УДК 616-006.32:[62-037.51+578.832]

МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ПАТОГЕНЕЗУ ЗЛОЯКІСНОЇ МЕЗОТЕЛІОМИ, ОБУМОВЛЕНОЇ ЕКСПОЗИЦІЄЮ АЗБЕСТОМ ТА ВІРУСОМ SV-40

Марченко М. Л., Варивончик Д. В.

ДУ «Інститут медицини праці НАМН України», м. Київ

У дослідженні проведено аналіз даних літератури про стан вивчення молекулярних механізмів патогенезу злоякісної мезотеліоми, обумовленої експозицією азбестом і його різними видами, розглянуто роль вірусу SV-40 в патогенезі цієї патології.

Ключові слова: злоякісна мезотеліома, азбест, вірус SV-40, патогенез

Вступ

Азбести – силікати, до яких Міжнародна агенція з дослідження раку (IARC) відносить 6 мінералів: 1 класу серпентинів – хризотил (CAS № 12001-29-5); 2 класу амфіболів – амозит (CAS № 12172-73-5), крокидоліт (CAS № 12001-28-4), тремоліт (CAS № 77536-29-5), антофиліт (CAS № 77536-67-5) та актиноліт (CAS № 77536-66-4). Серпентинові та амфіболові азбести відрізняються між собою хімічним складом, формою волокон (хризотил має хвилясту форму на відміну від амфіболів, які мають голкоподібну) та ступенем негативного ефекту для здоров'я при інгаляційній експозиції. Азбести складаються з волокон величиною не більше 1 мкм, які разом утворюють пучки. Усі види азбесту та їхні комерційні форми, включаючи хризотил, офіційно визнані канцерогенами. Згідно із класифікацією IARC, азбести відносяться до I групи канцерогенних агентів («доведена канцерогенність для людини»). Міжнародна наукова оцінка впливу всіх типів азбесту на здоров'я людини, здійснена IARC та ВООЗ, не виявила граничного рівня, нижче якого вплив азбесту на людину є безпечним, і не несе ризику для його здоров'я («безпороговість» канцерогенної дії) [2–4].

Широкомасштабними епідеміологічними дослідженнями доведено, що робота з азбестом обумовлює високі ризики виникнення («достатній» ступінь доказовості) – азбестозу, плевральних бляшок, раку гортані, бронхів та легень, яєчника, злоякісної мезотеліоми (плеври, очеревини, перикарда) [4, 5].

Розробка азбестових кар'єрів розпочалася ще 4500 років тому, про що свідчать археологічні дослідження (посуд з азбесту на території Східної Фінляндії), але його видобуток не був широкомасштабним до XIX століття. Найбільшого піка добування азбесту в усьому світі досягло приблизно в 1970-х роках [1]. Такої популярності серед виробників та будівельників азбест здобув завдяки своїм унікальним властивостям: поглинанню звуку, міцності, вогнестійкості, резистентності до дії тепла, хімічного та електричного пошкодження [2, 3]. Проблема небезпечного впливу азбесту на здоров'я людини ще більше привернула увагу, коли наприкінці XX – на початку XXI століття було зареєстровано зростання захворюваності на злоякісну мезотеліому серед населення багатьох країн світу [4–6].

Сьогодні Україна є одним з найбільших споживачів хризотилового азбесту. І офіційно виступає проти включення хризотилового азбесту до Додатку III («Хімічні речовини, що підпадають під дію процедури попередньо обґрунтованої згоди») «Роттердамської конвенції про процедуру попередньої обґрунтованої згоди відносно окремих небезпечних хімічних речовин та пестицидів у міжнародній торгівлі» (приєдналася до Конвенції на основі Закону України від 26.09.2002 р. № 169-IV), на відміну від Європейського Союзу (ЄС), який вимагає повну заборону його використання, разом із амфіболовими азбестами [76, 77]. В Україні в промисловості не використовуються амфіболові азбести.

Українські вчені-гігієністи відстоюють позицію «контрольованого використання» хризотилового азбесту, а не його повної заборони [78–80], що є доцільним з економічної точки зору, оскільки хризотилові волокна залишаються найдешевшим матеріалом, який у нашій країні здебільшого використовують для виробництва азбестоцементних виробів (шиферу тощо) [79–81]. До того ж, сьогодні ще не доведено, що високовартісні замінники

азбесту (пінополіуретан, аморфний кремнезем, термореактивна пластикова крихта, скловата, волокна полівінілового спирту, поліпропілен, полістерол, натуральні наповнювачі — рисове борошно, перетерта оболонка горіха пекана, пшеничне борошно, бамбук, стружки ротанга, кокоса, сизалю, стебла тютюну, хвойна крафт целюлоза, волокна целюлози та ін.) несуть ще більшої небезпеки для здоров'я людини, ніж хризотил [11, 79—82].

Проведені в Україні дослідження показали, що хризотилове волокно порівняно з іншими видами азбесту є мало агресивним. Так, аналіз профзахворюваності серед робітників України, що працювали в умовах контакту з хризотиловим азбестом за останні 25 років виявив лише 19 випадків азбестозу [79, 80, 81]. А за даними реєстру хворих на професійний рак, який ведеться лабораторією канцерогенної небезпеки та профілактики професійного раку ДУ «Інститут медицини праці НАМН України», у країні за період 1992—2011 рр. встановлено лише 3 випадки захворювання на злоякісну мезотеліому (ЗМ) професійного генезу, із них: 2 випадки, пов'язаних з експозицією на робочому місці азбестовим пилом (1 — докер торгового порту, 2004 р.; 1 — термоізолювальник теплової електростанції, 2010 р.; 1 випадок — унаслідок експозиції іонізуючим випромінюванням (бурильник урановидобувної шахти, 1998 р.). Також за цей період було встановлено 9 випадків злоякісних новоутворень у хворих, у професійному анамнезі яких спостерігалася експозиція хризотиловим азбестом разом з іншими канцерогенними факторами робочого середовища (рак гортані — 3 випадки, рак легені — 4 випадки, хронічний лейкоз — 1 випадок, рак щитоподібної залоза — 1 випадок) [83].

У той самий час у країнах ЄС та США діагностується до 3 тис. нових випадків злоякісної мезотеліоми (ЗМ) на рік, де до 80 % складає ЗМ у результаті професійної експозиції азбестом. Тенденція до зростання захворюваності на ЗМ фіксується й у інших країнах світу та прогнозується подальше збільшення захворюваності до 2030-х років [79—81, 83].

Злоякісна мезотеліома (ЗМ) є однією з агресивніших пухлин, яка щорічно забирає життя тисячі людей у всьому світі. Уперше діагноз первинної злоякісної пухлини плеври був офіційно встановлений з 1870 року, коли Wagner опублікував звіт про випадок «туберкуло-подібної» лімфаденоми плеври. У 1943 році Saccone and Coblenz в огляді про випадки новоутворень до 1940 року описали пухлину, називаючи її «ендотеліомою» з посиланнями на Lieutaud, який у звіті за 1767 рік описує 2 аналогічні пухлини, при розтині 3 тис. померлих. Автори наголошують на тому, що дана пухлина почала з'являтися зі все більшою частотою. Із-за розбіжності в поглядах дослідників про походження клітин, виявлених у плевральній порожнині, спочатку пухлина була названа «плерома», а пізніше науковою спільнотою був визнаний термін «мезотеліома» [7].

Нині науково доведеними етіологічними причинами ЗМ є: 1) експозиція пилом азбесту та еріоніту; 2) вплив іонізувального випромінювання. До факторів, які значно підвищують ризик виникнення ЗМ, відносять: 1) генетичну схильність; 2) латентну інфекцію, викликану мавпячим вакуоле-утворюючим поліовірусом роду Orthohjlyomavirus — SV-40; 3) дію інших канцерогенних агентів; 4) наявність патологічних (рубцево-фіброзних) процесів у тканинах плеври [83].

Натепер ЗМ визнана «індикаторною» пухлиною для експонування людини азбестом (ризики виникнення ЗМ для азбестів є наступними: крокидоліт / амозит / хризотил = 500 / 100 / 1) [4, 8, 9]. Не дивлячись на те, що добре відома кластогенна та цитотоксична дія азбесту на клітини мезотелію, патогенетичні механізми виникнення злоякісної мезотеліоми залишаються не визначеними до кінця [10], що є підставою до подальшого досконального вивчення патогенетичних механізмів злоякісної трансформації мезотеліальних клітин при експозиції азбестом з метою розробки заходів індивідуальної профілактики виникнення, своєчасної діагностики та більш ефективного лікування ЗМ, що й визначило актуальність даного дослідження.

Мета дослідження — узагальнення відомих молекулярно-генетичних механізмів патогенезу ЗМ, обумовленої експозицією азбестом та визначення пріоритетних напрямів подальших фундаментальних наукових досліджень.

Матеріали та методи дослідження

Проведено аналітичний аналіз наукових публікацій з використанням реферативних баз даних «PubMed» [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed] та Національної бібліотеки України імені В. І. Вернадського [http://www.irbis-nbuv.gov.ua] за останні 20 років.

Результати дослідження та їх обговорення

Патогенетичні механізми ЗМ. Сьогодні запропоновано три гіпотези патогенезу азбест-індукованої ЗМ [45]:

1) «*теорія оксидативного стресу*» базується на тому, що волокна азбесту є чужорідними тілами. Дослідження показали, що більший ступінь канцерогенності характерний для тих видів азбесту, які у своїй структурі мають іони заліза (він є каталізатором вільно-радикальних окиснень) [46, 47];
2) «*теорія заплутування хромосом*» — волокна азбесту уражають хромосоми під час поділу клітин, унаслідок їхнього прилипання [48];
3) «*теорія абсорбції специфічних протеїнів*», у тому числі молекул, які мають канцерогенну активність», яка базується на тому, що потрапляючи в живий організм, волокна азбесту переносять на собі й інші хімічні речовини, включаючи в тому числі канцерогенні речовини, компоненти цигаркового диму, чужорідні ДНК тощо [45].

«Теорія оксидативного стресу» пояснюється наявністю двох ключових факторів патогенезу, таких як присутність іонів заліза у волокнах азбесту (амфіболової групи) та підключення макрофагів у ланцюг патологічного процесу. Було показано, що амозит ($(Fe, Mg)7Si_8O_{22}(OH)_2$) та крокидоліт ($Na_2(Fe^{3+})_2(Fe^{2+})_3Si_8O_{22}(OH)_2$), у склад яких входять іони заліза, беруть безпосередню участь у вільно-радикальних реакціях як каталізатор. Залізо відоме своєю ко-канцерогенною активністю як для тварин, так і для людини. Також дослідження показали, що ген $p16^{INK4A}$ є дуже чутливою ділянкою до оксидативного стресу індукованого іонами заліза. Визначення генетичних локусів, які є чутливими до дії оксидативного стресу, є концепцією «оксигеноміки», ідея якої є важливою з точки зору роз'яснення механізмів канцерогенезу при ЗМ. Однак ця теорія не пояснює цитотоксичні ефекти хризотилового азбесту, який не має у своєму складі залізо. Імовірно, він концентрує іони заліза, які утворилися внаслідок гемолізу, в оточуючих його тканинах [45].

З іншого боку, активовані макрофаги поглинають довгі волокна азбесту. Так, Suzuki Y. (1974 р.) провів серію досліджень на 60 хом'яках-самцях, яким одноразово інтратрахеально ввели 1 та 2 мг хризотилу, амозиту, крокидоліту [49]. Тканини легенів, отримані в результаті розтину тварин, через 1 до 28 днів після одноразової експозиції азбестовими волокнами та від 6 місяців до 2 років, досліджували з використанням електронної мікроскопії. Середня довжина волокон, які були введені, досягала 6—10 мкм, а волокон, які визначалися на поверхні альвеолоцитів — до 1 мкм. Установлено, що на перших етапах відбувалася агрегація макрофагів та полінуклеарних лейкоцитів у просвіті альвеол. Унаслідок того спостерігалося гостре запалення, порушення цілісності поверхні альвеол та стінок капілярів, злущення альвеолоцитів та процеси фагоцитозу азбестових волокон макрофагами. Пізніше запальна реакція змінилася на гіперпроліферативний процес, який проявлявся появою гігантських клітин та гранул гемосидерину. Відомо, що гігантські клітини утворюються внаслідок злиття кількох макрофагів. Завдяки вказаному процесу клітини можуть захоплювати як короткі, так і довгі азбестові волокна, утворюючи через деякий проміжок часу азбестові тільця. У загальній реакції були також задіяні нейтрофіли та альвеолярні епітеліоцити, які за деяких умов можуть брати на себе функції фагоцитів. Лізосоми цих клітин беруть участь у процесі перетравлення та розчинення азбестових волокон. Упродовж 6—12 місяців у легенях тварин спостерігали утворення азбестових тілець (коли волокна азбесту покриваються субстанцією, яка вміщує, зокрема, міцелій заліза) та пневмофіброз. Утворення азбестових тілець відбувалося і через 16 днів після введення.

Таким чином, патологічний процес, викликаний впливом азбестових волокон на легеневу тканину, складається з таких ланок: 1) попадання азбестових волокон у клітину унаслідок фагоцитозу; 2) утворення навколо волокна покриття із гемосидерину; 3) унаслідок загибелі фагоцитуючих клітин вивільнення волокон та їхній рефагоцитоз іншими клітинами.

Багато досліджень вказують на те, що тонкі довгі волокна азбесту в більшості випадків викликали розвиток ЗМ, ніж короткі, так як вони краще фагоцитуються клітинами. З іншого боку, через достатньо великий проміжок часу в клітинах спостерігаються волокна, які не утворили азбестові тільця. Вони прикріпляються до поверхні альвеолоцитів II типу, які беруть участь у процесі рефагоцитозу. Описане явище доводить, що процес є довготривалим унаслідок індукції постійної відповіді альвеолярних клітин, завдяки чому підтримується подаль-

ша хронічна запальна реакція [49]. Miller K et al. показали, що макрофаги, отримані від щурів, які знаходилися в умовах довготривалої експозиції хризотилом, при ко-культивуванні з Т-лімфоцитами, можуть неспецифічно зв'язуватися з ними, унаслідок появи на їх мембрані альдегідоподібних груп. Це призводить до утворення специфічно сенсибілізованих лімфоцитів [50]. У результаті проведених досліджень російськими вченими (Л. Н. Пылев и соавт.) було зроблено припущення, що взаємодія речовин, подібних до вільних радикалів із середовищем навколо макрофагів, створює токсичний ефект відносно клітин мезотелію [51]. Інші роботи вказують на те, що азбест здатен порушувати функції та секреторну активність макрофагів. Макрофаги, які фагоцитували азбест, генерують у підвищених кількостях гідроксильні радикали. Вони, у свою чергу, можуть активувати процеси онтогенезу шляхом взаємодії з ДНК, модифікуючи клітинні мембранно-асоційовані процеси, включаючи активацію онкогенів та порушення антиоксидантного захисту клітини [52].

Генетичні альтерації макрофагів, активованих азбестом, можуть призводити до вивільнення дуже сильних мітогенів, що впливають на мезотеліальні клітини (факторів трансформації клітин) таких, як: тромбоцитарний фактор росту та трансформуючий фактор росту-γ, який індукує хронічну стимуляцію та проліферацію мезотеліальних клітин; цитокіни запалення – TNFα, циклооксигеназу-2 (COX-2), індуцибільну синтазу оксиду нітрату (iNOS) та матриксні металопротеїнази – MMP9, MMP12. Таким чином, імовірно, хронічне запалення стимулює зростання та інвазію ЗМ [53].

Також установлено, що азбест може сприяти процесу канцерогенезу, виступаючи як імунодепресант. Дослідженнями було показано здатність хризотилових волокон пригнічувати розвиток нових лімфоцитів та блокувати активність Т-кілерів, які відіграють ключову роль у механізмах антиканцерогенезу [54]. Азбест може вражати імунокомпетентні клітини та індукувати злоякісну трансформацію мезотеліальних клітин. Залишається нез'ясованим, чи є азбест безпосередньою, або опосередкованою причиною ЗМ. Останні дослідження демонструють, що волокна азбесту впливають на Т-лімфоцити периферичної крові. У хворих на ЗМ знайдено підвищену експресію гена Bcl-2 (відповідає за гальмування процесів апоптозу) саме в CD4+ Т клітинах (група лімфоцитів-хелперів) [55].

Miura Y. et al. показали, що волокна азбесту можуть взаємодіяти з Т-клітинами периферичної крові як суперантиген, як, наприклад, ентеротоксин В стафілококу, та підвищувати експресію рецепторів TCRVb (а саме типу TCRVbs – Vb1, -4 and -9,) у хворих на азбестоз та ЗМ. Отримані результати можуть бути інтерпретовані таким чином, що надлишкова експресія різних TcRVbs може бути результатом контакту між клітинами й хризотиловим азбестом, під час того, як розвивається їхня резистентність до хризотил-індукованого апоптозу, викликаного довготерміновим впливом низьких доз хризотилу (на відміну від короткочасної експозиції, коли, навпаки, зниження рівня Bcl-2 та підвищення Bax вело до активації апоптозу та загибелі клітин). До гальмування процесів апоптозу під час довгострокової експозиції малими дозами азбесту також веде підвищення рівня Bcl-2 та зниження протеїну Bax (який відповідає за активацію процесів апоптозу). Надлишкова експресія TCRVbs у CD3+клітинах периферичної крові може бути використана як показник для виявлення експозиції азбестом. Не достатньо вивченим є дія на лімфоцити таких протеїнів, як PDGF (тромбоцитарний фактор росту), TGF-b1 (відомий як продукований мезотеліомою фактор росту). Уважається, що недоліком цих досліджень було те, що вони проводилися серед обмеженої кількості пацієнтів, хворих на ЗМ [56].

«*Гіпотеза заплутування хромосом*» пояснюється тим, що азбестові волокна можуть активно захоплюватися різними типами клітин. У свою чергу, волокна потрапляють як до їх цитоплазми, так і проникають в ядро. Під час поділу клітин волокна азбесту можуть зв'язуватися з хромосомами, однак залишається відкритим питання специфіки взаємодії з будь-якою ділянкою хромосом [45].

Теорія «адсорбції» спирається на той факт, що поверхня азбестових волокон має високу спорідненість до деяких протеїнів та інших речовин (металів, бенз[а]пірену, ДНК тощо). Це може, у першу чергу, змінювати заряд на поверхні волокна, що впливає на його властивості. Показано, що волокна азбесту полегшують попадання в здорову клітину чужорідної ДНК, яка може вбудовуватися в геном людини, викликаючи мутації кількома шляхами:

- активації онкогенів;
- активації прото-онкогенів шляхом включення чужорідної ДНК, яка має регіон-промоутер;
- блокування механізмів апоптозу;
- інактивації генів-супресорів пухлин;

– активації ензимів, що беруть участь у репарації ДНК (відповідають за репарацію пошкодженої ДНК, що приводить до помилок, які стають причиною мутацій) [8, 37, 45].

Тривалий латентний період між експозицією азбестом та маніфестацією ЗМ пояснюється припущенням про те, що цей час необхідний для того, щоб азбестові волокна насичили парієнтальну плевру, чому протистоїть негативний тиск у плевральній порожнині, а також для накопичення генетичних та епігенетичних змін, які ведуть до злоякісної трансформації клітин [45].

Молекулярні механізми патогенезу ЗМ залежно від виду азбестових волокон. У 2001–2003 роках ЄС був спеціально створений робочий проект «FIBRETOX» (загальною вартістю 1,8 млн євро), метою якого було розробити адекватні методи оцінки волокнистих матеріалів-замінників азбесту. Вивчалися волокна мінеральної вати японського стандарту RW1, скловолокна типу MMVF10 та волластоніт. Додатковими розділами дослідження стали: 1) порівняння їх інтеракції з компонентами тютюну (бенз [а]пірену) та вивчення синергії в генотоксичній та канцерогенній дії; 2) пошук біомаркерів раннього ефекту при експозиції вказаними волокнами. У результаті досліджень у культурі легеневих макрофагів та епітеліоцитів II *in vitro* та щурів лінії F344 *in vivo* було показано, що волокна всіх типів викликають ранні ефекти запалення в легенях. Але при дії волокон амозиту та RW1 цей ефект був найбільш вираженим та проявлявся протягом 16 тижнів після закінчення інтратрахеальної експозиції. Разом із цим у тканині легень спостерігали пошкодження ДНК та стимуляцію процесів мутагенезу. Аналіз отриманих даних дозволив зробити висновок про те, що ключову роль у генотоксичному та канцерогенному ефекті досліджуваних волокон відіграє не фактор присутності заліза в складі амозиту (як передбачалося раніше), а персистуюче та довготривале запалення легеневої тканини. Було показано, що сумісна дія бенз [а]пірену (головного канцерогену тютюнового диму) та досліджуваних волокон амозиту та RW1 збільшували ефект мутагенезу в легенях, але цей ефект не підтвердився при дії скловолокон MMVF10 [11].

In vitro хризотил та крокидоліт у концентраціях від 0,5 до 8 мкг/см^2 у системі гібридної лінії клітин людини-хом'яка AL викликали як інтрагенні, так і мультилокусні мутації. Дослідження підтвердили, що більшість генних мутацій – численні делеції базових пар (від тисячі до кількох мільйонів) [12, 13]. В іншій системі лімфоцитів людини вплив крокидоліту та еріоніту (у концентраціях 50 та 200 мкг/мл протягом 72 год) приводив до втрати гетерозиготності в аутосомному HLA-A локусі та інших дистальних локусах. При експозиції клітин лінії мезотеліоми людини крокидолітом у концентраціях 18,75 та 75 мкг/см^2 протягом 72 год була зафіксована втрата клітинами гетерозиготності [14]. А після впливу крокидоліту в концентрації 6 мкг/см^2 протягом 24 год у трансгенних клітинах китайського хом'ячка (hgprt$^-$, gpt+V79) спостерігалося підвищення в 2 рази частоти мутацій у локусі глютамат-піруват трансаміназ G12 [15]. У первинних ембріональних фібробластах миші, ізольованих від gpt дельта трансгенних мишей, після впливу хризотилового азбесту в концентрації від 1 до 4 мкг/см^2 протягом 24 год було зафіксовано підвищення лямбда-мутантів. Також при дії азбесту зростає кількість пошкоджень ДНК, таких як ДНК-аддукти та розриви ДНК [16].

Хромосомні мутації, індуковані азбестом, можуть бути структурними (делеції, транслокації, дуплікації та обмін сестринськими хроматидами), або кількісними (анеуплоїдія, поліплоїдія, гіпердіплоїдія). Ці мутації з'являються при різних типах пошкодження хромосом, викликаних дією азбестових волокон: розлам, фрагментація (мікроядра), відставання хромосом, обмін сегментами між двома хромосомами, неправильна сегрегація хромосом [6].

Численні цитогенетичні дослідження, проведені з 1970 до 1990 року демонструють, що різні типи азбесту (хризотил, крокидоліт, амозит, тремоліт) викликають кількісні хромосомні зміни або структурні хромосомні аберації в мета- та анафазі (відставання хромосом, утворення містків, фрагментів, порушення обміну) у культурі клітин ссавців, лімфоцитів людини, клітинах яєчника китайського хом'яка, фібробластів людини, мезотеліальних клітинах людини та щурів, ембріональних клітинах сирійського хом'яка при короткочасовій експозиції (6–96 год.). Концентрація волокон у цих дослідженнях була від 0,5 до 4 мкг/см^2 або від 0,1 до 10 мкг/мл. Значне підвищення хромосомних аберацій зареєстроване при концентрації волокон нижче 0,1 мкг/мл [6, 17].

Деякі дослідники вказували на різний ступінь прояву ефекту залежно від типу волокон. Наприклад, 2 мкг/см^2 хризотилу (канадський хризотил) мав більш потужний несприятливий цитоге-

нетичний ефект та викликав більшу трансформацію ембріональних клітин сирійського хом'яка, ніж крокидоліт (стандарт UICC – Міжнародного союзу з боротьби з раком) й тонкі скловолокна, у той час, як товсті волокна скла мали набагато менший ефект, а безволоконний альфа-кварц – не виявив указаного ефекту взагалі [18]. Інші дослідження показали, що канадський хризотиловий азбест може викликати хромосомні порушення в концентрації від 2 мкг/см^2, у той час, як крокидоліт (UICC) мав такий ефект у вищих концентраціях – 7 мкг/ см^2. Але, коли волокна були перераховані на кількість довгих та тонких волокон (більше 8 мкм, завдовжки та діаметром ≤ 0,25 мкм), крокидоліт виявився більш небезпечним, ніж хризотил [18]. Було показано, що фізичні характеристики волокон впливають на силу індукції хромосомних мутацій [5].

Пізніше, із застосуванням методів фарбування кінетохор, суправітальної ультрафіолетової мікроскопії та флюорисцентної *in situ* гібридизації (FISH), було показано, що стандартні зразки (UICC) амозиту, хризотилу та крокидоліту після 48 та 66 год експозиції в концентраціях від 0,5 до 10 мкг/см^2 значно підвищували індукцію мікроядер, розламів, втрату хромосом, гіпердиплоїдію в клітинах амніотичної рідини людини та ембріональних клітинах сирійського хом'яка, які були прямопропорційні концентрації волокон. Величина виявлених ефектів залежала не тільки від концентрації, але й від типу клітин та виду волокон [19, 20].

Уважається, що недоліками цих досліджень було те, що концентрації досліджуваних речовин значно перевищували ті, які бувають при професійній експозиції людини. Також не було використано клітини-мішені легенів та плеврального мезотелію людини. На відміну від широкого спектра досліджень *in vitro* сьогодні залишаються доступними лише обмежена кількість даних, отриманих у дослідженнях *in vivo* [6].

S. Toyokuni (2009 р.) спостерігав індуковану мезотеліому очеревини, коли самкам щурів інтраперитонеально вводили волокна крокидоліту. Виникнення перитонеальної мезотеліоми було зареєстровано і при введені сахарату заліза, який накопичувався в тканині очеревини. Навпаки, при повторному інтраперитонеальному введенні нітрилтриацетату заліза, який є розчинним хелатом заліза при нейтральному pH, визначено активацію оксидативного стресу в проксимальних канальцях нирок, що було пов'язано з підвищенням випадків карциноми нирок [21]. Kociok et al. (1999 р.) при одноразовому інтраперитонеальному введенні 2 мг крокидоліту визначили делеції ДНК у клітинах перитонеальної пухлини щурів (частота мутацій 14,8 %) [22]. У результаті досліджень Rihn et al. (2000 р.), коли трансгенні миші з геном-репортером lacI (яких використовують як модель для дослідження мутаційної та канцерогенної активності речовин *in vivo*) протягом 5 днів (6 год/день) були інтраназально експоновані 5,75 мг/м^3 крокидолітом, показали підвищення частоти мутацій гена-lacI у наступні чотири тижні після експозиції, при цьому ДНК-аддукти клітин легенів у дослідженій групі були незмінними [23].

Після інтратрахеальної експозиції амозитом (2 мг одноразова доза та 2 мг тижнева чотириразова доза) трансгенних lambda-lacI щурів (Big Blue) через 16 тижнів після експозиції було відмічено значне підвищення частоти мутацій ДНК у клітинах легеневої тканини. Ці самі автори повідомили, що експозиція трансгенних мишей Big Blue тією самою дозою стандартних зразків волокон мінеральної вати (1700 волокон/мкг, середня довжина 23 мкм, період напіввиведення 3–4 місяці) також була причиною дозо-залежного підвищення через 16 тижнів після експозиції частоти мутацій. У той самий час стандартні волокна скловати MMVF10 (штучні волокна № 10: уміщують 8300 волокон із їхньою середньою довжиною – 26 мкм, періодом напіввиведення – 37 днів) у всіх досліджуваних концентраціях не підвищували частоту мутацій. Це дало можливість припустити, що волокна, які характеризуються великим періодом напіввиведення з організму, мають більший мутагенний ефект, ніж біодеградабельні волокна [24].

Дослідження серед робітників, які працюють із хризотиловим азбестом, довели, що існує кореляційний зв'язок між експозицією вказаним мінералом та мутагенними і цитогенетичними порушеннями в лімфоцитах їхньої периферійної крові. Також виявлено зростання мутацій 1, 2, 3-ї пар хромосом залежно від тривалості професійної експозиції азбестом ізолювальників (у середньому 27,4 років) [25]. Серед 61 словацьких робітників цементного заводу, які знаходилися в умовах хронічної експозиції хризотиловим азбестом упродовж 5–40 років, було зареєстровано значно вищу частоту мутацій та окиснених піримідинів, порівняно з контрольною групою [26, 27]. У той самий час серед 31 російських робітників, що працювали з хризотиловим

азбестом (у двох обстежених групах, де період експонування був меншим за 1,5 року та понад 10 років) не було виявлено статистично значимих змін у частоті хромосомних аберацій лімфоцитів порівняно з контрольною групою [28]. Обстеження 30 жителів Турції, що мешкають у районах підвищеного вмісту хризотилових волокон в атмосферному повітрі, не показало значимих генетичних змін порівняно з неекспонованим населенням [29].

У результаті досліджень пухлинного матеріалу було зафіксовано численні зміни в генетичному апараті хворих на мезотеліому та рак легенів: 1) втрату гетерозиготності, 2) делецію хромосоми 9p21.3, 3) зміни моделі метилування генів циклін залежного інгібітора кінази 2A (CDKN2A), p14ARF, $p16^{INK4a}$, CDKN2B, гена 22q, гена нейрофіброматозу 2 (NF2) та гена 3p/fragile histidine triad (FHIT) [30–33].

B. C. Christensen et al., вивчаючи гіперметилування промоутерів шести генів, контролюючих клітинний цикл та механізми росту (у 70 хворих на злоякісну мезотеліому плеври) показали, що їхнє метилування залежало від віку пацієнтів, демографічних факторів, гістологічної характеристики пухлини та терміну або концентрації експозиції азбестом. Метилування RASSF1 спостерігалося в 32 % випадках злоякісної мезотеліоми плеври (n = 66), яке асоціювалося із дією вірусу SV-40 (Simian вакуолізуючий вірус 40). Метилування гена RASSF1 також корелювало з підвищеним умістом азбестових тілець у легенях (у 33 % випадків захворювання). Не було знайдено залежності між віком пацієнтів та підвищенням метилуванням генів CCND2 (тип циклінів) та RASSF1, хоча добре відомо, що, наприклад, гіперметилування гена CpG зростає залежно від віку та інактивує RASSF1. Ці дані показують, що метилування генів є одним з вирішальних механізмів взаємодії між волокнами азбесту та клітинами парієнтальної плеври. Дотепер залишається не відомим, яким чином експозиція азбестом впливає на дезактивацію генів супресорів пухлин (TSG). Також дослідники стверджують, що необхідні подальші дослідження ролі вікового фактора в розвитку злоякісної мезотеліоми [34].

Канцерогенез – це багатоетапний процес, який складається з порушень на генетичному та епігенетичному рівнях. Патогенетичні механізми виникнення злоякісних новоутворень та фіброзу під дією азбесту дотепер недостатньо вивчені [21]. Численні дослідження *in vivo* та *in vitro* підтверджують, що біологічна активність азбестових волокон детермінується такими чинниками, як: розмір, фізико-хімічна характеристика поверхні, форма та кристалічність, хімічний склад, міцність, шляхи надходження до організму, час експозиції та доза. При цьому, ключовими факторами патогенезу сьогодні визнано оксидативний стрес, хронічне запалення, генетичні та епігенетичні альтерації, цитотоксичність та фіброз, які індукуються всіма відомими типами азбесту [6, 35].

Як було показано вище, злоякісна мезотеліома (ЗМ) є результатом акумуляції численних генетичних змін, що відбуваються під час патологічного процесу, унаслідок якого розвивається злоякісна трансформація клітин [21].

При цьому показано, що молекулярно-генетичні зміни, які характерні для інших видів раку (порушення генів p53 та ras) не завжди характерні для дифузної злоякісної мезотеліоми [36, 37]. Дослідження хромосомних аномалій демонструє, що більшість ЗМ мають характерний каріотип, який складається з 39 анеуплоїдних хромосом та хромосом зі структурними порушеннями, наприклад, у коротких плечах 1, 3 та 9 хромосом та в довгому плечі 6 хромосоми. Також характерним для більшості ЗМ є втрата однієї копії 22 хромосоми [38]. У лінії клітин ЗМ не було знайдено продуктів експресії гена $p16^{INK4A}$ та інгібітора циклін-залежної кінази (p21). Частіше, ніж при інших видах раку, було зареєстровано епігенетичні механізми порушення в локусі 9p21 гена $p16^{INK4A}$, унаслідок чого знижувалася його експресія. Втрата генетичного матеріалу в локусі 9p21 призводила до збою механізмів регуляції клітинного циклу через гени pRb та p53 [31, 39]. Ген NF2 найбільше асоціюється із втратою 22-ї хромосоми та мутаціями, які частіше визначаються в ньому [40, 41]. Дослідження визначили, що процес росту мезотеліальних клітин тісно пов'язаний із геном YAP1. Транскрипційна активність YAP1 функціонально інгібується протеїном Merlin шляхом фосфорилювання та цитоплазматичного утримування YAP1. Було відмічено мутації гена WT1, який відповідає за синтез протеїну WT1, присутній як у мезотелії, так і в клітинах ЗМ, де знаходять підвищення рівня цього протеїну. З використанням імуноцитохімічного аналізу визначено підвищення синтезу протеїну WT1 у 75–100 % мезотеліом та ліній клітин, після експозиції азбестом [42].

Дослідження O. D. Roe et al., які включали вивчення генотипу та порівняльну характеристику фенотипу плевральної ЗМ, показали, що існує різниця в експресії 392 генів між нормальною парієнтальною та вісцеральною плеврою. Експресія 341 генів парієнтальної плеври була пригніченою, та 52 гени характеризувалися вираженою експресією. Порівняно з вісцеральною плеврою в парієтальній спостерігалася знижена експресія таких важливих генів, як тих, що відповідають за характеристики мембрани клітин, передачу сигналу, адгезії, інтегринів (ITGA2, ITGB3, ITGA8), клаудинів (CLDN4, CLDN7), протеїнкіназ (PRKCE, PRKCZ) та сіндекан 1 (SDC1), фокальної адгезії (KEGG PATHWAYS), ендотеліальної міграції лейкоцитів. Ці дані дали можливість зробити припущення, що така різниця у фенотипі вісцеральної та парієтальної плеври і робить останню більш чутливою до злоякісної трансформації. У тканині ЗМ на відміну від нормальної парієтальної плеври спостерігалася підвищена експресія генів, що відповідають за такі функції як: клітинний цикл, репарація ДНК, властивості цитоскелету та інші гени, пов'язані з розвитком багатоклітинного організму та міжклітинних зв'язків, захистом, адгезією, деяких генів циркадного ритму, гена-супресора пухлин DLC1, кавеолін-1 та гелсоліну. На відміну від злоякісних пухлин іншого походження були також знижені функції таких генів, як антиапоптичного (Bcl-2), онкогена (FOS) та гена множинної резистентності до медикаментів (ABCB) [43].

Додавання нетоксичних концентрацій амфіболових волокон Libby «six-mix» (отриманого з від United States Geological Service (USGS) у концентрації $15 \cdot 10^6$ мкм^2/см^2 на 24 год у культуру клітин мезотелію людини ліній LP9/TERT-1 та іммортелізованих клітин лінії hTERT, які функціонально та фенотипічно відповідають клітинам нормального мезотелію людини, викликало достовірні зміни ($p < 0,05$) у 111 генах у той час, як крокидолітові волокна в таких самих концентраціях стали причиною значних змін в експресії 205 генів. Збільшення експресії генів SOD2 (супероксид дисмутаза-2) та HO-1 (гемоксигенази-1) асоціювалися з підвищенням продукції оксидантів та транзитного зниження внутріклітинного глютатіону, який є антиоксидантом. Ці результати стали основою в розумінні ролі SOD2 у проліферації та апоптозі мезотеліальних клітин, а також у можливості використання дослідження рівнів SOD2 як біомаркера ранньої відповіді на вплив азбестових волокон, який призводить до розвитку злоякісної мезотеліоми [44].

У дослідах у культурі клітин плеврального мезотелію щурів, які експонувалися волокнами крокидоліту в концентраціях від 1,24 до 10 мкг/см^2/ в лунці спостерігалося дозо-залежне збільшення мРНК, прото-онкогенів c-fos, c-jun, та AP-1 та зниження синтезу ДНК у клітинах, активація процесів апоптозу [57].

Дослідження, проведенні в центрі раку Гаваїв виявили, що мутації BAP1 (спадкові дефекти гена, що присутні в кожній клітині) асоційовані зі схильністю до розвитку злоякісної мезотеліоми, увеальної меланоми, меланоми шкіри. Було показано, що комплекс таких факторів як експозиція азбестом і мутації гена BAP1 підвищують ризик виникнення ЗМ у людини [75].

Патогенетична роль вірусу SV-40 у виникненні ЗМ. Не дивлячись на те, що розпочинаючи з 1960 року було визнано зв'язок між експозицією азбестом та виникненням ЗМ, зафіксовано й інші випадки захворювання на мезотеліому в людей, які ніколи не мали контакту з азбестом. Таким чином, серед інших факторів ризику, що можуть провокувати розвиток ЗМ у людини, припускають і такі, як радіація, неазбестові мінеральні волокна (зокрема, еріоніт), органічні хімічні речовини, деякі метали, хронічне запалення плеври будь-якої етіології, вуглецеві нанотрубки, які своєю структурою подібні до азбестових волокон, та Simian вірус 40 (SV-40) [58].

Вакуолізуючий мавпячий вірус SV-40 (40 нм у діаметрі) – ікосаедричний, не запакований ДНК вірус роду поліомавірус. Він був відкритий Maurice Hilleman у 1960 році як контамінант вакцин проти поліомієліту. Пероральну (Себіна) та парентеральну (Солка) вакцини, які були застосовані, отримували, використовуючи первинну лінію клітин нирки макаки Rhesus та Cynomolgous, які містили вірус SV40 [59]. Приблизна кількість пацієнтів у США, які вакцинувалися такою вакциною, досягла 98 млн осіб [60]. У той час, коли в парентеральній вакцині після 1963 року вірус SV-40 уже не виявлявся, його знаходили в пероральній вакцині проти поліомієліту ще до 1970-х років. Окрім США, обидві вакцини використовували в країнах колишнього СРСР, Японії, Великобританії, Італії, Мексиці, у деяких країнах Центральної Америки тощо протягом 1950–1960-х рр. За останні 50 років проведено

велику кількість досліджень (деякі з них продовжують і дотепер), у яких вивчали можливі ефекти при зараженні вірусом SV-40 на здоров'я людей [61]. Так, у дослідах на клітинах людини та тварин *in vitro* було показано, що вірус SV40 призводить до злоякісної трансформації клітин, а також проявляє свої онкогенні властивості при інтраперитонеальному та інтраперикардіальному введенні тваринам *in vivo*. Злоякісне перетворення відбувається, коли ДНК вірусу SV-40 інтегрується в геном клітини або залишається в стабільній епісомальній формі в цитозолі [62]. У мишей вірус SV-40 викликає процеси малігнізації, опосередковані двома віральними протеїнами: великим Т антигеном (Tag) та малим t антигеном (tag). Tag є одним із сильніших онкогенних протеїнів, виступаючи транскрипціональним блокатором гена супресора пухлин. У свою чергу tag інгібує протеїн фосфатазу 2А та виступає модулятором Tag. Інша важлива роль Tag — це пряме зв'язування та інактивація експресії p53 та Rb, а також індукції інсулін-подібного фактора росту-1 (I-LGF1) і його рецепторів. p53-Tag комплекс діє як транскрипційний фактор індукції I-LGF1 промоутера. Експериментальні дані показали, що ко-експресія генів вірусу SV40 Tag та tag, активність теломераз та гена hRAS, який локалізується в короткому плечі (p) 11 хромосоми (кодує білок GTPase Hras), або протеїну трансформації p21, відповідального за регуляцію поділу клітин у відповідь на стимуляцію фактора росту, — є комбінацією чинників, що призводять до стабільної трансформації клітин людини *in vitro* [62, 63].

За допомогою ПЦР була знайдена ДНК вірусу SV-40 у деяких рідкісних пухлинах, таких як: ЗМ, остеосаркома, епендімома, пухлини судинного сплетення мозку, не Ходжкінська лімфома [64—68]. У 1994 році Carbone et al. визначили SV-40-подібні послідовності в геномі клітин мезотелію кількох хворих на ЗМ, що викликало численні дебати [69]. У 1997 році була сформована міжнародна робоча група з дослідження вірусу SV-40, задачею якої стало вивчення присутності вірусу в тканинах людини. У реалізації цієї програми брало участь дев'ять лабораторій (засновані та організовані Національним інститутом раку США), яким було надано 25 парних дублікатів зразків ЗМ людини, один набір з 25 зразків нормальної тканини легенів людини та позитивні й негативні контрольні зразки. Результати показали, що ні в одному зі зразків досліджених тканин ЗМ, ДНК вірусу SV-40 виявлено не було [69]. Визначення ДНК вірусу SV-40 у клітинах кількох хворих на ЗМ дало можливість припустити, що він може бути ко-фактором канцерогенезу, який відіграє роль у більшій ураженості частини людей, експонованих азбестом, у плані розвитку ЗМ [70]. У той самий час, послідовності SV-40 були виявлені за допомогою ПЦР у крові 16 % здорового контингенту населення, яке проживає в місті Касале Монферато (Італія), де історично спостерігалося забруднення оточуючого середовища азбестом [71].

Дослідження *in vitro* показали, що вірус SV-40 інтегрується в геном тільки двадцяти процентів інфікованих фібробластів або епітеліальних клітин (з частотою 1/107). Ураження фібробластів вірусом SV-40, в основному, призводить до лізису клітин, що запобігає їхній злоякісній трансформації. На відміну від фібробластів та епітеліальних, мезотеліальні клітини більш сприйнятливі до інфікування вірусом SV-40. При цьому близько 80 % цих клітин переживають таке інфікування у вигляді латентної інфекції. Заражені мезотеліальні клітини активно експресують білок Tag, але не продукують вірусні частинки. Більшою мірою ніж інші клітини, інфіковані вірусом SV-40, клітини мезотелію трансформуються в злоякісні (з частотою 1 до 10^3) [72].

Останні дослідження визначили канцерогенний ефект крокидолітового азбесту в культурах мезотеліальних клітин хом'яка та людини при поєднанні з їх інфікуванням вірусом SV-40. У дослідах було виявлено, що мезотеліальні клітини людини мають однакову чутливість до генотоксичної дії азбесту та трансформації, викликаної вірусом SV-40. Указане дозволило зробити припущення, що останній фактор має ключову роль у злоякісній трансформації мезотелію, який також піддавався ураженню азбестовими волокнами [73].

Вірус SV-40 проявляє високий імуногенний ефект та генерує як синтез специфічних антитіл, так і відповідь Т-лімфоцитів [74].

Висновки

Результати аналізу наукової літератури показали, що:

1) відсутній прямий причинно-наслідковий зв'язок між експозицією азбестом, виникненням мутацій у клітинах-мішенях (епітелій органів дихання, мезотелій) та виникненням злоякісних новоутворень, що пов'язано із домінуванням

епігенетичних механізмів канцерогенезу, викликаних ізольованим впливом азбесту на клітини-макрофаги із хронічною та інтенсивною активізацією вільно-радикальних механізмів канцерогенезу. При цьому залишаються не до кінця визначеними причини різної частоти індукції злоякісних новоутворень під впливом різних видів азбесту (крокидоліт > > амозит > > хризотил);

2) залишаються нез'ясованими причини виникнення злоякісної мезотеліоми серед осіб, які ніколи не зазнавали експозиції азбестом, а також механізми резистентності у виникненні онкологічної патології в осіб, які зазнали такого тривалого та інтенсивного впливу;

3) дослідженнями показана ко-канцерогенна роль вірусу SV-40 у виникненні злоякісної мезотеліоми на фоні впливу азбесту, однак залишається не до кінця з'ясованою можливість ініціації та промоції вірусом SV-40 цієї патології без участі азбесту;

4) доведено, що поліморфізм генів є причиною підвищеної чутливості організму до виникнення онкологічної патології, однак залишається не з'ясованою роль комбінації генотипу, наявності латентної інфекції SV-40 та експонування різними видами азбесту;

5) хоча багатьма дослідженнями доведено, що азбестові волокна впливають на мезотеліальні, альвеліоцити II типу, імунокомпетентні клітини, макрофаги, не достатньо з'ясовано: яким чином відбувається інтеракція лімфоцитарно-макрофагальної ланки із клітинами мезотелію та, що саме відіграє провідну роль у злоякісній трансформації мезотелію. Це питання доводить необхідність наукового вивчення ролі міжклітинних взаємодій при експозиції азбестом;

6) існують певні прогалини в знаннях про механізми та патогенез злоякісної трансформації мезотеліальних клітин, а також, чому клітини імунної системи та мезотелію, уражені азбестовими волокнами, не піддаються апоптозу, а продовжують накопичувати геномні та хромосомні мутації, які залишаються неопізнаними імунокомпетентними клітинами. Усе вказане потребує подальшого детального вивчення, що дозволить встановити ранні маркери канцерогенного процесу в мезотелії людини та науково обґрунтувати способи індивідуальної профілактики ЗМ у осіб, які мають професійну експозицію азбестом.

Література

1. Asbestos. From Wikipedia, the free encyclopedia – Режим доступу: http://en.wikipedia.org/wiki/Asbestos.

2. Luus K. Asbestos: mining exposure, health effects and policy implications" / K. Luus // McGill Journal of Medicine.– 2007.– № 10 (2) – P. 121 – 126.

3. Craighead J. E. Asbestos and Its Diseases / J. E. Craighead, A. R. Gibbs.– New York, NY, USA: Oxford University Press, 2008.– P. 230 – 252.

4. Asbestos. EPA – Режим доступу: http://www.epa.gov/asbestos.

5. Barrett J. C. Multiple mechanisms for the carcinogenic effects of asbestos and other mineral fibers / J. C. Barrett [et al.] // Env. Health Perspecrives.– 1989.– Vol. 81 – P. 81 – 89.

6. Huang. Role of mutagenicity in asbestos fiber-induced carcinogenicity and other diseases / Sarah H. L. Huang [et al.] // Journal of toxicology and env. Health.– 2011.– № 14, Part B.– P. 179 – 245.

7. McDonald J. C. The epidemiology of mesothelioma in historical context / J. C. McDonald, A. D. McDonald // European Respiratory Journal.– 1996.– № 9.– P. 1932–1942.

8. Кундієв Ю. І. Професійний рак. Епідеміологія та профілактика / Ю. І. Кундієв, А. М. Нагорна, Д. В. Варивончик.– Київ, 2006.– 336 с.

9. Asbestos-related diseases. WHO.– Режим доступу: http://www.who.int/occupational_health/topics/asbestos_documents/en/index.html.

10. Christensen B. C. Asbestos exposure predicts cell cycle control gene promoter methylation in pleural mesothelioma / B. C. Christensen [et al.] // Carcinogenesis.– 2008.– V. 29, № 8 – P. 1555 – 15559.

11. The FIBRETOX Project: Mechanisms of toxicity of asbestos substitute mineral fibres: new approaches to hazard and risk assessment. The FIBRETOX Project: – Режим доступу: http://ec.europa.eu/research/environment/pdf/env_health_projects/chemicals/c-fibretox.pdf,

12. Hei T. K. Chrysotile fiber is a strong mutagen in mammalian cells / T. K. Hei [et al.] // Cancer Res.– 1992.– № 52.– P. 6305–6309.

13. Xu A. Mechanisms of genotoxicity of crocidolite asbestos in mammalian cells: implication from mutation patterns induced by reactive oxygen spesies / A. Xu, H. Zhou, D. Z. Yu // Environ. Health perspect.– 2002.– № 110.– P. 1003 – 1008.

14. Both K. Loss ofheterozygosity in asbestos-inducedmutationsin a human mesothelioma cell line / K. Both, D. R. Nurner, D. W. Henderson // Environ. Mol. Mutagen.– 1995.– № 26.– P. 67–71.

15. Xu A. Newinsightinto intrachromosomal delations inducedby chrysotile in the gpt delta transgenic mutation

assay / A. Xu [et al.] // Environ Health Perspect.– 2007.– № 115.– P. 87 – 92.

16. Jaurand M. C. Mechanisms of fiber-induced genotoxicity / M. C. Jaurand // Environ. Health. Perspect.– 1997.– № 105, Suppl. 5.– P. 1073–1084.

17. A mouse model recapitulating molecular features of human meesothelioma / D. A. Altomare [et al.] // Cancer. Res.– 2005.– № 65.– P. 8090–8095.

18. Induction of methaphase and anaphase/telophase abnormalities by asbestos fibers in rat pleural mesothelial cells in vitro / M. Yegles [et al.] // Respia. Cell. Mol. Biol.– 1993.– № 9.– P. 186–191.

19. Mitotic disturbances and micronucleus induction in Syrian hamster embryo fibroblast cells caused by asbestos fibers / E. Dopp [et al.] // Environ. Health Perspect.– 1995.– № 103.– P. 268–271.

20. ROS-mediated genotoxicity of asbestos-cement in mammalian lung cells in vitro / E. Dopp [et al.] // Part. Fibre. Toxicol.– 2005.– № 2.– P. 1–9.

21. Toyokuni S. Mechanisms of asbestos-induced cancerogenesis / S. Toyokuni // Nagoya J. Med. Sci.– 2009.– № 71.– P. 1–10.

22. DNA fingerprint analysis reveals differences in mutational patterns in experimentally induced rat peritoneal tumors, depending on the type of environmental mutagen / N. Kosiok [et al.] // Cancer Genet. Cytogenet.– 1999.– № 111.– P. 71–76.

23. Inhaled crocidolite mutagenicity in lung DNA / B. Rihn [et al.] // Environ. Health Perspect.– 2000.– № 108.– P. 341–346.

24. Mutagenesis by asbestos in the lang of lambda-lacI transgenic rats / J. Topinka [et al.] // Mutat. Res.– 2004.– № 553 (1–2).– P. 67–78.

25. Sister chromatid exchange frequency in asbestos workers / W.N. Rom [et al.] // JNCI.– 1983.– № 70.– P. 45–48.

26. Genotoxiceffects of asbestos in human / M. Dusinska [et al.] // Mutat. Res.– 2004.– № 553.– P. 91–102.

27. Genetic predisposition and health effect of occupational exposure to asbestos / A. Horska [et al.] // Neuro Endocrinol. Lett.– 2006.– № 27 (Suppl. 2).– P. 100–103.

28. Cytogenetic examination of workers engaged in manufacturing of asbestos technical products / N. P. Bochkov [et al.] // Cig. Tr. Prof. Zabol.– 1991.– № 12.– P. 10–11.

29. Investigation of micronucleus frequencies in lymphocytes of inhabitants environmentally exposed to chrysotile asbestos / Donmez-Altuntas [et al.] // Environ Health Res.– 2007.– № 17.– P. 45–51.

30. High frequency of inactivating mutations in the neurofibromatosis type 2 gene (NF2) in primary malignant mesotheliomas / A.B. Bianchi [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.– 1992.– № 92.– P. 10854–10858.

31. Alteration of the p161NK4 locus in human malignant mesothelial tumors / T. Hirao [et al.] // Carcinogenesis.– 2002.– № 23 – P. 1127–1130.

32. Tumor suppressor gene alterations in patients with malignant mesothelioma due to environmental asbestos exposure in Turkey / E. Tug [et al.] // J. Carcinogen.– 2006.– № 5 – P. 1–6.

33. Gene copy number analysis using oligonucleotide array CGH / Lindholm [et al.] // Cytogenet. Genome Res.– 2007.– № 119.– P. 46–52.

34. Asbestos exposure predicts cell cycle control gene promoter methylation in pleural mesothelioma / C.Christensen [et al.] / / Cancerogenesis.– 2008.– V. 29, № 8.– P. 1555–1559.

35. IARC. Overall evaluations of carcinogenicity: An updating of IARC monographs // IARC Monogr. Eval. Carcinogen. Risks Hum.– Lyon, France, 1987.– V. 1 – 42 p.

36. Carbone M. The pathogenesis of mesothelioma / M. Carbone, R. Kratzke, J. Tesla // Semi. Oncol.– 2002.– № 29.– P. 2–17.

37. Молекулярная диагностика опухолей / С. П. Осинский [и соавт.].– Киев, Изд. «ДИА», 2007.– 246 с.

38. Recurrent deletion of specific chromosomal sites in 1p, 3p, 6q in human malignant mesothelioma / T. Taguchi [et al.] // Cancer Res.– 1993.– № 53.– P. 4349–4355.

39. Abberant methylation and simian virus 40 tag sequences in malignant mesothelioma / Toyooka S. [et al.] // Cancer Res.– 2001.– № 61.– P. 5727–5730.

40. Neurofibromatosis type 2 (NF2) gene is somatically mutated in mesothelioma but not in lung cancer / Y. Sekido [et al.] // Cacer Res.– 1995.– № 55.– P. 1227 –1231.

41. High frequency of inactivating mutations in the neurofibromatosis type 2 gene (NF2) in primary malignant mesotheliomas / A. Bianchi [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.– 1995.– № 92.– P. 10854–10858.

42. YAP1 is involved in mesothelioma development and negatively regulated by Merlin through phosphorylation / T. Yokoyama [et al.] / / Carcinogenesis.– 2008.– № 29.– P. 2139–2146.

43. Genome-Wide Profile of Pleural Mesothelioma versus Parietal and Visceral Pleura: The Emerging Gene Portrait of the Mesothelioma Phenotype / O. D. Roe [et al.] // PLoS One.– 2009.– № 4 (8).– P. 1–15.

44. Mechanisms of oxidative stress and alterations ingene expression by Libby six-mix in human mesothelial cells / Jedd M Hillegass [et al.] // Particle and Fibre Toxicology.– 2010.– № 7.– P. 1–15.

45. Toyokuni S. Mechanisms of asbestos-induced cancerogenesis / S. Toyokuni // Nagoya J. Med.– 2009.– № 71.– P. 1–10.

46. Mossman B. T. Carcinogenesis and related cell and tissue responses to asbestos: a review / B. T. Mossman // Ann. Occup. Hyg.– 1994.– № 38 (4).– P. 617.

47. Craighead J. E. The pathology of asbestos-associated diseases of the lungs and pleural cavities: diagnostic criteria and proposed grading schema. Report of the Pneumoconiosis Committee of the College of American Pathologists and the National Institute for Occupational Safety and Health / J. E. Craighead, J. L. Abraham, A. Churg [et al.] // Arch. Pathol. Lab. Med.– 1982.– № 106 (11).– P. 544–596.

48. Jaurand M. C. Particulate-state carcinogenesis: a survey of recent studies on the mechanisms of action of fibres / M. C. Jaurand // IARC Sci. Publ.– 1989.– № 90.– P. 54–73.

49. Suzuki Y. Interaction of asbestos with alveolar cells / Y. Suzuki // Env. Health. Persp.– 1974.– V. 9.– P. 241–252.

50. Effects of asbestos fibers on alveolar macrophage-mediated lymphocyte cytostasis / B. E. Bozelka [et al.] // Environmental research.– 1986.– V. 40, Issue 1.– P. 172–180.

51. The role of macrophages in asbestos-induced carcinogenesis / L. N. Pylev [et al.] // Вопросы онкологии.– 2004.– № 50 (6).– P. 678–682.

52. The role of free radicals in asbestos diseases / D. W. Kamp [et al.] // Rad. Biol. Med.– 1992.– № 12.– P. 293–315.

53. Goodglick L. A. Membrane Perturbation by Asbestos Fibers and Disease, Cellular Membrane: A Key to Disease Processes / L. A. Goodglick, A. B. Kane // Membrane Linked Diseases.– 1993.– № 1.– P. 123–139.

54. Asbestos-Induced Cellular andMolecular Alteration of Immunocompetent Cells and Their Relationship with Chronic Inflammation and Carcinogenesis / H. Matsuzaki [et al.] // Journal of Biomedicine and Biotechnology.– 2012.– V. 2012.– P. 1–9.

55. Kanceljak-Macan B. Immunological aspects of asbestos-related diseases / B. Kanceljak-Macan // Arh Hig Rada Toksikol.– 2009.– № 60.– P. 45–50.

56. Immunological alterations found in mesothelioma patients and supporting experimental evidence / Yoshie Miuraet [et al.] // Environ Health Prev Med.– 2008.– № 13.– P. 55–59.

57. Apoptosis is observed in mesothelial cells after exposure to crocidolite asbestos / K A BeruBe [et al.] // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.– 1996.– V. 15, № 1.– P. 141–147.

58. Huncharek M. Nonasbestos related diffuse malignant mesothelioma / M. Huncharek // Tumori.– 2002.– № 88 (1) – P. 1–9.

59. SV40. From Wikipedia, the free encyclopedia – Режим доступу: http://en.wikipedia.org/wiki/SV40.

60. Mesothelioma mortality in Europe: impact of asbestos consumption and simian virus 40 / K. Leithner [et al.] // Orphanet. J. Rare. Dis.– 2006.– № 7.– P. 1–44.

61. Epidemiology of Simian Polyomavirus SV40 in Different Areas of Russian Federation (RF), Epidemiology Insights / B. Lapin and M. Chikobava.– 2012. Режим доступу: http://www.intechopen.com/books/epidemiologyinsights/epidemiologyof-poliomavirus-sv-40-in-different-regions-of-russia.

62. Gazdar A. F. SV40 and human tumours: myth, association or casuality& / A. F. Gazdar, J. S. Butel, M. Carbone // Nat. Rev. Cancer.– 2002.– № 2.– P. 957–964.

63. Hmeljak J. Presence and role of Simian Virus 40 (SV40) in malignant pleural mesothelioma / J. Hmeljak, A. Cor // Radiol. Oncol.– 2009.– № 43 (1).– P. 9–16.

64. SV40 DNA in human osteosarcomas shows sequence variation among T-antigen genes / J. A. Lednicky [et al.] // JA Int. J. Cancer.– 1997.– № 72.– P. 791–800.

65. SV40-like sequences in human bone tumors / M. Carbone [et al.] // Oncogene.– 1996.– № 13 – P. 527–535.

66. Bergsagel D. J. DNA sequences similar to those of simian virus 40 in ependymomas and choroid plexus tumors of childhood / D. J. Bergsagel // Engl. J. Med.– 1992.– № 326.– P. 988–993.

67. SV40 early region and large T antigen in human brain tumors, peripheral blood cells, and sperm fluids from healthy individuals / F. Martini [et al.] // Cancer Research.– 1996.– № 56 (20).– P. 4820–4825.

68. Natural simian virus 40 strains are present in human choroid plexus and ependymoma tumors / J. A. Lednicky [et al.] // Virology.– 1995.– № 212.– P. 710–717.

69. The International SV40 Working Group. A multicenter evaluation of assays for detection of SV40 DNA and results in masked mesothelioma specimens // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.– 2001.– № 10 (5).– P. 523–532.

70. SV40 Enhances the Risk of Malignant Mesothelioma among People Exposed to Asbestos: A Molecular Epidemiologic Case-Control Study / A. Cristaudo [et al.] // Cancer Res.– 2005.– № 65.– P. 3049–3052.

71. Simian virus 40 sequences in blood specimens from healthy individuals of Casale Monferrato, an industrial town with a history of asbestos pollution / C. Pancaldi [et al.] // Journal of Infection.– 2009.– № 58 (1).– P. 53–60.

72. Human mesothelial cells are unusually susceptible to simian virus 40-mediated transformation and asbestos cocarcinogenicity / M. Bocchetta [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci.– 2000.– № 97.– P. 10214–10219.

73. Effects of asbestos initiation of DNA breaks, p53-expression and apoptosis in primary, SV40-transformed and malignant human mesothelial cells / B. Burmeister [et al.] // Mutat. Res.– 2004.– № 558.– P. 81–92.

74. Ahuja D. SV40 large T antigen targets multiple cellular pathways to elicit cellular transformation / D. Ahuja, M. T. Sarenz-Robles, J. M. Pipas // Oncogene.– 2005.– № 24.– P. 7729–7745.

75. Germline BAP1 mutations predispose to malignant mesothelioma / J. R. Testa [et al] // Nat. Genet.– 2011.– № 43 (10).– P. 1022–1025.

76. Гігієнічні проблеми використання хризотилового азбесту в Україні / Ю. І. Кундієв [та ін.] // Український журнал з проблем медицини праці.– 2008.– № 4 (16).– С. 35–41.

77. До проблем нормування хризотил-азбесту в повітрі робочої зони / В. Є. Мошковський [та ін.] // Український журнал з проблем медицини праці.– 2012.– № 1 (29).– С. 21–25.

78. Чернюк В. И. Возможно ли безопасное использование хризотилового асбеста? Опыт Украины / В. И. Чернюк, Т. К. Кучерук, И. П. Лубянова [та ін.].– К.: Авиценна, 2008.– 36 с.

79. Сагула Т. Академик Юрий Кундиев: «Если шифер не пилить, не дробить и не разламывать, то это вполне безопасный материал» / Т. Сагула // Газета «Факты» – 24.07.12.

80. Варивончик Д. В. Анализ канцерогенной опасности для работающих на асбестоцементных производствах (аналитическое исследование с использованием мета-анализа) / Д. В. Варивончик // Український журнал з проблем медицини праці.– 2007.– № 1 (9).– С. 60–71.

81. П`ятниця-Горпинченко Н. К. Особливості умов праці робітників основних професій шиферних заводів України / Н. К. П`ятниця-Горпинченко // Довкілля та здоров`я.– 2008.– № 2.– С. 42–46.

82. Zoller T. Production of reactive oxygen species by phagocytic cells after exposure to glass wool and stone wool fibres-effect of fibre preincubation in aqueous solution / T. Zoller, W. J. Zeller // Toxicology Letters.– 2000.– № 114.– P. 1–9.

83. Варивончик Д. В. Эпидемиология злокачественной мезотелиомы в Украине (2001–2011) / Д. В. Варивончик // Укр. журн. з пробл. медицини праці України.– 2012.– № 4.– С. 56 – 69.

Марченко М. Л., Варивончик Д. В.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ МЕЗОТЕЛИОМЫ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ ЭКСПОЗИЦИЕЙ АСБЕСТА И ВИРУСОМ SV-40

ГУ «Институт медицины труда НАМН Украины», г. Киев

В исследовании проведен анализ данных литературы о состоянии изучения молекулярных механизмов патогенеза злокачественной мезотелиомы, обусловленной экспозицией асбестом и его различными видами, роли вируса SV-40 в патогенезе данной патологии. Установлено, что: 1) отсутствует прямая причинно-следственная связь между экспозицией асбестом, возникновением мутаций в клетках-мишенях (эпителий органов дыхания, мезотелий) и возникновением злокачественных новообразований, что связано с преобладанием эпигенетических механизмов канцерогенеза, вызванных изолированным воздействием асбеста на клетки-макрофаги с хронической и интенсивной активизацией свободно-радикальных механизмов канцерогенеза. При этом остаются не до конца определены причины различной частоты индукции злокачественных новообразований под воздействием различных видов асбеста (крокидолит > > амозит > > хризотил); 2) остаются невыясненными причины возникновения злокачественной мезотелиомы среди лиц, которые никогда не подвергались экспозиции асбестом, а также механизмы резистентности возникновения онкологической патологии среди лиц, ранее подвергшихся длительному и интенсивному воздействию азбестом; 3) исследованиями показана ко-канцерогенная роль вируса SV-40 в возникновении злокачественной мезотелиомы на фоне воздействия асбестом, однако остается не до конца выясненной возможность инициации и прогрессии канцерогенеза под воздействием вируса SV-40, без участия асбеста; 4) доказано, что полиморфизм генов является причиной повышенной чувствительности организма к возникновению онкологической патологии, однако остается невыясненной роль комбинации генотипа, наличии латентной инфекции SV-40 и экспонировании человека различными видами асбеста; 5) хотя многими исследованиями доказано, что асбестовые волокна влияют на мезотелиальные, альвелиоциты II типа, иммунокомпетентные клетки, макрофаги, недостаточно выяснено, каким образом происходит интеракция лимфоцитарно-макрофагального звена с клетками мезотелия, и как они влияют на процессы злокачественной трансформации мезотелия. Этот вопрос доказывает необходимость научного изучения роли межклеточных взаимодействий при экспозиции азбестом; 6) существуют определенные пробелы в знаниях о механизмах и патогенезе злокачественной трансформации мезотелиальных клеток относительно того, что клетки мезотелия, пораженные асбестовыми волокнами, не подвергаются апоптозу, а продолжают накапливать геномные и хромосомные мутации, которые остаются неопознанными иммунокомпетентными клетками. Все это требует дальнейшего детального изучения, что позволит установить ранние маркеры канцерогенного процесса в мезотелии человека и научно обосновать способы индивидуальной профилактики данной патологии у лиц, которые имеют профессиональную экспозицию асбестом.

Ключевые слова: злокачественная мезотелиома, асбест, вирус SV-40, патогенез

Marchenko M. L., Varyvonchyk D. V.

MOLECULAR MECHANISMS OF MALIGNANT MESOTHELIOMA, CAUSED BY THE EXPOSURE TO ASBESTOS AND TO SV-40 VIRUS

SI «Institute for Occupational Health of NAMS of Ukraine», Kyiv

The analysis of literature data on studying molecular mechanisms of the pathogenesis of malignant mesothelioma, caused by the exposure to asbestos and to its various types has been made, covering, also, the role of SV-40 virus in the pathogenesis of this pathology. 1) There is no direct cause-effect relation between asbestos exposure, occurrence of mutations in cell-targets (epithelium of respiration organs, mesothelium) and development of malignant neoplasm, associated with prevalence of epidemic mechanisms of carcinogenesis, caused by the isolated asbestos effect on cell macrophages with chronic and intensive activation of free-radical mechanisms of the carcinogenesis. However the reasons of induction of different frequency of malignant neoplasm, exposed to different types of asbestos (crokodolite > > amosite > > chrysotile), are remained up to be not clear. 2) The reasons of occurrence of malignant mesothelioma in individuals, which have never been exposed to asbestos, are not clarified as well as mechanisms of resistance in occurrence of cancer pathology in individuals, long-term and intensively exposed to asbestos. 3) The studies show the co-carcinogenic role of SV-40 virus in development of malignant mesothelioma at the background of asbestos exposure, however the probability of initiation and progression of carcinogenesis by SV-40 virus without part of asbestos is still not defined. 4) It is proved that gene polymorphism is the reason of the increased sensibility of the body to development of cancer pathology, however the role of the genotype combination, availability of the latent infection with SV-40 and human exposure to different types of asbestos, is remained unexplained. 5) Many scientists prove that asbestos fibers influence mesothelium, immunocompetent cells, alveliocytes of the II type, macrophages, however it is not yet enough clear in what way the interaction of lymphocyte-macrophage chain with mesothelium cells is taking place, and how they effect the processes of malignant transformation of the mesothelium. So, there is a need in further studying the role of intercellular interactions in exposure to asbestos. 6) There are certain gaps in the knowledge about mechanisms and pathogenesis of malignant transformation of mesothelium cells as well as why in cells of the mesothelium, affected by asbestos fibers, apoptosis is not developed and they continue to cumulate genome and chromosome mutations, which are remained not to be recognized by immunocompetent cells. So, further detailed studies are needed in order to establish earlier markers of the carcinogenic process in human mesothelium and to scientifically ground means of individual prevention of the mentioned pathology in individuals, occupational exposed to asbestos.

Key words: malignant mesothelioma, asbestos, SV-40 virus, pathogenesis

Надійшла: 23.01.13 р.

Контактна особа: Варивончик Денис Віталійович, доктор медичних наук, завідувач лабораторії канцерогенної небезпеки та профілактики професійного раку, ДУ «Інститут медицини праці НАМН України», вул. Саксаганського, 75, м. Київ, 01033. Тел.: +38 0 44 289 47 77. Електронна пошта: dv7@ukr.net