

УДК 577.391.:612.112.94+612.018

## ВПЛИВ ОКСИДУ АЗОТУ НА ПРОЛІФЕРАТИВНУ АКТИВНІСТЬ І АПОПТОЗ МОНОНУКЛЕАРІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЛЮДИНИ ЗА ДІЇ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ

У. Старанко, М. Люта, Ю. Перетятко, Л. Дацюк, Н. Сибірна

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: bhndllab@mail.ru*

Встановлено, що донор NO–L-аргінін стимулює проліферативну активність у культурі мононуклеарів периферичної крові людини як у нормі, так і за умов одноразового рентгенівського опромінення дозою 0,3 та 2 Гр і дає цитопротекторний ефект за дії радіації у дозі 2 Гр. Показано зростання апоптичного індексу мононуклеарів через 24 год після опромінення в зазначених дозах і зниження цього показника за сукупної дії опромінення та преінкубації з L-аргініном.

*Ключові слова:* оксид азоту, проліферативна активність лімфоцитів, апоптоз, іонізуюче випромінювання.

Клітинний гомеостаз у тканинах і органах будь-якого багатоклітинного організму підтримується за рахунок динамічної рівноваги між процесами проліферації, диференціації, старіння та відмирання клітин. Ці стани спостерігаються на всіх етапах розвитку імунної системи – від кістково-мозкових попередників до високодиференційованих клітин [11, 13].

Встановлено, що серед регуляторів як проліферації, так і апоптозу є білки – продукти проонкогенів і пухлинних супресорів. Регуляторні молекули вступають у взаємодію зі специфічними рецепторами, активують низку сигнальних шляхів, які забезпечують розвиток того чи іншого процесу. Порівняльний аналіз проліферації й апоптозу клітин за дії іонізуючої радіації може бути корисним для з'ясування молекулярних механізмів цих процесів.

Основними стимуляторами клітинного циклу є компоненти сигнальних шляхів, які передають у ядро мітогенний сигнал від різних факторів росту. Проліферативні сигнали не лише стимулюють, але й активують системи контролю (зупинки) клітинного циклу й апоптозу. У нормальній клітині сили стимулюючих і гальмівних впливів на клітинний цикл збалансовані таким чином, що регуляторні білки здатні зупинити клітинний цикл на різних його стадіях при виникненні пошкоджень ДНК. У клітинах, де унаслідок впливу несприятливих факторів навколишнього середовища порушується баланс регуляторних механізмів, можливе виникнення і подальша передача генетичних пошкоджень, що веде до розвитку різних патологій.

До основних чинників, які зумовлюють генетичні ушкодження різної інтенсивності, належать іонізуючі випромінювання. Навіть малі дози радіації (0,1–0,2 Гр) здатні викликати незворотні зміни у структурі ДНК [14]. Дія іонізуючих випромінювань на організм викликає комплекс глибоких метаболічних порушень, які зачіпають всі органи та системи, насамперед імунну. Як при локальному, так і при тотальному опроміненні організму, виникають кількісні та функціональні зміни в системі імунітету. За своєю радіочутливістю імунокомпетентні клітини людського організму належать до найчутливіших [8]. Суттєвого впливу за дії іонізуючого випромінювання зазнають навіть недиференційовані лімфоцити периферичної крові.

До фізіологічних факторів, здатних регулювати у клітинах апоптичну програму, належить оксид азоту – одна із ключових сигнальних молекул, що впливає на функціональний стан серцево-судинної, нервової та імунної систем організму. Унікальна хімічна природа та велика кількість внутрішньоклітинних мішеней для NO залишають відкритим питання, яким чином та наскільки специфічно опосередковується дія оксиду азоту на клітини.

Утворення NO відбувається з амінокислоти L-аргініну за участю ферменту NO-синтази (NOS; L-аргінін і NADPH: кисень оксидоредуктази, КФ 1.14.13.39) [2].

Роль оксиду азоту у відповіді організму на вплив оточуючого середовища дуже багатогранна та не обмежується цитотоксичністю, чи, навпаки, захисним ефектом. Швидше за все, вона буде визначатися співвідношенням стресових факторів і факторів, що забезпечують підтримання гомеостазу клітини, що і спрямує дію NO по тому чи іншому шляху.

Метою роботи було дослідити вплив системи L-аргінін:NO на проліферативну активність і розвиток апоптозу мононуклеарних лейкоцитів периферичної крові людини у нормі та за дії іонізуючого випромінювання.

Об'єктом досліджень були мононуклеарні лейкоцити периферичної крові людини. Лейкоцити виділяли в окремі популяції з цільної гепаринізованої крові (кінцеве розведення 1:100) в градієнті густини з використанням препарату Gradisol-G ("Aquamedica", Польща) згідно з інструкцією фірми-виробника. Підрахунок клітин проводили в камері Горяєва. Контроль за чистотою фракціонованих клітин здійснювали на мазках, зафарбованих за Романовським-Гімзою.

Клітинну суспензію піддавали одноразовому опроміненню на апараті РУМ-17 з такими параметрами: напруга 130 кВ, сила струму 10 мА, фільтри Cu 0,5 мм та Al 1,0 мм; фокусна відстань 95 см, потужність дози 6 сГр/хв, доза 0,3 Гр; фокусна відстань 30 см, потужність дози 50 сГр/хв, доза 2 Гр. Дозу опромінення контролювали клінічним дозиметром типу 27012 (Otto Shon, Німеччина).

Для оцінки впливу оксиду азоту на процес апоптозу і проліферативну активність лімфоцитів у реакції бластної трансформації проводили преінкубацію досліджуваних клітин зі субстратом (L-аргініном) та інгібітором (L-NAME, NG-nitro-L-arginine methyl ester) NO-синтази. Для цього до нерозведеної стерильно набраної крові з гепарином додавали або L-аргінін, або L-NAME у кінцевих концентраціях 10 мкмоль/мл. Залишали пробірки в термостаті на 15 хв при 37°C [12].

Проліферативну активність лімфоцитів периферичної крові людей визначали за реакцією бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ) з використанням конканаваліну А (Con A) як неспецифічного активатора Т-лімфоцитів людини. РБТЛ проводили в середовищі RPMI-1640 (Serva), з додаванням 2 мМ глутаміну, 80 мкг/мл гентаміцину, 10% аутологічної сироватки, інактивованої при  $t=56^{\circ}\text{C}$  протягом 30 хв. Лімфоцити периферичної крові в концентрації  $1,0 \times 10^6$  клітин в 1 мл культивувались у присутності 10 мкг/мл Con A впродовж 72 год, при 37°C в 5% CO<sub>2</sub> [4]. Після закінчення інкубації клітини центрифугували 2 хв при 1,5 тис. об/хв. З осаду клітин виготовляли мазки, фіксували метанолом і забарвлювали за Романовським-Гімзою. Проліферативну активність мононуклеарів виражали у процентах бластних клітин, яку розраховували зі співвідношення кількості бластних форм до загальної кількості підрахованих клітин. Контроль за життєздатністю клітин проводили згідно з [7].

Оцінку процесів апоптозу проводили за морфологічними ознаками шляхом підрахунку клітин на мазках, зафарбованих за Романовським-Гімзою, враховуючи вміст мононуклеарних лейкоцитів із певними ознаками апоптозу, та виражали їхню кількість

у відсотках. Виявляли вакуолізацію цитоплазми і ядра, пікноз і каріорексис ядра, цейозис мембрани, зменшення розміру клітини. Апоптичний індекс визначали як відсоткове співвідношення кількості клітин з ознаками апоптозу до загальної кількості підрахованих клітин (400 на одному мазку в різних полях зору) [10].

Результати досліджень обробляли статистично з використанням t-критерію Стьюдента. Розбіжності вважалися статистично вірогідними, якщо  $P \leq 0,05$ .

При дії на організм іонізуючого випромінювання особливого значення набувають процеси, пов'язані з утворенням активних метаболітів кисню (АМК). Ефект АМК залежить від їхнього вмісту в клітині. У фізіологічних концентраціях АМК виконують роль специфічних сигнальних молекул, беручи участь в регуляції метаболічних процесів, експресії генів, роботі імунної, ендокринної систем [1]. Значне підвищення вмісту АМК викликає стан оксидативного стресу, який супроводжується перекисним окисненням ліпідів, одно- та дwonитковими розривами ДНК, окисною модифікацією білків [6] і може призводити до загибелі клітини. Тип загибелі (апоптоз, некроз, автофагія) суттєво залежить від сили та тривалості дії індукуючого агента, а також запасів внутрішньоклітинного АТФ. Крім того, важливе значення мають такі фактори, як тип клітин, їхній генетичний статус, фаза клітинного циклу, метаболічна активність клітин, стадія розвитку організму та деякі інші. Процеси апоптозу і некрозу взаємопов'язані та мають не тільки спільних індукторів (наприклад, АМК, активні форми оксиду азоту), але і подібні внутрішньоклітинні механізми. На користь такої гіпотези свідчать спостереження про те, що клітинні ферменти каспази, які є основними ефекторами апоптозу, також беруть участь у реалізації некротичної загибелі клітин [20], а антиапоптичний білок Bcl-2 блокує розвиток некрозу [19].

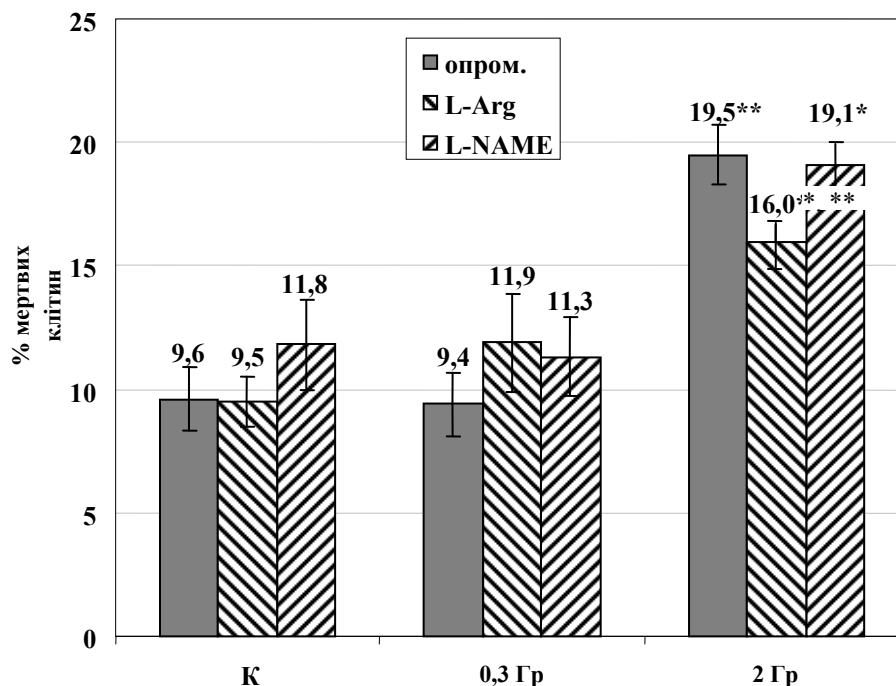


Рис. 1. Вживання клітин за умов рентгенівського опромінювання та преінкубації з L-Arg або з L-NAME (% мертвих клітин, n=6).

Відомо, що NO як посередник для передачі внутрішньоклітинних і міжклітинних сигналів може стимулювати або пригнічувати ріст клітин [15, 16], безпосередньо впливаючи на процеси, пов'язані з експресією генів, необхідних для проліферації [5]. У контрольних дослідах преінкубація лімфоцитів з L-аргініном підвищує їхню проліферативну активність на 10% (рис. 2). Схожі дані отримані при комплексних дослідженнях, проведених на пухлинних клітинах. За концентрацій L-аргініну, близьких до  $10^{-6}$  М і менше, спостерігали стимуляцію клітинного розмноження. [5]. Встановлено, що за впливу іонізуючого випромінювання в дозі 0,3 Гр, преінкубація лімфоцитів людини або з L-аргініном, або з L-NAME призводить до посилення проліферативної активності у всіх варіантах досліду. Як видно з рис. 2, спостерігається зростання кількості бластних форм за радіаційного впливу на 13% за сумісного впливу опромінення та преінкубації з L-аргініном на 10%, а з L-NAME на 12% порівняно з показниками неопромінених контрольних клітин. При дослідженні життєздатності клітин показники суттєво не відрізняються від контрольних. Таке зростання кількості лімфобластів як на фоні опромінення в дозі 0,3 Гр, так і за преінкубації або з L-аргініном, або з L-NAME за дії іонізуючого випромінювання можна пояснити виникненням додаткової стимуляції проліферації внаслідок підвищення рівня радіоіндукованого утворення АМК. Найновішими дослідженнями доведено регуляторний вплив АМК на експресію певних генів, відповідальних за перебіг клітинного циклу [18]. Відомо, що зростання концентрації супероксидрадикалу, пероксиду водню, ліпідних гідроперексидів, активних сполук азоту в фізіологічних межах стимулює проліферативні процеси у клітині [3], а за дії низьких доз іонізуючого випромінювання, як вважають деякі автори, є причиною посилення радіорезистентності організму [9] (рис. 1).

Як і в контрольному досліді, так і за дії іонізуючої радіації в дозі 0,3 Гр преінкубація досліджуваних клітин з L-аргініном викликає активацію проліферативних проце-

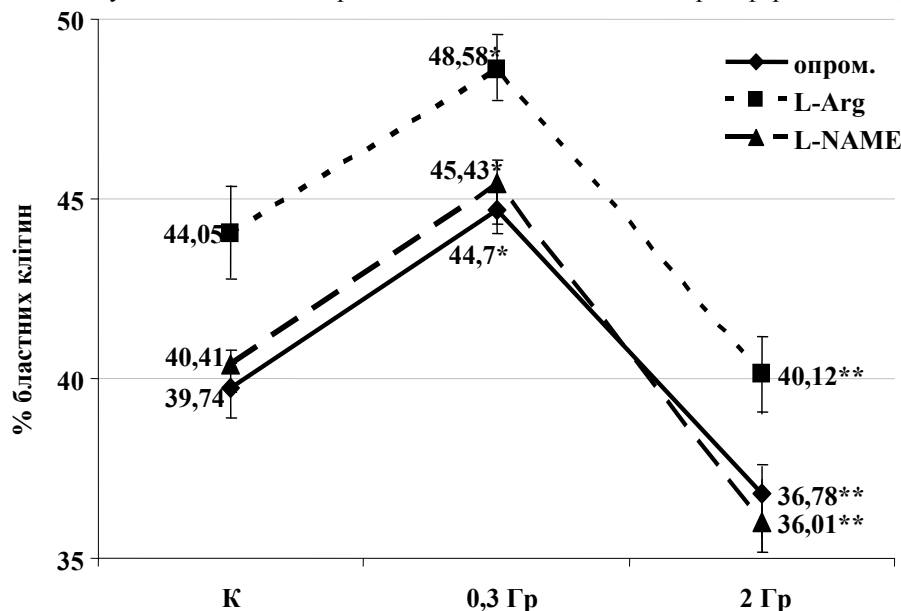


Рис. 2. Проліферативна активність лімфоцитів людини за умов рентгенівського опромінення та преінкубації з L-аргініном або L-NAME, % бластних клітин ( $M \pm m$ ,  $n=4-6$ ).

**Примітка.** Вірогідність змін порівняно з контролем (\* –  $p < 0,05$ ); вірогідність змін порівняно з опроміненням 0,3 Гр (\*\* –  $p < 0,05$ ).

сів. Внесок NO у стимуляцію бластоутворення за даних умов становить 8,6% порівняно з цим показником для клітин, які опромінювалися без преінкубації.

За дії окремо рентгенівського опромінення в дозі 2 Гр та за преінкубації клітин за умов дії радіаційного чинника або з L-аргініном, або з L-NAME спостерігається пригнічення бластної трансформації лімфоцитів у всіх варіантах досліду порівняно з контролем на 7,5, 11 та 8,9%, а порівняно з опроміненням без преінкубації – в дозі 0,3 Гр на 17,7, 20,7 та 17,4%, відповідно. Аналіз виживання лімфоцитів у культурі за згаданих вище умов виявив підвищення кількості мертвих клітин майже у 2 рази порівняно з контрольними значеннями для нативних клітин. Відомо, що наслідком дії середніх і високих доз іонізуючого випромінювання є утворення значної кількості агресивних вільнорадикальних сполук, які, взаємодіючи з різними клітинними структурами, порушують молекулярні механізми перебігу біохімічних процесів і можуть призвести до загибелі клітини.

За дози опромінення 2 Гр ефект преінкубації лімфоцитів зі субстратом NO-синтази – L-аргініном, як і у вищепроаналізованих результатах, проявляється у збільшенні на 8,3% кількості проліферуючих клітин у культурі порівняно з показниками лише опроміненої культури.

Таким чином, ефект взаємодії активних форм кисню й азоту залежить від співвідношення цих продуктів усередині клітини та від концентрації останнього. Очевидно, зростання кількості проліферуючих лімфоцитів пов'язане зі здатністю NO у певних концентраціях запобігати цитотоксичним ефектам, які спостерігаються при розвитку оксидативного стресу, спричиненого впливом іонізуючого випромінювання. Додаткове підтвердження цитопротекторної дії NO отримано при аналізі життєздатності клітин у культурі. За сукупної дії радіації в дозі 2 Гр та преінкубації клітин з L-аргініном виявлено достовірне зменшення кількості мертвих клітин на 18% порівняно з опроміненними клітинами та на 16% за дії даного чинника з попередньою преінкубацією з L-NAME (рис. 2).

Молекулярні механізми впливу NO на проліферативні процеси ще недостатньо досліджені, оскільки на різних видах клітин і за різних концентрацій останнього спостерігаються цілком протилежні ефекти. Це зумовлено здатністю NO як безпосередньо, так і опосередковано впливати на окремі етапи регуляції цього процесу.

Морфологічним втіленням апоптозу є дегенеративні зміни у ядрі та цитоплазмі клітини. Ми виявляли цейозис мембрани, вакуолізацію ядра та цитоплазми, пікноз і каріорексис ядра, зменшення розміру клітини. На рис. 3 представлені мононуклеарні лейкоцити периферичної крові людини з ознаками апоптозу.

Дані ознаки характерні як для контрольних клітин, так і для клітин, які піддавались одноразовому рентгенівському опроміненню у дозах 0,3 та 2,0 Гр.

Через 1 год після опромінення вказаними дозами не спостерігалось достовірних змін у кількості апоптичних клітин. Очевидно, що для реалізації апоптичної програми мононуклеарних лейкоцитів потрібен триваліший час. Через 24 год після радіаційного впливу у дозах 0,3 та 2,0 Гр відбувається достовірне збільшення кількості мононуклеарів з ознаками апоптозу (див. таблицю). Як видно з даних, наведених у таблиці, рентгенівське опромінення у дозі 0,3 Гр викликає зростання апоптичного індексу досліджуваних клітин в 1,4 разу, тоді як за дози 2,0 Гр – у 2,1 разу порівняно з контролем, а відсоток нежиттєздатних клітин збільшується лише за умов опромінення у дозі 2,0 Гр.

Після преінкубації мононуклеарів з вказаними чинниками виявлено, що L-NAME як інгібітор NO-синтази призводить до зниження кількості апоптичних клітин у 2,1 разу та 1,8 разу порівняно з контролем через 1 год і 24 год відповідно. Натомість L-аргінін як субстрат NO-синтази та донор NO викликає зростання індексу апоптозу через 24 год в 1,3 разу відно-

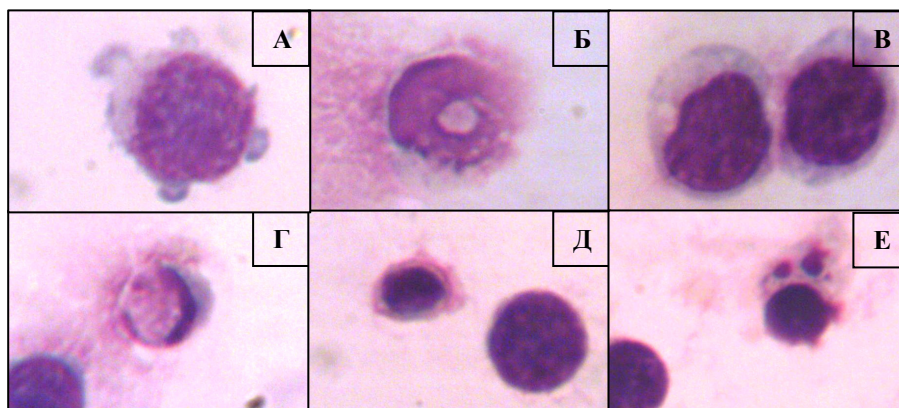


Рис. 3. Морфологічні ознаки апоптозу мононуклеарів периферичної крові людини: цейозис мембрани (А); вакуолізація ядра (Б); вакуолізація цитоплазми (В); пікноз ядра (Г, Д); каріорексис ядра (Е); зменшення розміру клітини (Д).

сно цього показника у контролі (табл. 1). При дослідженні впливу основного субстрату й інгібітора NO-синтази на процес апоптозу мононуклеарів периферичної крові за умов рентгенівського опромінення виявлено, що при опроміненні у дозі 0,3 Гр L-аргінін та L-NAME не викликають достовірних змін апоптичного індексу в досліджувані терміни.

За дії опромінення у дозі 2,0 Гр встановлено достовірне зменшення вмісту клітин з ознаками апоптозу після преінкубації з L-NAME та зростання апоптичного індексу досліджуваних клітин в 1,3 разу за умов преінкубації з L-аргініном через 1 год порівняно з радіаційним впливом у вказаній дозі.

Через 24 год після опромінення у дозі 2,0 Гр на фоні преінкубації імунокомпетентних клітин з L-NAME не виявлено достовірних змін апоптичного індексу, проте спостерігається тенденція до його зниження. За цих же умов експерименту L-аргінін призводить до зниження апоптичного індексу в 1,7 разу щодо ефекту радіаційного впливу, а відсоток нежиттєздатних клітин при цьому достовірно зростає (див. таблицю). На нашу думку, зменшення кількості апоптичних клітин на фоні впливу L-аргініну пов'язано з тим, що в умовах надпродукції оксиду азоту NO проявляє виражену цитотоксичну дію внаслідок утворення пероксинітиту – продукту взаємодії NO та супероксиданіон-радикалу, який пошкоджує мембрани клітин і викликає їхню загибель шляхом некрозу. Відомо, що структурні зміни клітинних мембран характерні для заключних етапів процесу апоптозу, а для некрозу – є одними з ключових і визначальних на ранніх стадіях клітинної загибелі та свідчать про незворотність пошкоджень, що розвиваються. На думку Zeiss [21], існує так званий «апоптозо-некротичний континуум», який визначається перехресними взаємодіями (cross-talk) між реакціями загибелі клітини та збереженням гомеостазу. Показана можливість змішаних шляхів клітинної смерті: некротичній загибелі клітин властиві деякі риси, характерні для процесу апоптозу [21]. Зниження індексу апоптозу у досліджуваних умовах може свідчити про залучення інших механізмів клітинної загибелі.

Виявлено стимулюючий вплив NO на проліферативну активність мононуклеарів як у контролі, так і за дії іонізуючого випромінювання в дозі 0,3 і 2 Гр.

Показано цитопротекторний ефект L-аргініну на проліферативні процеси за дії іонізуючого випромінювання в дозі 2 Гр.

Встановлено достовірне зростання апоптичного індексу мононуклеарів периферичної крові людини через 24 год після опромінення у дозі 0,3 та 2,0 Гр.

Апоптичний індекс (АІ) і життєздатність мононуклеарів периферичної крові людини в нормі та за умов рентгенівського опромінення, % ( $M \pm m$ ,  $n = 8$ )

Умови досліджу	Час визначення			
	1 год		24 год	
	АІ	% мертвих клітин	АІ	% мертвих клітин
Контроль	2,22±0,25	1,02±0,12	4,64±0,35	3,10±0,20
Контроль + L-NAME	1,05±0,14*	1,00±0,10	2,47±0,45*	2,82±0,30
Контроль + L-аргінін	2,27±0,36	1,35±0,13	6,16±0,48*	2,78±0,25*
0,3 Гр	1,93±0,35	1,40±0,15	6,60±0,93*	3,51±0,36
0,3 Гр + L-NAME	2,21±0,24	1,25±0,13	5,83±0,52	3,41±0,37
0,3 Гр + L-аргінін	3,04±0,64	1,37±0,15	7,65±0,82	3,65±0,41
2,0 Гр	4,68±0,48	1,54±0,08*	9,84±0,95*	4,59±0,12*
2,0 Гр + L-NAME	2,47±0,20*	1,28±0,13	9,37±0,91	4,20±0,42
2,0 Гр + L-аргінін	6,10±0,49*	1,38±0,15	7,67±0,82**	6,65±0,22**

**Примітка.** Вірогідність змін порівняно з контролем (\* –  $p < 0,05$ ); вірогідність змін порівняно з опроміненням (\*\* –  $p < 0,05$ ).

Прейнкубація мононуклеарів з L-аргініном з подальшим опроміненням у дозі 2,0 Гр призводила до зниження апоптичного індексу в 1,7 разу та збільшення кількості нежиттєздатних клітин через 24 год щодо аналогічних показників для клітин, які піддавалися тільки опроміненню.

1. *Беленичев И. Ф., Ганчева О. В.* Сигнальная роль активных форм кислорода в регуляции физиологических функций // Патология. 2004. Т. 1. № 1. С. 4–9.
2. *Горрен А. К. Ф., Майер Б.* Универсальная и комплексная энзимология синтазы оксида азота // Биохимия. 1998. Т. 63. Вып. 7. С. 870–880.
3. *Губский Ю. И. Беленичев И. Ф., Левицкий Е. Л.* и др. Роль активных форм кислорода в функциональной активности MAP-киназного каскада, глобальных факторов транскрипции и развитии апоптоза // Теоретична медицина. 2008. Т. 14. № 2. С. 203–217.
4. Иммунология: Практикум / Под ред. Е.У. Пастера, В.В. Овода, В.К. Позура, Н.Е. Вихотя. К.: Вища шк., 1989. 304 с.
5. *Кондакова И. В., Какурина Е. Л., Чойнзонов Л. О.* Влияние доноров оксида азота на противоопухолевый эффект доксорубина // Бюлл. Сибирского отд. Рос. акад. мед. наук. 2005. № 2. С. 92–95.
6. *Кудряшов Ю. Б.* Радиационная биофизика (ионизирующие излучения) / Под ред. В.К. Мазурика, М.Ф. Ломанова. М.: ФИЗИМАТЛИТ, 2004. 448 с.
7. *Лаповець Л., Луцик Д.* Лабораторна імунологія. К.: Арал, 2004. 173 с.
8. *Любимова Н. Е., Воробцова И. Е.* Влияние облучения в малых дозах и возраста на радиочувствительность лимфоцитов человека *in vitro* // Радиационная биология. 2008. Т. 48. № 2. С. 153–159.
9. *Пелевина И. И., Алещенко А. А., Антошина М. М.* и др. Индивидуальная вариабельность в проявлении адаптивного ответа клеток человека на воздействие ионизирующей радиации. Подходы к ее определению // Радиационная биология. Радиоэкология. 2007. Т. 47. № 6. С. 658–666.
10. *Потапов М. П.* Апоптоз клеток иммунной системы и его регуляция цитокинами // Клинич. лаб. диагностика. 2003. № 7. С. 237–249.
11. *Сахно Т. О., Давидова Т. І., Чумак А. А.* Вплив іонізуючої радіації на імунокомпетентні клітини // Укр. радіологічний журн. 1997. Т. 5. С. 87–89.
12. *Токарева Л., Сибірня Н.* Зміна активності NO-синтази тромбоцитів людей, хворих на інсулінзалежний цукровий діабет // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2002. Вип. 28. С. 47–50.

13. *Фільченков О. О., Стойка Р. С.* Апоптоз і рак. Тернопіль: ТМДУ "Укрмедкнига". 2005. 524 с.
14. *Ярилин А. А.* Действие ионизирующей радиации на лимфоциты (повреждающий и активирующий эффекты) // Иммунология. 2000. № 5. С. 5–11.
15. *Al-Ramadi B. K., Meissler J. J., Huang D., Eisenstein T. K.* Immunosuppression induced by nitric oxide and its inhibition by interleukin-4 // Eur. J. Immunol. 1992. Vol. 22. P. 2249–2254.
16. *Bamberger T., Masson I., Mathieu J.* et al. Nitric oxide mediates the depression of lymphoproliferative responses following burn injury in rats // Biomed. and Pharmacother. 1992. Vol. 46. P. 495–500.
17. *Bogdan C.* Nitric oxide and the regulation of gene expression // Trends Cell. Biol. 2001. Vol. 11. P. 66–75.
18. *Burdon R. H.* Superoxide and hydrogen peroxide in relation to mammalian cell proliferation // Free Radical Biol. Med. 1995. Vol. 18. P. 775–794.
19. *Shimizu S., Eguchi Y., Kamiike W.* et al. Retardation of chemical hypoxia-induced necrotic cell death by Bcl-2 and ICE inhibitors: possible involvement of common mediators in apoptotic and necrotic signal transductions // Oncogene. 1996. Vol. 12. P. 2045–2050.
20. *Warny M., Kelly C. P.* Monocytic cell necrosis is mediated by potassium depletion and caspase-like proteases // Am. J. Physiol. 1999. Vol. 276. P. 717–724.
21. *Zeiss C. J.* The apoptosis-necrosis continuum: insights from genetically altered mice // Vet. Patol. 2003. Vol. 40. P. 481–495.

**INFLUENCE OF NITRIC OXIDE ON PROLIFERATIVE ACTIVITY  
AND APOPTOSIS OF HUMAN PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEARS UNDER  
X-RAY IRRADIATION**

**U. Staranko, M. Lyuta, Yu. Peretyatko, L. Dacyuk, N. Sybirna**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: bhndllab@mail.ru*

It has been established that L-arginine, the donor of NO, stimulates the proliferative activity of human peripheral blood mononuclears in culture both under normal conditions and X-ray irradiation of single doses (0,3 and 2 Gy). It was manifested the cytoprotective effect of L-arginine under irradiation in dose of 2 Gy. It was shown the increase in apoptotic index of mononuclears after 24 hours of irradiation in aforementioned dosages and its decrease after preincubation with L-arginine.

*Key words:* nitric oxide, proliferative activity of lymphocytes, apoptosis, X-ray.

**ВЛИЯНИЕ ОКСИДА АЗОТА НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ  
И АПОПТОЗ МОНОНУКЛЕАРОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА  
ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ОБЛУЧЕНИЯ**

**У. Старанко, М. Люта, Ю. Перетятко, Л. Дацюк, Н. Сибирная**

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина  
e-mail: bhndllab@mail.ru*

Установлено, что донор NO–L-аргинин стимулирует пролиферативную активность в культуре мононуклеаров периферической крови человека как в норме, так и при однократном рентгеновском облучении дозой 0,3 и 2 Гр и обладает цитопротекторным эффектом при воздействии радиации в дозе 2 Гр. Показано возрастание апоптического индекса мононуклеаров через 24 часа после облучения в указанных дозах и снижение этого показателя при совокупном воздействии облучения и преинкубации с L-аргинином.

*Ключевые слова:* оксид азота, пролиферативная активность лимфоцитов, апоптоз, ионизирующее излучение.

Стаття надійшла до редколегії 30.03.10

Прийнята до друку 14.06.10