

VIOLATION OF PRO-ANTIOXIDANT BALANCE AS A MECHANISM OF GENOTOXIC DAMAGE UNDER JOINT ACTION OF EXOGENOUS NITROGEN OXIDES AND LOW DOSES OF IONIZING RADIATION DURING TUMOR GROWTH

Muzaliov I.I., Ganzha E.B., Makovetska L.I., Mikhailenko V.M.

ПОРУШЕННЯ ПРО-АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСУ ЯК МЕХАНІЗМ ВИНИКНЕННЯ ГЕНОТОКСИЧНИХ ПОШКОДЖЕНЬ В ОРГАНІЗМІ ЗА ПОЄДНАНОЇ ДІЇ ЕКЗОГЕННИХ ОКСИДІВ АЗОТУ ТА МАЛИХ ДОЗ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ ПРИ ПУХЛИННОМУ РОСТІ

У

сі живі організми на планеті, у тому числі й людина, зазнають постійної дії комплексу фізичних і хімічних факторів природного та антропогенного походження. Біологічні ефекти цих факторів можуть значно змінюватися за сумісного впливу, що призводить до підсилення їхньої шкідливості та виникнення комплексу негативних наслідків для здоров'я, які складно піддаються прогнозуванню. Генетичний статус, загальний стан організму та дія факторів навколишнього середовища впливають на характер хімічного і комбінованого уражень [1].

Вплив екзогенних факторів викликає 75-80% усіх випадків раку [2], з яких хімічні канцерогени відповідалні за утворення 80-90% усіх злویасних пухлин людини [3]. Особливу

увагу привертають оксиди азоту (ОА), які є одними з основних забруднювачів атмосферного повітря, а також підвищення природного радіаційного фону за рахунок інтенсифікації промислової, наукової та технічної діяльності людини. Обидва фактори — ОА та іонізуюча радіація (ІР) — використовуються також під час онкологічних захворювань окремо та у поєднанні.

ОА — системний біорегулятор та сигнальна молекула, яка бере участь у процесах канцерогенезу. Показано дозозалежний ефект ОА на виникнення аденокарциноми легенів людини [4].

Прояви токсичної дії ОА та ІР (прооксидантна та генотоксична) в основному опосередковані через генерацію високо-

**МУЗАЛЬОВ І.І., ГАНЖА О.Б.,
МАКОВЕЦЬКА Л.І.,
МИХАЙЛЕНКО В.М.**

Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, м. Київ

УДК 612.014.46/48:577.213/.2
17.616-006

НАРУШЕНИЕ ПРО-АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА В ОРГАНИЗМЕ КАК МЕХАНИЗМ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ДЕЙСТВИИ ЭКЗОГЕННЫХ ОКСИДОВ АЗОТА, МАЛЫХ ДОЗ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ И ОПУХОЛЕВОМ РОСТЕ

Музалев И.И., Ганжа Е.Б., Маковецкая Л.И., Михайленко В.М.

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины

Целью работы явилось изучение взаимосвязи между интенсивностью свободнорадикальных процессов (СРП), активностью антиоксидантных ферментов и развитием генетической нестабильности в организме при реализации генотоксических эффектов отдельного и комбинированного действия экзогенных оксидов азота (ОА) и малых доз ионизирующей радиации (МДИР) в процессе роста опухоли.

Методы исследования. Состояние свободнорадикальных процессов в крови исследовали методом индуцированной перекисью водорода хемилюминесценции (ХЛ). Уровень антиоксидантных ферментов оценивали по активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ) в крови крыс. Генотоксичность исследуемых факторов определяли с помощью щелочного горизонтального гель-электрофореза лимфоцитов периферической крови крыс.

Результаты исследований. Действие ОА вызвало глубокие нарушения баланса про- и антиоксидантных процессов, сопровождающихся

более длительным снижением интенсивности ХЛ в крови животных, чем действие МДИР. При совместном действии ОА и МДИР интегральный эффект нарушений окислительного метаболизма был обусловлен ОА.

Изменение активности антиоксидантных ферментов в крови после действия ОА и МДИР проявилось в кратковременном снижении активности КАТ на ранних этапах роста КГ, в то время как активность СОД оставалась сниженной и на поздних этапах роста опухоли, особенно при действии МДИР или ОА + МДИР. Нарушение про-антиоксидантного баланса в организме приводило к значительному повышению количества разрывов ДНК как при действии ОА, так и МДИР. Генотоксический эффект ОА нарастал с развитием опухоли и на 18-е сутки превысил контрольный в 2,9 раза. Комбинированное действие ОА и МДИР сопровождалось усилением повреждения ДНК лимфоцитов в 3,4-4 раза в зависимости от срока развития КГ. Таким образом, совместное действие ОА и МДИР вызывало нарушение про-антиоксидантного баланса в организме крыс, что сопровождалось длительным генотоксическим эффектом в ЛПК с нарастанием генетических повреждений у животных с опухолью после окончания непосредственного действия этих факторов.

Ключевые слова: экзогенные оксиды азота, малые дозы ионизирующей радиации, антиоксидантный баланс, генотоксические повреждения, опухолевый рост.

© Музалев І.І., Ганжа О.Б., Маковецька Л.І., Михайленко В.М. СТАТТЯ, 2013.

№4 2013 ENVIRONMENT & HEALTH 8

реактивних форм азоту та кисню. До спектру пошкоджень ДНК, що викликані прямою та опосередкованою дією ІР, відносять апуринові, апіримідинові сайти, одно-, двониткові розриви і формування зшивок. Малі дози ІР (МДІР) підвищують чутливість клітин до дії інших пошкоджуючих факторів.

ОА здатні модифікувати реакцію клітини на ІР двома шляхами: за рахунок хімічної модифікації молекули ДНК безпосередньо або їхніми реактивними похідними (реактивними формами азоту) та виступаючи в якості інгібіторів ферментів системи репарації [4].

Пошкодження ДНК за певних умов призводить до розвитку генетичної нестабільності та утворення мутацій. Розвиток генетичної нестабільності — одна з найбільш загальних характеристик формування та перебігу онкологічної патології. Генетична нестабільність виникає, зокрема, внаслідок комбінації оксидативного та нітрозативного пошкоджень ДНК, пухлиносцифічних дефектів у репарації ДНК і у результаті помилок у проходженні клітинного циклу. У якості біомаркера розвитку генетичної нестабільності і стану системи репарації використовують рівень пошкодження ДНК за формуванням одно- та двониткових розривів [5].

Загальним механізмом, що зумовлює реалізацію генотоксичних ефектів ОА та МДІР, вважають утворення реактивних форм кисню (РФК) та азоту (РФА). Близько 80% пошкоджень, що виникають за дії ІР, зумовлені впливом вільних радикалів. NO-радикали за дуже низьких концентрацій зумовлюють індукцію радіорезистентності та зниження рівня хромосомних аберацій. Але за більших концентрацій переважає їхня токсична та мутагенна дія [4].

РФК здатні безпосередньо викликати модифікацію активності або деградацію біомакромолекул, а також слугувати посередником реалізації канцерогенних ефектів інших речовин. Вони беруть участь в ініціації, промоції та прогресії онкологічної патології, причому наявність значних кількостей реактивних метаболітів в онкотрансформованих тканинах може відігравати важливу роль як у самому канцерогенезі, так і у поширенні патології по організму.



ФУНДАМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Оксидативний стрес, тобто підвищення рівня РФК, регулює пухлинний ріст за рахунок розвитку генетичної нестабільності, активації онкогенів та впливу на ангиогенез. Високий рівень утворення РФК та персистентний оксидативний стрес визнано характерною рисою пухлинних клітин як *in vitro*, так і *in vivo* [4].

Пероксидне окиснення поліненасичених жирних кислот (ПОЛ) через дію вільних радикалів (ВР) також є джерелом ендогенних генотоксичних речовин. Спектр потенційно небезпечних метаболітів, які при цьому утворюються, складається з гідропероксидів та інших речовин, що містять неспарені електрони (аклоксильні та пероксильні радикали). Крім того, формуються генотоксичні карбонільні речовини, зокрема малоновий діальдегід (МДА). Незважаючи на активність антиоксидантної системи у геномі щурів і людини спостерігається певна кількість адуктів ДНК, що утворилися за її взаємодії з продуктами ПОЛ.

Взаємодія МДА з ДНК характеризується широким спектром мутагенних проявів та призводить до утворення розривів ДНК, фрагментації хромосом, формування мікроядер, обмінів між сестринськими хроматидами. Продукти ПОЛ відіграють значну роль в онкогенезі, крім того, спостерігаються порушення нормального перебігу ПОЛ за пухлинного росту [6].

Суттєве значення у з'ясуванні механізмів патологічних змін, що виникають в організмі за дії різних чинників та їхніх комплексів, належить функціонально-метаболичному профілю клітин крові, яка несе інформацію про процеси, що відбуваються не лише у ній, але й в інших органах та тканинах. Одним з них є вільнорадикаль-

ні процеси (ВРП) — ініціатори подальших фізико-хімічних змін в органах і тканинах. У біологічних об'єктах розвиток ВРП супроводжується хемілюмінесценцією (ХЛ), рівень якої залежить від функціонального стану різних систем організму.

Детоксикація надлишку РФК може відбуватися за рахунок ендогенних неферментативних антиоксидантів, таких як білірубін, глутатіон, сульфгідрильні групи білків, екзогенних молекул з антиоксидантними властивостями (токоферол, аскорбінова кислота тощо) та ферментів антиоксидантного захисту клітини. Серед них центральну роль відіграють супероксиддисмутаза (СОД) та каталаза (КАТ).

Нині інформація щодо аналізу й оцінки рівня про- та антиоксидантних процесів в організмі, а також дії на генотоксичність комбінованих впливів радіаційно-хімічних чинників на організм під час росту пухлини є малодослідженою. У зв'язку з цим актуальним є вивчення взаємозв'язку між інтенсивністю ВРП, активністю антиоксидантних ферментів в організмі та розвитком генетичної нестабільності як елементів шляху реалізації канцерогенних ефектів окремої і комбінованої дії екзогенних ОА та МДІР у процесі росту пухлини.

Об'єкт та методи досліджень. У проведених дослідженнях використовували білих нелінійних самців-щурів вагою 120-150 г з віварію ІЕПОР НАНУ. Процедури з експериментальними тваринами проводили згідно з вимогами Державного комітету з етики.

Моделювання пухлинного процесу здійснювали шляхом введення щурам під шкіру стегна 0,5 мл суспензії клітин (5×10^6 клітин/мл) солідної пухлини карциноми Герена (КГ) у фізіологічному розчині.

Експериментальне дослідження проведено на 4-х групах тварин: 1 — інтактні щури (ІК), яким за 30 днів після отримання було перещеплено КГ (контроль — КГ); 2 — тварини, які зазнали інгальційного впливу ОА протягом 30 днів з перещепленням КГ одразу після закінчення останньої інгальції (група ОА); 3 — тварини, що зазнавали фракціонованого впливу МДІР протягом 30 днів з перещепленням КГ за 1 добу після останнього опромінення (група МДІР); 4 — щури, які перебували в умовах сумісної дії ОА та МДІР з перещепленням КГ одразу після закінчення останньої інгальції ОА (група ОА+МДІР). Біохімічні дослідження проводили на 12-ту та 18-ту добу після перещеплення тваринам КГ.

Інгальційну затравку щурів ОА проводили у камері об'ємом 100 л, до якої разом з повітрям подавали NO. Подачу повітря здійснювали зі швидкістю, що забезпечувала у камері 3-разовий газообіг за годину. Відпрацьовано режим, за якого середня концентрація ОА у камері становить 150 мг/м³ повітря, на виході з камери частка NO становила 20-25%, а NO₂ — 75-80% від їхнього загального вмісту.

Фракціоноване (0,1 Гр x 10, кожні 3 доби) рентгенівське опромінення тварин здійснювали на апараті РУМ-17; сумарна поглинута доза становила 1,0 Гр. Останнє опромінення тварин проводили за добу до забою.

Загальний стан вільнорадикальних процесів у крові досліджували методом індукованої перексидом водню ХЛ на хемілюмінометрі ХЛМ1Ц-01 з ФЕП-130 у термостатованій кюветі за t = 25° С. Вивчали динаміку хемілюмінесценції гемолізату у тварин у нормі та після дії стрес-чинників. Визначали світлосуму світіння реакції (за 5 хв.), яка свідчить про прооксидантно-антиоксидантне співвідношення продуктів у досліджуваній пробі.

Визначення генотоксичної дії ОА та ІР за умов роздільного і комбінованого впливу на щурів виконували за допомогою лужного горизонтального гелелектрофорезу ізольованих клітин. Пошкодження ДНК у лімфоцитах периферичної крові (ЛПК) щурів реєстрували шляхом мікрофотографічної

фіксації та аналізу електрофоретичних треків фрагментів ДНК, що утворюються за їх міграції під час гелелектрофорезу.

Активність СОД та КАТ активність у крові щурів визначали загальноприйнятими методами.

Результати та обговорення. Вплив ОА, МДІР та ОА+МДІР на баланс вільнорадикальних процесів в організмі тварин оцінювали за інтегральним показником — ХЛ крові. Дія ОА призводила до тривалого зниження рівня окисного метаболізму з відновленням на 18-ту добу після припинення впливу ОА (рис. 1).

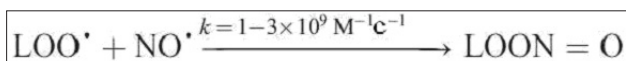
За сумісної дії ОА і МДІР або окремої дії опромінення відзначено тенденцію до зменшення

світлосуми світіння на першу добу з подальшим відновленням до рівня контролю протягом наступних 12 днів.

Таким чином, тривала інгальційна дія ОА, порівняно з дією МДІР, викликала більш глибокі порушення балансу про- та антиоксидантних процесів, які супроводжувалися тривалим зниженням інтенсивності ХЛ у крові тварин. За сумісної дії ОА та МДІР інтегральний ефект порушень окисного метаболізму був зумовлений переважно ОА. Перебіг ВРП в організмі щурів з перещепленою КГ більшою мірою визначався розвитком пухлини, ніж попередньою дією ОА і МДІР (рис. 1).

Зниження інтенсивності ХЛ можна пояснити антиокси-

дантними властивостями ОА, які вони виявляють за певного співвідношення концентрацій з АФК, та активністю антиоксидантних ферментів (зокрема СОД). ОА здатні пригнічувати ПОЛ, виступаючи у ролі ефективного антиоксиданта, що розриває ланцюг супероксидопосередкованого ПОЛ. Вони швидко реагують з пероксильними радикалами, утворюючи з ними термінальні комплекси. Показано здатність ОА інгібувати реакції ПОЛ у системах *in vitro* та *in vivo*. ОА включаються у реакції пероксидного окиснення на етапі пропagaції, утворюючи стійку сполуку та запобігаючи подальшому розвитку процесу ПОЛ:

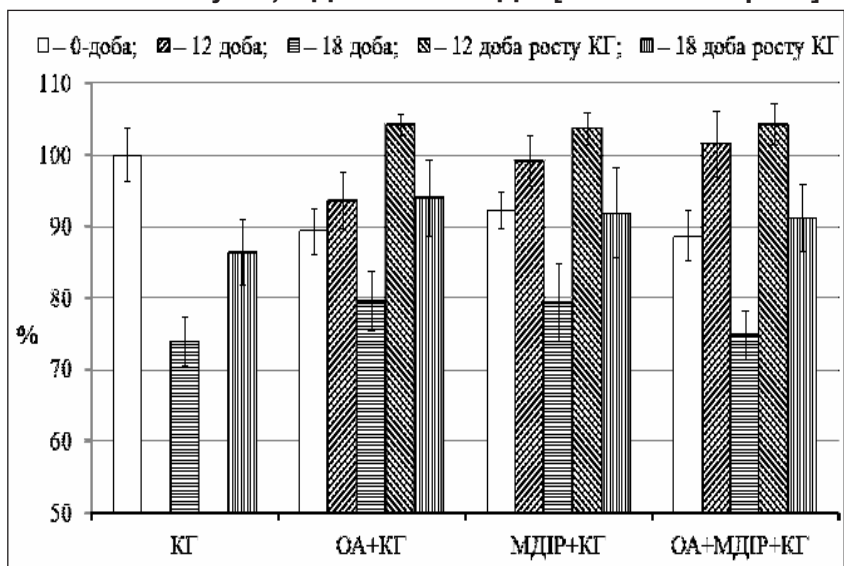


Здатність ОА інгібувати ПОЛ є дозозалежною. Збільшення концентрації ОА призводить до швидкого пригнічення ПОЛ, тривалість якого безпосередньо залежить від кількості ОА, залученої у реакцію. Коли концентрація ОА зменшується до певного рівня, реакції ПОЛ відновлюються [7]. Таким чином, характер змін показників ХЛ можна пояснити інгібуванням ПОЛ за достатнього рівня ОА та відновленням процесів ПОЛ після його зниження протягом 12-18 днів.

Ступінь генотоксичного та цитотоксичного впливу продуктів окисного метаболізму значною мірою пов'язаний з функціонуванням системи антиоксидантного захисту. Важ-

Рисунок 1

Світлосума світіння (%) гемолізатів інтактних щурів та щурів з КГ за впливу ОА, МДІР та ОА + МДІР [100 % — контроль]



VIOLATION OF PRO-ANTIOXIDANT BALANCE AS A MECHANISM OF GENOTOXIC DAMAGE UNDER JOINT ACTION OF EXOGENOUS NITROGEN OXIDES AND LOW DOSES OF IONIZING RADIATION DURING TUMOR GROWTH

Muzaliov I.I., Ganzha E.B., Makovetska L.I., Mikhailenko V.M.

Kavetsky R.E. Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine

The objective was to investigate the relationship between the intensity of free radical processes (FRP), activity of antioxidant enzymes and development of genetic instability in the organism in implementing genotoxic effects of exogenous nitric oxide (NO) and low doses of ionizing radiation (LDIR) in the process of tumor growth.

Methods. The state of free radical processes in the blood was examined by a hydrogen peroxide-induced chemiluminescence (CL). The level of antioxidant enzymes was investigated using activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in the rats blood. Genotoxicity were determined by alkaline horizontal gel electrophoresis of isolated peripheral blood lymphocytes.

Results. Exogenous NO caused a profound imbalance of pro- and antioxidant processes accompanied by a long decline in the CL

intensity comparatively to LDIR. Integral effect of oxidative metabolism disturbances under the joint action of NO and LDIR was due to NO. Changes in the activity of antioxidant enzymes in the blood after the action of NO and LDIR revealed a short-term decrease in CAT activity on the early stages of GC growth, while SOD activity remained decreased even at later stages of tumor growth especially under the influence of LDIR or NO + LDIR.

Violation of pro-antioxidant balance in the organism leads to a significant increase in the amount of DNA strand breaks both under the action of NO and LDIR. Genotoxic effect of NO increased with tumor growth, and on 18-th day exceeded 2.9 – fold control level. Combined effect of NO and LDIR was accompanied by increase of lymphocytes DNA damage in 3.4-4 fold depending on the stage of GC growth. Thus, the combined effect of NO and/or LDIR causes the violation of the antioxidant balance in rats, which was accompanied by long-lasting genotoxic effect in peripheral blood lymphocytes with the increase of genetic damage in tumor bearing animals pretreated by these factors.

Keywords: exogenous nitric oxides, low doses of ionizing radiation, antioxidative balance, genotoxic damage, tumor growth.

ливими ланцюгами цієї системи є ферменти СОД і КАТ. У проведеному дослідженні вивчали зміни активності цих ферментів у периферичній крові тварин з модельної пухлиною КГ, що зазнали попереднього тривалого впливу ОА та/або МДІР.

У всіх експериментальних групах тварин, які зазнали дії ОА та/або МДІР до перещеплення КГ, зафіксовано тенденцію до зниження активності СОД у крові щурів з 12-тої по 18-ту добу росту пухлин (рис. 2) порівняно з активністю СОД у групі КГ.

Достовірно підвищення активності СОД спостерігалось за окремої дії МДІР, комбінованого впливу ОА та МДІР, а також у разі росту КГ, у той час як дія ОА не призводила до активації СОД у крові щурів. На пізньому етапі росту КГ у щурів, що зазнали попередньої дії МДІР або ОА+МДІР, зареєстровано інгібування активності СОД.

Активність іншої групи ферментів антиоксидантного захисту — КАТ у крові щурів, які зазнали дії ОА та МДІР та тих, яким було додатково перещеплено КГ, знижувалася на 12-ту добу, але потім підвищувалася на пізніх етапах росту КГ.

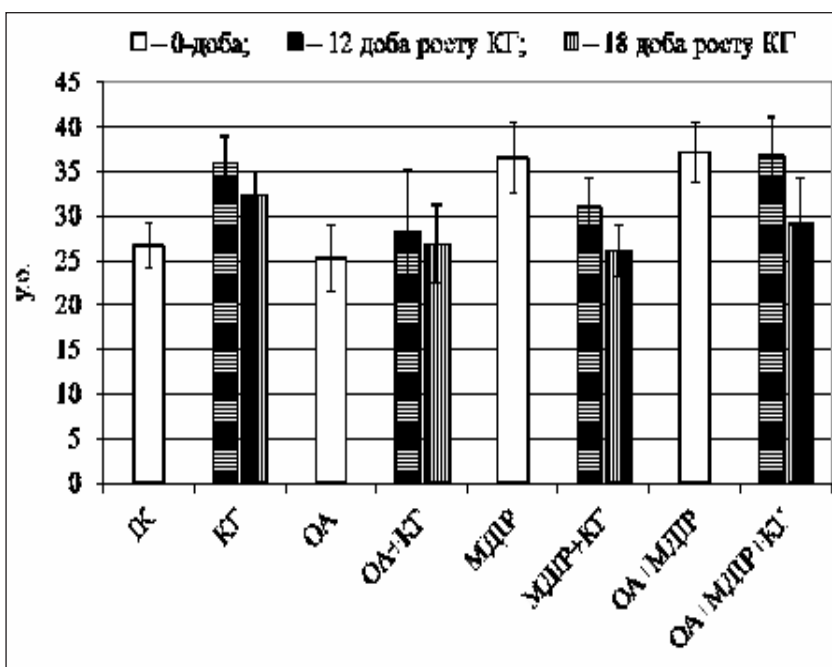
Так, за окремої дії ОА та МДІР, а також у групах ОА+КГ та

МДІР+КГ активність даного ферменту підвищувалася на 40% на 18-ту добу росту КГ. Лише у випадку комбінованої дії ОА та МДІР за умов росту КГ пригнічення КАТ активності спостерігалось і на ранніх, і на пізніх термінах росту пухлини.

Характерні зміни активності ферментів антиоксидантного захисту СОД і КАТ є відобра-

женням процесів, що виникають в організмі за розвитку пухлини. У процесі росту пухлини спостерігається утворення пухлинспецифічних цитокінів, які прискорюють її розвиток. До них відносять і фактори росту пухлин родини TGF. Один з представників цієї групи білків — TGF- β 1 — безпосередньо знижує експресію генів антиок-

Рисунок 2
Активність СОД в інтактних щурів та щурів, яким перещеплена КГ, після тривалого впливу ОА та/або МДІР



сидантних ферментів, включаючи Mn-SOD, Cu, Zn-SOD та глутатіон-S-трансферази.

На пізніх етапах розвитку пухлини відбувається інтенсивна атака її з боку імунної системи, зокрема за рахунок дії фактора некрозу пухлин (ФНП), одним з проявів якого є інгібування SOD.

Порушення нормальної роботи SOD призводить до зниження дисмутазної активності та інтенсивнішого нітрузування тирозинових залишків ферменту, особливо в умовах експозиції організму до екзогенних ОА. У таких випадках SOD може генерувати супероксид. ОА ефективно конкурують з SOD, перехоплюючи РФК та утворюючи пероксинітрит, який викликає NO-опосередковану загибель клітин за дисфункції SOD.

Порушення нормального функціонування ферментів групи SOD може компенсуватися активацією KAT або глутатіонпероксидази, захищаючи ДНК від оксидативної модифікації. За наявності пероксиду водню KAT здатна перетворювати ОА на нітрит-іони, запобігаючи SOD-опосередкованому утворенню пероксинітриту, таким чином значно знижуючи загальний цитотоксичний ефект дії ОА. Підвищення концентрації ОА за умов його інгаляційного надходження до організму, пухлиноасоційованої

та імунозумовленої активації iNOS, а також пероксиду водню може призводити до компенсаторного збільшення KAT активності.

Так, ферменти групи NO-синтаз (NOS) здатні утворювати пероксид водню. Екзогенні ОА та МДІР впливають на активність iNOS та eNOS. Під час пухлинного росту відзначено достовірну активацію NOS і у клітинах організму, і пухлини, що супроводжується підвищенням концентрації пероксиду водню компенсаторним підвищенням KAT активності.

Одним з безпосередніх біологічних ефектів РФК та РФА є пошкодження клітинної ДНК. Утворення РФК у нормальній клітині призводить до 10^6 оксидативних пошкоджень ДНК, 10^5 одониткових та 0,1 двониткових розривів на клітину за добу. Згідно з сучасними уявленнями онкологічні захворювання асоційовані з процесами пошкодження ДНК, кількість яких експоненціально збільшується за генотоксичного впливу та акумулюється у геномі.

Результати оцінки рівня пошкодження ДНК в інтактних тварин, а також у щурів з КГ, що зазнали інгаляційного впливу екзогенних ОА та дії МДІР, представлено на рис. 4.

Спонтанний рівень пошкодження ДНК лімфоцитів контрольної групи становив

$4,9 \pm 0,25\%$. Рівень пошкодження ДНК у щурів після перещеплення КГ варіював незначно, збільшившись на 18-ту добу на 13%.

У щурів з КГ, що зазнали дії ОА, рівень пошкоджень ДНК зростав у 2,2 рази на 12-ту та у 2,9 рази — на 18-ту добу росту пухлини порівняно з контролем. Опромінення МДІР також викликало збільшення пошкодження ДНК ЛПК щурів у 2,7 та у 3,3 рази — на 12-ту та 18-ту добу росту КГ порівняно з контрольною групою.

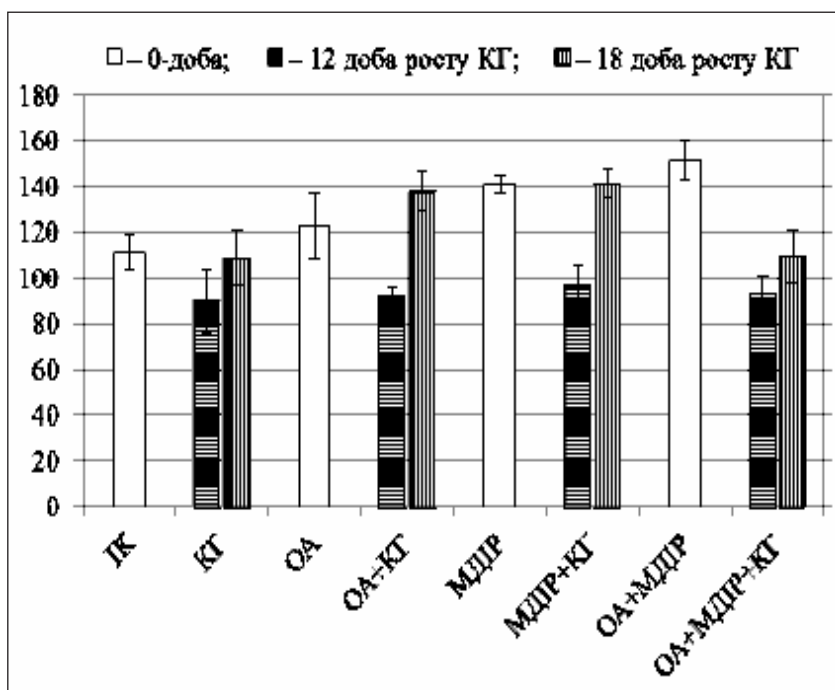
Ріст КГ супроводжувався посиленням пошкодження ДНК порівняно з контрольною групою тварин з КГ у 2,7 та у 3,3 рази на 12-ту та 18-ту добу.

Після комбінованої дії ОА та МДІР на 12-ту добу розвитку пухлини пошкодження ДНК лімфоцитів перевищувало контрольний рівень у групі КГ у 3,4 рази. Це в 1,6 рази більше, ніж за окремої дії ОА та у 1,3 — за опромінення МДІР. На 18-ту добу росту пухлини рівень ушкоджень ДНК перевищував контрольний вже у 4 рази. При цьому рівень пошкодження ДНК за окремої дії ОА у групі ОА+КГ було перевищено в 1,4 рази, а у групі МДІР+КГ — в 1,2 рази.

Збереження та збільшення кількості розривів ДНК тривалий час після впливу ОА можна пояснити утворенням у крові нітрозотіолів — транспортної форми ОА, рівень яких достовірно збільшується на 12-ту та 18-ту добу після безпосередньої інгаляції ОА [8]. Відомо, що у процесі ексцизійної репарації формуються одониткові розриви ДНК, які можуть стати джерелом формування двониткових розривів у подальшому за реплікації. Це призводить до розвитку генетичної нестабільності.

За впливу дуже низьких доз ІР ($\leq 0,1$ Гр) клітина стає майже у 20 разів чутливішою до опромінення, ніж за доз понад 1,0 Гр. При цьому виникають двониткові розриви ДНК, які тривалий час залишаються нерепарованими. Такі ефекти пояснюються наявністю гіперчутливості до низьких доз опромінення (0,1 Гр), яка може виявитися захисним механізмом, що дозволяє елімінувати клітинності дефектної ДНК без необхідності репарувати пошкодження. Причиною такого

Активність KAT у крові інтактних щурів та щурів, яким перещеплена КГ, після тривалого впливу ОА та/або МДІР



явища вважають підпороговий вплив МДІР, якого недостатньо для активації систем репарації клітин, що призводить до закріплення розривів.

Комбінований генотоксичний ефект досліджуваних чинників, що не зводиться до суми їхньої окремої дії, може бути пояснений існуванням спільних механізмів реалізації ефектів для обох факторів (формуванням РФК та РФА), а також окремим внеском оксидів азоту у загальний пошкоджуючий ефект за рахунок утворення первинних амінів за взаємодії з аміногрупами ДНК та N-алкіл-нітрозамінів за взаємодії ОА з вторинними амінами та амідами.

Таким чином, поєднана дія ОА та/або МДІР викликає стійкий генотоксичний ефект з наростанням генетичних пошкоджень у тварин з модельною пухлиною КГ після припинення безпосередньої дії цих чинників. Утворення пошкоджень ДНК може бути пов'язане зі значним рівнем генерації РФК та РФА на фоні недостатньо ефективної роботи антиоксидантної системи. Виходячи з характеру змін стану антиоксидантної системи можна зробити **висновок**, що на фоні пригнічення активності системи репарації за дії ОА генотоксичний ефект обумовлений переважно супероксидрадикалами та пероксинітридом.

За розвитку пухлини та дії комбінації екологічних факторів різної природи існує тісний комплекс взаємодій між головними ферментами системи антиоксидантного захисту. СОД може захищати КАТ від інактивації супероксидом, а КАТ захищає Су, Zn-СОД від пероксиду водню. Результат такої взаємодії містить численні механізми, які беруть участь в оксидант-опосередкованій передачі сигналу у клітині, та потребує подальшого дослідження.

Ключові слова: екзогенні оксиди азоту, малі дози іонізуючої радіації, антиоксидантний баланс, генотоксичні пошкодження, пухлинний ріст.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кострюкова Н. Биологические эффекты малых доз ионизирующего излучения / Н. Кострюкова, В. Карпин // Сибирский медицинский журнал. — 2005. — Т. 50, № 1. — С. 17-22.
2. De Bont R. Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data / R. De Bont, N. van Larebeke // Mutagenesis. — 2004. — Vol. 19, № 3. — P. 169-185.
3. Белицкий Г.А. Химический канцерогенез / Г.А. Белицкий // Проблемы клинической медицины. — 2006. — № 1. — С. 10-15.
4. Bonavida B. Nitric Oxide

(NO) and Cancer Prognosis, Prevention, and Therapy. — New York: Springer, 2010.

5. Lord C. The DNA damage response and cancer therapy / C. Lord, A. Ashworth // Nature. — 2012. — Vol. 481. — P. 287-294.

6. Burcham P. Genotoxic lipid peroxidation products: their DNA damaging properties and role in formation of endogenous DNA adducts / P. Burcham // Mutagenesis. — 1998. — Vol. 13, № 3. — P. 287-305.

7. Nitric oxide as a cellular antioxidant: A little goes a long way / S. Hummel, A. Fischer, S. Martin [et al.] // Free Radical Biology & Medicine. — 2006. — Vol. 40. — P. 501-506.

8. Михайленко В. Маркери нітрозативного стресу при інгаляційній дії оксидів азоту у нормі та при пухлинному рості / В. Михайленко, П. Михайленко, І. Головіна // Сучасні проблеми токсикології. — 2011. — № 4. — С. 28-35.

REFERENCES

1. Kostriukova N., Karpin V. Sibirsky medicinsky zhurnal. 2005 ; 50(1) : 17-22. (in Russian)

2. De Bont R., van Larebeke N. Mutagenesis. 2004 ; 19(3) : 169-185.

3. Belicky G. A. Problemy klinicheskoy mediciny. 2006 ; 1 : 10-15. (in Russian)

4. Bonavida B. Nitric Oxide (NO) and Cancer Prognosis, Prevention, and Therapy. New York: Springer ; 2010.

5. Lord C., Ashworth A. Nature. 2012 ; 481 : 287-294.

6. Burcham P. Mutagenesis. 1998 ; 13(3) : 287-305.

7. Hummel S.G., Fischer A.J., Martin S.M., Schafer F.Q., Buettner G.R.

Free Radical Biology & Medicine. 2006 ; 40 : 501-506.

8. Mykhailenko V., Mykhailenko P., Holovina I. Suchasny problemy toksykologiy. 2011 ; 4 : 28-35. (in Ukrainian)

Надійшла до редакції 12.08.2013

Рисунок 4
Пошкодження ДНК у ЛПК щурів за окремої та комбінованої дії ОА і МДІР на різних етапах росту КГ

