

А. М. Романенко, С. А. Возианов, Ш. Фукушима\*

Государственное учреждение “Институт урологии НАМН Украины”, 04053 Киев  
\*Медицинская Школа Университета г. Осака, 545-8585 Япония

## ОСОБЕННОСТИ РЕПАРАЦИИ ПОВРЕЖДЕННОЙ ДНК УРОТЕЛИЯ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ У ЛИЦ, ПРОЖИВАЮЩИХ НА ЗАГРЯЗНЕННЫХ РАДИОНУКЛИДАМИ ТЕРРИТОРИЯХ УКРАИНЫ

Изучены особенности репарации поврежденной ДНК (нуклеотидной и эксцизионной репарации оснований) вследствие хронического и постоянного воздействия малых доз ионизирующей радиации на уротелий мочевого пузыря у мужчин с доброкачественной гиперплазией предстательной железы и женщин с хроническим циститом после аварии на ЧАЭС. Хронический пролиферативный атипичный цистит с очагами дисплазии и рака *in situ*, а также 10 маленьких уротелиальных карцином, были обнаружены в 139 (89 %) и в 91 (58 %) из 156 наблюдений 1-й группы больных, проживающих в радиационно загрязненных регионах страны. Значительное и достоверное (по сравнению с контрольной 2-й группой) повышение экспрессии в ядрах уротелия 1-й группы 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозидина, 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы, апуриновой/апириимидиновой эндонуклеазы 1 и *xeroderma pigmentosum A* сопровождалось повышенным уровнем <sup>137</sup>Cs в моче у таких больных. Полученные результаты свидетельствуют о достоверной активации репарации поврежденной ДНК (нуклеотидной и эксцизионной репарации оснований), вызванной оксидативным стрессом под долговременным воздействием малых доз ионизирующей радиации, которая, однако, оказалась несостоятельной и обладала мутагенным и канцерогенным потенциалом по отношению к уротелию.

**Ключевые слова:** уротелий мочевого пузыря, рак мочевого пузыря, повреждение ДНК, ионизирующая радиация.

Наши предыдущие исследования предоставили убедительные данные о значительном повышении оксидативного стресса, ассоциированного с альтерацией гена *p53* в уротелии мочевого пузыря у лиц, проживающих на радиационно загрязненных территориях Украины после аварии на ЧАЭС [18]. Известно, что 90 % радиоактивного цезия (<sup>137</sup>Cs), преобладающего среди прочих радионуклидов, порававших население Украины, концентрируется почками и элиминируется с мочой [17]. Определяется тесная зависимость между продолжительностью долговременной хронической экспозиции малых доз ионизирующего излучения и развитием хронического пролиферативного атипичного цистита (Чернобыльского цистита), характеризующегося выраженным повреждением ДНК уротелия, что может привести к канцерогенезу в мочевом пузыре [19].

Безусловный интерес представляет изучение не только особенностей повреждения ДНК в уротелии, но и измерение уровней и особенностей ее неполной репарации, либо вообще отсутствия таковой. Реактивные формы кислорода (РФК), которые генерирует ионизирующая радиация, являются генотоксическими, воздействуя на дезоксирибозу и нуклеотидные основания ДНК, что приводит к их повреждению и разрывам нитей ДНК

Безусловный интерес представляет изучение не только особенностей повреждения ДНК в уротелии, но и измерение уровней и особенностей ее неполной репарации, либо вообще отсутствия таковой. Реактивные формы кислорода (РФК), которые генерирует ионизирующая радиация, являются генотоксическими, воздействуя на дезоксирибозу и нуклеотидные основания ДНК, что приводит к их повреждению и разрывам нитей ДНК

Институт урологии НАМН Украины

С. А. Возианов — директор института, чл.-корр. НАМН Украины

А. М. Романенко — зав. лабораторией патоморфологии, акад. НАМН Украины (romanenkoa5@hotmail.com)

Медицинская Школа Университета г. Осака

Шоджи Фукушима — зав. отделом патологии, профессор

© А. М. Романенко, С. А. Возианов, Ш. Фукушима, 2018.

(strand breaks) [3]. Повреждение 8-гидрокси-2'-дезоксигуаноидина (8OHdG) принято считать главным проявлением (маркером) оксидативного повреждения ДНК [13]. У млекопитающих клетки с поврежденными и невосстановленными молекулами 8OHdG в ДНК являются высоко мутагенными, продуцирующими в таких участках почти исключительно перемещения G:C на T:A в нуклеотидах [8].

Известны 2 пути эксцизионной репарации в клетках млекопитающих, это нуклеотидная и эксцизионная репарация оснований [5]. Нуклеотидная эксцизионная репарация эффективно восстанавливает ДНК, поврежденную кислородными радикалами. Существует два типа нуклеотидной репарации: транскрипционная и полная геномная. Одним из наиболее известных ферментов, которые "отрезают" конец поврежденной ДНК при обеих транскрипционной и полной геномной эксцизионных репарациях является продукт группы А гена *xeroderma pigmentosum* (*XPA*) — эндонуклеаза.

При репарации 8OHdG и других поврежденных РФК клеток млекопитающих и бактерий поврежденные оксидативными или щелочными агентами основания "убираются" специфическими ДНК-гликозилазами, оставляющими пустые (без оснований) участки, которые затем "отсекаются" апуриновыми/апиримидиновыми эндонуклеазами, среди которых наиболее распространенной у человека является апуриновая/апиримидиновая эндонуклеаза 1 (*APE1*). Поврежденные РФК основания 8OHdG в ДНК "убираются" 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазой (*OGG1-8*). У людей ген *OGG1* имеет 2 формы  $\alpha$ -*OGG1* и  $\beta$ -*OGG1*. Иммуногистохимический анализ показал, что  $\alpha$ -форма локализуется в ядрах, в то время как  $\beta$ -форма обнаруживается в митохондриях [20]. Человеческий *OGG1* протеин участвует в репарации 8OHdG при двухнитчатых хромосомных разрывах ДНК, он экспрессируется в раковых и в нераковых клетках человека. Ферменты *OGG* катализируют гидролиз N-гликозил связи между основаниями и фосфатным каркасом апуриновых/апиримидиновых участков ДНК, которые потенциально мутагенны и способны генерировать молекулы 3ОН, необходимые для полимеризации и связывания [11]. Рассечение апуриновых/апиримидиновых участков происходит при участии апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазы с последующим расщеплением 5-дезоксирибозно-фосфатных частей [1]. У человека большинство апуриновых/апиримидиновых эндонуклеаз относятся к апуриновым/апиримидиновым эндонуклеазам 1, которых также называют *APEX*, *HAP1* и *Ref1*, которые селективно активируются сублетальными дозами генераторами РФК, включая ионизирующую радиацию [6].

Исходя из известных механизмов репарации ДНК, эксцизионная репарация оснований, активированная хроническим воздействием РФК, генерируемых малыми дозами ионизирующего излучения, может играть особенно важную роль в механизме канцерогенеза в мочевом пузыре у лиц, проживающих более 25 лет на загрязненных  $^{137}\text{Cs}$  регионах Украины. Настоящее исследование проведено с целью изучения проявлений радиационно обусловленного оксидативного повреждения ДНК, а также изучения особенностей ее репарации в уротелии мочевого пузыря. Мы изучали 8OHdG, как маркер оксидативного повреждения ДНК в сочетании с *OGG1*-гликозилазой апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазой 1 и *xeroderma pigmentosum* А-эндонуклеазой, которые являются ведущими ферментами при эксцизионной репарации нуклеотидов и оснований.

**Обследуемые и методы.** Нами обследованы 2 группы больных. Группа 1 включала больных из радиационно загрязненных регионов Украины. Группа 2 (контрольная) из так называемых чистых зон, без официально выявленного радиационного загрязнения, однако с возможными химическими загрязнениями, поскольку Украина, как известно, относится к экологически неблагоприятным странам. Все больные постоянно проживали в своих домах до и после аварии на ЧАЭС. Перед операцией у 35 больных первой и второй групп проводилось радиометрическое измерение  $^{137}\text{Cs}$  в суточной моче с использованием стандартного  $\gamma$  радиометра *RUB-01 N 2980*. У каждого больного получали множественные кодированные биоптаты уротелия, включая зоны шейки мочевого пузыря и обоих устьев мочеточников. Всего гистологически изучено 816 фиксированных в формалине и заключенных в парафин наблюдений, включая 780 наблюдений от 195 мужчин, перенесших открытую чрезпузырную аденомэктомию по поводу доброкачественной гиперплазии предстательной железы, однако без всяких симптомов со стороны мочевого пузыря, а также 36 наблюдений от 9 женщин с симптомами хронического цистита (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика больных		
Показатель	I группа	II группа
Количество больных (женщины)	149 (7)	46 (2)
Средний возраст, лет	65 (30-91)	66 (38-77)
Питание	обычное	обычное
Курящие более 10 лет, n (%)	63 (40,3)	17 (35,0)
Период оперативного лечения	2001-2005 гг.	2001-2005 гг.
Уровень загрязненности почвы, Ки/км <sup>2</sup> [15]	0,5-30	Условно чистые территории

**Гистологический и иммуногистохимический анализ биоптатов.** Срезы (4-5 мкм) окрашивали гематоксилином и эозином. Обнаруженные изменения мочевого пузыря идентифицировали в соответствии с новой классификацией гистологического типирования ВОЗ [12]. Изменения, классифицируемые как папиллярная уротелиальная неоплазия с низким потенциалом малигнизации, оценивали как уротелиальный (переходноклеточный) рак. Иммуногистохимические исследования были проведены у всех 35 больных, которым проводилось радиометрическое измерение  $^{137}\text{Cs}$  в суточной моче с использованием стандартного авидин-биотин-пероксидазного комплекса и набора *Vectastain ABC Elite kit (Vector Laboratories, Burlingame, California)*. Серийные срезы депарафинировали. Активность эндогенной пероксидазы блокировали 3 % перекисью водорода в течение 5 минут. Для высвобождения антигенов помещенные в цитратный буфер (рН 6,1) срезы (за исключением тех, в которых определяли 8OHdG) ставили на 30 минут в микроволновую печь. Неспецифическое связывание при определении 8OHdG блокировали 5 % нормальной лошадиной сывороткой, при определении *xeroderma pigmentosum A* — козьей сывороткой и кроличьей сывороткой в фосфатном буфере при определении OGG1 и апуриновой/апиридинового эндонуклеазы 1 при комнатной температуре в течение 30 минут. Срезы инкубировали в течение ночи при температуре 4 °С с антимишным 8OHdG-моноклональным антителом (*Japan Institute for the Control of Aging Shizuoka*, в разведении 1:500), с FL-273 антикроличьим- *xeroderma pigmentosum A* поликлональным антителом (*Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz California*, в разведении 1:400), с N-20 антикозным OGG1 поликлональным антителом (*Santa Cruz Biotechnology*, в разведении 1:100), и с антикозным Ref1 или апуриновой/апиридинового эндонуклеазы 1 поликлональным антителом (*Santa Cruz Biotechnology*, в разведении 1:100). Перед инкубацией с 8OHdG антителом срезы проводились через 40 % этанол и 0.05 M.NaOH. В качестве положительного контроля использовали срезы биоптатов с заведомо положительной реакцией; для отрицательного контроля срезы инкубировали без первичных антител. Срезы окрашивали 3,3'-диаминобензидином и контрастировали гематоксилином Мейера одну минуту. В каждом случае анализировали 14-16 срезов.

Выраженность иммуногистохимических реакций количественно оценивали по величинам произведения значений распространенности и интенсивности окрашивания, которые могли быть в пределах от 0 до 9 [18]. Распространенность окрашивания оценивали по полуколичественной шка-

ле: 1 балл — <10 % окрашенных клеток, 2 балла — >10 %, но <50 % окрашенных клеток, 3 балла — гомогенное окрашивание >50 % клеток. Интенсивность окрашивания цитоплазмы и/или ядер оценивали по следующим критериям: 0 баллов — отсутствие, 1 балл — слабое, 2 балла — умеренное, 3 балла — выраженное окрашивание. Оценку иммуногистохимических реакций проводили по слепому принципу (независимо 2 сотрудника). Воспроизводимость составляла 100 %, так как окрашивание было очень четким и наличие положительной реакции не вызывало сомнений.

**Статистический анализ.** Достоверность различий частоты случаев повреждения уротелия в обследованных группах определяли, используя метод наименьших квадратов Фишера ( $\chi^2$ ). Достоверность различий по содержанию  $^{137}\text{Cs}$  в суточной моче определяли, используя тест *Wilcoxon*. Достоверность данных иммуногистохимических реакций оценивали непараметрическим методом Манна-Уитни (критерий *U*), а также ранговым методом Спирмана.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты определения содержания  $^{137}\text{Cs}$  в суточной моче у 35 больных в 1 и 2 группах наблюдений представлены в табл. 2. Достоверное повышение уровня  $^{137}\text{Cs}$  в суточной моче отмечалось у больных 1-й группы по сравнению со 2-й группой.

Таблица 2

Уровень $^{137}\text{Cs}$ в моче		
Показатель	I группа	II группа
К-во больных (женщины)	18 / 2	13 / 2
Период оперативного лечения	2001-2005 гг.	2001-2005 гг.
Уровень загрязненности почвы Ки/км <sup>2</sup> <sup>a</sup>	0.5 - 30	Условно чистые территории
Уровень $^{137}\text{Cs}$ в моче, Бк/л	5,16 ± 9,02	0,29 ± 0,03, <i>p</i> < 0,001

**Гистологические исследования.** У 18 больных мужского пола с ДГПЖ 1-й группы обнаруживались типичные признаки “Чернобыльского цистита” с множественными участками дисплазии уротелия в 89 % наблюдений и очагами рака *in situ*, которые в у 35 (22 %) больных сопровождалось проявлениями кистозного цистита и гнездами фон Брунна (табл. 3). У больных 1-й группы были также выявлены 10 инцидентальных маленьких папиллярных или инвазивных уротелиальных карцином. Помимо этого собственная слизистая оболочка стенки пузыря в большинстве наблюдений этой группы отличалась выраженными склеротическими изменениями, интенсивным новообразованием мелких кровеносных сосудов, за-

полненных эритроцитами, очаговыми кровоизлияниями, а также слабо выраженной воспалительной клеточной инфильтрацией с преобладанием лимфоцитов, гистиоцитов и плазматических клеток. У женщин очаги дисплазии уротелия сочетались с обширными полями склероза в собственной слизистой оболочке стенки пузыря с небольшими воспалительными инфильтратами и кровоизлияниями. У больных 2-й группы обнаруживались проявления хронического цистита без пролиферативных или неопластических изменений в уротелии и с выраженной воспалительной инфильтрацией подслизистого слоя стенки мочевого пузыря, особенно ярко проявляющихся у женщин. Участки слабо выраженной дисплазии были выявлены у 19 % мужчин этой группы наблюдений.

Таблица 3

Частота случаев дисплазии и рака мочевого пузыря у обследованных больных, n (%)

Группа	Количество наблюдений	Дисплазия	Рак мочевого пузыря		
			всего	рак <i>in situ</i>	переходноклеточный рак
I	156	139 (89) <sup>c</sup>	91 (58) <sup>*</sup>	81 <sup>c</sup>	10
II	48	9 (19) <sup>a</sup>	0 (0)	0	0

Примечания: <sup>a</sup> — дисплазия средней степени; <sup>\*</sup> —  $P < 0,0001$  по сравнению со II группой.

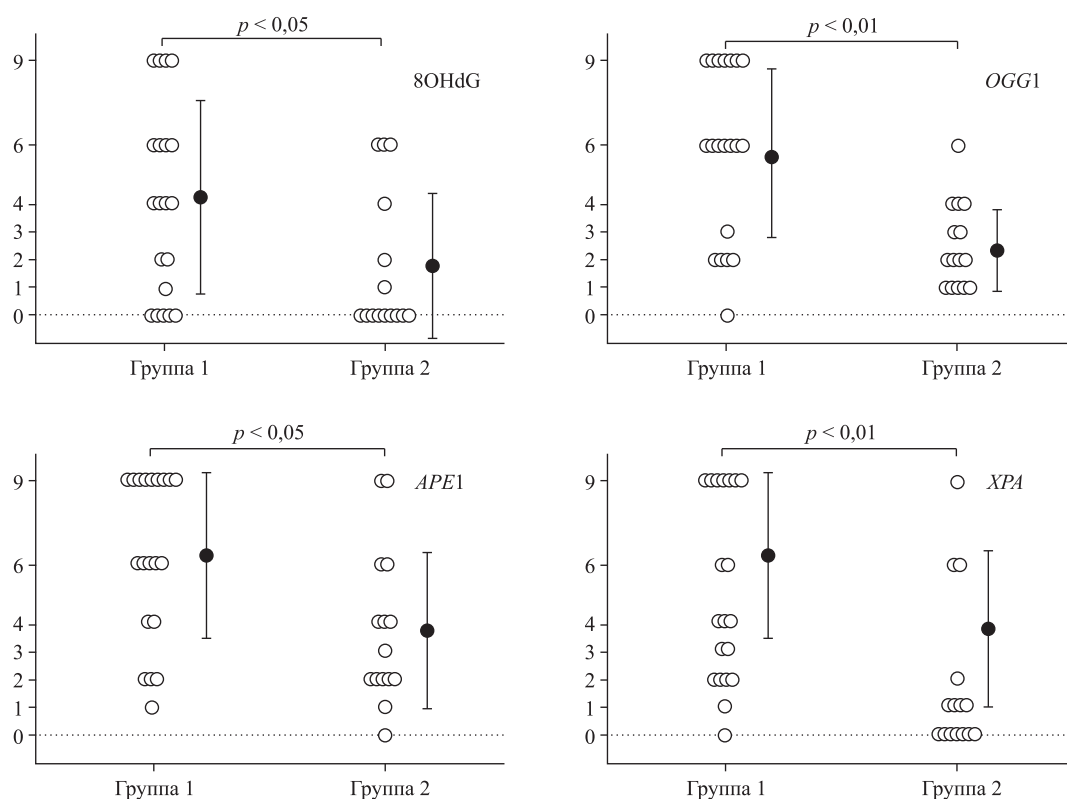
**Иммуногистохимические исследования.** Обнаружены статистически достоверные различия между выраженностью экспрессии 8OHdG, OGG1, апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазы 1 и *xeroderma pigmentosum A* у больных 1-й и 2-й групп ( $P < 0,05$ ,  $< 0,01$ ,  $< 0,05$  и  $< 0,01$ , соответственно, рисунок). Значения средних показателей экспрессии у них были 4,1 и 1,6 для 8OHdG, 5,8 и 2,4, для OGG1, 6,3 и 3,7 для апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазы 1 и 5,1 и 1,8 для *xeroderma pigmentosum A*, соответственно. При этом у большинства больных 1-й группы обнаруживалось высокое и гомогенное окрашивание 8OHdG, апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазы 1 и *xeroderma pigmentosum A* в ядрах базальных и промежуточных слоях уротелия и, особенно, — в его поверхностных слоях. Высокое зернистое или гомогенное цитоплазматическое окрашивание на OGG1 отмечалось в клетках промежуточных слоев, которое было даже выше, чем в клетках поверхностного слоя уротелия. Участки дисплазии и рака *in situ* отличались высокой экспрессией 8OHdG, OGG1, апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазы 1 и *xeroderma pigmentosum A* (9 и 6 баллов). Папиллярная или инвазивная уротелиальная карци-

номы характеризовались низкой экспрессией (2 балла) OGG1, а 8OHdG, апуриновая/апиримидиновая эндонуклеаза 1 и *xeroderma pigmentosum A* окрашивались неравномерно либо негативно. Ядра большинства макрофагов, плазматических клеток и эндотелия микрососудов подслизистого слоя стенки пузыря, особенно вблизи уротелия окрашивались позитивно на 8OHdG, апуриновую/апиримидиновую эндонуклеазу 1 и *xeroderma pigmentosum A*.

Нашими предыдущими исследованиями было показано, что в уротелии мочевого пузыря у лиц, проживающих в радиационно-загрязненных после аварии на ЧАЭС регионах Украины, отмечаются проявления высокого оксидативного стресса, сопровождающиеся выраженным повреждением ДНК [18]. 8OHdG, как известно, является высоко мутагенным, поврежденным оксидативным стрессом основанием, которое восстанавливается путем эксцизионной репарации с помощью  $\alpha$ -или  $\beta$ -OGG1 ДНК гликозилазы/апуриновых/апиримидиновых лиаз [11]. Высокие уровни экспрессии 8OHdG и достоверно резко повышенная экспрессия OGG1 и апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазы 1 в одних и тех же клетках уротелия у больных 1-й группы подтверждают превалирующую роль повреждения ДНК, несмотря на активацию эксцизионной репарации ее оснований.

Проведенное радиометрическое исследование подтвердило достоверное повышение  $^{137}\text{Cs}$  в моче у больных ДГПЖ с явлениями остаточной мочи, у которых радиационная экспозиция уротелия особенно высокая. Наши предыдущие исследования продемонстрировали мутационную инактивацию гена *p53* (супрессора опухолевого роста), сопровождающуюся его высокой иммунореактивностью у таких больных [21]. Ген *p53 in vivo* модулирует эксцизионную репарацию оснований, поврежденных оксидативным стрессом вследствие действия ионизирующего излучения [4], что подтверждает прямую роль в повышении активности эксцизионной репарации оснований молекулярного взаимодействия (*cross-talk*) между протеином *p53* и процессами репарации ДНК. При этом мутированный ген *p53* оказывается модулирует еще более высокую активность эксцизионной репарации оснований в ответ на оксидативный стресс [14], что согласуется с нашими наблюдениями высокой экспрессии ферментов эксцизионной репарации оснований в очагах уротелиальной дисплазии и рака *in situ*.

Результаты проведенного исследования показали, что активность эксцизионной репарации оснований в уротелии 1-ой группы больных была нерегулярной. Мозаичная и преимущественно цитоплазматическая  $\beta$ -OGG1 экспрессия локализовалась в поверхностных слоях уротелия в сочетании



Выраженность иммуногистохимических реакций у обследованных больных.

с высокой ядерной 8OHdG экспрессией в этих же клетках, подтверждая неэффективность в них эксцизионной репарации оснований. В противоположность этому высокая ядерная экспрессия апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазы 1 — главной эндонуклеазы, реагирующей при воздействии ионизирующего излучения на апуриновые/апиримидиновые сайты, была гомогенной. Экспрессия ядерной апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазы 1 повышает клеточную резистентность к окислительным агентам, что приводит к активации эксцизионной репарации оснований в очагах поврежденных РФК [16]. Это предположение согласуется с предыдущими заключениями о том, что активация апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазы 1 в результате воздействия РФК, сопровождается адаптивной резистентностью клеток к РФК [16]. Наши данные подтверждают, что апуриновая/апиримидиновая эндонуклеаза 1 играет важную роль и при репарации поврежденной при окислительном стрессе ДНК в уротелии человека в результате долговременного воздействия малых доз ионизирующего излучения. Слабую экспрессию в клетках апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазы 1 и OGG1 у некоторых больных контрольной группы можно объяснить тем, что так называемые чистые зоны не являются полностью

чистыми, так как продукты питания, вода и земля могут быть в какой-то степени загрязненными.

Достоверное повышение ядерного *xeroderma pigmentosum A* протеина в уротелии больных 1-й группы подтверждает активацию транскрипционной и полной геномной нуклеотидной репарации [7]. Последние исследования подтвердили ведущую роль *xeroderma pigmentosum A* протеина, участвующего на ранних стадиях эксцизионной репарации нуклеотидов, именно при воздействии малых доз (от 0,2 до 2 Gy) ионизирующей радиации [9]. Интересно отметить, что значительное повышение экспрессии в ядрах 8OHdG, апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазы 1 и *xeroderma pigmentosum A*, но не OGG1, обнаруживалось в эндотелиальных клетках микрососудов, макрофагах и лимфоцитах, расположенных вблизи уротелия, что свидетельствует о репаративных процессах ДНК и в подслизистом слое стенки мочевого пузыря. Важно отметить, что все мелкие случайно обнаруженные уротелиальные опухоли среди больных 1-й группы, были как правило, негативными к экспрессии OGG1, апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазы 1 и *xeroderma pigmentosum A*, что подтверждает повреждение механизмов как нуклеотидной репарации, так и репарации оснований в раковых клетках.

### Заклучение

Полученные результаты выявили достоверную связь между оксидативным стрессом, индуцированным длительным, непрерывным воздействием малых доз ионизирующей радиации на уротелий мочевого пузыря и выраженной активацией репаративных процессов в ДНК в качестве раннего ответа и попытки восстановить клеточный гомеостаз. Однако наши данные показали, что репарация ДНК (оба ее пути: эксцизионная нуклеотидная и эксцизионная репарация оснований), особенно в очагах дисплазии и рака *in situ*, была неэффектив-

ной и несостоятельной, и поэтому ее, скорее всего, следует расценивать как процесс, способствующий канцерогенезу в уротелии мочевого пузыря. Следует отметить, что наше исследование было первым, которое указало на существующую статистически достоверную зависимость между активацией эксцизионной репарации оснований и высоким оксидативным стрессом в уротелии мочевого пузыря, индуцированным хроническим долговременным воздействием малых доз ионизирующей радиации, что может способствовать развитию в нем процессов канцерогенеза.

### Список использованной литературы

1. Braithwaite E., Wu X., Wang Z. Repair of DNA lesions induced by polycyclic aromatic hydrocarbons in human cell-free extracts: involvement of two excision repair mechanisms *in vitro* // *Carcinogenesis* — 1998. — **19**. — P. 12-39.
2. Buchko G. W., Iakoucheva L. M., Kennedy M. A. et al. Extended X-ray absorption fine structure evidence for a single metal binding domain in *Xenopus laevis* nucleotide excision repair protein XPA // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1999. — **254**. — P. 109-115.
3. Cadet J., Berger M., Douki T. et al. Oxidative damage to DNA: Formation, measurement and biological significance // *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* — 1997. — **131**. — P. 1-8.
4. Cheo D. L., Meira L. B., Burns D. K. et al. Ultraviolet B radiation-induced skin cancer in mice defective in *Xpc*, *Trp53* and *Apex (HAP1)* genes; genotype-specific effects on cancer predisposition and pathology of tumors // *Cancer Res.* — 2000. — **60**. — P. 1580-1589.
5. Friedberg E. S., Walker G. C., Siede W. DNA repair and mutagenesis. — Washington, D.C.: ASM Press, 1995. — 150 p.
6. Herring C. J., West C. M. L., Wilks D. P. et al. Levels of the DNA repair enzyme human apurinic / apyrimidinic endonuclease (APE1, APEX, Ref1) are associated with the intrinsic radiosensitivity of cervical cancers // *British Journal of Cancer.* — 1998. — **78**. — P. 1128-1134.
7. Klein J. C., Beems R. B., Zwart P. E. et al. Intestinal toxicity and carcinogenic potential of the food mutagen 2-amino-1-methyl-6 phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in DNA repair deficient XPA mice // *Carcinogenesis.* — 2001. — **22**. — P. 619-627.
8. Le Page F., Margot A., Grollman A. P. et al. Mutagenicity of a unique 8-oxoguanine in a human *H-ras* sequence in mammalian cells // *Carcinogenesis.* — 1995. — **16**. — P. 2779-2784.
9. Li R. Y., Calsou P., Jones C. J. et al. Interaction of the transcription / DNA repair factor TFIIH and XP repair proteins with DNA lesions in a cell-free repair assay // *J. Mol. Biol.* — 1998. — **281**. — P. 211-219.
10. Little J. B. Induction of genetic instability by ionizing radiation // *C. R. Acad. Sci. III.* — 1999. — **322**. — P. 127-135.
11. McCullough A. C., Dodson M. L., Lloyd R. S. Initiation of base excision repair: glycosylase mechanisms and structures // *Annu. Rev. Biochem.* — 1999. — **68**. — P. 255-263.
12. Mostofi F. K., Davis C. J., Sesterhenn I. A. Histological typing of urinary bladder tumors 2<sup>nd</sup> ed. — Berlin: Springer-Verlag, 1999. — 117 p.
13. Nakae D., Kobayashi Y., Akai H. et al. Involvement of 8-hydroxyguanine formation in the initiation of rat liver carcinogenesis by low dose levels of N-nitrosodiethylamine // *Cancer Res.* — 1997. — **57**. — P. 1281-1289.
14. Offer H., Zurer L., Banfalvi G. et al. p53 modulates base excision repair activity in a cell cycle-specific manner after genotoxic stress // *Cancer Res.* — 2001. — **61**. — P. 88-96.
15. Raes F., De Cort M., Graziani G. Multi-fractal nature of radioactivity deposition on soil after the Chernobyl accident // *Health Phys.* — 1991. — **61**. — P. 271-277.
16. Ramana C. V., Boldogh I., Izumi T. et al. Activation of apurinic / apyrimidinic endonuclease in human cells by reactive oxygen species and its correlation with their adaptive response to genotoxicity of free radicals // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* — 1998. — **95**. — P. 5061-5072.
17. Richmond C. R. Accelerating the turnover of internally deposited radio-cesium. — Diagnosis and treatment of deposited radionuclides (Richland, Washington, 15-17 May 1967). — Washington: Excerpta Medical Foundation, 1968. — P. 315.
18. Romanenko A. M., Morimura K., Wanibuchi H. et al. Increased oxidative stress with gene alteration in urinary bladder urothelium after the Chernobyl accident // *Int. J. Cancer.* — 2000. — **86**. — P. 790-799.
19. Romanenko A. M., Morimura K., Wanibuchi H. et al. Urinary bladder lesions induced by persistent chronic low-dose ionizing radiation // *Cancer Sci.* — 2003. — **94**. — P. 328-333.
20. Takao M., Aburatani H., Kobayashi K. et al. Mitochondrial targeting of human DNA glycosylases for repair of oxidative DNA damage // *Nucleic Acids Res.* — 1998. — **26**. — P. 2917-2924.
21. Yamamoto S., Romanenko A., Wei M. et al. Specific p53 gene mutations in urinary bladder epithelium after the Chernobyl accident // *Cancer Res.* — 1999. — **59**. — P. 3606-3617.

Получено 14.09.2018

## ОСОБЛИВОСТІ РЕПАРАЦІЇ ПОШКОДЖЕНОЇ ДНК УРОТЕЛІЮ СЕЧОВОГО МІХУРА У ОСІБ, ПРОЖИВАЮЧИХ НА ЗАБРУДНЕНИХ РАДІОНУКЛІДАМИ ТЕРИТОРІЯХ УКРАЇНИ

А. М. Романенко, С. А. Возіанов, Ш. Фукушіма\*

Державна установа "Інститут урології НАМН України", 04053, Київ

\*Медична Школа Університету м. Осака, 545-8585, Осака, Японія

Вивчені особливості репарації пошкодженої ДНК (нуклеотидної та ексцизійної репарації основ) внаслідок хронічної та постійної дії малих доз іонізуючого випромінювання на уротелій сечового міхура у чоловіків з доброякісною гіперплазією передміхурової залози та жінок з хронічним циститом після аварії на ЧАЕС. Хронічний проліферативний атиповий цистит з вогнищами дисплазії та раку *in situ*, а також 10 випадкових маленьких уротеліальних карцином, були виявлені в 139 (89 %) та в 91 (58 %) із 156 спостережень 1-ї групи хворих, проживаючих в радіаційно забруднених регіонах України. Значиме та достовірне (в порівнянні з контрольною групою 2) підвищення експресії в ядрах уротелію групи 1 8-гідроксі-2'-дезоксігуанозидину, 8-оксігуанін-ДНК-глікозилази, апуринової/апіримідинової ендонуклеази 1 та xeroderma pigmentosum A супроводжувалось підвищенням рівню  $Cs^{137}$  в сечі хворих. Отримані результати свідчать про достовірну активацію репарації пошкодженої ДНК (нуклеотидної та ексцизійної репарації основ), викликані оксидантним стресом від довготривалої дії малих доз іонізуючого випромінювання, яке, однак, виявилось неповноцінним та володіло мутагенним і канцерогенним потенціалом по відношенню до уротелія.

## DNA DAMAGE REPAIR IN BLADDER UROTHELIUM AFTER THE CHERNOBYL ACCIDENT IN UKRAINE

A. M. Romanenko, S. O. Vozianov, S. Fukushima\*

State institution "Institute of Urology NAMS of Ukraine", 04053 Kyiv

\*Osaka City University Medical School, 545-8585, Osaka, Japan

We determined whether base and nucleotide excision repair is activated in bladder urothelium by chronic persistent low-doses of ionizing radiation in male patients with benign prostate hyperplasia and females with chronic cystitis living more than 15 years in  $^{137}Cs$  contaminated areas after the Chernobyl accident in Ukraine. Chronic proliferative atypical cystitis with multiple foci of dysplasia and carcinoma *in situ* were observed in 139 (89 %) and in 91 (58 %) of 156 group 1 patients from radio contaminated areas, respectively as well as 10 small urothelial carcinomas. Greatly elevated levels of 8-hydroxy-2' deoxyguanosine, 8-oxoguanine-DNA-glycosylase, apurinic/apyrimidinic endonuclease and xeroderma pigmentosum A were evident in the urothelium in group 1, accompanied by increased  $^{137}Cs$  in the urine. These findings support the hypothesis that significant activation of DNA damage repair (base and nucleotide excision repair) is induced by the oxidative stress generated by long-term low doses of ionizing radiation. The levels of DNA oxidative adducts pointing to mutagenic and carcinogenic potential were in line with the histopathologically diagnosed urothelial lesions.