

денции в теории и практике гигиенирования // Гиг. наука та практика на рубежі століть: Мат. XIV з'їзду гігієністів України. — Дніпропетровськ: АРТ-ПРЕС, 2004. — Т. 1. — С. 50-54.

12. Гнатейко О.З., Садова О.М. Региональные особенности аллергических заболеваний у детей Львовской области и основные факторы, ответственные за их развитие // Современная педиатрия. — 2004. — № 3 (4).

13. Оценка влияния факторов окружающей среды на иммунологическую реактивность организма: Методические рекомендации / НИИ общей и коммунальной гигиены им. А.Н. Марзеева. — К., 1988. — 23 с.

14. Виноградов Г.И., Винарская Е.И., Науменко Г.М. Реакция дегрануляции базофилов как метод выявления аллергии и аутоаллергии к простым химическим соединениям // Лабораторное дело. — 1989. — № 6. — С. 339-341.

15. Макрофагальный тест в диагностике аллергических состояний / А.Д. Адо, Е.М. Кипервассер, Т.А. Алексеева и др. // Клиника и лабораторная диагностика аллергических заболеваний: Мат. науч. конф. — Ужгород, 1974. — С. 4-5.

16. Винарская Е.И. Научные основы гигиенической оценки воздействия химических и биологических факторов среды при их совместном поступлении в организм на основе иммунологического критерия вредности: Дис. д.м.н.: 14.02.01 / Украинский научный гигиенический центр МЗ Украины. — К., 2000.

17. Лакин Г.Ф. Биометрия. — М.: Высшая школа, 1980.

18. Імунний статус тварин за умов гострого ізольованого та комбінованого впливу хлороформу та фенолу / О.І. Винарська, С.В. Лук'янчук, Л.Є. Григоренко та ін. // Гігієна населених місць: Зб. наукових праць. К., 2007. Вип. 50. С. 77-83.

19. Імунотоксичні ефекти за умов комбінованого впливу пріоритетних забруднень водного середовища / О.І. Винарська, С.В. Лук'янчук, Н.О. Ніконова та ін. // Довкілля та здоров'я. — 2007. — № 4 (43). — С. 3-7.

20. Радионова В.В. Состояние компенсаторно-приспособительных механизмов организма в условиях загрязнения воздушной среды // Гигиена населенных мест. — 2000. — Вып. 37. — С. 47-51.

PROOXIDANT-ANTIOKSIDANT PROCESSES AND INDUCTION OF CHROMOSOMAL ABERRATIONS AT IMPACT ON ORGANISM OF KSENOBIOTIKS

Karnaukh N.G., Girin S.V., Krushevsky V.D.,
Bednaryk O.N., Bazovkin P.S.

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНІ ПРОЦЕСИ ТА ІНДУКЦІЯ ХРОМОСОМНИХ АБЕРАЦІЙ ЗА УМОВ ДІЇ НА ОРГАНІЗМ КСЕНОБІОТИКІВ



**КАРНАУХ М.Г., ГІРІН С.В.,
КРУШЕВСЬКИЙ В.Д.,
БЕДНАРИК О.М.,
БАЗОВКИН П.С.**

Український науково-дослідний інститут промислової медицини, м. Кривий Ріг

удк:
615.9+614.876+577.1]:57.081

Ключові слова:
**хромосомні аберації, АОС,
ПОЛ, ксенобіотики.**

учасна біохімія має значні досягнення у дослідженні пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантних процесів [1]. У цій царині протягом останніх десятиліть отримано велику кількість свідчень про участь інтермедіатів пероксидації ліпідів, ферментів, неферментних високо- та низькомолекулярних сполук антиоксидантної системи у важливих біохімічних процесах. Проведено численні дослідження інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного статусу організму за умов багатьох патологічних процесів [2]. Проте незважаючи на значні досягнення біохіміків та генетиків у літературі мало даних про прооксидантно-антиоксидантні процеси при утворенні хромосомних аберацій [3]. Водночас такі речовини, як оксиди азоту, діоксид кремнію, сполуки свинцю та нікель, а також радон належать до найпоширеніших у промислових регіонах України [4].

Таким чином, **метою** роботи було дослідження інтенсивності перебігу прооксидантно-антиоксидантних процесів та індукції хромосомних аберацій за умов впливу на організм комплексу поширених у про-

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЕ ПРОЦЕССЫ И ИНДУКЦИЯ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ КСЕНОБИОТИКОВ

**Карнаух Н.Г., Гирин С.В., Крушевский В.Д.,
Беднарик О.Н., Базовкин П.С.**

В результате эксперимента были исследованы прооксидантно-антиоксидантные процессы и индукция хромосомных аберраций при воздействии на организм комплекса одних из наиболее распространенных в промышленных регионах Украины ксенобиотиков. Выявлены корреляционные зависимости между показателем общей частоты хромосомных аберраций и параметрами прооксидантно-антиоксидантных процессов, что доказывает существование статистической, а возможно, и функциональной связи между ПОЛ, интенсивностью антиоксидантных процессов и образованием хромосомных аберраций.

PROOXIDANT-ANTIOKSIDANT PROCESSES AND INDUCTION OF CHROMOSOMAL ABERRATIONS AT IMPACT ON ORGANISM OF KSENOBIOTIKS

Karnaukh N.G., Girin S.V., Krushevsky V.D., Bednaryk O.N., Bazovkin P.S.

As a result of experiment the prooxidant-antioxidant processes and induction of chromosomal aberrations at influence on the organism of complex of one of

ksenobiotiks most widespread in the industrial regions of Ukraine were explored. Correlation dependences between the index of general frequency of chromosomal aberrations and parameters of prooxidant-antioxidant processes are exposed, that proves existence of statistical, and it is possible to functional communication between POL, by intensity of antioxidant processes and formation of chromosomal aberrations.

мислових регіонах України ксенобіотиків.

Матеріали та методи. Експерименти провадили на 95 щурах-самцях з початковою вагою 120-180 г, розміщених у стаціонарних умовах виварію. Тварин піддавали хронічній сумісній інгаляційній дії комплексу ксенобіотиків (в експериментальних камерах протягом 4 годин на день 5 разів на тиждень): концентрація оксидів азоту (II, IV) 10 мг/м³, діоксиду кремнію аморфного гідрофобного 35 мг/м³, Pb²⁺ (ацетат свинцю) 0,05 мг/м³. Питома об'ємна активність радону у середньому дорівнювала 2840 Бк/м³. Дослідження тривали 3, 6, 9 та 12 місяців. Відповідно тварин було розділено на чотири дослідні групи, кожній з яких відповідали контрольні. Після закінчення термінів дослідження тварин декапітували.

У роботі використовували препарати нирок, печінки та кісткового мозку, а також сироватку крові. Сироватку отримували згідно з методикою [5]. Препарати нирок та печінки отримували шляхом центрифугування гомогенатів [6]. Для оцінки перебігу пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у препаратах визначали вміст дієнових кон'югатів (ДК), гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) та маленового альдегіду (МА) [7]. Активність ферментів антиоксидантної системи (АОС) визначали за загальновизнаними методиками: супероксиддисмутази (SOD) (КФ 1.15.1.1) [8], каталази (КФ 1.11.1.6) [9], пероксидази (КФ 1.11.1.7) [10], глутатіонпероксидази (GSHPx-SeH) (КФ1.11.1.9) [11], глутатіон-S-трансферази (GST) (КФ 2.5.1.18) [12], γ-глутамілтрансферази (γ-GT) (КФ 2.3.2.2) [13], вміст відновленого глутатіону (GSH) згідно з [14]. Підготовку цитогенетичних препа-

ратів та дослідження частоти утворення хромосомних аберацій у клітинах кісткового мозку провадили згідно з [15].

Отримані результати обробляли статистично, з використанням t-критерію Ст'юдента та методів кореляційного аналізу. Для оцінки системних зв'язків використано метод кореляційного аналізу. Вірогідними вважали результати при $p \leq 0,05$ [16].

Результати досліджень та їх обговорення. Проведені дослідження сумісної дії на організм комплексу ксенобіотиків (оксидів азоту (II, IV), діоксиду кремнію аморфного гідрофобного, свинцю, радону та його дочірніх продуктів розпаду) дозволили виявити значні зміни цитогенетичних показників, а також інтенсивності перебігу ПОЛ та антиоксидантних процесів у препаратах, які досліджувалися протягом хронічного експерименту (табл. 1, рис. 1 та рис. 2).

У прооксидантно-антиоксидантному статусі організму спостерігалися значні зрушення на початкових етапах дослідження. Так, виявлено зниження вмісту ДК і ГПЛ у тканинах нирок та МА у ткани-

нах печінки за умов тримісячної тривалості досліду (рис. 1). Разом з цим зазнали значної інтенсифікації активності всіх ферментів антиоксидантної системи печінки та нирок на тримісячному етапі експерименту (рис. 2). Таким чином, за умов тримісячної сумісної дії на організм комплексу ксенобіотиків у тканинах нирок та печінки спостерігалось інгібування перебігу процесу пероксидації ліпідів на фоні підвищеної активності ферментів АОС. За умов експерименту, коли адаптований до нормальних умов існування організму резерв антиоксидантної системи виявляється неспроможним контролювати динамічну рівновагу швидкості та спрямованість прооксидантно-антиоксидантних процесів, ендогенні антиоксиданти можуть виступати у ролі генотоксичних речовин. Останнє могло стати причиною стабілізації частоти утворення хромосомних аберацій на спонтанному рівні за умов тримісячної сумісної дії на організм комплексу ксенобіотиків (табл. 1).

На наступному шестимісячному етапі експерименту від-

Таблиця 1
Динаміка загальної частоти хромосомних аберацій у клітинах кісткового мозку за умови дії на організм різних ксенобіотиків

Умови досліду (серії експерименту)	Тривалість досліду, місяці	Кількість проаналізованих метафаз (n)	Загальна частота хромосомних аберацій, % (M±m)
I	3	3504	3,1 ± 0,62
	6	1876	3,0 ± 0,40
	9	1660	4,4 ± 0,50*
	12	1590	3,9 ± 0,49
II	9	1114	3,8 ± 0,57
	12	1379	3,5 ± 0,49
III	24 години	2048	5,0 ± 0,48*
контроль	-	800	3,1 ± 0,62

Примітка: * — різниця порівняно з контролем вірогідна ($p \leq 0,05$).

бувається поступове інгібування антиоксидантної активності ферментів нирок та печінки, незначне зростання показників АОС сироватки крові (рис. 2). Загальна частота хромосомних аберацій залишилась на контрольному рівні (табл. 1).

Проведені дослідження показали, що дев'ятимісячна сумісна дія на організм комплексу ксенобіотиків викликала значні зміни прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу. Так, за даних умов виявлено інтенсифікацію перебігу пероксидації ліпідів, про що свідчать підвищення вмісту продуктів ПОЛМА сироватки крові на 36%, ГПЛ нирок — на 17%, ДК та МА печінки — відповідно на 19% та 23% щодо контролю (рис. 1). Виявлені зміни відбулися на фоні падіння активності пероксидази сироватки крові (в 1,2 рази),

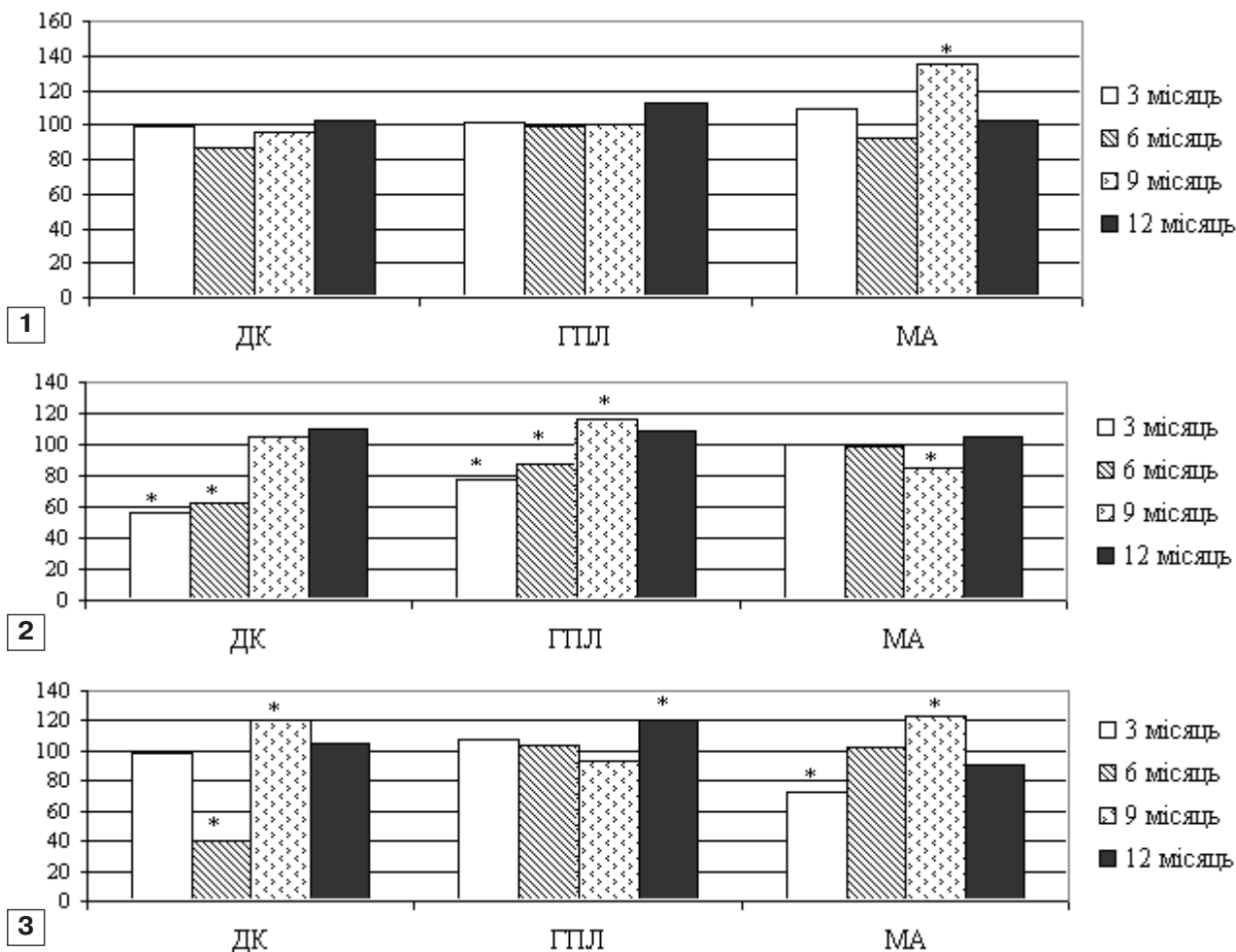
GSHPx-SeH і пероксидази у тканинах нирок (відповідно у 5,7 та 5,3 рази), каталази (у 6,9 рази), GST (у 5,2 рази) та пероксидази (у 9,5 разів) у тканинах печінки (рис. 2). Водночас зросла активність каталази у сироватці крові (у 2,7 рази), GSHPx-SeH та γ -GT у тканинах печінки відповідно у 2,1 та у 2,0 рази. За дев'ятимісячної тривалості експерименту показник загальної частоти хромосомних аберацій на 42% перевищив рівень контролю (табл. 1), що свідчить про порушення генетичного гомеостазу клітин.

Таким чином, сумісна хронічна інгаляційна дія на організм обраного комплексу ксенобіотиків призводить до інтенсифікації перебігу ПОЛ на 9-му місяці експерименту, про що свідчать підвищення вмісту його інтермедіатів у сироватці

крові, нирках та печінці. Останнє є наслідком виявлених під час досліджень різноспрямованих змін в активності ферментів антиоксидантного захисту, що могло стати однією з причин порушення функціонування АОС. Виходячи з ролі вільнорадикальних та пероксидних процесів, а також продуктів їх реакцій в утворенні спонтанних та індукованих му-

Рисунок 1

Вміст продуктів ПОЛ за умови сумісної хронічної інгаляційної дії на організм комплексу поширених ксенобіотиків, % від рівня у контролі: 1 — у сироватці крові; 2 — у нирках; 3 — у печінці



Примітки: 1 * — тут і далі різниця порівняно з контролем вірогідна ($p \leq 0,05$);
2 — тут і в інших рисунках контроль для всіх показників дорівнює 100%.

та цитогенетичні зміни загалом обумовлені оксидантними та мутагенними властивостями обраного комплексу ксенобіотиків, який здатний блокувати потужну адаптаційно-компенсаторну реакцію АОС шляхом розладу її дії, що сприяло активізації вільнорадикальних процесів на фоні індукції утворення хромосомних аберацій.

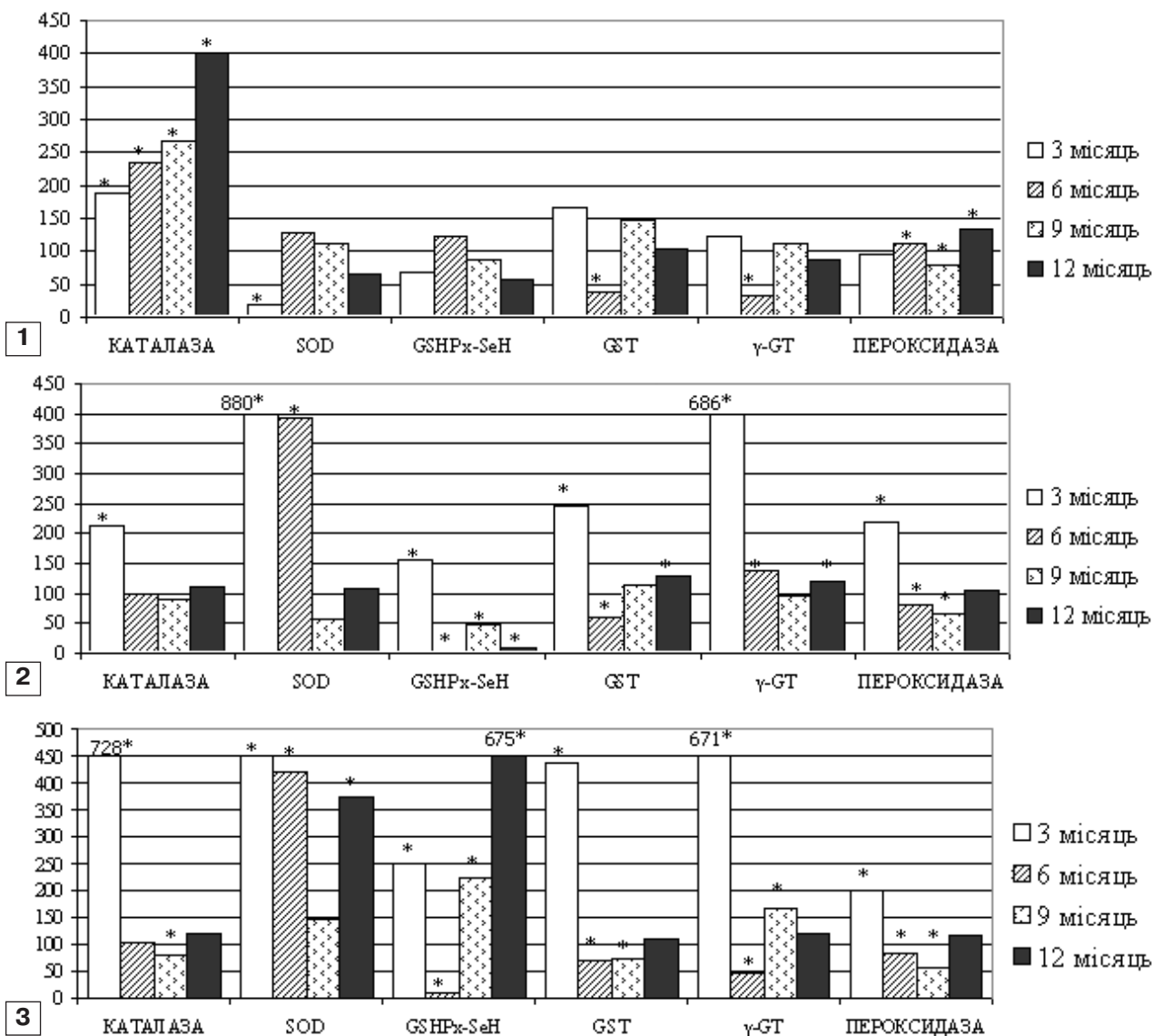
На дванадцятимісячному етапі експерименту нами було зареєстровано включення додаткових механізмів АОС компенсаторного характеру. Відбулося підвищення активності більшості ферментів АОС сироватки крові, тканин нирок та печінки. Так, зросла активність каталази та пероксидази си-

роватки крові (відповідно у 4,0 та 1,3 рази), GST та γ -GT нирок (в 1,3 та 1,2 рази), SOD та GSHPx-SeH печінки (відповідно у 4,0 та 6,6 рази). Саме включення компенсаторних механізмів АОС дозволило за умови дванадцятимісячної дії на організм комплексу ксенобіотиків стабілізувати переважну більшість показників пероксидації ліпідів та загальну частоту хромосомних аберацій на рівні контролю (рис. 1, табл. 1). Таким чином, отримані результати дають підстави зробити припущення щодо існування складних пускових систем, які впливають на антиоксидантну активність організму та спричиняють зміни прооксидантно-антиоксидантного, а

тацій, можна зробити певні припущення. Різностямовані зміни в активності АОС та інтенсифікація ПОЛ на 9-му місяці експерименту могли стати однією з причин індукції утворення хромосомних аберацій. Виявлені за цих умов біохімічні

Рисунок 2

Активність ферментів АОС за умови сумісної хронічної інгаляційної дії на організм комплексу одних з найбільш поширених ксенобіотиків, % від рівня у контролі: 1 — у сироватці крові; 2 — у нирках; 3 — у печінці



Примітка: тут і далі цифри над стовпчиками є їхнім фактичним значенням.

як результат — і генетичного гомеостазу під впливом зовнішніх чинників.

Результати кореляційного аналізу між загальною частотою хромосомних аберацій, з одного боку та параметрами прооксидантно-антиоксидантної системи з іншого (за умови сумісної хронічної дії на організм комплексу ксенобіотиків), дозволили виявити важливі статистичні закономірності. Встановлено, що переважна більшість ознак, які досліджувалися, мали тісні кореляційні зв'язки між собою. Так система "загальна частота хромосомних аберацій — параметри ПОЛ та АОС" — характеризувалася 30 кореляційними зв'язками. У наших дослідженнях статистично вірогідні кореляційні зв'язки дорівнювали 63,3% від кількості можливих. Варто зазначити, що за даних умов проведення експерименту переважна більшість перемінних пероксидації ліпідів тісно корелювала з цитогенетичним показником. Це свідчить про потужність та схожість дії комплексу ксенобіотиків на ПОЛ та процес утворення хромосомних аберацій. Разом з цим загальна частота хромосомних аберацій сильно корелювала з активністю SOD, каталази та пероксидази сироватки крові, нирок та печінки. За наших умов проведення експерименту дія комплексу ксенобіотиків викликала схожі функціональні зрушення у процесі утворення хромосомних аберацій, супероксиддисмутазній-каталазній системі та активності пероксидази. Можна зробити висновок про існування статистичної, а можливо, і функціональної залежності між прооксидантно-антиоксидантними процесами та утворенням хромосомних аберацій.

Висновки

Хронічна сумісна дія на організм оксидів азоту (II, IV), діоксиду кремнію, ацетату свинцю, радону та його дочірніх продуктів розпаду викликає різноспрямовані зміни у функціонуванні прооксидантно-антиоксидантної системи, що свідчить про складний характер адаптаційно-приспосувальних реакцій, які контролюють перебіг біохімічних процесів. Так, за умов тримі-

сячної дії на організм підвищується активність ферментів АОС та уповільнюється перебіг процесу пероксидації ліпідів у тканинах нирок та печінки, що розглядалось як адаптаційна реакція організму. Дев'ятимісячна дія обраного комплексу ксенобіотиків призводить до інтенсифікації перебігу ПОЛ та індукції утворення хромосомних аберацій. Це є наслідком виявлених під час наших досліджень різноспрямованих змін в активності ферментів антиоксидантного захисту, що стало однією з причин порушення функціонування АОС організму. Разом з цим було виявлено кореляційні залежності між цитогенетичними показниками та параметрами прооксидантно-антиоксидантних процесів, що доводить існування статистичного, а можливо, і функціонального зв'язку між ПОЛ, АОС та процесом утворення хромосомних аберацій.

ЛІТЕРАТУРА

1. Марченко М.М. Порушення функціонального стану клітин як наслідок вільнорадикальної деструкції біомолекул за експериментального канцерогенезу та опромінення // Український біохімічний журнал. — 2002. — Т. 74, № 4а. — С. 12-13.
2. Марченко М.М., Копильчук Г.П., Васіна Л.М. Динаміка ліпідного обміну крові щурів у процесі росту карциноми Герена // Укр. біохім. журн. — 2002. — Т. 74, № 4а. — С. 158.
3. Арбузова С.Б. Возрастзависимая частота синдрома Дауна и свободнорадикальная теория // Цитология и генетика. — 1996. — Т. 30, № 5. — С. 27-35.
4. Барилляк І.Р., Сердюк А.М., Стемпурський Ю.М. Захист генотипу населення України // Цитология и генетика. — 1993. — Т. 27, № 4. — С. 3-9.
5. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н. Методы клинической биохимии // Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В.В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — С. 174-176.
6. Kazzaz J.A., Xu J., Palaia T.A. et al. Cellular oxygen toxicity // J. of Biological Chemistry. — 1996. — Vol. 271, № 25. — P. 15182-15186.
7. Соврем. методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича.

— М.: Медицина, 1977. — 387 с.

8. Fridovich I. Superoxide dismutases // Advances in enzymology. — 1986. — Vol. 58. — P. 61-97.

9. Гири С.В. Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах // Лабораторная диагностика. — 1999. — № 4. — С. 45-46.

10. Попов Т., Нейковская Л. Метод определения пероксидазной активности крови // Гигиена и санитария. — 1971. — № 1. — С. 89-91.

11. Власова С.Н., Шабунина Е.И., Переслегина А.И. Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей // Лабораторное дело. — 1990. — № 8. — С. 19-21.

12. Jakoby W. B. Glutathione transferases: an overview // Methods in enzymology. Acad. Press. — 1985. — Vol. 113. — P. 495-499.

13. Suresh S., Tate S.S., Meister A. γ -Glutamyl transpeptidase from kidney // Methods in Enzymology. — 1985. — Vol. 113. — P. 400-419.

14. Марченко М.М., Блошко М.М., Костышин С.С. Действие малых доз γ -облучения на состояние глутатионовой системы кукурузы (*Zea Mays L.*) // Укр. биохим. журн. — 1996. — Т. 68, № 2. — С. 94-98.

15. Барилляк И.Р., Бужиевская Т.И., Быкорез А.И. и др. Генетические последствия загрязнения окружающей среды. — К.: Наукова думка, 1989. — 232 с.

16. Важничая Е.М., Девяткина Т.А., Тарасенко Л.М., Калуща В.Е. Корреляционный анализ показателей неспецифической резистенции при асептическом воспалении и его коррекции тимопентином // Журнал АМН України. — 1999. — Т. 5, № 1. — С. 136-148.