

кож проявами ретардаційного ефекту, оскільки порушує стан окостеніння скелета плодів та сповільнює темпи його осифікації (груднини, крижових хребців, плюсни).

4. Отримані результати слугуватимуть науковим обґрунтуванням для розробки профілактичних заходів, спрямованих на попередження шкідливого впливу МТБЕ на організм людей, які працюють з цією речовиною чи піддаються дії у місцях свого проживання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вредные вещества в промышленности. Органические вещества. Справочник / под общ. ред. Э.Н. Левиной и И.Д. Гадаскиной. — Л.: Химия, 1985. — С. 61-62.

2. ССБТ. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны: ГОСТ 12.1.005-88. — М., 1988. — 75 с.

3. Gillner M. Methyl tertiary-butyl ether / M. Gillner. — Geneva: WHO, 1998. — 199 p.

4. Саноцкий И.В. Методы количественного изучения изменений репродуктивной функции самцов и самок лабораторных животных в результате воздействия химических соединений / И.В. Саноцкий, М.М. Авхименко, В.Н. Фоменко // Методы определения токсичности и опасности химических веществ. — М.: Медицина, 1970. — С. 245-264.

5. Методические указания по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияние их на репродуктивную функцию. — М., 1986. — 24 с.

6. Малашенко А.М. Доминантные летали у инбредных мышей под действием этиленамина / А.М. Малашенко, И.К. Егоров // Генетика. — 1967. — № 3 — С. 59-67.

7. Барилляк И.Р. Анализ механизмов патогенного действия антидиабетических сульфаниламидов на эмбриональное развитие крыс: автореф. дис. канд. мед. наук / И.Р. Барилляк. — Л., 1967. — 21 с.

8. Експериментальне вивчення ембріотоксичної дії лікарських засобів: метод. рек. — К., 2000. — 40 с.

9. Лакин Г.Ф. Биометрия: уч. пособие для биолог. спец. вузов / Г.Ф. Лакин. — 3-е изд., перераб. и доп. — М.: Высшая школа, 1980. — 292 с.

Надійшла до редакції 12.07.2012.

GENOTOXICITY OF COMBINED EFFECT OF NITROGEN OXIDES AND IONIZING RADIATION ON MOLECULAR AND CHROMOSOMAL LEVEL OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES

Mikhailenko V.M., Diomina E.A., Muzalov I.I., Glavin A.A., Demchenko E.N.

ГЕНОТОКСИЧНІ ЕФЕКТИ КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ ОКСИДІВ АЗОТУ ТА ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ НА МОЛЕКУЛЯРНОМУ ТА ХРОМОСОМНОМУ РІВНЯХ ЛІМФОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ

МИХАЙЛЕНКО В.М., ДЬОМІНА Е.А., МУЗАЛЬОВ І.І., ГЛАВІН О.А., ДЕМЧЕНКО О.М.

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАНУ, м. Київ

УДК:

574:577.34:577.21:575.224.23

Інтенсифікація антропогенної діяльності призводить до зростаючого забруднення довкілля хімічними та фізичними чинниками, що негативно впливають на стан екосистеми та здоров'я людини. Комбінації різних агентів хімічної та фізичної природи є небезпечними з точки зору

ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ОКСИДОВ АЗОТА И ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА МОЛЕКУЛЯРНОМ И ХРОМОСОМНОМ УРОВНЯХ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Михайленко В.М., Демина Э.А., Музалев И.И., Главин А.А., Демченко Е.Н.

Целью работы было изучение особенностей генотоксических эффектов отдельного и комбинированного действия экзогенных оксидов азота и малых доз ионизирующей радиации на молекулярном и хромосомном уровнях в лимфоцитах периферической крови млекопитающих.

Генотоксические эффекты в лимфоцитах периферической крови исследовали с помощью горизонтального гель-электрофореза изолированных клеток и метафазного анализа аберраций хромосом.

Показано, что при ингаляции оксидами азота происходит повышение уровня разрывов ДНК в 2,4 раза, при действии малых доз ионизирующей радиации — в 2,7 раза, а при комбинированном действии обоих факторов — в 3,14 раза по сравнению с контролем. Действие нитрозоглутатиона *in vitro* сопровождалось дозозависимым (от 0,5 мкМ до 1,0 мкМ) повышением количества лимфоцитов с аберрациями хромосом и общей частоты индуцированных аберраций хромосом. Однако повышение дозы облучения до 1,5 Гр и концентрации нитрозоглутатиона до 1,5 мкМ приводило к снижению цитогенетического эффекта, вероятно, за счет элиминации клеток с наиболее поврежденной ДНК.

Таким образом, комбинированное действие экзогенных оксидов азота и малых доз ионизирующей радиации приводило к формированию одно- и двунитовых разрывов ДНК с дальнейшим развитием хромосомной нестабильности в лимфоцитах периферической крови, степень и характер проявления которой зависели от величин доз указанных факторов. При действии нитрозоглутатиона в спектре индуцированных повреждений преобладали аберрации хроматидного типа, а при облучении культуры лимфоцитов доноров — хромосомного типа. Однако в условиях комбинированного действия этих факторов нитрозоглутатион обеспечивал основной вклад в индуцированную нестабильность генома клеток.

Ключевые слова: экзогенные оксиды азота, нитрозотиолы, малые дозы ионизирующей радиации, комбинированное действие, повреждение ДНК, хромосомные аберрации.

© Михайленко В.М., Дьоміна Е.А., Музальов І.І., Главин О.А., Демченко О.М. СТАТТЯ, 2012.

мутагенних та канцерогенних ефектів. Оксиди азоту (ОА) є одними з головних забруднювачів атмосферного повітря. Дискутується питання щодо можливої участі ОА у формуванні геномної нестабільності, оскільки встановлено здатність їх до інгібування ферментів системи репарації ДНК [1, 2]. Найбільш вивченим та потужним мутагенним фактором фізичної природи є іонізуюча радіація, яка впливає на три взаємопов'язані системи, що забезпечують окисно-відновний гомеостаз, контроль стадій клітинного циклу та механізми репарації ДНК [3].

Біологічна дія молекули NO є багатоплановою і значною мірою залежить від концентрації. Сигнальні властивості молекули NO проявляються вже у фізіологічних концентраціях 1-30 нМ; підвищення рівня NO у 10 разів активує онкогенні сигнальні каскади, а у концентраціях понад 500 нМ в організмі розвивається нітрозативний стрес. Дані літератури свідчать, що ОА бере участь в усіх етапах патогенезу неоплазій, проявляє цитотоксичну та цитостатичну активність, здатний підвищувати ефективність протипухлинної терапії [4]. Показано, що для ініціації цитотоксичності ОА мають значення і концентрація, і кумулятивна доза. Відчутні цитотоксичні ефекти проявляються починаючи з концентрацій 150-300 мкМ/хв [5]. Відносно високі концентрації ОА призводять до виснаження антиоксидантного захисту, порушення механізмів репарації ДНК, утворення і накопичення розривів, що відповідно підвищує рівень соматичних мутацій [2, 3].

Мутагенні ефекти ОА поділяють на дві групи: безпосередні та опосередковані. Механізмом реалізації першої групи ефектів є взаємодія гідратова-

них похідних ОА з аміногрупами ДНК. Нітрузування первинних амінів призводить до утворення алкілюючих агентів. У реакціях з вторинними амінами та амідами утворюються більш стабільні нітрозосполуки, такі як N-алкілнітрозаміни, які зумовлюють непрямий мутагенний ефект ОА.

Показано, що газоподібні ОА здатні індукувати СОС-репарацію ДНК, утворення мікроядер, аберації хроматидного типу, ушкодження ДНК у вигляді одно- та двониткових розривів і обмінів між сестринськими хроматидами [5, 6]. Специфічною особливістю дії ОА на молекули ДНК вважають формування одониткових розривів, детекція яких може слугувати біомаркером генотоксичності ОА [2].

ОА відіграє суттєву роль у формуванні чутливості клітин ссавців до дії іонізуючого випромінювання (ІВ) в умовах *in vivo* та *in vitro*, але на генетичному рівні досі не визначено характер залежності впливу ОА від дози опромінення. Багато біологічних функцій, залежних від дії ОА, безпосередньо пов'язано з утворенням нітрозотіолів (НТ). НТ є основною формою транспорту ОА, який вивільняється з них за фізіологічних умов та здатний створювати передумови для виникнення та акумуляції абераційних клітин [4, 7].

Загальним механізмом, що зумовлює реалізацію генотоксичних ефектів ОА та ІВ, вважають утворення реактивних форм кисню (РФК) та азоту (РФА). Близько 80% пошкоджень, що виникають за дії ІВ, зумовлені впливом вільних радикалів [3]. За їх взаємодії з ДНК виникають одно- та двониткові розриви, обмін сестринських хроматид, точкові мутації, мікрodelеції. За присутності супероксиду ОА формує пероксинітрил, що може призводити до двониткових розривів ДНК [4].

Показано, що хімічні агенти за окремої або комбінованої дії з ІВ можуть викликати утворення двониткових розривів ДНК, які за відсутності репарації призводять до виникнення розривів у хроматидах та перетворюються на хромосомні аберації. В основі цього явища може бути перетворення двониткових розривів ДНК на роз-

риви хроматид за конденсації хроматину, некоректне поєднання пошкоджених фрагментів однієї хроматиди, неповний або неправильний рекомбінаційний обмін між сестринськими хроматидами тощо [8].

Враховуючи мультипотентний характер впливу ОА та його похідних на клітини організму ссавців (у тому числі й людини) та зважаючи на радіоекологічну ситуацію, що склалася після Чорнобильської катастрофи на території окремих регіонів України, актуальним стає дослідження особливостей впливу комбінованої дії ОА та ІВ на пошкодження ДНК та розвиток нестабільності геному клітин.

Загальноприйнятим методом оцінки генотоксичної дії хімічного та радіаційного факторів, а також ефективності процесів репарації є використання методу лужного гелелектрофорезу ізольованих клітин (DNA comet assay). Цей метод дозволяє реєструвати пошкодження структури ДНК у вигляді одно- та двониткових розривів молекул, апуринові та апіримідинові сайти, а також зшивки ДНК-ДНК та ДНК-білок [9].

Згідно з сучасними уявленнями підвищений рівень аберацій хромосом у лімфоцитах периферичної крові (ЛПК) людини є коректним біологічним маркером підвищеного ризику розвитку стохастичних ефектів, у тому числі онкологічної патології [10]. Тому більш плідним підходом до вивчення особливостей генотоксичних ефектів є одночасне виконання цитогенетичного аналізу клітин, оскільки аберації хромосом розглядаються в якості інтегрального показника, який враховує реалізацію первинних пошкоджень ДНК та активність процесів репарації за дії хімічних і радіаційних чинників.

Враховуючи вищесказане, **метою роботи** було вивчення особливостей генотоксичних ефектів окремої і комбінованої дії ОА та ІВ на молекулярному і хромосомному рівнях ЛПК ссавців залежно від дози опромінення. Основою для вибору ЛПК в якості об'єкта досліджень стала висока чутливість даних клітин до дії генотоксичних, мутагенних та канцерогенних чинників [11].

GENOTOXICITY OF COMBINED EFFECT OF NITROGEN OXIDES AND IONIZING RADIATION ON MOLECULAR AND CHROMOSOMAL LEVEL OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES

Mikhailenko V.M., Diomina E.A., Muzalov I.I., Glavin A.A., Demchenko E.N.

The aim of the investigation was to study a genotoxicity of exogenous nitrogen oxides (NOx) and ionizing radiation (IR), an individual and combined effects, in peripheral blood lymphocytes (PBL) of mammals.

Genotoxic effects in PBL were studied by alkaline horizontal gel electrophoresis of isolated cells and metaphase analysis of chromosomal aberrations. NOx inhalation resulted in increase of DNA strand breaks level in a 2.4-fold. Irradiation led to DNA damage rise in 2.7-fold. Combined impact of both factors increased the level of DNA damage in 3.14-fold in comparison with the control group. The S-nitrosoglutathione (NG) treatment in vitro

caused a dose-dependent (ranging from 0.5 mM to 1.0 mM) increase in number of PBL with chromosome aberrations and the overall frequency of induced chromosomal aberrations. However, a further increase of NG concentration to 1.5 mM and IR dose up to 1.5 Gy resulted in a reduction of cytogenetic effect probably due to the elimination of cells with highly damaged DNA. The study indicates that the combined effect of exogenous NOx and low-dose ionizing radiation causes the formation of DNA single- and double-strand breaks followed by development the chromosomal instability in PBL, the degree and character of appearance of which depended on the factors dose level. NG treatment predominantly caused the induction of chromatid type and IR chromosome type aberrations in human PBL. However, under the combined treatment of these factors, mainly NG provides the greater contribution into the induced genomic instability of cells.

Матеріали і методи дослідження. Матеріалами досліджень були ЛПК 14 практично здорових осіб та 72 щурів. Інформовану згоду на взяття зразків крові та проведення досліджень було одержано від усіх донорів. Постановка експериментів відповідала нормативам Конвенції з біоетики Ради Європи (2000 р.), Європейській Конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (1986 р.), загальним етичним принципам експериментів на тваринах, ухваленим Першим національним конгресом України з біоетики (2001 р.).

Визначення генотоксичної дії ОА та ІВ за умов роздільного та комбінованого впливу на щурів виконувалося за допомогою лужного горизонтального гелелектрофорезу ізольованих клітин. Пошкодження ДНК у ЛПК щурів реєструвалися шляхом мікрофотографічної фіксації та програмно-апаратного аналізу електрофоретичних треків фрагментів ДНК, що утворюються за їх міграції під час гелелектрофорезу [12]. Дослідження проводились у 8 повторностях.

Дослідних тварин було розподілено на 4 групи:

1 — контрольна група інтактних тварин;

2 — тварини, які зазнавали дії ОА з розрахунку 125-150 мг/м³ повітря, 14 годин на добу протягом 30 днів (6 днів на тиждень);

3 — тварини, яких десятиразово опромінювали протягом

30 днів у дозі 0,1 Гр (загальна доза складала 1 Гр);

4 — тварини, які зазнавали сумісної дії ОА та опромінення. Для визначення особливостей цитогенетичних змін у клітинах людини in vitro, за умов роздільного і комбінованого впливу ОА та ІВ, використано тест-систему культури ЛПК з подальшим метафазним аналізом аберацій хромосом. Короткотривале культивування ЛПК проводили за модифікованим напівмікрометодом протягом 52 год. з урахуванням радіаційно-індукованої затримки поділу клітин, що забезпечує метафазний аналіз у першому післяпроменевому мітозі [13].

В якості джерела ОА використовували нітрозоглутатіон (НГ), який додавали до культури клітин у діапазоні концен-

трацій 0,5-1,5 мкМ крові.

Рентгенівське опромінення ЛПК щурів та культури ЛПК людини здійснювали на установці "РУМ-17" з потужністю дози 0,41 Гр/хв. Сила струму становила 10 мА, напруга — 200 кВ, фільтри Cu (0,5мм) + Al (1мм). Досліджуваний діапазон доз для ЛПК становив 0,5-1,5 Гр. Вимірювання поглинених доз виконували за допомогою іонізаційної камери і феро-сульфатного дозиметра.

Усі експерименти з опроміненням культури ЛПК людини виконані на 0 год. інкубації, що відповідає G0 — стадії мітотичного циклу.

Результати досліджень. Показано, що спонтанний рівень фрагментованої ДНК з ЛПК щурів у контрольній групі становив 4,85% , що відповідає даним літературних джерел [14].

Таблиця 1
Рівень пошкоджень ДНК у ЛПК щурів за дії ОА та ІВ

Група	Відсоток пошкодженої ДНК у "хвості комет"
Інтактний контроль	4,85±0,07
ОА	11,62±0,16*
ІВ	13,27±0,17*
ОА+ІВ	15,39±0,11*

Таблиця 2
Рівень пошкоджень ДНК у ЛПК людини за дії різних доз опромінення

Група	Відсоток пошкодженої ДНК у "хвості комет"
Інтактний контроль	3,83±0,06
ІВ, 1 Гр	6,99±0,15*
ІВ, 2 Гр	24,3±0,18*

Примітка до таблиць 1 і 2:

* — достовірно щодо контрольної групи, $P \leq 0,05$.

Тривале інгаляційне надходження екзогенних ОА призводило до збільшення рівня розривів ДНК у 2,4 рази порівняно з контрольними тваринами — до $11,62 \pm 0,16\%$ (табл. 1).

Фракціоноване опромінення щурів призводило до збільшення пошкоджень ДНК у ЛПК до рівня $13,27 \pm 0,17\%$, що у 2,7 рази перевищує значення у контролі. Найбільш значні пошкодження ДНК спостерігалися за комбінованої дії ОА та ІВ, їхній рівень у 3,14 рази переви-

том утворення двониткових розривів ДНК за недостатньої ефективності роботи системи репарації є виникнення хромосомних аберацій, було виконано цитогенетичний аналіз каріотипу ЛПК. Цитогенетичні дані (табл. 3) отримано за дії НГ *in vitro* на ЛПК людини, які свідчать, що з підвищенням концентрації НГ (0,5-1,0 мкМ) зростає кількість лімфоцитів з аберациями хромосом та загальна частота індукованих абераций хромосом (від $6,0 \pm 0,2$

та $7,0 \pm 0,2$ до $12,0 \pm 1,0$ та $18,3 \pm 1,4$ відповідно).

За дії НГ у спектрі індукованих пошкоджень превалюють аберация хроматидного типу, делеції та обміни (рис. 1).

На відміну від НГ, у разі опромінення культури ЛПК донорів у спектрі пошкоджень превалюють аберация хромосомного типу, рівень яких зростає зі збільшенням дози опромінення (рис. 2).

За умов комбінованої дії малих доз опромінення ЛПК лю-

Таблиця 3

Частота та спектр абераций хромосом у культурі ЛПК людини за комбінованої дії НГ та ІВ

Група	Цитогенетичні показники (на кожні 100 проаналізованих метафаз)			
	Частота аберантних клітин, %	Загальна частота абераций хромосом	Аберация хромосомного типу	Аберация хроматидного типу
Контроль інтактний	$1,1 \pm 0,3$	$1,1 \pm 0,3$	0,3	0,8
ІВ, 0,5 Гр	$11,0 \pm 1,3$	$11,0 \pm 1,3$	5,8	5,2
ІВ, 1,0 Гр	$18,0 \pm 1,4$	$18,0 \pm 1,4$	12,0	6,0
ІВ, 1,5 Гр	$26,0 \pm 1,8$	$34,0 \pm 1,8$	26,0	8,0
НГ, 0,5 мкМ	$6,0 \pm 0,2$	$7,0 \pm 0,2$	-	6,0
НГ, 1,0 мкМ	$12,0 \pm 1,0$	$18,3 \pm 1,4$	0,3	18,0
ІВ, 0,5 Гр + НГ, 0,5 мкМ	$20,0 \pm 1,4$	$21,0 \pm 1,7$	8,0	13,0
ІВ, 0,5 Гр + НГ, 1,0 мкМ	$24,0 \pm 1,6$	$26,0 \pm 1,6$	7,0	19,0
ІВ, 1,0 Гр + НГ, 0,5 мкМ	$27,0 \pm 1,5$	$30,0 \pm 1,9$	10,0	20,0
ІВ, 1,0 Гр + НГ, 1,0 мкМ	$37,0 \pm 1,8$	$46,0 \pm 1,6$	13,0	33,0
ІВ, 1,5 Гр + НГ, 0,5 мкМ	$35,0 \pm 2,0$	$48,0 \pm 1,9$	23,0	25,0
ІВ, 1,5 Гр + НГ, 1,0 мкМ	$23,0 \pm 1,4$	$25,0 \pm 1,4$	17,0	8,0

Рисунок 1

Аберация хроматидного типу (а — делеції, б — обміни)

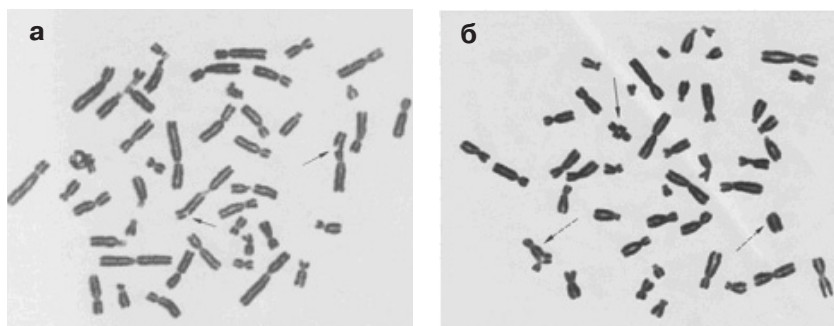
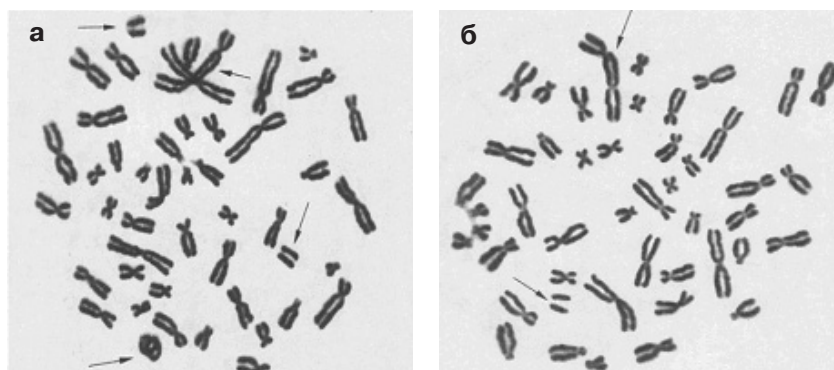


Рисунок 2

Аберация хромосомного типу (а — обміни, б — фрагменти)



щував значення контрольних клітин і становив $15,39 \pm 0,11\%$.

Паралельно були виконані дослідження впливу іонізуючого випромінювання на ЛПК людини *in vitro*. Спонтанний рівень фрагментації ДНК у ЛПК людини становив $3,83 \pm 0,06\%$. Дія ІВ у дозі 1 Гр викликала збільшення рівня пошкодження ДНК в 1,8 рази, що відповідає $6,99 \pm 0,15\%$. Збільшення дози опромінення до 2 Гр призвело до підвищення генотоксичного ефекту у 6,3 рази порівняно з контролем та у 3,5 рази — порівняно з аналогічним показником за дози 1 Гр (табл. 2).

Різницю у вираженості генотоксичного ефекту ІВ у ЛПК щурів та людини можна пояснити розбіжністю у видоспецифічній радіочутливості ссавців [15] і гіперчутливістю ДНК до впливу малих доз іонізуючої радіації, яка проявляється за умови фракціонованого опромінення [16].

Оскільки головним результа-

дини (0,5 Гр) і НГ у концентрації 0,5 мкМ та 1,0 мкМ (табл. 3) цитогенетичний ефект, як і рівень пошкоджень ДНК у ЛПК щурів (табл. 1), не перевищував суми ефектів окремої дії цих факторів, хоч і був більшим за ефект дії окремого фактора. За сумісної дії НГ у концентрації 1,0 мкМ та опромінення у дозі 1 Гр спостерігалось підвищення адитивного ефекту для усіх досліджених цитогенетичних показників. Одержані дані опосередковано свідчать про пригнічення процесів репарації ДНК внаслідок комбінованого впливу радіаційного та хімічного факторів, а саме: у результаті індукції повільно- або нерепарабельних розривів ДНК з подальшим формуванням структурних перебудов хромосом.

Однак подальше збільшення дози опромінення до 1,5 Гр і дія НГ у концентрації 1,5 мкМ призводять до зниження цитогенетичного ефекту за рахунок частоти лімфоцитів з абераціями хромосом і загальної частоти аберацій хромосом (табл. 3). Зниження індукованого цитогенетичного ефекту можна пояснити елімінацією клітин зі значним рівнем пошкоджень ДНК та хромосомних перебудов. З іншого боку, сумісна дія ІВ та НГ за таких доз може призводити не тільки до загибелі клітин, але й до затримки їх поділу.

Отримані нами дані підтверджують, що формування аберацій хромосомного типу є характерним для виявлення генотоксичних ефектів опромінення. Дія ОА має вирішальне значення під час формування аберацій хроматидного типу. Аналіз даних літератури свідчить, що ОА можуть брати участь у формуванні радіаційно-індукованих ефектів, у т.ч. розвитку нестабільності геному ссавців [17]. Одним з таких ефектів є утворення двониткових розривів ДНК та зниження ефективності функціонування системи репарації, що у сукупності призводить до формування розривів хроматид та виникнення хромосомних аберацій. Отримані нами результати підтверджуються даними роботи [18], в якій автори зробили припущення стосовно ролі ОА у підвищенні частоти абераційних лімфоцитів у периферичній крові опромінених осіб.

Таким чином, ми встановили, що комбінована дія ОА та опромінення зумовлює дестабілізацію генетичного апарату ЛПК ссавців, ступінь та характер прояву якої залежить від величини дози пошкоджуючих факторів.

Виникнення хромосомних аберацій вважають характерною особливістю неопластичних клітин. Нині виявлено та ідентифіковано понад 600 онкоасоційованих специфічних хромосомних перебудов, що спостерігаються у більшості випадків онкологічних захворювань. Ефект хромосомних аберацій може бути зумовленим дерегуляцією (зазвичай надекспресією) нормального гена або утворенням гібридного гена з фрагментів, що виникли за аберації [19]. Виявлено чіткий зв'язок між загальною захворюваністю на рак та наявністю аберацій хромосомного типу [20]. Оскільки поява хромосомних змін (хромосомного та хроматидного типу) у клітинній популяції вважається потенційно онкогенною [21, 22], то отримані результати свідчать про реальну можливість підвищення канцерогенного ризику за умов комбінованої дії ІВ та ОА залежно від величин доз вказаних факторів.

Висновок

Комбінована дія ОА та ІВ зумовлює формування одно- та двониткових розривів ДНК з подальшим розвитком хромосомної нестабільності лімфоцитів периферичної крові, ступінь і характер прояву якої залежать від величини дози вказаних факторів.

За дії НГ у спектрі пошкоджень превалюють аберації хроматидного типу, а у випадку опромінення культури ЛПК донорів — хромосомного типу. Однак за умов комбінованої дії цих факторів НГ забезпечує основний внесок в індуковану нестабільність геному клітин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Nitric Oxide-Mediated Inhibition of DNA Repair Potentiates Oxidative DNA Damage in Cholangiocytes / M. Jaiswal, N. Larusso, R. Shapiro [et al.] // *Gastroenterology*. — 2001. — Vol. 120. — P. 190-199.
2. Graziewicz M. Nitric oxide inhibits DNA ligase activity: potential mechanisms for NO-mediated DNA damage / M. Graziewicz, D. Wink, F. Laval // *Carci-*

nogenesis. — 1996. — Vol. 17 (II). — P. 2501-2505.

3. Luckey T. The Health Effects of Low-Dose Ionizing Radiation / T. Luckey // *Journal of American Physicians and Surgeons*. — 2008. — Vol. 13 (2). — P. 39-42.

4. Bonavida B. Nitric Oxide (NO) and Cancer Prognosis, Prevention, and Therapy / B. Bonavida. — New York: Springer, 2010. — 513 p.

5. Li C. Threshold Effects of Nitric Oxide-Induced Toxicity and Cellular Responses in Wild-type and p53-Null Human Lymphoblastoid Cells / C. Li, B. Pang, T. Kiziltepe [et al.] // *Chem Res Toxicol*. — 2006. — Vol. 19 (3). — P. 399-406.

6. Victorin K. Health risk evaluation of nitrogen oxides. Genotoxicity / K. Victorin // *Scand. J. Work Environ. Health*. — 1993. — Vol. 19, № 2. — P. 1-8.

7. Basal and stimulated protein S-nitrosylation in multiple cell types and tissues / A. Gow, Q. Chen, D. Hess [et al.] // *J. Biol. Chem*. — 2002. — Vol. 277. — P. 9637-9640.

8. Bryant P. Mechanisms of radiation-induced chromatid breaks / P. Bryant // *Mutation Research*. — 1998. — Vol. 404. — P. 107-111.

9. Burlinson B. The in vitro and in vivo comet assays / B. Burlinson // *Methods Mol. Biol*. — 2012. — Vol. 817. — P. 143-163.

10. Gordon D. Causes and consequences of aneuploidy in cancer / D. Gordon, B. Resio, D. Pellma // *Nature reviews, Genetics*. — 2012. — Vol. 13. — P. 189-203.

11. Impact of Types of Lymphocyte Chromosomal Aberrations Cohorts on Human Cancer Risk / L. Hagmar, U. Stromberg, S. Bonassi [et al.] // *Cancer Res*. — 2004. — Vol. 64. — P. 2258-2263.

12. Olive P. DNA double-strand breaks measured in individual cells subjected to gel electropho-

resis / P. Olive, D. Wlodek, J. Banath // Cancer Research. — 1991. — Vol. 51. — P. 4671-4676.

13. Cytogenetic analysis for radiation dose assessment. — Vienna: IAEA, 2001. — P. 126.

14. Comparative study with the alkaline Comet assay and the chromosome aberration test / A. Hartmann, U. Plappert, F. Potter, W. Suter // Mutation Research. — 2003. — Vol. 536. — P. 27-38.

15. Dikomey E. Correlation between cellular radiosensitivity and non-repaired double-strand breaks studied in nine mammalian cell lines / E. Dikomey, J. Daphi, I. Brammer // Int. J. Radiat. Biol. — 1998. — Vol. 73 (3). — P. 269-278.

16. Investigation of radiation hypersensitivity to fractionated low-dose radiation exposure / L. Smith, R. Miller, M. Richards [et al.] // Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys. — 1999. — Vol. 45 (1). — P. 187-191.

17. Nitric oxide-mediated inhibition of caspase-dependent T-lymphocyte proliferation / R. Mahidhara, R. Hoffman, S. Huang [et al.] // J. Leukoc. Biol. — 2003. — Vol. 74. — P. 403-411.

18. Корреляция между внутриклеточным содержанием оксида азота и частотой мутантных лимфоцитов после радиационного воздействия в малых дозах / И. Замулаева, Н. Орлова, С. Смирнова // Радиационная биология. Радиэкология. — 2007. — Т. 47, № 1. — С. 86-92.

19. Mitelman F. Recurrent chromosome aberrations in cancer / F. Mitelman // Mutation Research. — 2000. — Vol. 462. — P. 247-253.

20. Rossner P. Chromosomal Aberrations in Lymphocytes of Healthy Subjects and Risk of Cancer / P. Rossner, P. Boffetta, M. Ceppi // Environ. Health Perspect. — 2005. — Vol. 113 (5). — P. 517-520.

21. Boffetta P. Chromosomal Aberrations and Cancer Risk: Results of a Cohort Study from Central Europe / P. Boffetta, H. Norppa, E. Fabianova // Am. J. Epidemiol. — 2007. — Vol. 165. — P. 36-43.

22. Radford I. Chromosomal rearrangement as the basis for human tumorigenesis / L. Radford // Int. J. Radiat. Res. — 2004. — Vol. 80, № 8. — P. 543-557.

Надійшла до редакції 24.06.2012.

IMMUNOLOGICAL EFFECTS IN A MONTH OF THE COMBINED NITRITES' EXPOSURE WITH DIFFERENT CHEMICAL COMPOUNDS

Vinarska Ye.I., Spasska Yu.S., Grigorenko L.Ye., Stepanchuk S.B.

ІМУНОЛОГІЧНІ ЕФЕКТИ ЗА МІСЯЦЬ КОМБІНОВАНОГО ВПЛИВУ НІТРИТІВ З РІЗНИМИ ХІМІЧНИМИ СПЛУКАМИ



**ВИНАРСЬКА О.І.,
СПАСЬКА Ю.С.,
ГРИГОРЕНКО Л.Є.,
СТЕПАНЧУК С.В.**
ДУ "Інститут гігієни та
медичної екології
ім. О.М. Марзєєва
АМН України",
м. Київ

УДК
57.083.3:576.385.5:612.014.46

Проблема, пов'язана з нітритно-нітратним навантаженням на людину, виникла внаслідок екологічної недбалості діяльності людства. Цей пресинг ускладнюється ще й тим, що, крім зовнішнього надходження, нітрити постійно присутні в організмі: вони надходять з продуктами харчування, ліками, ендогенно утворюються, їх синтез відбувається за будь-якого рівня нітратів у харчовому раціоні й питній воді. Синтез нітритів в організмі відбувається у тканинах печінки, мозку, у макрофагах та нейтрофілах [1-3].

Незначну кількість літературних джерел присвячено дослідженню ізольованої дії нітриту натрію на імунну систему. Опубліковані результати вказу-

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЧЕРЕЗ МЕСЯЦ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ НИТРИТОВ С РАЗНЫМИ ХИМИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

Винарская Е.И., Спасская Ю.С., Григоренко Л.Е., Степанчук С.В.
В работе представлены данные сравнительного анализа результатов экспериментальных исследований комбинированного действия нитрита натрия с фенолом, хлороформом и тетрациклином на иммунную систему.

Целью работы было установить особенности иммунологических эффектов в зависимости от дозы и химической структуры ксенобиотиков при их комбинированном действии с нитритом натрия.

Материалы и методы исследований. В работе были использованы следующие реакции: содержание лейкоцитов в периферической крови и их качественный состав; количество Т- и В-лимфоцитов, природных киллеров; реакция фагоцитоза; реакция дегрануляции базофилов (по Шелли); реакция торможения распластывания макрофагов; реакция преципитации циркулирующих иммунных комплексов.

Результаты. Установлены особенности иммунологических эффектов в зависимости от дозы и химической структуры ксенобиотиков. При комбинированном пероральном поступлении в организм животных изученных ксенобиотиков в течение месяца наиболее широкий спектр изменений во всех звеньях иммунной системы наблюдался при действии предшественников эндогенных нитрозаминов (нитрита натрия, тетрациклина), что может быть связано с жесткостью конформации, обусловленной 4-мя линейно конденсированными шестичленными углеродными кольцами с большим числом реактогенных аминогрупп, присутствующих в молекуле тетрациклина. Наиболее выраженный иммунотоксический эффект наблюдался при действии нитрита натрия с тетрациклином (предшественниками эндогенных нитрозаминов).

© **Винарська О.І., Спаська Ю.С., Григоренко Л.Є., Степанчук С.В.** СТАТТЯ, 2012.



№ 4 2012 ENVIRONMENT & HEALTH 16