

# PROSTATE CANCER CELLS IN THE EJACULATE (SEMEN) OF PATIENT WITH THE INITIAL FORM OF CANCER. CYTOLOGY OF EJACULATE AS A NEW METHOD FOR SCREENING OF EARLY PROSTATE CANCER (PCA)

Markaryan D.S. (Russian Federation) Email: Markaryan56@scientifictext.ru

Markaryan David Seropovich - PhD of Medical Sciences,  
DEPARTMENT OF UROLOGY-ANDROLOGY-CYTOLOGY-REPRODUCTOLOGY,  
CLINIC "HEALTH LINE", MOSCOW

**Abstract:** as a result of the observation of changes in the cytology of the ejaculate (semen) of the same patient for the purposes of gerontology from a healthy prostate at 45 years (1980) before the appearance of signs of prostate cancer (blood in the ejaculate, knot 0.9x0.9 cm) in 85 years (2017) found the phenomenon of the appearance in the ejaculate cells and groups of cells not typical for ejaculate and which never previously been observed. These cells morphological (cytological) signs is typical for cancer cells. Groups and even small layers of cells, with amitoses, with polymorphism of nuclei in shape and size, which may indicate their aneuploidy. Large polyploidy cells with 4n and more chromatin, with uneven (lumps) distribution of chromatin. Cells with 2,3 and more nuclei. These atypical (cancer) cells are characterized by large nucleoli and hyperchromia of the nuclei. It is proposed to use the method of cytology of ejaculate (CAE) for mass screening of prostate cancer. With intact testicles, the detection of cancer cells in the ejaculate allows you to anticipate developing prostate cancer.

**Keywords:** prostate cancer cells, ejaculate, semen, cytological screening, diagnostic of early prostate cancer.

## КЛЕТКИ РАКА ПРОСТАТЫ В ЭЯКУЛЯТЕ (СПЕРМЕ) БОЛЬНОГО С НАЧАЛЬНОЙ ФОРМОЙ РАКА ПРОСТАТЫ. ЦИТОЛОГИЯ ЭЯКУЛЯТА КАК НОВЫЙ МЕТОД СКРИНИНГА РАННЕГО РАКА ПРОСТАТЫ (РПЖ)

Маркарян Д.С. (Российская Федерация)

Маркарян Давид Серопович – доктор медицинских наук,  
отделение урологии-андрологии-цитологии-репродуктологии,  
Клиника "Health Line", г. Москва

**Аннотация:** в результате наблюдения за изменениями в цитологии эякулята одного и того же пациента для целей геронтологии от здоровой простаты в 45 лет (1980 г.) до появления признаков рака простаты (кровь в эякуляте, узел в простате 0.9x0.9 см) в 82 года (2017 г.) обнаружен феномен появления в эякуляте клеток и групп клеток не типичных для эякулята и которые ранее никогда не обнаруживались. С морфологическими (цитологическими) признаками типичными для клеток рака простаты. Имели место группы и даже небольшие пласты клеток, с амитозами, с полиморфизмом ядер по форме и размерам, что позволяет думать об их анеуплоидии. Большие клетки - полиплоиды с 4n и более хроматина, с неравномерным (глыбками) распределением хроматина. Многоядерные клетки с 2-мя, 3-мя и более ядрами разного размера. Для этих атипичных (раковых) клеток характерны крупные ядрышки и гиперхромия ядер. Предлагается использовать метод цитологического анализа эякулята (ЦАЭ) для массового скрининга рака простаты. При интактных яичках, обнаружение раковых клеток в эякуляте позволяет заподозрить развитие рака простаты.

**Ключевые слова:** клетки рака простаты, эякулят, сперма, скрининг, цитология эякулята (спермы), диагностика раннего рака простаты.

### Введение.

Остается фактом, что современное человечество обнаружило существование спермиев (сперматозоидов) только в 1677 г. усилиями легендарного Антония Ван Левенгука, посмотревшего на сперму в созданный им микроскоп и увидевший там "semen zoo-семенных зверушек" [1]. Парадокс, но далее почти 260 лет сперма человека была вне поля интересов ученых. Новейшая история изучения спермы человека началась только в 40-е -50-е годы 20-го века усилиями двух известных исследователей-американца Robert S. Hotchkiss и уроженца Шотландии John McLeod. Robert S. Hotchkiss опубликовал свой труд "Fertility in Men" в 1944 г. [2]. А John McLeod, переехавший в США из Шотландии, совместно с Rut Z. Gold в 1950-1957-е годы, опубликовали серию работ по сперматогенезу у мужчин в норме и при инфертильности и создали необходимую базу знаний для внедрения методов анализа эякулята для решения проблем инфертильности [3]. На базе этих достижений в 1954 г. Giorgios N. Paranicolau в своем Атласе эксфолиативной цитологии описал несколько образцов спермы мужчин с раком яичка и раком почки и обнаружил наличие в эякуляте атипичных клеток, морфологически сходных с раковыми клетками [4]. Однако дальше эти работы не продолжил и прославился созданием метода

цитологической диагностики раннего рака шейки матки (PAP-test). Метод считается классикой, применяется во всем мире, и уже спас от рака шейки матки десятки тысяч женщин. Причина отказа от работ со спермой при онкологии органов репродукции была связана с тем, что эякулят и в норме содержит клетки сперматогенеза, реже макрофаги и лейкоциты, и имеют место определенные трудности с дифференциацией раковых клеток от клеток эякулята в норме. В 1998 г. Robert J. Barren и его коллеги преодолели эти сложности, проделав работу на мужчинах с вазэктомией и без вазэктомии в норме и при раке простаты [ 5 ]. Они так определили цели своей работы «ПСА не может различить ДГПЖ, Простатит и РПЖ при значениях 4.0-10.0 нг/мл. Для точного диагноза нужна точная цитологическая или гистологическая оценка. Характер биопсии делает этот тест выборочным, не применимым для массового скрининга. Часто требуются повторные биопсии. Нами сообщается о методе дифференциальной диагностики эпителиальных клеток рака предстательной железы в сперме..». При вазэктомии клетки сперматогенеза в эякулят не попадают и обнаруженные в эякуляте клетки имеют простатическое происхождение. Используя меченые антитела к антигенам клеток простаты (PSMA а. PSA ) и цитокератину 8 и 18, с последующей флуориметрией материала, они смогли четко и достоверно дифференцировать в эякуляте клетки рака простаты от клеток сперматогенеза и сделали вывод, что эякулят (сперма) человека может быть использована в клинической практике для диагностики РПЖ. Однако их метод не нашел применения, можно предположить, из-за своей сложности. И на сегодняшний день единственным прямым, цитологическим методом диагностики рака простаты является биопсия простаты с последующей гистологией. Однако биопсия простаты метод дорогой, инвазивный, сложный для врача, болезненный и опасный осложнениями для пациента и имеющий высокий процент ложно отрицательных результатов, из-за чего требуются повторные биопсии. Поэтому поиск новых, относительно простых, неинвазивных методов раннего обнаружения РПЖ для массового скрининга остается актуальным. Новый этап работ по цитологии клеток рака простаты в эякуляте (сперме) начался в 2017 г., когда регулярное появление крови в эякуляте на фоне ДГПЖ натолкнуло нас на мысли о цитологическом изучении эякулята. Полученные факты позволили сделать в феврале и мае 2018 г. сообщения о возможности надежной и достоверной диагностики рака простаты по цитологии эякулята. [ 6, 7 ]. Возникла новая перспектива использовать простой, дешевый, неинвазивный метод цитологии эякулята (спермы) для массового скрининга рака простаты на ранней стадии у всех мужчин после 45-50 лет уже на первичном урологическом приеме. По счастливому совпадению - доктор Сапожкова Ж.Ю. и сотрудники в марте 2018 г сообщили о возможности обнаружения клеток рака простаты в осадке эякулята [ 8 ] и сделали такую же рекомендацию для практического здравоохранения. Таким образом, тремя разными исследователями, в разных местах и в разное время были получены однозначные результаты, что клетки рака простаты попадают в эякулят и они там могут быть обнаружены и достоверно дифференцированы от клеток эякулята в норме.

#### **Материалы и методы.**

Наша работа явилась результатом уникального динамического анализа спермограмм и цитологии эякулята один - два раза в год у одного и того же пациента на протяжении 37 лет, в возрасте от 45 лет (1980 г.), до возраста 82 года (2017 г.), когда у пациента на фоне умеренно- выраженной аденомы (ДГПЖ) появился предположительно раковый узел 0.9x0.9 см., а в сперме стала появляться кровь. Был поставлен диагноз начальный рак простаты. Вместо биопсии простаты пациент решил посмотреть цитологию эякулята и сразу же обнаружил атипичные клетки, которых никогда ранее не было. У пациента четверо детей и четверо внуков. Общее состояние здоровья хорошее. В свои 82 года продолжает работать как врач-исследователь. Спермограммы пациента делали 1-2 раза в год по рекомендациям ВОЗ [ 9 ]. Цитологию спермы делали на мазках спермы после окраски Methylene Blue при увеличении x420. Подозрительные, атипичные клетки, фотографировали с помощью Microscope Digital Camera Levenhuk M300 BASE. Контролем служили :а) Спермограммы пациента и ее цитология с 1980 г. до развития РПЖ в 2017 г.. б) Спермограммы 1020 мужчин в возрасте 23-47 лет проходивших у нас лечение по поводу мужского бесплодия. 1008 человек с астенотератозооспермиями разной этиологии. У 12 человек была обструктивная азооспермия и полное отсутствие спермиев в эякуляте. Для дифференциальной диагностики использовали обнаруженное различие морфологических критериев клеток сперматогенеза имеющих место в сперме 1020 мужчин контроля, и самого опытного пациента в прошлом, и клеток при развивающемся раке простаты.. Эти морфологические различия значительны и видимы на глаз и при наличии небольшого опыта отличить клетки нормального сперматогенеза от клеток РПЖ не представляет больших проблем.

#### **Результаты и обсуждение.**

Результаты динамического исследования опытного пациента представлены в таблице 1.

*Таблица 1. Пациент 82 г. Время наблюдения 37 лет. 1980-2017 гг.*

Возраст в годах	45	70	75	82	82.7
Объем эякулята мл	3.5	3.0	2.0	0.8	0.8
Концентрация	120.0	60.0	25.0	15.0	15.0

спермиев млн/мл.					
Тестостерон н.моль/л	13	-	8.0	-	-
IPSS кл-во баллов	0.0	4	10	14	13
Объем простаты мл.	-	-	49.9	52.47	51.3
PSA ng/ml	-	2.8	3.13	3.25	2.57
Free PSA	-	0.5	0.9	1.16	0.73
Коэффициент	-	18	29	36	28
ТРУЗИ простаты	Признаки простатита	ДГПЖ +простатит	ДГПЖ +простатит	Узел 0.9 х0.9 см	ДГПЖ +проатит
Клетки сперматогенеза в поле зрения х420	0--1	0--2	0--2	?	0--2
Атипичные (раковые) клетки	нет	Единичные атипичные	Единичные атипичные	2—40*	1-4**

\* Кровь в эякуляте

\*\* -на фоне лечения (индигал-плюс,свечи Простопин ,свечи КИП-ферон , физическая активность, диета и др.)

Как видно из этой таблицы первые клетки с атипичной для сперматогенеза,но типичной для опухолевого роста морфологией появились примерно за 12 лет до обнаружения очагового роста опухоли в простате. Это были совершенно не типичные для сперматогенеза гигантские полиплоидные и многоядерные клетки. В 82 года на фоне развивающегося РПЖ их число в поле зрения многократно выросло. Появились клетки с ядрами разной величины и формы, полиплоиды и многоядерные клетки, большие клетки в ядрах которых хроматин располагался глыбками. Клетки характеризовались крупными ядрышками, картинами амитотического деления,узкой цитоплазмой и гиперхромией ядер. Таким образом, цитология спермы между 45 и 75 годами были первым контролем для дифференциации клеток сперматогенеза от клеток не типичных для спермы,но типичных для рака простаты (11). Вторым контролем были спермограммы 1008 мужчин с различными вариантами олигоастенотератозооспермий и 12 пациентов с обструктивной азооспермией,у которых из-за обструкции семявыносящих протоков, сперма не содержала ни спермиев, ни клеток сперматогенеза и эякулят представлял собой секрет простаты и семенных пузырьков (Табл.2.)

Таблица 2. Цитология эякулята пациентов с астенотератозооспермией и обструктивной азооспермией. Возраст 24-47 лет. Средний возраст-32 года

Показатели	Астенотератозооспермия	Азооспермия
Количество пациентов	1008	12
Концентрация спермиев млн/мл	10-80	0.0
Лейкоциты +макрофаги в поле зрения х420	0-1	0-0-1
Круглые клетки (клетки сперматогенеза) X420	1-3	0.0
Распадающиеся клетки	0-0-1	0.0
Атипичные (раковые ) клетки	нет	нет

Анализ этих данных показывает, что при анализе эякулята молодых мужчин (средний возраст 32 года) атипичные,мутантные клетки, не типичные для сперматогенеза,но типичные для ракового роста вообще обнаружены не были.

**Отличить, дифференцировать клетки сперматогенеза ,макрофаги, лейкоциты клетки эпителия от раковых клеток в сперме всегда была очень трудной задачей.** Robert J.Varren и коллеги [ 5 ] решили эту проблему за счет антител меченых к антигенам и цитокератину клеток простаты и последующей флуориметрией. Нам удалось решить эту задачу за счет динамического наблюдения за цитологией спермы пациента на протяжении 37 лет,вплоть до обнаружения в простате признаков рака (данные ТРУЗИ,кровь в эякуляте,объем простаты, ). **Было обнаружено: 1. Появление опухолевого узла в простате сопровождалось появлением в эякуляте большого количества клеток (до 40 в поле зрения X420) и даже пластов железистых клеток( фото) ,чего никогда в прошлом ни у самого пациента,ни во втором контроле не наблюдалось.** Эти клеточные элементы имели ряд четких отличий от клеток эякулята в норме: 2. **Амитозы** –аномальный тип неравномерного деления ядер, отсутствующих в норме,но типичных для мутантных клеток в опухолях. 3.**Полиплоидия.** Более 2n-4n хроматина. Большие ядра превосходящие размер ядер сперматоцитов и макрофагов в 2-3 и более раз. Размеры ядер оценочно содержат более 4n ДНК (хроматина). 4.**Полиморфизм ядер.** Как результат амитозов и неравномерного распределения хромосом (хроматина) между дочерними клетками наблюдался

выраженный полиморфизм ядер—от мелких около 1 п ДНК-(хроматина) до огромных клеток-полиплоидов –более 4п ДНК-(хроматина). **5. Распределение хроматина в клетках глыбками. 6. Многоядерные клетки- клетки с 2-мя,4-мя и более ядрами разной формы и величины. 7. Форма ядер-полигональные, сложной формы в отличие от круглых или овальных ядер в норме. 8. Крупные ядрышки. 9. Гиперхромия.**

**Появление в эякуляте большого** количества атипичных клеток и их цитологические особенности, а также при наличии некоторого опыта работы со спермой в норме и при раке простаты, любой цитолог без особых трудностей сможет заподозрить и отличить в эякуляте (сперме) опухолевые клетки рака простаты от клеток сперматогенеза.

#### **Заключение.**

Настоящая работа уникальна, так как выполнялась на одном и том же пациенте в течении 37 лет-от здоровой простаты и нормальной цитологии спермы до появления признаков развивающегося рака простаты. Контролями были цитология эякулята ( спермы) пациента на протяжении 36 лет до развития рака простаты и цитология спермы 1008 мужчин с астенотератозооспермией и 12 мужчин с обструктивной азооспермией. Это позволило достоверно отличить появившиеся в большом количестве в сперме пациента с развивающимся раком простаты атипичные клетки от клеток типичных для спермы в норме. Описаны цитологические отличия клеток рака простаты от клеток спермы в норме. Таким образом, как минимум в одном клиническом случае, открылись возможности для раннего обнаружения развивающегося рака простаты простым, дешевым и массово доступным Методом Цитологического Анализа Эякулята (метод ЦАЭ). Для того, чтобы метод ЦАЭ был внедрен в широкую практику требуются испытания метода на большем материале. ЦАЭ -метод может стать простым, дешевым, массово доступным на поликлиническом уровне методом скрининга раннего РПЖ у мужчин после 45-50 лет, а также у лиц с клиникой ДГПЖ, при появлении крови в эякуляте, при подозрении на РПЖ и частично заменить биопсию простаты. Наш вывод совпадает с выводами двух других авторов [5,8] , изучавших клетки рака простаты в эякуляте (сперме), что дополнительно повышает его ценность .

Резюме. Цель настоящей публикации предложить для практического здравоохранения простой, доступный, дешевый и объективный метод скрининга раннего рака простаты. В основу метода легли результаты уникального эксперимента длиной в 37 лет(1980-2017 гг.) на одном и том же пациенте от здоровой простаты и нормальной цитологии эякулята в 45 лет, до появления в эякуляте клеток рака простаты на фоне клиники РПЖ в 82 года. Дополнительным контролем служила цитология спермы 1008 мужчин с астенотератозооспермиями и 12 мужчин с обструктивной азооспермией. Показано появление клеток РПЖ в эякуляте по мере развития РПЖ. Описаны цитологические отличия клеток РПЖ от округлых клеток эякулята в норме. Полученные факты позволяют рекомендовать Цитологический Анализ Эякулята (ЦАЭ) для массового скрининга раннего и вообще РПЖ. Обнаружение клеток РПЖ в эякуляте (сперме) во многих случаях позволит отказаться от биопсии простаты.

#### *Список литературы / References*

1. *Antonii van Lewehoeck.* 1677. Observationes D. Antonii Lewenhoeck. De Natis E . Semine Genitali Animalculus. Phil.Trans.1677. 12. 1040-1046 DOI; 10;1098/rsti.1677. 0068 (Velitext).
2. *Hotchkiss Robert S.,* 1944. Fertility in Man. Цитировано по Richard D. Amelar. J.of Andrology. 2006.vol.27.№4. Jul-Aug.2006.
3. *McLeod John., Gold Rut Z.,* 1957. The mail factor in fertility and infertility..... Fertil.Steril.,1957, Jan-Feb 8 (1),36-49. PMID 13365685
4. *Papanicolaou Georgious H.,* 1954. Atlas of exfoliative cytology. Introduction. Harvard University press. Cambridge. 1954
5. *Barren R.J., Holms E.H., Boynton L.A. at all.* 1988. Method for identifying Prostate Cells in Semen Using Flow Cytometry. The Prostate ,1998, Aug.1; 36 (3), 181-188
6. *Маркарян Д.С.* 2018. Микробиом простаты, аденома (ДГПЖ) и рак простаты. Московская областная онкологическая конференция. 2 февраля 2018. Москва, МОНИКИ им.М.Ф. Володарского. Живой Журнал. [Электронный ресурс]. Режим доступа: [www.davidsmarkaryan/](http://www.davidsmarkaryan/) (дата обращения: 31.08.2018).
7. *Маркарян Д.С.* 2018. Раковые клетки в сперме больного раком простаты. 3-ий Национальный Конгресс «Онкология репродуктивных органов». 31 мая-2 июня 2018. Москва, Status Praesens. ЖЖ. [Электронный ресурс]. Режим доступа: [www.davidsmarkaryan/](http://www.davidsmarkaryan/) (дата обращения: 31.08.2018).
8. *Сапожкова Ж.Ю.* 2018. Цитология осадка эякулята как первичный скрининг опухолевых генитоуринарных заболеваний у мужчин. Воронеж, 2018. Воронежский форум лабораторной медицины. 16.02.2018. [Электронный ресурс]. Режим доступа: [www.fedlab.ru/](http://www.fedlab.ru/) (дата обращения: 31.08.2018).
9. WHO. 1987. WHO Laboratory manual for the examination of human semen and semencervical mucus interaction. Cambridge University Press. Cambridge. 1067.