УДК 616.62-006:614.876

О. Ф. Возіанов, *акад. НАН, АМН України, РАМН,*
А. М. Романенко, *акад. АМН, чл.-кор. НАН України, д-р мед. наук, проф.,*
Ш. Фукушима, *проф.**

МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ КАНЦЕРОГЕНЕЗУ СЕЧОВОГО МІХУРА ПІСЛЯ АВАРІЇ НА ЧАЕС В УКРАЇНІ

Інститут урології АМН України,
**Медичний університет, м. Осака (Японія)*

Аварія на Чорнобильській атомній електростанції, що сталася у квітні 1986 р., є унікальною не тільки за своїми масштабами як найбільша в історії ядерної енергетики, але й тим, що вперше дозволила вивчати проблему довгострокового впливу малих доз іонізуючого випромінювання на організм людини. Значне підвищення розповсюдженості раку сечового міхура в Україні з 26,2 до 43,3 випадків на 100 тис. населення за період 1986–2001 рр. привернуло до себе увагу світової громадськості [2]. На цей час більш ніж 17 млн людей мешкають на забруднених радіонуклідами територіях України, Росії та Білорусі, піддаючись постійному низькодозовому опроміненню радіонуклідами ^{137}Cs, яке становить близько 90 % внутрішньої радіоактивності людини. Відомо, що радіонукліди ^{137}Cs концентруються в організмі та екскретуються з сечею [3; 4].

Протягом наших попередніх досліджень у значної кількості чоловіків, хворих на доброякісну гіперплазію передміхурової залози (ДГПЗ), які мешкають на забруднених радіонуклідами територіях України, було виявлено численні вогнища дисплазії уротелію, зони раку *in situ* і навіть маленькі уротеліальні карциноми [5]. У попередніх дослідженнях ми виявили значні порушення регуляції клітинного циклу, що проявлялись у 53 % пацієнтів у вигляді ушкодження ДНК з наявністю специфічних мутацій гена p53: трансцизій G:C на A:T у CpG динуклеотидах у кодоні 245, що були асоційовані зі значним підвищенням рівнів індукованої синтази оксиду азоту (iNOS), циклооксигенази 2 (COX2) та 8-гідрокси-2'-деоксигіанозину (8-OHdG). Це вказувало на поширення розвитку оксидативного стресу в зонах ушкодження уротелію, що пов'язано зі значною надекспресією протеїнів генів p53 та H-ras [5–7]. Але донині ми не мали підтверджених даних про те, що радіонукліди ^{137}Cs самі по собі відіграють значну роль у розвитку постчорнобильських ушкоджень уротелію.

Терміном «малі дози» позначаються фонові дози (0,1–0,5 Гр) іонізуючого випромінювання, нижчі за дози, здатні спричинювати гострі променеві ефекти, що зазвичай призводять до клітинної смерті [8]. Відомо, що низькі дози іонізуючого випромінювання можуть діяти як мітоген і як генератор вільних радикалів, які утворюються внаслідок оксидативних процесів, та істотно не відрізняються від радикалів, утворених при оксидації у нормі [9]. Останні дослідження довели, що малі дози іонізуючого випромінювання можуть бути не лише промотором і прогресором, але й ініціатором канцерогенезу при їх регулярному та неослабному впливі [8; 10; 11]. Вже доведено, що вільні радикали кисню та оксиду азоту (NO), а також їхні похідні, являють собою ключові фактори канцерогенезу [12; 13]. Але визначальні механізми, які лежать в основі активації процесів транскрипції та експресії мРНК, що у свою чергу промотують канцерогенні ушкодження уротелію сечового міхура у мешканців забруднених радіонуклідами територій країни, залишаються невідомими.

Існують докази, що вільні радикали кисню можуть бути активаторами і модуляторами факторів транскрипції, впливаючи на їх активність шляхом прямої або опосередкованої активації інших сигнальних каскадів [14]. Так, наприклад, дуже важливим є механізм активації p38 мітогенактивованої протеїнкінази (MAPK), що належить до найбільш ранніх сигнальних механізмів, які запускаються першими під впливом різних

стресорних факторів, у тому числі й іонізуючого випромінювання. Група p38 МАРК належить до суперродини МАРК-кіназ. Типовим представником цієї групи є p38a (ще відома як p38, CSBP або Rk). Діючи як частина механізму ранньої відповіді на стрес, вона індукується такими агентами, як опік, ультрафіолетове опромінення, іонізуюче випромінювання, запалення — тобто агентами, що зупиняють проліферацію та спричинюють клітинну смерть [15; 16]. Останні дослідження продемонстрували, що активація відомого транскрипційного фактора — ядерного фактора — каппа B (NF-kB) також відіграє значну роль у механізмі оксидативного стресу. NF-kB складається з двох великих поліпептидних субодиниць (p50 і p65) та знаходиться в клітині у цитоплазмі в неактивній формі попередника в комплексі з інгібітором каппа B. Стимуляція тригерів спричинює вивільнення субодиниць від інгібітора, переміщення їх із цитоплазми до ядра, де NF-kB приєднується до ДНК і регулює транскрипцію специфічних генів [17–19]. p50/p65 являють собою активні частинки NF-kB — транскрипційного фактора, необхідного для індукції цілої низки генів, залучених до контролю проліферації та апоптозу, отже, канцерогенезу [20; 21]. Існують роботи, що демонструють експресію NF-kB у клітинах-попередниках B-лімфоцитів людини під впливом гамма-випромінювання від ^{137}Cs низькою дозою (1,17 Гр) [22]. Таким чином, механізми і роль у цьому контексті довгострокової (понад 15 років) низькодозової експозиції ^{137}Cs на уротелій сечового міхура людини залишаються невідомими.

У роботі вивчалися морфо- і патогенез хронічного циститу, асоційованого з довгостроковим низькодозовим впливом радіонуклідів ^{137}Cs, під який підпадає велика частина населення України. Проаналізовано маркери оксидативного стресу — протеїни p38 МАРК та NF-kB в уротелії сечового міхура цих хворих, у яких одночасно проводилося радіометричне вимірювання ^{137}Cs у добовій сечі.

Матеріали та методи дослідження

Пацієнти та зразки тканини сечового міхура

Досліджували біопсійний матеріал сечового міхура 159 чоловіків без клінічних симптомів хвороби сечового міхура, яким було проведено черезміхурову аденомектомію з приводу ДГПЗ, і біоптати сечового міхура 5 жінок, які страждали на хронічний цистит і отримували протизапальну терапію. Біопсійний матеріал сечового міхура фіксували в 10%-му забуференому формаліні та заливали у парафін за загальновизнаною методикою. Характеристика пацієнтів подана у табл. 1.

До першої групи дослідження увійшли пацієнти, які мешкають на забруднених радіонуклідами територіях України [1], до другої — мешканці Києва. Третя група (контрольна) складалася з мешканців «чистих» районів України, тобто територій, офіційно не визнаних як забруднені радіонуклідами ^{137}Cs, але з можливим хімічним забрудненням, враховуючи те, що сьогодні в Україні наявна складна екологічна ситуація. Радіометричне дослідження добової сечі на вміст радіонуклідів ^{137}Cs проводилося при застосуванні стандартного гамма-радіометра РУБ-01. У всіх пацієнтів проводилося взяття численних біоптатів уротелію сечового міхура: із ділянки шийки та правого і лівого вічків сечоводів. Усього гістологічно досліджено 494 зразки.

Гістопатологія та імуногістохімічне дослідження

Гістологічні зрізи тканини сечового міхура, 4–5 мкм завтовшки, забарвлювались гематоксиліном та еозином. Ураження сечового міхура було ідентифіковано згідно з новою міжнародною гістологічною класифікацією пухлин сечового міхура ВООЗ [23]. У 41 хворого (13 пацієнтів першої групи, 19 — другої та 9 — третьої групи, яким проводилося лікування в Інституті урології та нефрології АМН України протягом 1999–2000 рр.) із застосуванням стандартного авідин-біотинового методу (ABC) при використанні Vectastain ABC Elite kit (Vector, Burlingame, CA) проводилися імуногістохімічні дослідження.

Після депарафінізації у ксилені та дегідратації у спиртах серійних зрізів проводилося блокування активності ендогенної пероксидази за допомогою 3%-го розчину перекису водню протягом 5 хв. З метою вивільнення антигену зрізи інкубувалися у цитратному буфері (pH=6,1) в мікрохвильовій печі протягом 30 хв. Неспецифічні зв'язки блокувалися при нанесенні на матеріал протягом 30 хв розчину нормальної сироватки коня у PBS при кімнатній температурі.

Моноклональні антитіла людини проти миші p-p38 (D-8), моноклональні антитіла людини проти миші NF-kB p65 (F-6) у робочому розведенні 1:800 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) та моноклональні антитіла людини проти миші NF-kB p50 (E-10) (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) у робочому розведенні 1:800 наносилися протягом ночі при температурі 4 °C. Всі реакції були проявлені розчином 3'-3'-діамінобензидин тетрахлориду (DAB). Зрізи забарвлювались гематоксиліном. Кожного разу використовувалися позитивний та негативний контролі. Оцінка результатів проводилася сліпим методом двома незалежними патологами. У кожному випадку аналізувалося 12–15 зрізів.

Кількісний аналіз

Оцінка результатів імуногістохімічних (ІГХ) реакцій проводилася напівкількісним методом із визначенням інтенсивності (І) та розповсюдженості (Р) забарвлення й коефіцієнта експресії (Е) від 0 до 9 балів [24].

Розповсюдженість реакції оцінювалась за шкалою від 0 до 3 балів за такими критеріями: 0 — неінформаційне забарвлення; 1 — менше 10 % забарвлених клітин; 2 — більше 10, але менше 50 % забарвлених клітин; 3 — гомогенне забарвлення більш ніж 50 % клітин.

Інтенсивність було оцінено за такими критеріями: 0 — неінформаційне забарвлення; 1 — слабке забарвлення цитоплазми (або ядра) клітини; 2 — помірне забарвлення цитоплазми (або ядра) клітини; 3 — сильне забарвлення цитоплазми (або ядра) клітини.

Фінальна оцінка результатів імуногістохімічного дослідження — визначення коефіцієнта експресії — проводилась шляхом перемноження показників інтенсивності та розповсюдженості за формулою E=I×P.

Таблиця 1

Характеристика пацієнтів, прооперованих у 1996–2000 рр.

Показник	Перша група	Друга група	Третя група
Кількість пацієнтів (жінок)	73 (1)	58 (4)	33 (0)
Середній вік, років	65 (52–91)	72 (30–87)	66 (54–75)
Характер харчування	Традиційне	Традиційне	Традиційне
Тютюнопаління понад 10 років, %	22 (30,1)	34 (58,6)	11 (33,3)
Рівень територіального забруднення за ^{137}Cs, Кі/км^2*	5–30	0,5–5	—

Примітка. * — за [4].

Таблиця 2

Рівень радіонуклідів ^{137}Cs у сечі

Показник	Перша група	Друга група	Третя група
Кількість пацієнтів	55	53	12
Рівень територіального забруднення*, Кі/км^2	5–30	0,5–5	Ч**
Питома активність ^{137}Cs у сечі, Бк/л, X±x	6,47±14,30***	1,23±1,01***	0,29±0,03

Примітка: * — за [4]; ** — «чисті» території; *** — статистично вірогідна різниця з третьою групою P<0,001 (Steel type separate ranking test).

Таблиця 3

Частота виявлення дисплазії та раку сечового міхура

Група	Кількість пацієнтів	Частота виявлення дисплазії, %	Рак сечового міхура, %		
			Усього раку сечового міхура	Частота виявлення карциноми *in situ*	Папілярний уротеліальний рак сечового міхура
Перша	73	71 (97)*	53 (73)*	47*	6
Друга	58	48 (83)*	37 (64)*	34*	3
Третя	33	9 (27)**	0 (0)	0	0

Примітка. * — статистично вірогідна різниця з третьою групою P<0,001 (χ^2 або Fisher's exact probability test); ** — дисплазія середнього ступеня.

Статистичний аналіз

Статистичну вірогідність результатів радіометричного аналізу вмісту радіонуклідів ^{137}Cs у добовій сечі між пацієнтами трьох груп дослідження було визначено при застосуванні Steel type separate ranking test (SAS system; Release 6. 12, SAS institute Inc., USA). Для оцінки вірогідності частоти між групами хворих використовувались метод Фішера та χ^2-тест (Stat View SE + Graphics, Abacus Concepts Inc., USA). Для статистичної обробки результатів імуногістохімічного дослідження використовувався Bonferroni/Dunn test (Super ANOVA, Abacus Concepts Inc., USA).

Результати дослідження та їх обговорення

Пацієнти

Результати радіометричного дослідження добової сечі, яке проводилося протягом 1996–2000 рр., подано у табл. 2. Вірогідна різниця у показниках вмісту ^{137}Cs у добовій сечі була виявлена між пацієнтами першої і третьої груп та між другою і третьою групами.

Гістопатологія

Частоту виявлення дисплазії та раку сечового міхура у пацієнтів трьох груп дослідження представлено в табл. 3. В уротелії сечового міхура 126 хворих на ДГПЗ, яким було проведено біопсію сечового міхура і які становили першу та другу групи дослідження, спостерігалися множинні ділянки дисплазії з вираженою клітинною атипією у вигляді клітинного поліморфізму та ядерної гіперхромності, часто у поєднанні з потовщенням епітеліального шару. Клітини були великими з виразними ядерцями у збільшених за розмірами ядрах. Вогнища дисплазії спостерігалися у 97 та 83 % випадків у пацієнтів першої та другої груп відповідно. Множинні зони раку *in situ* з неопластичними змінами в уротелії, які часто

поєднувалися з гніздами Бруна та кістозним циститом, було діагностовано у 73 та 64 % хворих першої та другої груп дослідження відповідно. У групі хворих, які мешкають на забруднених радіонуклідами територіях України, випадково було ідентифіковано 9 маленьких уротеліальних папілярних та інвазивних карцином сечового міхура. У пацієнтів-жінок із першої та другої груп було діагностовано зони клітинної атипії (4 випадки із 5) та вогнища раку *in situ* (2 випадки із 5).

У всіх пацієнтів першої та другої груп було діагностовано проліферативний цистит, тобто гістологічно виявлялися ознаки гнізд Бруна, кістозного циститу, плоскоклітинної та залозистої метаплазії, які часто утворювали комбінації між собою і мали ознаки радіаційного циститу, що відрізняється від звичайного запалення. Типовим було превалювання явищ склерозу та гіалінозу у підслизовому шарі сечового міхура над запальною інфільтрацією лімфоцитами, макрофагами, гістіоцитами та плазматичними клітинами. Серед таких зон у 62, 53 та 6 % пацієнтів із першої, другої та третьої груп відповідно спостерігалися новоутворення кровоносних судин (васкуляризації), інколи у поєднанні з ангіоматоїдноподібними судинами та значними ділянками геморагій. У 46 і 34 % хворих першої та другої груп відповідно визначалася неабияка проліферація ендотелію у новоутворених судинах підслизового шару сечового міхура. У пацієнтів-жінок у підслизовому шарі сечового міхура було виявлено поширені ділянки склерозу із незначною запальною інфільтрацією, гіперваскуляризацію та осередки крововиливів.

У пацієнтів третьої групи спостерігалися ознаки проліферативного циститу без змін проліферативної активності, але зі значною запальною інфільтрацією у підслизовому шарі сечового міхура. Гіперваскуляризація та утворення ангіоматоїдноподібних судин були не характерні для хворих третьої групи.

Імуногістопатологія

Результати імуногістохімічного дослідження експресії p38 і NF-kB (субодиниць p50 та p65) в уротелії сечового міхура хворих трьох груп подано на рисунку *(а, б, в)*.

Експресія p38

Середні показники експресії p38 у хворих першої, другої та третьої груп становили 6,7; 5,0 та 1,8 відповідно. Не було виявлено істотної різниці між хворими першої та другої груп у показниках експресії p38 (P=0,1187), які вірогідно відрізнялися від показника експресії p38 у хворих третьої групи (P=0,001) (рисунок, *а*).

У більшості випадків у хворих першої та другої груп спостерігалося гомогенне і гранулярне виражене та помірно виражене імунне забарвлення ядер і цитоплазми клітин. Виразне забарвлення було діагностовано у 3 (23 %) хворих першої групи та у 4 (21 %) — другої групи. У 9 (69 %) хворих першої групи та у 9 (47 %) хворих другої групи спостерігалось забарвлення помірної інтенсивності. Незначне забарвлення було визначене у 1 (7,6 %) хворого першої групи та у 6 (32 %) хворих другої групи. Імунне забарвлення було найбільш виразним у базальних клітинах, але частково спостерігалось і у клітинах поверхневого шару слизової оболонки сечового міхура хворих першої та другої груп. Більшість випадків у третій групі характеризувалися коефіцієнтами експресії 2 (40 % хворих) та 0 (40 % хворих); ІГХ забарвлення уротелію сечового міхура одного хворого третьої групи (10 %) характеризувалося коефіцієнтом експресії p38, який становив 6, іншого пацієнта — коефіцієнтом 3.

Виразна надекспресія p38 спостерігалась у лімфоцитах, макрофагах та гістіоцитах, і особливо — в ендотеліальних клітинах мікросудин та ангіоматоїдноподібних судин підсли-

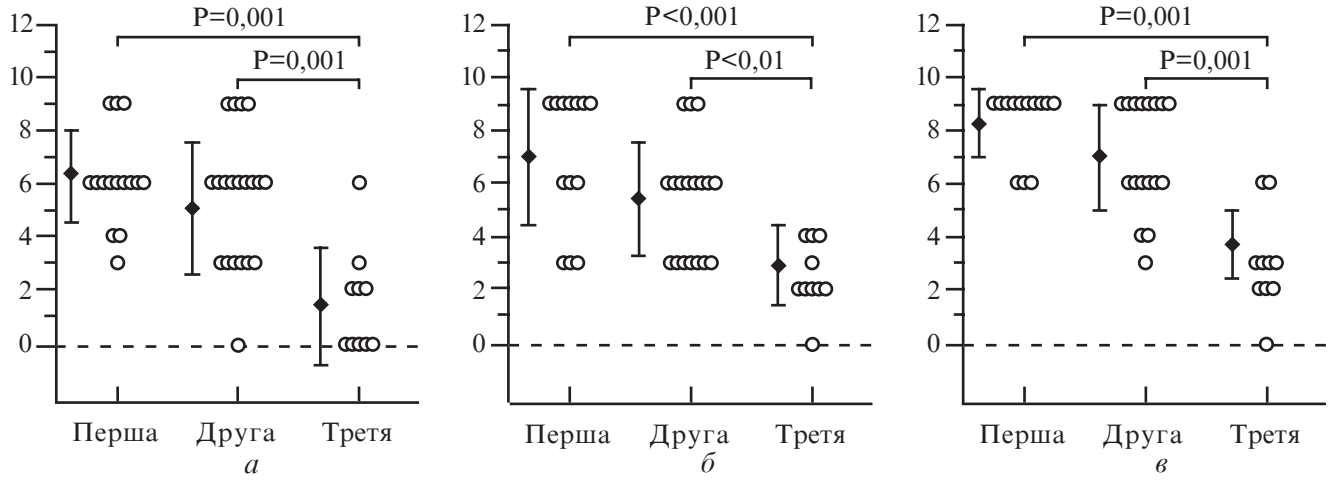

Рисунок. Коефіцієнти експресії протеїнів p38 (*а*), p50 (*б*), p65 (*в*) у першій, другій та третій групах пацієнтів

зового шару сечового міхура.

Експресія субодиниці p50

Середні коефіцієнти експресії p50 у хворих першої, другої та третьої груп становили 7,0; 5,2 та 2,5 відповідно. Статистично вірогідна різниця між коефіцієнтами експресії спостерігалась між хворими першої та третьої груп (P< 0,001) і пацієнтами другої та третьої груп (P<0,01) (рисунок, *б*). У першій групі у 7 (54 %) хворих показник експресії p50 становив 9, у 3 (23 %) пацієнтів — 6, у 6 (23 %) пацієнтів — 3.

Найвиразніше гранулярне і гомогенне забарвлення спостерігалось у клітинах базального шару, слабка інтенсивність забарвлення характеризувала проміжний шар уротелію сечового міхура. Вогнища дисплазії уротелію та раку *in situ* були p50-позитивними, показники експресії p50 у них становили 6 і 9 відповідно. Забарвлення ядер у клітинах базального шару спостерігалося тільки у двох випадках.

Більшість пацієнтів другої групи характеризувалася показниками експресії p38 6 (42,1 %) та 3 (36,8 %), тільки 3 (15,8 %) пацієнти мали коефіцієнт 9. Ділянки плоскоклітинної метаплазії були переважно p50-негативними.

У хворих третьої групи були визначені низькі коефіцієнти експресії p50. Так, у 3 (30 %) пацієнтів цей показник становив 4, у 1 (10 %) — 3, у 5 (50 %) — 2.

Експресія субодиниці p65

Середні коефіцієнти експресії p65 у хворих першої, другої та третьої груп становили 8,4; 6,9 та 3,0 відповідно. Не спостерігалось істотної різниці у коефіцієнтах експресії p65 між хворими першої і другої груп (P=0,0527), тимчасом як різниця між першою та третьою групами (P=0,001) та другою і третьою (P=0,001) була вірогідною (рисунок, *в*).

Виразне цитоплазматичне гранулярне і гомогенне забарвлення спостерігалось у 10 (77 %) із 13 та у 8 (42 %) із 19 хворих першої та другої груп відповідно. У двох пацієнтів другої групи було діагностовано виразне ядерне забарвлення у клітинах базального та проміжного шарів уротелію. Найбільшою інтенсивністю експресії характеризувалися вогнища дисплазії та раку *in situ*, де коефіцієнт експресії p65 становив 9. Забарвлення помірної інтенсивності (коефіцієнт 6) спостерігалося у 3 (23 %) та у 7 (37 %) хворих першої та другої груп відповідно.

У гістологічних препаратах тканини сечового міхура хворих другої і третьої груп спостерігалася виразна цитоплазматична та ядерна експресія p65 в ендотеліальних клітинах мікросудин й ангіоматоїдноподібних судин, а також у макрофагах, лімфоцитах і гістіоцитах у підслизовому шарі сечового міхура, поблизу уротелію.

Результати дослідження та їх обговорення

У дослідженні вперше показано, що хронічне довгострокове (понад 15 років після аварії на ЧАЕС) низькодозове іонізуюче випромінювання призводить до розвитку в осіб, які мешкають на забруднених радіонуклідами ^{137}Cs територіях України, радіаційного хронічного проліферативного атипового циститу, так званого чорнобильського циститу. Ця нозологічна одиниця характеризується множинними вогнищами дисплазії уротелію і раку *in situ* на фоні ділянок склерозу та гіалінозу сполучної тканини у поєднанні з підвищеним ангіогенезом без ознак вираженої запальної реакції.

Проведене одночасно радіометричне дослідження показало вірогідне підвищення вмісту радіонуклідів ^{137}Cs у добовій сечі пацієнтів першої та другої груп, які страждають на ДГПЗ, з приводу чого завжди мають залишкову сечу, отже більшу експозицію радіонуклідів ^{137}Cs на уротелій. Це означає, що радіаційний вплив на уротелій сечового міхура цих пацієнтів підвищується, і вони є групою високого ризику щодо розвитку раку сечового міхура. Пацієнти-жінки першої та другої груп, у яких не порушується екскреція сечі і які страждають на хронічний цистит, також мали ознаки хронічного проліферативного атипового циститу, але клітинна атипія уротелію спостерігалася в їхніх сечових міхурах з меншою частотою.

Таким чином, наше дослідження продемонструвало, що в основі розвитку ушкоджень сечового міхура у чоловіків і жінок лежить один механізм — довгостроковий вплив малих доз іонізуючого випромінювання. Однак не можна заперечувати імовірний синергічний ефект, що виявляється у нашаруванні впливу інших несприятливих екологічних факторів навколишнього середовища.

Відомо, що вільні радикали кисню, які утворюються під впливом іонізуючого випромінювання, залучені до патогенезу раку [8; 10]. Вони спричинюють специфічні молекулярні зміни, які призводять до активації або до інактивації транскрипційних факторів, що, в свою чергу, порушує експресію генів. Ключовими ефектами іонізуючого випромінювання, окрім генотоксичності, є перекисне окислення ліпідів, активізація активатора протеїну 1 або NF-kB та пошкодження генів p53 і генів родини *ras* [14; 25]. Протягом попередніх досліджень було встановлено, що часті та специфічні мутації гена p53, серед яких переважали трансцизії G:C на A:T у динуклеотидах CpG у кодоні 245 в уротелії сечового міхура, виникали внаслідок розвитку оксидативного стресу, асоційованого з іонізуючим випромінюванням [5]. Більше того, встановлено, що за таких умов відбувається активізація каскаду p38 МАРК і мітотична зу-

пинка без апоптозу [26]. У цьому контексті цікавим є наявність кореляції між COX2 мРНК надекспресією, підвищенням активності p38 стрес-активованої протеїнкінази та активації NF-kB у MDA-MB-231 культурі клітин раку молочної залози та у U937 макрофагах людини [27; 28].

Отримані результати дослідження у вигляді виразної надекспресії p38 МАРК та субодиниць NF-kB — p65 і p50 у тих же клітинах уротелію свідчать про ключову роль розвитку оксидативного стресу в уротелії сечового міхура пацієнтів, що підпадають під довгостроковий вплив малих доз іонізуючого випромінювання. Відомо, що опромінення ^{137}Cs спричинює, залежно від дози, підвищення мутацій у MN муринових пухлинних лініях та призводить до розривів ДНК шляхом утворення гідроксильних радикалів [30; 31]. Порівнюючи результати наших попередніх досліджень, в ході яких було визначено в уротелії сечового міхура виразну цитоплазматичну надекспресію COX2 та iNOS [5], з цим дослідженням, слід наголосити, що встановлено, як мінімум, два окремих механізми дії малих доз іонізуючого випромінювання, а саме:

1. Акумуляція у цитоплазмі NF-kB, його субодиниць p65 і p50, що призводить до їх ядерної транслокації.

2. p38 МАРК-залежна трансактивація NF-kB.

Для запуску обох механізмів необхідна повна активація NF-kB-залежної транскрипції [31]. Нашу концепцію підтверджують дані останніх досліджень, які продемонстрували, що під дією малих доз радіонуклідів ^{137}Cs, які впливають на лімфобласти людини з потужністю 1,17 Гр/хв, відбувається активація зв'язування субодиниць NF-kB з ДНК при різних рівнях протеїнів субодиниць NF-kB [22].

Слід зазначити, що виразна активація ангіогенезу у підслизовому шарі сечового міхура, що поєднувалася з ознаками хронічного циститу у хворих першої та другої груп, спостерігалась в асоціації зі значним підвищенням рівнів цитоплазматичної та ядерної експресії p38 та p65 в ендотеліальних клітинах. Ці дані, разом з результатами наших попередніх досліджень [5], доводять важливу роль p38 МАРК-каскаду та активації в ендотеліальних клітинах субодиниці NF-kB — p65 у патогенезі «чорнобильського циститу».

Необхідно наголосити, що в жодному із досліджуваних нами випадків, у тому числі й серед хворих, які мешкають на забруднених радіонуклідами територіях, такі широко відомі класичні риси гострого або хронічного впливу іонізуючого випромінювання на уротелій сечового міхура людини, як реактивна епітеліальна проліферація з утворенням фібринових депозитів та фібриноїдні зміни судин [22], нами визначені не були.

Висновки

У результаті проведеного дослідження встановлено кореляцію між довгостроковим впливом низьких доз іонізуючого випромінювання, обумовленого радіонуклідами ^{137}Cs, та розвитком у мешканців забруднених радіонуклідами територій України «чорнобильського циститу» — можливого передракового ураження сечового міхура. Виявлено, що під впливом малих доз іонізуючого випромінювання в уротелії сечового міхура відбувається активація двох важливих молекулярних механізмів, одним з яких є надекспресія p38 МАРК, другим — значне накопичення субодиниць NF-kB, яке активується вільними радикалами кисню в уротелії. Результати дослідження цінні для нового розуміння дуже ранніх механізмів канцерогенезу сечового міхура та можуть використовуватись у превентивному і терапевтичному втручанні.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Дозиметрична* паспортизація населених пунктів України, які підпали під радіоактивне забруднення після Чорнобильської аварії: Зб. 3. — К.: МП «Полімед», 1993. — 180 с.

2. *Pavlova L., Saydakova N., Startzeva L.* The state of urologic assistance for the population of Ukraine and the ways to improve it // Ukrainian Ministry of Health, editor. Annual reports of the Health Care in Ukraine. — K., 2000. — P. 214-243.

3. *Richmond C. R.* Accelerating the turnover of internally deposited radiocesium / Kornberg H. A., Norwood W. D., editors. Diagnosis and treatment of Deposited Radionuclides. Excerpta Medical Foundation, Battele. — Northwest Richland WA, 1968. — P. 315-325.

4. *Raes F., De Cort M., Graziani G.* Multi-factoral nature of radioactivity deposition on soil after the Chernobyl accident // Health Physics. — 1991. — Vol. 61. — P. 271-282.

5. *Increased* oxidative stress with gene alteration in urinary bladder urothelium after the Chernobyl accident / A. Romanenko, K. Morimura, H. Wanibuchi et al. // Int. J. Cancer. — 2000. — Vol. 86. — P. 790-798.

6. *Urinary* bladder lesions after the Chernobyl accident: immunohistochemical assessment of p53, PCNA, cyclin Dl and p21 / A. Romanenko, C. C. Lee, S. Yamamoto et al. // Jpn. J. Cancer Res. — 1999. — Vol. 90. — P. 144-153.

7. *Specific* p53 gene mutations in urinary bladder epithelium after the Chernobyl accident / S. Yamamoto, A. Romanenko, M. Wei et al. // Cancer Res. — 1999. — Vol. 59. — P. 3606-3609.

8. *Trosko J. E.* Radiation-induced consideration / E. J. Calabrese, Bosa Raton F. L., editors. // Biological effects of low level exposures: Dose — response relationships. — Lewis Publisher, 1994. — P. 205-241.

9. *Tubiana M.* The report of the French Academy of Science «Problems associated with the effects of low doses of ionizing radiation» // J. Radiol. Prot. — 1998. — Vol. 18. — P. 243-248.

10. *Trosko J. E.* Role of low-level ionizing radiation in multi-step carcinogenic process // Health Physics. — 1996. — Vol. 70. — P. 812-822.

11. *Effects* of low doses and low dose rates of external ionizing radiation: cancer mortality among nuclear industry workers in three countries / E. Cardis, E. S. Gilbert, L. Carpenter et al. // Radiat Re. — 1995. — Vol. 142. — P. 117-132.

12. *Maeqa H., Akaike T.* Nitric oxide and oxygen radicals in infection, inflammation and cancer // Biochemistry (Mosc.). — 1998. — Vol. 63. — P. 654-865.

13. *Significant* correlation of nitric oxide synthase activity and p53 gene mutation in stage I lung adenocarcinoma / H. Fujimoto, J. Sasaki, M. Matsumoto et al. // Jpn. J. Cancer Res. — 1998. — Vol. 89. — P. 696-702.

14. *Irani K.* Oxidant signaling in vascular cell growth, death, and survival. A review of the roles of reactive oxygen species in smooth muscle and endothelial cell mitogenic and apoptotic signaling // Circ. Res. — 2000. — Vol. 87. — P. 179-183.

15. *The cellular* response to oxidative stress: influences of mitogen-activated proteinkinase signaling pathways on cell survival / X. Wang, I. L. Martindale, Y. Liu et al. // Biochem. J. — 1998. — Vol. 333. — P. 291-300.

16. *Gupta A., Rosenberger S. F., Bowden G. T.* Increased ROS levels contribute to elevated transcription factor and MAP kinase activities in malignantly progressed mouse keratinicyte cell lines // Cacinogenesis. — 1999. — Vol. 20. — P. 2063-2073.

17. *Baldwin A. S.* The NF-kB and IkB proteins: new discoveries and insights // Ann. Rev. Immunol. — 1996. — Vol. 14. — P. 649-683.

18. *Overexpression* of the wild-type p53 gene inhibits NF-kappa B activity and synergizes with aspirin to induce apoptosis in human colon cancer cells / J. Shao, T. Fujiwara, Y. Kadowaki et al. // Oncogene. — 2000. — Vol. 19. — P. 726-736.

19. *Webster G. A., Perkins N. D.* Transcriptional cross talk between NF-kappa B and p53 // Mol. Cellular Biol. — 1999. — Vol. 19. — P. 3485-3495.

20. *Squamous* cell carcinomas and increased apoptosis in skin with inhibited Rel/nuclear factor-kB signaling / M. van Hogerlinden, B. L. Rozell, L. Ahrlund-Richter et al. // Cancer Res. — 1999. — Vol. 59. — P. 3299-3303.

21. *Nuclear* factor-kB activity correlates with growth, angiogenesis and metastasis of human melanoma cells in nude mice / S. Huang, A. De Guzman, C. D. Bukana et al. // Clin. Cancer Res. — 2000. — Vol. 6. — P. 2573-2581.

22. *Activation* of Nuclear factor-kB in human lymphoblastoid cells by low-dose ionizing radiation / A. Y. Prasad, N. Mohan, B. Chandrasekar et al. // Radiation Res. — 1994. — Vol. 138. — P. 367-372.

23. *Mostofi F. K., Davis C. J., Sesterhenn I. A.* Histological typing of urinary bladder tumours // WHO International Histological Classification of Tumours. — 2nd ed. — Berlin; Heidelberg: Springer Verlag, 1999. — 74 p.

24. *Expression* of ABH blood group isoantigen as a prognostic factor in transitional cell bladder carcinoma / P. U. Malmstrom, C. Busch, B. J. Norlen et al. // Scand. J. Urol. Nephro1. — 1988. — Vol. 22. — P. 265-270.

25. *Predisposing* factors in occupational lung cancer: inorganic minerals and chromium / M. Ding, X. Shi, V. Castranova et al. // J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol. — 2000. — Vol. 19. — P. 129-138.

26. *Kurata S.* Selective activation of p38 MAPK cascade and mitotic arrest caused by low level oxidative stress // J. Biol. Che. — 2000. — Vol. 275. — P. 23413-23416.

27. *Serum* withdrawal-induced post-transcriptional stabilization of COX2 mRNA in MDA-MB-231 mammary carcinoma cells requires the activity of the p38 stress-activated protein *(SAP)* kinase / B. C. Jang, T. Sanchez, R. J. Schaefers et al. // J. BioI. Chem. in press. — 2000.

28. *Rioux N., Castonguay A.* The induction of Cyclooxygenase-1 by tobacco carcinogen in U937 human macrophages is correlated to the activation of NF-kB // Carcinogenesis. — 2000. — Vol. 21. — P. 1745-1751.

29. *Sandhu J. K, Birnboim R. C.* Mutagenicity and cytotoxicity of reactive oxygen and nitrogen species in the MN-11 murine tumor cell line // Mutat. Res. — 1997. — Vol. 379. — P. 241-252.

30. *Ibuki Y., Goto R.* Enhancement of NO production from resident peritoneal macrophages by in vitri gamma-irradiation and its relationship to reactive oxygen intermediates // Free Radic. Biol. Med. — 1997. — Vol. 22. — P. 1029-1035.

31. *Activation* of NF-kB and p38 MAP kinase is not sufficient for triggering efficient HIV gene expression in response to stress / M. M. Taher, J. D. Oakley, C. Hershey et al. // Biochemistry. — 2000. — Vol. 39. — P. 1709-1715.

УДК 616.62-006:614.876

О. Ф. Возіанов, А. М. Романенко, Ш. Фукушима

МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ КАНЦЕРОГЕНЕЗУ СЕЧОВОГО МІХУРА ПІСЛЯ АВАРІЇ НА ЧАЕС В УКРАЇНІ

Досліджено біопсійний матеріал сечового міхура 159 чоловіків без клінічних симптомів захворювань сечового міхура, яким було проведено трансміхурову аденомектомію з приводу доброякісної гіперплазії передміхурової залози, і 5 жінок із хронічним циститом. Показано, що у групі пацієнтів, які мешкають на забрудненій ^{137}Cs території (5–30) і (0,5–5) км^2, з питомою активністю у сечі ^{137}Cs (6,47±1,43) і (1,23±1,00) відповідно осередки дисплазії уротелію виявлялися у 97 і 83 %, множинні зони раку in situ з неопластичними змінами — у 73 і 64 %. Виявлено виразну надекспресію p38 МАРК і субодиниць NF-kB p65 і p50 в клітинах уротелію, що свідчить про ключову роль розвитку оксидативного стресу в патогенезі хронічного атипового циститу («чорнобильського циститу»), який розвивається внаслідок довгострокової дії іонізуючого випромінювання в осіб, що мешкають на забрудненій радіонуклідами ^{137}Cs території.

Ключові слова: іонізуюче випромінювання, атиповий цистит, дисплазія уротелію.

UDC 616.62-006:614.876

O. F. Vozianov, A. M. Romanenko, Sh. Fukushima

MOLECULAR MECHANISMS OF URINARY BLADDER CANCEROGENESIS AFTER THE CHERNOBYL NUCLEAR POWER ACCIDENT

Biopsy material of urine bladder was researched in 159 men without clinical symptoms of urinary bladder deseases, which were perfomed trans-bladded adenomectomy for benign hyperplasia of prostate, and 5 women with a chronic cystitis. It is established that in a group of patients, living at the territory polluted by ^{137}Cs (5–30) and (0,5–5) km^2, and with a specific activity in urine Cs (6.47±1.43) and (1.23±1.00) accordingly, dysplasia urothelium was detected in 97 and 83 % and the numerous cancer zones — in situ with neoplastic changes in 73 and 64 %. The overexpression of p38 MAPK and subunit NF-kB — p65 and p50 in urothelial cells was detected, that is evidence of an important role of the oxidative stress development in a pathogenesis of chronic atipic cystitis ("Chernobyl cystitis"), which develops as a result of chronic long action of ionizing radiation in persons living at the territories polluted by ^{137}Cs radionucleotides.

Key words: ionizing radiation, atipic cystitis, urothelium's dysplasia.