

М.В.Самсонова¹, Г.Сагиндикова², А.Л.Черняев¹, Е.А.Коган²

**РАК ЛЕГКОГО, РАЗВИВШИЙСЯ У ЛИЦ, РАБОТАВШИХ
НА РАДИАЦИОННЫХ ПРОИЗВОДСТВАХ И ПРОЖИВАВШИХ
НА ЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЕРРИТОРИЯХ РОССИИ: ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ
И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ**

¹ НИИ пульмонологии МЗ и СР РФ, Москва;

² ММА им. И.М.Сеченова, Москва

LUNG CANCER IN RADIATION INDUSTRY WORKERS AND RESIDENTS
OF RADIONUCLIDE-POLLUTED TERRITORIES OF RUSSIA: HISTOLOGICAL
AND MOLECULAR GENETIC FEATURES

M.V.Samsonova, G.Sagindikova, A.L.Chernyaev, E.A.Kogan

Summary

The aim of the study was to examine morphologic and molecular genetic features of lung cancer in patients engaged in radiation industry or living at radionuclide-polluted territories of Russia.

We performed morphologic and immunohistochemical investigations of lung cancer samples from patients engaged in radiation industry (16 cases) and patients living in radionuclide-polluted areas of Tula (8 cases) and Semipalatinsk (17 cases) regions. The immunohistochemical analysis of lung cancer biomolecular markers (p53, bcl-2, c-myc, and ki67) and the transmission electronic microscopy with energy-dispersed analysis of dust chemical elements were performed.

We showed that lung cancer in patients exposed to low-dose radiation has some peculiarities. Fibrosis was a frequent background for peripheral lung cancer occurrence. Perivascular or peribronchial fibrosis with dust deposition was usual in these cases. Cesium presented in the dust deposits in patients from Tula region. Increased small cell lung cancer rate with low proliferative activity was typical in patients worked at the radiation industry.

Резюме

Цель исследования состояла в изучении морфологических и молекулярно-генетических особенностей опухолевых клеток рака легкого (РЛ) у лиц, работавших на радиационных производствах и проживавших на радиационно-загрязненных территориях России.

Было проведено комплексное морфологическое и иммуногистохимическое изучение РЛ, развившегося у работников заводов по производству радиоактивного топлива (г. Железногорск — 8 наблюдений, г. Екатеринбург — 8), а также у лиц, проживавших на загрязненных территориях Тульской (8 наблюдений) и Семипалатинской (17 наблюдений) областей. Иммуногистохимически выявляли биомолекулярные маркеры РЛ — p53, c-myc, bcl-2, Ki67, проводили электронно-микроскопическое исследование ткани опухоли с помощью трансмиссионного электронного микроскопа JEM-100CX с энерго-дисперсионной приставкой для определения микроанализа состава химических элементов.

В исследовании было показано, что рак, развившийся у лиц, подвергшихся воздействию малых доз радиации, обладает некоторыми особенностями. У этих лиц рак чаще всего развивался на фоне периваскулярного и перибронхиального фиброза с отложением многокомпонентной пыли, периферическая аденокарцинома чаще развивается на фоне рубцовых изменений. У жителей Тульской обл., загрязненной после аварии на Чернобыльской АЭС, зарегистрировано наличие в пыли Cs. Выявлено повышение частоты встречаемости мелкоклеточного РЛ у работников горно-химических производств и у жителей загрязненных территорий. Выявлены молекулярно-генетические особенности рака, в частности низкая пролиферативная активность мелкоклеточного рака в группе работников вредного производства.

Рак легкого (РЛ) занимает 1-е место в структуре злокачественных новообразований. Многочисленные исследования показали, что в развитии РЛ большую роль играют различные профессиональные факторы,

уровень загрязненности внешней среды, а также курение. Исследованию ионизирующей радиации как фактора канцерогенеза посвящено значительное число работ, описывающих в основном РЛ, развивший-

ся у работников урановых рудников, а также у жителей Хиросимы и Нагасаки [1–4]. В отечественной литературе рассматриваются также особенности РЛ у работников атомной промышленности, связанных с воздействием производственного урана и плутония. В то же время, в литературе имеются лишь единичные работы, посвященные сравнительному исследованию особенностей РЛ, развившегося у работников радиационных производств и жителей территорий, загрязненных в результате техногенных выбросов радиации [5, 6].

Цель исследования состояла в изучении морфологических и молекулярно-генетических особенностей опухолевых клеток РЛ у лиц, работавших на радиационных производствах и проживавших на радиационно-загрязненных территориях России.

Материалы и методы

Было проведено комплексное морфологическое и иммуногистохимическое изучение операционного и аутопсийного материала РЛ, развившегося у работников заводов по производству радиоактивного топлива (г. Железногорск — 8 наблюдений, г. Екатеринбург — 8) — 1-я группа, а также у лиц, проживавших на загрязненных территориях Тульской (8 наблюдений) и Семипалатинской (17 наблюдений) областей — 2-я группа. Длительность контакта с радиоактивными продуктами рабочих плутониевого производства превышала 15 лет, а жителей загрязненных территорий — более 10 лет. Возраст больных колебался от 34 до 70 лет и составил в среднем: в 1-й группе — $59,4 \pm 7,9$, во 2-й — $57,9 \pm 9,8$ лет. Преобладали мужчины (38 наблюдений) над женщинами (3). Из 41 пациента 5 были некурящими, среди остальных индекс курения составил в среднем $18,5 \pm 4,6$ пачко-лет. Использовали операционный (8 наблюдений) и аутопсийный (33 наблюдения) материал.

Проводили морфологическое исследование парафиновых срезов, окрашенных гематоксилином и эозином, альциановым синим и с помощью ШИК-реакции. На парафиновых срезах иммуногистохимическим методом с использованием микроволновой печи [7] выявляли биомолекулярные маркеры РЛ — продукт экспрессии мутантного гена p53, с-мус, bcl-2 ("DAKO", Denmark), а также хромогранин ("Diapnoa", Germany). Проллиферативную активность опухолевых клеток выявляли по маркеру Ki67 ("DAKO", Denmark). Проводили иммуногистохимическое окрашивание на хромогранин, синаптофизин ("DAKO", Denmark), цитокератины (CytokeratinCoctail, "Skytec", USA). Результаты реакций оценивали полуколичественно в баллах по общепринятой методике с учетом количества окрашенных клеток (n): $n < 20\%$ — 1–2 балла, $20\% < n < 50\%$ — 3–4 балла, $n > 50\%$ — 5–6 баллов [6]. При определении Ki67 и p53 подсчитывали долю клеток с положительной реакцией в ядрах на 300 опухолевых клеток. Проводили электронно-микроскопическое исследование

ткани опухоли с помощью трансмиссионного электронного микроскопа JEM-100CX с энерго-дисперсионной приставкой для определения микроанализа состава химических элементов. Статистический анализ осуществляли с помощью стандартного пакета программ *Statgraphics*.

Результаты исследования и их обсуждение

При исследовании больших РЛ было выявлено, что чаще встречался центральный рак — в 1-й группе — в 62,5 % наблюдений, во 2-й — в 52,4 %. Микроскопически были обнаружены 3 основных гистогенетические типа рака — с нейроэндокринной дифференцировкой, подтвержденной при окраске на хромогранин и в 2 опухолях — на синаптофизин, опухоли с железистой дифференцировкой, в которых при окраске альциановым синим доказано наличие секрета в цитоплазме опухолевых клеток и плоскоклеточного рака. Во всех наблюдениях опухолевые клетки имели положительно окрашивание цитокератином.

Среди рака центральной локализации преобладал мелкоклеточный рак, составивший 43,7 % и 57,7 % в 1-й и 2-й группах соответственно. Плоскоклеточный РЛ был выявлен гистологически в 18,8 % и 15,4 %, причем в более чем половине наблюдений в обеих группах он имел комбинированное строение с наличием нейроэндокринных клеток, что подтверждалось положительной окраской опухоли на хромогранин. Аденокарцинома встречалась значительно реже и имела преимущественно периферическую локализацию, частота этой опухоли составила 31,2 % в 1-й группе и 15,4 % во 2-й. Периферическая аденокарцинома часто развивалась на фоне рубцовых изменений в легких (рис. 1). В 1-й группе было также зарегистрировано 1 наблюдение аденосквамозного, а во 2-й — 1 наблюдение гигантоклеточного рака. Таким образом, наиболее часто в 2 исследуемых группах встречался рак с нейроэндокринной дифференциров-



Рис. 1. Периферическая аденокарцинома легких на фоне рубцовых изменений

Окраска гематоксилином и эозином, $\times 40$.

кой. Это согласуется с опубликованными ранее данными, свидетельствующими о том, что при действии малых доз радиации повышается частота развития нейроэндокринных опухолей [8].

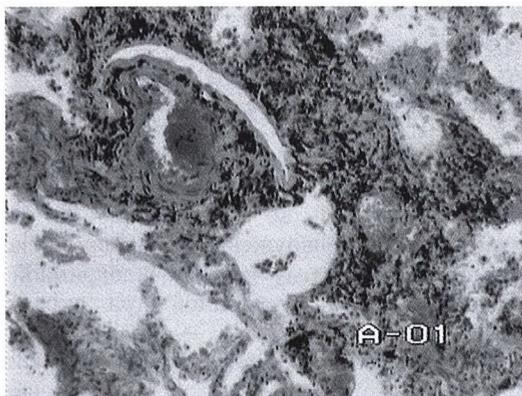


Рис. 2. Легочная ткань по периферии опухоли. Массивные периваскулярные пылевые отложения

Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$.

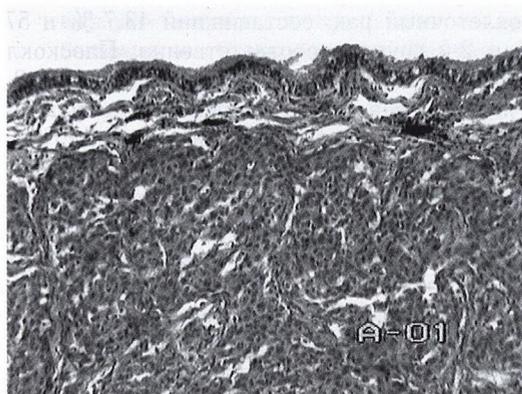


Рис. 3. Аденокарцинома: разрастания опухолевой ткани в стенке бронха. Отложение пыли непосредственно под базальной мембраной

Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$.

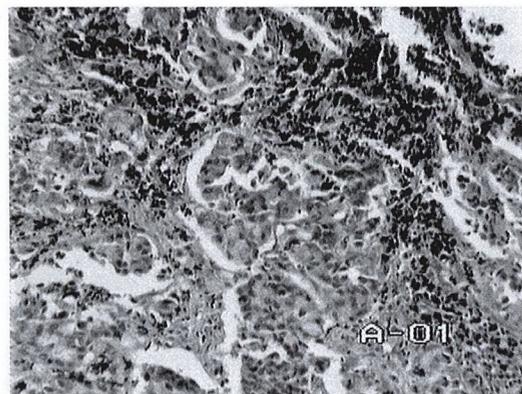


Рис. 4. Аденокарцинома легких. Отложение пылевых частиц в строме опухолевой ткани

Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$.

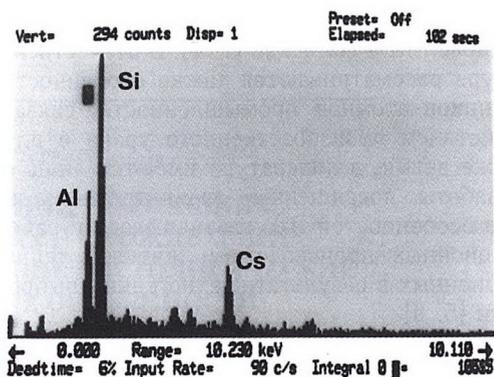


Рис. 5. Элементный состав пылевых периваскулярных отложений по периферии опухоли. Хорошо видны пики алюминия, кремния и цезия.

Трансмиссионная электронная микроскопия с энерго-дисперсным микроанализом.

В большинстве опухолей 1-й и 2-й групп РЛ развился на фоне выраженного периваскулярного и перибронхиального фиброза. В этих зонах фиброза обнаружено отложение темного пигмента — пылевых частиц. Иногда массивные пылевые отложения обнаруживали и среди опухолевой ткани (рис. 2–4). При проведении электронно-микроскопического исследования описанных зон в участках отложения пыли во всех наблюдениях были обнаружены Al и Si. Используемый метод позволяет определять химические элементы, молекулярный вес которых выше, чем вес углерода. Описанные пылевые частицы, по-видимому, содержат также и углерод. Таким образом, пылевые отложения представляют собой многокомпонентную пыль, содержащую алюмосиликаты. В 7 из 8 исследуемых опухолей, развившихся у жителей Тульской обл., в пылевых отложениях был, кроме того, зарегистрирован пик Cs (рис. 5). Известно, что на территории Тульской обл. загрязнение почв Cs в некоторых районах превышает 15мКю. Исследуемые нами опухоли развились у лиц, проживающих в этих районах. Таким образом, обнаружение цезия в пылевых отложениях в ткани легких подтверждает факт ингаляционного поражения и является маркером загрязнения, связанного с Чернобыльской катастрофой.

Иммуногистохимические исследования молекулярно-генетического профиля опухолей легкого выявили следующие особенности. В опухолях обеих групп определялась высокая экспрессия c-myc, отсутствие или низкая экспрессия bcl-2, достаточно высокая экспрессия мутантного p53 (табл. 1). Проллиферативная активность рака в целом была ниже в 1-й группе.

При исследовании молекулярно-генетических маркеров опухолей различных гистологических типов было обнаружено, что наиболее низкая пролиферативная активность, а также экспрессия мутантного белка p53 отличала аденокарциномы в обеих группах (табл. 2).

Интересным оказался тот факт, что в 1-й группе мелкоклеточный рак обладал низкой пролиферативной активностью, однако высоким уровнем экспрессии p53 (табл. 2). Последнее соответствует данным

Таблица 1

Экспрессия молекулярно-генетических маркеров в ткани опухоли

Показатель	Гистотип	
	1-я группа	2-я группа
ki67	18,33 ± 18,95	30,73 ± 27,76
c-мус	5,33 ± 0,98	5,04 ± 1,18
p53	32,39 ± 26,04	33,54 ± 24,94
bcl-2	2,76 ± 2,09	3,0 ± 1,93

V.N.Nguyen et al. [9], согласно которым более частая экспрессия p53 обнаруживается в мелкоклеточном раке. Известно, что уровень пролиферативной активности является одним из важных прогностических факторов течения опухолевого процесса. *I.N.Soomro* [10] полагает, что уровень ki67 как показатель пролиферативной активности рака является более значимым показателем прогноза, чем гистологический тип опухоли, и может служить одним из маркеров для определения злокачественности опухоли. Высокий уровень экспрессии p53 в мелкоклеточном раке согласуется с опубликованными ранее исследованиями, [9, 11], в которых более частая экспрессия p53 была выявлена в мелкоклеточном раке. Появление мутации p53 в РЛ, по данным ряда авторов, коррелирует с прогнозом низкой выживаемости больных [12–14]. Однако данные систематического обзора, проведенного по результатам мета-анализа 79 независимых исследований [11], свидетельствуют о том, что такая корреляция доказана лишь для плоскоклеточного рака и аденокарциномы, т. е. для немелкоклеточного рака. Данные о мелкоклеточном раке противоречивы, в отдельных исследованиях обнаружены подобные зависимости, однако в этих работах проанализировано небольшое число наблюдений. С другой стороны, в работе *N.Rodriguez-Salas et al.* [15] было показано, что высокая экспрессия p53 в мелкоклеточном раке коррелирует с хорошим прогнозом химиотерапии.

Низкая экспрессия bcl-2 может свидетельствовать о более низкой выживаемости больных как мелкоклеточным, так и немелкоклеточным РЛ [16, 17].

Таким образом, в нашем исследовании было показано, что рак, развившийся у лиц, подвергшихся воздействию малых доз радиации, обладает некоторыми особенностями. У этих лиц рак чаще всего развивался на фоне периваскулярного и перибронхиального фиброза с отложением многокомпонентной пыли, периферические аденокарциномы чаще развиваются на фоне рубцовых изменений также с наличием пылевых частиц в участках фиброза. У жителей Тульской обл., загрязненной после аварии на Чернобыльской АЭС, зарегистрировано наличие в пыли Cs. Выявлено повышение частоты встречаемости мелкоклеточного РЛ у работников горно-химических производств и у жителей загрязненных территорий. Выявленные молекулярно-генетические особенности рака, в частности низкая пролиферативная активность мелкоклеточного рака в группе работников вредного производства, могут свидетельствовать о более благоприятном прогнозе данных опухолей, как в плане их злокачественности, так и с точки зрения прогноза химиотерапии. Однако эти данные нуждаются в дальнейшем подтверждении, поскольку описанные опухоли, развившиеся в условиях длительного воздействия малых доз радиации, могут обладать другим потенциалом злокачественности. Для подтверждения полученных тенденций необходимо проведение расширенных исследований, вероятно, мультицентровых, с возможностью использования статистических методов мета-анализа.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Иванов А.Е., Куршакова Н.Н., Соловьев А.И.* Радиационный рак легкого. М.: Медицина; 1990.
2. *Little M.P.* Comparisons of lung tumor mortality risk in Japanese A-bomb survivors and in the Colorado Plateau uranium miners: support for the ICRP lung model. *Int. J. Radiat. Biol.* 2002; 78 (3): 145-163.
3. *Mulloy K.B., Jimes D.S., Mobs K., Kornfeld M.* Lung cancer in a nonsmoking underground uranium miner. *Environ. Hlth Perspect.* 2001; 109 (3): 305-309.

Таблица 2

Экспрессия молекулярно-генетических маркеров в ткани опухоли в зависимости от гистологического типа

Показатель	Гистотип					
	1-я группа			2-я группа		
	MP	ПР	АК	MP	ПР	АК
ki67 (%)	5,82	27,5	12,1	36,3	37,67	5,15
c-мус (баллы)	4,5	4,8	3,9	4,0	5,0	5,4
p53 (%)	68,9	23,0	23,70	33,3	39,9	11,2
bcl-2 (баллы)	2,3	3,5	2,5	4,2	1,77	2,7

4. Rogel A., Lanner D., Tirmarche M., Quesne B. Lung cancer risk in the French cohort of uranium miners. *J. Radiol. Prot.* 2002; 22 (3A): A101-A106.
5. Коган Е.А., Черняев А.Л., Чучалин А.Г. и др. Морфологические и молекулярно-генетические особенности рака легкого, развившегося у лиц, работавших на радиационных производствах и проживавших на загрязненных после аварии на Чернобыльской АЭС территориях России. *Арх. пат.* 1999; 1: 22–26.
6. Коган Е.А., Сагиндикова Г.С., Секамова С.М. и др. Рак легкого, развившийся у лиц, длительное время проживавших на радиоактивно-загрязненных территориях Семипалатинской области Казахстана. *Пульмонология* 2001; 4: 23–28.
7. Boon M.E., Kok L.P. Microwave cookbook of pathology. The art of microscopic visualization. Leiden; 1987.
8. Kreuzer M., Muller K.M., Brachner A. et al. Histopathologic findings of lung carcinoma in German uranium miners. *Cancer* 2000; 89 (12): 2613–2681.
9. Nguyen V., Mirejovsky P., Mirejovsky T. et al. Expression of cyclin D1, Ki-67 and PCNA in non-small cell lung cancer: prognostic significance and comparison with p53 and bcl-2. *Acta Histochem.* 2000; 102 (3): 323–328.
10. Soomro I.N., Holmes J., Whimster W.F. Predicting prognosis in lung cancer: use of proliferation marker, Ki67 monoclonal antibody. *J. Pak. Med. Assoc.* 1998; 48 (3): 66–69.
11. Steels E., Paesmans M., Berghmans T. et al. Role of p53 as a prognostic factor for survival in lung cancer: a systematic review of the literature with a meta-analysis. *Eur. Respir. J.* 2001; 18: 705–719.
12. Hayakawa K., Mitsuhashi N., Hasegawa M. et al. The prognostic significance of immunohistochemically detected p53 protein expression in non-small cell lung cancer treated with radiation therapy. *Anticancer Res.* 1998; 18: 3685–3688.
13. Lohmann D., Putz B., Reich U. et al. Mutation spectrum of the p53 gene in human small-cell lung cancer and relationship to clinicopathological data. *Am. J. Pathol.* 1993; 142: 907–915.
14. Vega F.J., Iniesta P., Caldes T. et al. P53 exon 5 mutations as a prognostic indicator of shortened survival in non-small-cell lung cancer. *Br. J. Cancer* 1997; 76: 44–51.
15. Rodriguez-Salas N., Palacios J., Moreno G. et al. Correlation of p53 oncoprotein expression with chemotherapy response in small cell lung carcinomas. *Lung Cancer* 2001; 34: 67–74.
16. Kaizer U., Schilli M., Haag U. et al. Expression of bcl-2-protein in small cell lung cancer. *Lung Cancer* 1996; 15: 31–40.
17. Pezzella F., Turley H., Kuzu I. et al. bcl-2 protein in non-small-cell lung carcinoma. *N. Engl. J. Med.* 1993; 329: 690–694.

Поступила 18.03.04

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2004

УДК 616.155.392.2-036.12-06+616.24-073.75

Ю.С.Ландышев, А.В.Леншин, В.В.Войцеховский

РЕНТГЕНОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ЛЕГОЧНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

Амурская государственная медицинская академия, Благовещенск

RADIOLOGICAL AND FUNCTIONAL DIAGNOSIS OF PULMONARY COMPLICATIONS
IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

Yu. S. Landyshev, A. V. Lenshin, V. V. Voitsekhevsky

Summary

Results of complex radiological examination of 102 patients with chronic lymphocytic leukemia are presented. Traditional (X-ray examination, electrorentgenotomography, computed tomography) and original (zone roentgenodensitometry using computed densitometer "Densigraph-2" of own construction, zone inspiratory and expiratory CT densitometry and planimetry, quantitative evaluation of emphysematous lung tissue using CT) methods were applied in all the patients. Results of radiological and functional evaluation of regional lung ventilation in the patients are analyzed. Diagnostic algorithms are shown allowing not only effective detection the thoracic complications in chronic lymphocytic leukemia patients but also determination their risk factors.

Резюме

В работе представлены результаты комплексного лучевого обследования 102 больных хроническим лимфолейкозом (ХЛ). Всем больным были выполнены как традиционные методы лучевой диагностики (рентгенография, электрорентгенотомография, компьютерная томография), так и оригинальные (зональная рентгеноденситометрия с помощью компьютеризированного денситометра "Денсиграф-2", собственной конструкции; зональная инспираторно-экспираторная КТ-денситометрия и планиметрия; количественное определение эмфизематозно трансформированной легочной ткани при компьютерной томографии). Проанализированы результаты рентгенофункционального исследования регионарной вентиляции легких у больных ХЛ. Представлены диагностические алгоритмы, позволяющие не только эффективно диагностировать торакальные осложнения у больных лимфолейкозом, но и определять факторы риска развития этих осложнений.