

## ГЕНОТОКСИЧНІ ЕФЕКТИ ОКРЕМОЇ ТА КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ ЕКЗОГЕННИХ ОКСИДІВ АЗОТУ ТА МАЛИХ ДОЗ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ

Музальов І.І.\*, Михайленко В.М.

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

Токсичність дії чинників навколишнього середовища може бути модифікована за рахунок одночасного або послідовного впливу кількох агентів тієї самої або ж іншої природи. Наслідки деяких комбінованих впливів можуть бути більш небезпечними та шкідливими, ніж можна очікувати від простої сумачії ефектів, тому недостатня увага до комбінованої дії екологічних факторів може призвести до значних негативних наслідків для здоров'я людини. Екзогенні оксиди азоту (ОА) на теперішній час є одними з найбільш розповсюджених забруднювачів атмосферного повітря техногенного походження, емісія та вміст яких в навколишньому середовищі щорічно збільшується. Так само збільшується і експозиція організму людини до малих доз іонізуючої радіації (МДІР). Показано, що газоподібні ОА та МДІР здатні індукувати СОС — репарацію ДНК, утворення мікроядер, хромосомні аберації хроматидного типу і ушкодження ДНК у вигляді одностраничних розривів та обмінів між сестринськими хроматидами. Нерепаровані або помилково репаровані, такі ефекти можуть призвести до загибелі, мутагенезу та пухлинної трансформації клітин. Саме тому розриви молекули ДНК вважають одним з репрезентативних і перспективних до застосування біомаркерів екоотоксикологічних впливів фізичних та хімічних чинників за їх окремої та комбінованої дії.

Метою дослідження було визначити ступінь пошкодження ДНК за окремої та комбінованої дії ОА та МДІР. Дослідження проводили методом лужного гель-електрофорезу ізольованих клітин ("ДНК-комет"), що є загальноприйнятим та рекомендованим для досліджень у цій галузі. Об'єктом досліджень були лімфоцити периферичної крові щурів 4 дослідних груп: 1) контрольна група інтактних тварин; 2) тварини, які зазнали впливу ОА (125-150 мг/м<sup>3</sup> повітря) протягом 30 днів; 3) тварини, яких опромінювали МДІР (10 разів по 0,1 Гр); 4) тварини, які зазнавали сумісної дії ОА та МДІР. Пошкодження ДНК оцінювали за відсотком ДНК, що вийшла з клітини (% ДНК у "хвості комети").

За дії ОА рівень пошкодження ДНК лімфоцитів тварин підвищився у 2,4 рази у порівнянні з контрольними клітинами. За дії малих доз іонізуючої радіації пошкодження ДНК клітин зросло у 2,7 рази. Пошкодження ДНК лімфоцитів тварин, що зазнали комбінованого впливу

ОА та МДІР, перевищували контрольний рівень у 3,2 рази, а також у 1,32 та 1,16 — аналогічний показник за дії ОА та радіації відповідно.

Таким чином, ОА та МДІР призводять до формування пошкоджень ДНК клітин, однак їх комбінована дія виявилась більшою, та не може бути зведена до суми окремих впливів цих факторів.

Комбінований ефект досліджуваних чинників може бути пояснений існуванням як спільних механізмів реалізації генотоксичних ефектів для обох факторів (формування реактивних форм кисню та азоту), так і окремим внеском ОА у загальний пошкоджуючий ефект за рахунок взаємодії з аміногрупами ДНК, а також N-алкілнітрозамінів за взаємодії ОА з вторинними амінами та амідами.

## КОМБІНОВАНИЙ ВПЛИВ ЕКЗОГЕННИХ ОКСИДІВ АЗОТУ ТА МАЛИХ ДОЗ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ НА РОЗВИТОК ГЕНЕТИЧНОЇ НЕСТАБІЛЬНОСТІ ТА УТВОРЕННЯ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ СПОЛУК ПРИ ПУХЛИННОМУ РОСТІ

Главін О.А.\*, Герашенко Б.І., Рябченко Н.М., Музальов І.І., Михайленко В.М.

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, м. Київ, Україна*

Оксиди азоту (ОА) та малі дози іонізуючої радіації (МДІР) є поширеними забруднювачами навколишнього середовища, що можуть порушувати інтенсивність вільнорадикальних процесів в тканинах і викликати пошкодження генетичного апарату.

**Мета роботи.** Вивчити особливості росту експериментальної пухлини карцинома Герена (КГ) за комбінованої дії ОА і МДІР та оцінити їх генотоксичні ефекти і вплив на стан вільнорадикального гомеостазу тканин організму.

**Матеріали і методи.** Дослідження проводили на 4-х групах експериментальних тварин (білі нелінійні щури самці масою 120-160 г): 1) інтактні щури, яким перещеплювали КГ (контрольна група); 2) перещеплення КГ після курсу  $\gamma$ -опромінення по 0,1 Гр раз на три доби протягом 30 діб; 3) перещеплення КГ після курсу інгаляцій ОА — 30 діб по 14 год. на добу при концентрації 150 мг/м<sup>3</sup> по NO; 4) перещеплення КГ після курсу комбінованої дії ОА та МДІР. Відбір зразків проводили на 12-ту та 18-ту добу росту пухлин. Інтенсивність росту КГ оцінювали за розмірами пухлин з 5-ї по 18-ту добу після перещеплення. Генотоксичні ефекти визначали у мікроядерному тесті (МЯ) на фракції поліхроматофільних еритроцитів загальної фракції клітин кісткового мозку з використанням проточної цитофлуориметрії та за рівнем фрагментації ДНК в

лімфоцитах периферичної крові (ЛПК) методом гель-електрофорезу ізольованих клітин. Утворення вільнорадикальних сполук (ВР) визначали в гепатоцитах та клітинах КГ з використанням флуоресцентного зонду діхлоро-флуоресцеїн-діацетату, а в плазмі периферичної крові за допомогою зонду N,N-діетіл-парафенілендіаміну.

**Результати.** Попередній вплив ОА або МДІР прискорював ріст КГ. На 12-ту добу середні розміри пухлин перевищували контрольні відповідно на 44% і 32%, а на 18-ту добу різниця досягала 55% та 107%. За комбінованої дії цих чинників ефект стимуляції росту КГ був майже відсутнім — перевищення контрольних показників на 18-ту добу лише на 23%. В той же час, найбільші генотоксичні пошкодження спостерігались за комбінованої дії ОА і МДІР. Максимальне пошкодження ДНК в ЛПК спостерігалось на 18-ту добу (перевищення контрольного рівня до 4,0 разів) як при окремому, так і комбінованому впливі ОА і МДІР. Значний генотоксичний вплив (перевищення контрольного рівня в 1,8 рази) комбінованої дії чинників за рівнем МЯ зареєстровано в поліхроматофільних еритроцитах загальної фракції клітин кісткового мозку. В інших випадках збільшення кількості МЯ складало лише 16-28% від рівня, що спостерігався у тварин з КГ.

Зміни рівня утворення ВР зафіксовані на 12-ту або 18-ту добу після закінчення впливу ОА та/або МДІР, мали характер тенденції і були більш вираженими в клітинах печінки. Інтенсивність утворення ВР зменшувалась в 1,2-1,3 рази за окремого впливу ОА в обидва терміни досліджень, однак, за комбінованого впливу ОА та МДІР їх рівень зростав в 1,3 рази на 12-ту добу.

**Висновок.** Інгаляційна дія екзогенних ОА або МДІР супроводжувалась пошкодженням ДНК та ростом генетичної нестабільності в ЛПК та клітинах кісткового мозку, що корелювало з прискоренням росту КГ у експериментальних тварин. Можна припустити, що відсутність значних змін росту пухлин за комбінованої дії ОА та МДІР, пов'язана з частковою загибеллю пухлинних клітин після перешеплення за значного генотоксичного впливу цих двох чинників.

## ТОКСИКОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ МЕТАЛОНЕФРОПАТІЙ

Самохіна Н.А.

*ДП УкрНДІ медицини транспорту, м. Одеса*

Актуальність. За останні 20 років стан здоров'я населення України дуже погіршився, що значною мірою зумовлено антропологічним забрудненням навколишнього середовища, зокрема сполуками важких металів — кадмію (Cd), свин-

цю (Pb) та ртуті (Hg). Здоров'я людини в багатьох випадках визначається станом навколишнього середовища. Контамінація важкими металами (ВМ) довкілля і виробничої зони населення може лежати в основі багатьох випадків розвитку металонефропатій (МНП), особливого виду патології нирок. Встановлено, що тривалий вплив на організм ВМ, навіть у малих дозах, призводить до зростання захворюваності серед населення, включаючи неспецифічні синдроми екологічної дезадаптації, зниження захисних сил організму (підвищена частота інфекційних, алергійних та онкологічних захворювань), загострення хронічних хвороб. Із-за недостатньо вивчених патогенетичних механізмів токсичного ураження нирок важко діагностувати токсичні нефропатії.

Тому, метою даного дослідження було експериментальне моделювання на лабораторних тваринах дії важких металів на нирки, вивчення біохімічних механізмів їх токсичності, пошук інформативних біомаркерів розвитку металонефропатій.

**Матеріали та методи.** Дослідження проводились на щурах-самцях вагою 200-220 г, яким на протязі 30 днів в/ш вводили солі ВМ в дозі 1/200 від DL50. Тварини були розділені на чотири групи: 1- ацетат свинцю, 2- хлорид кадмію, 3- хлорид ртуті, 4- контрольна. Тварин виводили із експерименту під тіопенталовим наркозом із додержанням всіх норм біоетики. В нирках дослідних тварин визначали вміст ВМ, а в цільному гомогенаті (ЦГ), лізосомально-цитоплазматичній (ЛЦФ), мітохондріальній фракціях (МФ) тканин нирок досліджували низку біохімічних показників: показники мембранотоксичної дії — лужна фосфатаза (ЛФ), кисла фосфатаза (КФ), ферменти розвитку оксидативного стресу — глутатіонпероксидаза (ГП), глутатіонредуктаза (ГР), продукти перикисного окиснення ліпідів (МДА), ферменти енергетичного (ЛДГ, Г-6-ФДГ) та білкового обміну (АЛТ, АСТ). В біосубстратах (кров та сеча) визначали креатинін.

**Результати досліджень.** В динаміці субхронічного експерименту в усіх групах тварин, що отримували ВМ, спостерігалось прогресивне накопичення їх в тканинах нирок. При цьому максимальний вміст токсикантів визначався на 30 день: рівень Cd зріс в 15,8 раз у порівнянні з контролем, а Hg — в 13,7 раз.

Провідним механізмом токсичної дії ВМ вважається інгібування багатьох ферментних систем в результаті блокування сульфгідрильних та інших функціональних груп. Зниження відношення -SH до -SS груп відмічено в усіх дослідних групах тварин. Найбільш вагомо ці зміни проявлялися в лізосомальній фракції кадмієвої групи, яка містить цитоплазматичні та лізосомальні ферменти — зростання на 15- 20 %.