартменті в пухлинах ПАПЗ ≤ 3 см при помірному та низькому ступені диференціювання

Маркери ступінь диференціювання	Е-кадгерин залоз/прот. комп.	β -катенін залоз/прот. комп.	CK7	CK18
G ₂	41,37% (34,74;43,08)	9,17% (7,38;9,17)	20,80% (6,33;21,87)	8,21% (7,24;13,45)
G ₃	25,34% (22,06;29,36)	5,67% (5,53;5,85)	3,87% (3,16; 3,87)	3,78% (3,53; 4,03)
Значення р	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05

Примітка. статистично достовірна різниця (p<0,05).

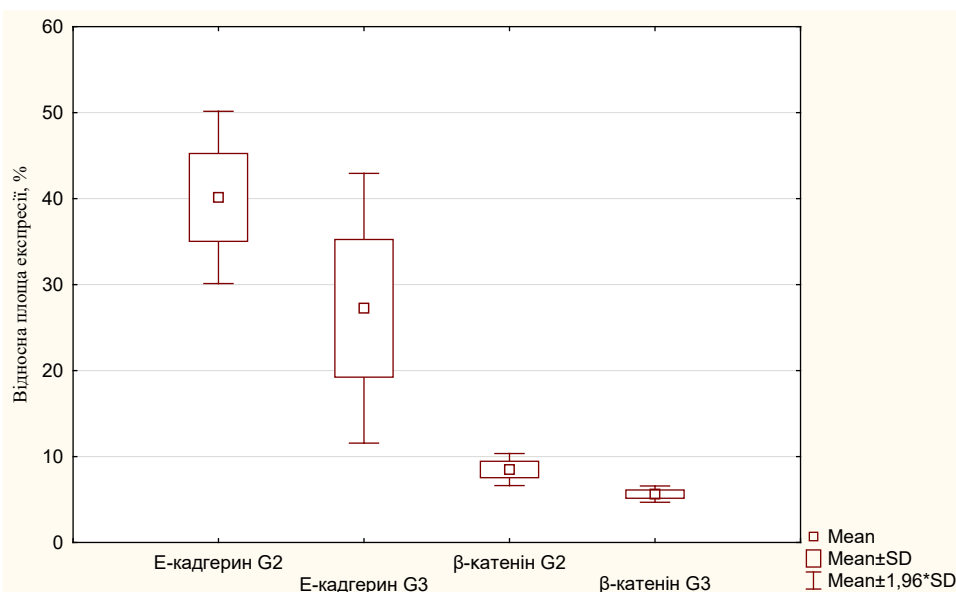


Рисунок 5.6 – Порівняльний аналіз відносної площі експресії Е-кадгерину+ та β -катенін+ клітин в залозисто-протоковому компартменті в пухлинах менше 3см з G₂ та G₃ ступенем диференціювання.

Крім того, в тубулярних структурах експресія онкомаркеру більш виражена була ближче до просвіту і менше до базальної мембрани. В трабекулярних структурах, навпаки, ступінь забарвлення зменшувався в бік



просвіту утворення. Однорідність забарвлення Е-кадгерином свідчить про зміну полярності клітин. З погіршенням ступеню диференціювання (від G2 до G3) відносна площа експресії Е-кадгерину зменшувалась від $Me=41,37\%$ (34,74;43,08); до $Me=25,34\%$ (22,06;29,36), відповідно (рис. 5.5, 5.6, табл. 5.2).

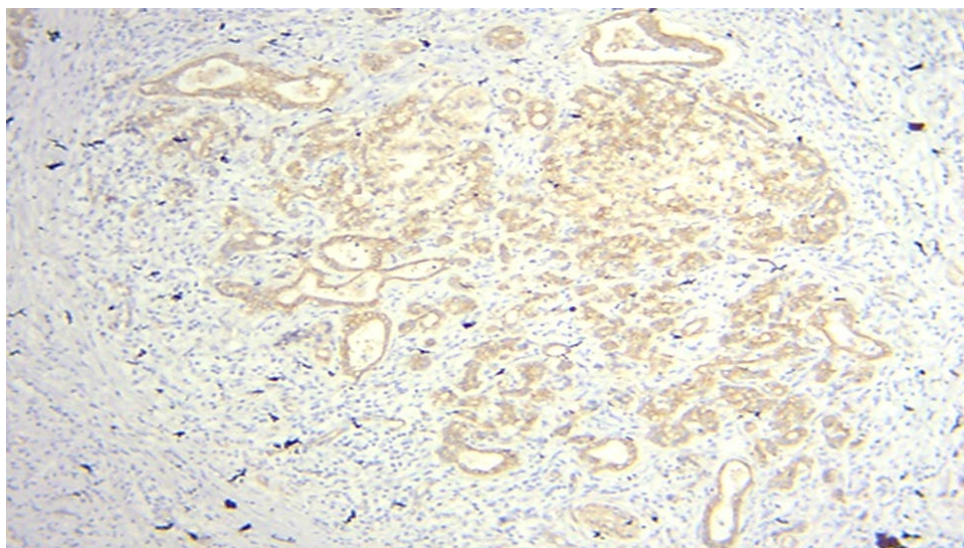


Рисунок. 5.7. – Протокова аденокарцинома підшлункової залози G₂ ступеню диференціювання. Мембранно-цитоплазматична експресія β-катеніну в клітинах залозисто-протокового компартменту. Забарвлення: Мо а Ну Beta-Catenin, Clone E-247. 36.x200.

Паралельне ІГХ дослідження β-катеніну при G₂ ПАПЗ виявив, на відміну від експресії Е-кадгерину, мембрано-цитоплазматичну експресію в трабекулярних та тубулярних структурах (рис.5.7). Відносна площа експресії склала – $Me=9,17\%$ (7,38; 9,17). (табл.5.2) На відміну від експресії Е-кадгерину спостерігалось зменшення інтенсивності забарвлення β-катеніну в бік просвіту в тубулярних структурах і, навпаки, збільшення інтенсивності в бік просвіту – в трабекулярних утвореннях.

Зважаючи, що втрата епітеліальних маркерів при онкопроцесі пов'язана із втратою адгезії, порушенням цитоскелету клітин, був проведений паралельний аналіз цитокератинів для дослідження їхнього зв'язку зі ступенем диференціювання пухлин при ПАПЗ. Проведені дослідження



продемонстрували достовірне зниження обох цитокератинів СК7 і СК18. При мікроскопічному вивченні гістологічних зрізів було встановлено дифузне мембранне коричневе забарвлення в 100% випадків в залозисто-протокових структурах, тубулярних та трабекулярних комплексах та в ацинарній тканині (рис. 5.8 А). Відносна площа експресії СК7 в І групі – $Me=7,42\%$ (3,87; 20,98), відносна площа СК18 в цій же групі – $Me=7,99\%$ (4,99; 13,45).

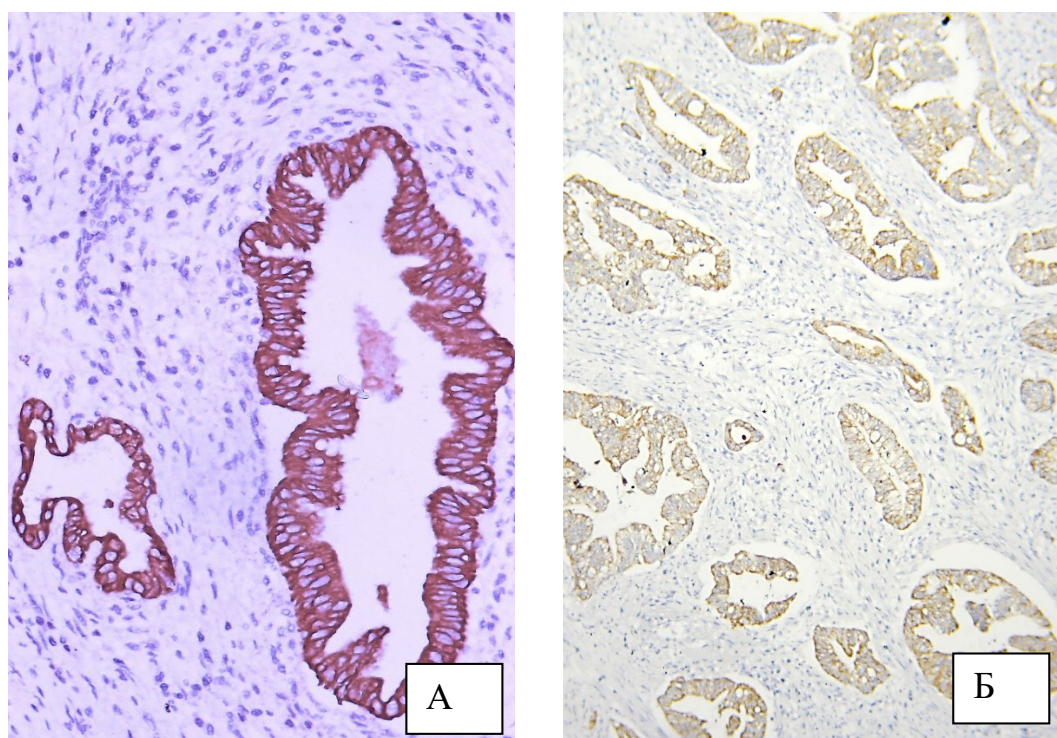


Рисунок 5.8 А, Б– Імуно-позитивна реакція клітин тубулярних, трабекулярних структур в пухлинах менше 3 см з G₂ ступенем диференціювання. А: забарвлення Мо а Hu Keratine 7, Clone OV-TL 12/30, 36.:x400; Б: забарвлення Мо а Hu Keratine 18, Clone DC10. 36.:x200.

При G₂ ступені диференціювання в І групі було встановлено дифузне коричневе мембранне забарвлення клітин ацинарної тканини, тубулярних та трабекулярних структурах, що формували комплекси. Відносна площа експресії СК7 $Me=20,80\%$ (6,33; 21,87) (рис.5.8 А).

Паралельне дослідження експресії СК18 показало також позитивне дифузне мембранне забарвлення в ацинарній тканині, тубулярних та



трабекулярних структурах в пухлинах менше 3см із помірним ступенем диференціювання (рис.5.8 Б). Відносна площа експресії СК18 склала $Me=8,21\%$ (7,24; 13,45), що достовірно нижче ($p<0,05$), аніж експресія СК7 в цій же групі дослідження.

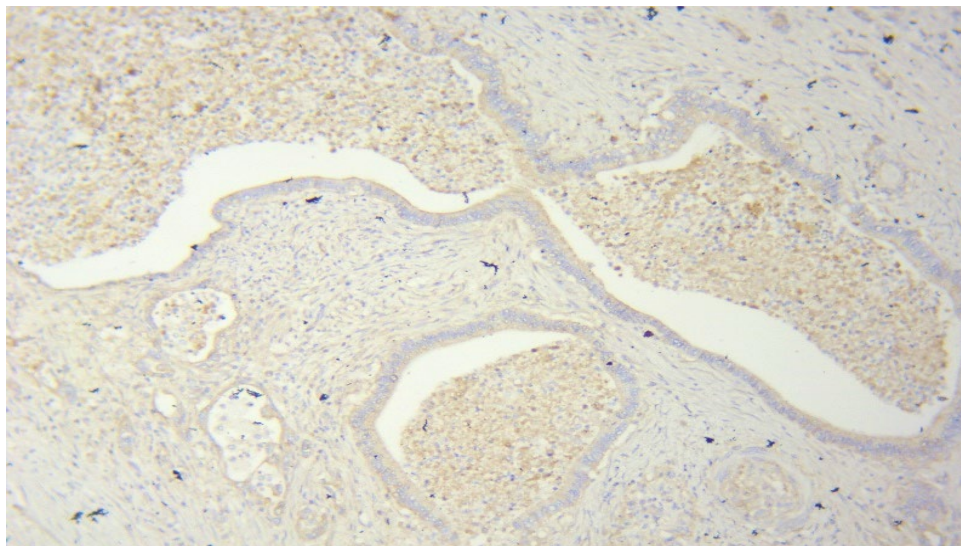


Рисунок 5.9 – Протокова аденокарцинома підшлункової залози G₃ ступеню диференціювання. Гранулярна мембрано-цитоплазматична експресія Е-кадгерину в клітинах залозисто-протокового компартменту та в злущених клітинах, що формують пробку/корок у просвіті трабекули. Забарвлення: Мо a-Hu E-Cadherin, Clone EP 700 Y. 36.x200.

Зниження ступеню диференціювання супроводжувалось достовірним зниженням відносної площі експресії Е-кадгерину ($Me=25,34\%$ (22,06;29,36)) ($p<0,05\%$). При низькому ступені диференціювання також відзначалось гранулярне мембранне або мембрано-цитоплазматичне забарвлення в 100% випадків з аналогічними при G₂ особливостями порушення полярності, закономірностями зміни інтенсивності забарвлення в протоках, дуктулах, тубулах та трабекулах. Але, на відміну від G₂, при G₃ Е-кадгерин експресувався в характерних для цієї підгрупи пухлин криброзних структурах (рис.5.9).

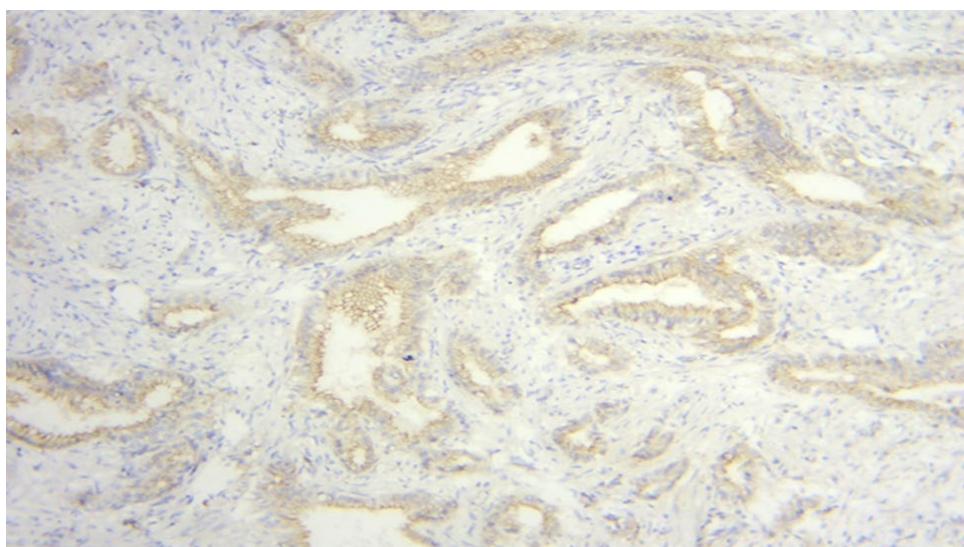


Рисунок 5.10 – Протокова аденокарцинома підшлункової залози G₃ ступеню диференціювання. Мембрано-цитоплазматична експресія β-катеніну в клітинах залозисто-протокового компартменту. Забарвлення: Мо а Ну Beta-Catenin, Clone E-247. 36.x200.

Ступінь відносної площі експресії β-катеніну при G₃ достовірно знижувався (Me=5,67%(5,53;5,85; $p<0,05\%$) паралельно з втратою E-кадгерину. Однак особливості експресії маркеру майже не відрізнялись зі зростанням агресивності ПАПЗ. Спостерегалась мембрано-цитоплазматична експресія білка в тубулярних і трабекулярних структурах з відповідними особливостями зміни інтенсивності забарвлення в бік просвіту утворення (рис.5.10).

В пухлинах з низьким ступенем диференціювання відносна площа експресії CK7 знижувалась (рис.5.11 А). Мікроскопічно спостерігалось імуні-позитивне дифузне мембранне та частково мембрано-цитоплазматичне забарвлення на CK7 були в тубулярних та трабекулярних структурах. Ацинарна тканина в цій підгрупі дослідження мала меншу відносну площу експресії CK7 у порівнянні з пухлинами із помірним ступенем диференціювання. Відносна площа маркеру цитоскелету клітин склала Me=3,87% (3,16; 3,87), що достовірно нижче (в 5,37 разів), аніж при пухлинах з помірним ступенем диференціювання ($p<0,05$).



При дослідженні експресії СК18 в пухлинах з низьким ступенем диференціювання відмічено достовірне зниження імуно-позитивно забарвлених клітин в ацинарній тканині, в клітинах, що формують тубулярні та трабекулярні структури у порівнянні з пухлинами із G₂ ступенем диференціювання. Показник відносної площі експресії СК18 склала Me=3,78% (3,53; 4,03), при цьому достовірної різниці не встановлено між показниками експресії СК7 та СК18 в пухлинах з G₃ ступенем диференціювання ($p>0,05$) (рис.5.11 Б).

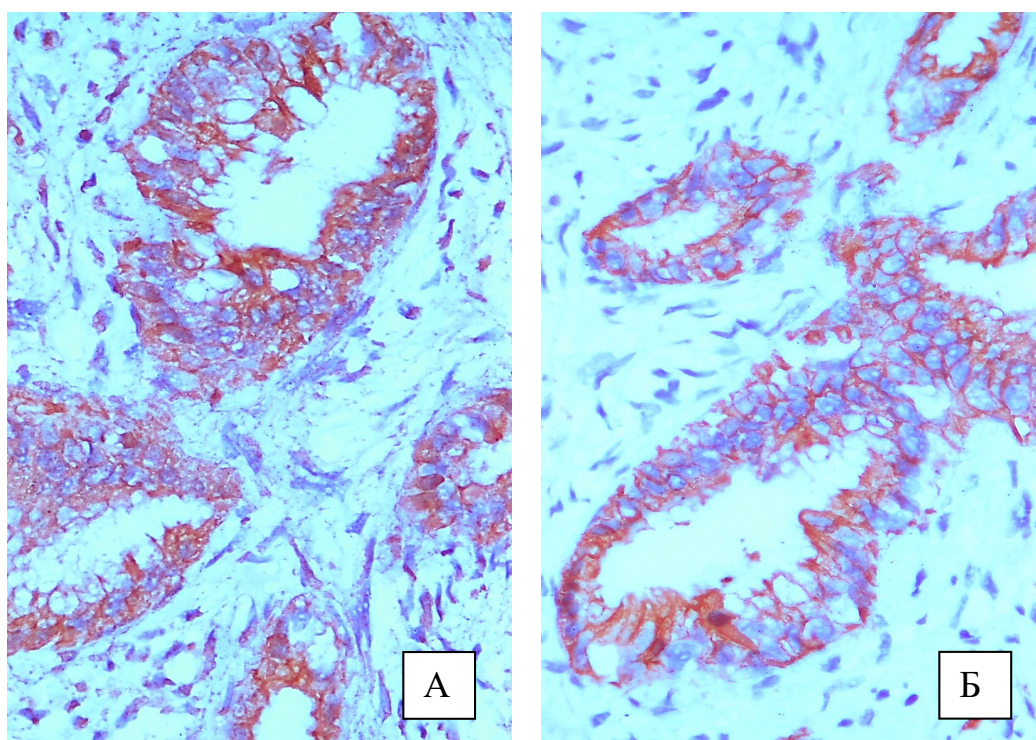


Рисунок 5.11 А, Б –Дифузна та частково гранулярна мембранна та мембрано-цитоплазматична імуно-позитивна реакція клітин тубулярних, трабекулярних та криброзних структур в пухлинах менше 3 см з G₃ ступенем А: Мо а Ну Keratine 7, Clone OV-TL 12/30., Б: забарвлення Мо а Ну Keratine 18, Clone DC10. 36.:x400.

За результатами ІГХ-дослідження на Е-кадгерин, β -катенін було встановлено втрату зв'язків між клітинами та клітинами та базальною мембраною. Виявлено порушення будови цитоскелету клітин, що підтверджується зниженням експресії СК7 та СК18 в залежності від ступеню диференціювання пухлини.



5.1.3 Імуногістохімічні та морфометричні особливості епітеліально-мезенхімальної трансформації протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах розміром менше 3 см

Зони епітеліально-мезенхімальної трансформації (ЕМТ) в пухлинах ПАПЗ різного розміру та різного ступеню диференціювання були сформовані спотвореними раковими клітинами різного розміру, форми, з гіперхромними ядрами, ядерно-цитоплазматичне співвідношення змінено у бік ядра. Також в цих зонах були клітини, що перероджувалися з епітеліальних клітин у веретеноподібні або стромальні клітини. Ці клітини формували не тільки пласти, але відмічалися поодинокі раково-спотворені клітини навколо тубул та трабекул. Із прогресуванням пухлини та погіршенням ступеню диференціювання розмір та форми цих спотворених клітин збільшувались.

Комплексна оцінка епітеліальних та мезенхімальних маркерів в зоні ЕМТ в залежності від ступеню диференціювання в пухлинах менше 3 см продемонструвала стосовно епітеліальних маркерів різку втрату Е-кадгерину і зростання β -катеніну в зоні ЕМТ в порівнянні із залозисто-протоковим компартментом.

При помірному ступеню диференціювання в пухлинах менше 3 см в залозисто-протоковому комплексі зони ЕМТ відносна площа Е-кадгерину склала $Me=18,77\%$ (15,89;18,95) і була в 2,2 рази меншою за показник в залозисто-протоковому компартменті цієї ж підгрупи ($p<0,05$) та відрізнялась виключно мембрано-цитоплазматичною експресією (табл.5.3), (рис.5.12).

Відносна площа іншого епітеліального маркеру β -катеніну в залозисто-протоковому комплексі зони ЕМТ пухлин менше 3 см G_2 ступеню диференціювання склала $Me=12,51\%$ (11,02; 14,87) і, на відміну від Е-кадгерину, достовірно зростала ($p<0,05$) в порівнянні із залозисто-протоковим компартментом мікропрепаратів цієї ж підгрупи. Експресія в зонах ЕМТ мала дифузне мембрано-цитоплазматичне забарвлення окремих ракових, різного



361636723132456

розміру, спотворених поодиноких клітин, також із локалізацією навколо тубулярних та трабекулярних структур.

Таблиця 5.3 – Показники відносної площі експресії епітеліальних маркерів в зонах ЕМТ в пухлинах ПАПЗ ≤ 3 см при помірному та низькому ступені диференціювання

Маркери Ступінь диференціювання, компоненти ЕМТ	Е-кадгерин	β -катенін	CK7	CK18
G ₂ ЕМТ: залоз/прот комп	18,77% ^{†*} (15,89; 18,95)	12,51% ^{†*} (11,02; 14,87)	25,68% ^{†*} (21,87; 29,40)	20,21% ^{†*} (17,15; 21,19)
G ₃ ЕМТ: залоз/прот комп	9,43% ^{•*} (6,41; 11,21)	33,92% ^{•*} (31,12; 37,98)	18,07% ^{•*} (14,82; 21,42)	10,81% ^{•*} (8,45; 19,09)
G ₂ ЕМТ: клітини і скупчення	12,23% [†] (4,39; 12,75)	5,15% [†] (3,35; 6,58)	13,79% ^{†‡} (10,55; 13,90)	14,01% ^{†‡} (13,54; 15,97)
G ₃ ЕМТ: клітини і скупчення	11,82% [•] (8,29; 20,92)	6,49% [•] (2,82; 19,80)	5,82% ^{•‡} (4,68; 6,33)	4,44% ^{•‡} (2,22; 8,63)

Примітка. [†] - між ЕМТ залоз/прот комп та ЕМТ клітин і скуп в G₂ ($p < 0,05$), [•] - між ЕМТ залоз/прот комп та ЕМТ клітин і скуп в G₃ ($p < 0,05$), ^{*} - між ЕМТ залоз/прот комп та ЕМТ залоз/прот комп в G₂ та G₃ ($p < 0,05$), [‡] - між ЕМТ клітин і скуп та ЕМТ клітин і скуп в G₂ та G₃ ($p < 0,05$)

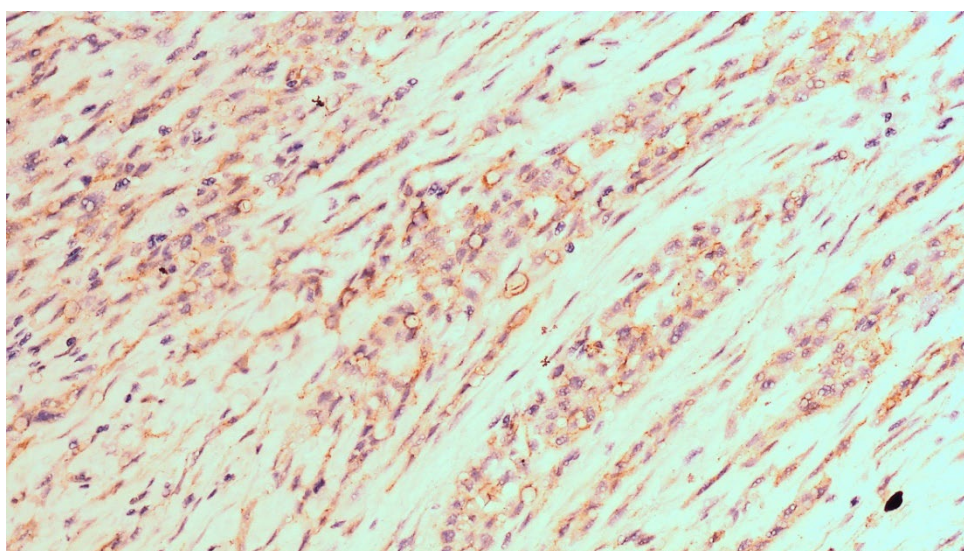


Рисунок 5.12 – Імуно-позитивна реакція на Е-кадгерин у «відшнурованих» клітинах зонм ЕМТ в пухлинах менше 3 см з помірним G₂ ступеню диференціювання. Забарвлення: Мо а-Hu E-Cadherin, Clone EP 700 Y. 36.x200.



Зниження ступеню диференціювання відповідно супроводжується ще більшою втратою Е-кадгерину в зоні ЕМТ. Відносна площа експресії онкомаркеру при G3 ступеню диференціювання в пухлинах менше 3 см склала $Me=9,43\%$ (6,41; 11,21), що в 1,99 рази нижче за показник ЕМТ при G₂ ($p<0,05$). Показник Е-кадгерину в ЕМТ був у 2,69 рази нижчий за показник раково-залозистого компартменту цієї ж групи ($p<0,05$). Спостерігалось виключно мембрано-цитоплазматичне забарвлення в поодиноких спотворених, різного розміру ракових клітинах, локалізованих навколо трабекул та тубулярних структур, а також в дрібних пластах цих клітин.

Відносна площа β -катеніну в ЕМТ при гіршому ступеню диференціювання склала $Me=33,92\%$ (31,12; 37,98) і демонструвала достовірне зростання ($p<0,05$) в 2,71 рази порівняно з помірним ступенем диференціювання та більш суттєве - в 5,98 рази - в порівнянні із залозисто-протоковим компартментом при цьому ж ступеню диференціювання. Звертає на себе увагу, що при помірному ступеню диференціювання в зоні ЕМТ відносна площа β -катеніну була достовірно нижчою відносної площі Е-кадгерину в 1,36 рази ($p<0,05$), навпаки, при низькому ступеню диференціювання відносна площа β -катеніну в 3,65 рази перевищує показник відносної площі Е-кадгерину ($p<0,05$). Імунопозитивні спотворені, різного розміру ракові клітини поодинокі локалізувались навколо трабекул та тубулярних структур. Також спостерігались пласти імунопозитивних клітин.

ІГХ-дослідження цитоскелету клітин ракових залозито-протокових комплексів зон ЕМТ із використанням СК7 та 18. Клітини СК7-позитивні зон ЕМТ мали слабе дифузне мембрано-цитоплазматичне забарвлення, також відмічався градієнт забарвлення від сильного до слабкого коричневого. Також спостерігалися дрібні ділянки ЕМТ, де не відмічалась експресія СК7. Відносна площа експресії СК7 $Me=25,68\%$ (21,87; 29,40) при помірному ступені диференціювання, а при низькому ступені диференціювання відмічалось статистично достовірне зниження експресії СК7 – $Me=18,07\%$ (14,82; 21,42). В зонах трансформації відмічалась слабка експресія СК18. В аналогічних



комплексах зон ЕМТ експресія іншого епітеліального маркера (СК18) також мала дифузне мембрано-цитоплазматичне забарвлення із градієнтом забарвлення від помірного до слабо-коричневого. Відносна площа експресії СК18 при G2 - Me=20,21% (17,15; 21,19), при G3 ступеню – Me=10,81% (8,45; 19,09), що в 2 рази нижче, аніж в групі порівняння. Відмічалися невеликі ділянки ЕМТ, що не мали експресії СК18, що свідчить про втрату цитоскелету в даних клітинах.

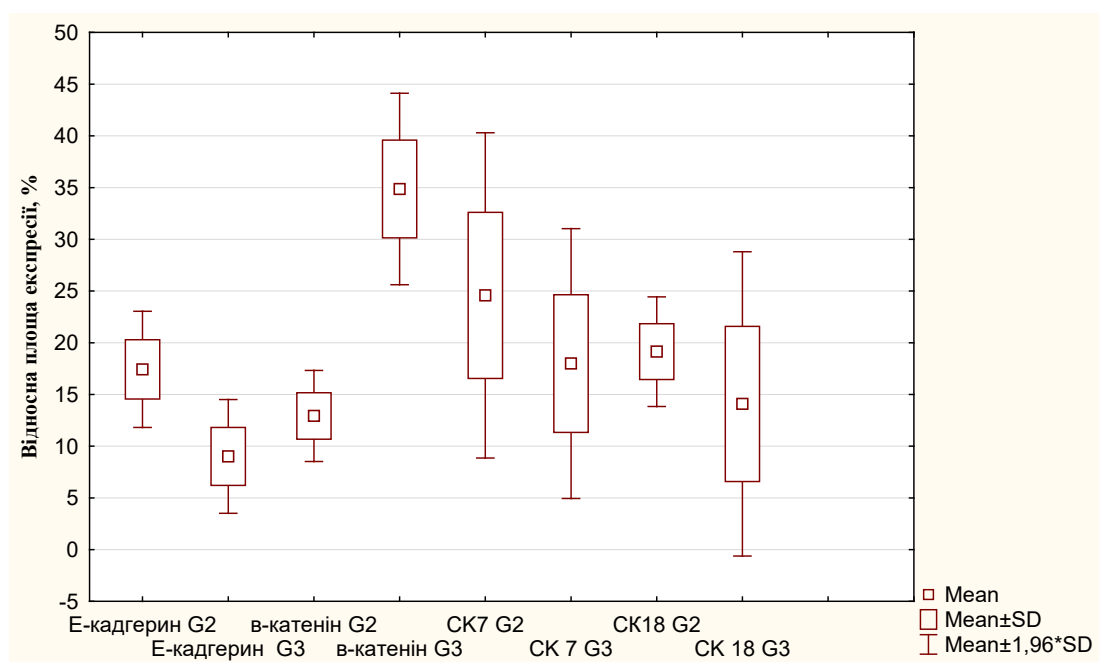


Рисунок 5.13 – Порівняльний аналіз відносної площі експресії Е-кадгерину, β-катенін, СК7 та СК18 позитивних клітин в ракових залозисто-протокових комплексах зони епітеліально-мезенхімальної трансформації в пухлинах менше 3см з G₂ та G₃ ступенем диференціювання

Клітини, що знаходяться у стані епітеліально-мезенхімальної трансформації та локалізуються поодинокі навколо тубулярних, трабекулярних та криброзних структур, мали дифузну та частково гранулярну мембрано-цитоплазматичну експресію Е-кадгерину. При G₂ відносна площа Е-кадгерину Me=12,23% (4,39; 12,75), $p<0,05$, β-катеніну – Me=5,15% (3,35; 6,58), $p<0,05$. При G₃ спостерігається незначне зниження експресії Е-



кадгерину у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях ($Me=11,82\%$ (8,29; 20,92), при $p<0,05$) та статистично недостовірне підвищення експресії β -катеніну ($Me=6,49\%$ (2,82; 19,80), при $p>0,05$) у порівнянні з G_2 (рис.5.13, рис. 5.14).

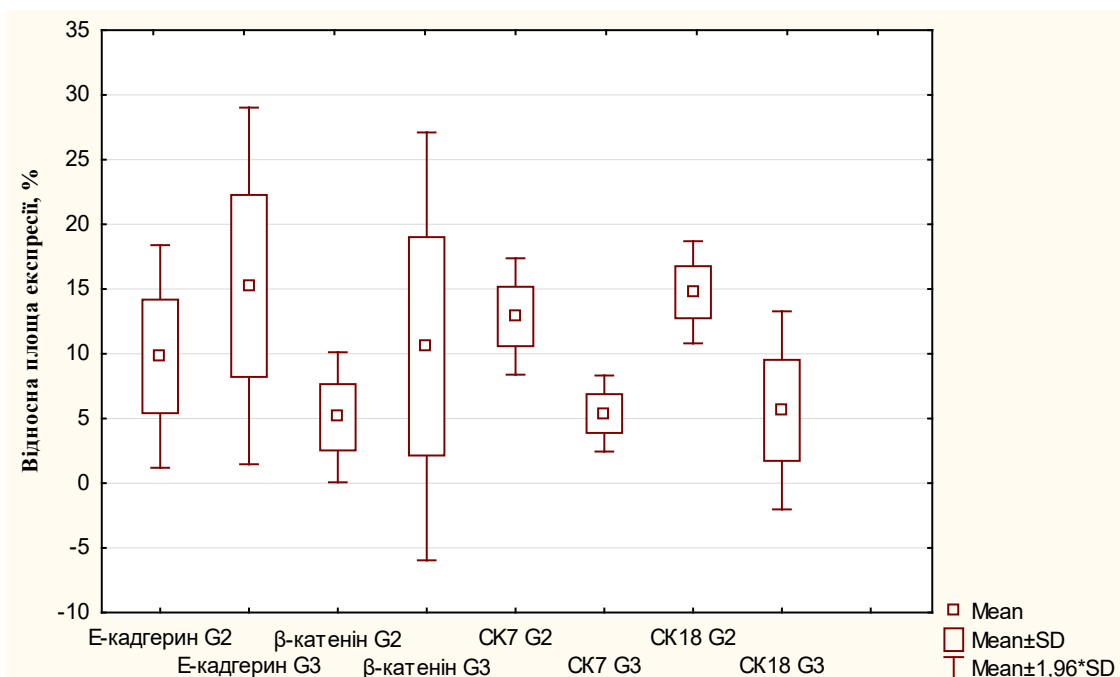


Рисунок 5.14 – Порівняльний аналіз відносної площі експресії Е-кадгерину, β -катенін, CK7 та CK18 позитивних клітин в ракових «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях зони епітеліально-мезенхімальної трансформації в пухлинах менше 3см з G_2 та G_3 ступенем диференціювання.

Для ІГХ-дослідження збереженості цитоскелету в поодиноких ракових клітинах та у їх скупченнях використано CK7 та 18. Імунопозитивні клітини на CK7 та 18 мали частково гранулярне мембранне та мембрано-цитоплазматичне коричневе забарвлення. При G_2 відносна площа CK7 $Me=13,79\%$ (10,55; 13,90) (рис 5.15), а експресії CK18 – $Me=14,01\%$ (13,54; 15,97),. В аналогічних клітинах при G_3 спостерігалось статистично достовірне зниження експресії CK7 ($Me=5,82\%$ (4,68; 6,33), при $p<0,05$) та CK18 ($Me=4,44\%$ (2,22; 8,63), при $p<0,05$), відповідно, порівняно з пухлинами G_2 ступеню диференціювання. При порівнянні відносної площі експресії CK7 та



18 в ракових залозисто-протокових комплексів зон ЕМТ та в поодиноких та в солідних пластах «відшнурованих» клітин зон ЕМТ відмічається достовірне зниження як при помірному, так і при низькому ступеню диференціювання.

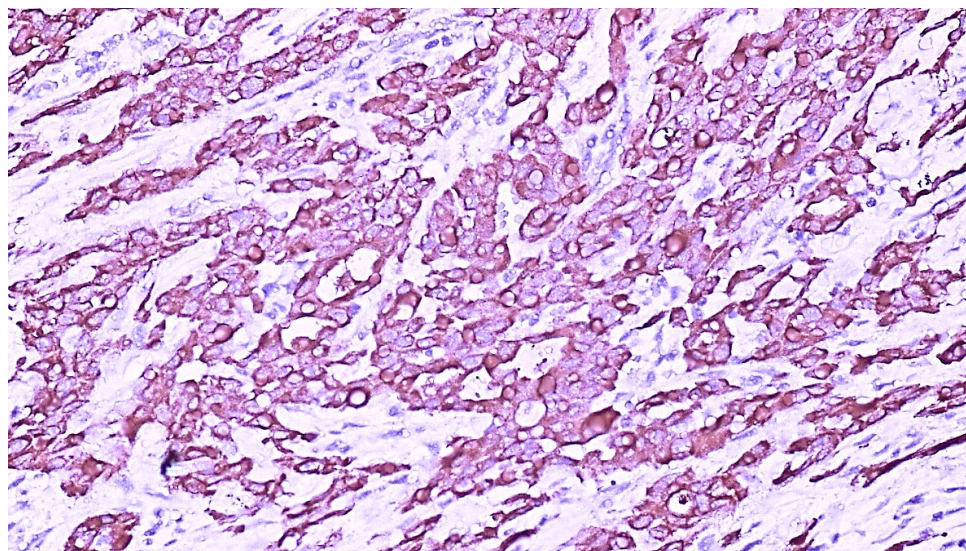


Рисунок 5.15 – Імуно-позитивна реакція клітин криброзних структур та «відшнурованих» клітин зони ЕМТ на цитокератин 7 в пухлинах менше 3 см з помірним ступенем диференціювання. Забарвлення Мо а Ну Keratine 7, Clone OV-TL 12/30. 36.:x200.

Встановлено помірний зворотний зв'язок між показниками епітеліальних маркерів (Е-кадгерином та β -катеніном) в пухлинах з помірним і низьким ступенем диференціювання в залозисто/протоковому компоненті зон ЕМТ (коефіцієнт Пірсона $r = -0,52$, $p > 0,05$, $r = -0,69$, при $p > 0,05$ відповідно), але є тенденція переходу до більш сильного зворотного зв'язку при G_3 ; Встановлено слабкий зворотний зв'язок між показниками епітеліальних маркерів (Е-кадгерином та β -катеніном) в пухлинах з помірним і низьким ступенем диференціювання у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях зон ЕМТ (коефіцієнт Пірсона $r = 0,16$, $p > 0,05$, $r = -0,13$, при $p > 0,05$ відповідно).

Встановлено слабкий зворотний зв'язок між показниками відносних площин експресії Е-кадгерину в залозисто/протоковому компоненті зон ЕМТ в пухлинах помірного та низького ступеню диференціювання (коефіцієнт



Пірсона $r=-0,26$, $p>0,05$); між показниками β -катеніну в аналогічних структурах та пухлинах різного ступеню диференціювання - помірний зворотний зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r=-0,67$, $p>0,05$); в клітинних скупчень та «відшнурованих» клітинах зон ЕМТ в пухлинах різного ступеню диференціювання між показниками Е-кадгерину встановлений сильний прямий зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r=0,94$, $p>0,05$), між показниками β -катеніну - слабкий прямий зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r=0,17$, $p>0,05$).

Встановлено помірний прямий зв'язок між показниками СК7 в протоковому компоненті та «відшнурованими» клітинами зони ЕМТ в пухлинах помірного ступеню диференціювання (коефіцієнт Пірсона $r=0,69$, $p>0,05$) та в пухлинах низького ступеню диференціювання (коефіцієнт Пірсона $r=0,68$, $p>0,05$). Між показниками СК18 в протоковому компоненті та клітинними скупченнями зон ЕМТ в пухлинах з помірним ступенем диференціювання встановлено прямий помірний зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r=0,39$, $p>0,05$), а в пухлинах з низьким ступенем диференціювання – слабкий зворотний зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r=-0,15$, $p>0,05$).

Між експресіями Е-кадгерину та β -катеніну в залозисто-протоковому компоненті зон ЕМТ встановлений прямий зв'язок при G_2 (критерій Манна-Вітні $z=2,05$, при $p<0,05$) та зворотний зв'язок при G_3 (критерій Манна-Вітні $z=-3,51$, при $p<0,05$). U-критерій у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях зон ЕМТ при G_2 $z=2,03$, при $p<0,05$, при G_3 $z=1,81$, при $p>0,05$. Критерій Манна-Вітні в дослідженнях цитокератинової панелі маркерів (СК7 та 18) в залозисто-протоковому компоненті та у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях зон ЕМТ при G_2 та G_3 не продемонстрував статистично достовірний зв'язок.

Н-критерій між показниками відносних площин експресії Е-кадгерину та β -катеніну в залозисто-протоковому компоненті зон ЕМТ, в пухлинах гіршого ступеню диференціювання, дорівнював $H1=4,68$, при $p<0,05$, що статистично достовірно. В той же час критерій Краскала-Воліса в аналогічних структурах зон ЕМТ при G_2 демонстрував статистично



недостовірну різницю між медіанами відносних площин експресії епітеліальних маркерів ($H_0=0,96$, при $p>0,05$). Кореляційний аналіз Краскела-Воліса між медіанами відносних площин експресії епітеліальних маркерів у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях зон ЕМТ при G_2 та G_3 продемонстрував статистично недостовірну різницю, ($H_0=1,71$ та $H_0=1,47$, при $p>0,05$) відповідно.

Н-критерій між показниками відносних площин маркерів цитоскелету (СК7 та 18) в залозисто-протоковому компоненті зон ЕМТ в пухлинах G_2 та G_3 ступеню диференціювання дорівнював $H_0=0,46$ та $H_0=1,31$, при $p>0,05$, відповідно. Критерій Краскела-Воліса між медіанами відносних площин СК7 та СК18 при G_2 та G_3 у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях в зонах ЕМТ також демонстрував $H_0=0,44$ та $H_0=0,14$, при $p>0,05$, відповідно.

Таблиця 5.4 – Показники відносної площі експресії мезенхімальних маркерів в зонах ЕМТ в пухлинах ПАПЗ < 3см

Маркери ступінь диференціювання	α SMA ЕМТ	Vim ЕМТ	Значення p
G_2	14,44% (11,88; 15,41)	9,12% (6,82; 11,37)	$p<0,05$
G_3	13,37% (10,64; 17,55)	14,59% (10,64; 15,42)	$p>0,05$
Значення p	$p>0,05$	$p<0,05$	

Примітка. статистично достовірна різниця ($p<0,05$)

Паралельний аналіз мезенхімальних маркерів виявив в пухлинах менше 3 см при помірному ступеню диференціювання в 100% випадків мембрано-цитоплазматичну експресію віментину у поодинокі розташованих «відшнурованих» клітинах та у їх скупченнях навколо раковозмінених тубулярних і трабекулярних структур. Відносна площа віментин-позитивних клітин в зоні ЕМТ при помірному ступеню диференціювання в пухлинах менше 3 см склала $Me=9,12\%$ (6,82; 11,37) (табл.5.4) (рис.5.16, рис.5.17 Б).



3616367231352456

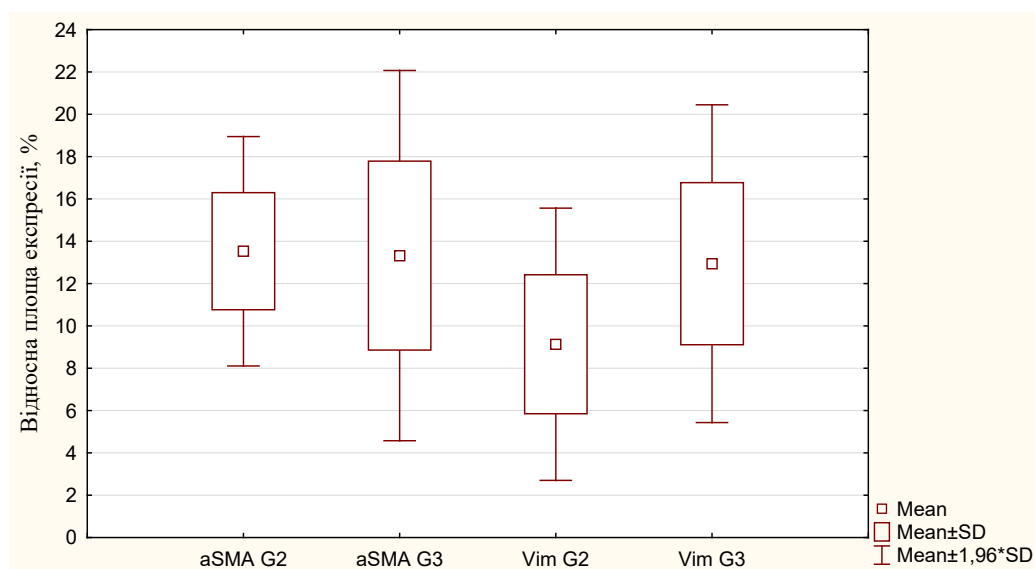


Рисунок 5.16 – Порівняльний аналіз відносної площі експресії αSMA + та Vim + клітин в зоні епітеліально-мезенхімальної трансформації в пухлинах менше 3см з G₂ та G₃ ступенем диференціювання

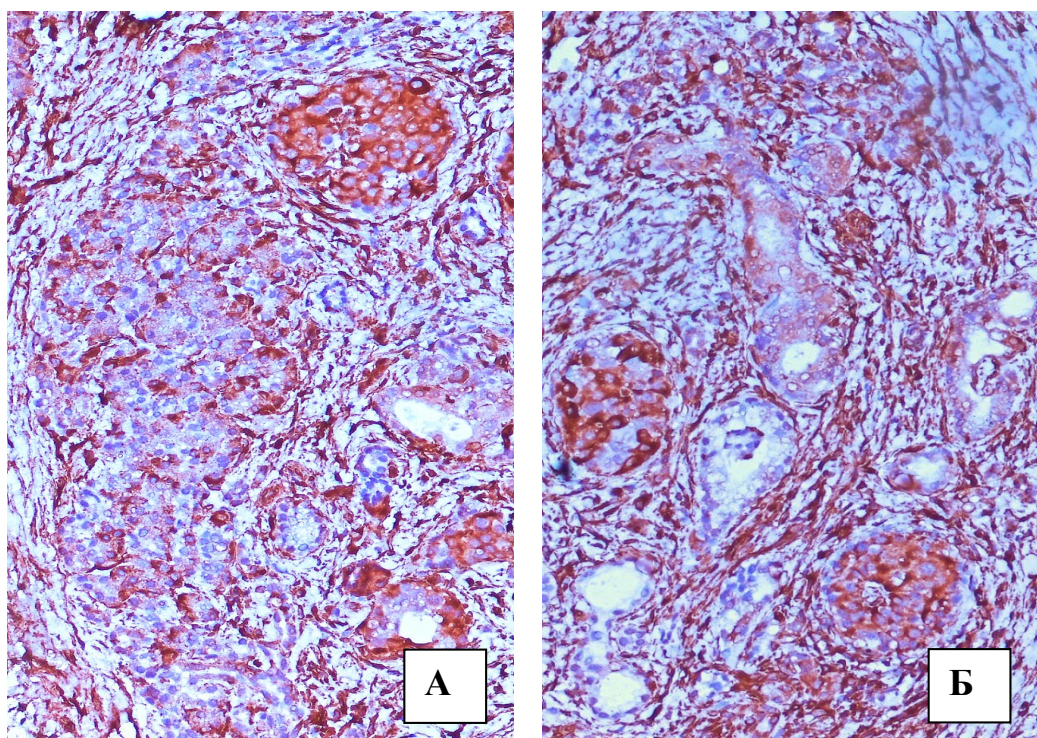


Рисунок 5.17 А, Б– Імунопозитивна реакція «відшнурованих» клітин та їх скупчень зон ЕМТ в пухлинах менше 3см помірного (G₂) ступеню диференціювання. А: забарвлення - Мо Alpha Smooth Muscle Actin, Clone 1A4., Б: забарвлення - Мо a Hu Vimentin Ab-2. 3б. x400.



3616367231352456

Відносна площа іншого мезенхімального маркеру α SMA в ЕМТ при G₂ в пухлинах менше 3 см склала Me=14,44% (11,88; 15,41) (рис.5.17 А). Імунопозитивні клітини мали дифузне мембрано-цитоплазматичне забарвлення, локалізувались навколо дрібних раковозмінених тубулярних і трабекулярних комплексів.

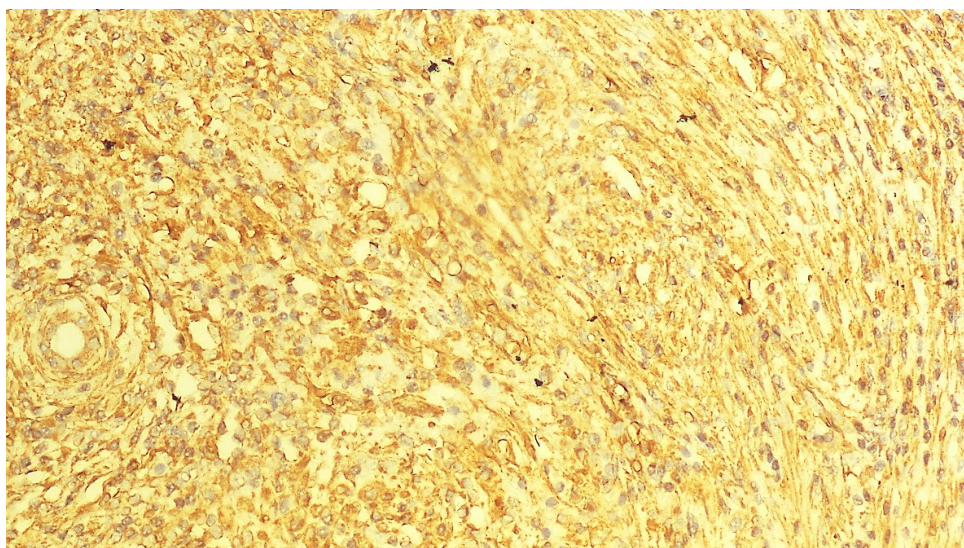


Рисунок 5.18 – Імунопозитивна реакція «відшнурованих» клітин та їх скупчень зон ЕМТ на гладенько-м'язовий актин в пухлинах менше 3см низького (G₃) ступеню диференціювання. Мо Alpha Smooth Muscle Actin, Clone 1A4. 36. x400.

Низький ступінь диференціювання I аналізуємої групи характеризувався достовірним підвищенням відносної площі віментинпозитивних клітин – Me=14,59% (10,64; 15,42). При цьому показник α -SMA-позитивних клітин в зоні ЕМТ суттєво не змінився в порівнянні з аналогічним показником при помірному ступеню диференціювання та склав Me=13,37% (10,64; 17,55) (рис.5.18).

5.1.4 Імуногістохімічні та морфометричні особливості стромального компартменту протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах розміром менше 3 см

Пухлини ПАПЗ відрізняються наявністю до 90% строми – мікросередовища, з яким пов'язують прогресування раку, розвиток пухлин низького ступеню диференціювання. До 70% мікросередовища складають білки екстрацелюлярного матриксу. Основними маркерами стромального компартменту ПАПЗ є такі білки, як гладком'язовий актин та віментин.

Дослідження маркерів стромального компартменту продемонстрував залежність цих маркерів від ступеню диференціювання в пухлинах ПАПЗ різного розміру.

Таблиця 5.5 – Показники відносної площі експресії мезенхімальних маркерів у стромальному компартменті в пухлинах ПАПЗ ≤ 3 см при помірному та низькому ступені диференціювання

Маркери ступінь диференціювання	α -SMA, строма	Vim, строма	Значення p
G ₂	28,84% (28,29; 29,41)	29,08% (28,55; 32,66)	p>0,05
G	36,36% (34,31; 37,38)	35,02% (30,63; 36,04)	p>0,05
Значення p	p<0,05	p<0,05	

Примітка. статистично достовірна різниця (p<0,05)

Експресія α -SMA була локалізована не тільки у веретеноподібних клітинах строми, але й у фібробластах та активованих зірчастих клітинах, що оточували тубули та трабекли. Саме активовані панкреатичні зірчасті клітини беруть участь у формуванні та підтримці фіброзної строми та запальної реакції у стромі.

При помірному ступеню диференціювання в Ia аналізуємій підгрупі відносна площа α -SMA в стромі склала Me=28,84% (28,29; 29,41), що вдвічі



перевищує ($p < 0,05$) відносну площу цього маркера в зоні ЕМТ при обох ступенях диференціювання в пухлинах менше 3 см (табл.5.5).

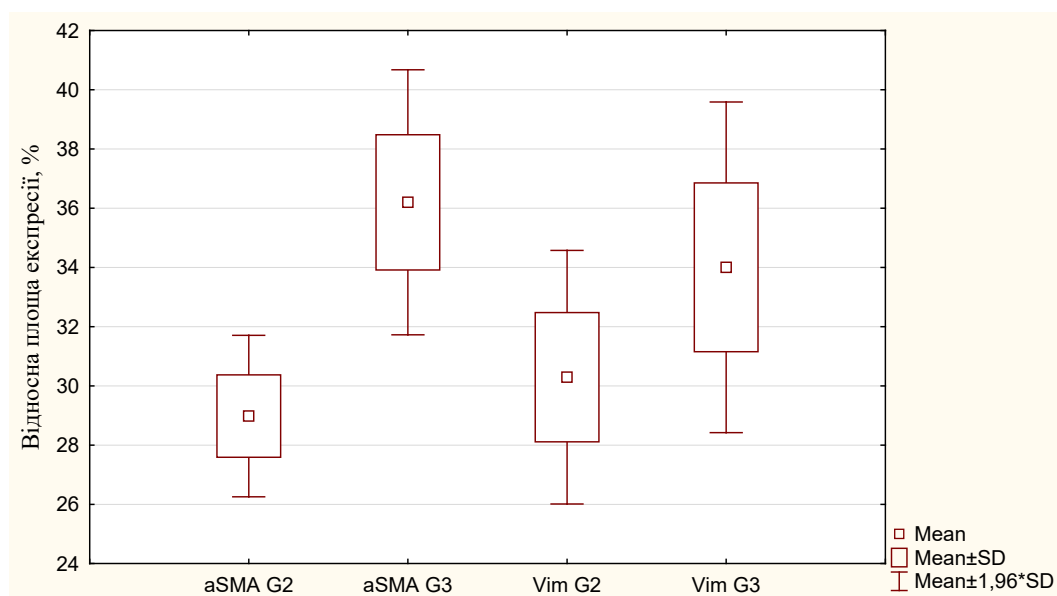


Рисунок 5.19 – Порівняльний аналіз відносної площі експресії α-SMA + та Vim + клітин в стромальному компартменті в пухлинах менше 3 см з G₂ та G₃ ступенем диференціювання.

В I групі при G₂ відносна площа експресії α-SMA була достовірно вищою показника групи контролю в 1,46 разів ($p < 0,05$) (рис.5.19, рис.5.20 А).

Імунопозитивна реакція на віментин спостерігалась у веретеноподібних клітинах строми (туморасоційованих фібробластах та міофібробластах), що оточували тубулярні, трабекулярні структури. Саме присутність туморасоційованих фібробластів, міофібробластів свідчить про кам'янисту щільність строми при ПАПЗ. Відносна площа віментину при G₂ в стромі пухлин менше 3 см склала Me=29,08% (28,55; 32,66) (рис.5.20 Б). Експресія віментину в стромі в 3,19 рази перевищує ($p < 0,05$) рівень експресії в зоні ЕМТ при G₂, в 1,99 рази ($p < 0,05$) в зоні ЕМТ при G₃ в пухлинах менше 3 см та достовірно вища групи контролю ($p < 0,05$).

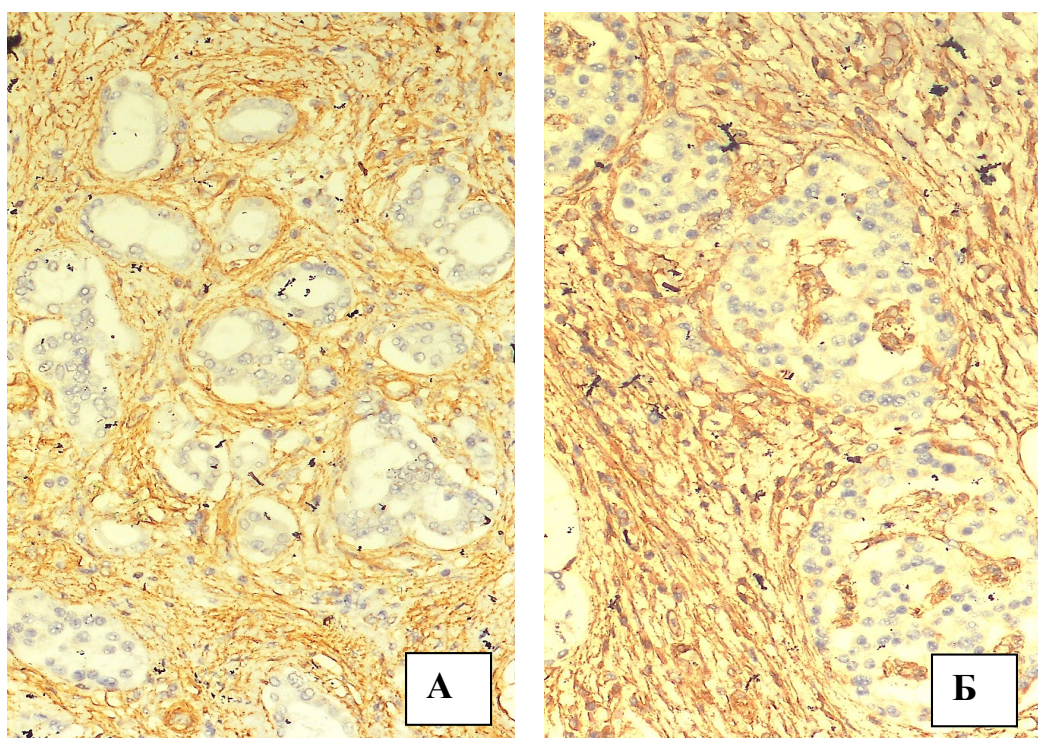


Рисунок 5.20 А, Б – Експресія мезенхімальних маркерів в стромальному компартменті ПАПЗ в пухлинах менше 3см помірного (G2) ступеню диференціювання. А: забарвлення: Мо Alpha Smooth Muscle Actin, Clone 1A4, Б: забарвлення: Мо a Hu Vimentin Ab-2 36. х400.

З погіршенням ступеню диференціювання спостерігається достовірне зростання відносної площі обох мезенхімальних маркерів. Так, відносна площа α -SMA-позитивних активованих ПЗК та веретеноподібних клітин в стромі в I групі G₃ ступеню диференціювання склала Me=36,36% (34,31; 37,38), при $p<0,05$ в порівнянні з підгрупою G₂. Відносна площа віментину в стромі в цій же підгрупі склала Me=35,02% (30,63; 36,04), що також достовірно вище, ніж в підгрупі порівняння ($p<0,05$). У порівнянні з групою контролю також присутня достовірна різниця в експресії α SMA та віментину ($p<0,05$)

В науковій літературі з'являється все більше даних про неоднозначну роль строми в процесі канцерогенезу на відміну від раніше існуючої точки зору про її стимулюючий ефект. Точні механізми взаємодій ракових клітин і елементів строми остаточно не вивчені.



5.1.5 Імуногістохімічні та морфометричні особливості стовбурових клітин протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах розміром менше 3 см

Таблиця 5.6 – Показники відносної площі експресії ЕрСАН та CD44 в залозисто-протоковому компартменті та в клітинах строми в пухлинах ПАПЗ ≤ 3 см

Маркери ступінь диференціювання	ЕрСАН	CD44	Значення р
G ₂	33,88%*† (32,89; 37,16)	18,49%*‡ (16,05; 22,77)	p<0,05
G ₃	27,26%*† (24,48; 28,62)	32,00%*‡ (30,78; 35,31)	p>0,05
Значення р	p>0,05	p<0,05	

Примітка. статистично достовірна різниця (p<0,05)

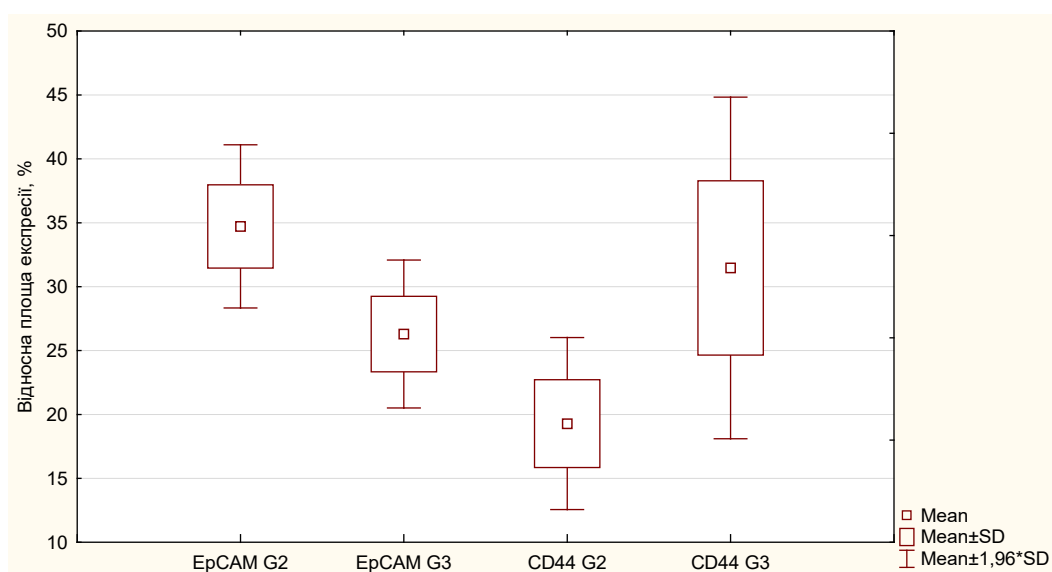


Рисунок 5.21 – Порівняльний аналіз відносної площі експресії ЕрСАН+ та CD44+ в клітинах залозисто-протокового та стромального компартментів в пухлинах менше 3 см з помірним та низьким ступенем диференціювання

При дослідженні експресії маркеру ЕрСАН в пухлинах з помірним ступенем диференціювання було встановлено коричневе дифузне мембранне забарвлення в дрібних тубулярних та трабекулярних структурах в 100%



випадків. В ацинарній тканині забарвлення мало гранулярне забарвлення. Показник відносної площі імунопозитивної реакції на ЕрСАН склав $Me=33,88\%$ (32,89; 37,16) (табл.5.6), (рис.5.21).

Встановлено недостовірне, в 1,24 рази, зниження експресії маркеру ЕрСАН в тубулярних та трабекулярних структурах із погіршенням ступеню диференціювання (G_2 $Me=33,88\%$ (32,89; 37,16); G_3 $Me=27,26\%$ (24,48; 28,62)).

В пухлинах з низьким ступенем диференціювання відмічалась статистично достовірна різниця в експресії ЕрСАН в тубулярних та трабекулярних структурах. Зниження імуні-позитивної реакції спостерігалось в ацинарній тканині. Відмічено збереження дифузного мембранного коричневого забарвлення ЕрСАН клітинами тубулярних та трабекулярних структур. В ацинарній тканині, навпаки, відмічались гранулярні імуні-позитивні клітини. Відносна площа експресії ЕрСАН була $Me=27,26\%$ (24,48; 28,62), що в 1,24 рази менше за показник в пухлинах менше 3 см з помірним ступенем диференціювання.

При паралельному ІГХ-дослідженні стовбурових клітин з використанням маркеру CD44 було встановлено як дифузне, так і гранулярне забарвлення в поодиноких ракових спотворених клітинах, що розміщені в стромі навколо трабекулярних структур, та в самих тубулярних та трабекулярних структурах. Ацинарна тканина була інтактною. Відносна площа експресії CD44 склала $18,49\%$ (16,05; 22,77).

Із погіршенням ступеню диференціювання в пухлинах менше 3см відмічалось збільшення відносної площі експресії CD44. Імуніпозитивна реакція на CD44 спостерігалась окрім тубулярних, трабекулярних структурах та в поодиноких ракових спотворених клітинах, але й вогнищево в ацинарній тканині. Статистична відмінність між відносними площами експресії маркеру стовбурових клітин була в 1,73 разів більшою в пухлинах з G_3 ступенем диференціювання та склала $Me=32,00\%$ (30,78; 35,31), при $p<0,05$.



Між маркерами стовбурових клітин при G₂ встановлений помірний прямий зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r=0,45$, при $p>0,05$), при G₃-зворотний слабкий помірний зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r=-0,19$, при $p>0,05$).

Резюме

Досліджено параметри гістоархітекτονіки, епітеліально-мезенхімальної трансформації, строми та особливості експресії стовбурових клітин в пухлинах протокової аденокарциноми підшлункової залози менше 3 см. Проведений порівняльний аналіз цих параметрів при G₂ та G₃ ступенях диференціювання.

Пухлини менше 3 см відрізняються слабким ступенем розвитку фібропластичної строми, на відміну від загальної групи пухлин ПАПЗ. Відносна площа стромального компонента в I групі в 2,59 рази нижча ($p<0,05$) від загального показника. При G₃ показник фіброзної строми співставний із загальним показником, також має помірний ступінь розвитку і перевищує показник при G₂ в 2,52 рази. Показники відносної площі тубулярних, трабекулярних комплексів, фібропластичної строми при G₃ співставні з показниками при ПАПЗ в цілому і достовірно відрізняються від показників при G₂. Зменшення відносної площі паренхіматозного компартменту при G₃ відбувається за рахунок втрати трабекулярних структур, відносна площа яких в 2,56 разів менша ($p<0,05$), аніж при G₂. Відносні площі тубулярних структур при G₃ перевищує в 2,76 рази ($p<0,05$), фібропластичної строми в 2,52 рази перевищують показники при G₂ ($p<0,05$).

Експресія Е-кадгерину в пухлинах менше 3 см в 1,42 рази перевищує загальний показник ($p<0,05$), при помірному ступеню диференціювання показник в 1,63 рази ($p<0,05$) перевищує показник при G₃. Рівень експресії β -катеніну в I групі перевищує в 1,28 рази ($p<0,05$) загальний показник, при G₂ показник достовірно, в 1,62 рази, перевищує показник при G₃ ($p<0,05$).



Показники маркерів цитоскелету в пухлинах менше 3 см: СК7 в 1,77 рази перевищує контрольний показник ($p<0,05$), СК18 перевищує контрольний показник більш суттєво - в 3,08 рази ($p<0,05$). Від загальних показників пухлин ПАПЗ СК7 в пухлинах менше 3см відрізняється меншим значенням в 2,42 рази ($p<0,05$), показник СК18 зменшений від загального показника менш суттєво - в 1,60 рази ($p<0,05$). При G_2 показник СК7 перевищує контрольний в 1,59 рази ($p<0,05$), 1,16 рази загальний в пухлинах ПАПЗ, в 2,80 рази показник в I групі ($p<0,05$), в 5,37 рази ($p<0,05$) перевищує показник в підгрупі G_3 . Рівень експресії СК18 в пухлинах менше 3 см в 3,00 рази нижчий за контрольний показник ($p<0,05$), в 1,57 рази нижчий за загальний показник в пухлинах ПАПЗ ($p<0,05$), співставний із загальним показником пухлин менше 3 см. При G_2 експресія СК7 перевищує рівень експресії СК18 в 2,53 рази ($p<0,05$). При G_3 ці показники співставні.

При G_3 рівень експресії СК7 нижчий за показник контрольної групи в 3,39 рази ($p<0,05$), СК18 – в 6,52 рази ($p<0,05$). Від показника відносної площі цитокератинів в загальній групі ПАПЗ рівень СК7 відрізняється 4,63 рази ($p<0,05$), СК18 - 3,40 рази ($p<0,05$). Середні показники цитокератинів в I групі перевищують показники при G_3 ; СК7 – в 1,92 ($p<0,05$), СК18 – в 2,11 рази ($p<0,05$).

В зоні ЕМТ в пухлинах менше 3 см, на відміну від раково-залозистого компартменту, встановлено достовірне зниженням Е-кадгерину – в 3,01 рази і достовірне зростання β -катеніну – в 3,09 рази. Показники епітеліальних маркерів зони ЕМТ в загальній групі вищі за показники I групи: Е-кадгерин - в 1,21 рази, β -катенін – в 1,25 рази.

Співвідношення Е-кадгерину до β -катеніну складає в раково-залозистому компартменті в загальній групі – 5,20, в I групі – в 4,72, при G_2 I групи – в 4,51 рази, при G_3 в 4,50 рази. В зоні ЕМТ β -катенін перевищує Е-кадгерин відповідно: в загальній групі - в 1,91 рази, в I групі – в 1,97 рази, при G_3 цієї ж групи - в 5,27 рази, при G_2 Е-кадгерин перевищує β -катенін – в 1,50 рази.



Мезенхімальні маркери в зоні ЕМТ в І групі нижчі за показники в загальній групі: відносна площа α -SMA в 1,28 рази, відносна площа віментину – в 1,71 рази. Показники відносної площі маркерів в пухлинах менше 3 см суттєво не відрізняються між собою. При G_2 в І групі α -SMA перевищує віментин в 1,58 рази, при G_3 показники маркерів співставні. Відносна площа віментину при G_2 в 1,60 рази нижча за показник при G_3 , відносна площа α -SMA суттєво не відрізняється при різному ступеню диференціювання.

Мезенхімальні маркери в І групі в стромі перевищують показники в зоні ЕМТ: відносна площа α -SMA в 2,40 рази, віментину – в 2,97 рази. При G_2 рівень α SMA в стромі вищий за показник в зоні ЕМТ в 2 рази, при G_3 – в 2,72 рази, рівень експресії віментину – в 3,19 та 2,40 рази. В стромі зразків І групи показники мезенхімальних маркерів співставні і суттєво не відрізняються від показників стромі загальної групи. При цьому рівень експресії α -SMA в І групі при G_2 перевищує показник по групі на 13,21%, при G_3 - нижче на 9,42%, показник віментину при G_2 перевищує показник по групі на 11,97%, при G_3 – нижче на 7,23%.

Встановлено зниження CD44 в І групі в порівнянні із загальною групою в 1,56 рази, показник EpCAM знижений всього на 3,55%. В загальній групі CD44 перевищує EpCAM в 1,22 рази, в І групі, навпаки, EpCAM перевищує CD44 в 1,40 рази. При G_2 EpCAM перевищує CD44 в 1,83 рази, при G_3 CD44 перевищує EpCAM в 1,17 рази. Рівень експресії CD44 при G_3 вищий, ніж при G_2 в 1,73 рази, рівень експресії EpCAM при G_3 знижується в 1,24 рази.

Встановлений достовірний прямий зв'язок (критерій Манна-Вітні) між епітеліальними маркерами в паренхімі і стромі при G_2 і G_3 , в зоні ЕМТ при G_2 – достовірний прямий зв'язок, при G_3 – достовірний зворотний зв'язок. При G_2 встановлений достовірний прямий зв'язок (критерій Манна-Вітні) в паренхімі і стромі між Е-кадгерином і мезенхімальними маркерами, а в зоні ЕМТ тільки між Е-кадгерином та віментином. При G_3 в паренхімі і стромі - достовірний зворотний зв'язок між епітеліальними маркерами і обома мезенхімальними маркерами, а також достовірний зворотний зв'язок між β -катеніном і



3616367231352456

мезенхімальними маркерами при G_2 . В зоні ЕМТ при G_2 встановлений достовірний прямий зв'язок між обома епітеліальними маркерами і віментином, при G_3 – достовірний зворотний зв'язок між Е-кадгерином і обома мезенхімальними маркерами і достовірний прямий між β -катеніном і обома мезенхімальними маркерами. Між маркерами стовбурових клітин встановлений достовірний зворотний зв'язок.



5.2.1 Гістологічні, гістохімічні та морфометричні особливості гістоархітекtonіки протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах більше 3 см

Прогресування ПАПЗ характеризується різким зменшенням залозисто-протокового компартменту за рахунок площі тубулярних структур, зростанням площі трабекулярного компоненту і заміщенням фіброзною стромою. Мікроскопічна будова залозисто-протокового компартменту представлена дрібними тубулоподібними комплексами та великими трабекулярними структурами, замуrowаними в рясну фібропластичну строму, що представлена видовженими веретеноподібними клітинами. Мікроскопічна картина фібропластичної стромы представлена щільним інфільтратом неракових стромальних клітин та компонентів екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ), який є відмінною рисою ПАПЗ.

Таблиця 5.7 – Показники відносної площі ракового залозисто-протокового та стромального компартменту в пухлинах ПАПЗ >3 см при помірному та низькому ступеню диференціювання

Компонент Ступені диференціювання	Тубулярні структури	Трабекулярні структури	Фіброзна строма
G ₂ (n=35)	27,70% (25,75%;29,85)	9,05% (8,06%;9,63%)	62,82% (61,52%;66,00%)
G ₃ (n=53)	4,25% (3,85%;5,52%)	15,30% (12,09%;18,09%)	80,02% (77,90%;83,46%)
Значення p	p<0,05	p<0,05	p<0,05

Примітка. статистична достовірна різниця (p<0,05)

Площа стромы складала 13-89%: Me=73,15% (Q₁=59,46; Q₃=77,69), мінімальний показник відносної площі 13,67%, максимальний – 89,24%; перевищувала показник групи порівняння в 2,54 р. Відносна площа стромального компартменту підшлункової залози в групі контролю складала Me=15,02% (Q₁=6,69; Q₃=26,17) і була достовірно нижча, ніж в основних групах (p<0,05) (табл.5.7).



361636723134456

Подібні зміни відстежуються не тільки зі збільшенням розміру пухлини, а і з погіршенням гістологічного фенотипу.

При помірному ступені диференціювання площа тубулярних структур була $Me=27,70\%$ ($25,75\%$; $29,85\%$), що в 2,60 рази менше відповідного показника при G_2 в пухлинах менше 3 см. Трабекулярний компонент склав 9,05%, перевищуючи площу цього компонента при аналогічній диференціації при розмірі пухлини до 3 см в 2,88 рази (рис.5.22). При цьому співвідношення тубулярного компонента до трабекулярного було 3,05 проти аналогічного показника 22,95 при розміру пухлини ≤ 3 см помірного ступеню диференціювання. Фіброзний компонент перевищує залозисто-протоковий в 1,71 рази. В пухлинах менше 3 см при помірній диференціації, навпаки, відзначене домінування залозисто-протокового компартменту над фіброзним в 3,02 рази.

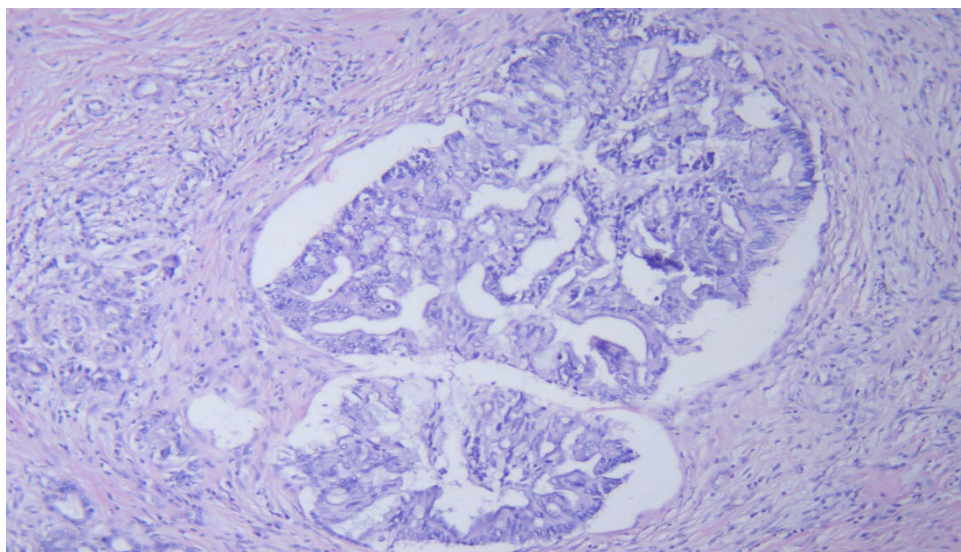


Рисунок 5.22 – Протокова аденокарцинома підшлункової залози. Дрібні тубулярні структури, трабекулярний комплекс із ретракцією, криброзні структури, що оточені поодинокими раковими спотвореними клітинами в пухлині більше 3см з помірним ступенем диференціювання. Забарвлення гематоксилін та еозин. Зб.:x200.



Мікроскопічна картина у II групі досліджень з помірним ступенем диференціювання також характеризувалась гетерогенністю гістологічної будови (рис. 5.23). У просвітах великих трабекулярних структур відмічалися невеликого розміру пробки/короки зі злущених клітин та муцинозним компонентом. Спостерігались дрібного та середнього розміру пласти ракових клітин, що знаходились на периферії пухлини та вогнищево по центру пухлин, та поодинокі криброзні структури різного розміру. У 100% випадків спостерігався помірний ступінь поліморфізму клітин в тубулярних та трабекулярних структурах, клітини мали відносно мономорфну будову, дещо витягнуту форму, з гіперхромним ядром середньої овальної форми з декількома ядерцями. Кількість фігур мітозу суттєво не відрізнявся від Ia підгрупи досліджень та склав до 10 фігур мітозу у 5 СПГЗ.

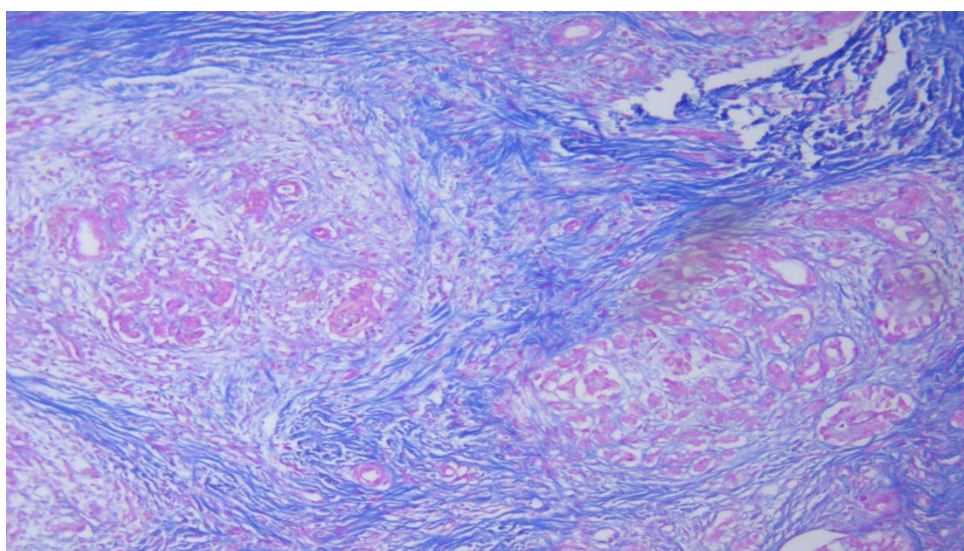


Рисунок 5.23 – Протокова аденокарцинома підшлункової залози. Дрібні тубулярні та трабекулярні комплекси, криброзні структури замуровані у помірно-виражену фібропластичну строму в пухлині більше 3см з помірним ступенем диференціювання. Забарвлення Массон-трихром. Зб.:x200

Стромальний компартмент був представлений помірно-вираженою фіброзною стромою, що замуровувала паренхіматозні структури. Ефект ретракції спостерігався тільки навколо великих трабекулярних структур.



36163672313456

Запальна інфільтрація мала виключно помірний ступінь розвитку в 20% випадків, а у 80% спостережень спостерігалась комбінація помірного та високого ступенів запальної інфільтрації як на периферії, так і по центру пухлини. Периваскулярна та периневральна інвазія спостерігалась у 67% випадків проти 36% при аналогічного ступеню диференціювання в пухлинах менше 3 см.

При гістологічному та гістохімічному дослідженні мікропрепаратів пухлин більше 3 см низького ступеню диференціювання (рис.5.24), як і в інших підгрупах, спостерігалась неоднорідність мікроскопічної картини.

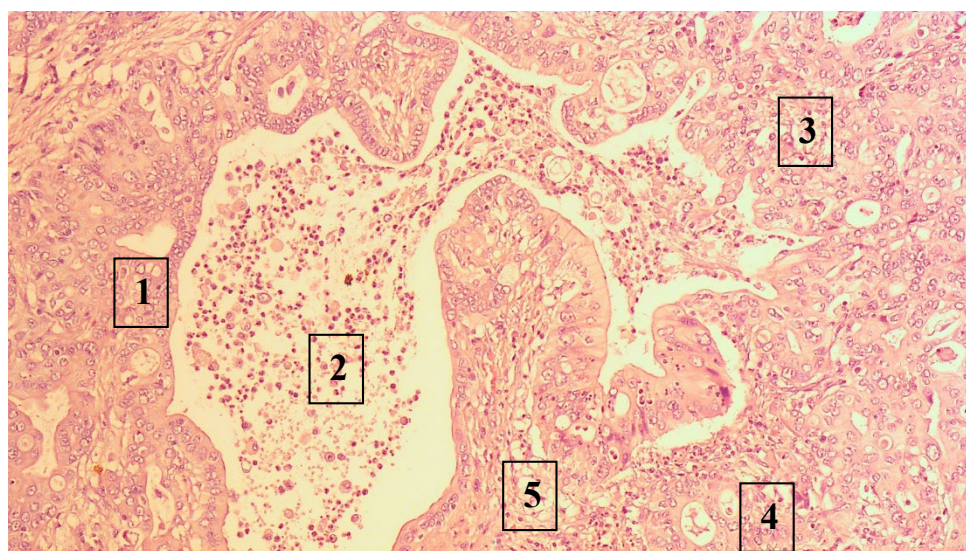


Рисунок 5.24 – Протокова аденокарцинома підшлункової залози. Велика трабекула (1) з пробкою/короком зі злущених клітин та муцинозним компонентом (2), криброзні структури (3), дрібні поодинокі тубули (4) із частковою ретракцією, оточені множинними раковими спотвореними клітинами (5) в пухлині більше 3см з низьким ступенем диференціювання.

Забарвлення гематоксилін та еозин. 3б.:x200.

Низький ступінь диференціювання відрізняється зменшенням частки тубулярного компоненту в 6,52 рази в порівнянні з помірним ступенем диференціювання, площа його склала 4,25%. Трабекулярний компонент склав 15,30% і перевищив показник при G₂ в 1,69 рази. Співвідношення між



3616367231342456

компонентами залозисто-протокового компартменту – 3,60 з перевищенням трабекулярного компоненту, на відміну від всіх інших аналізуємих підгруп, в яких переважав тубулярний компонент. Також, як і при помірному ступені диференціювання, в пухлинах більше 3см, відмічалися великі корки зі злущених клітин та муцинозний компонент у просвітах великих трабекулярних структурах. Клітини, що формували тубули та трабекули, мали більш виражений поліморфізм, аніж в інших підгрупах (різну форму та розмір, плейоморфні ядра різного розміру та з великою кількістю ядерців). Ядра знаходилися на різному рівні. Відмічалися фігури мітозу, кількість їх варіювала від 8 до 14 в 5 СПГЗ. Також були присутні криброзні структури від малого до великого розміру. Відмінною ознакою цієї підгрупи була також поява великих пластів з ракових спотворених клітин та клітин, що знаходилися у стані ЕМТ, та великих скупчень криброзних структур різного розміру та форми. Вони були локалізовані як на периферії так і по центру пухлини, навколо дрібних одиноких тубул або великих трабекул та комплексів з них.

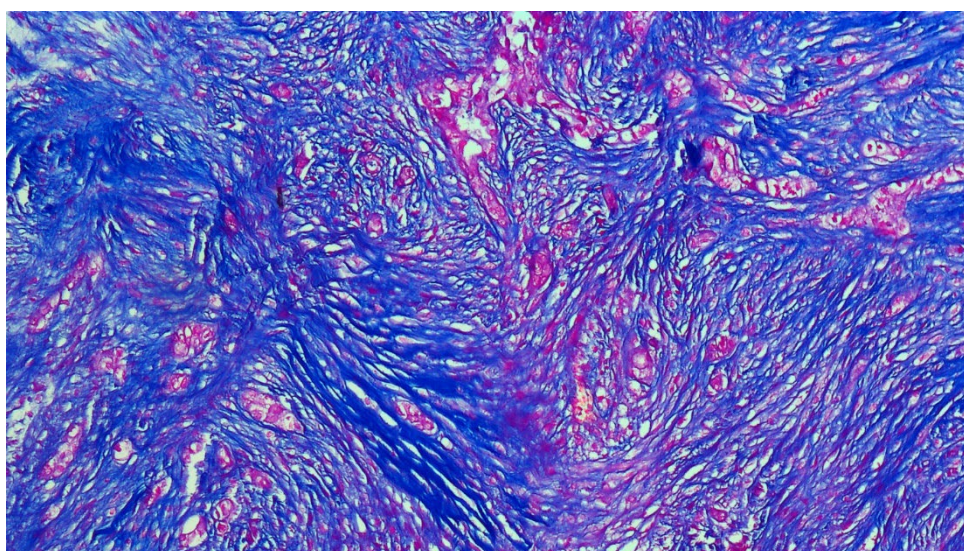


Рисунок 5.25 – Протокова аденокарцинома підшлункової залози. Дрібні криброзні структури замуровані у виражену рясну, щільну фібропластичну строму в пухлині більше 3см з низьким ступенем диференціювання.

Забарвлення Массон-трихром. 36.:x200.



Тубулярні структури формували дрібні, а трабекулярні структури - великі комплекси, замуrowані у рясну фібропластичну строму. Фіброзний компонент сягає максимуму в порівнянні з іншими підгрупами – 80,02% і перевищує залозисто-протоковий компартмент в 4,09 рази (рис.5.25).

В пухлинах розміром більше 3см було діагностовано 2 випадки із високим (G₁) ступенем диференціювання. При гістологічному дослідженні мікропрепаратів раковий залозисто-протоковий компартмент суттєво превалював над стромальним. Складався раковий залозисто-протоковий компартмент пухлини в основному із залозисто-протокових та тубулярних структур, які формували великі осередки тубулярних комплексів. Клітини, що виповнювали просвіт тубул мали однаковий розмір, дещо витягнуту форму, нормохромне ядро. Клітини, що формували залозисто-протокові структури також були однакової форми та будови з нормохромним ябром, але й мали ознаки PanIN-3 (панкреатичної інтраепітеліальної неоплазії 3 ступеню). Відзначені поодинокі фігури мітозу (1-3 у 5 СПГЗ). Стромальний компартмент мав слабкий ступінь фіброзу, та майже не відрізнявся від групи контролю.

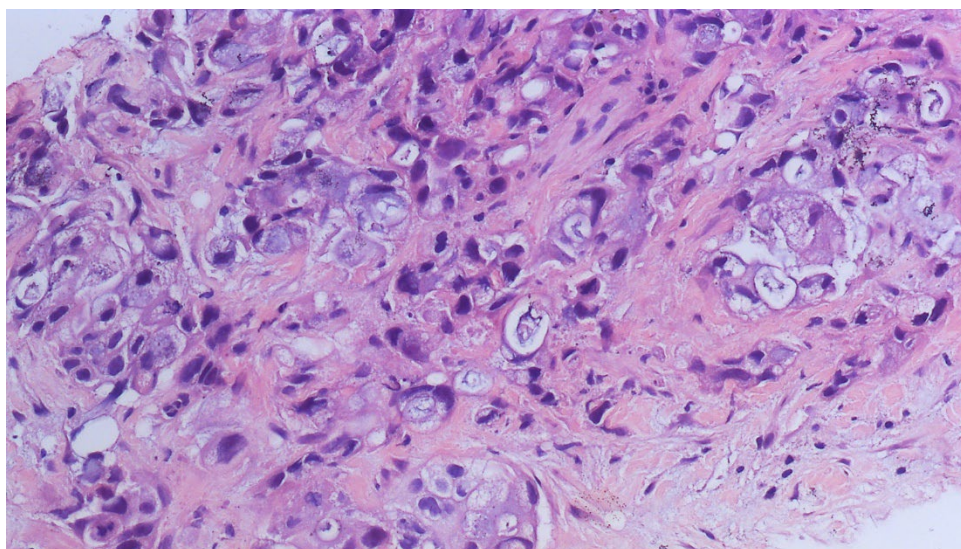


Рисунок 5.26 – Протокова аденокарцинома підшлункової залози. Криброзні структури, оточені множинними раковими спотвореними клітинами в пухлині більше 3см з G₄ ступенем диференціювання. Забарвлення гематоксилін та еозин. Зб.:x400.



Серед пухлин діаметром більше 3 см виявлені 4 випадки G₄ (недиференційований) ступеню диференціювання (рис.5.26). Гістологічна будова таких пухлин складалася в основному зі стромального компоненту, який займав трохи більше 90% і замурував у собі паренхіматозні структури (рис.5.27). У 100% випадків відмічався ефект ректракції.

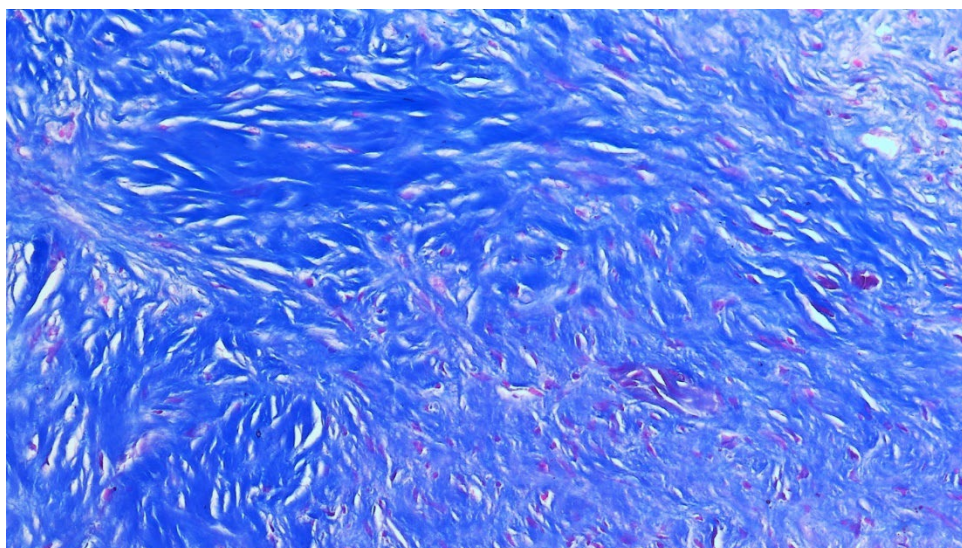


Рисунок 5.27 – Протокова аденокарцинома підшлункової залози. Дрібні спотворені ракові клітини замуровані у виражену рясну, щільну фібропластичну строму в пухлині більше 3см з G₄ ступенем диференціювання. Забарвлення Массон-трихром. Зб.:x200.

Паренхіматозний компартмент складався з великих криброзних структур, навколо яких знаходилися множинні плеїоморфні, потворні ракові клітини із великом ядром неправильної форми та з великою кількістю ядерець, хроматин неоднорідний. Співвідношення ядра до цитоплазми – 3:1, в деяких осередках таке співвідношення сягало 4:1. На периферії та по центру пухлин спостерігались великі пласти з дрібних та великих ракових спотворених клітин або з клітин, що знаходяться у стані епітеліально-мезенхімального переходу. Запальна інфільтрація в усіх 4 випадках мала високий ступінь вираженості. Тубулярні структури не спостерігались.



5.2.2 Імуногістохімічні та морфометричні особливості раково-залозистого компартменту протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах розміром більше 3 см

Прогресування злоякісного процесу ПАПЗ супроводжується достовірною втратою Е-кадгерину, більш вираженою при помірному ступеню диференціювання. В пухлинах G₂ розміром більше 3 см відносна площа експресії маркера склала Me=29,92% (23,78; 38,76) (табл.5.8) (рис.5.28), що менше в 1,38 разів за аналогічний показник I аналізованої групи (p<0,05).

Таблиця 5.8 – Показники відносної площі експресії епітеліальних маркерів в раковому залозисто-протоковому компартменті в пухлинах ПАПЗ > 3см при помірному та низькому ступені диференціювання

Маркери ступінь диференціювання	Е-кадгерин, протоки	β-катенін, протоки	СК7	СК18
G ₂	29,92% (23,78; 38,76)	5,67% (3,88;7,16)	23.58% (13.90; 30.42)	21.04% (8.42;29.38)
G ₃	23,90% (19,09;30,76)	2,25% (1,71;2,28)	15.00% (8.86; 20.86)	11.66% (8.24; 23.27)
Значення р	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05

Примітка. статистично достовірна різниця (p<0,05).

На відміну від помірного ступеню диференціювання в пухлинах менше 3 см, в пухлинах більшого розміру з аналогічним ступенем диференціювання в 100% випадків відзначена тільки мембрано-цитоплазматична експресія білка в тубулярних, трабекулярних комплексах та поодиноких криброзних структурах. При цьому в клітинах тубулярних та трабекулярних структур змінювалась інтенсивність забарвлення маркером від просвіту структур до їх базальної мембрани, що може свідчити про зміну полярності клітин. Також виявлялися вогнища як виключно дифузного, так і гранулярного мембрано-цитоплазматичного характеру забарвлення клітин.

Достовірна втрата Е-кадгерину супроводжувалась достовірним зниженням β-катеніну в залозисто-протоковому компартменті пухлин більше



3 см G₂ ступеню диференціювання в порівнянні з аналогічною підгрупою I аналізованої групи. Відносна площа маркеру β-катеніну склала - Me=5,67% (3,88; 7,16) (p<0,05).

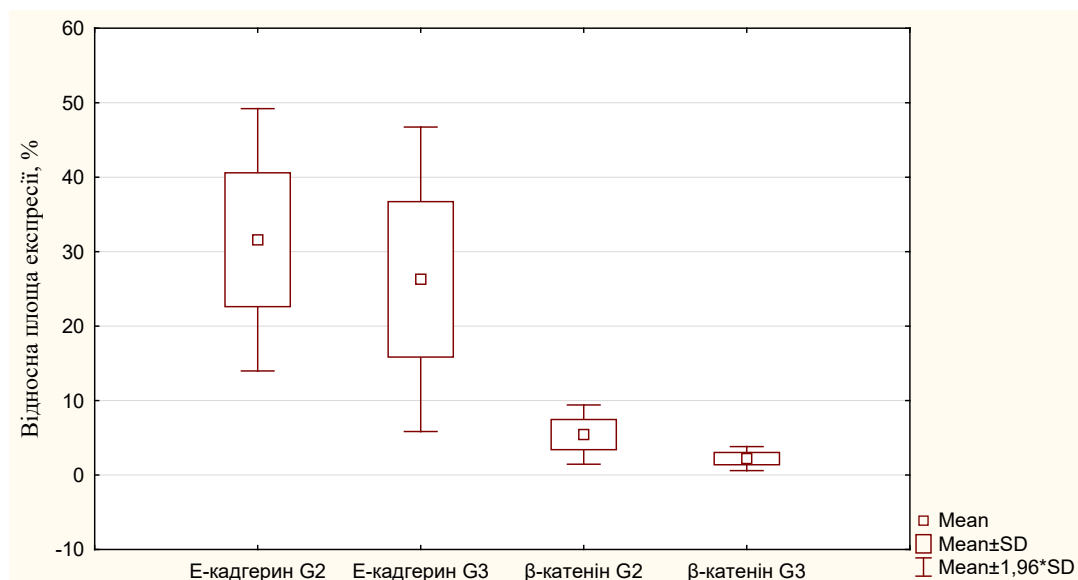


Рисунок 5.28 – Порівняльний аналіз відносної площі експресії Е-кадгерину+ та β-катенін+ клітин в залозисто-протоковому компартменті в пухлинах більше 3см з G₂ та G₃ ступенем диференціювання.

При цьому, як і в групі порівняння (G₂ ступінь диференціювання пухлин менше 3 см), спостерігалась мембрано-цитоплазматична експресія в трабекулярних та тубулярних комплексах з характерною зміною інтенсивності забарвлення клітин в бік базальної мембрани утворень. Також в пухлинах більше 3 см спостерігалась експресія маркеру в поодиноких криброзних структурах.

Звертає на себе увагу, що зниження ступеню диференціації в пухлинах більше 3 см не супроводжується такою ж вираженою втратою Е-кадгерину, яка спостерігалась в пухлинах менше 3 см при погіршенні гістологічного фенотипу. Відносна площа маркеру в підгрупі G₃ ступеню диференціювання в пухлинах більше 3 см склала 23,90% (19,09; 30,76), при цьому достовірно нижча від підгрупи G₂ ступеню диференціювання (p<0,05). В залозисто-протоковому компартменті спостерігалось мембрано-цитоплазматичне



забарвлення в 100% випадків з виключно мембранною експресією в нечисельних дрібних тубулярних і скупченнях великих трабекулярних структур. Відмінною особливістю експресії Е-кадгерину в цій підгрупі була більш різка зміна інтенсивності забарвлення спотворених ракових епітеліальних клітин в трабекулах на периферії, ніж в шарах клітин, що виповнювали просвіт трабекул.

На відміну від Е-кадгерину, закономірність зміни β -катеніну при погіршенні ступеню диференціювання в пухлинах більше 3 см залишається такою ж, як і в групі порівняння. Відносна площа маркеру в пухлинах G₃ ступеню диференціювання Me=2,25% (1,71; 2,28) достовірно нижча показника в пухлинах G₂ ($p < 0,05$). Низький ступінь диференціювання характеризувався мембрано-цитоплазматичною експресією нечисельних тубулярних, скупчень великих трабекулярних структур. Відзначена більш різка зміна забарвлення клітин.

При паралельному ІГХ-дослідженні залозисто-протокового компартменту пухлин більше 3см на цитокератини 7 та 18 було встановлено дифузну мембранну експресію в 100% в залозисто-протокових структурах, тубулярних та трабекулярних комплексах та в ацинарній тканині. Аналогічну експресію цитокератинів відмічено в групі порівняння.

При G₂ ступені диференціювання в II групі було встановлено дифузне мембранне забарвлення в ацинарній тканині, тубулярних та трабекулярних структурах, що формували комплекси. Відносна площа експресії СК7 склал Me=23,58% (13,90;30,42) (рис.5.29 А), у порівнянні з пухлинами Іа підгрупи достовірної різниці не виявлено ($p > 0,05$).

В пухлинах з G₃ ступенем диференціювання мікроскопічна картина експресії СК7 виглядала гірше у порівнянні з пухлинами більше 3 см з помірним ступенем диференціювання. Імунопозитивне забарвлення на СК7 було в тубулярних, трабекулярних та криброзних структурах (рис.5.29 Б). Ацинарна тканина в цій підгрупі дослідження мала меншу відносну площу



3616367231352456

експресії СК7 у порівнянні з пухлинами із помірним ступенем диференціювання.

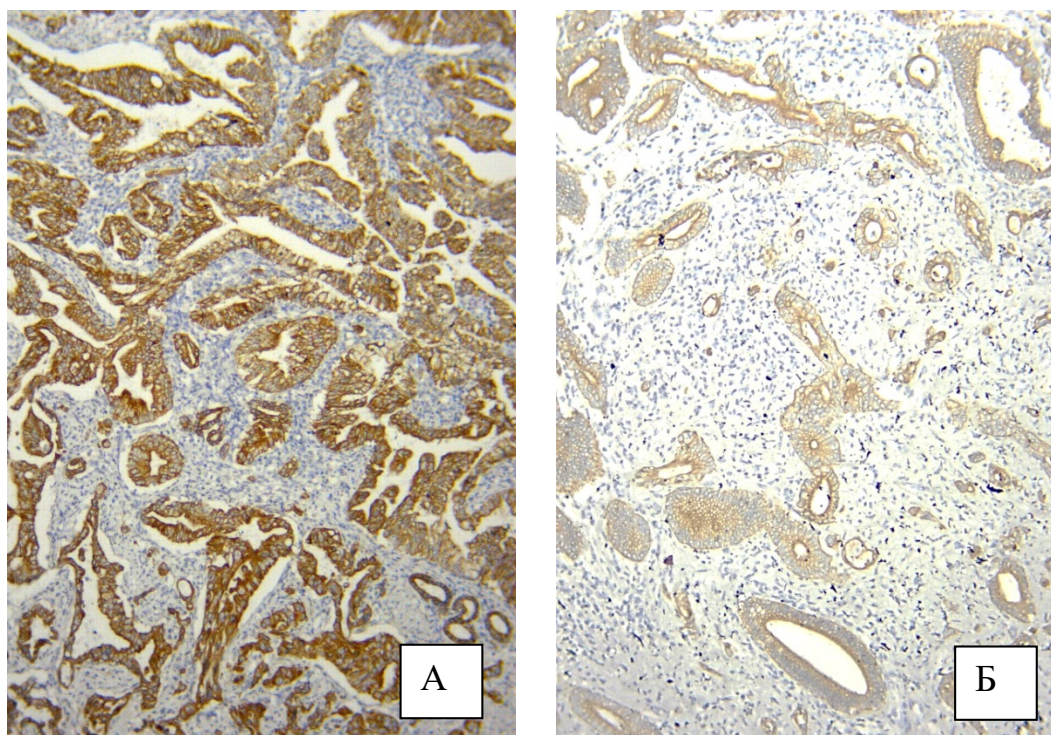


Рисунок 5.29 А, Б – Імуно-позитивна реакція клітин тубулярних, трабекулярних та криброзних структур на цитокератин 7 в пухлинах більше 3 см. А: G₂ ступінь диференціювання, Б: G₃ ступінь диференціювання.

Забарвлення Mo a Hu Keratine 7, Clone OV-TL 12/30. 36.:x200

Якщо при помірному ступені диференціювання спостерігалось дифузне мембранне забарвлення клітин у 100% з однаковою інтенсивністю фарбування, то із погіршенням ступеню диференціювання відмічалось зниження інтенсивності забарвлення клітин від тубулярних, трабекулярних до криброзних структур у бік базальної мембрани. Відносна площа СК7 склала Me=15,00% (8,86; 20,86) та була в 1,57 разів нижчою, аніж в пухлинах більше 3 см з G₂ ступенем диференціювання, при $p<0,05$. Суттєва статистична різниця експресії СК7 виявлена між пухлинами менше 3 та більше 3см із низьким ступенем диференціювання ($p<0,05$).



3616367231352456

Експресія СК18 спостерігалась також в ацинарній тканині, тубулярних та трабекулярних структурах в пухлинах більше 3 см із помірним ступенем диференціювання та мала дифузне, виключно мембранне забарвлення у 100% випадків (рис.5.30 А). Відносна площа експресії СК18 склала $Me=21,04\%$ (8,42; 29,38), що достовірно вище, ніж в пухлинах менше 3 см з таким же ступенем диференціювання.

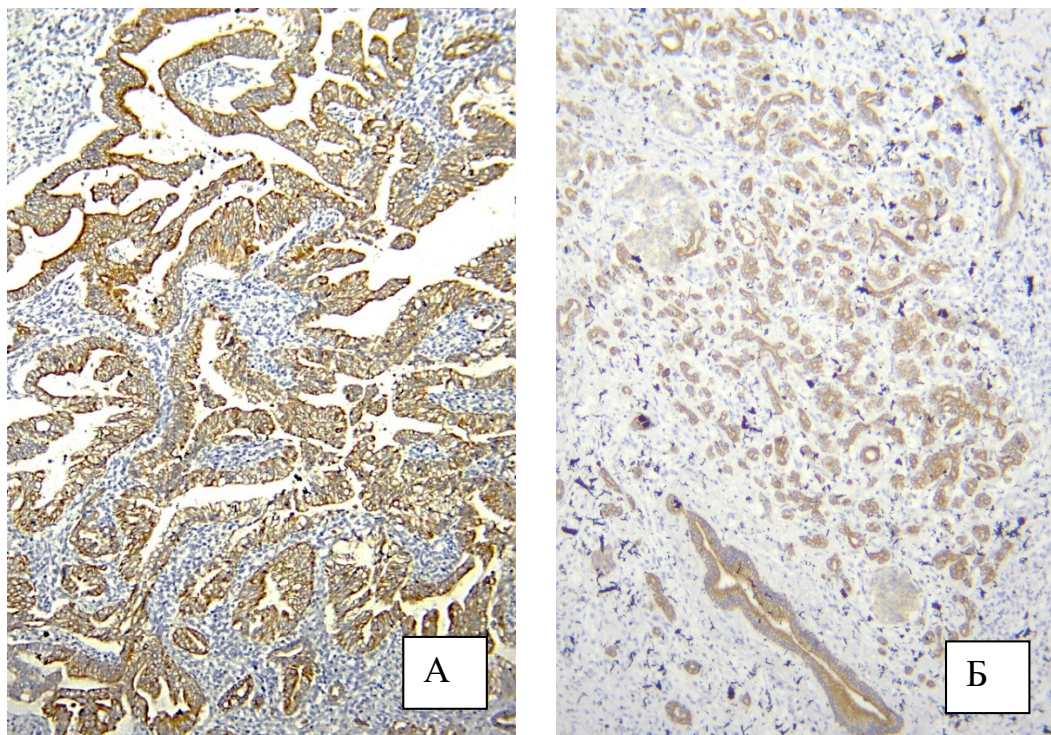


Рисунок 5.30 А, Б– Імуно-позитивна реакція клітин тубулярних, трабекулярних та криброзних структур на цитокератин 18 в пухлинах більше 3 см А: G₂ ступінь диференціювання, Б: G₃ ступінь диференціювання.

Забарвлення Мо а Hu Keratine 18, Clone DC10. 36.:x200.

Імунопозитивне дифузне коричневе забарвлення мембран клітин трабекулярних та криброзних структур відмічалось в пухлинах розміром більше 3см з G₃ ступенем диференціювання (рис.5.30 Б). В цій підгрупі відмічалось різке зниження відносної площі та інтенсивності експресії СК18 в ацинарній тканині у порівнянні з іншими підгрупами. Показник відносної площі експресії СК18 склав $Me=11,66\%$ (8,24; 23,27), що достовірно нижче, ніж в пухлинах II групи з G₂ ступенем диференціювання ($p<0,05$).



5.2.3 Імуногістохімічні та морфометричні особливості епітеліально-мезенхімальної трансформації протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах розміром більше 3 см

При порівнянні відносної площі Е-кадгерину в раковому залозисто-протоковому комплексі зони ЕМТ в пухлинах більше 3 см з помірним ступенем диференціювання з відповідним показником в пухлинах менше 3 см виявив втрату маркеру в 2,03 рази ($p < 0,05$). Відносна площа маркеру склала $Me = 9,26\%$ (5,38; 13,14) (табл.5.9) (рис.5.31). В порівнянні з показником залозисто-протокового компартменту відносна площа Е-кадгерину в раковому залозисто-протоковому комплексі зони ЕМТ при помірному ступеню диференціювання був нижчий в 3,23 рази ($p < 0,05$) в пухлинах більше 3 см. В пухлинах менше 3 см це співвідношення було менше і склало 2,20 на користь Е-кадгерину в залозисто-протоковому компартменті ($p < 0,05$). Зростання імунопозитивної зони ЕМТ було за рахунок великих пластів великих спотворених ракових клітин, проміж яких зустрічались дрібні поодинокі спотворені ракові клітини.

Таблиця 5.9 – Показники відносної площі експресії епітеліальних маркерів в зонах ЕМТ в пухлинах ПАПЗ > 3 см при помірному та низькому ступені диференціювання

Маркер Компонент	Е-кадгерин	β -катенін	CK7	CK18
G ₂ ЕМТ: залоз/прот комп	9,26% ^{†*} (5,38; 13,14)	13,13% [*] (10,60; 20,46)	18,72% ^{†*} (16,03; 26,28)	14,49% ^{†*} (11,68; 24,89)
G ₃ ЕМТ: залоз/прот комп	6,85% [*] (6,60; 7,84)	25,34% [*] (15,55; 30,14)	8,09% ^{•*} (7,69; 9,35)	8,24% ^{•*} (7,69; 11,65)
G ₂ ЕМТ: клітини і скупчення	17,14% ^{†‡} (16,80; 17,93)	12,94% [‡] (11,19; 14,92)	8,56% ^{†‡} (7,29; 9,80)	6,73% ^{†‡} (5,72; 7,06)
G ₃ ЕМТ: клітини і скупчення	7,34% [‡] (6,56; 8,17)	26,89% [‡] (16,91; 32,34)	4,04% ^{•‡} (3,84; 4,67)	4,12% ^{•‡} (3,84; 5,82)

Примітка. [†] - між ЕМТ залоз/прот комп та ЕМТ клітин і скуп в G₂ ($p < 0,05$), [•] - між ЕМТ залоз/прот комп та ЕМТ клітин і скуп в G₃ ($p < 0,05$), ^{*} - між ЕМТ залоз/прот комп та ЕМТ залоз/прот комп в G₂ та G₃ ($p < 0,05$), [‡] - між ЕМТ клітин і скуп та ЕМТ клітин і скуп в G₂ та G₃ ($p < 0,05$)



3616367231352456

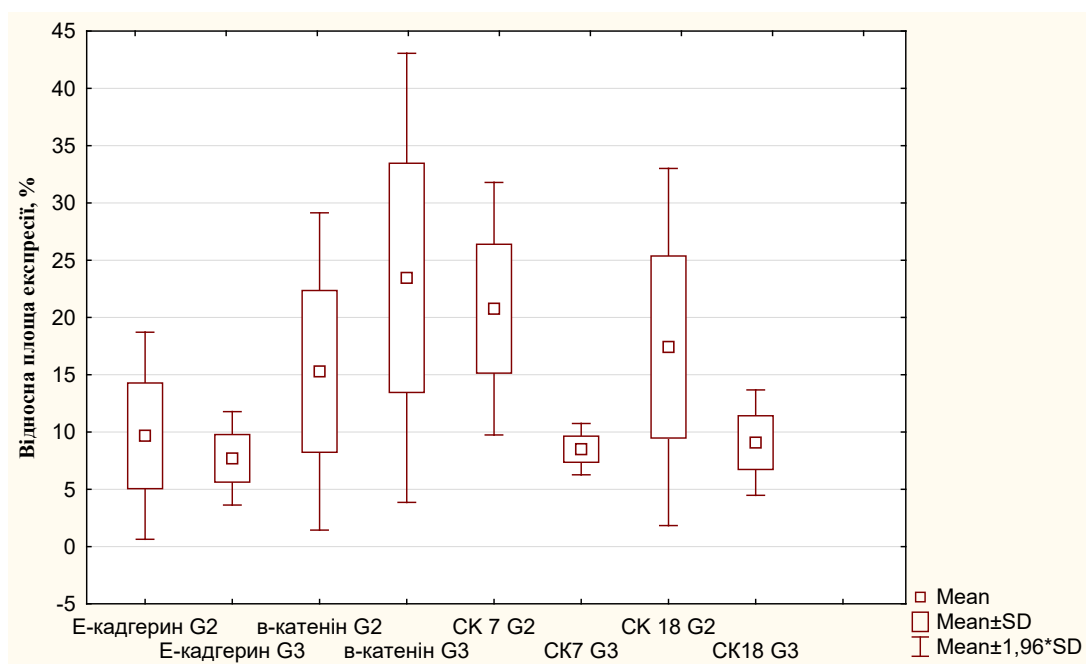


Рисунок 5.31 – Порівняльний аналіз відносної площі експресії Е-кадгерину, β-катенін, CK7 та CK18 позитивних клітин в раковому залозисто-протоковому компоненті зони епітеліально-мезенхімальної трансформації в пухлинах більше 3см з G₂ та G₃ ступенем диференціювання.

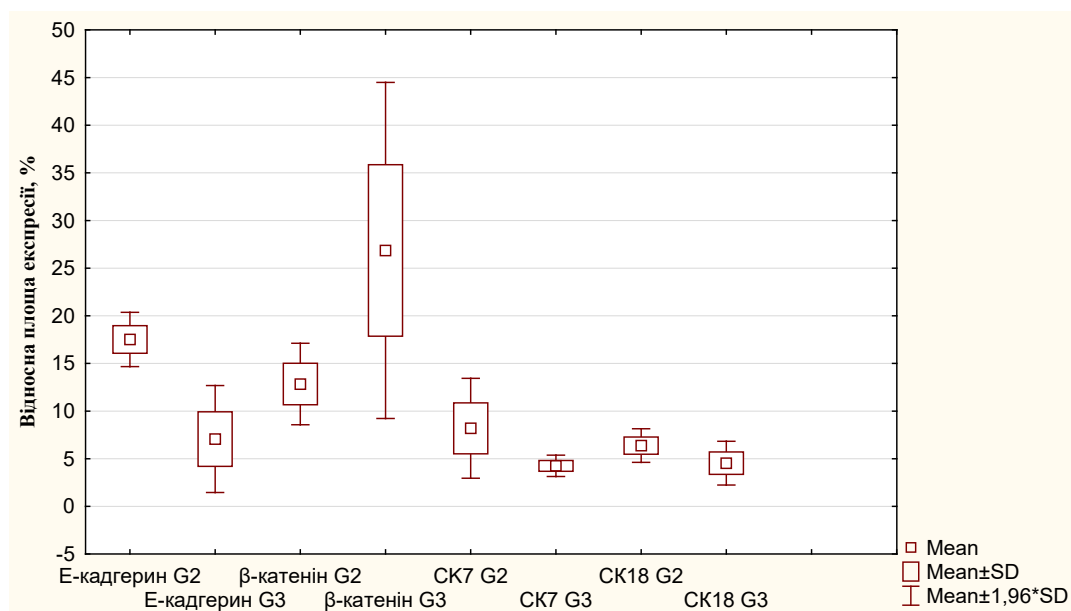


Рисунок 5.32 – Порівняльний аналіз відносної площі експресії Е-кадгерину, β-катенін, CK7 та CK18 позитивних клітин в раковому «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях зони епітеліально-мезенхімальної трансформації в пухлинах більше 3см з G₂ та G₃ ступенем диференціювання.



Відносна площа β -катеніну зі збільшенням розміру пухлини, навпаки, достовірно зростала і склала при помірному ступеню диференціювання $Me=13,13\%$ (10,60; 20,46), що 2,32 рази вище за показник відносної площі експресії цього ж маркеру в залозисто-протоковому компартменті в даній групі ($p<0,05$). У порівнянні з показником відносної площі експресії β -катеніну в раковому залозисто-протоковому комплексі зони ЕМТ між пухлинами з G_2 менше 3 см та більше 3 см суттєвого зростання не виявлено ($p>0,05$).

В пухлинах більше 3 см при низькому ступеню диференціювання спостерігається подальше достовірне зниження Е-кадгерину в раковому залозисто-протоковому комплексі зони ЕМТ. Відносна площа маркеру склала $Me=6,85\%$ (6,60; 7,84), що достовірно нижче показника при помірному ступеню диференціювання в цій групі ($p<0,05$). Показник Е-кадгерину в ЕМТ в 3,49 рази нижчий за показник в залозисто-протоковому компартменті в цій же підгрупі ($p<0,05$). При аналізі відносних площин експресії Е-кадгерину між пухлинами менше 3 см з низьким ступенем диференціювання з відповідним показником в пухлинах більше 3 см встановлено достовірну втрату в 1,38 разів ($p<0,05$), що свідчить про активний процес епітеліально-мезенхімального переходу.

Експресія β -катеніну при низькому ступеню диференціювання в пухлинах більше 3 см в раковому залозисто-протоковому комплексі зони ЕМТ достовірно зростає – $Me=25,34\%$ (15,55; 30,14) ($p<0,05$), що 1,93 рази більше показника в пухлинах G_2 ступеню диференціювання. Відносна площа маркеру в ЕМТ при низькому ступеню диференціювання в 11,26 рази перевищує показник в залозисто-протоковому компартменті. Ця різниця значно відрізняється від помірного ступеню диференціювання. В порівнянні експресії β -катеніну з I аналізуємою групою при помірному ступеню диференціювання відзначається незначне зростання маркеру. При низькому ступеню диференціювання, навпаки, рівень експресії β -катеніну достовірно знижується ($p<0,05$).



Також було проведено ІГХ-дослідження поодиноких «відшнурованих» клітин та їх скупчень на епітеліальні маркери Е-кадгерин та β -катенін. Імуно-позитивні клітини на Е-кадгерин та β -катенін демонстрували слабе дифузне мембрано-цитоплазматичне забарвлення. При помірному ступені диференціювання пухлини медіана відносної площі експресії Е-кадгерину була 17,14% (16,80; 17,93), на 5% та на 6% більше, ніж в аналогічних структурах пухлин менше 3 см з G_2 та G_3 ступенем диференціювання, відповідно, при $p < 0,05$. Відносна площа експресії β -катеніну у солідних скупченнях клітин/в поодиноких клітинах зон ЕМТ $Me = 12,94\%$ (11,19; 14,92) в пухлинах G_2 ступеню диференціювання. З прогресуванням та погіршенням ступеню диференціювання пухлин відмічалось зростання медіани відносної площі експресії β -катеніну ($Me = 26,89\%$ (16,91; 32,34)), при $p < 0,05$. Порівняльний аналіз експресії β -катеніну в поодиноких та в скупченнях клітин зон ЕМТ демонструє статистично достовірне підвищення показників медіани в пухлинах більше 3 см, ніж в I групі, незалежно від ступеню диференціювання пухлини. Епітеліально-мезенхімально трансформовані клітини, що розташовані поодинокі навколо тубулярних, трабекулярних та криброзних структур, мали частково дифузну та гранулярну мембрано-цитоплазматичну експресію Е-кадгерину. В пухлинах з помірним ступенем диференціювання відносна площа експресії Е-кадгерину була $Me = 17,14\%$ (16,80; 17,93), $p < 0,05$, а експресія β -катеніну – $Me = 12,94\%$ (11,19; 14,92), $p < 0,05$. З погіршенням ступеню диференціювання пухлин відмічалась статистично достовірна втрата Е-кадгерину ($Me = 7,34\%$ (6,56; 8,17)) (рис.5.33.), а відносна площа експресії β -катеніну, навпаки, зростала ($Me = 26,89\%$ (16,91; 32,34)), при $p < 0,05$.

Паралельно проводилося ІГХ-дослідження цитоскелету клітин ракових залозито-протокових комплексів зон ЕМТ із використанням СК7 та 18.



3616367231352456

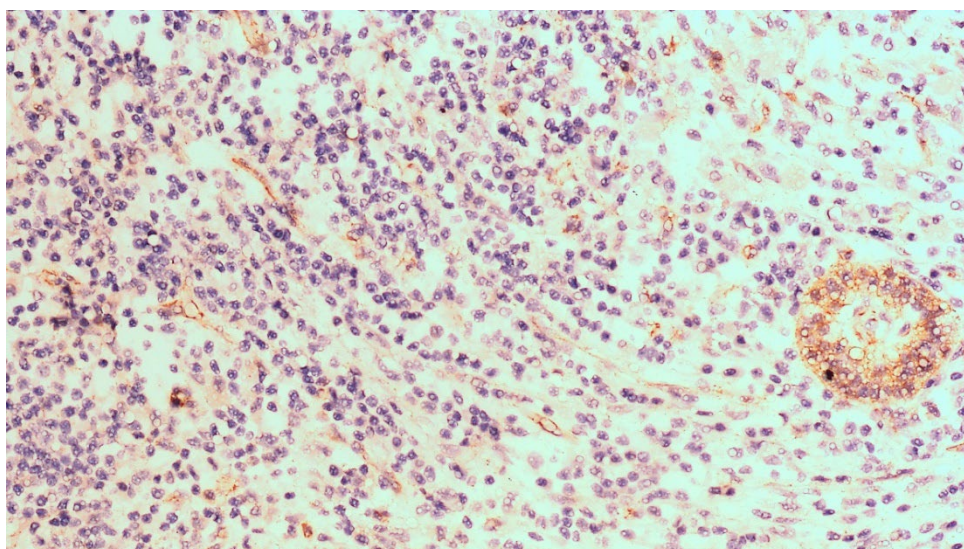


Рисунок 5.33 – Імуно-позитивна реакція на Е-кадгерин у «відшнурованих» клітинах зонм ЕМТ в пухлинах більше 3 см з низьким G₃ ступенем диференціювання. Забарвлення: Мо а-Нu E-Cadherin, Clone EP 700
У. 36.х200.

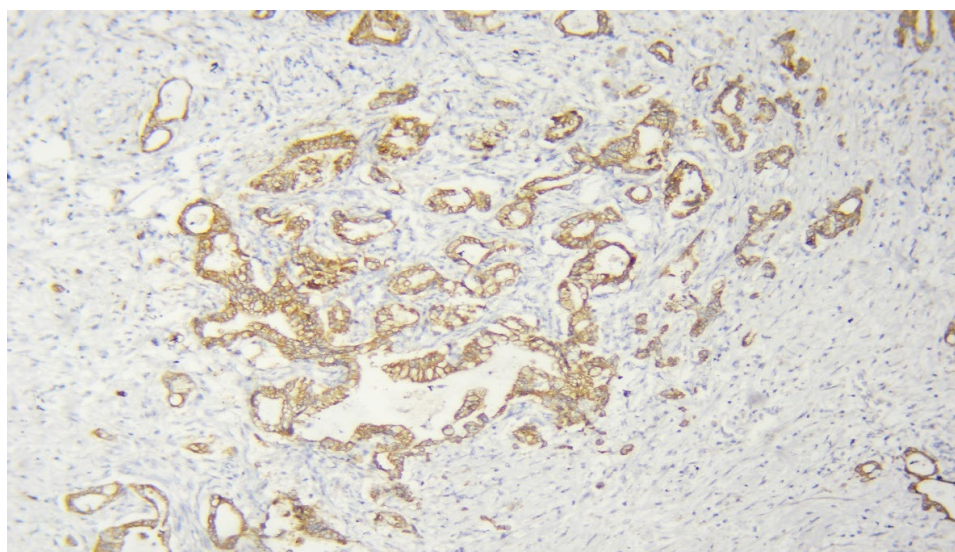


Рисунок 5.34 – Імуно-позитивна реакція клітин залозисто-протокового комплексу та «відшнурованих» клітин зони ЕМТ на СК 7 в пухлинах більше 3 см з помірним ступенем диференціювання. Забарвлення Мо а Нu Keratine 7, Clone OV-TL 12/30. 36.:х200.

Особливістю експресії обох маркерів в залозито-протокових комплексах зон ЕМТ пухлин більше 3 см було більш слабе дифузне



3616367231352456

мембрано-цитоплазматичне забарвлення, аніж в пухлинах менше 3 см (рис.5.34., рис 5.35.). Також спостерігалися дрібні ділянки ЕМТ, де не відмічалась експресія маркерів, що свідчило про повну втрату цитоскелету в даних клітинах.

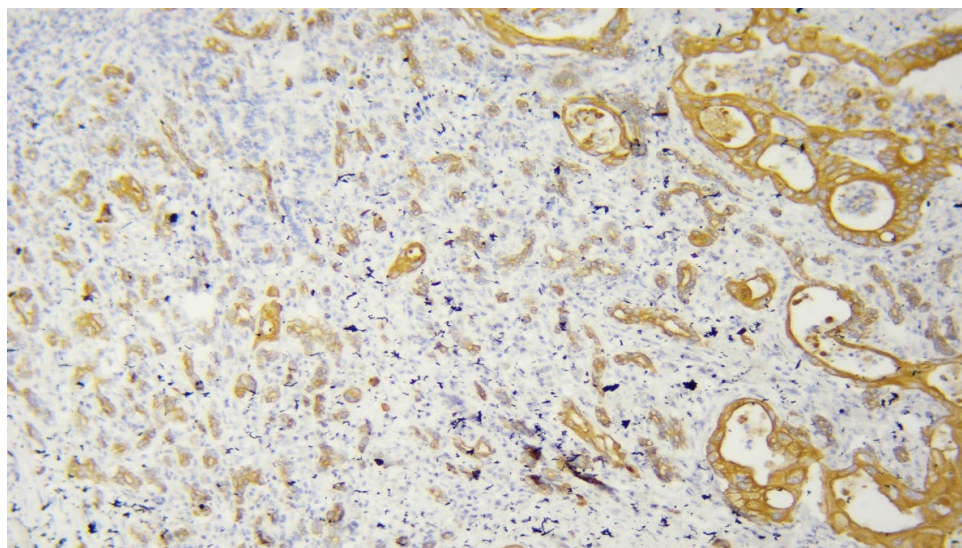


Рисунок 5.35 – Імуно-позитивна реакція клітин залозисто-протокового комплексу та «відшнурованих» клітин зони ЕМТ на СК18 в пухлинах більше 3 см з помірним ступенем диференціювання. Забарвлення Мо а Hu Keratine 18, Clone DC10. 36.:x400.

Відносна площа експресії СК7 $Me=18,72\%$ (16,03; 26,28) при G_2 , а при G_3 відмічалось статистично достовірне зниження, у 2,31 рази, експресії СК7 – $Me=8,09\%$ (7,69; 9,35). Відносна площа експресії СК18 $Me=14,49\%$ (11,68; 24,89) при G_2 , при G_3 – $Me=8,24\%$ (7,69; 11,65), що майже в 2 рази нижче, аніж в пухлинах з G_2 , при $p<0,05$. У «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях відзначалося частково гранулярне мембранне та мембрано-цитоплазматичне коричневе забарвлення на маркери СК7 та 18. В пухлинах з G_2 експресія СК7 складала $Me=8,56\%$ (7,29; 9,80), $p<0,05$, а експресії СК18 – $Me=6,73\%$ (5,72; 7,06), $p<0,05$.



3616367231352456

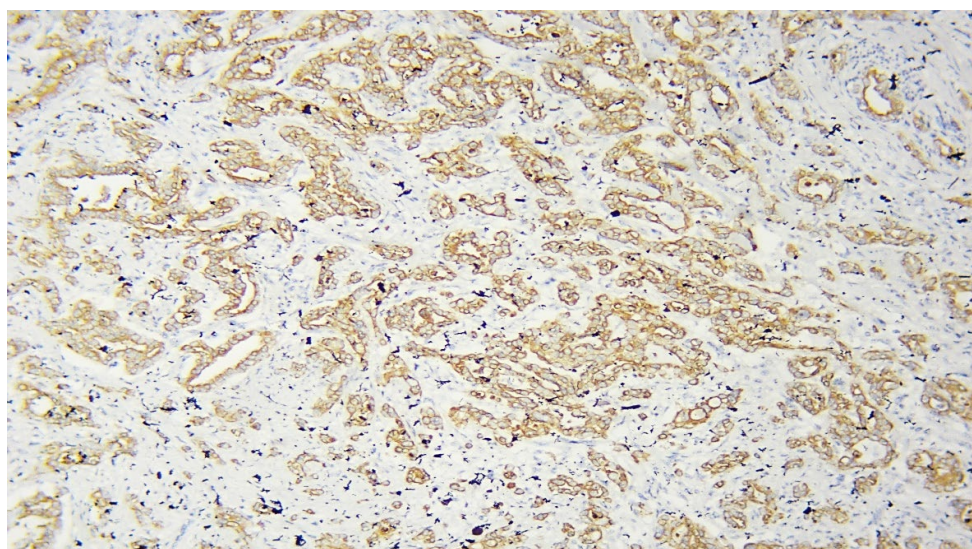


Рисунок 5.36 – Імуно-позитивна реакція клітин криброзних структур та «відшнурованих» клітин зони ЕМТ на СК7 в пухлинах більше 3 см з низьким ступенем диференціювання. Забарвлення Мо а Ну Keratine 7, Clone OV-TL 12/30. 36.:x200.

В пухлинах з G_3 спостерігалось статистично достовірне зниження експресії СК7 (Me=4,04% (3,84; 4,67)) (рис.5.36.) та незначне зниження СК18 (Me=4,12% (3,84; 5,82)), відповідно, порівняно з пухлинами G_2 . В поодиноких «відшнурованих» клітинах зон ЕМТ відмічається достовірне зниження експресії СК7 та 18 при обох ступенях диференціювання порівняно з раковими залозисто-протоковими комплексами.

В пухлинах з G_2 та G_3 в залозисто/протоковому компоненті зон ЕМТ між показниками відносних площин експресії Е-кадгерину встановлений помірний прямий зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r=0,48$, при $p>0,05$), між показниками експресії β -катеніну - сильний зворотний зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r=-0,86$, $p>0,05$); в клітинних скупченнях та «відшнурованих» клітинах встановлений помірний прямий зв'язок Е-кадгерину (коефіцієнт Пірсона $r=0,54$, при $p>0,05$), сильний зворотній зв'язок маркеру β -катеніна (коефіцієнт Пірсона $r=0,99$, при $p<0,05$).

Встановлений сильний зворотний кореляційний зв'язок між показниками епітеліальних маркерів (Е-кадгерином та β -катеніном) в



пухлинах з помірним ступенем диференціювання в залозисто/протоковому компоненті зон ЕМТ (коефіцієнт Пірсона, $r = -0,89$, $p > 0,05$), сильний прямий зв'язок - в пухлинах гіршого ступеню диференціювання (коефіцієнт Пірсона $r = 0,86$, $p > 0,05$). У «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях встановлений помірний прямий зв'язок в пухлинах помірного ступеню диференціювання (коефіцієнт Пірсона $r = 0,46$, $p > 0,05$) та прямий слабкий зв'язок в пухлинах низького ступеню диференціювання (коефіцієнт Пірсона $r = 0,24$, $p > 0,05$). Прямі зв'язки можуть бути пов'язані з неповним переходом клітин з епітеліального фенотипу у мезенхімальний, а також може демонструвати один з 6 ступенів трансформації епітеліальних клітин у стромальні.

Між показниками експресії СК7 в протоковому компоненті та «відшнурованих» клітинах та скупченнях клітин зони ЕМТ в пухлинах G₂ встановлений слабкий прямий зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r = 0,18$, при $p > 0,05$), в пухлинах G₃ - сильний прямий зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r = 1,00$, при $p < 0,05$). Стосовно СК18, відповідно встановлені при G₂ зворотний сильний зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r = -0,78$, при $p > 0,05$), при G₃ - сильний прямий зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r = 1,00$, при $p < 0,05$).

Встановлений негативний достовірний зв'язок між Е-кадгерином та β -катеніном в залозисто-протоковому компоненті зон ЕМТ (при G₂ критерій Манна-Вітні $z = -2,56$, при $p < 0,05$, при G₃ $-z = -3,45$, при $p < 0,05$). У «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях зон ЕМТ при G₂ встановлений достовірний прямий зв'язок (U-критерій $z = 3,55$, при $p < 0,05$), при G₃ - достовірний негативний зв'язок (U-критерій $z = -3,63$, при $p < 0,05$). За критерієм Манна-Вітні не встановлено статистично достовірного зв'язку між цитокератинами ні в залозисто-протоковому компоненті, ніж у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях зон ЕМТ у всіх підгрупах.

Н-критерій між показниками відносних площин експресії Е-кадгерину та β -катеніну в залозисто-протоковому компоненті зон ЕМТ в пухлинах низького ступеню диференціювання дорівнював $H1 = 4,09$, при $p < 0,05$, що статистично достовірно. В той же час критерій Краскела-Волліса в



аналогічних структурах зон ЕМТ у групі порівняння демонстрував статистично недостовірну різницю між медіанами відносних площин експресії епітеліальних маркерів $H_0=2,41$, при $p>0,05$. Кореляційний аналіз Краскела-Воліса між медіанами відносних площин експресії епітеліальних маркерів у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях зон ЕМТ в пухлинах помірного ступеню диференціювання продемонстрував статистично недостовірну різницю, а в групі порівняння відмічається $H_1=4,51$, при $p<0,05$ відповідно.

Н-критерій між показниками відносних площин маркерів цитоскелету (СК7 та 18) в залозисто-протоковому компоненті зон ЕМТ в пухлинах G_2 та G_3 ступеню диференціювання дорівнював $H_0=1,03$ та $H_0=2,23$, при $p>0,05$. Критерій Краскела-Уоліса між медіанами відносних площин СК7 та СК18 в ухлинах помірного та низького ступеню диференціювання у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях в зонах ЕМТ також демонстрував $H_0=0,56$ та $H_0=0,13$, при $p>0,05$.

Таблиця 5.10 – Показники відносної площі експресії мезенхімальних маркерів в зонах ЕМТ в пухлинах ПАПЗ > 3 см

Маркери ступінь диференціювання	α -SMA, ЕМТ	Vim, ЕМТ	Значення р
G_2	24,78% ^{*†} (19,43; 26,15)	23,84% ^{*‡} (22,54; 26,91)	$p>0,05$
G_3	18,14% ^{•†} (15,49; 25,66)	22,03% ^{•‡} (21,00; 24,51)	$p<0,05$
Значення р	$p<0,05$	$p>0,05$	

Примітка. статистично достовірні різниці ($p<0,05$)

При паралельному дослідженні мезенхімальних маркерів у зонах ЕМТ було встановлено дифузне коричневе мембрано-цитоплазматичне забарвлення у дрібних та великих спотворених ракових клітинах, що локалізувалися поодинокі навколо тубулярних та трабекулярних структур та формували ракові пласти різного розміру (табл.5.10) (рис.5.37). Пласти з ракових клітин



локалізувалися як на периферії так і по центру пухлини, навколо поодиноких тубулярних структур і трабекулярних комплексів.

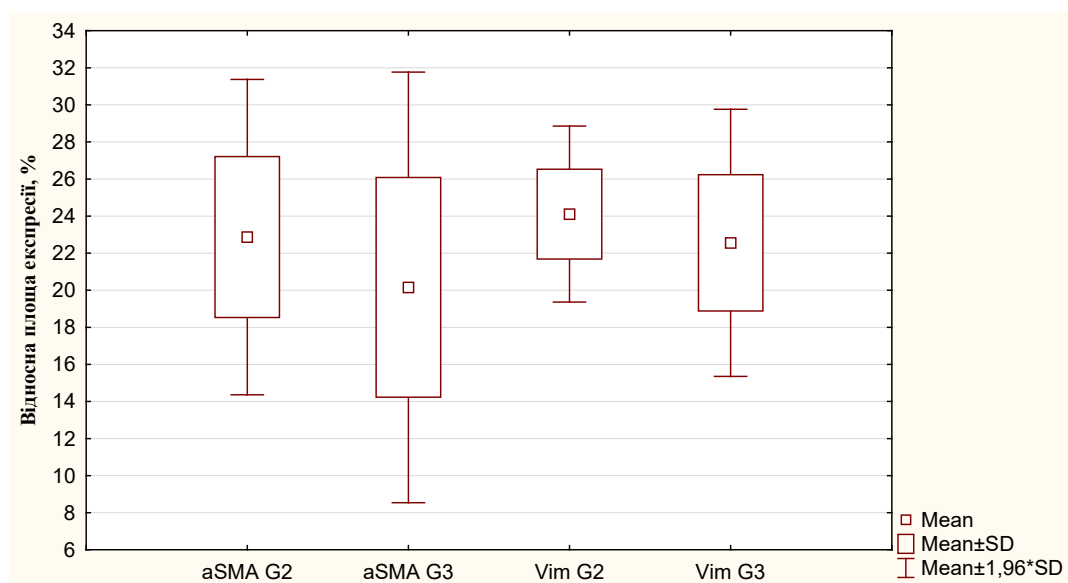


Рисунок 5.37 – Порівняльний аналіз відносної площі експресії α SMA + та Vim + клітин в зоні епітеліально-мезенхімальної трансформації в пухлинах більше 3см з G₂ та G₃ ступенем диференціювання.

Аналіз експресії мезенхімальних маркерів при помірному ступеню диференціювання в пухлинах більше 3 см виявив достовірне підвищення відносної площі віментин-позитивних клітин (Me=23,84% (22,54; 26,91)) ($p<0,05$) в порівнянні з обома підгрупами I групи.

Стосовно онкобілка α SMA також відзначена позитивна динаміка. При помірному ступеню диференціювання в II аналізуємій групі відносна площа α SMA-позитивних клітин склала Me=24,78% (19,43; 26,15) (рис.5.38 А), що достовірно перевищувало показники підгруп I групи ($p<0,05$). Імунопозитивні клітини локалізувалися навколо поодиноких тубулярних та трабекулярних структур та у ракових пластах дрібного та середнього розміру. Також були виявленні поодинокі α SMA-позитивні клітини в великих трабекулярних структурах.



3616367231352456

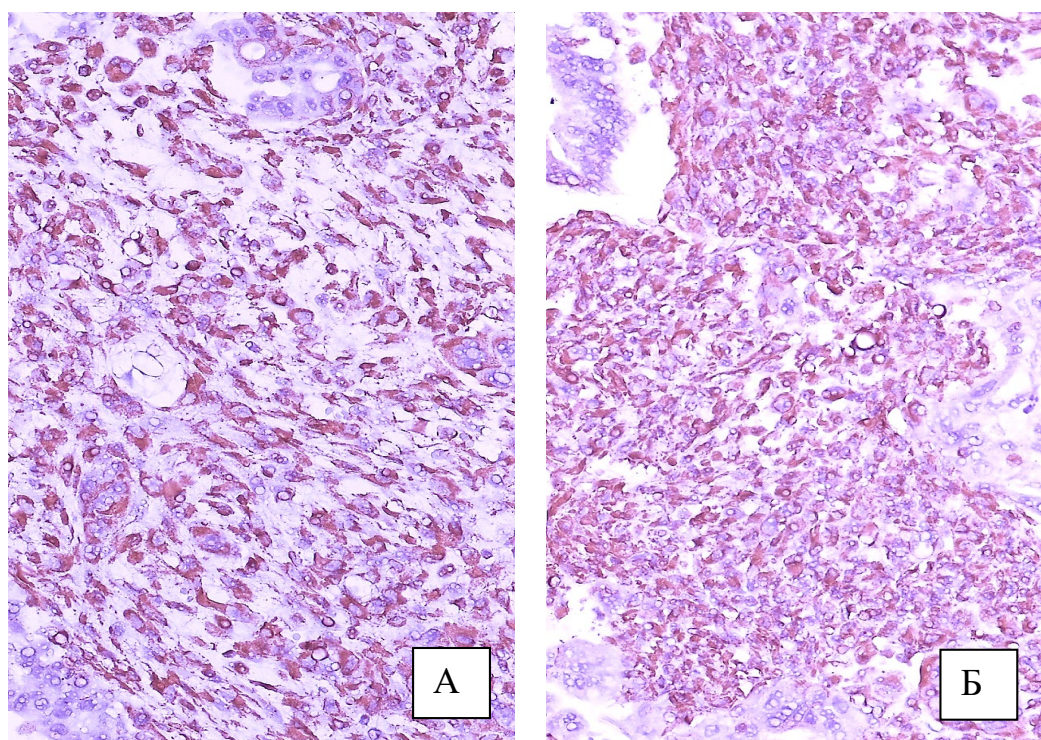


Рисунок 5.38 А, Б– Імунопозитивна реакція «відшнурованих» клітин та їх скупчень зон ЕМТ на гладенько-м'язовий актин в пухлинах більше 3см А: G₂ ступінь диференціювання, Б: G₃ ступеню диференціювання. Мо Alpha Smooth Muscle Actin, Clone 1A4. Зб. x400.

Звертає на себе увагу суттєве зростання мезенхімальних маркерів зі збільшенням розміру пухлини і відсутність прогресуючої динаміки з погіршенням ступеню диференціювання. Ракові спотворені клітини ЕМТ також мали дифузне мембрано-цитоплазматичне коричневе забарвлення. Так, відносна площа віментин-позитивних клітин склала $Me=22,03\%$ (21,00; 24,51). Відносна площа експресії α SMA онкомаркеру навіть достовірно зменшується при низькому ступеню диференціювання – $Me=18,14\%$ (15,49; 25,66) ($p<0,05$) (рис.5.38 Б). Однак обидва показники залишаються достовірно вищими за показники обох ступенів диференціювання в пухлинах менше 3 см ($p<0,05$).



5.2.4 Імуногістохімічні та морфометричні особливості стромального компартменту протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах розміром більше 3 см

Як і в I групі, стромальний компартмент II групи складався з активованих ПЗК, туморасоційованих фібробластів та міофібробластів (веретеноподібні клітини), білків та складних сполук екстрацелюлярного матриксу. Саме вони формують щільної консистенції фіброзну/фібропластичну строму, що замурує в собі структури паренхіми. Від агресивності стромального мікросередовища пухлини залежить прогресування раку та розвиток пухлин низького ступеню диференціювання. Основними маркерами стромального компартменту ПАПЗ залишаються гладком'язовий актин та віментин.

Дослідження маркерів стромального компартменту продемонстрував залежність цих маркерів від ступеню диференціювання в пухлинах ПАПЗ різного розміру.

Порівняльний аналіз маркерів стромального компартменту із прогресуванням процесу ПАПЗ виявив, що відносна площа α SMA-позитивних клітин при помірному ступеню диференціювання в пухлинах більше 3 см склала $Me=35,11$ (34,16; 38,69) (табл.5.11) (рис.5.39), що достовірно перевищує показник аналогічного ступеню диференціювання в пухлинах меншого розміру, але не відзначено динаміки в порівнянні з G₃ I аналізуємої групи. Експресія даного маркеру спостерігалась у вигляді дифузного мебрано-цитоплазматичного коричневого забарвлення в активованих ПЗК та веретеноподібних клітинах, що щільно оточували тубулярні та трабекулярні структури. Активовані ПЗК були більш агресивними у порівнянні з пухлинами Ia підгрупи, беруть участь у формуванні та підтримці рясної щільної фібропластичної стромы та запальної реакції високого ступеню у стромі. Показник відносної площі α SMA-позитивних клітин в II групі з помірним



3616367231352456

ступенем диференціювання був достовірно вищий за показник імунопозитивних клітин на α SMA в зоні EMT ($p < 0,05$).

Таблиця 5.11 – Показники відносної площі експресії мезенхімальних маркерів у стромальному компартменті в пухлинах ПАПЗ > 3 см

Маркери ступінь диференціювання	α SMA строма	Vim строма	Значення p
G ₂	35,11%*† (34,16; 38,69)	39,51%*† (35,12; 42,07)	$p > 0,05$
G ₃	46,95%*† (45,00; 52,34)	44,88%*† (37,58; 49,52)	$p > 0,05$
Значення p	$p < 0,05$	$p < 0,05$	

Примітка. статистично достовірна різниця ($p < 0,05$)

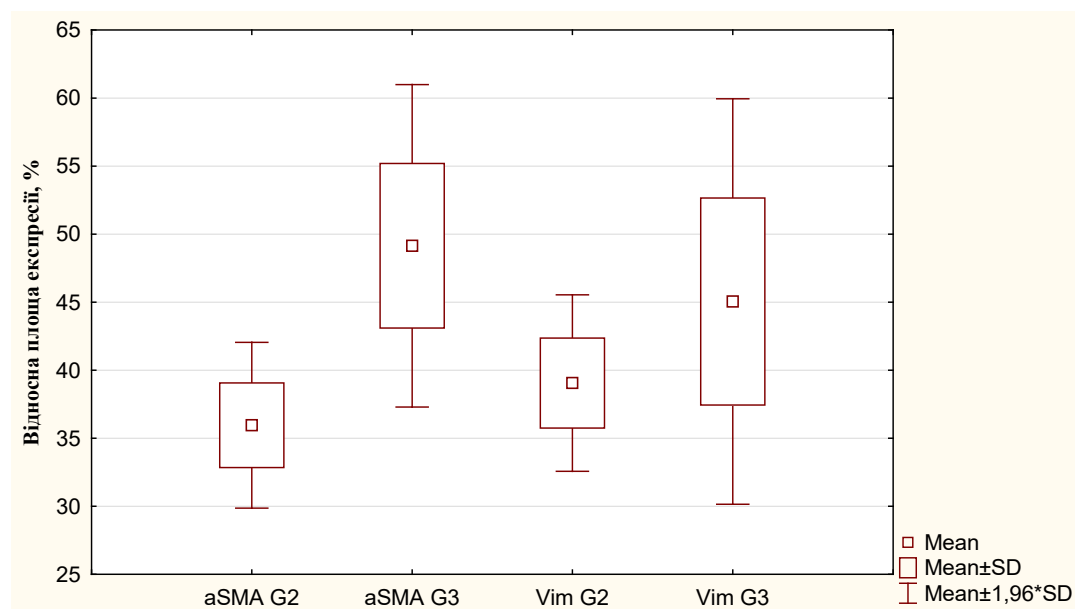


Рисунок 5.39 – Порівняльний аналіз відносної площі експресії α SMA + та Vim + клітин в стромальному компартменті в пухлинах більше 3 см з G₂ та G₃ ступенем диференціювання.

При порівнянні відносної площі експресії гладко-м'язового актину в пухлинах більше 3 см з помірним ступенем диференціювання та групою контролю виявлено достовірне підвищення показника відносної площі імунопозитивних клітин на α SMA в основній підгрупі в 1,78 разів ($p < 0,05$).



Імунопозитивна реакція з віментином спостерігалась у веретеноподібних клітинах строми (туморасоційованих фібробластах, міофібробластах), що локалізувалися навколо тубулярних, трабекулярних, криброзних структур. Відносна площа віментину в даній групі склала $Me=39,51\%$ ($35,12; 42,07$). Експресія віментину в стромі в 1,66 рази перевищує ($p<0,05$) рівень експресії в зоні ЕМТ при помірному ступеню диференціювання і в 1,79 рази ($p<0,05$) в зоні ЕМТ при низькому ступеню диференціювання в пухлинах більше 3 см. У порівнянні з групою контролю також присутня достовірна різниця в експресії віментину ($p<0,05$).

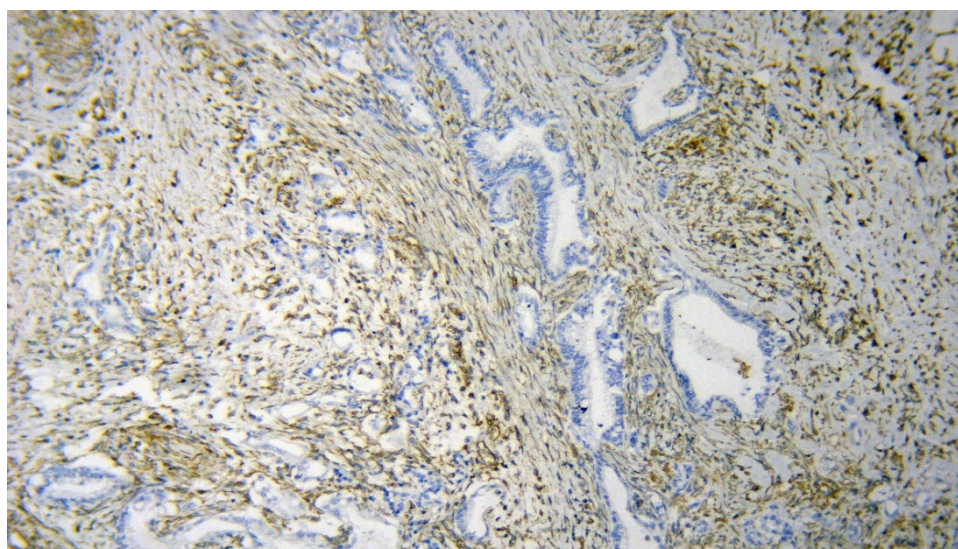


Рисунок 5.40 – Експресія гладенько-м'язового актину в стромальному компартменті ПАПЗ помірного (G2) ступеню диференціювання. Мо Alpha Smooth Muscle Actin, Clone 1A4. 36. x200.

З погіршенням ступеню диференціювання спостерігається достовірне зростання відносної площі обох мезенхімальних маркерів. Показник відносної площі α SMA-позитивних активованих ПЗК та веретеноподібних клітин в стромі в пухлинах більше 3 см G₃ ступеню диференціювання склала $Me=46,95\%$ ($45,00; 52,34$), при $p<0,05$ в порівнянні з підгрупою G₂ (рис.5.40). Такі показники експресії маркеру α SMA в клітинах строми та активованих



ПЗК свідчить про активізацію запального процесу, що запускає каскад утворення більш щільної фібропластичної строми в ПАПЗ, що буде забезпечувати більшу гіпоксію та стійку хіміорезистентність. Експресія віментину спостерігалась в аналогічних клітинах, як і при помірному ступені диференціювання пухлин більше 3см. Відносна площа віментину в клітинах фібропластичної строми склала $Me=44,88\%$ (37,58; 49,52), що також достовірно вище, ніж в підгрупі порівняння ($p<0,05$). У порівнянні з групою контролю також присутня достовірна різниця в експресії α SMA та віментину ($p<0,05$)

В науковій літературі з'являється все більше даних про неоднозначну роль строми в процесі канцерогенезу на відміну від раніше існуючої точки зору про її стимулюючий ефект. Точні механізми взаємодій ракових клітин і елементів строми остаточно не вивчені.

5.2.5 Імуногістохімічні та морфометричні особливості стовбурових клітин протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах розміром більше 3 см

Таблиця 5.12 – Показники відносної площі експресії ЕрСAM та CD44 в раковому залозисто-протоковому компартменті та в клітинах строми в пухлинах ПАПЗ > 3см

Маркери Показник	ЕрСAM	CD44	Значення р
G ₂	32,53%*† (31,89; 36,23)	34,07%*‡ (30,99; 38,14)	$p>0,05$
G ₃	22,91%*† (18,06; 25,49)	46,89%*‡ (42,87; 48,35)	$p<0,05$
Значення р	$p<0,05$	$p<0,05$	

Примітка 1: * - статистично достовірна різниця ($p<0,05$)

В пухлинах більше 3 см, у порівнянні з першою групою дослідження, спостерігалась незначна втрата експресії маркеру стовбурових клітин ЕрСAM в ацинарній тканині, тубулярних та трабекулярних комплексах. Експресія маркеру мала гранулярний мембранний характер забарвлення, відмічалися вогнища збереженого дифузного коричневого забарвлення мембран в тубулах



та трабекулах. Також імунопозитивне гранулярне забарвлення мембран локалізувалося в характерних для цієї групи дрібних криброзних структурах.

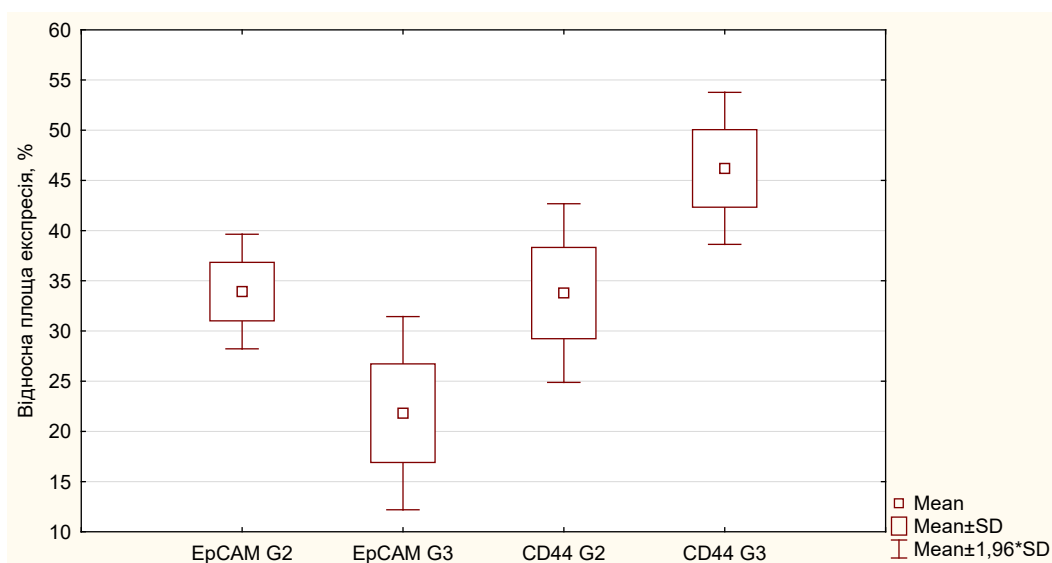


Рисунок 5.41 – Порівняльний аналіз відносної площі експресії EpCAM+ та CD44+ в клітинах залозисто-протокового та стромального компартментів в пухлинах більше 3см з помірним та низьким ступенем диференціювання.

При дослідженні експресії маркеру EpCAM в пухлинах з помірним ступенем диференціювання було встановлено коричневе гранулярне мембранне забарвлення тубулярних, трабекулярних та криброзних структур та відмічалися осередки збереженого дифузного забарвлення мембран в тих же структурах. В ацинарній тканині суттєвого зниження експресії маркеру не виявлено у порівнянні з пухлинами менше 3 см з G₂ ступенем диференціювання. Показник відносної площі імунопозитивної реакції на EpCAM склав $Me=32,53\%$ (31,89; 36,23) (табл. 5.12) (рис. 5.41, рис. 5.42 А). При проведенні ІГХ-реакції на EpCAM в пухлинах з низьким ступенем диференціювання спостерігалось суттєве зниження показників відносної площі експресії даного маркеру в тубулярних, трабекулярних, криброзних структурах та в ацинарній тканині (рис.5.42 Б). При мікроскопічному вивченні експресії EpCAM клітинами тубулярних та трабекулярних структур було відмічено збереження дифузного мембранного коричневого забарвлення. В



ацинарній тканині навпаки, відмічались гранулярні імунопозитивні клітини. Відносна площа експресії ЕрСМ була в 1,42 рази менше за відповідний показник в цій же групі вивчення, але із помірним ступенем диференціювання, та склала $Me=22,91\%$ (18,06; 25,49), при $p<0,05$. При паралельному аналізі отриманих даних показник відносної площа експресії ЕрСМ в пухлинах з G₃ ступенем диференціювання більше 3см мав суттєве зниження в 1,19 разів, аніж відповідний показник у групі порівняння, при $p<0,05$.

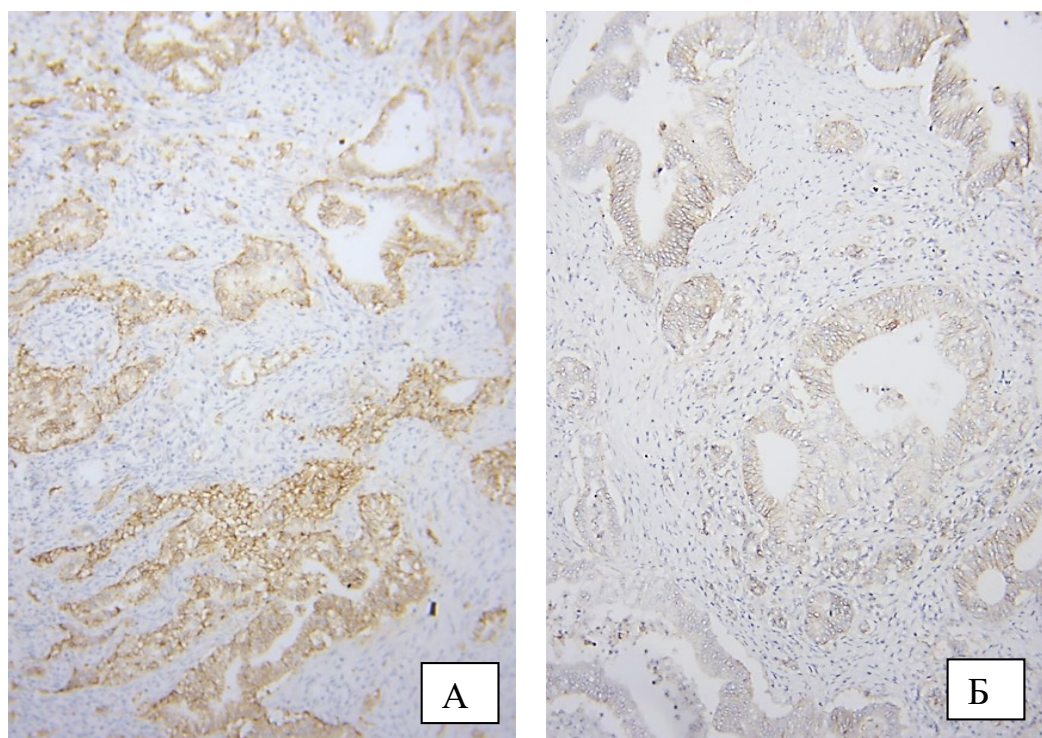


Рисунок 5.42 А,Б – Дифузна та частково гранулярна мембранна та мембранно-цитоплазматична імуно-позитивна реакція клітин тубулярних, трабекулярних та криброзних структур на ЕрСМ в пухлинах більше 3 см А: G₂ ступінь диференціювання, Б: G₃ ступінь диференціювання. Забарвлення Rb a Hu ЕрСМ. Зб.:x400.

З прогресуванням розміру пухлини відмічалось суттєве зростання експресії CD44. При мікроскопічному вивченні було встановлено гранулярне забарвлення у пластах з ракових спотворених клітин, що розміщені в стромі навколо трабекулярних структур. В самих тубулярних та трабекулярних



3616367231352456

структурах експресія маркеру знижувалась у порівнянні з відповідною мікроскопічною картиною у групі порівняння. Так, показник відносної площі експресії CD44 в пухлинах з помірним ступенем диференціювання склав 34,07% (30,99; 38,14) (рис.5.43.), що в 1,84 рази вищий, за відповідний показник у групі порівняння, при $p < 0,05$.

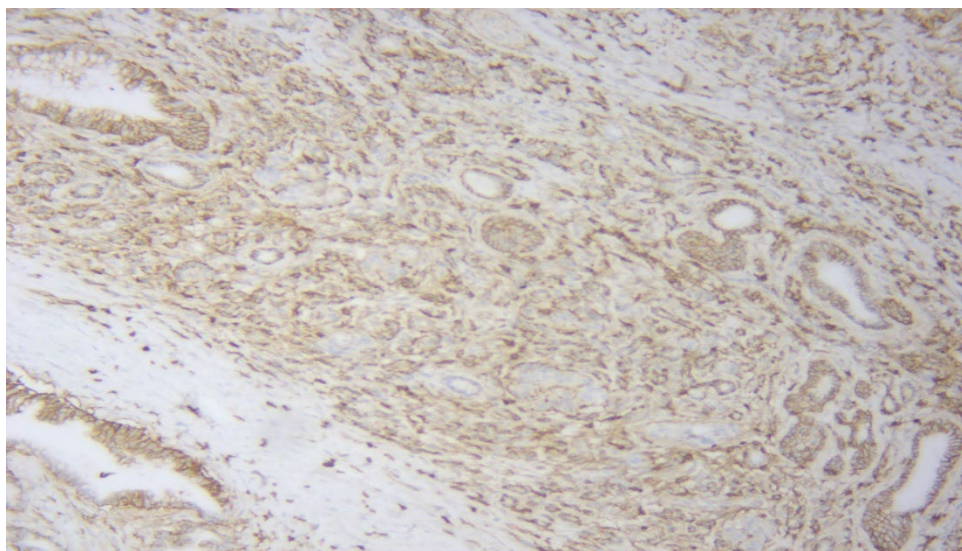


Рисунок 5.43 – Дифузна та частково гранулярна мембранна та мембранно-цитоплазматична імуно-позитивна реакція клітин тубулярних, трабекулярних, криброзних структур та клітин стромального компартменту на CD44 в пухлинах більше 3 см з G₂ ступенем диференціювання. Забарвлення. CD44 Std./HCAM Ab-4 (*Clone 156-3C11*) 36.:x200.

Зі зниженням ступеню диференціювання в II групі дослідження погіршувався показник відносної площі експресії CD44. Імунопозитивне забарвлення маркером спостерігалось у великих пластах спотворених ракових клітин, в поодиноких спотворених ракових клітинах, що оточували трабекули, тубули, а також в криброзних структурах та туморасоційованих фіброблестах. Самі ж трабекулярні та тубулярні структури були інтактними. Показник відносної площі експресії CD44 суттєво зростав в пухлинах з G₃ ступенем диференціювання у порівнянні з пухлинами G₂ ступеню диференціювання і



склав $Me=46,89\%$ (42,87; 48,35), ($p<0,05$). Між показниками відносної площі експресії маркеру стовбурових клітин в пухлинах менше та більше 3см з низьким ступенем диференціювання встановлено статистичну різницю, при $p<0,05$.

Між показниками маркерів стовбурових клітин EpCAM та CD44 в пухлинах більше 3 см з помірним ступенем диференціювання встановлений слабкий прямий зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r=0,01$, при $p>0,05$), при низькому ступені, навпаки, - зворотний слабкий помірний зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r=-0,22$, при $p>0,05$).

Резюме

Досліджено параметри гістоархітекτονіки, епітеліально-мезенхімальної трансформації, строми та особливості експресії стовбурових клітин в пухлинах протокової аденокарциноми підшлункової залози більше 3 см. Проведений порівняльний аналіз цих параметрів при G_2 та G_3 ступенях диференціювання.

В пухлинах більше 3 см показник відносної площі фібропластичної строми в 2,55 рази вищий, ніж в пухлинах менше 3 см. При G_3 показник відносної площі строми перевищує показник при G_2 в 1,27 рази.

При G_2 відносна площа тубулярних структур перевищує площу трабекулярних структур в 3,06 рази, при G_3 , навпаки, відносна площа трабекулярних структур перевищує показник тубулярних структур в 3,60 рази. Відносна площа тубулярних структур зменшується в 6,52 рази при G_3 в порівнянні з G_2 . Показник трабекулярних структур в 1,69 рази збільшується при G_3 в порівнянні з G_2 .

Співвідношення фіброзного компартменту до раково-залозистого компартменту в II групі перевищує показник в I групі

При помірному ступені диференціювання площа тубулярних структур була $Me=27,70\%$ (25,75%; 29,85%), що в 2,60 рази менше відповідного



показника при G_2 в пухлинах менше 3 см. Трабекулярний компонент склав 9,05%, перевищуючи площу цього компоненту при аналогічній диференціації при розмірі пухлини до 3 см в 2,88 рази. Співвідношення тубулярного компоненту до трабекулярного було 3,05 проти аналогічного показника 22,95 при розміру пухлини ≤ 3 см помірного ступеню диференціювання. Фіброзний компонент перевищує залозисто-протоковий в 1,71 рази. В пухлинах менше 3 см при помірній диференціації, навпаки, відзначене домінування залозисто-протокового компартменту над фіброзним в 3,02 рази.

При низькому ступеню диференціювання II групи співвідношення між компонентами залозисто-протокового компартменту – 3,60 з перевищенням трабекулярного компоненту на відміну від всіх інших аналізуємих підгруп, в яких переважав тубулярний компонент. Клітини, що формували тубули та трабекули, мали більш виражений поліморфізм, аніж в інших підгрупах (різну форму та розмір, плейоморфні ядра різного розміру та з великою кількістю ядерця). Фіброзний компонент сягає максимуму в порівнянні з іншими підгрупами – 80,02% і перевищує залозисто-протоковий компартмент в 4,09 рази.

Епітеліальні маркери в залозисто-протоковому компартменті в пухлинах більше 3 см співставні з показниками в загальній групі, але в II групі достовірно зменшуються при G_3 в порівнянні із G_2 : Е-кадгерин знижується в 1,25 рази, β -катенін – в 2,52 рази. Е-кадгерин перевищує β -катенін при G_2 в 5,28 рази, при G_3 – в 10,62 рази.

Циткератини в II групі співставні з показниками в загальній групі. В пухлинах більше 3 см встановлено достовірне зниження СК7 та 18 при G_3 в порівнянні з G_2 : СК7 нижчий в 1,57 рази, СК18 – 1,80 рази.

В зоні ЕМТ в II групі встановлено достовірне зменшення відносної площі Е-кадгерину в порівнянні із раково-залозистим компартментом в 3,61 рази, достовірне зростання рівня експресії β -катеніну в 4,29 рази. При G_3 в зоні ЕМТ рівень Е-кадгерину нижчий, ніж при G_2 , в 1,35 рази, рівень β -катеніну, навпаки, вищий, ніж при G_2 , в 1,93 рази. Співвідношення між маркерами при



G_2 – 1,42, при G_3 – 3,70. В порівнянні із раково-залозистим компартментом в зоні ЕМТ при G_2 Е-кадгерин знижується в 3,23 рази, β -катенін зростає в 2,32 рази; при G_3 Е-кадгерин знижується в 3,49 рази, β -катенін зростає в 11,26 рази.

Мезенхімальні маркери в II групі в зоні ЕМТ вищі за показники в загальній групі: рівень експресії α -SMA вищий в 1,25 рази, віментину – в 1,24 рази. Встановлено зниження рівня експресії α -SMA при G_3 в 1,37 рази в порівнянні з G_2 . При G_2 мезенхімальні маркери співставні, при G_3 віментин перевищує α -SMA в 1,21 рази.

В стромі рівні експресії мезенхімальних маркерів в пухлинах більше 3 см також вищі за показники в загальній групі: рівень експресії α -SMA вищий в 1,21 рази, віментину – в 1,10 рази. Встановлено підвищення рівня експресії α -SMA при G_3 в 1,34 рази в порівнянні з G_2 . В порівнянні із зоною ЕМТ в стромі в II групі рівень експресії α -SMA вищий в 1,94 рази, при G_2 вищий в 1,41 рази, при G_3 – в 2,59 рази; рівень експресії віментину в 1,73 рази вищий в стромі в порівнянні із зоною ЕМТ в II групі, при G_2 – в 1,66 рази, при G_3 – в 2,04 рази.

Маркери стовбурових клітин в II групі співставні з показниками в загальній групі. Рівень експресії CD44 в пухлинах більше 3 см перевищує рівень експресії ЕpCAM в 1,44 рази. При G_2 рівень ЕpCAM вищий за показник при G_3 в 1,42 рази, рівень експресії CD44 вищий в 1,38 рази. Між маркерами при G_2 не встановлено суттєвої різниці, при G_3 рівень експресії CD44 перевищує рівень ЕpCAM в 2,05 рази.

Корелятивний аналіз виявив в пухлинах більше 3 см достовірний прямий зв'язок (критерій Манна-Вітні) між епітеліальними маркерами в паренхімі і стромі, в зоні ЕМТ – достовірний зворотний зв'язок (критерій Манна-Вітні). Встановлений достовірний зворотний зв'язок (критерій Манна-Вітні) між епітеліальними і мезенхімальними маркерами в паренхімі і стромі, окрім пари Е-кадгерин- α -SMA при G_2 ступені диференціювання. В зоні ЕМТ встановлений достовірний зворотний зв'язок між епітеліальними і мезенхімальними маркерами при G_2 , при G_3 достовірний зворотний зв'язок



361636723132456

встановлений між β -катеніном і мезенхімальними маркерами. Між мезенхімальними маркерами встановлений достовірний зворотний зв'язок тільки в паренхімі і стромі при G₂. Між маркерами стовбурових клітин встановлений достовірний зворотний зв'язок.

Опубліковані роботи за темою розділу [11-19, 140-141]



РОЗДІЛ 6

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ПУХЛИН ПРОТОКОВОЇ АДЕНОКАРЦИНОМИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ МЕНШЕ ТА БІЛЬШЕ 3 см

6.1 Порівняльна характеристика гістологічних, гістохімічних та морфометричних особливостей протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах менше та більше 3 см

Відмінною ознакою ПАПЗ є виражена фібропластична строма, площа якої в проведених дослідженнях складає $Me=73,15\%$ ($Q_1=59,46$; $Q_3=77,69$). Пухлини більше 3 см відрізняються переважанням строми у 2,54 рази. При цьому суттєве зростання площі строми відзначено в пухлинах менше 3 см при низькому ступені диференціювання – в 2,56 рази по відношенню до помірного ступеню диференціювання, тоді як у II групі показник строми при низькому ступені диференціювання превалює над показником при помірному ступені всього у 1,27 рази. Зростання стромального компоненту пухлини відбувається за рахунок заміщення залозисто-протокового компоненту, при цьому встановлене суттєве паралельне зменшення відносної площі патологічних тубулярних структур і зростання відносної площі трабекул. В пухлинах більше 3 см при низькому ступеню диференціювання трабекулярний компонент перевищував у 3,60 раз тубулярний компонент, а при помірному ступеню диференціювання – розбіжність між трабекулярним та тубулярним компонентами була у 3,06 рази, у бік останнього. При порівнянні показників відносної площі трабекулярного компоненту в пухлинах менше та більше 3 см при помірному ступеню диференціювання було відмічено зростання у 2,88 разів, а при низькому ступеню диференціювання – у 1,76 разів, при $p<0,05$. Тубулярний компартмент, навпаки, мав тенденцію до зменшення відносної площі в пухлинах більше 3 см, аніж в пухлинах менше 3 см. Так, при помірному ступені диференціювання тубулярний компартмент в пухлинах



менше 3 см був вище у 2,60 раз, аніж в пухлинах 3 см аналогічного ступеню диференціювання, при $p < 0,05$. В пухлинах з низьким ступенем диференціювання аналогічні структури займали ще меншу площу (у 6,58 разів, при $p < 0,05$) в пухлинах більше 3 см, аніж в пухлинах розміром менше 3 см. Співвідношення цих компонентів при помірному ступеню диференціювання в II групі склав всього 3,05 проти 22,95 в I групі. Співвідношення фіброзного компартменту до залозисто-протокового при помірному ступеню диференціювання в I групі був 3,02, в II – 1,71.

Відповідно співвідношення тубулярного та трабекулярного компонентів в I групі при низькому ступеню диференціювання різко знизилось більше, ніж в 7 разів до 3,22 і майже не відрізнялось від показника в пухлинах більше 3 см низького ступеню диференціювання – 3,60, але в останній підгрупі переважав трабекулярний компонент. Фіброзний компонент сягає максимуму в порівнянні з іншими підгрупами – 80,02% і перевищує залозисто-протоковий компартмент в 4,09 рази. Співвідношення фіброзного компартменту до залозисто-протокового при низькому ступені диференціювання в I групі був – 1,74 рази, в II – у 4,09 разів, при $p < 0,05$.

6.2 Порівняльна характеристика імуногістохімічних та морфометричних особливостей раково-залозистого компартменту протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах менше та більше 3 см

Пухлини більше 3 см характеризуються подальшим зниженням Е-кадгерину в порівнянні з I групою на 19,42%. % менше і більше контролю. Встановлено достовірне зниження β -катеніну в II групі по відношенню до I: в I групі $Me = 7,16\%$ (5,75; 9,17), в II – $Me = 4,12\%$ (2,25; 5,99), $p < 0,05$ (табл.6.1).

При порівнянні показників при різному ступені диференціювання в досліджуваних групах виявлено різний ступінь інтенсивності зміни маркерів. Якщо в I групі показник Е-кадгерину при низькому ступеню диференціювання



зменшується в порівнянні з помірним ступенем на 16,03% при $p < 0,05$, то в II – на 6,02, $p > 0,05$ (табл.6.2). Встановлені особливості в розподілі маркеру при різних ступенях диференціювання в групах порівняння. В обох підгрупах I групи виявлене в 100% мембрано-цитоплазматичне і виключно мембранне забарвлення, яке спостерігалось в характерних для пухлин менше 3 см дрібних тубулярних і невеликих трабекулярних комплексах, але при G₃ в цій групі з'являлись Е-кадгеринпозитивні криброзні структури.

Таблиця 6.1 – Показники відносної площі експресії епітеліальних маркерів в раковому залозисто-протоковому компартменті в пухлинах менше і більше 3 см

Маркери Групи	Е-кадгерин, протоки	β-катенін, протоки	CK7	CK18
I	33,76% (22,88; 41,38)	7,16% (5,75; 9,17)	7,42% (3,87; 20,98)	7,99% (4,99; 13,45)
II	28,27% (22,48; 37,81)	4,12% (2,25; 5,99)	18,27% (10,70; 27,82)	14,49% (8,41; 28,69)
Значення p	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05

Примітка. статистично достовірна різниця ($p < 0,05$).

Таблиця 6.2 – Показники відносної площі експресії епітеліальних маркерів в раковому залозисто-протоковому компартменті в пухлинах менше і більше 3 см помірного та низького ступеню диференціювання

Маркери Групи	Е-кадгерин	β-катенін	CK7	CK18
Ia підгрупа	41,37%*§ (34,74;43,08)	9,17%*§ (7,38;9,17)	20,80%* (6,33;21,87)	8,21%§ (7,24;13,45)
Iб підгрупа	25,34%* (22,06;29,36)	5,67%* (5,53;5,85)	3,87%‡ (3,16; 3,87)	3,78%‡ (3,53; 4,03)
IIa підгрупа	29,92%*§ (23,78; 38,76)	5,67%§ (3,88;7,16)	23.58%♦ (13.90; 30.42)	21.04%*§ (8.42;29.38)
IIб підгрупа	23,90%♦ (19,09;30,76)	2,25%* (1,71;2,28)	15.00%*‡ (8.86; 20.86)	11.66%*‡ (8.24; 23.27)

Примітка. * - між Ia, Ib ($p < 0,05$), ♦ - між IIa та IIб ($p < 0,05$), § - між Ia та IIa ($p < 0,05$), ‡ - між Ib та IIб ($p < 0,05$)



В II групі при G_2 було визначено в 100% тільки мембрано-цитоплазматичне забарвлення в тубулярних, трабекулярних комплексах та поодиноких криброзних структурах, останні спостерігались вже при G_3 I групи. При G_3 II групи, як і в обох підгрупах I групи, спостерігалось в 100% мембрано-цитоплазматичне забарвлення з виключно мембранною експресією нечисельних дрібних тубулярних і скупченнях великих трабекулярних структур. Для обох груп були характерні осередки як дифузного, так і гранулярного забарвлення клітин. Особливістю експресії онкомаркеру в I групі в обох підгрупах було посилення інтенсивності експресії ближче до просвіту і менше до базальної мембрани в тубулярних структурах і зворотний напрямок зміни інтенсивності – від просвіту утворення – в трабекулярних структурах. В II групі в обох підгрупах зміна інтенсивності маркеру спостерігалась в бік базальної мембрани в обох типах структур – тубулярних і трабекулярних.

Пухлини більше 3 см відрізняються достовірною втратою β -катеніну в залозисто-протоковому компартменті в порівнянні з I групою: в I групі $Me=7,16\%$ (5,75; 9,17), в II – $Me=4,12\%$ (2,25; 5,99), $p<0,05$. В обох групах встановлена виключно мембрано-цитоплазматична експресія маркеру в тубулах і трабекулах, в II групі і в поодиноких криброзних структурах. На відміну від Е-кадгерину, зміна інтенсивності β -катеніну зменшувалась в тубулярних структурах в бік просвіту, в трабекулярних комплексах – в бік базальної мембрани. Звертає на себе увагу, що в I групі показник онкомаркеру зменшується при погіршенні ступеню диференціювання в 1,62 рази, в II – в 2,52 рази.

Встановлено статистично достовірну різницю між медіанами відносних площин Е-кадгерином та β -катеніном в пухлинах менше 3см та в пухлинах більше 3см (критерій Краскела-Волліса $H1=6,48$ та $H1=11,54$, при $p<0,05$).

Експресія обох цитокератинів в обох групах мала дифузне, виключне мембранне забарвлення, інтенсивність якого зменшувалась від тубулярних, трабекулярних комплексів до ацинарної тканини, навіть до повної втрати в



останній. Обидва маркери достовірно зростали в пухлинах більше 3 см за рахунок великих трабекул та їх комплексів, при цьому СК7 зростав більш суттєво – у 2,52 рази, СК18 – у 1,81 рази.

В обох групах встановлено достовірне зростання показника відносної площі обох цитокератинів при зростанні агресивності пухлини. Але в I групі різниця між маркерами в підгрупах була більш виражена. Так, СК7 знижувався в 5,37 рази, СК18 – в 2,17. В II групі ці показники були відповідно 1,57 і 1,80.

Кореляційний аналіз Краскела-Волліса продемонстрував статистично недостовірну різницю між медіанами відносних площин Ск7 та СК18 в I та II групах. Так показник кореляції $H_0=0,48$ в I групі, та в групі порівняння – $H_0=0,35$, при $p>0,05$.

6.3 Порівняльна характеристика імуногістохімічних та морфометричних особливостей епітеліально-мезенхімальної трансформації протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах менше та більше 3 см

Таблиця 6.3 – Показники відносної площі експресії епітеліальних маркерів в залозисто-протоковому компоненті зон ЕМТ в пухлинах протокової аденокарциноми підшлункової залози менше і більше 3 см

Маркери Групи	Е-кадгерин, залоз/прот комп	β -катенін, залоз/прот комп	СК7, залоз/прот комп	СК18, залоз/прот комп
I	11,21%* (8,35; 15,89)	22,11%* (12,51; 33,92)	20,93%* (14,82; 26,82)	15,93%* (9,96; 21,04)
II	7,83%* (6,60; 12,79)	17,68%* (11,55; 27,07)	16,03%* (9,35; 24,65)	12,10%* (8,24; 21,19)
Значення p	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05

Примітка. статистично достовірна різниця ($p<0,05$).

ІГХ аналіз виявив різку втрату Е-кадгерину в залозисто-протоковому компоненті зон ЕМТ в обох досліджуваних групах, більш виражену в II групі ($p<0,05$). Співвідношення між показниками цього онкомаркеру між групами в раково-залозистому компартменті склало 1,19, в залозисто-протоковому



361636723132456

копоненті зон ЕМТ – 1,43. В І групі відносна площа Е-кадгерину в зоні ЕМТ при помірному ступені диференціювання переважає показник при G₃ 1,99 рази, в II групі – в 1,35 рази. В залозисто-протоковому компартменті ці показники склали відповідно 1,63 і 1,25 (табл.6.3, табл.6.4).

Таблиця 6.4 – Показники відносної площі експресії епітеліальних маркерів в залозисто-протоковому компоненті зон ЕМТ в пухлинах протокової аденокарциноми підшлункової залози менше і більше 3 см помірного та низького ступеню диференціювання

Маркери Група	Е-кадгерин	β-катенін	CK7	CK18
Ia підгрупа ЕМТ: залоз/прот комп	18,77% ^{†*} (15,89; 18,95)	12,51% ^{†*} (11,02;14,87)	25,68% ^{†*} (21,87; 29,40)	20,21% ^{†*} (17,15; 21,19)
Iб підгрупа ЕМТ: залоз/прот комп	9,43% ^{•*} (6,41;11,21)	33,92% ^{•*} (31,12;37,98)	18,07% ^{•*} (14,82;21,42)	10,81% ^{•*} (8,45; 19,09)
Ia підгрупа ЕМТ: клітини і скупчення	12,23% [†] (4,39; 12,75)	5,15% [†] (3,35; 6,58)	13,79% ^{†‡} (10,55;13,90)	14,01% ^{†‡} (13,54;15,97)
Iб підгрупа ЕМТ: клітини і скупчення	11,82% [•] (8,29; 20,92)	6,49% [•] (2,82; 19,80)	5,82% ^{•‡} (4,68; 6,33)	4,44% ^{•‡} (2,22; 8,63)
IIa підгрупа ЕМТ: залоз/прот комп	9,26% ^{†*} (5,38; 13,14)	13,13% [*] (10,60; 20,46)	18,72% ^{†*} (16,03;26,28)	14,49% ^{†*} (11,68;24,89)
IIб підгрупа ЕМТ: залоз/прот комп	6,85% [*] (6,60; 7,84)	25,34% [*] (15,55; 30,14)	8,09% ^{•*} (7,69; 9,35)	8,24% ^{•*} (7,69; 11,65)
IIa підгрупа ЕМТ: клітини і скупчення	17,14% ^{†‡} (16,80; 17,93)	12,94% [†] (11,19; 14,92)	8,56% ^{†‡} (7,29; 9,80)	6,73% [†] (5,72; 7,06)
IIб підгрупа ЕМТ: клітини і скупчення	7,34% [†] (6,56; 8,17)	26,89% [†] (16,91; 32,34)	4,04% ^{•‡} (3,84; 4,67)	4,12% [•] (3,84; 5,82)

Примітка. [†] - між ЕМТ залоз/прот комп та ЕМТ клітин і скуп в G₂ (p<0,05), [•] - між ЕМТ залоз/прот комп та ЕМТ клітин і скуп в G₃ (p<0,05), ^{*} - між ЕМТ залоз/прот комп та ЕМТ залоз/прот комп в G₂ та G₃ (p<0,05), [‡] - між ЕМТ клітин і скуп та ЕМТ клітин і скуп в G₂ та G₃ (p<0,05)

Відносна площа β-катеніну в зоні ЕМТ в обох групах достовірно перевищує показники обох груп в раково-залозистому компартменті (p<0,05) з достовірно нижчим показником в зоні ЕМТ в II групі: в I групі Me=22,11% (12,51; 33,92), в II групі – Me=17,68% (11,55; 27,07), p<0,05. В I групі показник



онкомаркеру в зоні ЕМТ при G₂ в 2,71 рази нижчий, ніж при G₃. В другій групі ця різниця складає 1,93. В залозисто-протоковому компартменті ці показники були відповідно 1,62 і 2,52.

Співвідношення між епітеліальними маркерами в зоні в ЕМТ в I групі було 1,97, в II групі – 2,26. В залозисто-протоковому компартменті встановлені наступні відповідні значення: 4,71 і 6,97.

В I групі в зоні ЕМТ Е-кадгерин при G₂ перевищує показник при G₃ в 1,99 рази, а в II групі – в 1,35 рази. В раково-залозистому компартменті ці показники склали 1,63 і 1,25. Відносна площа β-катеніну в зоні ЕМТ в першій групі при G₂ нижче, ніж при G₃, в 2,71, в II – 1,93 рази. В раково-залозистому компартменті β-катенін в I групі при G₂, навпаки, перевищує показник при G₃ в 1,62, в II групі – в 2,52 рази.

В I групі Е-кадгерин в зоні ЕМТ при G₂ перевищує β-катенін в 1,50 рази, при G₃, навпаки, β-катенін перевищує Е-кадгерин в 3,60 рази. В II групі в обох підгрупах β-катенін перевищує Е-кадгерин в 1,42 і 3,70 рази. Для порівняння, в раково-залозистому компартменті в обох групах Е-кадгерин суттєво перевищує β-катенін: в I групі при G₂ перевищує в 4,51 рази, при G₃ – в 4,47 рази, в II групі – відповідно в 5,28 і 10,62 рази.

При дослідженні цитоскелету на маркери СК7 та СК18 залозисто-протокового компоненту зон ЕМТ відмічається суттєве зниження рівня експресії в пухлинах більше 3 см у порівнянні з пухлинами менше 3 см. Так в I групі відносна площа експресії СК7 була вище у 1,31 рази, аніж в групі порівняння. Відносна площа експресії СК18 знижувалась у 1,32 рази в пухлинах більше 3см у порівнянні з пухлинами I групи.

Паралельне дослідження цитоскелету у «відшнурованих» клітинах та у їх скупченнях демонструвало частково гранулярне мембранне та мембрано-цитоплазматичне забарвлення на СК7 та СК18. При ІГХ-дослідженні відмічалось статистично достовірне зниження відносних площин імунопозитивних клітин на СК7 та 18 у II групі у порівнянні із I групою. В I групі в пухлинах з помірним ступенем диференціювання показник відносної

площі експресії СК7 був вищий в 1,61 раз, аніж в аналогічних пухлинах II групи, при $p < 0,05$. Співвідношення показників відносних площин експресії СК7 в пухлинах з низьким ступенем диференціювання був вищий в I групі дослідження, аніж в II на 1,76, при $p > 0,05$. Відносна площа експресії СК18 була вищою в I групі дослідження

Мезенхімальні маркери достовірно зростають в пухлинах більше 3 см відносно пухлин менше 3 см ($p < 0,05$) (табл.6.5). При цьому аSMA зростає в 1,60 рази, а відносна площа віментину – в 2,17 рази. В I групі показник аSMA перевищує віментин на 2,84%, в II групі, навпаки, аSMA нижчий за віментин на 1,20%.

Таблиця 6.5 – Показники відносної площі експресії мезенхімаліальних маркерів в зоні ЕМТ в пухлинах протокової аденокарциноми підшлункової залози менше і більше 3 см

Групи \ Маркери	а-SMA, ЕМТ	Vim, ЕМТ	Значення р
I	13,84%* (11,03; 15,56)	11,00%* (9,04; 15,17)	$p > 0,05$
II	22,09%* (17,74; 26,02)	23,29%* (21,28; 25,90)	$p > 0,05$
Значення р	$p < 0,05$	$p < 0,05$	

Примітка. статистично достовірна різниця ($p < 0,05$).

В I групі при G₂ показник а-SMA перевищує показник при G₃ в 1,08 рази, в пухлинах більше 3 см – в 1,37 рази. Віментин, навпаки, більш суттєво змінюється в пухлинах менше 3 см: при G₃ зростає в 1,60 рази в порівнянні з G₂. В II групі віментин зростає при G₃ лише в 1,08 рази. В I групі при G₂ показник аSMA перевищує показник віментину в 1,58 рази, при G₃ віментин перевищує аSMA всього в 1,09 рази. В II групі а-SMA більш суттєво знижується при G₃ відносно G₂ – в 1,37 рази, віментин також знижується при G₃, але всього в 1,08 рази (табл.6.6).



361636723132456

Таблиця 6.6 – Показники відносної площі експресії мезенхімільних маркерів в зоні ЕМТ в пухлинах протокової аденокарциноми підшлункової залози менше і більше 3 см

Маркери Група	α -SMA, ЕМТ	Vim, ЕМТ
Ia підгрупа	14,44%*♦ (11,88; 15,41)	9,12%*♦ (6,82; 11,37)
Iб підгрупа	13,37%• (10,64; 17,55)	14,59%• (10,64; 15,42)
IIa підгрупа	24,78%* (19,43; 26,15)	23,84%* (22,54; 26,91)
IIб підгрупа	18,14%♦♦ (15,49; 25,66)	22,03%♦♦ (21,00; 24,51)

Примітка 1: * - між Ia та IIa ($p < 0,05$), • - між Iб та IIб ($p < 0,05$), ♦ - між α -SMA та Vim ($p < 0,05$).

Співвідношення між маркерами найбільш виражене в I групі при G_2 : α -SMA перевищує віментин в 1,58 рази. При G_3 в цій групі віментин перевищує α -SMA всього в 1,09 рази. В II групі при G_2 α -SMA перевищує віментин всього в 1,09 рази, при G_3 , навпаки, віментин більш суттєво перевищує α -SMA - в 1,21 рази.

6.4 Порівняльна характеристика імуногістохімічних та морфометричних особливостей стромального компартменту протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах менше та більше 3 см

Строма ПАПЗ характеризується достовірно більш високими показниками онкомаркерів α SMA та віментину в порівнянні із зоною ЕМТ ($p < 0,05$). В стромі в пухлинах більше 3 см показники достовірно перевищують показники I групи ($p < 0,05$): в I групі відносна площа α SMA $Me = 33,23\%$ (28,84; 36,56), віментину $Me = 32,66\%$ (29,13; 35,02); в II групі – α SMA $Me = 42,83\%$ (34,98; 46,96), віментин $Me = 40,29\%$ (37,08; 44,75). В зоні ЕМТ α SMA в II групі зростає в 1,60 рази ($p < 0,05$), в стромі – в 1,29 рази ($p < 0,05$). Показник експресії віментину в зоні ЕМТ в II групі перевищує показник в I групі більш суттєво, ніж в стромі і в порівнянні з α SMA, в 2,12 рази ($p < 0,05$), в стромі - лише в 1,23



рази але при $p < 0,05$. Звертає на себе увагу, що в I групі відносна площа α SMA перевищує показник в зоні ЕМТ в 2,40 рази ($p < 0,05$), віментину – в 2,97 рази ($p < 0,05$). В II групі ці показники були значно нижчими і склали відповідно 1,94 і 1,73 ($p < 0,05$) (табл.6.7, табл.6.8).

Таблиця 6.7 – Показники відносної площі експресії мезенхімialьних маркерів у стромальному компартменті в пухлинах протокової аденокарциноми підшлункової залози менше і більше 3 см

Групи \ Маркери	α -SMA, строма	Vim, Строма	Значення p
I	33,23% ^{•*} (28,84; 36,56)	32,66% ^{♦♦} (29,13; 35,02)	$p > 0,05$
II	42,83% [*] (34,98; 46,96)	40,29% ^{*♦} (37,08; 44,75)	$p > 0,05$
Значення p	$p < 0,05$	$p < 0,05$	

Примітка. статистично достовірна різниця ($p < 0,05$).

Таблиця 6.8 – Показники відносної площі експресії мезенхімialьних маркерів у стромальному компартменті в пухлинах протокової аденокарциноми підшлункової залози менше і більше 3 см

Групи \ Маркери	α -SMA, строма	Vim, Строма
Ia підгрупа	28,84% [*] (28,29; 29,41)	29,08% [*] (28,55; 32,66)
Iб підгрупа	36,36% [•] (34,31; 37,38)	35,02% [•] (30,63; 36,04)
IIa підгрупа	35,11% ^{*♦} (34,16; 38,69)	39,51% ^{*♦} (35,12; 42,07)
IIб підгрупа	46,95% [•] (45,00; 52,34)	44,88% [•] (37,58; 49,52)

Примітка 1: * - між Ia та IIa ($p < 0,05$), • - між Ib та IIб ($p < 0,05$), ♦ - між α -SMA та Vim ($p < 0,05$).

Відносна площа α SMA-позитивних клітин при G_2 в пухлинах більше 3 см перевищує аналогічний показник G_2 I групи в 1,22 рази ($p < 0,05$), але не відзначено динаміки в порівнянні з G_3 I аналізованої групи. Показник віментину при G_2 в II групі перевищує аналогічний показник в I групі в 1,35 рази ($p < 0,05$). При G_3 рівень експресії α SMA в II групі перевищує аналогічний



показник в I групі в 1,29 рази ($p < 0,05$). Рівень експресії віментину при G₃ в II групі перевищує показник I групи в 1,28 рази ($p < 0,05$).

Всередині груп співвідношення між маркерами пухлин різних ступенів диференціації схожі з такими при порівнянні між груповими показниками.

6.5 Порівняльна характеристика імуногістохімічних та морфометричних особливостей стовбурових клітин протокової аденокарциноми підшлункової залози в пухлинах менше та більше 3 см

Паралельний ІГХ маркерів клітинної поверхні стовбурових клітин виявив при цьому ЕрСАН в I групі перевищує показник в II групі в 1,17 рази, рівень експресії CD44, навпаки, в II групі перевищує в I групі більш суттєво – в 1,72 рази. Різниця між маркерами: в I групі рівень ЕрСАН перевищує показник CD44 в 1,40 рази, в II групі CD44 перевищує ЕрСАН в 1,44 рази (табл.6.9).

Таблиця 6.9 – Показники відносної площі експресії мезенхімаліальних маркерів у фіброзній стромі в пухлинах протокової аденокарциноми підшлункової залози менше і більше 3 см

Маркери Групи	ЕрСАН	CD44	Значення p
I	30,26%* (27,75; 33,88)	21,59%* (16,25; 30,79)	p<0,05
II	25,79%* (20,06; 31,89)	37,23%* (32,75; 42,54)	p<0,05
Значення p	p<0,05	p<0,05	

Примітка 1: * - статистично достовірна різниця ($p < 0,05$).

В I групі рівень експресії ЕрСАН при G₂ перевищує показник при G₃ в 1,24 рази. В II групі це співвідношення вище - 1,42. Рівень експресії CD44 в I групі, навпаки, при G₃ перевищує показник G₂ в 1,73 рази, що більш суттєво, ніж відносно ЕрСАН. В II групі рівень експресії CD44 при G₃ перевищує показник G₂ не так суттєво – в 1,38 рази. В I групі при G₂ рівень ЕрСАН



перевищує рівень CD44 в 1,83 рази, при G₃ це співвідношення значно нижче – 1,17. В пухлинах більше 3 см при G₂ рівень EpCAM навіть на 1,54% нажчий за показник експресії CD44, при G₃ перевага рівня CD44 над рівнем EpCAM більш виражена, ніж при G₂, - в 2,05 рази (табл.6.10).

Таблиця 6.10 – Показники відносної площі експресії мезенхімальних маркерів у фіброзній стромі в пухлинах протокової аденокарциноми підшлункової залози менше і більше 3 см

Маркери Групи	EpCAM	CD44
Ia підгрупа	33,88% [♦] (32,89; 37,16)	18,49% ^{*♦} (16,05; 22,77)
Iб підгрупа	27,26% ^{♦♦} (24,48; 28,62)	32,00% ^{♦♦} (30,78; 35,31)
IIa підгрупа	32,53% (31,89; 36,23)	34,07% [*] (30,99; 38,14)
IIб підгрупа	22,91% ^{♦♦} (18,06; 25,49)	46,89% ^{♦♦} (42,87; 48,35)

Примітка 1: * - між Ia та IIa (p<0,05), ♦ - між Iб та IIб (p<0,05), ♦♦ - між EpCAM та CD44 (p<0,05).

При порівнянні маркерів між ступенями диференціації різних груп встановлено: рівень експресії EpCAM при G₂ співставний в обох досліджуваних групах, при G₃ рівень експресії маркеру в I групі перевищує показник в II групі в 1,20 рази. Рівень експресії CD44 при G₂ в II групі перевищує показник в I групі в 1,84 рази, при G₃ це співвідношення нижче – 1,47 рази.

Резюме

Проведений порівняльний аналіз параметрів гістоархітекtonіки, епітеліально-мезенхімальної трансформації, стромы та особливостей експресії стовбурових клітин в пухлинах протокової аденокарциноми підшлункової залози менше та більше 3 см при G₂ та G₃ ступенях диференціювання.



Зі збільшенням розміру пухлини і погіршенням ступеню диференціювання відбувається погіршення гістоархітекτονіки до повної її руйнації в пухлинах більше 3 см низького ступеню диференціювання, змінюється співвідношення між тубулярним і трабекулярним компонентами залозисто-протокового компартменту з прогресивним переважанням трабекулярного компоненту над тубулярним в 3,60 рази в Пб підгрупі.

Встановлено вищий показник співвідношення фіброзного компартменту до раково-залозистого в II групі. В ІІб підгрупі фіброзний компартмент перевищує залозисто-протоковий в 4,09 рази, сягаючи 80,02%.

В залозисто-протоковому компартменті встановлено прогресивну втрату в Пб підгрупі, в порівнянні з іншими, епітеліальних маркерів: Е-кадгерин знижується в 1,25 рази, β -катенін – в 2,52 рази. Е-кадгерин перевищує β -катенін при G2 в 5,28 рази, при G3 – в 10,62 рази, CK7 та 18 при G3 в порівнянні з G2: CK7 нижчий в 1,57 рази, CK18 – 1,80 рази.

В зоні ЕМТ зі збільшенням розміру пухлини і погіршенням ступеню диференціювання встановлено достовірну втрату Е-кадгерину, достовірне зростання β -катеніну, достовірне зростання мезенхімальних маркерів α SMA і віментину.

Зміна епітеліальних маркерів в зоні ЕМТ в порівнянні із показниками в залозисто-протоковому компартменті більш виражена в Пб підгрупі.

Встановлено достовірне прогресивне зростання мезенхімальних маркерів в стромі зі збільшенням розміру пухлини і погіршенням ступеню диференціювання. Зміна маркерів в стромі достовірно відрізняється від показників в зоні ЕМТ.

Маркери стовбурових клітин в II групі співставні з показниками в загальній групі. Рівень експресії CD44 в пухлинах більше 3 см перевищує рівень експресії ЕрСАН в 1,44 рази. При G2 рівень ЕрСАН вищий за показник при G3 в 1,42 рази, рівень експресії CD44 вищий в 1,38 рази. Між маркерами при G2 не встановлено суттєвої різниці, при G3 рівень експресії CD44 перевищує рівень ЕрСАН в 2,05 рази.



Корелятивний аналіз виявив в пухлинах більше 3 см достовірний прямий зв'язок (критерій Манна-Вітні) між епітеліальними маркерами в паренхімі і стромі, в зоні ЕМТ – достовірний зворотний зв'язок (критерій Манна-Вітні). Встановлений достовірний зворотний зв'язок (критерій Манна-Вітні) між епітеліальними і мезенхімальними маркерами в паренхімі і стромі, окрім пари Е-кадгерин- α SMA при G2 ступені диференціювання. В зоні ЕМТ встановлений достовірний зворотний зв'язок між епітеліальними і мезенхімальними маркерами при G2, при G3 достовірний зворотний зв'язок встановлений між β -катеніном і мезенхімальними маркерами. Між мезенхімальними маркерами встановлений достовірний зворотний зв'язок тільки в паренхімі і стромі при G2. Між маркерами стовбурових клітин встановлений достовірний зворотний зв'язок.

Опубліковані роботи за темою розділу [11-19, 140-141]



РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Проведені дослідження узгоджуються із загальновідомими даними, що головною характерною ознакою ПАПЗ є наявність основних ракових епітеліальних клітин, які утворюють клітинні скупчення, залозистоподібні, протоковоподібні структури та значний об'єм фібропластичної строми [31,94,151,172]. При цьому зі збільшенням розміру пухлини і погіршенням ступеню диференціювання спостерігається порушення гістоархітекτονіки до її повної руйнації при низькому ступеню диференціювання в пухлинах більше 3 см, відбувається прогресивне достовірне зменшення відносної площі залозисто-протокового компартменту і натомість зростання об'єму фібропластичної строми (від 24,92% при G₂ в пухлинах менше 3 см до 80,02% при G₃ в пухлинах більше 3 см), що відповідає літературним даним (50-80%) [31,153,172]. Отримані результати підтверджують відомі наукові дослідження про накопичення фіброзної строми не тільки зі збільшенням розміру пухлини [32], а і при погіршенні ступеню диференціювання [228], і, відповідно, важливу роль фіброзної строми в прогресуванні і агресивному перебігу ПАПЗ [151]. Також виражений розвиток фіброзної строми свідчить, що при ПАПЗ онкопроцес перебігає не тільки в раковому вузлі [26,172].

В залозисто-протоковому компартменті достовірно знижується частка тубул (від 72,03% при G₂ в пухлинах менше 3 см до 4,25% при G₃ в пухлинах більше 3 см), вони стають більш спотвореними, дрібними; натомість трабекулярні структури збільшуються в розмірах, частка їх достовірно зростає зі збільшенням розміру і агресивності пухлини (від 8,94% при G₂ в пухлинах менше 3 см до 15,30% при G₃ в пухлинах більше 3 см). З прогресуванням процесу і більшої його агресивності спостерігається збільшення розмірів пластів з ракових спотворених клітин від дрібних до великих розмірів, більш виражений поліморфізм цих клітин і ядер в них, змінюється кількість ядерців,



а також співвідношення ядра до цитоплазми, втрачається полярність, з'являються мітотичні фігури.

Мікроскопічна картина фібропластичної строми в проведених дослідженнях була представлена щільним інфільтратом неракових стромальних клітин та компонентів екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ), який є відмінною рисою ПАПЗ.

Встановлений сильний корелятивний зв'язок між тубулярними і трабекулярними структурами раково-залозистого патерну (коефіцієнт Пірсона $r=-0,83$, $p<0,05$; коефіцієнт Манна-Вітні $z=+5,16$, $p<0,05$). При цьому в пухлинах менше 3 см при G_2 тубулярний компонент перевищує трабекулярний в 22,95 р., при G_3 – в 3,22 р., що співставно із показником при G_2 в пухлинах більше 3 см (в 3,06 р.), а вже при G_3 в другій групі трабекулярний компонент перевищує тубулярний в 3,60 р.

Між окремими компонентами паренхіматозного компартменту і фіброзною стромою встановлений достовірний зворотний зв'язок. Динаміка зростання показника фіброзної строми аналогічна динаміці зміни паренхиматозних компонентів: в пухлинах менше 3 см від G_2 до G_3 показник зростає в 2,56 р.; в пухлинах більше 3 см при G_3 показник фіброзної строми не відрізняється від показника при G_3 I групи, а при G_3 II групи зростає всього в 1,27 р. в порівнянні із G_2 цієї ж групи.

При мікроскопічному дослідженні серед описаних залозисто-протокового, стромального компартментів, в поширених осередках сполучної тканини спостерігались зони епітеліально-мезенхімальної трансформації (ЕМТ), мікроскопічна картина яких описана у відповідному розділі.

Проведеними дослідженнями встановлено прогресивну паралельну втрату раковими клітинами епітеліального фенотипу і збільшення кількості клітин з мезенхімальним фенотипом.

Найбільш універсальним маркером епітеліального фенотипу вважається Е-кадгерин [26,27,158,217,208,240]. При ІГХ аналізі виявлено дифузну мембрано-цитоплазматичну і мембранну експресію маркеру зі зміною



полярності на вертикальний тип, посилення передньо-задньої полярності. Подібні особливості експресії маркеру були більш виражені при погіршенні диференціювання і збільшенні розміру пухлини ПАПЗ.

Встановлено достовірне прогресивне зниження показника Е-кадгерину зі збільшенням розміру пухлини. В пухлинах менше 3 см показник склав 33,76% (22,88; 41,38), в пухлинах більше 3 см - 28,27% (22,48; 37,81) при $p < 0,05$. Для обох груп було характерним в 100% дифузне або гранулярне мембрано-цитоплазматичне забарвлення. Виключно мембранне забарвлення спостерігалось в обох групах в тубулярних і трабекулярних структурах. В пухлинах менше 3 см низького ступеню диференціювання і в обох підгрупах пухлин більше 3 см виявлені Е-кадгеринпозитивні криброзні структури.

Особливістю розподілу локалізації онкомаркеру в І групі, незалежно від ступеню диференціювання, було посилення інтенсивності експресії ближче до просвіту і менше до базальної мембрани в тубулярних структурах і зворотний напрямок зміни інтенсивності – від просвіту утворення – в трабекулярних структурах. В пухлинах більше 3 см в обох підгрупах зміна інтенсивності маркеру спостерігалась в бік базальної мембрани і в тубулярних, і трабекулярних структурах.

Згідно літературних даних, ПАПЗ характеризується редукцією і зміною полярності експресії Е-кадгерину з мембранної на повну цитоплазматичну [26,27,158,217,240,276,287]. Згідно інших досліджень, можливі одночасно зразки із втраченим Е-кадгерином і зразки з вираженою мембранною експресією [208,240]. Також в літературі знайдені дані про часткову або повну втрату онкобілка [208]. Вважається, що виражена мембранна експресія характерна для диференційованого фенотипу ПАПЗ, при низькодиференційованих раках спостерігається повна втрата Е-кадгерину [146], що узгоджується з отриманими результатами. Виявлена в проведених дослідженнях виключно мембранна експресія, згідно літературних даних, може характеризувати прогресування злоякісного процесу, виявлятися навіть у місцях метастазування і, відповідно, не виключає інвазивної поведінки



пухлини [66,160,183,208,240]. Це пояснюється тим, що клітини пухлини можуть приймати різні морфологічні і міграційні схеми зі збереженням мембранної локалізації експресії Е-кадгерину. Також різну роль маркеру пояснюють утворенням різних комплексів Е-кадгерину: базолатеральний комплекс білка індукує пропухлинні сигнали, апікальний пригнічує [94,183,227,268]. Саме перехід гомологічної адгезії до гетерологічної, за даними літератури, обумовлює агресивність і сприяє диссемінації ПАПЗ [94,183,227,268,291].

Крім того, більшості пухлин людини притаманна клітинна неоднорідність і, відповідно, відсутність домінування певного фенотипу [208,240] і тому збереження Е-кадгерину не виключає факту проходження клітиною ЕМТ [80,183,208,219,240]. Отримані результати узгоджуються з науковими даними про відсутність абсолютної зворотної кореляції між динамікою Е-кадгерину і агресивністю пухлини. Такі особливості експресії маркеру разом з його високою експресією при ПАПЗ пов'язують із частковою ЕМТ, в зв'язку з чим пухлини ПАПЗ зберігають диференційований епітеліальний фенотип при вираженій агресивності [146,178,208,240,287]. Вважається, що часткова ЕМТ є швидше за все проявом багатоступеневості процесу ЕМТ, який складається з багатьох фенотипових змін [152,157,221,240]. Більше того, висока експресія онкобілка не виключає факту процесу ЕМТ в клітині, так як ЕМТ може бути сильно локалізованим і тимчасовим, може функціонувати як коротка програма [152,221]. Є наукові дослідження про транскрипційні перепрограмування ЕМТ, при яких відбувається синтез різних популяцій злоякісних пухлин з проміжним між епітеліальним та мезенхімальним фенотипом станом клітин, а також з'являються гібридні форми трансформованих клітин [11,66,208]. Вважається, ступінь диференціювання пухлини залежить саме від гібридних форм, або субпопуляцій клітин, що знаходяться на одному з етапів ЕМТ [66,157,221,240].

Проміжний фенотип, отриманий з епітеліальних клітин, що зазнають часткової ЕМТ, виявляє як епітеліальні, так і мезенхімальні ознаки,



забезпечуючи важливу умову для прогресування онкопроцесу [11,66]. Часткові ЕМТ свідчать про значну пластичність між епітеліальними і мезенхімальними станами. Крім того, проміжний стан ЕМТ також сприяє збільшенню клітин із рисами стовбурових, що спостерігалось в клітинах ПЗ. Важливу роль в цьому процесі відіграє Е-кадгерин, який також, в свою чергу, може ініціювати ЕМТ [66,157,221,208].

Проведеними дослідженнями встановлено паралельно з втратою Е-кадгерину в залозисто-протоковому компартменті ПАПЗ появу аберантної експресії β -катеніну також мембранної та мембрано-цитоплазматичної локалізації коричневого дифузного та гранулярного забарвлення. Незалежно від розміру пухлини, виключно мембрано-цитоплазматичне забарвлення маркеру встановлено в тубулах і трабекулах, в поодиноких криброзних структурах імунопозитивні клітини з аналогічною локалізацією спостерігались лише в пухлинах більше 3 см. Відмічались вогнища зміни інтенсивності забарвлення β -катенінпозитивних клітин. На відміну від Е-кадгерину, інтенсивність β -катеніну зменшувалась в тубулярних структурах в бік просвіту, в трабекулярних структурах, навпаки, в бік базальної мембрани. Поява експресії β -катеніну в осередках втрати Е-кадгерину підтверджує втрату адгезивних зв'язків, зміну полярності клітин. Також відзначається залежність інтенсивності експресії від ступеню диференціювання і стадії розвитку онкопроцесу [39,66]. Відносна площа експресії β -катеніну в раковому залозисто-протоковому компартменті дорівнювала $Me=5,59\%$ (2,42; 7,16).

Встановлено достовірне зниження експресії β -катеніну зі збільшенням розміру пухлини і погіршенням ступеню диференціації, більш виражене в порівнянні з Е-кадгерином. В пухлинах менше 3 см показник маркеру склав 22,11% (8,35;15,89), в пухлинах більше 3 см – 17,68% (11,55;27,07). Звертає увагу зниження маркеру в пухлинах менше 3 см з погіршенням ступеню диференціювання в 1,62 рази, в пухлинах більше 3 см – в 2.52 рази, але рівень експресії при G₃ I групи співставний з показником при G₂ II групи.



Епітеліальні маркери в залозисто-протоковому компартменті в пухлинах більше 3 см співставні з показниками в загальній групі, але в II групі достовірно зменшуються при G₃ в порівнянні із G₂: Е-кадгерин знижується в 1,25 рази, β-катенін – в 2,52 рази. Е-кадгерин перевищує β-катенін при G₂ в 5,28 рази, при G₃ – в 10,62 рази.

Відомі три форми β-катеніну. Мембранна форма утворює адгезивний комплекс з Е-кадгерином і актиновим цитоскелетом за участі α-катеніну [160,209]. Цитоплазматична форма регулює адгезію клітин і рівень Е-кадгерину. Отримані результати свідчать про порушення цього зв'язку і, як наслідок, зниження β-катеніну, активації Wnt-сигнального шляху, що призводить до ядерної транслокації онкобілка. Для нормальної тканини підшлункової залози характерна мембранна локалізація β-катеніну, але в 1-3% може виявлятися цитоплазматична і ядерна експресія [160,209].

Виявлена в проведених дослідженнях мембрано-цитоплазматична експресія β-катеніну за відсутності імунозабарвлених ядер свідчить про те, що стимуляція Wnt-сигнального шляху не призводить до критичних значень експресії маркера, які відповідають накопиченню β-катеніну в ядрах клітин, і є наслідком збереження функції «комплексу деструкції» [26].

Таким чином, отримані результати свідчать про вирішальну роль в прогресії ПАПЗ втрати Е-кадгерину. Wnt/β-катеніновий сигнальний шлях, імовірно, не залучається до реалізації механізмів прогресії ПАПЗ [26,176,197,209,229].

За критерієм Манна-Вітні (U Test) встановлено статистично достовірний зв'язок $z=10,55$, при $p<0,05$, між показниками відносної площі експресії епітеліальних маркерів Е-кадгерину та β-катеніну, а також залежність маркерів від гістологічного ступеню пухлини. Це відповідає даним літератури про проходження клітинами первинної пухлини ПАПЗ ЕМТ [160,183].

Паралельний ІГХ аналіз маркерів цитоскелету підтверджує втрату ознак епітеліального фенотипу раковими клітинами ПАПЗ. Відносна площа СК7 склала $Me=17,93\%$ (10,23; 25,73), $S_{min} = 1,82\%$, $S_{max} = 41,37\%$, при $p<0,05$,



СК18-позитивних клітин - $Me=12,87\%$ (8,22; 28,23), $S_{min} - 1,09\%$, $S_{max} - 49,02\%$, при $p<0,05$. Втрата маркерів в першу чергу спостерігалась в ацинарній тканині ПЗ, а вже потім в тубулярних, трабекулярних та криброзних структурах і прогресувала із прогресією карциноми. Експресія в зазначених структурах мала дифузне коричневе мембранне забарвлення, поруч з цим спостерігались «відшнуровані» клітини та їхні скупчення із мембрано-цитоплазматичною експресією обох маркерів. Слід зазначити, що на відміну від цитокератинів, експресія Е-кадгерину у «відшнурованих» клітинах та їхніх скупченнях майже не відзначалась. Вірогідно, ці клітини є раковими, які вже втратили адгезивні зв'язки, але ще зберігають епітеліальні ознаки, про що свідчить втрата Е-кадгерину і експресія цитокератинів. За даними літератури, саме такі клітини мають більшу вірогідність залучатися до ЕМТ [160,176,183].

Слід зазначити, що зі збільшенням розміру пухлини відзначено достовірне збільшення відносної площі СК7 і СК18 ($p<0,05$) за рахунок збільшення розмірів трабекул та їхніх комплексів в пухлинах більше 3 см, при цьому більш суттєво зростала відносна площа СК7 - у 2,52 рази, СК18 – у 1,81 рази. Однак, з погіршенням ступеню диференціювання встановлено достовірне зниження обох маркерів цитоскелету ($p<0,05$). В пухлинах менше 3 см відбувалось більш виражене зниження показників: експресія СК7 знижувалась в 5,37 р, СК18 – в 2,17 р. В пухлинах більше 3 см інтенсивність втрати онкобілків менша: при G_3 СК 7 знижувався в 1,57 р., СК18 – в 1,80 р. в порівнянні із G_2 .

Таким чином, СК7 можна вважати оптимальним маркером залозисто-протокового компартменту ПАПЗ, оскільки він вважається класичним проміжним філаментом епітеліальної клітини підшлункової залози і, згідно літературних даних, використовується для ідентифікації як нормальних, так і новоутворених протоків ПЗ [37,92,84,88,120,132,166].

Отримане в проведених дослідженнях зростання СК18 при збільшенні розміру пухлини узгоджується з даними наукової літератури, які асоціюють високі показники маркеру з прогресуванням різних видів раку, зокрема



плоскоклітинного раку стравоходу, карциноми ротової порожнини, раку легенів [66,132,213,242]. Зниження експресії маркера з погіршенням ступеню диференціювання в отриманих результатах, згідно науковим дослідженням, характерне для колоректального раку, раку молочної залози, носоглотковій карциномі [41,66,132,242,261]. Вважається, що змінена схема експресії цього цитокератину під час та після злоякісної трансформації модулює різні сигнальні шляхи, зокрема Wnt/ β -катеніновий шлях, який є одним з основних факторів прогресування раку [156,160]. Відомо, що CK18 експресують стовпчасти клітини, які експресують і Е-кадгерин, що характерно для клітин просвітнього епітелія залозистої тканини [278,299].

Встановлений достовірний зв'язок за критерієм Манна Вітні між епітеліальними маркерами Е-кадгерином, β -катеніном та маркерами цитоскелету CK7, CK18 ($p < 0,05$).

Отримані результати свідчать про зміну фенотипових властивостей, зокрема втрату епітеліальних ознак ракових клітин, що є однією з можливих ланок запуску ЕМТ при ПАПЗ.

В досліджуваному матеріалі зони ЕМТ в усіх підгрупах характеризувались утворенням залозисто-протокових комплексів, до яких входили раковосптворені тубулярні, трабекулярні та криброзні структури, на відміну від залозисто-протокового компартменту, в якому раковосптворені тубулярні та трабекулярні структури були розташовані поодинокі, а криброзні виявлялись лише в пухлинах більше 3 см низького ступеню диференціювання. Криброзні структури зон ЕМТ відрізнялись дуже вираженим клітинним атипізмом (ядерно-цитоплазматичне співвідношення дорівнювало 4 до 1). Причому відмінність між раковосптвореними залозисто-протоковим компартментом та залозисто-протоковим комплексом зон ЕМТ посилювалась зі збільшенням розміру пухлини і ступенем диференціювання.

Крім раково-залозистих комплексів, в зонах ЕМТ спостерігались спотворені ракові клітини різного розміру, форми, з гіперхромними ядрами, зсувом ядерно-цитоплазматичного співвідношення в бік ядра, а також



спостерігались клітини, перероджені з епітеліальних в веретеноподібні або стромальні. Описані клітини або формували пласти, або поодинокі відмічалися навколо тубул та трабекул. З прогресуванням процесу клітини ставали більш спотвореними та збільшувались розміри утворених ними пластів. При чому вираженість цих змін залежала більше від ступеню диференціювання, ніж від розміру пухлини.

Зі збільшенням розміру пухлини відзначалось збільшення розмірів тубулярних, трабекулярних та криброзних структур, збільшення кількості останніх, а також збільшення кількості і розмірів комплексів, які всі ці структури утворюють в зонах ЕМТ, що знаходить підтвердження в літературі [80,197].

Для визначення внеску епітеліально-мезенхімальної трансформації у динаміку прогресування ПАПЗ та особливостей ЕМТ при ПАПЗ були вивчені епітеліальні маркери (Е-кадгерин, β -катенін, СК7, СК18) та мезенхімальні маркери (α -SMA, віментин) в залозисто-протоковому компоненті та скупченнях клітин ЕМТ.

Порівняльний аналіз досліджуваних маркерів в залозисто-протоковому компартменті і компонентах ЕМТ продемонстрував достовірну втрату Е-кадгерину та цитокератинів і накопичення β -катеніну в зоні ЕМТ в порівнянні із залозисто-протоковим компартментом. Згідно отриманих результатів, відносна площа Е-кадгерину достовірно знижувалась від залозисто-протокового компартменту до залозисто-протокового компоненту та іще більше у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях в зоні ЕМТ. Також змінювався градієнт дифузного мембрано-цитоплазматичного забарвлення на Е-кадгерин в даних структурах від темного до більш світлих тонів. Незважаючи на неоднозначну наукову думку, чи втрата Е-кадгерину є причиною, чи наслідком ЕМТ, проведені дослідження свідчать, що функціональна втрата онкобілка корелює зі збільшенням розміру пухлини і більш виражена кореляція спостерігається при погіршенні ступеню диференціювання, що знаходить підтвердження в літературі [80,89,220].



Експресія β -катеніну, навпаки, достовірно підвищувалась та мала збільшення градієнта забарвлення від залозисто-протокового компартменту до залозисто-протокового компоненту та іще більше у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях в зоні ЕМТ. Експресія β -катеніну в залозисто-протоковому компоненті зон ЕМТ мала достовірне зростання в залежності від ступеню диференціювання і недостовірне в залежності від розміру пухлини.

Відносна площа експресії маркерів цитоскелету (СК7 та 18) також знижувалась від залозисто-протокового компартменту до «відшнурованих» клітин та їх скупчень в зонах ЕМТ та мала від дифузного до гранулярного мембрано-цитоплазматичного типу забарвлення в скупченнях «відшнурованих» клітин зони ЕМТ. В пухлинах більше 3 см низького ступеню диференціювання спостерігались невеликі ділянки ЕМТ з повною втратою експресії СК18, що свідчить про повну втрату клітинами цитоскелету.

Мембрано-цитоплазматичне забарвлення з гранулярним типом забарвлення епітеліальними маркерами свідчило про втрату адгезивних зв'язків та зміну полярності. При цьому в залозисто-протоковому компоненті ще спостерігалось дифузне мембранне або мембрано-цитоплазматичне забарвлення епітеліальними маркерами.

Виявлене суттєве підвищення показника β -катеніну паралельно з втратою Е-кадгерину при низькому ступені диференціювання може свідчити про екзофітне поширення процесу базально з малих проток. Саме екзофітний тип онкогенної трансформації протоки ПЗ, згідно літературних даних [106,132,263,295], відрізняється більшою агресивністю за рахунок більш вираженої ЕМТ і більшої активності САФ, що супроводжується зростанням α -SMA. Навпаки, високий рівень Е-кадгерину і низький рівень β -катеніну при високому ступені диференціювання може бути характерним для ендофітної онкогенної трансформації протоки ПЗ з поширенням в просвіт більших проток і, відповідно, характеризуватися меншою агресивністю [106,132,151]. Підвищення β -катеніну також пов'язують із плюрипотентним фенотипом, який є більш агресивним, самовідновленням як нормальних, так і CSC, які в



свою чергу сприяють рецидиву ПАПЗ [151]. Ще один фактор агресивності ПАПЗ - жорсткість матриці – теж обумовлений активацією β -катеніну [151]. Незважаючи на невизначену, згідно літературних даних, роль маркеру при злоякісних процесах [80,151,220], проведені дослідження підтверджують залежність агресивності ПАПЗ від рівня експресії β -катеніну [80,151,220].

Цитокератини, разом з кадгеринами і катенінами, відіграють важливу роль в побудові цитоскелету. Тим не менш, вважається, що втрата цитокератинів недостатня для індукції ЕМТ і, відповідно, підвищення інвазії і метастазування [78,151,132,160]. Навіть, навпаки, висока експресія СК18, за літературними даними, корелює зі швидким метастазуванням і однорічною виживаністю після хіміотерапії [66,132]. Але аберантна експресія цитокератинів на фоні втрати основного адгезивного компоненту Е-кадгерину обумовлює підвищення рухливості клітин та сприяє інвазивності, тоді як відновлення цих маркерів сприяє зворотному процесу [66,78]. Крім того, є дані про роль СК18 в регулюванні Wnt-сигналізації, зокрема при раку передміхурової залози [66,78,132,209]. Аберантна передача сигналів Wnt/ β -катеніну при деяких раках, включаючи ПАПЗ, є основним фактором прогресування онкопроцесу [151,164,209,279].

Встановлений слабкий прямий кореляційний зв'язок між епітеліальними маркерами Е-кадгерином і β -катеніном в залозисто-протоковому компартменті (коефіцієнт Пірсона $r=+0,24$, $p>0,05$) і сильний в зоні ЕМТ (коефіцієнт Пірсона $r=+0,87$, $p<0,05$) демонструє взаємопов'язаний процес втрати Е-кадгерину і накопичення β -катеніну, більш виражене в зоні ЕМТ. Причому посилення прямого кореляційного зв'язку між даними маркерами в зоні ЕМТ і послаблення кореляції від сильної до слабкої в протоках спостерігалось при погіршенні ступеню диференціювання. При помірному ступені диференціювання зворотна імуногістохімічна реакція маркерів виражена менше, що узгоджується з даними літератури [66,242]. Зі зростанням агресивності пухлини змінювалась і інтенсивність забарвлення мембран відповідних Е-кадгерин- і β -катенінімунопозитивних клітин: полярність



експресії в мембрані β -катеніну залежала від зміни полярності E-кадгерину. Таким чином, отримані результати підтверджують суттєвий зв'язок між епітеліальними маркерами, залежність їх від ступеню диференціювання і підтверджують дані літератури, що клітини первинної пухлини ПАПЗ проходять ЕМТ [39,160,183,197,229,287,279].

Мезенхімальні маркери α SMA та віментин в зоні ЕМТ мали виключно дифузне коричневе мембрано-цитоплазматичне забарвлення однакове за інтенсивністю в ракових спотворених клітинах, що локалізувалися поодинокі навколо тубулярних, тубулярних, криброзних структур або формували ракові пласти чи самі криброзні структури. Відзначено достовірне зростання маркерів в пухлинах більше 3 см ($p < 0,05$). Відносна площа α SMA в пухлинах менше 3 см – $Me = 13,84\%$ (11,03; 15,56), в групі порівняння – $Me = 22,09\%$ (17,74; 26,02), відносна площа віментину відповідно $Me = 11,00\%$ (9,04; 15,17) і $Me = 23,29\%$ (21,28; 25,90). Привертає увагу, що в пухлинах менше 3 см з погіршенням ступеню диференціювання спостерігається достовірне зростання обох маркерів ($p < 0,05$). В пухлинах більше 3 см не відбувається підвищення показників від G_2 до G_3 .

Встановлені в роботі втрата E-кадгерину і обумовлене цим вивільнення мембранного β -катеніну призводить не тільки до втрати адгезійних клітин-клітинних зв'язків, зміни полярності, а і ремодулювання цитоскелету з переключенням експресії з кератинових на проміжні нитки типу віментину, що сприяє їх ізольованості і рухливості [160,217] та підтверджує роль ЕМТ в прогресуванні онкопроцесу [160,217]. Також наводяться дані про пряму кореляцію між зростанням експресії віментину активністю фактору транскрипції Slug [160,217], який є одним із ключових факторів ЕМТ, зокрема в кишковому канцерогенезі [26,160,217].

Відповідно отриманим результатам, ПАПЗ відрізняється вираженим розвитком фібропластичної строми, що є підтвердженням перебігу патологічного процесу не тільки в самому раковому вузлі [26,172,228]. Середній показник площі фіброзної строми склав 58,23% площі пухлини, що



відповідає літературним даним (50-80%), значно перевищує показник при інших видах раку, зокрема при колоректальній аденокарциномі стромальний компартмент складає всього 30-60% [26,153]. Встановлено суттєве накопичення строми зі збільшенням розміру пухлини (10-46% в пухлинах менше 3 см, 13-89% в пухлинах більше 3 см), що також знаходить підтвердження в літературі [32], і виражена більше в центрі, ніж на периферії пухлини. Стромальний компартмент був представлений щільним інфільтратом неракових стромальних, веретеноподібних, клітин, які і формують щільний фіброзний каркас, який замурує структури залозисто-протокового компартменту ПАПЗ. Центральними клітинами строми є канцерасоційовані фібробласти, відомі як активовані фібробласти, та активовані зірчасті клітини [182]. Всі ці клітини в процесі активації набувають веретеноподібної форми, але морфологічно відрізняються від аналогічних клітин зони ЕМТ: більш витягнуті, утворюють тяжі, більш щільної консистенції, чим і пояснюється кам'яниста структура ПАПЗ.

Визначені морфологічні особливості клітин строми, характерне для ПАПЗ їх кількісне зростання зі збільшенням розміру ступеню диференціювання пухлини обумовлюють високу експресію мезенхімальних маркерів α SMA і віментину в 100% випадків дифузного мембрано-цитоплазматичного забарвлення ($Me=35,46\%$ (32,23; 42,83), $S_{min}=27,01\%$, $S_{max}=62,21\%$; $Me=36,58\%$ (33,83; 41,77), $S_{min}=28,45\%$, $S_{max}=62,21\%$ відповідно). Експресія маркерів в стромі майже вдвічі вища, ніж в зоні ЕМТ. Встановлений статистично достовірний прямий зв'язок між маркерами в стромі і ЕМТ (коефіцієнт Пірсона для α SMA $r=0,33$, для віментину - $p<0,05$ $r=0,65$, $p<0,05$).

З прогресуванням та збільшенням розміру пухлин відмічається зростання, хоча і недостовірне, показників експресії α SMA – на 9,6,% (від 33,23% (28,84; 36,56) до 42,83 (34,98; 46,96), відповідно) та Vim – на 7,63% (від 32,66% (29,13; 35,02) до 40,29% (37,08; 44,75), відповідно, $p>0,05$). Примітно, що з погіршенням ступеню диференціювання (від G_2 до G_3) в I та II групі



зростання показників експресії α SMA та Vim відмічалось статистично достовірне ($p < 0,05$).

Білок гладком'язового актину (α SMA) вважається специфічним для міофібробластів і не характерний для ракових клітин, які пройшли ЕМТ. Дотепер в науковій літературі залишається відкритим питання походження міофібробластів. Найбільш прямим джерелом канцерасоційованих фібробластів вважаються неактивовані зірчасті клітини та нормальні резидентні фібробласти [57,106,207,256]. Але ЗКПЗ викликають лише незначну кількість канцерасоційованих фібробластів, що свідчить про існування різноманітних попередників CAF. Зокрема CAF можуть походити від багатьох нефібробластних клітинних ліній, включаючи епітеліальні клітини, що проходять ЕМТ [29,34,114,154,170,185,256,277]. Також в CAF можуть диференціюватися мезенхімальні стовбурові клітини (роль стовбурових клітин буде розглянута у відповідному розділі) під впливом активації сигнальних шляхів TGF- β , WNT [42,74,81,207,219,258,279]. В свою чергу ці шляхи вважаються основними активаторами ЕМТ з вивільненням β -катеніну і транслокацією його в ядро, що також свідчить про роль цього онкобілка як важливого регулятора ЕМТ [207,219]. Крім того, TGF- β різко посилює програму збільшення кількості ініціюючих пухлину клітин (CSC) канцерасоційованими фібробластами [189,205,252,258,279]. CSC утворюються з ацинарних клітин при проходженні ЕМТ і набувають ознак стовбурових, що вказує на вирішальну роль ЕМТ у генерації CSC і, відповідно, утворенні стовбурових клітин [87,186,279].

В літературі описані різні типи строми ПАПЗ: строма, що характеризується профілями експресії зірчастих клітин, і строма, яка стимулюється активованими фібробластами і альтернативно активованими макрофагами, і відрізняється більшою агресивністю [69,84,163,172,182,228]. В проведених дослідженнях виражена строма, особливо в пухлинах більше 3 см низького ступеню диференціювання, свідчить про її агресивність і відповідальність за її розвиток саме активованих фібробластів і альтернативно



активованих міофібробластів. Це також узгоджується з даними літератури про незначну кількість ЗКПЗ, активованих у канцерасоційовані фібробласти. Хоча, відповідно інших джерел, розвиток строми при ПАПЗ і синтез надлишку волокнисто-молекулярного матриксу пов'язане саме з активністю великої кількості туморасоційованих фібробластів зірчастих клітин. В літературі це пояснюється вираженою гетерогенністю останніх і, відповідно, різними функціональними властивостями. Міофібробластний α -SMA-позитивний фенотип CAF не тільки продукують велику кількість колагену, але і впливають на його структуру [2,53,247,271,273]. Відповідно літературним даним, ПАПЗ відрізняється більш видовженими волокнами строми, що обумовлює її більшу щільність. В досліджуваних мікропрепаратах зразків ПАПЗ строма відрізнялась вираженою щільністю [32,154,180,196,228]. В щільній стромі утворюється підвищений тиск, що спричиняє розрив скупчень ракових клітин і обумовлює їх розповсюдження. Є дані, що саме пухлини з видовженими колагеновими волокнами мають гірший прогноз. Складно вирівняні волокна утворюють доріжку, сприяючи міграції, інвазії, метастазуванню [154,247]. Незважаючи на те, що ефект строми пов'язують зі стадією онкопроцесу, щільній стромі, на відміну від розсипчастої строми, відводиться і супресорна роль. Вважається, що на ранній стадії щільна строма може пригнічувати, а на пізній стадії забезпечувати прогресування ПАПЗ. Отримані результати розвитку строми співставні з описаною в літературі контраверсійною роллю строми при ПАПЗ [29,32,84,271].

Активовані зірчасті клітини ПЗ обумовлюють епітеліально-мезенхімальну трансформацію клітин. ЕМТ в свою чергу є додатковим механізмом розвитку фіброзу і прогресування ПАПЗ. Аберрантна експресія матричних білків і інших компонентів екстрацелюлярного матриксу, обумовлені тими ж активованими зірчастими клітинами, сприяють десмопластичній реакції строми ПАПЗ. Незважаючи на контраргументи про α -SMA, як переважаючий маркер, пов'язаний з ЕМТ, отримані результати узгоджуються з даними літератури про суттєву роль онкобілка в програмі



ЕМТ, розвитку строми і, зрештою, в прогресуванні і ступені агресивності ПАПЗ [4,24,247].

Проведені дослідження підтверджують зв'язок експресії віментину із низьким ступенем диференціювання і розміром пухлини, що узгоджується з більшістю літературних джерел, і тому пропонується використовуватися для визначення ступеня диференціації клітин [26,31,185,270]. Натомість, згідно іншим даним, віментин позиціонується як фактор протипухлинного імунітету і пригнічення росту [74,270].

На відміну від α SMA, який специфічний для міофібробластів і ніколи не експресується раковими клітинами, експресія віментину характерна в тому числі і для ракових клітин. Зі збільшенням розміру пухлини і погіршенням ступеню диференціювання в проведених дослідженнях спостерігалось зменшення кількості ракових клітин, відповідно основна доля віментину експресувалась клітинами строми, що підтверджує роль строми в прогресуванні і агресивності ПАПЗ. Зростання кількості віментинпозитивних клітин пов'язують також з вищою інвазивністю і хіміорезистентністю ПАПЗ. Вважається, що віментин пов'язаний не тільки із агресивністю строми, а і впливає на міграцію клітин за рахунок взаємодії з мікротрубочками цитоскелету і асоційованими моторними білками. Отримані результати ІГХ аналізу продемонстрували високу експресію цитокератинів. Віментин є не тільки структурним білком, але і активним учасником різних сигнальних шляхів, зокрема Slug, який бере участь в запуску ЕМТ [74,174,252,270].

Таким чином, проведені дослідження свідчать про суттєву роль фібропластичної строми в прогресування ПАПЗ.

ІГХ аналіз маркерів стовбурових клітин виявив експресію ЕрСАН в тубулярних, трабекулярних, криброзних структурах залозисто-протокового компартменту і в залозисто-протоковому компоненті зони ЕМТ, а також в ацинарній тканині в 100% мембранного гранулярного забарвлення, відмічались і вогнища збереженого дифузного характеру. Відносна площа



експресії даного маркеру - $Me=27,62\%$ (22,77; 32,25), $S_{min}=7,88\%$, $S_{max}=40,54\%$, що достовірно перевищує показник групи контролю ($p<0,05$).

Експресія CD44 відрізнялась від EpCAM не тільки локалізацією (в клітинах залозисто-протокового, перерозподіл білка з клітин в строму, в ракових спотворених клітинах зони EMT), а і характером забарвлення клітин (дифузне та гранулярне мембранне або мембрано-цитоплазматичне забарвлення). Відносна площа експресії CD44 дорівнював – $Me=33,81\%$ (26,18; 39,47), $S_{min}=15,66\%$, $S_{max}=55,51\%$.

Встановлено достовірне зниження експресії маркеру EpCAM і достовірне зростання експресії CD44 зі збільшенням розміру пухлини і погіршенням ступеню диференціювання ($p<0,05$). Відповідно між обома маркерами встановлений достовірний негативний критерій Манна-Вітні та коефіцієнт Пірсона.

Експресія маркерів клітинної поверхні підтверджує наявність субклону ракових клітин в пухлинах ПАПЗ, які можуть виключно регенерувати пухлини і оперативно називаються раковими стовбуровими клітинами (CSC) [37,41,121,184,186,189]. Згідно літературних даних, CSC походять з циркулюючих клітин підшлункової залози (CPC), які, в свою чергу, утворюються з ацинарних клітин ПЗ, що підтверджується встановленою експресією EpCAM в ацинарній тканині. Стовбурові клітини для свого виживання потребують високого рівня пластичності, зумовленого динамікою EMT/MET, якому піддаються ацинарні клітини. Важливим маркером для ідентифікації клітин, що проходять EMT, в кластері ракових стовбурових клітин є CD44 [6,88,189,121,229,268].

Програмі EMT відводиться вирішальна роль в утворенні ракових стовбурових клітин, незважаючи на відсутність доведеної прямої кореляції між цими процесами. Але такі визнані сигнальні шляхи Notch, Wnt/ β -катенін та SHH є спільними в запуску як EMT, так і в програмі стовбурових клітин [189,209,245,279]. Важливу роль у зростанні резервуару ракових стовбурових клітин відводиться TGF- β [215,245,247,252,279]. Як головний та вирішальний



індуктор ЕМТ, під час прогресування патогенезу раку TGF- β [189,207,215,219,245,247,252] різко активує програму, за допомогою якої канцерасоційовані фібробласти (CAF) збільшують кількість стовбурових клітин [182,207,219,244].

Виявлена в проведеній роботі одночасна експресія раковими клітинами епітеліальних і мезенхімальних маркерів, що було описано у відповідних розділах, свідчить про гібридний фенотип клітин ПАПЗ, що узгоджується з даними наукової літератури [45,46,49,108,184,282,299]. Тобто, ракові клітини можуть проявляти різні, проміжні, стани ЕМТ. Вважається, що саме проміжний стан ЕМТ сприяє збільшенню клітин із рисами стовбуровості, чим і обумовлюється високий рівень пластичності, самовідновлення, метастазування, рецидивування, вроджена хіміорезистентність цих клітин [158,217]. Також важлива роль в цьому процесі належить Е-кадгерину, який сам по собі може ініціювати ЕМТ. На відміну від проміжного типу ЕМТ, повна ЕМТ, навпаки, може пригнічувати пухлинну активність, блокуючи клітини в повністю диференційованих станах і зменшуючи їх пластичність (Jian Yang et al., 2023) [225,226,295]. Тому більшість ракових клітин проходять проміжні або гібридні ЕМТ, які підтримують їх адаптацію і виживання. На фенотип ракових клітин і їхню радіорезистентність впливають і активовані зірчасті клітини – міофібробласти, роль яких в розвитку ПАПЗ була описана у відповідному розділі.

В свою чергу, в літературі наводяться дані про вплив CD44 на ЕМТ. Вважається, що функціональна роль CD44 є плейотропною [84,92,133,139,185,246,261]. Як відповідальний за клітинну адгезію, CD44 індукує ЕМТ, впливає на зміну цитоскелету, що підтверджується отриманими в роботі результатами експресії цитокератинів СК7,18 [88,132,258]. Зокрема, описано, через пригнічення експресії Е-кадгерину, CD44+ клітини активують шлях Akt і запускають ЕМТ. Надекспресія CD44 призводить до збільшення мезенхімальних ракових клітин, що проходять ЕМТ [41,185,265,279]. Вважається, гіперекспресія CD44 може бути викликана втратою



функціонального білка p53 з подальшою втратою контролю над клітинним циклом і порушенням апоптозу [41,226,265,278,299]. CD44 не тільки активізує шляхи виживання ракових клітин, а і прискорює проліферацію ракових стовбурових клітин, що забезпечує їх домінування в рецидиві пухлини [41,133,185,233].

Згідно отриманим результатам, при ПАПЗ спостерігається не тільки надекспресія CD44, а і перерозподіл білка із клітин в строму, особливо виражене при G₃ в пухлинах більше 3 см. Така особливість експресії CD44 в літературі описана, зокрема, при низькодиференційованій аденокарциномі сечового міхура [261]. Згідно науковим дослідженням, клітини стромы завдяки певним сигнальним шляхам підтримують і сприяють збільшенню ракових стовбурових клітин [37,41,184,215]. Зокрема, вважається, що канцерасоційовані фібробласти (CAF) за допомогою певних факторів можуть взаємодіяти з білком клітинної поверхні CD44, викликаючи злоякісний фенотип або ініціюючи пухлину [37,82,166,213,278,233]. Саме CD44-позитивні CAF підвищують виживання та резистентність злоякісних клітин, інгібують апоптоз, що описано при раку молочної залози [41,132,139,201]. Таким чином, CD44, експресований на CAF, додатково служить функціональною молекулою підтримки популяції РСК у мікросередовищі пухлини. Виявлені особливості експресії CD44 з перерозподілом білка в строму пояснює особливу агресивність ПАПЗ [82,84,92,108,184,233,261].

Таким чином, отримані результати узгоджуються з літературними даними про критичну роль CD44 в ініціації, прогресуванні, злоякісності, рецидивуванні та резистентності при ПАПЗ і може використовуватися як діагностичний маркер РСК ПАПЗ [92,184,213,219,233].

При плоскоклітинній карциномі виділяють шість окремих популяцій ракових стовбурових клітин, порівнянних з різними перехідними станами ЕМТ, які визначають за допомогою комбінації великої панелі маркерів клітинної поверхні [41,82,108]. В зв'язку з цим, незважаючи на достатню інформативність CD44, в роботі паралельно був проаналізований маркер



ErCAM. Виявлена експресія останнього також підтверджує невеликий відсоток ракових стовбурових клітин при ПАПЗ [84,92,132,139,246] і була достовірно нижчою за експресію CD44 в пухлинах менше і більше 3 см ($p < 0,05$). Незважаючи на те, що в науковій літературі вказується на лише частковий зв'язок експресії ErCAM з ЕМТ, як молекула епітеліально-клітинної адгезії, онкобілок бере активну участь в патологічних процесах клітинної проліферації, полярності, рухливості [48,166,201]. Роль маркера в прогресії ПАПЗ також пов'язують з пригнічуючим ефектом на імунні клітини в пухлині. В літературі вказується на кореляцію експресії ErCAM зі ступенем диференціації [92,227,277,278,299]. В проведених дослідженнях були виявлені окремі дрібні пласти імунопозитивних ракових клітин, що може бути проявом ЕМТ, який проходять ці клітини, і свідчить про їх більшу агресивність [92,227,277,278,299]. В проведених дослідженнях не виявлено достовірної різниці маркера в залежності від ступеню диференціації. При цьому мінімальний показник його був втричі вищий при G_3 . В науковій літературі є дані про зростання пропорції маркерів клітинної поверхні, в тому числі і CD44 і ErCAM, з агресивністю пухлини [82]. В проведених дослідженнях при G_2 CD44 перевищує ErCAM в 1,3 р., при G_3 це співвідношення зростає до 1,4. Окрім даних про стимулюючу роль ErCAM в ПАПЗ, в літературі наводяться дані про пригнічуючий ефект маркера на пухлинний процес [84,139,246]. Можливо, з цим пов'язана відсутність в роботі достовірного підвищення ErCAM при прогресії агресивності ПАПЗ.

Виявлена в проведений роботі нелінійна зміна маркерів, згідно літературним даним, може бути обумовлена фенотиповою і функціональною диверсифікацією РСК ПАПЗ та є проявом агресивності і прогресування онкопроцесу [84,139,236,246,279].

Таким чином, паралельний ІГХ комбінації маркерів клітинної поверхні CD44 і ErCAM підтверджує їх інформативність для виявлення клону стовбурових клітин, роль РСК в прогресії ПАПЗ, а також роль ЕМТ в появі і зростанні пулу РСК і прогресії ПАПЗ.



Незважаючи на контрверсійні наукові дані про роль ЕМТ в онкопроцесі, отримані результати морфологічних, морфометричних, гістологічних і імуногістохімічних досліджень переконують, що ключова роль в ініціації і прогресуванні ПАПЗ належить процесу ЕМТ, в основі якого є втрата клітинами апікально-епітеліальної адгезії, полярності клітин, набуття ними мезенхімальних ознак. Адгезія клітин одна до одної, до ендотелія, компонентів екстрацелюлярного матриксу є складним біологічним процесом, реалізація якого залежить від багатьох факторів, зокрема особливостей і стану комплексу адгезивних молекул CD44-кадгерин-катенін-цитоскелет в клітинах підшлункової залози [82,136,233,279]. Міжклітинні взаємодії важливі не тільки для збереження структури тканини в нормі. Стійка дестабілізація міжклітинних контактів має кардинальне значення для трансформації новоутвореного раку та подальшого його прогресування - міграції ракових клітин, інвазії в підлеглу строму, метастазування. Реалізація цих процесів відбувається за умов координації клітин підшлункової залози та функціонування ряду сигнальних шляхів [42,74,81,189,205,207,263].

Про втрату адгезивних зв'язків та зміну полярності клітин свідчить встановлена в проведених дослідженнях мембрано-цитоплазматична локалізація експресії епітеліальних маркерів з гранулярним типом забарвлення, а також достовірна втрата Е-кадгерину, цитокератинів 7,18, β -катеніну. Втрата епітеліальних ознак ракових клітин вважається однією з ланок запуску ЕМТ. Встановлене в роботі достовірне зниження Е-кадгерину, цитокератинів 7,18 і накопичення β -катеніну в зоні ЕМТ в порівнянні із залозисто-протоковим компартментом підтверджує роль ЕМТ в прогресуванні ПАПЗ. Також встановлена залежність рівня експресії маркерів і характеру забарвлення від ступеню диференціювання і розміру пухлини [53,74,174,176,279].

В залозисто-протоковому компартменті спостерігалась висока експресія Е-кадгерину і відсутність абсолютної зворотної кореляції між динамікою експресії маркеру і агресивністю пухлини, що свідчить про часткову ЕМТ і



збереження пухлинами ПАПЗ диференційованого фенотипу при вираженій агресивності онкопроцесу [80,220]. Експресія β -катеніну достовірно знижувалась зі збільшенням розміру пухлини і погіршенням ступеню диференції, більш виражене в порівнянні з Е-кадгерином. Експресія цитокератинів 7,18 достовірно збільшувалась зі збільшенням розміру пухлини за рахунок збільшення розмірів трабекул та їхніх комплексів в пухлинах більше 3 см, при цьому більш суттєво зростала відносна площа СК7. З погіршенням ступеню диференціювання встановлено достовірне зниження обох маркерів цитоскелету.

В зоні ЕМТ втрата Е-кадгерину корелювала зі збільшенням розміру пухлини і більш виражена кореляція встановлена при погіршенні ступеню диференціювання. Експресія β -катеніну в залозисто-протоковому компоненті зон ЕМТ мала достовірне зростання в залежності від ступеню диференціювання і недостовірне в залежності від розміру пухлини. В пухлинах більше 3 см низького ступеню диференціювання спостерігались невеликі ділянки ЕМТ з повною втратою експресії СК18, що свідчить про повну втрату клітинами цитоскелету. Ремоделювання цитоскелету супроводжується переключенням експресії цитокератинів на проміжні нитки віментину, що сприяє ізолюваності та рухливості ракових клітин. Одночасна експресія віментину і цитокератинів не тільки підтверджує роль ЕМТ, а і розвиток атипової, ракової строми [66].

Встановлене суттєве підвищення експресії β -катеніну паралельно з втратою Е-кадгерину при низькому ступені диференціювання характерне для екзофітного типу ПАПЗ, який відрізняється більшою агресивністю за рахунок більш вираженої ЕМТ і більшої активності САФ, що супроводжується зростанням α -SMA.

Встановлене в роботі зростання експресії онкобілка зі збільшенням розміру пухлини свідчить про збільшення кількості активованих туморасоційованих фібробластів, що можуть з'являтися з локального ЕМТ. В проведених дослідженнях ракові клітини, які також є джерелом САФ, на



відміну від останніх, експресували і епітеліальні і мезенхімальні маркери, що теж підтверджує роль гібридного фенотипу ЕМТ в ПАПЗ [132,139,234]. Проміжний стан ЕМТ сприяє збільшенню клітин із рисами стовбуровості, що обумовлює високий рівень пластичності, самовідновлення, метастазування, рецидивування, вроджена хіміорезистентність цих клітин [182,201,208,231,234,295].

Встановлене недостовірне зростання α -SMA і віментину зі збільшенням розміру пухлини і достовірне з погіршенням ступеню диференціювання доводить доцільність прогнозувати агресивність ПАПЗ за допомогою цих маркерів. Крім того, динаміка показників паралельно з розвитком строми, яка спостерігалась в дослідженнях, може свідчити про пригнічувальний ефект строми на ранній стадії і стимулюючий на пізній [32,79,84,271], що узгоджується з даними літератури про контраверсійну роль строми при ПАПЗ [32,79,84,271].

Проведені дослідження підтверджують зв'язок експресії віментину із низьким ступенем диференціювання і розміром пухлини, що узгоджується з більшістю літературних джерел, і тому пропонується використовуватися для визначення ступеня диференціації клітин [26,74,170,185].

Зі збільшенням розміру пухлини і погіршенням ступеню диференціювання в проведених дослідженнях спостерігалось зменшення кількості ракових клітин, відповідно основна доля віментину експресувалась клітинами строми, що підтверджує роль строми в прогресуванні і агресивності ПАПЗ [154,199,252,273,260]. Зростання кількості віментинпозитивних клітин пов'язують також з вищою інвазивністю і хіміорезистентністю ПАПЗ [26,74,170,185,252].

Встановлено достовірне зниження експресії маркеру EpCAM і достовірне зростання експресії CD44 зі збільшенням розміру пухлини і погіршенням ступеню диференціювання [92,227,233,277,278,299].

CD44 є важливим маркером для ідентифікації клітин, що проходять ЕМТ, в кластері ракових стовбурових клітин. Як відповідальний за клітинну



адгезію, CD44 індукує EMT, впливає на зміну цитоскелету [92,136,227,233,277,278,299].

На підставі отриманих результатів можна зробити висновок, що трансмембранна молекула CD44 в комплексі з EpcAM та пов'язані з нею протеїни (E-кадгерин, β -катенін, цитокератини 7,18) здійснюють «моніторинг» за функцією клітин і змінами ЕМ, впливаючи таким чином на такі важливі клітинні процеси, як диференціація, проліферація, інвазія, метастазування. Комбінація епітеліальних і мезенхімальних маркерів допомагає визначати стан EMT ракових клітин, ступінь розвитку стромы.

Отримані результати дозволяють рекомендувати визначення обраного комплексу онкомаркерів як інформативний і перспективний напрямок досліджень для встановлення ролі EMT як у збільшенні розміру, так і у погіршенні ступеню диференціювання ПАПЗ, а також як молекулярних мішеней для терапевтичних впливів.

Таким чином, проведена робота дає можливість зробити висновок, що отримні результати є новими даними в ранньому патоморфологічному прогнозуванні перебігу протокової аденокарциноми ПЗ в біоптатах хворих для своєчасного попередження прогресування цієї хвороби.



ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі вирішується актуальна проблема – патоморфологічні та імуногістохімічні параметри епітеліально-мезенхімальної трансформації та її вплив на протокову аденокарциному підшлункової залози в залежності від розміру пухлини (менше та більше 3 см) та ступеню диференціювання для їх використання в ранній патоморфологічній діагностиці та оптимізації тактики лікування хворих.

1. Згідно гістологічного, гістохімічного та імуногістохімічного дослідження, гістоархітектоніка ПАПЗ складається з паренхіматозного (залозисто-протокового) та стромального (мезенхімального) компартменту з переважанням фібропластичної строми, а також зонами епітеліально-мезенхімальної трансформації. Залозисто-протоковий компартмент мав тубулярні, трабекулярні та криброзні структури, які мали зворотно пропорційний розвиток один до одного в залежності від розміру пухлини та ступеню її диференціювання. Відмічалось зворотно пропорційне співвідношення розвитку фіброзної строми та паренхіматозного компартменту в залежності від розміру та ступеню диференціювання пухлин.

2. ІГХ-дослідження експресії епітеліальних маркерів Е-кадгерину, β -катеніну, CK7 та CK18 в протоково-залозистому компартменті виявив дифузний та частково гранулярний тип мембранного, мембрано-цитоплазматичного забарвлення. Відносна площа експресії Е-кадгерину склала $Me=29,05\%$, β -катеніну – $Me=5,59\%$. В пухлинах більше 3 см встановлено зниження Е-кадгерину на $19,42\%$ ($p<0,05$), зниження β -катеніну на $3,04\%$. Від G_2 до G_3 в пухлинах менше 3 см Е-кадгерин знижувався на $16,03\%$ ($p<0,05$), в пухлинах більше 3 см – на $6,02\%$ ($p>0,05$), β -катенін знижувався в обох групах в 1,62 і 2,52 рази відповідно ($p<0,05$). Експресія CK7 склала $Me=17,93\%$, CK18 - $Me=12,87\%$. Обидва маркери достовірно зростали в пухлинах більше 3 см за рахунок великих трабекул та їх комплексів, CK7



зростав у 2,52 рази, CK18 – у 1,81 рази. Від G₂ до G₃ в I групі CK7 знижувався в 5,37 рази, CK18 – в 2,17, в II – в 1,57 і 1,80 відповідно.

3. Встановлено, що зони ЕМТ сформовані фрагментованими та брунькованими залозисто-тубулярними/дуктулярними структурами, «відшнурованими» клітинами та їх скупченнями, великими атиповими раковими клітинами з поліморфнозміненими ядрами, атиповими фібробластоподібними клітинами з поліморфнозміненими гіперхромними ядрами. В порівнянні із залозисто-протоковим компартментом в зоні ЕМТ встановлено прогресивну достовірну втрату відносних площин Е-кадгерину, CK7, CK18, прогресивне зростання β -катеніну, більш виражені у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях. Мезенхімальні маркери визначались у «відшнурованих» клітинах і їх скупченнях. Відносні площі α -SMA Me=17,65%, віментину Me=18,76%. Встановлено достовірне зростання в пухлинах більше 3 см в порівнянні із I групою: відносної площі α SMA в 1,60 рази ($p<0,05$), віментину в 2,17 рази ($p<0,05$). Від G₂ до G₃ в пухлинах менше 3 см α SMA знижується в 1,08 рази, віментин зростає в 1,60 рази ($p<0,05$), в пухлинах більше 3 см α SMA знижується в 1,37 рази ($p<0,05$), віментин знижується в 1,08 рази.

4. Стромальний компартмент був представлений помірно-вираженою фіброзною стромою, що замурувала структури залозисто-протокового компартменту, відносна площа склала Me=73,15%. Пухлини більше 3 см відрізняються зростанням строми у 2,54 рази ($p<0,05$). Від G₂ до G₃ в пухлинах менше 3 см об'єм строми зростає в 2,56 рази ($p<0,05$), в пухлинах більше 3 см – в 1,27 рази ($p<0,05$). Строма протокової аденокарциноми підшлункової залози характеризується достовірно більш високими показниками онкомаркерів α SMA (Me=35,46%) та віментину (Me=36,58%) в порівнянні із зоною ЕМТ. В пухлинах більше 3 см встановлено достовірне зростання відносної площі експресії α SMA на 9,60% ($p<0,05$) та Vim на 7,63% ($p<0,05$) в порівнянні з I групою. Від G₂ до G₃ в I групі α SMA



зростав на 7,52% ($p < 0,05$), Vim – на 5,94% ($p < 0,05$), у II групі α SMA зростав на 11,84% ($p < 0,05$), Vim – на 5,37% ($p < 0,05$).

5. Зі збільшенням розміру пухлин відмічається втрата EpCAM на 4,47% ($p < 0,05$), зростання CD44 на 15,64% ($p < 0,05$). Від G₂ до G₃ в I групі встановлено втрату EpCAM на 6,62%, зростання CD44 на 13,51%, в II групі втрата EpCAM – на 9,62%, зростання CD44 – на 12,82%.

6. За результатами дисертаційної роботи розроблені нові дані для ранньої діагностики та прогнозування перебігу протокової аденокариноми підшлункової залози, згідно з якими пухлини більше 3 см відрізняються від пухлин менше 3 см нижчою експресією епітеліальних маркерів (Е-кадгерин, CK7 та CK18), підвищеним рівнем експресії β -катеніну в раковому залозисто-протоковому компартменті, в зонах ЕМТ як в залозисто-протоковому компоненті, так і у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях, підвищенням рівня експресії мезенхімальних маркерів (α SMA, Vim) у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях зон ЕМТ та у стромальному компартменті, зниженням експресії маркеру стовбурових клітин EpCAM та зростання експресії CD44.



ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Для визначення прогресування та росту протокової аденокарциноми підшлункової залози необхідно враховувати такі дані:

1. Про прогресування ПАПЗ свідчить: втрата епітеліальних маркерів Е-кадгерину, CK7 та CK18 у залозисто-протоковому компартменті та підвищення експресії β -катеніну у цьому ж компартменті.

2. З прогресуванням ПАПЗ відмічається активація епітеліально-мезенхімальної трансформації клітин, що підтверджується більшою втратою епітеліальних маркерів Е-кадгерину, CK7 та CK18 в залозисто-протоковому комплексі зон ЕМТ, та ще більшою втратою експресії цих маркерів у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях. Експресія β -катеніну в залозисто-протоковому комплексі та ще більше у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях, навпаки, зростає. Встановлена поява експресії мезенхімальних маркерів α -SMA та Vim у «відшнурованих» клітинах та їх скупченнях зон ЕМТ.

3. Прогресування ПАПЗ від помірного до низького ступеню диференціювання та збільшенні розміру пухлин від менше 3см до більше 3 см супроводжується прогресивним розвитком значної щільної фібропластичної стромы, що щільно замурує структури залозисто-протокового компартменту, і, відповідно, зростанням рівнів експресії мезенхімальних маркерів віментину та гладко-м'язового актину.

4. При прогресуванні ПАПЗ від помірного до низького ступеню диференціювання та збільшенні розміру пухлин від менше 3см до більше 3 см встановлено зростання показників експресії маркеру стовбурових клітин CD44.



3616367231332456

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бюлетень Національного канцер-реєстру. Київ, 2016. № 17: Рак в Україні, 2014-2015. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. URL: http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_17/index.htm
2. Бюлетень Національного канцер-реєстру. Київ, 2017. № 18: Рак в Україні, 2015-2016. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. URL: http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_18/index.htm
3. Бюлетень Національного канцер-реєстру. Київ, 2018. № 19: Рак в Україні, 2016-2017. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. URL: http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_19/index.htm
4. Бюлетень Національного канцер-реєстру. Київ, 2019. № 20: Рак в Україні, 2017-2018. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. URL: http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_20/index.htm
5. Бюлетень Національного канцер-реєстру. Київ, 2020. № 21: Рак в Україні, 2018-2019. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. URL: http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_21/index.htm
6. Бюлетень Національного канцер-реєстру. Київ, 2021. № 22: Рак в Україні, 2019-2020. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. URL : http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_22/
7. Бюлетень Національного канцер-реєстру. Київ, 2022. № 23: Рак в Україні, 2020-2021. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. URL : http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_23/index.htm



8. Бюлетень Національного канцер-реєстру. Київ, 2023. № 24: Рак в Україні, 2021-2022. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. URL : http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_24/
9. Бюлетень Національного канцер-реєстру. Київ, 2024. № 25: Рак в Україні, 2022-2023. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. URL: http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_25/index.htm
10. Гельсінська декларація Всесвітньої медичної асоціації "Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження" URL : https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/990_005#Text
11. Кабаченко В. О. (2021) Десмопластична строма в протоковій аденокарциномі підшлункової залози. УМСА - століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА), *матеріали Всеукр. міждисциплінарної наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 100-річчю заснування Укр. мед. стомат. академії*: (м. Полтава, 8 жовт. 2021р.). Полтава, 2021. С. 66–67.
12. Кабаченко В. О. (2019) Епітеліально-мезенхімальна трансформація клітин протокової аденокарциноми підшлункової залози. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації: зб. тез доп. наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студ., 13-17 трав. 2019 р. Запоріжжя, 2019. С. 8.*
13. Кабаченко В. О. (2022) ІГХ характеристика фіброзної строми в протоковій аденокарциномі підшлункової залози при різному ступені диференціювання пухлини. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації - 2022: зб. тез доп. 82 Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів, 17 трав. 2022 р., м. Запоріжжя. Запоріжжя: ЗДМУ, 2022. С. 47–48.*
14. Кабаченко В. О. (2021) Протокова аденокарцинома підшлункової залози: аналіз первинної діагностики та імуногістохімічні особливості



3616367231332456

пухлини. *Morphologia*. 2021. Т. 15, № 4. С. 62–70. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.4.62-70>.

15. Кабаченко В. О. (2021) Протокова аденокарцинома підшлункової залози; аналіз захворюваності і характерні патоморфологічні особливості пухлини. *Наукові дослідження патологоанатомів України: досягнення та перспективи розвитку: матеріали міжнар. наук.-практ. онлайн-конф. (м. Запоріжжя, 22-23 квіт. 2021р.)*. Запоріжжя, 2021р. С. 22.

16. Кабаченко В. О. Шишкін М. А. (2022) Особливості фіброзної стромы в протоковій аденокарциномі підшлункової залози в залежності від розміру пухлини. *Morphologia*. 2022. Т. 16, № 2. С. 51–59. DOI: 10.26641/1997-9665.2022.2.51-59.

17. Кабаченко В. О., Шишкін М. А. (2024) Епідеміологія раку підшлункової залози в Україні та Запорізькій області. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2024. Т. 17, № 2 (45). С. 169–175. DOI: 10.14739/2409-2932.2024.2.299555.

18. Кабаченко В. О., Шишкін М. А. (2024) Імуногістохімічна характеристика епітеліально-мезенхімальної трансформації в протоковій аденокарциномі підшлункової залози. *Запорізький медичний журнал*. 2024. Т. 26, № 2. С. 127–133. DOI: 10.14739/2310-1210.2024.2.297243.

19. Кабаченко В. О., Шишкін М. А. (2023) Мікроскопічна та імуногістохімічна характеристика епітеліально-мезенхімальної трансформації в протоковій аденокарциномі підшлункової залози помірного та низького ступеню диференціювання. *Morphologia*. 2023. Т. 17. № 4. С. 60–73. DOI: 10.26641/1997-9665.2023.4.60-73.

20. Конвенція про захист прав і гідності людини щодо застосування біології та медицини: Конвенція про права людини та біомедицину. (ETS-164) Ов'єдо, 4 квітня 1997 року, {з доповненнями від 12.01.1998; від 24.01.2002; від 25.01.2005} Офіційний переклад. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_334#Text



21. Міжнародні етичні рекомендації щодо досліджень, пов'язаних із здоров'ям, за участю людей розроблені Радою міжнародних організацій медичних наук (CIOMS) у співпраці з Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ): Переклад українською мовою 2018. (Женева): 2016. 132 с. URL: <https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/site/files/klinika/cioms.pdf>
22. Опря А. Т. Статистика (модульний варіант з програмованою формою контролю знань. Київ: Центр учбової літератури, 2012. 448 с.
23. Про затвердження Порядку проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань і Типового положення про комісії з питань етики: наказ МОЗ України від 23.09.2009 р. № 690 {Із змінами, внесеними згідно з Наказами МОЗ № 523 від 12.07.2012, № 304 від 06.05.2014, № 966 від 18.12.2014, № 639 від 01.10.2015, № 2609 від 25.11.2021, № 538 від 28.03.2022, № 190 від 31.01.2023} URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1010-09#Text>
24. Туффаха Муїн С. А., Гичка С. Г., Гуски Г. Імуногістохімічна діагностика пухлин. Київ, 2013. 224 с.
25. Шишкин М. А., Фень С. В. (2020) Эпителиально-мезенхимальный переход в прогрессии колоректальной аденокарциномы. *Запорізький медичний журнал*. 2020. Т. 22, № 5 (122). С. 694–700. DOI: 10.14739/2310-1210.2020.5.214747.
26. Х'юз З. Рак підшлункової залози. *Фестиваль молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття»*: матеріали Міжвузівської конференції молодих учених та студентів «Медицина третього тисячоліття», м.Харків, 15-17 січня 2024, Харків, 2024, с.183-185
27. Adamska, A., Elaskalani, O., Emmanouilidi, A., Kim, M., Abdol Razak, N. B., Metharom, P., & Falasca, M. (2018). Molecular and cellular mechanisms of chemoresistance in pancreatic cancer. *Advances in biological regulation*, 68, 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.jbior.2017.11.007>.



28. Adamska, A., Domenichini, A., & Falasca, M. (2017). Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Current and Evolving Therapies. *International journal of molecular sciences*, 18(7), 1338. <https://doi.org/10.3390/ijms18071338>.
29. Adamska, A., Elaskalani, O., Emmanouilidi, A., Kim, M., Abdol Razak, N. B., Metharom, P., & Falasca, M. (2018). Molecular and cellular mechanisms of chemoresistance in pancreatic cancer. *Advances in biological regulation*, 68, 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.jbior.2017.11.007>
30. Agnoletto, C., Corrà, F., Minotti, L., Baldassari, F., Crudele, F., Cook, W. J. J., Di Leva, G., d'Adamo, A. P., Gasparini, P., & Volinia, S. (2019). Heterogeneity in Circulating Tumor Cells: The Relevance of the Stem-Cell Subset. *Cancers*, 11(4), 483. <https://doi.org/10.3390/cancers11040483>
31. Aiello, N. M., Bajor, D. L., Norgard, R. J., Sahmoud, A., Bhagwat, N., Pham, M. N., Cornish, T. C., Iacobuzio-Donahue, C. A., Vonderheide, R. H., & Stanger, B. Z. (2016). Metastatic progression is associated with dynamic changes in the local microenvironment. *Nature communications*, 7, 12819. <https://doi.org/10.1038/ncomms12819>
32. Aiello, N. M., Maddipati, R., Norgard, R. J., Balli, D., Li, J., Yuan, S., Yamazoe, T., Black, T., Sahmoud, A., Furth, E. E., Bar-Sagi, D., & Stanger, B. Z. (2018). EMT Subtype Influences Epithelial Plasticity and Mode of Cell Migration. *Developmental cell*, 45(6), 681–695.e4. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2018.05.027>.
33. Aier, I., Semwal, R., Sharma, A., & Varadwaj, P. K. (2019). A systematic assessment of statistics, risk factors, and underlying features involved in pancreatic cancer. *Cancer epidemiology*, 58, 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.canep.2018.12.001>
34. Alkasalias, T., Moyano-Galceran, L., Arsenian-Henriksson, M., & Lehti, K. (2018). Fibroblasts in the Tumor Microenvironment: Shield or Spear? *International journal of molecular sciences*, 19(5), 1532. <https://doi.org/10.3390/ijms19051532>.



35. Allam, A., Thomsen, A. R., Gothwal, M., Saha, D., Maurer, J., & Brunner, T. B. (2017). Pancreatic stellate cells in pancreatic cancer: In focus. *Pancreatology: official journal of the International Association of Pancreatology (IAP)* ... [et al.], 17(4), 514–522. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2017.05.390>
36. Anderson, K. G., Stromnes, I. M., & Greenberg, P. D. (2017). Obstacles Posed by the Tumor Microenvironment to T cell Activity: A Case for Synergistic Therapies. *Cancer cell*, 31(3), 311–325. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.02.008>
37. Askan, G., Sahin, I. H., Chou, J. F., Yavas, A., Capanu, M., Iacobuzio-Donahue, C. A., Basturk, O., & O'Reilly, E. M. (2021). Pancreatic cancer stem cells may define tumor stroma characteristics and recurrence patterns in pancreatic ductal adenocarcinoma. *BMC cancer*, 21(1), 385. <https://doi.org/10.1186/s12885-021-08123-w>
38. Backen, A. C., Lopes, A., Wasan, H., Palmer, D. H., Duggan, M., Cunningham, D., Anthoney, A., Corrie, P. G., Madhusudan, S., Maraveyas, A., Ross, P. J., Waters, J. S., Steward, W. P., Rees, C., McNamara, M. G., Beare, S., Bridgewater, J. A., Dive, C., & Valle, J. W. (2018). Circulating biomarkers during treatment in patients with advanced biliary tract cancer receiving cediranib in the UK ABC-03 trial. *British journal of cancer*, 119(1), 27–35. <https://doi.org/10.1038/s41416-018-0132-8>
39. Baczynska, D., Bombik, I., & Malicka-Błaszkiwicz, M. (2016). β -Catenin Expression Regulates Cell Migration of Human Colonic Adenocarcinoma Cells Through Gelsolin. *Anticancer research*, 36(10), 5249–5256. <https://doi.org/10.21873/anticanres.11095>
40. Bailey, P., Chang, D. K., Nones, K., Johns, A. L., Patch, A. M., Gingras, M. C., Miller, D. K., Christ, A. N., Bruxner, T. J., Quinn, M. C., Nourse, C., Murtaugh, L. C., Harliwong, I., Idrisoglu, S., Manning, S., Nourbakhsh, E., Wani, S., Fink, L., Holmes, O., Chin, V., ... Grimmond, S. M. (2016). Genomic analyses identify molecular subtypes of pancreatic cancer. *Nature*, 531(7592), 47–52. <https://doi.org/10.1038/nature16965>



41. Barman, S., Fatima, I., Singh, A. B., & Dhawan, P. (2021). Pancreatic Cancer and Therapy: Role and Regulation of Cancer Stem Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4765. <https://doi.org/10.3390/ijms22094765>
42. Battaglia, R. A., Delic, S., Herrmann, H., & Snider, N. T. (2018). Vimentin on the move: new developments in cell migration. *F1000Research*, 7, F1000 Faculty Rev-1796. <https://doi.org/10.12688/f1000research.15967.1>
43. Bazzichetto, C., Conciatori, F., Falcone, I., Cognetti, F., Milella, M., & Ciuffreda, L. (2019). Advances in Tumor-Stroma Interactions: Emerging Role of Cytokine Network in Colorectal and Pancreatic Cancer. *Journal of oncology*, 2019, 5373580. <https://doi.org/10.1155/2019/5373580>
44. Bazzichetto, C., Luchini, C., Conciatori, F., Vaccaro, V., Di Cello, I., Mattiolo, P., Falcone, I., Ferretti, G., Scarpa, A., Cognetti, F., & Milella, M. (2020). Morphologic and Molecular Landscape of Pancreatic Cancer Variants as the Basis of New Therapeutic Strategies for Precision Oncology. *International journal of molecular sciences*, 21(22), 8841. <https://doi.org/10.3390/ijms21228841>
45. Begum, A., McMillan, R. H., Chang, Y. T., Penchev, V. R., Rajeshkumar, N. V., Maitra, A., Goggins, M. G., Eshelman, J. R., Wolfgang, C. L., Rasheed, Z. A., & Matsui, W. (2019). Direct Interactions With Cancer-Associated Fibroblasts Lead to Enhanced Pancreatic Cancer Stem Cell Function. *Pancreas*, 48(3), 329–334. <https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000001249>.
46. Begum, A., Ewachiw, T., Jung, C., Huang, A., Norberg, K. J., Marchionni, L., McMillan, R., Penchev, V., Rajeshkumar, N. V., Maitra, A., Wood, L., Wang, C., Wolfgang, C., DeJesus-Acosta, A., Laheru, D., Shapiro, I. M., Padval, M., Pachter, J. A., Weaver, D. T., Rasheed, Z. A., ... Matsui, W. (2017). The extracellular matrix and focal adhesion kinase signaling regulate cancer stem cell function in pancreatic ductal adenocarcinoma. *PloS one*, 12(7), e0180181. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180181>
47. Belaldavar, C., Mane, D. R., Hallikerimath, S., Kale, A. D. (2016). Cytokeratins: Its role and expression profile in oral health and disease. *Journal of*



Oral and Maxillofacial Surgery, *Medicine, and Pathology*. Pages 77-84
<https://doi.org/10.1016/j.ajoms.2015.08.001>

48. Birtolo, C., Pham, H., Morvaridi, S., Chheda, C., Go, V. L., Ptasznik, A., Edderkaoui, M., Weisman, M. H., Noss, E., Brenner, M. B., Larson, B., Guindi, M., Wang, Q., & Pandol, S. J. (2017). Cadherin-11 Is a Cell Surface Marker Up-Regulated in Activated Pancreatic Stellate Cells and Is Involved in Pancreatic Cancer Cell Migration. *The American journal of pathology*, 187(1), 146–155.
<https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2016.09.012>

49. Bocci F., Gearhart-Serna L., Boareto M., Ribeiro M., Ben-Jacob E., Devi G.R., Levine H., Onuchic J.N., Jolly M.K. Toward Understanding Cancer Stem Cell Heterogeneity in the Tumor Microenvironment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2019; 116:148–157. doi: 10.1073/pnas.1815345116. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar],

50. Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(6), 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>

51. Brooks, P. J., Glogauer, M., & McCulloch, C. A. (2019). An Overview of the Derivation and Function of Multinucleated Giant Cells and Their Role in Pathologic Processes. *The American journal of pathology*, 189(6), 1145–1158.
<https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2019.02.006>

52. Cadamuro, M., Brivio, S., Mertens, J., Vismara, M., Moncsek, A., Milani, C., Fingas, C., Cristina Malerba, M., Nardo, G., Dall'Olmo, L., Milani, E., Mariotti, V., Stecca, T., Massani, M., Spirli, C., Fiorotto, R., Indraccolo, S., Strazzabosco, M., & Fabris, L. (2019). Platelet-derived growth factor-D enables liver myofibroblasts to promote tumor lymphangiogenesis in cholangiocarcinoma. *Journal of hepatology*, 70(4), 700–709. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.12.004>

53. Calon, A., Lonardo, E., Berenguer-Llargo, A., Espinet, E., Hernando-Momblona, X., Iglesias, M., Sevillano, M., Palomo-Ponce, S., Tauriello, D. V., Byrom, D., Cortina, C., Morral, C., Barceló, C., Tosi, S., Riera, A., Attolini, C. S.,

Rossell, D., Sancho, E., & Batlle, E. (2015). Stromal gene expression defines poor-prognosis subtypes in colorectal cancer. *Nature genetics*, 47(4), 320–329. <https://doi.org/10.1038/ng.3225>

54. Cancer Incidence in Five Continents. Vol. XI. IARC Scientific Publication No. 166 / ed by Bray F. et al. (2021). *Lyon: International Agency for Research on Cancer*, 2021. URL: <https://publications.iarc.fr/597>.

55. Cancer Stat Facts: Pancreatic Cancer. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program; Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/pancreas.html>. Accessed 20 May 2021

56. Cancer Today Global Cancer Observatory URL : <https://gco.iarc.fr>

57. Cannon, A., Thompson, C., Hall, B. R., Jain, M., Kumar, S., & Batra, S. K. (2018). Desmoplasia in pancreatic ductal adenocarcinoma: insight into pathological function and therapeutic potential. *Genes & cancer*, 9(3-4), 78–86. <https://doi.org/10.18632/genesandcancer.171>

58. Chakkerla, Mohana et al. “Breaking the stromal barrier in pancreatic cancer: Advances and challenges” *Biochimica et biophysica acta. Reviews on cancer* vol. 1879, 1 (2024): 189065. doi:10.1016/j.bbcan.2023.189065

59. Chan, T. S., Shaked, Y., & Tsai, K. K. (2019). Targeting the Interplay Between Cancer Fibroblasts, Mesenchymal Stem Cells, and Cancer Stem Cells in Desmoplastic Cancers. *Frontiers in oncology*, 9, 688. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00688>

60. Chatterjee, R., & Chatterjee, J. (2020). ROS and oncogenesis with special reference to EMT and stemness. *European journal of cell biology*, 99(2-3), 151073. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2020.151073>

61. Che, M., Kweon, S. M., Teo, J. L., Yuan, Y. C., Melstrom, L. G., Waldron, R. T., Lugea, A., Urrutia, R. A., Pandol, S. J., & Lai, K. K. Y. (2020). Targeting the CBP/β-Catenin Interaction to Suppress Activation of Cancer-Promoting Pancreatic Stellate Cells. *Cancers*, 12(6), 1476. <https://doi.org/10.3390/cancers12061476>



62. Chen, C., Zhao, S., Karnad, A., & Freeman, J. W. (2018). The biology and role of CD44 in cancer progression: therapeutic implications. *Journal of hematology & oncology*, 11(1), 64. <https://doi.org/10.1186/s13045-018-0605-5>
63. Chen, W., Hoffmann, A.D., Liu, H. et al. (2018) Organotropism: new insights into molecular mechanisms of breast cancer metastasis. *npj Precision Onc* 2, 4. <https://doi.org/10.1038/s41698-018-0047-0>
64. Chen, X., He, Y., Xu, A., Deng, Z., Feng, J., Lu, F., & Yuan, Y. (2019). Increase of glandular epithelial cell clusters by an external volume expansion device promotes adipose tissue regeneration by recruiting macrophages. *Bioscience reports*, 39(2), BSR20181776. <https://doi.org/10.1042/BSR20181776>
65. Chen, Y., LeBleu, V. S., Carstens, J. L., Sugimoto, H., Zheng, X., Malasi, S., Saur, D., & Kalluri, R. (2018). Dual reporter genetic mouse models of pancreatic cancer identify an epithelial-to-mesenchymal transition-independent metastasis program. *EMBO molecular medicine*, 10(10), e9085. <https://doi.org/10.15252/emmm.201809085>
66. Cheng, Y., Qin, K., Huang, N., Zhou, Z., Xiong, H., Zhao, J., Zhang, Y., & Yu, S. (2019). Cytokeratin 18 regulates the transcription and alternative splicing of apoptotic-related genes and pathways in HeLa cells. *Oncology reports*, 42(1), 301–312. <https://doi.org/10.3892/or.2019.7166>
67. Chiaravalli, M., Reni, M., & O'Reilly, E. M. (2017). Pancreatic ductal adenocarcinoma: State-of-the-art 2017 and new therapeutic strategies. *Cancer treatment reviews*, 60, 32–43. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2017.08.007>.
68. Clawson, G. A., Matters, G. L., Xin, P., McGovern, C., Wafula, E., dePamphilis, C., Meckley, M., Wong, J., Stewart, L., D'Jamoos, C., Altman, N., Imamura, Y., Du, Z., Honaas, L., & Abraham, T. (2017). "Stealth dissemination" of macrophage-tumor cell fusions cultured from blood of patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *PloS one*, 12(9), e0184451. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184451>



69. Collisson, E. A., Bailey, P., Chang, D. K., & Biankin, A. V. (2019). Molecular subtypes of pancreatic cancer. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 16(4), 207–220. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0109-y>
70. Corredor, C., Piñeros, M., Wiesner, C., & de Vries, E. (2024). Using administrative registries as a source for population-based cancer incidence and mortality. *BMC cancer*, 24(1), 232. <https://doi.org/10.1186/s12885-023-11754-w>.
71. Cronan, M. R., Beerman, R. W., Rosenberg, A. F., Saelens, J. W., Johnson, M. G., Oehlers, S. H., Sisk, D. M., Jurcic Smith, K. L., Medvitz, N. A., Miller, S. E., Trinh, L. A., Fraser, S. E., Madden, J. F., Turner, J., Stout, J. E., Lee, S., & Tobin, D. M. (2016). Macrophage Epithelial Reprogramming Underlies Mycobacterial Granuloma Formation and Promotes Infection. *Immunity*, 45(4), 861–876. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.09.014>
72. Cros J., Raffenne J., Couvelard A., Poté N. Tumor Heterogeneity in Pancreatic Adenocarcinoma. *PAT*. 2018; 85: 64–71. doi: 10.1159/000477773. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
73. Curtin, J. C., & Lorenzi, M. V. (2018). Erratum: Drug Discovery Approaches to Target Wnt Signaling in Cancer Stem Cells. *Oncotarget*, 9(78), 34856. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.26220>
74. Danielsson, F., Peterson, M. K., Caldeira Araújo, H., Lautenschläger, F., & Gad, A. K. B. (2018). Vimentin Diversity in Health and Disease. *Cells*, 7(10), 147. <https://doi.org/10.3390/cells7100147>.
75. Das P.K., Pillai S., Md Rakib A., Khanam J.A., Gopalan V., Lam A.K.Y., Islam F. Plasticity of Cancer Stem Cell: Origin and Role in Disease Progression and Therapy Resistance. *Stem Cell Rev. Rep.* 2020; 16:397–412. doi: 10.1007/s12015-019-09942-y. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]].
76. De Palma, M., Biziato, D., & Petrova, T. V. (2017). Microenvironmental regulation of tumour angiogenesis. *Nature reviews. Cancer*, 17(8), 457–474. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.51>
77. Dey, P., Li, J., Zhang, J., Chaurasiya, S., Strom, A., Wang, H., Liao, W. T., Cavallaro, F., Denz, P., Bernard, V., Yen, E. Y., Genovese, G., Gulhati, P., Liu,



- J., Chakravarti, D., Deng, P., Zhang, T., Carbone, F., Chang, Q., Ying, H., ... DePinho, R. A. (2020). Oncogenic KRAS-Driven Metabolic Reprogramming in Pancreatic Cancer Cells Utilizes Cytokines from the Tumor Microenvironment. *Cancer discovery*, 10(4), 608–625. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-19-0297>
78. Dmello, C., Srivastava, S. S., Tiwari, R., Chaudhari, P. R., Sawant, S., & Vaidya, M. M. (2019). Multifaceted role of keratins in epithelial cell differentiation and transformation. *Journal of Biosciences*, 44(2), Article 33. <https://doi.org/10.1007/s12038-019-9864-8>.
79. Domenichini, A., Edmands, J. S., Adamska, A., Begicevic, R. R., Paternoster, S., & Falasca, M. (2019). Pancreatic cancer tumorspheres are cancer stem-like cells with increased chemoresistance and reduced metabolic potential. *Advances in biological regulation*, 72, 63–77. <https://doi.org/10.1016/j.jbior.2019.02.001>
80. Dongre, A., & Weinberg, R. A. (2019). New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 20(2), 69–84. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0080-4>.
81. Du, L., Li, J., Lei, L., He, H., Chen, E., Dong, J., & Yang, J. (2018). High Vimentin Expression Predicts a Poor Prognosis and Progression in Colorectal Cancer: A Study with Meta-Analysis and TCGA Database. *BioMed research international*, 2018, 6387810. <https://doi.org/10.1155/2018/6387810>.
82. Durko, L., Wlodarski, W., Stasikowska-Kanicka, O., Wagrowska-Danilewicz, M., Danilewicz, M., Hogendorf, P., Strzelczyk, J., & Malecka-Panas, E. (2017). Expression and Clinical Significance of Cancer Stem Cell Markers CD24, CD44, and CD133 in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma and Chronic Pancreatitis. *Disease markers*, 2017, 3276806. <https://doi.org/10.1155/2017/3276806>
83. Elbanna, K. Y., Jang, H. J., & Kim, T. K. (2020). Imaging diagnosis and staging of pancreatic ductal adenocarcinoma: a comprehensive review. *Insights into imaging*, 11(1), 58. <https://doi.org/10.1186/s13244-020-00861-y>



84. Ercan, G., Karlitepe, A., & Ozpolat, B. (2017). Pancreatic Cancer Stem Cells and Therapeutic Approaches. *Anticancer research*, 37(6), 2761–2775. <https://doi.org/10.21873/anticancer.11628>.
85. Estaras, M., Martinez-Morcillo, S., García, A., Martinez, R., Estevez, M., Perez-Lopez, M., Miguez, M. P., Fernandez-Bermejo, M., Mateos, J. M., Vara, D., Blanco, G., Lopez, D., Roncero, V., Salido, G. M., & Gonzalez, A. (2020). Pancreatic stellate cells exhibit adaptation to oxidative stress evoked by hypoxia. *Biology of the cell*, 112(10), 280–299. <https://doi.org/10.1111/boc.202000020>
86. Fanjul-Fernández, M., Folgueras, A. R., Fueyo, A., Balbín, M., Suárez, M. F., Fernández-García, M. S., Shapiro, S. D., Freije, J. M. P., & López-Otín, C. (2013). Matrix metalloproteinase Mmp-1a is dispensable for normal growth and fertility in mice and promotes lung cancer progression by modulating inflammatory responses. *The Journal of biological chemistry*, 288(20), 14647–14656. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.439893>
87. Farran, B., & Nagaraju, G. P. (2019). The dynamic interactions between the stroma, pancreatic stellate cells and pancreatic tumor development: Novel therapeutic targets. *Cytokine & growth factor reviews*, 48, 11–23. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2019.07.001>
88. Fei, F., Li, C., Cao, Y., Liu, K., Du, J., Gu, Y., Wang, X., Li, Y., & Zhang, S. (2019). CK7 expression associates with the location, differentiation, lymph node metastasis, and the Dukes' stage of primary colorectal cancers. *Journal of Cancer*, 10(11), 2510–2519. <https://doi.org/10.7150/jca.29397>
89. Fiorino, C., & Harrison, R. E. (2016). E-cadherin is important for cell differentiation during osteoclastogenesis. *Bone*, 86, 106–118. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2016.03.004>
90. Forte, E., Chimenti, I., Rosa, P., Angelini, F., Pagano, F., Calogero, A., Giacomello, A., & Messina, E. (2017). EMT/MET at the Crossroad of Stemness, Regeneration and Oncogenesis: The Ying-Yang Equilibrium Recapitulated in Cell Spheroids. *Cancers*, 9(8), 98. <https://doi.org/10.3390/cancers9080098>



91. Fu, C., & Jiang, A. (2018). Dendritic Cells and CD8 T Cell Immunity in Tumor Microenvironment. *Frontiers in immunology*, 9, 3059. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03059>
92. Gaertner, B., Carrano, A. C., & Sander, M. (2019). Human stem cell models: lessons for pancreatic development and disease. *Genes & development*, 33(21-22), 1475–1490. <https://doi.org/10.1101/gad.331397.119>
93. Gagliano, N., Celesti, G., Tacchini, L., Pluchino, S., Sforza, C., Rasile, M., Valerio, V., Laghi, L., Conte, V., & Procacci, P. (2016). Epithelial-to-mesenchymal transition in pancreatic ductal adenocarcinoma: Characterization in a 3D-cell culture model. *World journal of gastroenterology*, 22(18), 4466–4483. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i18.4466>
94. Gaianigo, N., Melisi, D., & Carbone, C. (2017). EMT and Treatment Resistance in Pancreatic Cancer. *Cancers*, 9(9), 122. <https://doi.org/10.3390/cancers9090122>
95. Gaidhani R. H., Balasubramaniam G. An epidemiological review of pancreatic cancer with special reference to India. *Indian J. Med. Sci.* 2021. Vol. 73 (1). P. 99–109. DOI: 10.25259/IJMS_92_2020.
96. Gandhi, N. S., Feldman, M. K., Le, O., & Morris-Stiff, G. (2018). Imaging mimics of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Abdominal radiology (New York)*, 43(2), 273–284. <https://doi.org/10.1007/s00261-017-1330-1>
97. Gao, H. L., Wang, W. Q., Yu, X. J., & Liu, L. (2020). Molecular drivers and cells of origin in pancreatic ductal adenocarcinoma and pancreatic neuroendocrine carcinoma. *Experimental hematology & oncology*, 9, 28. <https://doi.org/10.1186/s40164-020-00184-0>
98. Garcia-Mayea Y., Mir C., Masson F., Paciucci R., LLeonart M.E. Insights into New Mechanisms and Models of Cancer Stem Cell Multidrug Resistance. *Semin. Cancer Biol.* 2020;60: 166–180. doi: 10.1016/j.semcancer.2019.07.022



99. Garg M. (2020). Epithelial Plasticity, Autophagy and Metastasis: Potential Modifiers of the Crosstalk to Overcome Therapeutic Resistance. *Stem cell reviews and reports*, 16(3), 503–510. <https://doi.org/10.1007/s12015-019-09945-9>
100. GBD 2017 Pancreatic Cancer Collaborators (2019). The global, regional, and national burden of pancreatic cancer and its attributable risk factors in 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The lancet. Gastroenterology & hepatology*, 4(12), 934–947. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(19\)30347-4](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(19)30347-4)
101. George, J. T., Jolly, M. K., Xu, S., Somarelli, J. A., & Levine, H. (2017). Survival Outcomes in Cancer Patients Predicted by a Partial EMT Gene Expression Scoring Metric. *Cancer research*, 77(22), 6415–6428. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-3521>
102. Gao, W., Wang, W., Chen, H., Wang, S., Wu, K., Lu, C., Luo, X., Li, L., & Yu, C. (2020). Girdin interaction with vimentin induces EMT and promotes the growth and metastasis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncology reports*, 44(2), 637–649. <https://doi.org/10.3892/or.2020.7615>
103. Global burden of gastrointestinal cancers, 2021. Source: Araghi et al. *Gut*. 2020 Jun 1; [gutjnl-2020-320625](https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-320625). doi: 10.1136/gutjnl-2020-320625 URL: <https://gco.iarc.fr/stories/gastro-intestinal/en>
104. Wang S. et al (2024) Global, regional, and national lifetime risks of developing and dying from gastrointestinal cancers in 185 countries: a population-based systematic analysis of GLOBOCAN *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* Vol. 9 (3). P. 229–237. DOI: 10.1016/S2468-1253(23)00366-7.
105. Gonzalez-Avila, G., Sommer, B., Mendoza-Posada, D. A., Ramos, C., Garcia-Hernandez, A. A., & Falfan-Valencia, R. (2019). Matrix metalloproteinases participation in the metastatic process and their diagnostic and therapeutic applications in cancer. *Critical reviews in oncology/hematology*, 137, 57–83. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2019.02.010>
106. Gui, Y., Aguilar-Mahecha, A., Krzemien, U., Hosein, A., Buchanan, M., Lafleur, J., Pollak, M., Ferrario, C., & Basik, M. (2019). Metastatic Breast



Carcinoma-Associated Fibroblasts Have Enhanced Protumorigenic Properties Related to Increased IGF2 Expression. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 25(23), 7229–7242. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-1268>

107. Gupta, N., & Yelamanchi, R. (2021). Pancreatic adenocarcinoma: A review of recent paradigms and advances in epidemiology, clinical diagnosis and management. *World journal of gastroenterology*, 27(23), 3158–3181. <https://doi.org/10.3748/wjg.v27.i23.3158>

108. Gzil, A., Zarębska, I., Bursiewicz, W., Antosik, P., Grzanka, D., & Szyłberg, Ł. (2019). Markers of pancreatic cancer stem cells and their clinical and therapeutic implications. *Molecular biology reports*, 46(6), 6629–6645. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-05058-1>

109. Hackeng, W. M., Hruban, R. H., Offerhaus, G. J., & Brosens, L. A. (2016). Surgical and molecular pathology of pancreatic neoplasms. *Diagnostic pathology*, 11(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s13000-016-0497-z>

110. Haeberle, L., & Esposito, I. (2019). Pathology of pancreatic cancer. *Translational gastroenterology and hepatology*, 4, 50. <https://doi.org/10.21037/tgh.2019.06.02>

111. Han, X., Li, Y., Xu, Y., Zhao, X., Zhang, Y., Yang, X., Wang, Y., Zhao, R., Anderson, G. J., Zhao, Y., & Nie, G. (2018). Reversal of pancreatic desmoplasia by re-educating stellate cells with a tumour microenvironment-activated nanosystem. *Nature communications*, 9(1), 3390. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05906-x>

112. Hanada, K., Amano, H., & Abe, T. (2017). Early diagnosis of pancreatic cancer: Current trends and concerns. *Annals of gastroenterological surgery*, 1(1), 44–51. <https://doi.org/10.1002/ags3.12004>

113. Hanahan D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer discovery*, 12(1), 31–46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>

114. Hanley, C. J., Noble, F., Ward, M., Bullock, M., Drifka, C., Mellone, M., Manousopoulou, A., Johnston, H. E., Hayden, A., Thirdborough, S., Liu, Y.,



Smith, D. M., Mellows, T., Kao, W. J., Garbis, S. D., Mirnezami, A., Underwood, T. J., Eliceiri, K. W., & Thomas, G. J. (2016). A subset of myofibroblastic cancer-associated fibroblasts regulate collagen fiber elongation, which is prognostic in multiple cancers. *Oncotarget*, 7(5), 6159–6174. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6740>.

115. Hass, R., von der Ohe, J., & Ungefroren, H. (2020). The Intimate Relationship Among EMT, MET and TME: A T(ransdifferentiation) E(nhancing) M(ix) to Be Exploited for Therapeutic Purposes. *Cancers*, 12(12), 3674. <https://doi.org/10.3390/cancers12123674>

116. Hermann, P. C., & Sainz, B., Jr (2018). Pancreatic cancer stem cells: A state or an entity? *Seminars in cancer biology*, 53, 223–231. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2018.08.007>

117. Hidalgo, M., Cascinu, S., Kleeff, J., Labianca, R., Löhr, J. M., Neoptolemos, J., Real, F. X., Van Laethem, J. L., & Heinemann, V. (2015). Addressing the challenges of pancreatic cancer: future directions for improving outcomes. *Pancreatology: official journal of the International Association of Pancreatology (IAP)* ... [et al.], 15(1), 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2014.10.001>

118. Hoshino, A., Costa-Silva, B., Shen, T. L., Rodrigues, G., Hashimoto, A., Tesic Mark, M., Molina, H., Kohsaka, S., Di Giannatale, A., Ceder, S., Singh, S., Williams, C., Soplop, N., Uryu, K., Pharmed, L., King, T., Bojmar, L., Davies, A. E., Ararso, Y., Zhang, T., ... Lyden, D. (2015). Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature*, 527(7578), 329–335. <https://doi.org/10.1038/nature15756>

119. Hosoda, W., Chianchiano, P., Griffin, J. F., Pittman, M. E., Brosens, L. A., Noë, M., Yu, J., Shindo, K., Suenaga, M., Rezaee, N., Yonescu, R., Ning, Y., Albores-Saavedra, J., Yoshizawa, N., Harada, K., Yoshizawa, A., Hanada, K., Yonehara, S., Shimizu, M., Uehara, T., ... Wood, L. D. (2017). Genetic analyses of isolated high-grade pancreatic intraepithelial neoplasia (HG-PanIN) reveal paucity

of alterations in TP53 and SMAD4. *The Journal of pathology*, 242(1), 16–23.
<https://doi.org/10.1002/path.4884>

120. Hosseinalizadeh, H., Hussain, Q. M., Poshtchaman, Z., Ahsan, M., Amin, A. H., Naghavi, S., & Mahabady, M. K. (2024). Emerging insights into keratin 7 roles in tumor progression and metastasis of cancers. *Frontiers in oncology*, 13, 1243871. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1243871>

121. Hou, Y. C., Chao, Y. J., Hsieh, M. H., Tung, H. L., Wang, H. C., & Shan, Y. S. (2019). Low CD8⁺ T Cell Infiltration and High PD-L1 Expression Are Associated with Level of CD44⁺/CD133⁺ Cancer Stem Cells and Predict an Unfavorable Prognosis in Pancreatic Cancer. *Cancers*, 11(4), 541. <https://doi.org/10.3390/cancers11040541>

122. Høye, A. M., & Erler, J. T. (2016). Structural ECM components in the premetastatic and metastatic niche. *American journal of physiology. Cell physiology*, 310(11), C955–C967. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00326.2015>.

123. Hsu, C. P., Lee, L. Y., Hsu, J. T., Hsu, Y. P., Wu, Y. T., Wang, S. Y., Yeh, C. N., Chen, T. C., & Hwang, T. L. (2018). CD44 Predicts Early Recurrence in Pancreatic Cancer Patients Undergoing Radical Surgery. *In vivo (Athens, Greece)*, 32(6), 1533–1540. <https://doi.org/10.21873/invivo.11411>

124. Huang, C., Iovanna, J., & Santofimia-Castaño, P. (2021). Targeting Fibrosis: The Bridge That Connects Pancreatitis and Pancreatic Cancer. *International journal of molecular sciences*, 22(9), 4970. <https://doi.org/10.3390/ijms22094970>

125. Huang, L., Yang, Y., Yang, F., Liu, S., Zhu, Z., Lei, Z., & Guo, J. (2018). Functions of EpCAM in physiological processes and diseases (Review). *International journal of molecular medicine*, 42(4), 1771–1785. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3764>

126. Hwang, H. J., Oh, M. S., Lee, D. W., & Kuh, H. J. (2019). Multiplex quantitative analysis of stroma-mediated cancer cell invasion, matrix remodeling, and drug response in a 3D co-culture model of pancreatic tumor spheroids and

stellate cells. *Journal of experimental & clinical cancer research: CR*, 38(1), 258.
<https://doi.org/10.1186/s13046-019-1225-9>

127. Huang, P., Chen, I. X., Chauhan, V. P., Posada, J., Ng, M. R., Wu, M. W., Adstamongkonkul, P., Lindeman, N., Langer, R., & Jain, R. K. (2019). Blocking CXCR4 alleviates desmoplasia, increases T-lymphocyte infiltration, and improves immunotherapy in metastatic breast cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(10), 4558–4566.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1815515116>.

128. Illam, S. P., Narayanankutty, A., Mathew, S. E., Valsalakumari, R., Jacob, R. M., & Raghavamenon, A. C. (2017). Epithelial Mesenchymal Transition in Cancer Progression: Preventive Phytochemicals. *Recent patents on anti-cancer drug discovery*, 12(3), 234–246.
<https://doi.org/10.2174/1574892812666170424150407>

129. Ino, K., Masuya, M., Tawara, I., Miyata, E., Oda, K., Nakamori, Y., Suzuki, K., Ohishi, K., & Katayama, N. (2014). Monocytes infiltrate the pancreas via the MCP-1/CCR2 pathway and differentiate into stellate cells. *PloS one*, 9(1), e84889. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084889>

130. International Agency for Research on Cancer. Global cancer observatory: cancer today. *Lyon, France: International Agency for Research on Cancer*. [cited 22 December 2020]. Available from: <https://gco.iarc.fr/today>.

131. Iovanna, J. L., & Closa, D. (2017). Factors released by the tumor far microenvironment are decisive for pancreatic adenocarcinoma development and progression. *Oncoimmunology*, 6(11), e1358840.
<https://doi.org/10.1080/2162402X.2017.1358840>

132. Ishiwata T. (2016). Cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transition: Novel therapeutic targets for cancer. *Pathology international*, 66(11), 601–608. <https://doi.org/10.1111/pin.12447>

133. Ishiwata, T., Matsuda, Y., Yoshimura, H., Sasaki, N., Ishiwata, S., Ishikawa, N., Takubo, K., Arai, T., & Aida, J. (2018). Pancreatic cancer stem cells:



features and detection methods. *Pathology oncology research: POR*, 24(4), 797–805. <https://doi.org/10.1007/s12253-018-0420-x>

134. Jacob, J. T., Coulombe, P. A., Kwan, R., & Omary, M. B. (2018). Types I and II Keratin Intermediate Filaments. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 10(4), a018275. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018275>

135. Jakubowska, K., Pryczynicz, A., Januszewska, J., Sidorkiewicz, I., Kemon, A., Niewiński, A., Lewczuk, Ł., Kędra, B., & Guzińska-Ustymowicz, K. (2016). Expressions of Matrix Metalloproteinases 2, 7, and 9 in Carcinogenesis of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Disease markers*, 2016, 9895721. <https://doi.org/10.1155/2016/9895721>

136. Jiang, W., Zhang, Y., Kane, K. T., Collins, M. A., Simeone, D. M., di Magliano, M. P., & Nguyen, K. T. (2015). CD44 regulates pancreatic cancer invasion through MT1-MMP. *Molecular cancer research: MCR*, 13(1), 9–15. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-14-0076>

137. Jiang, X., Hou, D., Wei, Z. et al. Extracellular and intracellular microRNAs in pancreatic cancer: from early diagnosis to reducing chemoresistance. *ExRNA I*, 17 (2019). <https://doi.org/10.1186/s41544-019-0014-0>

138. Jimenez, R. E., Z'graggen, K., Hartwig, W., Graeme-Cook, F., Warshaw, A. L., & Fernandez-del Castillo, C. (1999). Immunohistochemical characterization of pancreatic tumors induced by dimethylbenzanthracene in rats. *The American journal of pathology*, 154(4), 1223–1229. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65374-6](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65374-6)

139. Jo, J. H., Kim, S. A., Lee, J. H., Park, Y. R., Kim, C., Park, S. B., Jung, D. E., Lee, H. S., Chung, M. J., & Song, S. Y. (2021). GLRX3, a novel cancer stem cell-related secretory biomarker of pancreatic ductal adenocarcinoma. *BMC cancer*, 21(1), 1241. <https://doi.org/10.1186/s12885-021-08898-y>

140. Kabachenko V.O., Shishkin M.A. (2022). IHC characteristics of stem cell markers in PDAC with different degrees of differentiation. *Journal of Education, Health and Sport*. 2022. 12(6) 229-237. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2022.12.06.023>



<https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/JEHS.2022.12.06.023>

<https://zenodo.org/record/6678066>

141. Kabachenko V. O. Epithelial-mesenchymal transition in ductal adenocarcinoma of the pancreas depending on the size of the tumor. *YOUNG SCIENCE 4.0: зб. матеріалів наук.-практ. конф. з міжнар. участю*, м. Київ, 30 трав. 2022 р. Київ: НУОЗ ім. П. Л. Шупика, 2022. С. 28–29.

142. Kai, F., Drain, A. P., & Weaver, V. M. (2019). The Extracellular Matrix Modulates the Metastatic Journey. *Developmental cell*, 49(3), 332–346. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2019.03.026>

143. Kalluri, R. The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer* 16, 582–598 (2016). <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.73>

144. Kanno, A., Masamune, A., Hanada, K., Kikuyama, M., & Kitano, M. (2019). Advances in Early Detection of Pancreatic Cancer. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 9(1), 18. <https://doi.org/10.3390/diagnostics9010018>

145. Kanno, A., Masamune, A., Hanada, K., Maguchi, H., Shimizu, Y., Ueki, T., Hasebe, O., Ohtsuka, T., Nakamura, M., Takenaka, M., Kitano, M., Kikuyama, M., Gabata, T., Yoshida, K., Sasaki, T., Serikawa, M., Furukawa, T., Yanagisawa, A., Shimosegawa, T., & Japan Study Group on the Early Detection of Pancreatic Cancer (JEDPAC) (2018). Multicenter study of early pancreatic cancer in Japan. *Pancreatology: official journal of the International Association of Pancreatology (IAP)* ... [et al.], 18(1), 61–67. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2017.11.007>

146. Karamitopoulou E. (2013). Role of epithelial-mesenchymal transition in pancreatic ductal adenocarcinoma: is tumor budding the missing link?. *Frontiers in oncology*, 3, 221. <https://doi.org/10.3389/fonc.2013.00221>

147. Kariche, N., Moulai, N., Sellam, L. S., Benyahia, S., Ouahioune, W., Djennaoui, D., Touil-Boukoffa, C., & Bourouba, M. (2019). Expression Analysis of the Mediators of Epithelial to Mesenchymal Transition and Early Risk Assessment of Therapeutic Failure in Laryngeal Carcinoma. *Journal of oncology*, 2019, 5649846. <https://doi.org/10.1155/2019/5649846>



148. Kesh, K., Gupta, V. K., Durden, B., Garrido, V., Mateo-Victoriano, B., Lavania, S. P., & Banerjee, S. (2020). Therapy Resistance, Cancer Stem Cells and ECM in Cancer: The Matrix Reloaded. *Cancers*, 12(10), 3067. <https://doi.org/10.3390/cancers12103067>
149. Khalafalla, F. G., & Khan, M. W. (2017). Inflammation and Epithelial-Mesenchymal Transition in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Fighting Against Multiple Opponents. *Cancer growth and metastasis*, 10, 1179064417709287. <https://doi.org/10.1177/1179064417709287>
150. Knapinska, A. M., Estrada, C. A., & Fields, G. B. (2017). The Roles of Matrix Metalloproteinases in Pancreatic Cancer. *Progress in molecular biology and translational science*, 148, 339–354. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.03.004>
151. Kourtidis, A., Lu, R., Pence, L. J., & Anastasiadis, P. Z. (2017). A central role for cadherin signaling in cancer. *Experimental cell research*, 358(1), 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2017.04.006>
152. Kuwada, K., Kagawa, S., Yoshida, R., Sakamoto, S., Ito, A., Watanabe, M., Ieda, T., Kuroda, S., Kikuchi, S., Tazawa, H., & Fujiwara, T. (2018). The epithelial-to-mesenchymal transition induced by tumor-associated macrophages confers chemoresistance in peritoneally disseminated pancreatic cancer. *Journal of experimental & clinical cancer research: CR*, 37(1), 307. <https://doi.org/10.1186/s13046-018-0981-2>
153. Kuzet, S. E., & Gaggioli, C. (2016). Fibroblast activation in cancer: when seed fertilizes soil. *Cell and tissue research*, 365(3), 607–619. <https://doi.org/10.1007/s00441-016-2467-x>
154. Laklai, H., Miroshnikova, Y. A., Pickup, M. W., Collisson, E. A., Kim, G. E., Barrett, A. S., Hill, R. C., Lakins, J. N., Schlaepfer, D. D., Mouw, J. K., LeBleu, V. S., Roy, N., Novitskiy, S. V., Johansen, J. S., Poli, V., Kalluri, R., Iacobuzio-Donahue, C. A., Wood, L. D., Hebrok, M., Hansen, K., ... Weaver, V. M. (2016). Genotype tunes pancreatic ductal adenocarcinoma tissue tension to induce matricellular fibrosis and tumor progression. *Nature medicine*, 22(5), 497–505. <https://doi.org/10.1038/nm.4082>



155. Lankadasari, M. B., Mukhopadhyay, P., Mohammed, S., & Harikumar, K. B. (2019). TAMing pancreatic cancer: combat with a double edged sword. *Molecular cancer*, 18(1), 48. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-0966-6>
156. Lawlor, R. T., Veronese, N., Nottegar, A., Malleo, G., Smith, L., Demurtas, J., Cheng, L., Wood, L. D., Silvestris, N., Salvia, R., Scarpa, A., & Luchini, C. (2019). Prognostic Role of High-Grade Tumor Budding in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis with a Focus on Epithelial to Mesenchymal Transition. *Cancers*, 11(1), 113. <https://doi.org/10.3390/cancers11010113>
157. Lazaruk O. V., Davydenko I. S. (2015) Immunohistochemical features of expression vimentin in the structure of the tissue around tumor of ductal breast carcinoma. *Клінічна та експериментальна патологія*. Т. 14, № 2. - С. 117-119. http://nbuv.gov.ua/UJRN/kep_2015_14_2_29
158. Lee, A. Y. L., Dubois, C. L., Sarai, K., Zarei, S., Schaeffer, D. F., Sander, M., & Kopp, J. L. (2019). Cell of origin affects tumour development and phenotype in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Gut*, 68(3), 487–498. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-314426>.
159. Li, M., Zhang, Y., Zhang, Q., & Li, J. (2022). Tumor extracellular matrix modulating strategies for enhanced antitumor therapy of nanomedicines. *Materials today. Bio*, 16, 100364. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2022.100364>
160. Liao, T. T., & Yang, M. H. (2020). Hybrid Epithelial/Mesenchymal State in Cancer Metastasis: Clinical Significance and Regulatory Mechanisms. *Cells*, 9(3), 623. <https://doi.org/10.3390/cells9030623>.
161. Liu, T., Zhou, L., Li, D., Andl, T., & Zhang, Y. (2019). Cancer-Associated Fibroblasts Build and Secure the Tumor Microenvironment. *Frontiers in cell and developmental biology*, 7, 60. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00060>.
162. Liu, X., Xu, J., Zhang, B., Liu, J., Liang, C., Meng, Q., Hua, J., Yu, X., & Shi, S. (2019). The reciprocal regulation between host tissue and immune cells in pancreatic ductal adenocarcinoma: new insights and therapeutic implications. *Molecular cancer*, 18(1), 184. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-1117-9>



163. Locati, M., Curtale, G., & Mantovani, A. (2020). Diversity, Mechanisms, and Significance of Macrophage Plasticity. *Annual review of pathology*, 15, 123–147. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012718>
164. Loh, C. Y., Chai, J. Y., Tang, T. F., Wong, W. F., Sethi, G., Shanmugam, M. K., Chong, P. P., & Looi, C. Y. (2019). The E-Cadherin and N-Cadherin Switch in Epithelial-to-Mesenchymal Transition: Signaling, Therapeutic Implications, and Challenges. *Cells*, 8(10), 1118. <https://doi.org/10.3390/cells8101118>.
165. Lohneis, P., Karamitopoulou, E., Esposito, I., Zlobec, I., Insilla, A. C., Wartenberg, M., Schaeffer, D. F., Kalloger, S., La Rosa, S., Sempoux, C., Ramos Centeno, I., (2021). Reproducibility of tumor budding assessment in pancreatic cancer based on a multicenter interobserver study. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*, 478(4), 719–726. <https://doi.org/10.1007/s00428-020-02987-2>
166. López de Andrés, J., Griñán-Lisón, C., Jiménez, G., & Marchal, J. A. (2020). Cancer stem cell secretome in the tumor microenvironment: a key point for an effective personalized cancer treatment. *Journal of hematology & oncology*, 13(1), 136. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00966-3>
167. Lu, W., & Kang, Y. (2019). Epithelial-Mesenchymal Plasticity in Cancer Progression and Metastasis. *Developmental cell*, 49(3), 361–374. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2019.04.010>
168. Luo, W., & Zhang, T. (2023). Cancer-associated fibroblasts: A key target to snatch victory from defeat in therapy resistance associated with the pancreatic cancer stroma. *Cancer letters*, 567, 216279. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2023.216279>
169. Maddipati, R., & Stanger, B. Z. (2015). Pancreatic Cancer Metastases Harbor Evidence of Polyclonality. *Cancer discovery*, 5(10), 1086–1097. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-0120>



170. Maehira, H., Miyake, T., Iida, H., Tokuda, A., Mori, H., Yasukawa, D., Mukaisho, K. I., Shimizu, T., & Tani, M. (2019). Vimentin Expression in Tumor Microenvironment Predicts Survival in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Heterogeneity in Fibroblast Population. *Annals of surgical oncology*, 26(13), 4791–4804. <https://doi.org/10.1245/s10434-019-07891-x>
171. Malta, T. M., Sokolov, A., Gentles, A. J., Burzykowski, T., Poisson, L., Weinstein, J. N., Kamińska, B., Huelsken, J., Omberg, L., Gevaert, O., Colaprico, A., Czerwińska, P., Mazurek, S., Mishra, L., Heyn, H., Krasnitz, A., Godwin, A. K., Lazar, A. J., Cancer Genome Atlas Research Network, Stuart, J. M., ... Wiznerowicz, M. (2018). Machine Learning Identifies Stemness Features Associated with Oncogenic Dedifferentiation. *Cell*, 173(2), 338–354.e15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.034>
172. Maneshi, P., Mason, J., Dongre, M., & Öhlund, D. (2021). Targeting Tumor-Stromal Interactions in Pancreatic Cancer: Impact of Collagens and Mechanical Traits. *Frontiers in cell and developmental biology*, 9, 787485. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.787485>.
173. Razi, E., Radak, M., Mahjoubin-Tehran, M., Talebi, S., Shafiee, A., Hajighadimi, S., Moradizarmehri, S., Sharifi, H., Mousavi, N., Sarvizadeh, M., Nejati, M., Taghizadeh, M., & Ghasemi, F. (2020). Cancer stem cells as therapeutic targets of pancreatic cancer. *Fundamental & clinical pharmacology*, 34(2), 202–212. <https://doi.org/10.1111/fcp.12521>.
174. McDonald-Hyman, C., Muller, J. T., Loschi, M., Thangavelu, G., Saha, A., Kumari, S., Reichenbach, D. K., Smith, M. J., Zhang, G., Koehn, B. H., Lin, J., Mitchell, J. S., Fife, B. T., Panoskaltsis-Mortari, A., Feser, C. J., Kirchmeier, A. K., Osborn, M. J., Hippen, K. L., Kelekar, A., Serody, J. S., ... Blazar, B. R. (2018). The vimentin intermediate filament network restrains regulatory T cell suppression of graft-versus-host disease. *The Journal of clinical investigation*, 128(10), 4604–4621. <https://doi.org/10.1172/JCI95713>.
175. McGuigan, A., Kelly, P., Turkington, R. C., Jones, C., Coleman, H. G., & McCain, R. S. (2018). Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis,



epidemiology, treatment and outcomes. *World journal of gastroenterology*, 24(43), 4846–4861. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i43.4846>

176. Mendonsa, A. M., Na, T. Y., & Gumbiner, B. M. (2018). E-cadherin in contact inhibition and cancer. *Oncogene*, 37(35), 4769–4780. <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0304-2>

177. Meyer, S. N., Galván, J. A., Zahnd, S., Sokol, L., Dawson, H., Lugli, A., & Zlobec, I. (2019). Co-expression of cytokeratin and vimentin in colorectal cancer highlights a subset of tumor buds and an atypical cancer-associated stroma. *Human pathology*, 87, 18–27. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2019.02.002>

178. Mezouar, S., Omar Osman, I., Melenotte, C., Slimani, C., Chartier, C., Raoult, D., Mege, J. L., & Devaux, C. A. (2019). High Concentrations of Serum Soluble E-Cadherin in Patients With Q Fever. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 9, 219. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00219>

179. Michailovich, Y., Sumkina, O., & Gorokh, Y. (2024). CANCER INCIDENCE IN UKRAINE: TRENDS IN 2010-2019 AND THE IMPACT OF COVID-19 PANDEMIC. *Experimental Oncology*, 45(4), 463–473. <https://doi.org/10.15407/exp-oncology.2023.04.463>

180. Miksch, R. C., Schoenberg, M. B., Weniger, M., Bösch, F., Ormanns, S., Mayer, B., Werner, J., Bazhin, A. V., & D'Haese, J. G. (2019). Prognostic Impact of Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Neutrophils on Survival of Patients with Upfront Resection of Pancreatic Cancer. *Cancers*, 11(1), 39. <https://doi.org/10.3390/cancers11010039>

181. Mittal V. (2016). Epithelial Mesenchymal Transition in Aggressive Lung Cancers. *Advances in experimental medicine and biology*, 890, 37–56. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24932-2_3

182. Miyazaki, K., Oyanagi, J., Hoshino, D., Togo, S., Kumagai, H., & Miyagi, Y. (2019). Cancer cell migration on elongate protrusions of fibroblasts in collagen matrix. *Scientific reports*, 9(1), 292. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36646-z>



183. Monkman, J. H., Thompson, E. W., & Nagaraj, S. H. (2019). Targeting Epithelial Mesenchymal Plasticity in Pancreatic Cancer: A Compendium of Preclinical Discovery in a Heterogeneous Disease. *Cancers*, 11(11), 1745. <https://doi.org/10.3390/cancers11111745>
184. Mu, W., Wang, Z., & Zöller, M. (2019). Ping-Pong-Tumor and Host in Pancreatic Cancer Progression. *Frontiers in oncology*, 9, 1359. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01359>
185. Myoteri, D., Dellaportas, D., Lykoudis, P. M., Apostolopoulos, A., Marinis, A., & Zizi-Sermpetzoglou, A. (2017). Prognostic Evaluation of Vimentin Expression in Correlation with Ki67 and CD44 in Surgically Resected Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Gastroenterology research and practice*, 2017, 9207616. <https://doi.org/10.1155/2017/9207616>
186. Nagtegaal, I. D., Odze, R. D., Klimstra, D., Paradis, V., Rugge, M., Schirmacher, P., Washington, K. M., Carneiro, F., Cree, I. A., & WHO Classification of Tumours Editorial Board (2020). The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology*, 76(2), 182–188. <https://doi.org/10.1111/his.13975>
187. Najafi, M., Farhood, B., & Mortezaee, K. (2019). Cancer stem cells (CSCs) in cancer progression and therapy. *Journal of cellular physiology*, 234(6), 8381–8395. <https://doi.org/10.1002/jcp.27740>
188. Najafi, M., Farhood, B., & Mortezaee, K. (2019). Extracellular matrix (ECM) stiffness and degradation as cancer drivers. *Journal of cellular biochemistry*, 120(3), 2782–2790. <https://doi.org/10.1002/jcb.27681>
189. Nan, L., Qin, T., Xiao, Y., Qian, W., Li, J., Wang, Z., Ma, J., Ma, Q., & Wu, Z. (2019). Pancreatic Stellate Cells Facilitate Perineural Invasion of Pancreatic Cancer via HGF/c-Met Pathway. *Cell transplantation*, 28(9-10), 1289–1298. <https://doi.org/10.1177/0963689719851772>
190. Nicolle, R., Blum, Y., Duconseil, P., Vanbrugghe, C., Brandone, N., Poizat, F., Roques, J., Bigonnet, M., Gayet, O., Rubis, M., Elarouci, N., Armenoult, L., Ayadi, M., de Reyniès, A., Giovannini, M., Grandval, P., Garcia, S., Canivet, C.,



Cros, J., Bournet, B., ... Dusetti, N. (2020). Establishment of a pancreatic adenocarcinoma molecular gradient (PAMG) that predicts the clinical outcome of pancreatic cancer. *EBioMedicine*, 57, 102858. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102858>.

191. Nielsen, M. F. B., Mortensen, M. B., & Detlefsen, S. (2018). Typing of pancreatic cancer-associated fibroblasts identifies different subpopulations. *World journal of gastroenterology*, 24(41), 4663–4678. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i41.4663>

192. Nielsen, M. F., Mortensen, M. B., & Detlefsen, S. (2016). Key players in pancreatic cancer-stroma interaction: Cancer-associated fibroblasts, endothelial and inflammatory cells. *World journal of gastroenterology*, 22(9), 2678–2700. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i9.2678>

193. Nielsen, S. R., Quaranta, V., Linford, A., Emeagi, P., Rainer, C., Santos, A., Ireland, L., Sakai, T., Sakai, K., Kim, Y. S., Engle, D., Campbell, F., Palmer, D., Ko, J. H., Tuveson, D. A., Hirsch, E., Mielgo, A., & Schmid, M. C. (2016). Macrophage-secreted granulins support pancreatic cancer metastasis by inducing liver fibrosis. *Nature cell biology*, 18(5), 549–560. <https://doi.org/10.1038/ncb3340>

194. Nieto, M. A., Huang, R. Y., Jackson, R. A., & Thiery, J. P. (2016). EMT: 2016. *Cell*, 166(1), 21–45. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.06.028>

195. Nimmakayala, R. K., Batra, S. K., & Ponnusamy, M. P. (2019). Unraveling the journey of cancer stem cells from origin to metastasis. *Biochimica et biophysica acta. Reviews on cancer*, 1871(1), 50–63. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2018.10.006>

196. Oxford, J. T., Reeck, J. C., & Hardy, M. J. (2019). Extracellular Matrix in Development and Disease. *International journal of molecular sciences*, 20(1), 205. <https://doi.org/10.3390/ijms20010205>.

197. Palamaris, K., Felekouras, E., & Sakellariou, S. (2021). Epithelial to Mesenchymal Transition: Key Regulator of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma



Progression and Chemoresistance. *Cancers*, 13(21), 5532.
<https://doi.org/10.3390/cancers13215532>.

198. Pang, T. C. Y., Xu, Z., Pothula, S., Becker, T., Goldstein, D., Pirola, R. C., Wilson, J. S., & Apte, M. V. (2017). Circulating pancreatic stellate (stromal) cells in pancreatic cancer-a fertile area for novel research. *Carcinogenesis*, 38(6), 588–591. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgx030>

199. Paolillo, M., & Schinelli, S. (2017). Integrins and Exosomes, a Dangerous Liaison in Cancer Progression. *Cancers*, 9(8), 95. <https://doi.org/10.3390/cancers9080095>

200. Paolillo, M., & Schinelli, S. (2019). Extracellular Matrix Alterations in Metastatic Processes. *International journal of molecular sciences*, 20(19), 4947. <https://doi.org/10.3390/ijms20194947>.

201. Patil, K., Khan, F. B., Akhtar, S., Ahmad, A., & Uddin, S. (2021). The plasticity of pancreatic cancer stem cells: implications in therapeutic resistance. *Cancer metastasis reviews*, 40(3), 691–720. <https://doi.org/10.1007/s10555-021-09979-x>

202. Pelosi, E., Castelli, G., & Testa, U. (2017). Pancreatic Cancer: Molecular Characterization, Clonal Evolution and Cancer Stem Cells. *Biomedicines*, 5(4), 65. <https://doi.org/10.3390/biomedicines5040065>

203. Peranzoni, E., Lemoine, J., Vimeux, L., Feuillet, V., Barrin, S., Kantari-Mimoun, C., Bercovici, N., Guérin, M., Biton, J., Ouakrim, H., Régnier, F., Lupo, A., Alifano, M., Damotte, D., & Donnadieu, E. (2018). Macrophages impede CD8 T cells from reaching tumor cells and limit the efficacy of anti-PD-1 treatment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(17), E4041–E4050. <https://doi.org/10.1073/pnas.1720948115>

204. Pfirschke, C., Siwicki, M., Liao, H. W., & Pittet, M. J. (2017). Tumor Microenvironment: No Effector T Cells without Dendritic Cells. *Cancer cell*, 31(5), 614–615. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.04.007>

205. Phi, L. T. H., Sari, I. N., Yang, Y. G., Lee, S. H., Jun, N., Kim, K. S., Lee, Y. K., & Kwon, H. Y. (2018). Cancer Stem Cells (CSCs) in Drug Resistance



and their Therapeutic Implications in Cancer Treatment. *Stem cells international*, 2018, 5416923. <https://doi.org/10.1155/2018/5416923>

206. Preca, B. T., Bajdak, K., Mock, K., Sundararajan, V., Pfannstiel, J., Maurer, J., Wellner, U., Hopt, U. T., Brummer, T., Brabletz, S., Brabletz, T., & Stemmler, M. P. (2015). A self-enforcing CD44s/ZEB1 feedback loop maintains EMT and stemness properties in cancer cells. *International journal of cancer*, 137(11), 2566–2577. <https://doi.org/10.1002/ijc.29642>

207. Procacci, P., Moscheni, C., Sartori, P., Sommariva, M., & Gagliano, N. (2018). Tumor-Stroma Cross-Talk in Human Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Focus on the Effect of the Extracellular Matrix on Tumor Cell Phenotype and Invasive Potential. *Cells*, 7(10), 158. <https://doi.org/10.3390/cells7100158>

208. Radulović, P., & Krušlin, B. (2018). Immunohistochemical expression of NEDD9, E-cadherin and γ -catenin and their prognostic significance in pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC). *Bosnian journal of basic medical sciences*, 18(3), 246–251. <https://doi.org/10.17305/bjbms.2018.2378>

209. Ram Makena, M., Gatla, H., Verlekar, D., Sukhavasi, S., K Pandey, M., & C Pramanik, K. (2019). Wnt/ β -Catenin Signaling: The Culprit in Pancreatic Carcinogenesis and Therapeutic Resistance. *International journal of molecular sciences*, 20(17), 4242. <https://doi.org/10.3390/ijms20174242>

210. Ranieri, D., Cucina, A., Bizzarri, M., Alimandi, M., & Torrisi, M. R. (2015). Microgravity influences circadian clock oscillation in human keratinocytes. *FEBS open bio*, 5, 717–723. <https://doi.org/10.1016/j.fob.2015.08.012>

211. Ranieri, D., Proietti, S., Dinicola, S., Masiello, M. G., Rosato, B., Ricci, G., Cucina, A., Catizone, A., Bizzarri, M., & Torrisi, M. R. (2017). Simulated microgravity triggers epithelial mesenchymal transition in human keratinocytes. *Scientific reports*, 7(1), 538. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00602-0>

212. Rawla, P., Sunkara, T., & Gaduputi, V. (2019). Epidemiology of Pancreatic Cancer: Global Trends, Etiology and Risk Factors. *World journal of oncology*, 10(1), 10–27. <https://doi.org/10.14740/wjon1166>.



213. Razi, E., Radak, M., Mahjoubin-Tehran, M., Talebi, S., Shafiee, A., Hajighadimi, S., Moradizarmehri, S., Sharifi, H., Mousavi, N., Sarvizadeh, M., Nejati, M., Taghizadeh, M., & Ghasemi, F. (2020). Cancer stem cells as therapeutic targets of pancreatic cancer. *Fundamental & clinical pharmacology*, 34(2), 202–212. <https://doi.org/10.1111/fcp.12521>
214. Reichert, M., Bakir, B., Moreira, L., Pitarresi, J. R., Feldmann, K., Simon, L., Suzuki, K., Maddipati, R., Rhim, A. D., Schlitter, A. M., Kriegsmann, M., Weichert, W., Wirth, M., Schuck, K., Schneider, G., Saur, D., Reynolds, A. B., Klein-Szanto, A. J., Pehlivanoglu, B., Memis, B., ... Rustgi, A. K. (2018). Regulation of Epithelial Plasticity Determines Metastatic Organotropism in Pancreatic Cancer. *Developmental cell*, 45(6), 696–711.e8. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2018.05.025>
215. Ren, B., Cui, M., Yang, G. et al. Tumor microenvironment participates in metastasis of pancreatic cancer. *Mol Cancer* 17, 108 (2018). <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0858-1>
216. Ren, B., Liu, X., & Suriawinata, A. A. (2019). Pancreatic Ductal Adenocarcinoma and Its Precursor Lesions: Histopathology, Cytopathology, and Molecular Pathology. *The American journal of pathology*, 189(1), 9–21. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2018.10.004>.
217. Ribatti, D., Tamma, R., & Annese, T. (2020). Epithelial-Mesenchymal Transition in Cancer: A Historical Overview. *Translational oncology*, 13(6), 100773. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2020.100773>.
218. Ricci, G., Cucina, A., Proietti, S., Dinicola, S., Ferranti, F., Cammarota, M., Filippini, A., Bizzarri, M., & Catizone, A. (2021). Microgravity Induces Transient EMT in Human Keratinocytes by Early Down-Regulation of E-Cadherin and Cell-Adhesion Remodeling. *Applied Sciences*, 11(1), 110. <https://doi.org/10.3390/app11010110>
219. Rodríguez Gil, Y., Jiménez Sánchez, P., Muñoz Velasco, R., García García, A., & Sánchez-Arévalo Lobo, V. J. (2021). Molecular Alterations in

Pancreatic Cancer: Transfer to the Clinic. *International journal of molecular sciences*, 22(4), 2077. <https://doi.org/10.3390/ijms22042077>.

220. Rodriguez-Aznar, E., Wiesmüller, L., Sainz, B., Jr, & Hermann, P. C. (2019). EMT and Stemness-Key Players in Pancreatic Cancer Stem Cells. *Cancers*, 11(8), 1136. <https://doi.org/10.3390/cancers11081136>

221. Romeo, E., Caserta, C. A., Rumio, C., & Marcucci, F. (2019). The Vicious Cross-Talk between Tumor Cells with an EMT Phenotype and Cells of the Immune System. *Cells*, 8(5), 460. <https://doi.org/10.3390/cells8050460>

222. Rouanet, M., Lebrin, M., Gross, F., Bournet, B., Cordelier, P., & Buscail, L. (2017). Gene Therapy for Pancreatic Cancer: Specificity, Issues and Hopes. *International journal of molecular sciences*, 18(6), 1231. <https://doi.org/10.3390/ijms18061231>

223. Ruscetti, M., Dadashian, E. L., Guo, W., Quach, B., Mulholland, D. J., Park, J. W., Tran, L. M., Kobayashi, N., Bianchi-Frias, D., Xing, Y., Nelson, P. S., & Wu, H. (2016). HDAC inhibition impedes epithelial-mesenchymal plasticity and suppresses metastatic, castration-resistant prostate cancer. *Oncogene*, 35(29), 3781–3795. <https://doi.org/10.1038/onc.2015.444>

224. S. Arandkar, N. Furth, Y. Elisha, N.B. Nataraj, H. van der Kuip, Y. Yarden, W. Aulitzky, I. Ulitsky, B. Geiger, M. Oren, (2018) Altered p53 functionality in cancer-associated fibroblasts contributes to their cancer-supporting features, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 115 (25) 6410-6415, <https://doi.org/10.1073/pnas.1719076115>.

225. Saad, A. M., Turk, T., Al-Husseini, M. J., & Abdel-Rahman, O. (2018). Trends in pancreatic adenocarcinoma incidence and mortality in the United States in the last four decades; a SEER-based study. *BMC cancer*, 18(1), 688. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4610-4>

226. Safa A. R. (2020). Epithelial-mesenchymal transition: a hallmark in pancreatic cancer stem cell migration, metastasis formation, and drug resistance. *Journal of cancer metastasis and treatment*, 6, 36. <https://doi.org/10.20517/2394-4722.2020.55>



227. Safa A. R. (2020). Resistance to drugs and cell death in cancer stem cells (CSCs). *Journal of translational science*, 6(3), 341. <https://doi.org/10.15761/jts.1000341>
228. Saini, F., Argent, R. H., & Grabowska, A. M. (2019). Sonic Hedgehog Ligand: A Role in Formation of a Mesenchymal Niche in Human Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cells*, 8(5), 424. <https://doi.org/10.3390/cells8050424>.
229. Sánchez-Ramírez, D., Medrano-Guzmán, R., Candanedo-González, F., De Anda-González, J., García-Rios, L. E., Pérez-Koldenkova, V., Gutiérrez-de la Barrera, M., Rodríguez-Enríquez, S., Velasco-Velázquez, M., Pacheco-Velázquez, S. C., Piña-Sánchez, P., Mayani, H., Gómez-Delgado, A., Monroy-García, A., Martínez-Lara, A. K., & Montesinos, J. J. (2022). High expression of both desmoplastic stroma and epithelial to mesenchymal transition markers associate with shorter survival in pancreatic ductal adenocarcinoma. *European journal of histochemistry: EJH*, 66(1), 3360. <https://doi.org/10.4081/ejh.2022.3360>.
230. Schawkat, K., Manning, M. A., Glickman, J. N., & Mortelet, K. J. (2020). Pancreatic Ductal Adenocarcinoma and Its Variants: Pearls and Perils. *Radiographics: a review publication of the Radiological Society of North America, Inc*, 40(5), 1219–1239. <https://doi.org/10.1148/rg.2020190184>
231. Schmidtlein, P. M., Volz, C., Braun, R., Thürling, I., Lapshyna, O., Wellner, U. F., Konukiewitz, B., Lehnert, H., Marquardt, J. U., & Ungefroren, H. (2021). A Comparative Endocrine Trans-Differentiation Approach to Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Cells with Different EMT Phenotypes Identifies Quasi-Mesenchymal Tumor Cells as Those with Highest Plasticity. *Cancers*, 13(18), 4663. <https://doi.org/10.3390/cancers13184663>
232. Schnittert, J., Bansal, R., & Prakash, J. (2019). Targeting Pancreatic Stellate Cells in Cancer. *Trends in cancer*, 5(2), 128–142. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2019.01.001>
233. Senbanjo, L. T., & Chellaiah, M. A. (2017). CD44: A Multifunctional Cell Surface Adhesion Receptor Is a Regulator of Progression and Metastasis of



Cancer Cells. *Frontiers in cell and developmental biology*, 5, 18.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2017.00018>

234. Shibue, T., & Weinberg, R. A. (2017). EMT, CSCs, and drug resistance: the mechanistic link and clinical implications. *Nature reviews. Clinical oncology*, 14(10), 611–629. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.44>

235. Sichien, D., Lambrecht, B. N., Guillems, M., & Scott, C. L. (2017). Development of conventional dendritic cells: from common bone marrow progenitors to multiple subsets in peripheral tissues. *Mucosal immunology*, 10(4), 831–844. <https://doi.org/10.1038/mi.2017.8>

236. Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2018). Cancer statistics, 2018. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(1), 7–30. <https://doi.org/10.3322/caac.21442>

237. Siegel, R. L., Miller, K. D., Fuchs, H. E., & Jemal, A. (2022). Cancer statistics, 2022. *CA: a cancer journal for clinicians*, 72(1), 7–33. <https://doi.org/10.3322/caac.21708>.

238. Silvestris, N., Brunetti, O., Pinto, R., Petriella, D., Argentiero, A., Fucci, L., Tommasi, S., Danza, K., & De Summa, S. (2018). Immunological mutational signature in adenosquamous cancer of pancreas: an exploratory study of potentially therapeutic targets. *Expert opinion on therapeutic targets*, 22(5), 453–461. <https://doi.org/10.1080/14728222.2018.1456530>

239. Siret, C., Dobric, A., Martirosyan, A., Terciolo, C., Germain, S., Bonier, R., Dirami, T., Dusetti, N., Tomasini, R., Rubis, M., Garcia, S., Iovanna, J., Lombardo, D., Rigot, V., & André, F. (2018). Cadherin-1 and cadherin-3 cooperation determines the aggressiveness of pancreatic ductal adenocarcinoma. *British journal of cancer*, 118(4), 546–557. <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.411>

240. Sommariva, M., & Gagliano, N. (2020). E-Cadherin in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Multifaceted Actor during EMT. *Cells*, 9(4), 1040. <https://doi.org/10.3390/cells9041040>.

241. Son, G. M., Kwon, M. S., Shin, D. H., Shin, N., Ryu, D., & Kang, C. D. (2019). Comparisons of cancer-associated fibroblasts in the intratumoral stroma

and invasive front in colorectal cancer. *Medicine*, 98(18), e15164.
<https://doi.org/10.1097/MD.00000000000015164>.

242. Sousa, B., Pereira, J., & Paredes, J. (2019). The Crosstalk Between Cell Adhesion and Cancer Metabolism. *International journal of molecular sciences*, 20(8), 1933. <https://doi.org/10.3390/ijms20081933>

243. Steinbichler, T. B., Savic, D., Dudás, J., Kvitsaridze, I., Skvortsov, S., Riechelmann, H., & Skvortsova, I. I. (2020). Cancer stem cells and their unique role in metastatic spread. *Seminars in cancer biology*, 60, 148–156. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.09.007>

244. Steinbichler, T. B., Dudás, J., Skvortsov, S., Ganswindt, U., Riechelmann, H., & Skvortsova, I. I. (2018). Therapy resistance mediated by cancer stem cells. *Seminars in cancer biology*, 53, 156–167. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2018.11.006>

245. Storz P. (2017). Acinar cell plasticity and development of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 14(5), 296–304. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.12>

246. Subramaniam, D., Kaushik, G., Dandawate, P., & Anant, S. (2018). Targeting Cancer Stem Cells for Chemoprevention of Pancreatic Cancer. *Current medicinal chemistry*, 25(22), 2585–2594. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170127095832>

247. Sun, K. H., Chang, Y., Reed, N. I., & Sheppard, D. (2016). α -Smooth muscle actin is an inconsistent marker of fibroblasts responsible for force-dependent TGF β activation or collagen production across multiple models of organ fibrosis. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*, 310(9), L824–L836. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00350.2015>

248. Surveillance Research Program. SEER*Explorer: an interactive website for SEER cancer statistics. National Cancer Institute, 2021. Accessed April 15, 2021. URL : seer.cancer.gov/explorer/

249. Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. SEER*Stat Database: Incidence-SEER 9 Registries Research Data with Delay-



Adjustment, Malignant Only, November 2020 Submission (1975-2018) <Katrina/Rita Population Adjustment>-Linked To County Attributes-Total U.S., 1969-2018 Counties. National Cancer Institute, Division of Cancer Control and Population Sciences, Surveillance Research Program, Surveillance Systems Branch; 2021. URL: <https://seer.cancer.gov/data-software/documentation/seerstat/nov2018/>

250. Thomas, D., Sagar, S., Caffrey, T., Grandgenett, P. M., & Radhakrishnan, P. (2019). Truncated O-glycans promote epithelial-to-mesenchymal transition and stemness properties of pancreatic cancer cells. *Journal of cellular and molecular medicine*, 23(10), 6885–6896. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14572>

251. Thomas, D., & Radhakrishnan, P. (2019). Tumor-stromal crosstalk in pancreatic cancer and tissue fibrosis. *Molecular cancer*, 18(1), 14. <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0927-5>

252. Toiyama, Y., Yasuda, H., Saigusa, S., Tanaka, K., Inoue, Y., Goel, A., & Kusunoki, M. (2013). Increased expression of Slug and Vimentin as novel predictive biomarkers for lymph node metastasis and poor prognosis in colorectal cancer. *Carcinogenesis*, 34(11), 2548–2557. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgt282>

253. Topalovski, M., & Brekken, R. A. (2016). Matrix control of pancreatic cancer: New insights into fibronectin signaling. *Cancer letters*, 381(1), 252–258. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2015.12.027>.

254. Tsai, K. K., Chan, T. S., & Shaked, Y. (2019). Next Viable Routes to Targeting Pancreatic Cancer Stemness: Learning from Clinical Setbacks. *Journal of clinical medicine*, 8(5), 702. <https://doi.org/10.3390/jcm8050702>.

255. Nagtegaal, I. D., Odze, R. D., Klimstra, D., Paradis, V., Rugge, M., Schirmacher, P., Washington, K. M., Carneiro, F., Cree, I. A., & WHO Classification of Tumours Editorial Board (2020). The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology*, 76(2), 182–188. <https://doi.org/10.1111/his.13975>.

256. Ueno, H., Kanemitsu, Y., Sekine, S., Ishiguro, M., Ito, E., Hashiguchi, Y., Kondo, F., Shimazaki, H., Mochizuki, S., Kajiwara, Y., Shinto, E., & Yamamoto, J. (2017). Desmoplastic Pattern at the Tumor Front Defines Poor-



prognosis Subtypes of Colorectal Cancer. *The American journal of surgical pathology*, 41(11), 1506–1512. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000946>

257. Ungefroren, H., Thürling, I., Färber, B., Kowalke, T., Fischer, T., De Assis, L. V. M., Braun, R., Castven, D., Oster, H., Konukiewitz, B., Wellner, U. F., Lehnert, H., & Marquardt, J. U. (2022). The Quasimesenchymal Pancreatic Ductal Epithelial Cell Line PANC-1-A Useful Model to Study Clonal Heterogeneity and EMT Subtype Shifting. *Cancers*, 14(9), 2057. <https://doi.org/10.3390/cancers14092057>

258. Ungefroren, H., von der Ohe, J., Braun, R., Gätje, Y., Lapshyna, O., Schrader, J., Lehnert, H., Marquardt, J. U., Konukiewitz, B., & Hass, R. (2024). Characterization of Epithelial-Mesenchymal and Neuroendocrine Differentiation States in Pancreatic and Small Cell Ovarian Tumor Cells and Their Modulation by TGF- β 1 and BMP-7. *Cells*, 13(23), 2010. <https://doi.org/10.3390/cells13232010>

259. Ushio, J., Kanno, A., Ikeda, E., Ando, K., Nagai, H., Miwata, T., Kawasaki, Y., Tada, Y., Yokoyama, K., Numao, N., Tamada, K., Lefor, A. K., & Yamamoto, H. (2021). Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Epidemiology and Risk Factors. *Diagnostics* (Basel, Switzerland), 11(3), 562. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11030562>

260. Valkenburg, K. C., de Groot, A. E., & Pienta, K. J. (2018). Targeting the tumour stroma to improve cancer therapy. *Nature reviews. Clinical oncology*, 15(6), 366–381. <https://doi.org/10.1038/s41571-018-0007-1>.

261. Valle, S., Martin-Hijano, L., Alcalá, S., Alonso-Nocelo, M., & Sainz, B., Jr (2018). The Ever-Evolving Concept of the Cancer Stem Cell in Pancreatic Cancer. *Cancers*, 10(2), 33. <https://doi.org/10.3390/cancers10020033>

262. Vennin, C., Méléne, P., Rouet, R., Nobis, M., Cazet, A. S., Murphy, K. J., Herrmann, D., Reed, D. A., Lucas, M. C., Warren, S. C., Elgundi, Z., Pinese, M., Kalna, G., Roden, D., Samuel, M., Zaratzian, A., Grey, S. T., Da Silva, A., Leung, W., Australian Pancreatic Genome Initiative (APGI), ... Timpson, P. (2019). CAF hierarchy driven by pancreatic cancer cell p53-status creates a pro-metastatic



and chemoresistant environment via perlecan. *Nature communications*, 10(1), 3637. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10968-6>

263. Vuletić, A., Mirjačić Martinović, K., Tišma Miletić, N., Zoidakis, J., Castellvi-Bel, S., & Čavić, M. (2021). Cross-Talk Between Tumor Cells Undergoing Epithelial to Mesenchymal Transition and Natural Killer Cells in Tumor Microenvironment in Colorectal Cancer. *Frontiers in cell and developmental biology*, 9, 750022. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.750022>

264. Walker, C., Mojares, E., & Del Río Hernández, A. (2018). Role of Extracellular Matrix in Development and Cancer Progression. *International journal of molecular sciences*, 19(10), 3028. <https://doi.org/10.3390/ijms19103028>.

265. Wang Z, Zhao K, Hackert T and Zöller M (2018) CD44/CD44v6 a Reliable Companion in Cancer-Initiating Cell Maintenance and Tumor Progression. *Front. Cell Dev. Biol.* 6:97. doi: 10.3389/fcell.2018.00097

266. Wang, J. P., & Hielscher, A. (2017). Fibronectin: How Its Aberrant Expression in Tumors May Improve Therapeutic Targeting. *Journal of Cancer*, 8(4), 674–682. <https://doi.org/10.7150/jca.16901>

267. Wang, M. H., Sun, R., Zhou, X. M., Zhang, M. Y., Lu, J. B., Yang, Y., Zeng, L. S., Yang, X. Z., Shi, L., Xiao, R. W., Wang, H. Y., & Mai, S. J. (2018). Epithelial cell adhesion molecule overexpression regulates epithelial-mesenchymal transition, stemness and metastasis of nasopharyngeal carcinoma cells via the PTEN/AKT/mTOR pathway. *Cell death & disease*, 9(1), 2. <https://doi.org/10.1038/s41419-017-0013-8>

268. Wang, S., Huang, S., & Sun, Y. L. (2017). Epithelial-Mesenchymal Transition in Pancreatic Cancer: A Review. *BioMed research international*, 2017, 2646148. <https://doi.org/10.1155/2017/2646148>

269. Wang, T. H., Hsia, S. M., & Shieh, T. M. (2016). Lysyl Oxidase and the Tumor Microenvironment. *International journal of molecular sciences*, 18(1), 62. <https://doi.org/10.3390/ijms18010062>

270. Wang, W., Chen, H., Gao, W., Wang, S., Wu, K., Lu, C., Luo, X., Li, L., & Yu, C. (2020). Girdin interaction with vimentin induces EMT and promotes



the growth and metastasis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncology reports*, 44(2), 637–649. <https://doi.org/10.3892/or.2020.7615>

271. Wang, Z., Liu, J., Huang, H., Ye, M., Li, X., Wu, R., Liu, H., & Song, Y. (2021). Metastasis-associated fibroblasts: an emerging target for metastatic cancer. *Biomarker research*, 9(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s40364-021-00305-9>

272. Wei, S. C., Fattet, L., Tsai, J. H., Guo, Y., Pai, V. H., Majeski, H. E., Chen, A. C., Sah, R. L., Taylor, S. S., Engler, A. J., & Yang, J. (2015). Matrix stiffness drives epithelial-mesenchymal transition and tumour metastasis through a TWIST1-G3BP2 mechanotransduction pathway. *Nature cell biology*, 17(5), 678–688. <https://doi.org/10.1038/ncb3157>

273. Wells, A., Nuschke, A., & Yates, C. C. (2016). Skin tissue repair: Matrix microenvironmental influences. *Matrix biology: journal of the International Society for Matrix Biology*, 49, 25–36. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2015.08.001>.

274. Wilson, M. M., Weinberg, R. A., Lees, J. A., & Guen, V. J. (2020). Emerging Mechanisms by which EMT Programs Control Stemness. *Trends in cancer*, 6(9), 775–780. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2020.03.011>

275. Winer, A., Adams, S., & Mignatti, P. (2018). Matrix Metalloproteinase Inhibitors in Cancer Therapy: Turning Past Failures Into Future Successes. *Molecular cancer therapeutics*, 17(6), 1147–1155. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-17-0646>

276. Wong, S. H. M., Fang, C. M., Chuah, L. H., Leong, C. O., & Ngai, S. C. (2018). E-cadherin: Its dysregulation in carcinogenesis and clinical implications. *Critical reviews in oncology/hematology*, 121, 11–22. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2017.11.010>.

277. Wu, Q., Tian, Y., Zhang, J., Zhang, H., Gu, F., Lu, Y., Zou, S., Chen, Y., Sun, P., Xu, M., Sun, X., Xia, C., Chi, H., Ying Zhu, A., Tang, D., & Wang, D. (2017). Functions of pancreatic stellate cell-derived soluble factors in the microenvironment of pancreatic ductal carcinoma. *Oncotarget*, 8(60), 102721–102738. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21970>



278. Wu, Y., Zhang, C., Jiang, K., Werner, J., Bazhin, A. V., & D'Haese, J. G. (2021). The Role of Stellate Cells in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Targeting Perspectives. *Frontiers in oncology*, 10, 621937. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.621937>
279. Xue, R., Jia, K., Wang, J., Yang, L., Wang, Y., Gao, L., & Hao, J. (2018). A Rising Star in Pancreatic Diseases: Pancreatic Stellate Cells. *Frontiers in physiology*, 9, 754. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00754>
280. Yabroff, K. R., Wu, X. C., Negoita, S., Stevens, J., Coyle, L., Zhao, J., Mumphrey, B. J., Jemal, A., & Ward, K. C. (2022). Association of the COVID-19 Pandemic With Patterns of Statewide Cancer Services. *Journal of the National Cancer Institute*, 114(6), 907–909. <https://doi.org/10.1093/jnci/djab122>.
281. Yan, X., Yan, L., Liu, S., Shan, Z., Tian, Y., & Jin, Z. (2015). N-cadherin, a novel prognostic biomarker, drives malignant progression of colorectal cancer. *Molecular medicine reports*, 12(2), 2999–3006. <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.3687>
282. Yang, C., Sheng, Y., Shi, X., Liu, Y., He, Y., Du, Y., Zhang, G., & Gao, F. (2020). CD44/HA signaling mediates acquired resistance to a PI3K α inhibitor. *Cell death & disease*, 11(10), 831. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-03037-0>
283. Yang, C., Sheng, Y., Shi, X., Liu, Y., He, Y., Du, Y., Zhang, G., & Gao, F. (2020). CD44/HA signaling mediates acquired resistance to a PI3K α inhibitor. *Cell death & disease*, 11(10), 831. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-03037-0>
284. Yang, D., Liu, J., Qian, H., & Zhuang, Q. (2023). Cancer-associated fibroblasts: from basic science to anticancer therapy. *Experimental & molecular medicine*, 55(7), 1322–1332. <https://doi.org/10.1038/s12276-023-01013-0>
285. Yang, L., Shi, P., Zhao, G., Xu, J., Peng, W., Zhang, J., Zhang, G., Wang, X., Dong, Z., Chen, F., & Cui, H. (2020). Targeting cancer stem cell pathways for cancer therapy. *Signal transduction and targeted therapy*, 5(1), 8. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0110-5>



286. You, W. K., & Stallcup, W. B. (2017). Localization of VEGF to Vascular ECM Is an Important Aspect of Tumor Angiogenesis. *Cancers*, 9(8), 97. <https://doi.org/10.3390/cancers9080097>
287. Yu, W., Yang, L., Li, T., & Zhang, Y. (2019). Cadherin Signaling in Cancer: Its Functions and Role as a Therapeutic Target. *Frontiers in oncology*, 9, 989. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00989>
288. Yuan, S., Chen, J., Ruan, X., Sun, Y., Zhang, K., Wang, X., Li, X., Gill, D., Burgess, S., Giovannucci, E., & Larsson, S. C. (2023). Smoking, alcohol consumption, and 24 gastrointestinal diseases: Mendelian randomization analysis. *eLife*, 12, e84051. <https://doi.org/10.7554/eLife.84051>.
289. Zeeberg, K., Cardone, R. A., Greco, M. R., Saccomano, M., Nøhr-Nielsen, A., Alves, F., Pedersen, S. F., & Reshkin, S. J. (2016). Assessment of different 3D culture systems to study tumor phenotype and chemosensitivity in pancreatic ductal adenocarcinoma. *International journal of oncology*, 49(1), 243–252. <https://doi.org/10.3892/ijo.2016.3513>
290. Zhang, J. Q., Chen, S., Gu, J. N., Zhu, Y., Zhan, Q., Cheng, D. F., Chen, H., Deng, X. X., Shen, B. Y., & Peng, C. H. (2018). MicroRNA-300 promotes apoptosis and inhibits proliferation, migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition via the Wnt/ β -catenin signaling pathway by targeting CUL4B in pancreatic cancer cells. *Journal of cellular biochemistry*, 119(1), 1027–1040. <https://doi.org/10.1002/jcb.26270>
291. Zhang, Y., & Weinberg, R. A. (2018). Epithelial-to-mesenchymal transition in cancer: complexity and opportunities. *Frontiers of medicine*, 12(4), 361–373. <https://doi.org/10.1007/s11684-018-0656-6>.
292. Zhao, H., Duan, Q., Zhang, Z., Li, H., Wu, H., Shen, Q., Wang, C., & Yin, T. (2017). Up-regulation of glycolysis promotes the stemness and EMT phenotypes in gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells. *Journal of cellular and molecular medicine*, 21(9), 2055–2067. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13126>
293. Zhao, Q., Ren, Y., Xie, H., Yu, L., Lu, J., Jiang, W., Xiao, W., Zhu, Z., Wan, R., & Li, B. (2021). ELK3 Mediated by ZEB1 Facilitates the Growth and Metastasis of Pancreatic Carcinoma by Activating the Wnt/ β -Catenin Pathway.



Frontiers in cell and developmental biology, 9, 700192.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2021.700192>

294. Zhao, S., Chen, C., Chang, K., Karnad, A., Jagirdar, J., Kumar, A. P., & Freeman, J. W. (2016). CD44 Expression Level and Isoform Contributes to Pancreatic Cancer Cell Plasticity, Invasiveness, and Response to Therapy. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 22(22), 5592–5604. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-3115>

295. Zheng, X., Carstens, J. L., Kim, J., Scheible, M., Kaye, J., Sugimoto, H., Wu, C. C., LeBleu, V. S., & Kalluri, R. (2015). Epithelial-to-mesenchymal transition is dispensable for metastasis but induces chemoresistance in pancreatic cancer. *Nature*, 527(7579), 525–530. <https://doi.org/10.1038/nature16064>

296. Zhong, Y., Lu, Y. T., Sun, Y., Shi, Z. H., Li, N. G., Tang, Y. P., & Duan, J. A. (2018). Recent opportunities in matrix metalloproteinase inhibitor drug design for cancer. *Expert opinion on drug discovery*, 13(1), 75–87. <https://doi.org/10.1080/17460441.2018.1398732>

297. Zhou, B., Xu, J. W., Cheng, Y. G., Gao, J. Y., Hu, S. Y., Wang, L., & Zhan, H. X. (2017). Early detection of pancreatic cancer: Where are we now and where are we going? *International journal of cancer*, 141(2), 231–241. <https://doi.org/10.1002/ijc.30670>

298. Zhou, L., Husted, H., Moore, T., Lu, M., Deng, D., Liu, Y., Ramachandran, V., Arumugam, T., Niehrs, C., Wang, H., Chiao, P., Ling, J., Curran, M. A., Maitra, A., Hung, M. C., Lee, J. E., Logsdon, C. D., & Hwang, R. F. (2018). Suppression of stromal-derived Dickkopf-3 (DKK3) inhibits tumor progression and prolongs survival in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Science translational medicine*, 10(464), eaat3487. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aat3487>

299. Zhou, P., Li, B., Liu, F., Zhang, M., Wang, Q., Liu, Y., Yao, Y., & Li, D. (2017). The epithelial to mesenchymal transition (EMT) and cancer stem cells: implication for treatment resistance in pancreatic cancer. *Molecular cancer*, 16(1), 52. <https://doi.org/10.1186/s12943-017-0624-9>



3616367231352456

ДОДАТОК А1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор КНП «Патологоанатомічне

бюро» ЗМР

Р.А. Неходенко

(керівник служби, в якій проведено впровадження)

«03» жовтня 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** визначення імуногістохімічних параметрів стромального компартменту в протоковій аденокарциномі підшлункової залози.

2. **Установа розробника:** Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, кафедра патологічної анатомії і судової медицини. Автори: д.мед.н., професор кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМФУ Шишкін М.А., асистент, аспірант кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМФУ Кабаченко В.О.

3. Джерела інформації:

Shyshkin MA, Kabachenko VO. [Characteristics of the fibrous stroma in ductal adenocarcinoma of the pancreas depending on tumor size]. Morphologia. 2022;16(2):51-9. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.2.51-59>

Shishkin MA, Kabachenko VO. [Microscopic and immunohistochemical characteristics of epithelial-mesenchymal transformation in ductal adenocarcinoma of the pancreas of moderate and low degrees of differentiation]. Morphologia. 2023;17(4):60-73. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.60-73>

Кабаченко В.О. Десмопластична строма в протоковій аденокарциномі підшлункової залози Матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії. 8 жовтня 2021р. м.Полтава С66-67

Кабаченко В.О., Шишкін М.А. [Імуногістохімічна характеристика епітеліально-мезенхімальної трансформації в протоковій аденокарциномі підшлункової залози]. Запорізький медичний журнал. 2024. Т. 26, № 2(143). С. 127-133. DOI: 10.14739/2310-1210.2024.2.297243

4. **Впроваджено:** в КНП «Патологоанатомічне бюро» ЗМР

5. **Строки впровадження:** 01.03.2024-02.10.2024р.

6. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними в джерелі інформації (п.3)**

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
принципи оцінки розвитку стромального компартменту в протоковій аденокарциномі підшлункової залози в пухлинах менше та більше 3см з помірним та низьким ступенем диференціювання	25%	25%

7. **Зауваження, додатки:** не вносились.

Відповідальний за впровадження

Директор (посада, підпис, ДІВ)
«03» жовтня 2024 р.

Р.А. Неходенко



3616367231352456

ДОДАТОК А2



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Заступник медичного директора з
швидкої медичної допомоги КНП «ЧОЛ
ЧЕРКАСЬКОЇ ОБЛАСНОЇ РАДИ»

Володимир УДУДЕНКО

Керівник установи, в якій проведено впровадження)

«__» жовтня 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** визначення імуногістохімічних параметрів епітеліально-мезенхімальної трансформації в залозисто-протоковому компартменті, в зонах епітеліально-мезенхімальної трансформації та у фіброзній стромі в протоковій аденокарциномі підшлункової залози.

2. **Установа розробника:** Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, кафедра патологічної анатомії і судової медицини. Автори: д.мед.н., професор кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМФУ Шишкін М.А., асистент, аспірант кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМФУ Кабаченко В.О.

3. Джерела інформації:

Kabachenko VO. [Ductal adenocarcinoma of the pancreas: analysis of primary diagnosis and immunohistochemical features of the tumor]. Morphologia. 2021;15(4):62-70. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.4.62-70>

Shyshkin MA, Kabachenko VO. [Characteristics of the fibrous stroma in ductal adenocarcinoma of the pancreas depending on tumor size]. Morphologia. 2022;16(2):51-9. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.2.51-59>

Shishkin MA, Kabachenko VO. [Microscopic and immunohistochemical characteristics of epithelial-mesenchymal transformation in ductal adenocarcinoma of the pancreas of moderate and low degrees of differentiation]. Morphologia. 2023;17(4):60-73. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.60-73>

М.А.Шишкін, В.О. Кабаченко. [Імуногістохімічна характеристика епітеліально-мезенхімальної трансформації в протоковій аденокарциномі підшлункової залози]. Запорізький медичний журнал. 2024; Т.26 №2(143). С.127-133. Україна. DOI: 10.14739/2310-1210.2024.2.297243

Шишкін М.А., Кабаченко В.О. Епідеміологія раку підшлункової залози в Україні та Запорізькій області. Актуальні проблеми фармації та медицини: наука і практика. 2024Jun.14;17(2):169-75. DOI: <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.2.299555>

4. **Впроваджено:** в КНП «ЧЕРКАСЬКА ОБЛАСНА ЛІКАРНЯ ЧЕРКАСЬКОЇ ОБЛАСНОЇ РАДИ» патологоанатомічне відділення

5. **Строки впровадження:** 01.03.2024-02.10.2024р.

6. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними в джерелі інформації (п.3)**

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Підвищення точності оцінки експресії епітеліальних та мезенхімальних маркерів в епітеліально-мезенхімальній трансформації в прогресуванні протокової аденокарциноми підшлункової залози	25%	25%

7. **Зауваження, додатки:** не вносились.

Відповідальний за впровадження:

завідувач патологоанатомічного відділення

(посада, підпис, ПІБ)

«__» жовтня 2024 р.

Віталій КОМІСАРЕНКО



3616367231352456

ДОДАТОК АЗ

ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи

НУОЗ України імені П.Л. Шупика

член-кореспондент НАМН України

професор Олександр ТОЛСТАНОВ



17 » 2025 р.

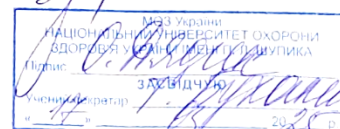
АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** визначення імуногістохімічних параметрів стовбурових клітин у розвитку та прогресуванні протокової аденокарциноми підшлункової залози.
2. **Установа розробника:** Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, кафедра патологічної анатомії і судової медицини. Автори: д.мед.н., професор кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМФУ Шишкін М.А., асистент, аспірант кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМФУ Кабаченко В.О.
3. **Джерела інформації:** Kabachenko V. O., Shishkin M. A. IHC characteristics of stem cell markers in PDAC with different degrees of differentiation. Journal of Education, Health and Sport. 2022;12(6):229-237. eISSN 2391-8306.
DOI: <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2022.12.06.02> <https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/JEHS.2022.12.06.023> <https://zenodo.org/record/6678066>.
4. **Впроваджено:** принципи оцінки злоякісного потенціалу стовбурових клітин у розвитку протокової аденокарциноми підшлункової залози помірного та низького ступеню диференціювання.
5. **Термін впровадження:** вересень 2024 р. по лютий 2025 р.
6. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра морфології, клінічної патології та судової медицини Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л.Шупика
7. **Форма впровадження:** у навчальний процес на кафедрі морфології, клінічної патології та судової медицини Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика в лекційному курсі, при проведенні практичних занять з лікарями-інтернами, аспірантами, лікарями-патологоанатомами, у науково-дослідну роботу кафедри.
8. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3):** поглиблення знань лікарів-інтернів, аспірантів, лікарів патологоанатомів з питань застосування імуногістохімічного дослідження задля встановлення злоякісного потенціалу протокової аденокарциноми підшлункової залози помірного та низького ступеню диференціювання.
9. **Зауваження і пропозиції:** не вносились.

Пропозиція обговорена та затверджена на навчально-методичній нараді кафедри морфології, клінічної патології та судової медицини НУОЗ України імені П.Л. Шупика (протокол № 3 від 17 лютого 2025 р.).

Завідувачка кафедри морфології, клінічного патології та судової медицини
Національного університету охорони здоров'я України
імені П.Л.Шупика, д.мед.н., професор

Олена ДЯДИК





3616367231352456

ДОДАТОК А4



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** визначення імуногістохімічних параметрів епітеліально-мезенхімальної трансформації в залозисто-протоковому компартменті, в зонах епітеліально-мезенхімальної трансформації та у фіброзній стромі в протоковій аденокарциномі підшлункової залози.

2. **Установа розробника:** Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, кафедра патологічної анатомії і судової медицини. Автори: д.мед.н., професор кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМФУ Шишкін М.А., асистент, аспірант кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМФУ Кабаченко В.О.

3. **Джерела інформації:**

Kabachenko VO. [Ductal adenocarcinoma of the pancreas: analysis of primary diagnosis and immunohistochemical features of the tumor]. Morphologia. 2021;15(4):62-70. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.4.62-70>

Shyshkin MA, Kabachenko VO. [Characteristics of the fibrous stroma in ductal adenocarcinoma of the pancreas depending on tumor size]. Morphologia. 2022;16(2):51-9. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.2.51-59>

Shishkin MA, Kabachenko VO. [Microscopic and immunohistochemical characteristics of epithelial-mesenchymal transformation in ductal adenocarcinoma of the pancreas of moderate and low degrees of differentiation]. Morphologia. 2023;17(4):60-73. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.60-73>

М.А.Шишкін, В.О. Кабаченко. [Імуногістохімічна характеристика епітеліально-мезенхімальної трансформації в протоковій аденокарциномі підшлункової залози]. Запорізький медичний журнал. 2024; Т.26 №2(143). С.127-133. Україна. DOI: 10.14739/2310-1210.2024.2.297243

Шишкін М.А., Кабаченко В.О. Епідеміологія раку підшлункової залози в Україні та Запорізькій області. Актуальні проблеми фармації та медицини: наука і практика. 2024Jun.14;17(2):169-75. DOI: <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.2.299555>

4. **Впроваджено:** в КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня» патологоанатомічне відділення

5. **Строки впровадження:** 01.03.2024-02.10.2024р.

6. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними в джерелі інформації (п.3)**

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Підвищення точності оцінки експресії епітеліальних та мезенхімальних маркерів в епітеліально-мезенхімальній трансформації в прогресуванні протокової аденокарциноми підшлункової залози	25%	25%

7. **Зауваження, додатки** не вносились.

Відповідальний за впровадження

Зав. відділенням
посада, підпис, ПІБ
3. жовтня 2024 р.



3616367231352456

ДОДАТОК А5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної
роботиЗапорізького державного медико-
фармацевтичного університету
д.мед.н., професор В.А. Візір

10/15 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** визначення імуногістохімічних параметрів стромального компартменту в протоковій аденокарциномі підшлункової залози.

2. **Установа розробника:** Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, кафедра патологічної анатомії і судової медицини. Автори: д.мед.н., професор кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМФУ Шишкін М.А., асистент, аспірант кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМФУ Кабаченко В.О.

3. **Джерела інформації:** Shyshkin MA, Kabachenko VO. [Characteristics of the fibrous stroma in ductal adenocarcinoma of the pancreas depending on tumor size]. Morphologia. 2022;16(2):51-9. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.2.51-59>

Shishkin MA, Kabachenko VO. [Microscopic and immunohistochemical characteristics of epithelial-mesenchymal transformation in ductal adenocarcinoma of the pancreas of moderate and low degrees of differentiation]. Morphologia. 2023;17(4):60-73. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.60-73>

Кабаченко В.О., Шишкін М.А. [Імуногістохімічна характеристика епітеліально-мезенхімальної трансформації в протоковій аденокарциномі підшлункової залози]. Запорізький медичний журнал. 2024. Т. 26, № 2(143). С. 127-133. DOI: 10.14739/2310-1210.2024.2.297243

4. **Впроваджено:** принципи оцінки розвитку стромального компартменту в протоковій аденокарциномі підшлункової залози в пухлинах менше та більше 3см з помірним та низьким ступенем диференціювання.

5. **Термін впровадження:** 01.03.2024-02.10.2024р.

6. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

7. **Форма впровадження:** в навчальний процес – в матеріали лекцій і практичних занять з патоморфології, а також в наукову роботу кафедри.

8. **Зауваження і пропозиції:** не вносились.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної анатомії і судової медицини
Запорізького державного медико-фармацевтичного університету
д.мед.н., проф.

С.І.Тертишний

01.10.2024р.



3616367231352456

ДОДАТОК А6

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор Навчально-наукового
Медичного інституту
Сумського державного університету
МОН України
проф. Андрій ЛОБОДА
«___» _____ 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиції для впровадження: визначення імуногістохімічних параметрів епітеліально-мезенхімальної трансформації в залозисто-протоковому компартменті, в зонах епітеліально-мезенхімальної трансформації та у фіброзній стромі в протоковій аденокарциномі підшлункової залози.

2. Установа розробника: Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, кафедра патологічної анатомії і судової медицини. Автори: д.мед.н., професор кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМФУ Шишкін М.А., асистент, аспірант кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМФУ Кабаченко В.О.

3. Джерела інформації:

Kabachenko VO. [Ductal adenocarcinoma of the pancreas: analysis of primary diagnosis and immunohistochemical features of the tumor]. Morphologia. 2021;15(4):62-70. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.4.62-70>

Shyshkin MA, Kabachenko VO. [Characteristics of the fibrous stroma in ductal adenocarcinoma of the pancreas depending on tumor size]. Morphologia. 2022;16(2):51-9. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.2.51-59>

Шишкін М.А., Кабаченко В.О. Епідеміологія раку підшлункової залози в Україні та Запорізькій області. Актуальні проблеми фармації та медицини: наука і практика. 2024Jun.14;17(2):169-75. DOI: <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.2.299555>

4. Впроваджено: принципи оцінки злоякісного потенціалу епітеліально-мезенхімальної трансформації в протоковій аденокарциномі підшлункової залози в залозисто-протоковому компартменті, в зонах епітеліально-мезенхімальної трансформації та у стромальному компартменті, а також диференціальна імуногістохімічна діагностика протокової аденокарциноми підшлункової залози помірного та низького ступеню диференціювання, що базується на оцінці епітеліально-мезенхімально трансформованих клітин та мікрооточення.

5. Термін впровадження: 01.03.2024-02.10.2024р.

6. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра патологічної анатомії НН Медичного інституту Сумського державного університету МОН України.

7. Форма впровадження: в навчальний процес – в матеріали лекцій і практичних занять з патоморфології, а також в наукову роботу кафедри.

8. Зауваження і пропозиції: не вносились.

патологічної анатомії Навчально-наукового Медичного інституту Сумського Пропозиція обговорена та затверджена на методичному засіданні кафедри патологічної анатомії Навчально-наукового Медичного інституту Сумського державного університету МОН України (протокол від 30 серпня 2024 р № 1).

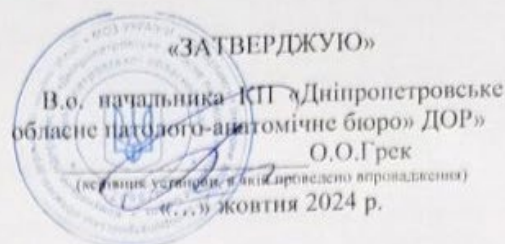
Завідувач кафедри патологічної анатомії
НН Медичного інституту
Сумського державного університету

д.мед.н., проф. Р.А. Москаленко



3616367231352456

ДОДАТОК А7



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** визначення імуногістохімічних параметрів стромального компартменту в протоковій аденокарциномі підшлункової залози.

2. **Установа розробника:** Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, кафедра патологічної анатомії і судової медицини. Автори: д.мед.н., професор кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМФУ Шишкін М.А., асистент, аспірант кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМФУ Кабаченко В.О.

3. **Джерела інформації:**

Shyshkin MA, Kabachenko VO. [Characteristics of the fibrous stroma in ductal adenocarcinoma of the pancreas depending on tumor size]. Morphologia. 2022;16(2):51-9. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.2.51-59>

Shyshkin MA, Kabachenko VO. [Microscopic and immunohistochemical characteristics of epithelial-mesenchymal transformation in ductal adenocarcinoma of the pancreas of moderate and low degrees of differentiation]. Morphologia. 2023;17(4):60-73. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.60-73>

Кабаченко В.О. Десмопластична строма в протоковій аденокарциномі підшлункової залози Матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії. 8 жовтня 2021р. м.Полтава С66-67

Кабаченко В.О., Шишкін М.А. [Імуногістохімічна характеристика епітеліально-мезенхімальної трансформації в протоковій аденокарциномі підшлункової залози]. Запорізький медичний журнал. 2024. Т. 26, № 2(143). С. 127-133. DOI: 10.14739/2310-1210.2024.2.297243

4. **Впроваджено:** в КП «Дніпропетровське обласне патолого-анатомічне бюро» ДОР»

5. **Строки впровадження:** 01.03.2024-02.10.2024р.

6. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними в джерелі інформації (п.3) - запропоновані критерії ефективні**

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
принципи оцінки розвитку стромального компартменту в протоковій аденокарциномі підшлункової залози в пухлинах менше та більше 3см з помірним та низьким ступенем диференціювання	25%	25%

7. **Зауваження, додатки:** не вносились.

Відповідальний за впровадження:

заступник начальника КП «ДОПАБ» ДОР»

Грищенко П.О.

«...» жовтня 2024 р.



3616367231352456

ДОДАТОК А8

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної
роботиЗапорізького державного медико-
фармацевтичного університету
д.мед.н., професор В.А. Візір

» 10 / 11 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** визначення імуногістохімічних параметрів стовбурових клітин у розвитку та прогресуванні протокової аденокарциноми підшлункової залози.

2. **Установа розробника:** Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, кафедра патологічної анатомії і судової медицини. Автори: д.мед.н., професор кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМФУ Шишкін М.А., асистент, аспірант кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМФУ Кабаченко В.О.

3. **Джерела інформації:** Kabachenko V. O., Shishkin M. A. IHC characteristics of stem cell markers in PDAC with different degrees of differentiation. Journal of Education, Health and Sport. 2022;12(6):229-237. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2022.12.06.023> <https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/JEHS.2022.12.06.023> <https://zenodo.org/record/6678066>

4. **Впроваджено:** принципи оцінки злоякісного потенціалу стовбурових клітин у розвитку протокової аденокарциноми підшлункової залози помірного та низького ступеню диференціювання.

5. **Термін впровадження:** 01.03.2024-02.10.2024р.

6. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

7. **Форма впровадження:** в навчальний процес – в матеріали лекцій і практичних занять з патофізіології, а також в наукову роботу кафедри.

8. **Зауваження і пропозиції:** не вносили б.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології
Запорізького державного медико-фармацевтичного університету
д.мед.н., проф.

О.В.Ганчева

01.10.2024р

ДОДАТОК Б

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Кабаченко В.О., Шишкін М.А. (2024). Імуногістохімічна характеристика епітеліально-мезенхімальної трансформації в протоковій аденокарциномі підшлункової залози. *Запорізький медичний журнал*. 2024. Т.26, № 2(143). С. 127-133. DOI: 10.14739/2310-1210.2024.2.297243 (Кабаченко В.О. – підбір матеріалу, аналіз результатів гістологічного та імуногістохімічного досліджень, статистична обробка даних, Шишкін М.А. – остаточне затвердження статті)
2. Кабаченко В.О., Шишкін М.А. (2024). Епідеміологія раку підшлункової залози в Україні та Запорізькій області. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2024 Т.17, №2(45). С.169-175 <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.2.299555> (Кабаченко В.О. – підбір матеріалу, аналіз результатів досліджень, статистична обробка даних, Шишкін М.А. – остаточне затвердження статті)
3. Кабаченко В.О., Шишкін М.А. (2023). Мікроскопічна та імуногістохімічна характеристика епітеліально-мезенхімальної трансформації в протоковій аденокарциномі підшлункової залози помірного та низького ступеню диференціювання. *Morphologia*. 2023;17(4):60-73. Ukrainian. <https://morphology.dmu.edu.ua/pro-zurnal/arhiv-nomeriv/2023-vol-17-4> DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.60-73> (Кабаченко В.О. – підбір матеріалу, аналіз результатів гістологічного та імуногістохімічного досліджень, статистична обробка даних, Шишкін М.А. – остаточне затвердження статті)
4. V.O.Kabachenko. M.A.Shishkin (2022). IHC characteristics of stem cell markers in PDAC with different degrees of differentiation. *Journal of Education, Health and Sport*. 2022. 12(6) 229-237. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2022.12.06.023> <https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/JEHS.2022.12.06.023>



<https://zenodo.org/record/6678066> (Кабаченко В.О. – підбір матеріалу, аналіз результатів гістологічного та імуногістохімічного досліджень, статистична обробка даних, Шишкін М.А. – остаточне затвердження статті)

5. Кабаченко В.О. Шишкін М.А. (2022). Особливості фіброзної строми в протоковій аденокарциномі підшлункової залози в залежності від розміру пухлини. *Morphologia*. 2022;16(2):51-9. Ukrainian. <https://morphology.dmu.edu.ua/pro-zurnal/arhiv-nomeriv/2023-vol-17-4> DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.2.51-59> (Кабаченко В.О. – підбір матеріалу, аналіз результатів гістологічного та імуногістохімічного досліджень, статистична обробка даних, Шишкін М.А. – остаточне затвердження статті)

6. Кабаченко В.О. (2021) Протокова аденокарцинома підшлункової залози: аналіз первинної діагностики та імуногістохімічні особливості пухлини. *Морфологія*. 2021. Т.15, №4. С62-70. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.4.62-70>

7. Кабаченко В.О. (2019, травень). Епітеліально-мезенхімальна трансформація клітин протокової аденокарциноми підшлункової залози. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019*: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів (м. Запоріжж, 13-17 травня 2019р.). Запоріжжя, 2019. С.8.

8. Кабаченко В.О. (2021, квітень). Протокова аденокарцинома підшлункової залози; аналіз захворюваності і характерні патоморфологічні особливості пухлини. *Наукові дослідження патологоанатомів України: досягнення та перспективи розвитку*: матеріали міжнародної науково-практичної онлайн-конференції (м. Запоріжжя, 22-23 квітня 2021р.). м.Запоріжжя, 2021р. С.22.

9. Кабаченко В.О. (2021, жовтень). Десмопластична строма в протоковій аденокарциномі підшлункової залози. *УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування*



3616367231332456

УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії: матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Полтава, 8 жовтня 2021р.). Полтава, 2021. С66-67.

10. Кабаченко В.О (2022, травень). ІГХ характеристика фіброзної стромы в протоковій аденокарциномі підшлункової залози при різному ступені диференціювання пухлини *Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2022: матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів* (м.Запоріжжя, 17 травня 2022р.). м.Запоріжжя, 2022р. С.47-48.

<http://dspace.zsmu.edu.ua/handle/123456789/18515>

11. Kabachenko V.O. (2022, травень) Epithelial-mesenchymal transition in ductal adenocarcinoma of the pancreas depending on the size of the tumor. *YOUNG SCIENCE 4.0* матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених (м. Київ, 30 травня 2022р.). Київ, 2022. С.28-29. <http://dspace.zsmu.edu.ua/bitstream/123456789/20200/1/c28-29.pdf>



3616367231332456

ДОДАТОК В

ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Науково-практична конференція з міжнародною участю молодих вчених та студентів «*Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019*» 13-17 травня 2019 року, Запоріжжя, Україна. *(публікація тез)*
2. Міжнародна науково-практична онлайн-конференція «Наукові дослідження патологоанатомів України: досягнення та перспективи розвитку» 22-23 квітня 2021 року, м.Запоріжжя, Україна. *(публікація тез)*
3. Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії», 8 жовтня 2021 року, м.Полтава, Україна. *(публікація тез)*
4. Всеукраїнська науково-парктична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2022», 17 травня 2022 року, м.Запоріжжя, Україна. *(публікація тез)*
5. Науково-практична конференція з міжнародною участю молодих вчених «*YOUNG SCIENCE 4.0*» 30 травня 2022 року, м.Київ, Україна. *(публікація тез)*

На електронний документ накладено: 1 (Один) підписи чи печатки:
На момент друку копії, підписи чи печатки перевірено:
Програмний комплекс: eSign v. 2.3.0;
Засіб кваліфікованого електронного підпису чи печатки: ІТТ Користувач ЦСК-1
Експертний висновок: №04/05/02-1277 від 09.04.2021;
Цілісність даних: не порушена;



3616367231352456



Підпис № 1 (реквізити підписувача та дані сертифіката)
Підписувач: КАБАЧЕНКО ВАЛЕРІЯ ОЛЕКСАНДРІВНА 3415906222;
Належність до Юридічної особи: ФІЗИЧНА ОСОБА;
Код юридичної особи в ЄДР: 3415906222;
Серійний номер кваліфікованого сертифіката: 5E984D526F82F38F040000005A6EAD01461A2D06;
Видавець кваліфікованого сертифіката: КНЕДП АЦСК АТ КБ "ПРИВАТБАНК";
Тип носія особистого ключа: Захищений;
Тип підпису: Кваліфікований;
Сертифікат: Кваліфікований;
Час та дата підпису (позначка часу для підпису): 21:19 29.03.2025;
Чинний на момент підпису. Підтверджено позначкою часу для підпису від АЦСК (кваліфікованого надавача електронних довірчих послуг)
Час та дата підпису (позначка часу для даних): 21:19 29.03.2025;