

А.О. Чекалова<sup>1</sup>, В.М. Благодаров<sup>2</sup>, А.М. Романенко<sup>1</sup>, Піркко Харконен<sup>3</sup>

## Хронічний атипичний проліферативний простатит, що розвивається під впливом довгострокової дії малих доз іонізуючого опромінення після аварії на ЧАЕС

<sup>1</sup> ДУ «Інститут урології НАМН України», м. Київ,

<sup>2</sup> Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ,

<sup>3</sup> Лундський університет, м. Мальмо (Швеція)

**Ключові слова:** рак передміхурової залози, передракові стани, хронічний простатит, іонізуюче опромінення.

У роботі проведено гістологічний та імуногістохімічний аналіз тканини доброякісної гіперплазії передміхурової залози, видаленої у 90 хворих, що мешкали більше 20 років у забруднених радіонуклідами регіонах України, у порівнянні з контрольною групою аналогічних 30 хворих з «чистих» (без радіонуклідів) територій країни. Встановлено гістологічні й молекулярні особливості специфічних змін у передміхуровій залозі, які отримали назву хронічного атипичного проліферативного простатиту, що розвивається в результаті тривалого впливу малих доз іонізуючого опромінення.

**Хронический атипичный пролиферативный простатит, развивающийся под долгосрочным действием малых доз ионизирующего излучения после аварии на ЧАЭС**

*А.А. Чекалова, В.М. Благодаров, А.М. Романенко, Пиркко Харконен*

В работе проведен гистологический и иммуногистохимический анализ ткани доброкачественной гиперплазии предстательной железы, удаленной у 90 больных, проживающих более 20 лет в загрязненных радионуклидами регионах Украины, в сравнении с контрольной группой из 30 аналогичных больных, проживающих в так называемых «чистых» (без радионуклидов) территориях страны. Выявлены гистологические и молекулярные особенности специфических изменений в предстательной железе, которые получили название хронического атипичного пролиферативного простатита, развивающегося в результате длительного действия малых доз ионизирующего излучения.

**Ключевые слова:** рак предстательной железы, предраковые состояния, хронический простатит, ионизирующее излучение.

*Патология. – 2010. – Т.7., №2. – С. 59–62*

**Chronic atypical proliferative prostatitis induced by long-term, low-dose ionizing radiation after the Chernobyl accident**

*A.O. Chekalova, V.M. Blagodarov, A.M. Romanenko, Pirkko Harkonen*

The present study shows the histological and immunohistochemical changes in benign prostate hyperplasia of 90 patients who lived in the radio-contaminated areas of Ukraine more than 20 years in comparison with the control group of the analog 30 patients from the so called «clean» areas (without radio-contamination). The very specific histological and molecular lesions in prostate were detected and they were called as the chronic atypical proliferative prostatitis induced by the long-term low-dose ionizing radiation exposure.

**Key words:** prostate cancer, precancer lesions, chronic prostatitis, ionizing radiation.

*Pathologia. 2010; 7(2): 59–62*

За останнє десятиріччя медичні наслідки аварії на Чорнобильській атомній електростанції стали предметом багатьох досліджень. Сьогодні вже не залишилось сумнівів щодо значного канцерогенного впливу низьких (або малих) доз іонізуючого опромінення, які містять у собі такий же, а іноді навіть вищий, канцерогенний потенціал, як і високі дози [1,12,14].

На відміну від широко відомих світових ядерних катастроф, основним джерелом радіоактивності після аварії на ЧАЕС стали довгоживучі радіонукліди, серед яких на територіях України превалюють Cs<sup>137</sup> і, меншою мірою, Cs<sup>134</sup>. Потрапивши після вибуху ядерного реактора у навколишнє середовище, вони накопичувалися у ґрунті, воді й харчах, з якими до сьогодні потрапляють в організм людини. Радіоактивний цезій, як відомо, майже повністю всмоктується в шлунково-кишковому тракті й складає 90% всієї інкорпорованої радіоактивності, його елімінація проходить через нирки й сечовидільний тракт [5].

Логічно передбачити, що передміхурова залоза чоловіків, які страждають на доброякісну гіперплазію передміхурової залози й мешкають у забруднених радіонуклідами регіонах країни, є мішенню подвійної дії для іонізуючого опромінення, з одного боку, як частина всього організму, а з іншого – як орган, що близько розташований до сечового міхура, в залишковій сечі якого концентруються радіонукліди Цезію 137 (Cs<sup>137</sup>).

Дуже важливо й доцільно вивчити молекулярні механізми впливу малих довгостроково діючих доз іонізуючого опромінення на тканину передміхурової залози й виявити гени-мішені, які перші потрапляють під їх вплив, їх альтерація може призводити до подальшої трансформації епітеліальних клітин з формуванням передракових станів і раку передміхурової залози.

### Мета роботи

Вивчення наявності оксидативного стресу, пошкоджень ДНК та інших молекулярних альтерацій у наслідок довгострокової дії малих доз іонізуючого опромінення

в передміхуровій залозі хворих на доброякісну гіперплазію (ДГПЗ), що проживають більше ніж 20 років на забруднених радіонуклідами територіях України.

#### Матеріали і методи дослідження

Операційний матеріал отримано від 120 хворих на ДГПЗ, які були прооперовані в ДУ «Інститут урології АМН України» протягом 2007–2010 рр. (операційне втручання – відкрита трансвезікальна простатектомія). У I (контрольну) групу ввійшли 30 хворих на доброякісну гіперплазію передміхурової залози, які протягом останніх 20–25 рр. проживали на т. зв. «чистих» (не забруднених радіонуклідами) територіях України.

II групу досліджуваних склали 90 осіб з доброякісною гіперплазією передміхурової залози, які протягом останніх 20–25 рр. проживали на забруднених радіонуклідами після аварії на ЧАЕС (1986 р.) територіях України, де рівень територіального забруднення Цезієм  $^{137}\text{Cs}$  коливається від 5 до 30  $\text{кi}/\text{km}^2$ .

У Києві, який також належить до забруднених радіонуклідами територій, рівень забруднення  $\text{Cs}^{137}$  коливається від 0,5 до 5  $\text{кi}/\text{km}^2$  [6]. Вік 120 хворих на ДГПЗ (I й II групи дослідження) коливався від 51 до 88 років (середній вік  $64 \pm 1,08$ ). Серед мешканців найбільш забруднених територій величина очікуваної (ретроспективно прогнозованої) дози, накопичуваної протягом усього життя, складатиме 80–400 мЗв (паспортизація 2008).

З метою діагностики патологічного процесу, гістологічні зрізи товщиною 4–6 мкм забарвлювались гематоксиліном, еозином і пікрофуксином за Ван-Гізона. Згідно з метою роботи, проведено також імуногістохімічні дослідження експресії протеїнів генів – регуляторів клітинного циклу, апоптозу p53, p63, p27Kip1, p16INK4a, Bcl-2 і маркера проліферації протеїну Ki-67.

Особливої уваги заслуговує імуногістохімічне дослідження експресії протеїну  $\gamma\text{-H2AX}$ -чутливого маркера двохланцюгових розривів ДНК. Відомо, що під впливом навіть малих доз іонізуючого опромінення, реактивних кисневих частин (ROS) руйнується ДНК з формуванням розривів її комплементарних ланцюгів (double-strand break – DSB), що супроводжується фосфорилляцією гістону H2AX, який перетворюється у  $\gamma\text{-H2AX}$ , саме він і є найбільш раннім і чутливим маркером пошкодження ДНК, а також відіграє важливу роль у її репарації [11].

Іншим важливим маркером оксидативного стресу, який також призводить до пошкодження ДНК, особливо в умовах запалення,  $\gamma$ -опромінення й деяких хімічних канцерогенів, що супроводжується біосинтезом оксиду азоту (NO), є фермент індукцибельна NO синтаза (iNOS), який каталізує реакції, що генерують пероксинітрил, який також індукує двохланцюгові розриви ДНК і мутагенез [13].

Імуногістохімічні дослідження експресії протеїнів p53, p63, Ki-67, p27Kip1, p16INK4a, Bcl-2,  $\gamma\text{-H2AX}$  і iNOS проводились із застосуванням стандартного зв'язаного біотин пероксидазного комплексу (ABC) на базі

Лабораторії медицини й біології пухлин Лундського університету м. Мальмо (Швеція). Отримані в роботі результати гістологічного й імуногістохімічного досліджень оброблено за допомогою ПЕОМ варіаційно-статистичними методами з використанням статистичного пакету Microsoft Excel-2010.

#### Результати та їх обговорення

Порівняльне гістологічне й імуногістохімічне дослідження передміхурової залози у хворих на ДГПЗ I-ої та II-ої групи виявило вірогідно вищу розповсюдженість хронічного, але дуже специфічного простатиту у хворих, які мешкали в забруднених радіонуклідами регіонах країни ( $p < 0,001$ ). Захворювання залишалось, як правило, асимптоматичним і виявлялось лише при гістологічному дослідженні. Так, у більшості хворих II групи (75%) на тлі ДГПЗ при всіх її гістологічних формах, строма була деформована завдяки значним склеротичним змінам, виглядала фуксинофільною при фарбуванні за Ван-Гізона; колагенові волокна немов замурували гладком'язові елементи, що, в свою чергу, подекуди зникали й заміщувалися фуксинофільною сполучною тканиною, серед якої виявлялися групи атрофічних ацинусів. Особливої деформації в стромі зазнавали кровоносні артеріальні судини, що характеризувалися значним потовщенням стінок і звуженням просвіту. Часто виявлялись новоутворені дилатовані судини, заповнені еритроцитами, з широким, часто неправильної форми просвітом, також були широко розповсюдженими ділянки крововиливів різних розмірів – від мікро- до значних крововиливів.

Ознаки хронічного помірного вогнищевого запалення спостерігались у 58 (64%) з 90 хворих II групи, у порівнянні з 16 (53%) з 30 хворих на ДГПЗ I групи. Запальні лімфоцитарні інфільтрати виявлялися переважно периваскулярно в стромі передміхурової залози. Сполучена тканина стромі характеризувалася високою ядерною експресією протеїну  $\gamma\text{-H2AX}$  у лейоміоцитах, фібробластах, лімфоцитах і ендотеліальних клітинах. Але найголовнішими знахідками у таких хворих були диспластичні зміни у вигляді численних вогнищ проліферативної запальної атрофії (ПЗА), що виявлені у 36 (43,34%) з 90 хворих, де ДГПЗ поєднувалася з хронічним простатитом. Їх кількість вірогідно перевищувала чисельність вогнищ ПЗА у хворих I групи (26%). Проліферуюча запальна атрофія спостерігалась у вигляді поодиноких, але частіше мультифокальних вогнищ дрібно- або крупноацинарних структур, нерідко сплющеної форми з щілиноподібним просвітом, іноді відокремлених склерозованою стромою з лімфоїдно-клітинною інфільтрацією від оточуючої гіперплазованої тканини (рис. 1, 2, кольор. вкладки 1–2). Епітеліоцити в них мали еозинофільну звужену цитоплазму, монотипні, округлі, рівномірно забарвлені, але найчастіше гіперхромні ядра, у яких зрідка виявлялися ядерця. Серед них також траплялись залози з зовсім атрофічним, подібним до ендотеліальних клітин, епітелієм. Строма, що оточує залози, представлена переважно фіброзними

тяжами із склерозованими, з потовщеними стінками й звуженим просвітом, кровоносними судинами.

У прогностичному значенні важливою була велика кількість (серед 43,34% у 24,45%) II групи хворих мультифокальних вогнищ ПЗА з виразною атипією проліферуючих клітин, що демонстрували значно збільшені у розмірі, поліморфні, гіперхромні ядра з 2 й іноді більше поліморфними ядерцями (рис. 2А, кольор. вкладка 2). Треба зазначити, що у хворих на ДГПЗ I групи вогнища ПЗА з клітинною атипією виявлено лише у 6% хворих.

Окрім ПЗА, у 41 (45,56%) хворого II групи вірогідно частіше, ніж у I групі, на тлі аденоматозної гіперплазії передміхурової залози виявлялись вогнища базальноклітинної гіперплазії (БКГ) у вигляді внутрішньоацинарної проліферації базальних клітин веретеноподібної форми зі сплюсненим ядром і бідною слабо еозинофільною цитоплазмою (рис. 1Б, Г, кольор. вкладка 1). Вогнища БКГ були мультифокальними, без чітких меж з оточуючою гіперплазованою тканиною. У деяких маленьких залозах проліферуючі базальні клітини облітерували їх просвіт. Особливої уваги заслуговували 15 (16,67%) випадків БКГ з 90 хворих, які характеризувалися різною за силою (від слабкої до значної) ядерною атипією. При цьому ядра базальних клітин, особливо у компартментах, прилеглих до базальної мембрани ацинусів, були поліморфними, гіперхромними й часто втрачали типову рядність.

Важливо підкреслити, що у хворих на доброякісну гіперплазію передміхурової залози, які проживали у забруднених регіонах України й у м. Київ, вогнища ПЗА й БКГ, особливо з клітинною атипією, що найчастіше розвивались на тлі згаданого специфічного хронічного простатиту, у порівнянні з аналогічними вогнищами I групи, відрізнялися найвищими рівнями ядерної експресії протеїнів p53 (рис. 1Г, 2В, кольор. вкладки 1–2), Ki-67, г-Н2АХ (рис. 1Б, 2Б, кольор. вкладки 1–2) (особливо базальних клітин) і мембранної й цитоплазматичної експресії Vcl-2, що супроводжувалось найзначнішим зниженням ядерної експресії p16INK4a, p63 і p27Kip1 ( $p < 0,05$ ).

Треба зауважити, що виявлення г-Н2АХ у периферійній крові й у тканинах людини в останні роки стало важливим для моніторингу пошкоджень ДНК, індукованих саме малими дозами іонізуючого опромінення, а протеїном г-Н2АХ користуються як «біодозиметром» для виявлення радіаційних пошкоджень [2,4,9].

Однак, є також повідомлення, що, крім іонізуючого опромінення, реактивні кисневі частини, що викликають пошкодження ДНК, можуть генеруватися у відповідь на хронічне запалення, яке також розвивається під впливом дії іонізуючого опромінення. Індуцибельна NO-синтаза (iNOS) є одним із ключових ензимів, який є біомаркером оксидативного стресу, що завжди асоціюється з хронічним запаленням, а продукція NO, як відомо, призводить до мутагенного ефекту, стимулює ангіогенез і виступає промотором канцерогенезу [2,13].

Отримані результати імуногістохімічного дослідження г-Н2АХ та iNOS у тканині передміхурових залоз хворих на ДГПЗ, які протягом багатьох років мешкали у забруднених радіонуклідами територіях країни, вперше довели високий рівень пошкоджень ДНК у вигляді двохланцюгових розривів з «таргетною» локалізацією на базальних клітинах ацинусів. Але найвищу ядерну експресію протеїнів г-Н2АХ і, меншою мірою, цитоплазматичну експресію iNOS, визначено у вогнищах проліферуючої запальної атрофії, базальноклітинної гіперплазії та простої фокальної атрофії. Це дозволяє, спираючись на останні публікації, розцінювати такі зміни як дійсно викликані хронічною тривалою дією іонізуючої радіації, що, певно, призвела до розвитку у таких вогнищах ендогенної геномної нестабільності [3,10].

Схожі зміни виявлено раніше при дослідженні сечового міхура людей, котрі потрапляли під хронічний вплив малих доз радіації, які пізніше одержали назву «Чорнобильський цистит» [7,8].

Отже, хронічне запалення, що виявлялося у хворих на ДГПЗ II групи, при гістологічному дослідженні було досить специфічним, відрізнялось, перш за все, значними склеротичними змінами сполучної тканини строми, яка характеризувалась високою експресією протеїну г-Н2АХ у лейоміоцитах, фібробластах, лімфоцитах, ендотеліальних клітинах з виразною ділятацією судин, часто з потовщеними склерозованими стінками, незначною лімфоцитарною, здебільшого периваскулярною, інфільтрацією, а також розвитком проліферативних диспластичних змін у вигляді вогнищ часто атипичної проліферативної запальної атрофії, базальноклітинної гіперплазії та фокальної атрофії багатьох ацинусів зі значними порушеннями регуляції процесів клітинного циклу, апоптозу й проліферації. Все це дозволило нам називати таку форму простатитухронічним атипичним проліферативним простатитом.

#### Висновки

1. В умовах хронічного тривалого впливу малих доз іонізуючого опромінення на тлі доброякісної гіперплазії передміхурової залози вірогідно зростає експресія біомаркерів пошкодженої ДНК й оксидативного стресу – г-Н2АХ і iNOS у стромі й базальних клітинах ацинусів.

2. Встановлені гістологічні й імуногістохімічні особливості специфічної форми хронічного простатиту, що розвивається у людей в умовах хронічного тривалого впливу малих доз іонізуючого опромінення, названо хронічним атипичним проліферативним простатитом. Виявлена гістологічна форма простатиту характеризується незначною лімфоцитарною інфільтрацією, виразними склеротичними змінами строми органу й кровоносних судин, їх ділятацією, розвитком проліферативних диспластичних змін і фокальною атрофією багатьох ацинусів.

3. Доведено, що в умовах хронічного тривалого впливу

малих доз іонізуючого опромінення на тлі доброякісної гіперплазії передміхурової залози, асоційованої з хронічним атипичним проліферативним простатитом, вірогідно зростає (у порівнянні з контрольною групою хворих) розповсюдженість диспластичних змін, до яких, у першу чергу, треба відносити вогнища проліферуючої запальної атрофії та базальноклітинної гіперплазії зі значними порушеннями процесів регуляції клітинного циклу, апоптозу й активацією процесів проліферації, що набувають значення передракових станів. Виявлені зміни зумовлюють правомірність виділення таких хворих у групу підвищеного ризику щодо розвитку інвазивного раку передміхурової залози з подальшим диспансерним доглядом.

#### Література

1. Anta Z. Health effects of the Chernobyl disaster. Fifteen years afterwards / Anta Z., Cabrera A., Mier D. [et al] // *An. Esp. Pediatr.* – 2002. – V. 56 (4). – P. 324–333.
2. Bonner W.M.  $\gamma$ -H2AX and cancer / Bonner W.M., Redon C.e., Dickey J.S. [et al] // *Cancer.* – 2008. – Vol. 8. – P. 957–967.
3. Dickey J.S. H2AX: functional roles and potential applications / Dickey J.S., Redon C.E., Nakamura A.S., Bonner W.M. // *Chromosoma.* – 2009. – Vol. 118. – P. 683–692.
4. Marchetti F. Candidate protein biosensors of human exposure to ionizing radiation / Marchetti F., Coleman M.A., Jones I.M., Wyrobek A.J. // *Int. J. Radiat. Biol.* – 2006. – Vol. 82. – P. 605–639.
5. Piechwoski J. Metabolism and toxicity of Cesium-137 / Piechwoski J. // Working paper on metabolism and toxicity of Cesium-137 // WHO, ULM. – 1987. – 9–12 June. – P. 12–16.
6. Raes F. Multi-fractal nature of radioactivity deposition on soil after the Chernobyl accident / Raes F., De Cort M., Graziani G. // *Health Phys.* – 1991 – Vol. 61. – P. 271–273.
7. Romanenko A. DNA damage repair in bladder urothelium after the Chernobyl accident in Ukraine / Romanenko A., Morimura R., Wei M., Vozianov A., Fukushima S. // *J Urol.* – 2002. – V. 168. – P. 973–977.
8. Romanenko A. Urinary bladder lesions induced by persistent chronic low-dose ionizing radiation / Romanenko A., Morimura R., Wanibuchi H. [et al] // *Cancer Sci.* – 2003. – V. 94 (4). – P. 328–333.
9. Rothkamm K. Leukocyte DNA damage after multi-detector row CT: a quantitative biomarker of low-level radiation exposure / Rothkamm K., Balroop S., Shekhdar J., Fernie P., Coh V. // *Radiology.* – 2007. – V. 242. – P. 244–251.
10. Sedelnikova O.A. Delayed kinetics of DNA double-strand break processing in normal and pathological aging / Sedelnikova O.A. Rogakou E.P., Bonner W.M. [et al] // *Aging cell.* – 2008. – V. 7. – P. 89–100.
11. Srivastava N. Role of H2AX in DNA damage response and human cancers / Srivastava N., Gochhait S., de Boer P., Bamezai R.N.K. // *Mutation Res.* – 2009. – V. 681. – P. 180–188.
12. Trosko J.E. The role of low-level ionizing radiation in multi-step carcinogenic process / Trosko J.E. // *Health Physics.* – 1996. – V. 70. – № 6. – P. 812–821.
13. Tsai C.S. Macrophages from irradiated tumors express higher levels of INOS, arginase-1 and COX-2 and promote tumor growth / Tsai C.S., Chen F.H., Wang C.C. [et al] // *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* – 2007. – V. 68. – № 2. – P. 499–507.
14. Zonenberg A. The effect of Chernobyl accident on the development of malignant diseases-situation after 20 years / Zonenberg A. Zarzycki W. Leoniak M. // *Endokrynol. Pol.* – 2006. – V. 57. – P. 244–252.

#### Відомості про авторів:

Чекалова А.О., лікар-патологоанатом, лабораторія патоморфології ДУ «Інститут урології НАМН України».

Благодаров В.М., д. мед. н., професор, зав. каф. патоморфології НМУ ім. О.О. Богомольця.

Романенко А.М., д. мед. н., професор, академік НАМН України, зав. лабораторією патоморфології ДУ «Інститут урології НАМН України».

Pirkko Harkonen, professor, Laboratory of Medicine and Tumor Biology in the Lund University, Malmo, Malmo University Hospital SE 205 02 (Sweden).

#### Адреса для листування:

Романенко Аліна Михайлівна. 04053, м. Київ, вул. Ю. Коцюбинського, 9а.

E-mail: romanenkoa5@hotmail.com

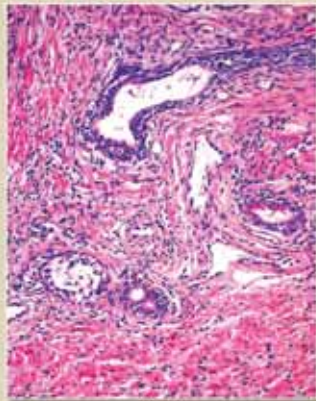


Рис. 1А

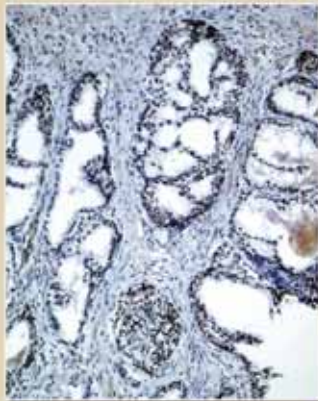


Рис. 1В

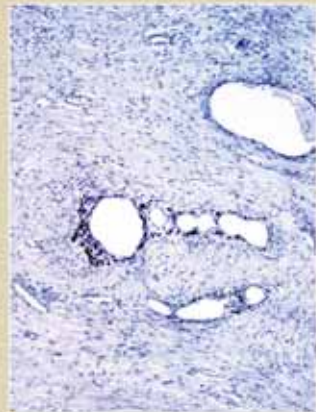


Рис. 1В

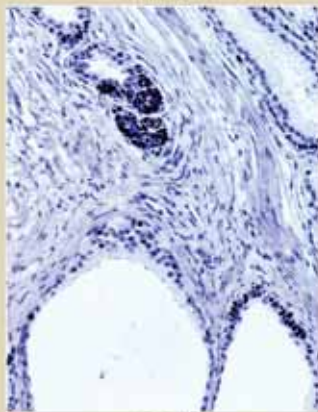


Рис. 1Г

Рис. 1. Хронічний атрофічний проліферативний простатит: А – вогнища проліферативної запальної атрофії (ПЗА) на тлі склерозованої стромі передміхурової залози з помірною ліффоїдноклітинною інфільтрацією, Зб, гематоксилином і еозином; Б – висока ядерна експресія p53 у вогнищах простатичної інтраепітеліальної неоплазії (ПІН) та базальноклітинної гіперплазії (БГГ); В – мозаїчна експресія p53 у вогнищах ПЗА; Г – експресія p53 у вогнищах ПЗА та БГГ. Зб, х 200.

(Рис. 1А, 1Б, 1В, 1Г – до статті А.О. Чекалової, В.М. Благодарова, А.М. Романенко, П'рхю Харченка «Хронічний атрофічний проліферативний простатит, що розвивається під впливом дозовострокової дії малих доз іонізуючого опромінення після аварії на ЧАЕС» С. 59–62) Патологія, 2010, Т. 7, №2

Кольорова вкладка 1

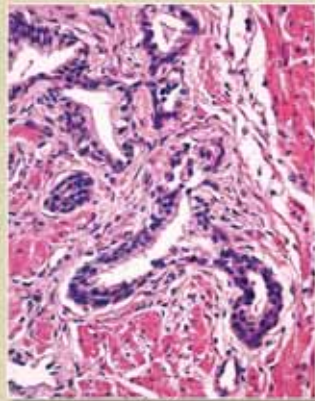


Рис. 2А

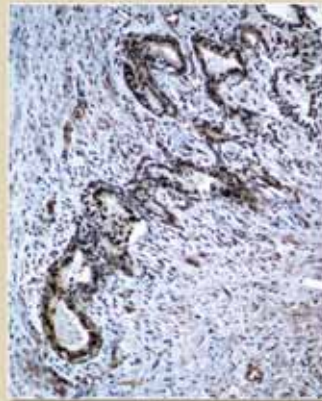


Рис. 2В

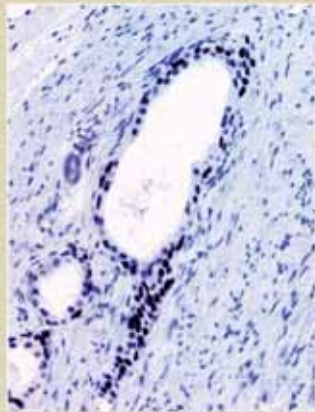


Рис. 2С

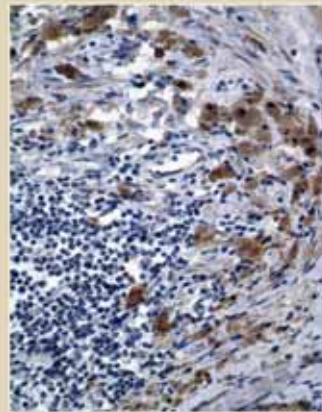


Рис. 2Д

Рис. 2. Вогнища ПЗЗ з клітинною атипією на тлі хронічного атрофового проліферативного простатиту. А – вогнища ПЗЗ з виразною ядерною атипією. Зб. гематоксолом і еозином. Б – експресія p-53; В – експресія p53; Г – цитоплазматична експресія iNOS у макрофагах та гладко-м'язових клітинах стромы передміхурової залози при хронічному атрофовому проліферативному простатиті. Зб. х 200.

(Рис. 2А, 2В, 2С, 2Д до статті А.О. Чекалової, В.М. Благодарова, А.М. Романенко, П'рхих Харківська «Хронічний атрофовий проліферативний простатит, що розвивається під впливом дозозасторогової дії малих доз іонізуючого опромінення після аварії на ЧАЕС» С. 59-62)

Патологія, 2010, Т. 7, №2

Кольорова вкладка 2