

УДК: 612.419+59.085+612.014.482

Е. Б. Ганжа✉, Н. А. Дружина, Л. И. Маковецкая, А. А. Главин, Л. Ф. Клепец,
В. М. Михайленко

*Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого НАН
Украины, ул. Васильковская, 45, Киев, 03022, Украина*

ФРАКЦИОНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ И ОКСИДОВ АЗОТА НА РОСТ ОПУХОЛЕЙ У КРЫС

Цель. Исследовать влияние действия ионизирующих излучений и оксидов азота на рост и развитие перевитой карциномы Герена у экспериментальных крыс.

Материалы и методы. Исследования проведены на белых нелинейных крысах-самцах весом 125–160 г. Животных подвергали воздействию оксидов азота и/или ионизирующих излучений, после чего им перевивали карциному Герена. Исследовали динамику роста опухолей и изменения свободнорадикальных процессов в системе крови по биофизическим и биохимическим показателям.

Результаты. Показано, что влияние исследуемых факторов внешней среды приводит к нарушению окислительных процессов в организме животных, что способствует росту и развитию опухолей.

Выводы. Предварительное воздействие малых доз ионизирующих излучений и/или экзогенных оксидов азота значительно ускоряет рост карциномы Герена. Этот процесс сопровождается нарушением окислительного метаболизма и развитием оксидативного стресса.

Ключевые слова: ионизирующие излучения, оксиды азота, карцинома Герена, свободнорадикальные процессы, система крови.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2014. Вип. 19. С. 389–397.

О. В. Ganzha✉, М. О. Druzhyna, Л. I. Makovetska, О. О. Glavin, L. F. Klepets, V. M. Mikhailenko
*R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine, 45,
Vasilkovskaya str., Kyiv, 03022, Ukraine*

Fractionate effect of ionizing radiation and nitric oxide on tumor growth in rats

Objective. To investigate the effect of ionizing radiation and nitrogen oxides on the growth and development of Guerin's carcinoma transplanted in rats.

Materials and methods. Studies have been conducted on white nonlinear male rats weighing 125–160 g. Animals were exposed of nitrogen oxides and/or ionizing radiation, and then were transplanted Guerin's carcinoma. The dynamics of tumor growth and changes of free radical processes in the blood system by biophysical and biochemical methods were investigated.

Results. It is shown that the effect of the studied environmental factors leads to disruption of oxidative processes in the animal's organism, which contributes to the growth and development of tumors.

Conclusion. Pre-exposure to low doses of ionizing radiation and/or exogenous nitrogen oxides significantly accelerates the growth of Guerin's carcinoma. This process is accompanied by a disturbance of oxidative metabolism and the development of oxidative stress.

Key words: ionizing radiation, nitrogen oxides, Guerin's carcinoma, free radical processes, the blood system.

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014;19:389-397.

✉ Ганжа Елена Борисовна, e-mail:olganzha@ukr.net

Действие повреждающих факторов и развитие ряда патологий реализуются путем изменения интенсивности свободнорадикального перекисного окисления в тканях организма [1–6]. Нарушение баланса между процессами образования реактивных форм кислорода (РФК) и функционированием антиоксидантной системы является основным механизмом развития оксидативного стресса в клетках, что регулирует опухолевый рост за счет развития генетической нестабильности, активации онкогенов и влияния на ангиогенез [7–10]. Высокий уровень образования РФК и персистентный оксидативный стресс характерны для опухолевых клеток.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Исследование влияния отдельного и совместного действия ионизирующих излучений (ИИ) и оксидов азота (ОА) на рост и развитие перевитой карциномы Герена (КГ) у экспериментальных крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования проведены на белых нелинейных крысах-самцах весом 125–160 г. Животных содержали в виварии в условиях стандартного рациона и доступа к воде. Процедуры с экспериментальными животными осуществляли согласно “Положению об использовании животных в биомедицинских исследованиях” [11]. В соответствии с условиями эксперимента, крысы были разделены на 4 группы: 1 – интактные животные, которым через 30 суток после получения была перевита КГ (контроль – КГ); 2 – крысы, которых подвергали ингаляционному воздействию ОА в течение 30 суток с перевивкой КГ после окончания последней ингаляции (ОА + КГ); 3 – животные, которых подвергали фракционированному воздействию ИИ в течение 30 суток с перевивкой КГ после последнего облучения (ИИ + КГ); 4 – крысы, находящиеся в условиях комбинированного действия ОА и ИИ с перевивкой КГ после окончания последней ингаляции ОА (ОА + ИИ + КГ).

Животных облучали на аппарате РУМ-17: каждые трое суток по 0,1 Гр · 10 сеансов, суммарная поглощенная доза составляла 1,0 Гр. Ингаляционную затравку крыс ОА проводили в герметичной камере объемом 100 л, в которую подавали очищенный газообразный NO при интенсивном перемешивании с воздухом внутри камеры.

Оценку роста опухолей проводили по размерам опухолевого узла (объем в см³ с 5 по 18-е сутки после перевивки КГ). Свободнорадикальные процессы в системе крови определяли по уровню генерации су-

Action of damaging factors and the development of a number of pathologies implemented by varying the intensity of free radical peroxidation in the tissues of the body [1–6]. Imbalance between the processes of formation of reactive oxygen species (ROS) and the functioning of the antioxidant system is the primary mechanism for the development of oxidative stress in cells, which regulates tumor growth through the development of genetic instability, activation of oncogenes and the effect on angiogenesis [7–10]. High level of formation ROS and persistent oxidative stress are characteristic of tumor cells.

OBJECTIVE

To investigate the influence of individual and joint effects of ionizing radiation (IR) and nitrogen oxides (NO) on the growth and development of transplanted Guerin's carcinoma (GC) in experimental rats.

MATERIALS AND METHODS

Studies have been conducted on white nonlinear male rats weighing 125–160 g. Animals were kept in a vivarium under standard diet and access to water. Procedures with experimental animals were carried out according to the “Regulations on the use of animals in biomedical research” [11]. In accordance with the conditions of the experiment, rats were divided into 4 groups: 1 – intact animals, which 30 days after the receipt has been transplanted the GC (control – GC); 2 – rats that were exposed to inhalation of NO for 30 days from transplantation of the GC after the last inhalation (NO + GC); 3 – animals that were exposed to fractionated IR within 30 days from transplantation of the GC after the last irradiation (IR + GC); 4 – rats that were under the combined action of NO and IR with transplantation of the GC after the last inhalation of NO (NO + IR + GC).

The animals were irradiated using RUM-17: every three days to 0.1 Gy · 10 sessions, the total absorbed dose was 1.0 Gy. The inhalation treatment of rats with NO was carried out in the 100 L air-locked (pressure-proof) chamber equipped with a device for input of purified gaseous NO intensively mixed inside with air.

Assessment of tumor growth was performed on tumor nodule size (volume in cm³, from 5 to 18th days after transplantation GC). Free radical processes in the blood system were determined by

пероксидного анион-радикала [12] в суспензії кліток костного мозга (ККМ), змінам каталазної активності [13] і рівня прооксидантно-антиоксидантного співвідношення з використанням хемілюмінесцентного (ХЛ) методу [14]. Статистическу обробку результатів проводили по стандартним методам з використанням t-критерія Стюдента [15].

РЕЗУЛЬТАТИ І ОБСУЖДЕНИЕ

Облучение животных, по сравнению с контрольной группой, приводило к значительной интенсификации роста опухолей – в 2,2 раза на 18-е сутки (рис. 1). Влияние ОА было менее эффективным. На 12-е сутки роста КГ (первый срок отбора образцов для анализов) отмечали увеличение объема опухолей в группах 2 и 3 в 1,4–1,8 раза, соответственно.

При комбинированном действии ОА и ИИ не наблюдали суммации отдельного влияния этих факторов на скорость роста КГ. Размеры опухолей, наоборот, были меньше, чем при отдельном действии ИИ или ОА, а отличие от контрольной группы находилось на уровне тенденции. Исследование опухолей с использованием модели ступенчатого роста (функция гиперболического тангенса) показало, что для группы ИИ + КГ ожидается их более быстрый и пролонгированный период роста (см. рис. 1).

Длительный курс ОА, ИИ и ОА + ИИ приводил к ингибированию выработки супероксидного анион-радикала в ККМ (рис. 2) на 88, 74 и 63 % ($p \leq 0,05$), соответственно. Наиболее глубокие нарушения происходили вследствие ингаляции ОА. Переувлажнение КГ и формирование опухоли также сопровожда-

the level of the generation of superoxide anion radical [12] in the suspension of bone marrow cells (BMC), by the change of catalase activity [13] and the level of prooxidant-antioxidant ratio using chemiluminescence (ChL) method [14]. Statistical analysis was performed according to standard procedures using the Student t-test [15].

RESULTS AND DISCUSSION

Irradiation of animals resulted in a significant intensification of tumor growth – 2.2 times to 18th day, compared with the control group (Fig. 1). Effect of NO was less effective. On the 12th day of growth GC (first term sampling for analysis) noted an increase in tumor volume in groups 2 and 3 by 1.4–1.8 times, respectively.

The combined action of NO and IR have not seen a single summation of the impact of these factors on the growth rate of the GC. Tumor sizes were smaller than in the single action IR or NO, and the difference from the control group was on the level trend. Investigation of tumors using a model step-growth (hyperbolic tangent function) showed that for the group IR + GC expected to more rapid and prolonged growth period (see Fig. 1).

Long course of NO, IR and NO + IR resulted in inhibition of accumulation of the superoxide anion radical in BMC at 88, 74 and 63 % ($p \leq 0.05$), respectively (Fig. 2). The most profound violation occurred as a result of inhalation of NO. Transplantation of the GC and tumor formation is

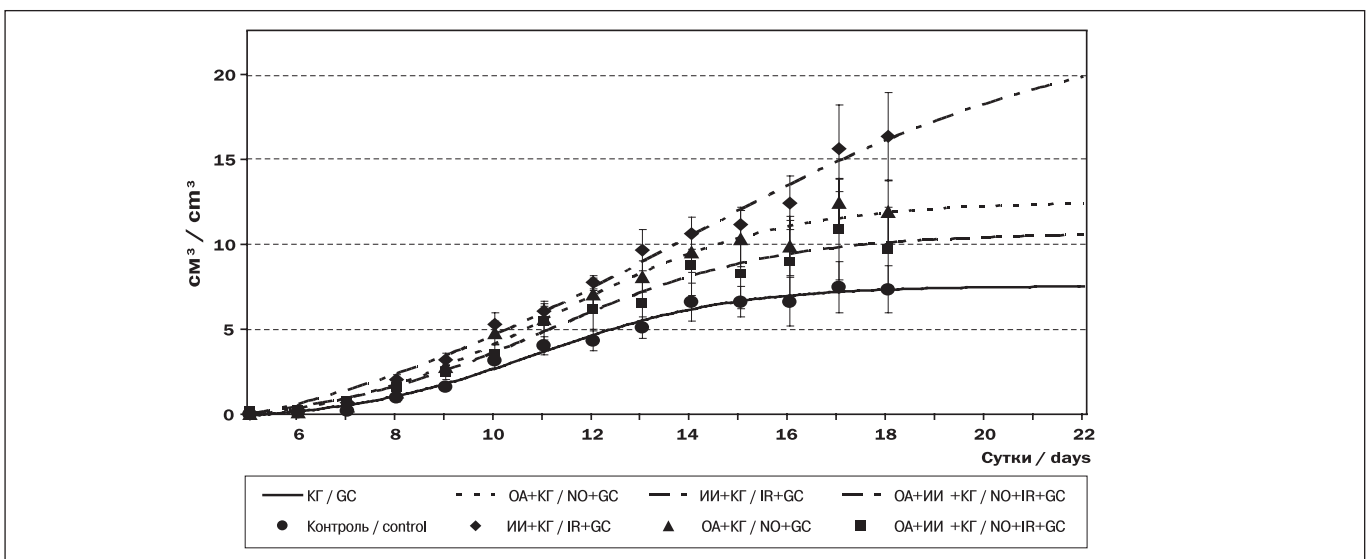


Рисунок 1. Рост КГ после воздействия на крыс ОА и ИИ. Результаты измерений размеров опухолей.
Figure 1. Growth of GC rats after exposure to NO and IR. The results of measurements of tumor size.

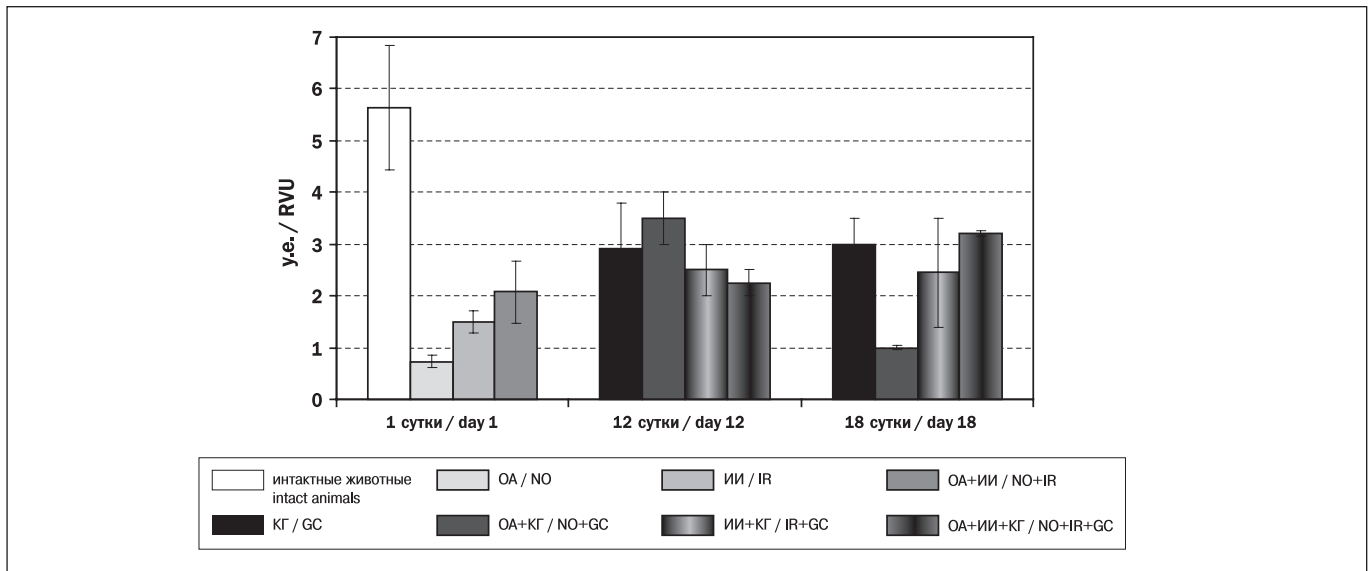


Рисунок 2. Інтенсивність генерації супероксидного аніон-радикала в ККМ інтактних крыс і крыс, которым перевита КГ, после воздействия ОА, ИИ и ОА + ИИ

Figure 2. The intensity of the generation of superoxide anion radical in the BMC of the rats

лись уменьшением уровня супероксидного анион-радикала почти в 2 раза (12-е и 18-е сутки, $p \leq 0,05$).

Предварительный курс ОА и перевивка КГ стимулировали на 20 % ($p \leq 0,1$) наработку супероксидного анион-радикала (12-е сутки), по сравнению с ростом КГ, перевитой интактным животным. На 18-е сутки уровень наработки супероксидного анион-радикала в группах ОА + КГ и ОА + ИИ + КГ проявлял разнонаправленную тенденцию: в первом случае, интенсивность наработки достигала минимальных значений, которые соизмеримы с величинами ингибирования генерации супероксидного анион-радикала после курса ОА; во втором случае, отмечали интенсификацию образования супероксидного анион-радикала на 42 % ($p \leq 0,05$), по сравнению с 12-ми сутками. В то же время, рост КГ на фоне курса ИИ на 18-е сутки не влиял на интенсивность генерации супероксидного анион-радикала, по сравнению с 12-ми сутками.

Таким образом, влияние указанных факторов, перевивка животным на их фоне КГ, а также рост и формирование КГ, перевитой интактным животным, характеризуются значительным (в среднем в 2–3 раза) торможением генерации супероксидного анион-радикала в ККМ, что может свидетельствовать о снижении интенсивности окислительного метаболизма в ответ на длительное воздействие ОА и ИИ. Это обусловлено как созданием гипоксических условий (длительная ингаляция ОА), так и реакцией-ответом на генерацию РФК облучением.

also accompanied by a decrease in the level of superoxide anion radical by almost 2-fold (12 and 18th day, $p \leq 0.05$).

Preliminary course of NO and transplantation of the GC stimulated by 20 % ($p \leq 0,1$) accumulation of the superoxide anion radical (12th day), compared with an increase of the GC, transplanted intact animals. On the 18th day in groups NO + GC and NO + IR + GC the level of accumulation of the superoxide anion radical showed a mixed trend: in the first case, the intensity of accumulation reached minimum values, that are commensurate with the values of the inhibition of the generation of superoxide anion radical after a course of NO; in the second case, noted the intensification of superoxide anion radical by 42 % ($p \leq 0,05$), compared with the 12th day. At the same time, the growth of the GC in group 3 on the 18th day did not affect the rate of generation of superoxide radical anion, compared with the 12th day.

Thus, the impact of these factors, transplantation of animal on the background of the GC, as well as the growth and formation of the GC, transplanted intact animals, characterized by a significant (on average 2–3 times) inhibition of the generation of superoxide anion radical in the BMC, which may indicate a decrease in intensity of oxidative metabolism in response to prolonged exposure to NO and IR. This is due to the establishment of hypoxic conditions (continuous inhalation NO) and a reaction-response to the generation of ROS exposure to IR.

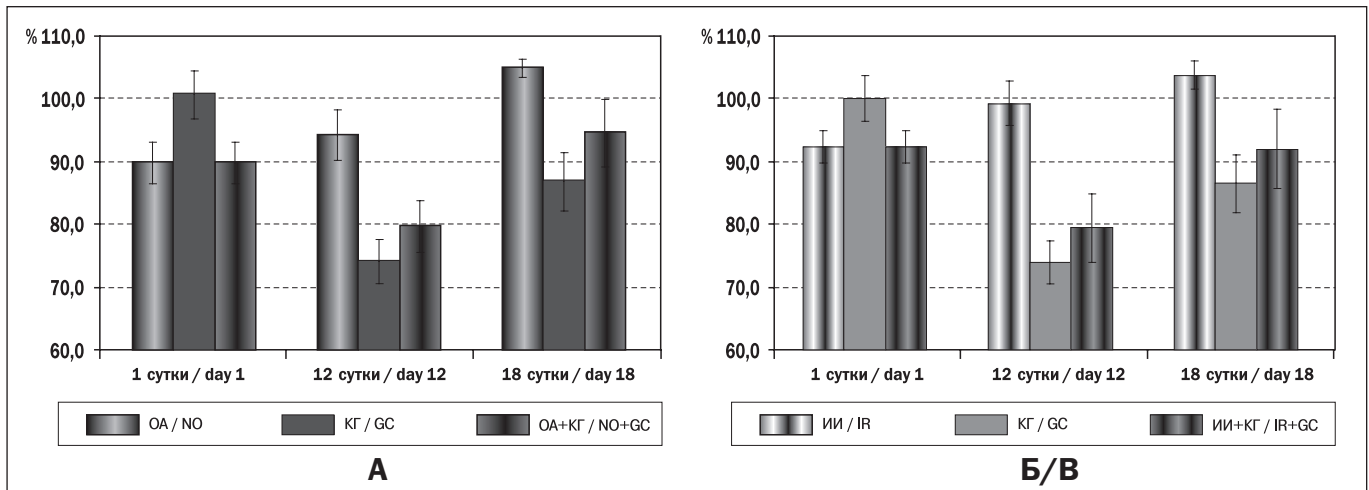


Рисунок 3. Светосумма свечения гемолизатов интактных крыс и крыс, которым перевита КГ, после воздействия ОА (А) и ИИ (Б), (100 % – контроль)

Figure 3. Lightsum glow haemolysates control rats and rats with transplantaion of the GC after exposure to NO (A) and IR (B), (100 % – control)

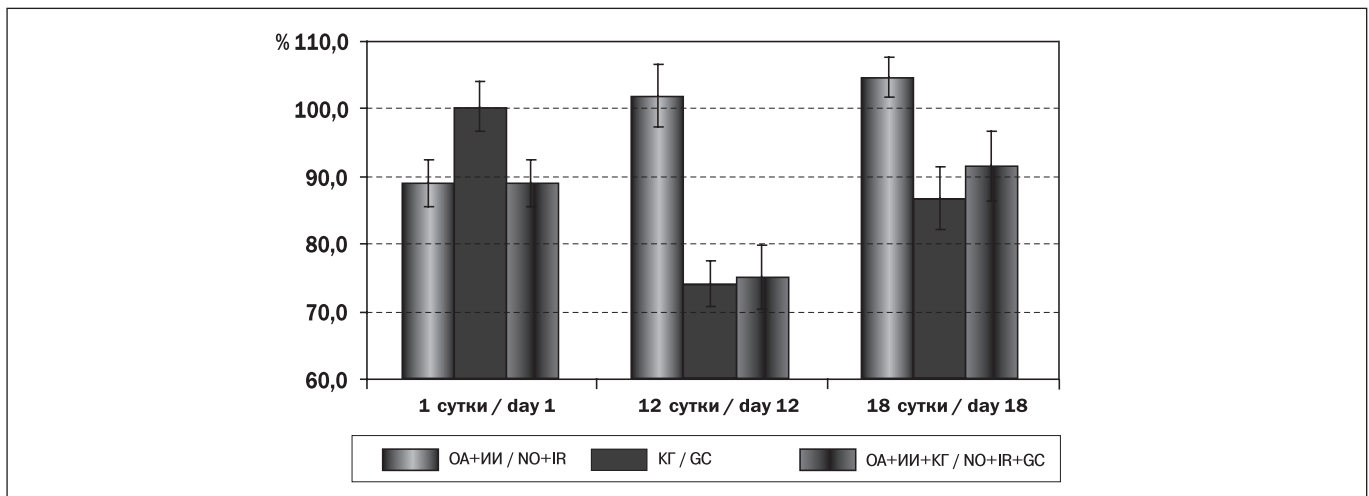


Рисунок 4. Светосумма свечения гемолизатов интактных крыс и крыс, которым перевита КГ, после воздействия ОА + ИИ, (100 % – контроль)

Figure 4. Lightsum glow haemolysates control rats and rats with transplantaion of the GC after exposure to NO + IR, (100 % – control)

Курс ОА приводил к длительному снижению уровня свободнорадикальных процессов (по показателям индуцированной ХЛ гемолизатов) с восстановлением на 18-е сутки после прекращения ингаляций ОА (рис. 3 А). Очевидно, это обусловлено приспособлением организма к гипоксическим условиям эксперимента.

Длительное фракционированное действие ИИ также вызывало снижение (на уровне тенденции) пероксидных процессов в системе крови с их нормализацией на 12-е и 18-е сутки (рис. 3 Б).

При совместном воздействии ОА и ИИ (рис. 4) отмечали такую же тенденцию к уменьшению светосуммы свечения на 1-е сутки, как и при действии

Course of NO led to a prolonged decrease in the level of free radical processes (in terms of the induced ChL of the haemolysates) with the restoration of the 18th day after the cessation of inhalation of NO (Fig. 3 A). Obviously, this is due to the adaptation of the organism to hypoxic conditions of the experiment.

Long term effect of fractionated IR also caused a decrease (at trends) peroxide processes in the blood with their normalization on the 12th and 18th day (Fig. 3 B).

Under the combined action of NO and IR (Fig. 4) noted the same tendency to decrease of the lightsum glow on the 1st day as under the influence

других факторів, з наступним відновленням на 12-е і 18-е дні.

Такі зміни інтенсивності вільнорадикального перекисного окислення є результатом двох механізмів: зниження парціального тиску кисню в тканинах завдяки його заміщенню ОА при інгаляціях і генерації РФК в процесі радіолізу води. В результаті збільшується ймовірність взаємодії ОА з супероксидним аніон-радикалом з утворенням пероксинітриду.

Во всіх досліджуваних групах тварин продукти розвитку КГ викликали зниження виходу квантів світла в ХЛ-реакції крові (на 21–26 %, 12-е дні; на 6–14 %, 18-е дні). Це може бути пов'язано як з безпосереднім впливом цих факторів на генерацію квантів світла, так і на затримку ними вільнорадикальних процесів, що є яскравою демонстрацією зв'язку (взаємозв'язку) "опухоль—організм". Попередні тривалі впливи ОА і ІІ, а також їх спільне дію до пересадки КГ суттєво не впливали на цей процес, про що свідчать динаміка ХЛ-реакції в групах тварин, які не піддавалися попередньому впливу досліджуваних факторів (група тварин з пересадкою КГ).

Ферменти антиоксидантної захисти є найбільш важливим засобом утримання перекисних процесів в тканинах організму в межах фізіологічної норми. Серед них ключовим є каталаза. Довготривале впливи ОА викликали збільшення каталазної активності в крові до 116 % (рис.

of other factors, followed by reduction to the 12th and 18th day.

Such changes in the intensity of free radical peroxidation are the result of two mechanisms: reducing the partial pressure of oxygen in the tissues due to its replacement of NO when inhaled and the generation of ROS in the radiolysis of water. This increases the probability of interaction of NO with superoxide anion radicals to form peroxynitrite.

In all groups of animals products of development GC caused reduction in the yield of light quanta in the ChL reaction of blood (at 21–26 % on the 12th day; at 6–14 % on the 18th day). This may be due either to the direct influence of these factors on the generation of photons, and the inhibition of free radical processes, which is a clear demonstration of the relationship "tumor-host". Previous long-term effects of NO and IR, as well as their joint action to transplantation of the GC had no significant effect on this process, as evidenced by the dynamics of the ChL reaction in the groups of animals that have not been pre-exposed factors studied (group of animals with the transplantation GC).

Antioxidant enzymes are the most significant means of retaining peroxide processes in the tissues of the body within the physiological range. Among them is a key enzyme catalase. Prolonged exposure to NO caused an increase in catalase activity in the blood to 116 % (Fig. 5 A). Further,

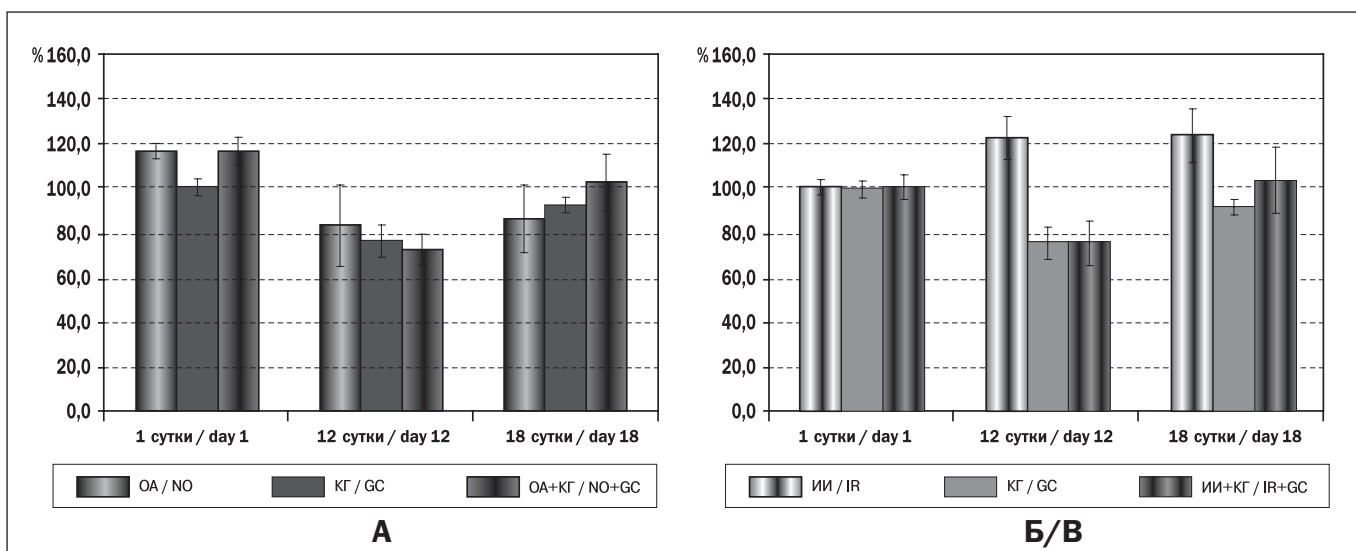


Рисунок 5. Каталазна активність в крові інтактних крыс і крыс, которым пересадка КГ, после воздействия ОА (А) и ІІ (Б), (100 % – контроль)

Figure 5. Catalase activity in blood control rats with transplantation of the GC after exposure to NO (A) and IR (B), (100 % – control)

5 А). В дальнейшем этот показатель на 12-е и 18-е сутки имел, соответственно, значение 83 и 86 %. Но эти данные достоверно не отличались от нормы. Таким образом, каталазная активность в крови крыс после действия ОА быстро нормализовалась.

Фракционированное облучение (рис. 5 Б) также не вызывало существенных изменений каталазной активности в крови, что свидетельствует о достаточной мощности фермента нивелировать избыток свободных радикалов, индуцированных ИИ после каждого сеанса облучения. Однако эти сеансы фракционированного облучения индуцировали увеличение фонда каталазы в крови как формирование адаптивной реакции на длительно действующий фактор, что и наблюдали на 12-е и 18-е сутки. Такой механизм достаточно инерционен и, очевидно, связан с поступлением в периферическую кровь молодых эритроцитов с большим содержанием в них каталазы.

Совместное действие ОА и ИИ (рис. 6) стимулировало генерацию каталазы в крови до 141 %, что превышает суммарное значение ее активности при отдельном воздействии указанных факторов.

При этом доминирующее влияние оказывало длительное воздействие ОА. В последующие сроки наблюдения (12-е и 18-е сутки) изменения каталазной активности были аналогичными динамике активности этого фермента после облучения. Таким образом, влияние факторов внешней среды (ИИ и ОА) приводит к нарушению окислительных процессов в организме животных, что способствует росту и развитию опухолей.

this figure by 12th and 18th day had, respectively, the value of 83 and 86 %. But these data were not significantly different from the norm. Thus, catalase activity in the blood of rats after exposure to NO quickly returned to normal.

Fractionated irradiation (Fig. 5 B) also did not cause significant changes in catalase activity in the blood, indicating that sufficient capacity of the enzyme to neutralize excess free radicals induced by IR after each irradiation. However, these sessions of the fractionated irradiation induced the increase in the catalase activity in the blood as the formation of an adaptive response to long-acting factor, which was observed on the 12th and 18th day. This mechanism is sufficient inertial and, obviously, related to the receipt of the peripheral blood of young red blood cells with a large content of catalase.

The combined effect of NO and IR (Fig. 6) stimulated the generation of catalase in the blood up to 141 %, which exceeds the total value of its activity in the separate effects of the above factors.

In this case, the predominant factor is long-term exposure of NO. In the subsequent period of observation (12th and 18th day) changes in catalase activity were similar to the dynamics of the activity of this enzyme after irradiation. Thus, the influence of environmental factors (IR and NO) leads to disruption of oxidative processes in the organism of animals, which contributes to the growth and development of tumors.

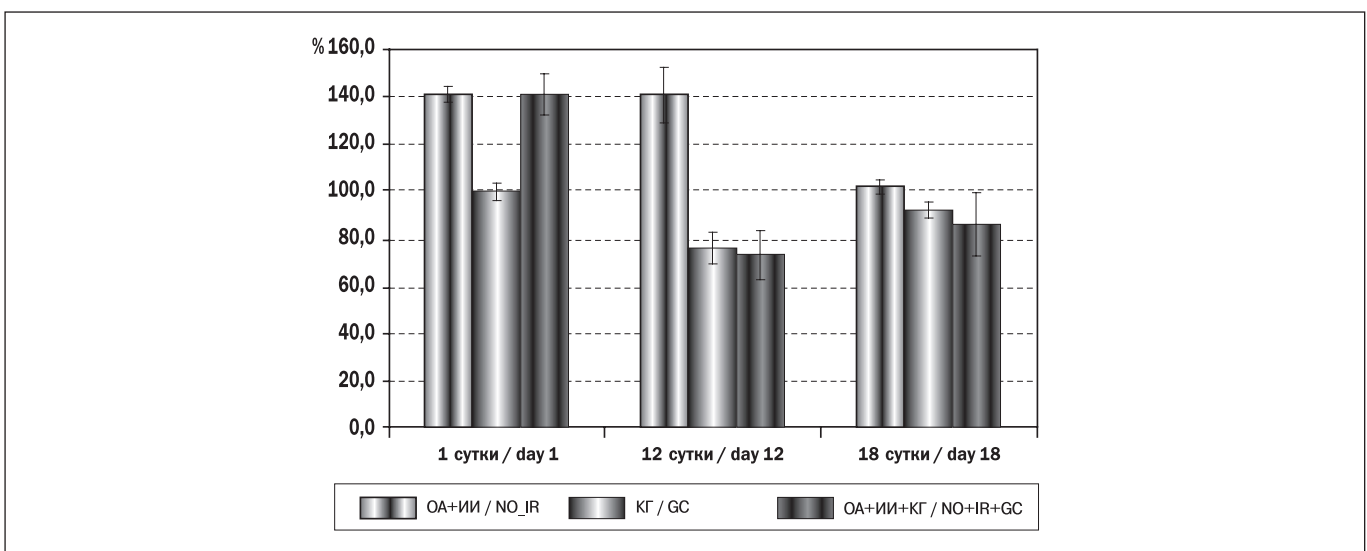


Рисунок 6. Каталазная активность в крови интактных крыс и крыс, которым перевита КГ, после воздействия ОА + ИИ, (100 % – контроль.)

Figure 6. Catalase activity in blood control rats with transplanted of the GC after exposure to NO + IR, (100 % – control)

ВЫВОДЫ

Длительное воздействие малых доз ионизирующих излучений и экзогенных оксидов азота значительно ускоряет рост карциномы Герена. Действие факторов окружающей среды вызывает нарушение окислительного метаболизма, что происходит двумя путями: преимущественно с генерацией в тканях реактивных форм кислорода (облучение) или с образованием пероксинитрита (оксиды азота). Развитие оксидативного стресса свидетельствует о повышении канцерогенного риска в условиях комбинированного действия оксидов азота и ионизирующих излучений.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease / M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol [et al.] // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2007. – Vol. 39, No. 1. – P. 44–84.
2. Ortega A. L. Oxidative and nitrosative stress in the metastatic microenvironment / A. L. Ortega, S. Mena, J. M. Estrela // *Cancers.* – 2010. – Vol. 2, Iss. 2. – P. 274–304.
3. Dhalla N. S. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases / N. S. Dhalla, R. M. Temsah, T. Netticadan // *J. Hypertens.* – 2000. – Vol. 18, Iss. 6. – P. 655–673.
4. Sayre L. M. Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease / L. M. Sayre, M. A. Smith, G. Perry // *Curr. Med. Chem.* – 2001. – Vol. 8, Iss. 7. – P. 721–738.
5. Biomarkers of oxidative damage in human disease / I. Dalle-Donne, R. Rossi, R. Colombo [et al.] // *Clin. Chem.* – 2006. – Vol. 52, no. 4. – P. 601–623.
6. Кислородно-перекисный механизм канцерогенеза и модификация ДНК / М. Б. Лю, И. С. Подобед, А. К. Едыгенова, Б. Н. Лю // *Успехи современной биологии.* – 2005. – Т. 125, № 2. – С. 179–188.
7. Orrenius S. Reactive oxygen species in mitochondria-mediated cell death / S. Orrenius // *Drug Metab.* – 2007. – Vol. 39, No. 2–3. – P. 443–455.
8. Opara E. C. Oxidative stress / E. C. Opara // *Dis. Mon.* – 2006. – Vol. 52, Iss. 5. – P. 183–198.
9. Андреев А. Ю. Метаболизм активных форм кислорода в митохондриях / А. Ю. Андреев, Ю. Е. Кушнарева, А. А. Старков // *Биохимия.* – 2005. – Т. 70, № 2. – С. 246–264.
10. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function / W. Droge // *Physiol. Rev.* – 2002. – Vol. 82, no. 1. – P. 47–95.
11. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідях // *Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія.* – 2003. – Т. 22, № 2. – С. 108–109.
12. Liochev S. I. Lucigenin (bis-N-methylacridinium) as a mediator of superoxide anion production / Liochev S. I., Fridovich I. // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1997. – Vol. 337, Iss. 1. – P. 115–120.
13. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова // *Лаб. дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–19

CONCLUSIONS

Prolonged exposure to low doses of ionizing radiation and exogenous nitrogen oxides significantly accelerates the growth of Guerin's carcinoma. The impact of environmental factors leads to violation of oxidative metabolism that occurs in two ways: primarily through generation of tissue reactive oxygen species (exposure to ionizing radiation) or the formation of peroxynitrite (nitrogen oxides). The development of oxidative stress indicating increased carcinogenic risk in terms of the combined action of nitrogen oxides and ionizing radiation.

REFERENCES

1. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(1):44-84. Review.
2. Ortega AL, Mena S, Estrela JM. Oxidative and nitrosative stress in the metastatic microenvironment. *Cancers (Basel).* 2010 Mar 26;2(2):274-304. doi: 10.3390/cancers2020274.
3. Dhalla NS, Temsah RM, Netticadan T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J Hypertens.* 2000 Jun;18(6):655-73. Review.
4. Sayre LM, Smith MA, Perry G. Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. *Curr Med Chem.* 2001 Jun;8(7):721-38.
5. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem.* 2006 Apr;52(4):601-23.
6. Liu MB, Podobed IS, Edygenova AK, Liu BN. [Oxygen-peroxide mechanism of carcinogenesis and modification of DNA]. *Usp Sovrem Biol.* 2005;125(2):179-88. Russian.
7. Orrenius S. Reactive oxygen species in mitochondria-mediated cell death. *Drug Metab Rev.* 2007;39(2-3):443-55.
8. Opara EC. Oxidative stress. *Dis Mon.* 2006 May;52(5):183-98. Review.
9. Andreev AYu, Kushnareva YuYe, Starkov AA. [Metabolism of reactive oxygen species in mitochondria]. *Biochemistry (Mosc).* 2005;70(2):246-64. Russian.
10. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002 Jan;82(1):47-95.
11. [Ethics physician and human rights: provisions on the use of animals in biomedical experiments]. *Eksperimentalna ta klinichna fiziologhiia ta biokhimiia.* 2003;22(2):108-9. Ukrainian.
12. Liochev SI, Fridovich I. Lucigenin (bis-N-methylacridinium) as a mediator of superoxide anion production. *Arch Biochem Biophys.* 1997 Jan 1;337(1):115-20.
13. Koroljuk MA, Ivanova LI, Mayorova IG. [Method for determination of catalase activity]. *Lab. Delo.* 1988;(1):16-9. Russian.

14. Хемилюминесценция крови при радиационном воздействии / Я. И. Серкиз, Н. А. Дружина, А. П. Хриенко [и др.]. – К. : Наук. думка, 1989. – 176 с.
14. Serkiz JI, Druzhina NA, Hrienko AP, et al. [Chemiluminescence of the blood during radiation exposure]. Kiev : Naukova Dumka; 1989. 176 p. Russian.
15. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.
15. Lakin GF. [Biometrics]. Moskva: Vysshaia Shkola; 1990. 352 p. Russian.

Стаття надійшла до редакції 10.08.2014

Received: 10.08.2014