

Received: 2004.10.26
 Accepted: 2005.02.17
 Published: 2005.03.17

Uszkodzenia DNA powodowane przez produkty peroksydacji lipidów*

DNA damage induced by products of lipid peroxidation

Waldemar M. Przybyszewski¹, Janusz Kasperczyk², Katarzyna Stokłosa², Arayik Bkhiyan³

¹ Zakład Radiobiologii Doświadczalnej i Klinicznej, Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

² Katedra i Zakład Biologii Molekularnej i Genetyki Medycznej, Wydział Farmaceutyczny w Sosnowcu Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach

³ Klinika Chirurgii Szczękowo-Twarzowej, Wydział Lekarski i Oddział Stomatologiczny w Zabrze Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach

Streszczenie

Końcowe produkty peroksydacji lipidów wywołują pojawienie się objętościowych adduktów w DNA, co przyczynia się do niestabilności genetycznej. Tego rodzaju addukty powodują powstawanie błędów replikacyjnych i tym samym odgrywają podstawową rolę w procesach mutagenyzy i kancerogenezy. Na szczególną uwagę zasługują addukty etenowe i propanowe modyfikujące DNA. Są one często wykrywane w DNA komórek prawidłowych i nowotworowych. Takie uszkodzenia DNA są usuwane przez mechanizmy naprawcze typu wycinanie zasad lub nukleotydów (BER, NER, NIR, TCR).

Słowa kluczowe:

produkty peroksydacji lipidów • objętościowe addukty DNA • mechanizmy naprawcze

Summary

The adduction of the aldehydic end-products of lipid peroxidation to DNA induces bulky adducts, leading to genome instability. The bulky-DNA adducts are miscoding and thus play a fundamental role in mutagenesis and cancerogenesis. Special attention is given to the etheno- and propenoadducts, recognized as DNA modifiers. Such DNA lesions are repaired by different DNA repair mechanisms, mainly base excision repair (BER) and nucleotide excision repair (NER), as well as nucleotide incision repair (NIR) and transcription-coupled repair (TCR).

Key words:

products of lipid peroxidation • bulky-DNA adducts • repair mechanisms

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_59/7203.pdf

Word count: 2282

Tables: –

Figures: 5

References: 56

Adres autora:

dr Waldemar M. Przybyszewski, Zakład Radiobiologii Doświadczalnej i Klinicznej, Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-101 Gliwice, e-mail: wmp@io.gliwice.pl

* Praca w całości finansowana z grantu Fundacji na Rzecz Wspierania Rozwoju Polskiej Farmacji i Medycyny nr II/206/2003

Wolne rodniki (free radicals – FR) i aktywne formy tlenu (reactive oxygen species – ROS) to potencjalnie niebezpieczne produkty metabolizmu komórki wywierające znaczący wpływ na procesy przeżycia, wzrostu i rozwoju oraz odgrywające znaczącą rolę w patogenezie wielu chorób, m.in. w miażdżycy, w chorobach nowotworowych, procesach zapalnych oraz procesach starzenia się organizmów [11,20].

Oksydacyjne uszkodzenia molekuly DNA mogą powstać w wyniku bezpośredniej reakcji aktywnej cząstki z nukleotydem znajdującym się w helisie DNA lub też wprowadzenia uszkodzonego nukleotydu do DNA w czasie replikacji. Komórki mogą eliminować uszkodzone nukleotydy, tak z cytosolu, co określa się mianem sanitacji puli nukleotydów, jak również z helisy DNA [8,17].

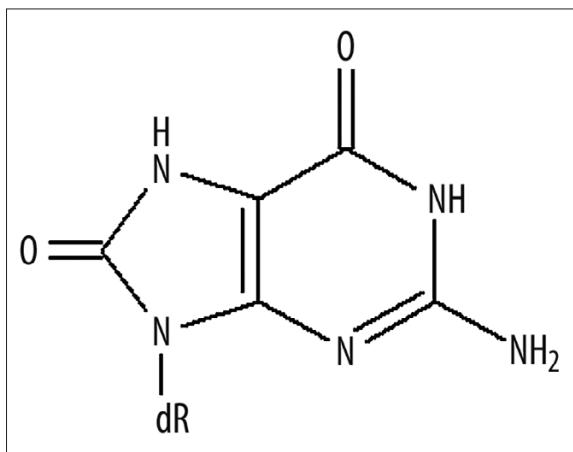
Reakcje rodników z DNA przyczyniają się do powstania wielu uszkodzeń oksydacyjnych tej molekuly, m.in. pęknięcie nici DNA, uszkodzenia pojedynczej zasady oraz tworzenia się adduktów objętościowych (bulky adducts). Termin addukty objętościowe określa: wiązania krzyżowe (cross-links), addukty pierścieniowe (exocyclic adducts) oraz związki I (I-compound), formowane w wyniku reakcji końcowych produktów wewnątrzustrojowej peroksydacji lipidów z DNA [35].

Przykładem oksydacyjnego uszkodzenia jest 8-okso-2'-deoksyguanozyna będąca produktem reakcji rodnika hydroksylowego 'OH z cząsteczką guanozyny (ryc. 1). Wynikiem takiego uszkodzenia jest mutacja typu transwersji G: C→T: A [47]. Pojawienie się innych oksydacyjnie zmienionych zasad, m.in. formami dopirymidynowych adduktów adeniny i guaniny prowadzi do transwersji typu G: C→C: G [7]. Reakcja utlenienia wiązań podwójnych w pozycji 5,6 pierścienia 5-metylocytozyny prowadzi do glikolu tyminy tworzącego parę z adeniną i pojawia się tranzycja C→T [31]. Z kolei utlenienie metylowej grupy tyminy powoduje powstanie 5-hydroksymetylouracylu, a w konsekwencji wpływa na dynamikę wiązania się czynników transkrypcyjnych do DNA [50].

Tego typu oksydacyjne modyfikacje mogą stanowić element zapoczątkowujący proces nowotworowy. Wykazano bowiem podwyższony poziom zmodyfikowanych zasad w tkance nowotworowej w porównaniu do otaczających nowotwór tkanek prawidłowych. Prawdopodobnie są one także czynnikiem determinującym przekształcenie zmiany łagodnej (benign) w zmianę złośliwą (malignant) oraz mogą być odpowiedzialne za wzrost potencjału przerzutowania (metastasis) [41].

PRODUKTY PEROKSYDACJI LIPIDÓW

Peroksydacja lipidów jest ciągiem reakcji, które mogą potęgować stres oksydacyjny zapoczątkowany przez wolne rodniki (FR) i aktywne formy tlenu (ROS) [5]. Wodoronadtlenki lipidów powstające w czasie procesów peroksydacji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych podlegają dalszym przemianom aż do stabilnych, nierodnikowych związków zawierających: aldehydowe, ketonowe, hydroksylowe, karboksylowe, peroksydowe i epoksydowe grupy funkcyjne oraz do m.in. węglodorów (ryc. 2) m.in. alkanów i alkenów [28]. Aktywne chemicznie zwią-



Ryc. 1. Wzór 8-okso-2'-deoksyguanozyny, dR-2'-deoksyryboza

ki powstałe w wyniku takich procesów, m.in. o charakterze aldehydów mogą się przemieszczać do jądra komórkowego i reagować z DNA. Mogą one również powstawać *in situ* w wyniku peroksydacji lipidów chromatynowych, głównie fosfolipidów [33].

Niektóre ze związków powstałych w wyniku procesów peroksydacji, są znane i są nimi: dwualdehyd malonowy (MDA), aldehyd akrylowy (akroleina), aldehyd krotonowy, etanodiol (glioksal), tlenek etylenu, eten, propen, trans-4-hydroksy-2-nonenal (4HNE), 4-hydroksyheksenal (4HHE). Związki te działają mutagenie i kancerogennie, a także wpływają na regulację dynamiki proliferacji komórki [33,43,44]. Spośród wymienionych produktów peroksydacji lipidów dużą toksycznością charakteryzuje się 4HNE, natomiast najbardziej mutageny jest MDA [28,40].

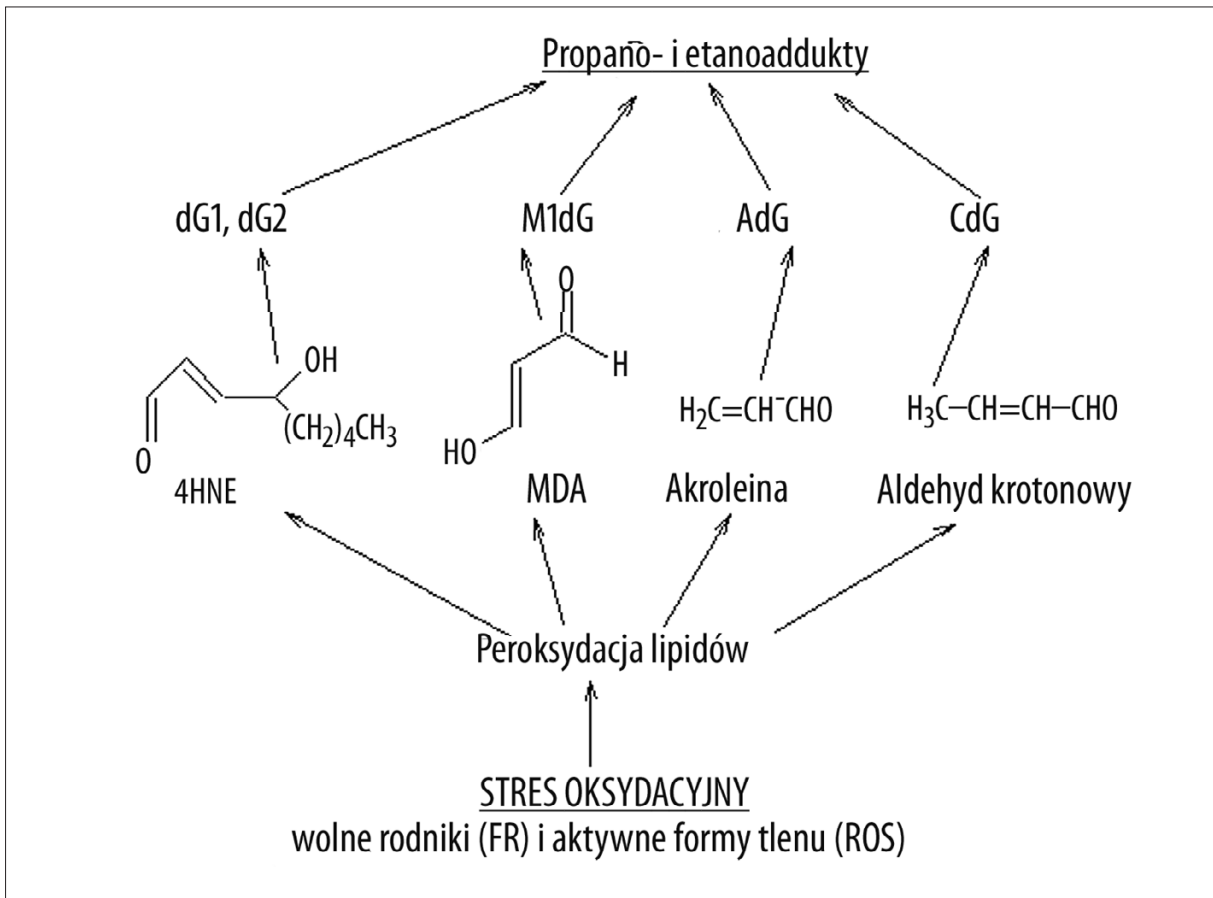
Alternatywnymi, niezależnymi od peroksydacji lipidów, szlakami powstawania aldehydu akrylowego są ustrojowe procesy zapalne. Aldehyd akrylowy formowany jest w leukocytach w wyniku reakcji utlenienia aminokwasów przez mieloperoksydazę [21]. Aminokwasy utleniane w wyniku działania promieniowania jonizującego lub dwuwartościowych jonów metali również podlegają przekształceniom do iminy, z której w obecności nadtlenu wodoru formowane są aldehydy [52].

ODDZIAŁYWANIE PRODUKTÓW PEROKSYDACJI LIPIDÓW Z DNA

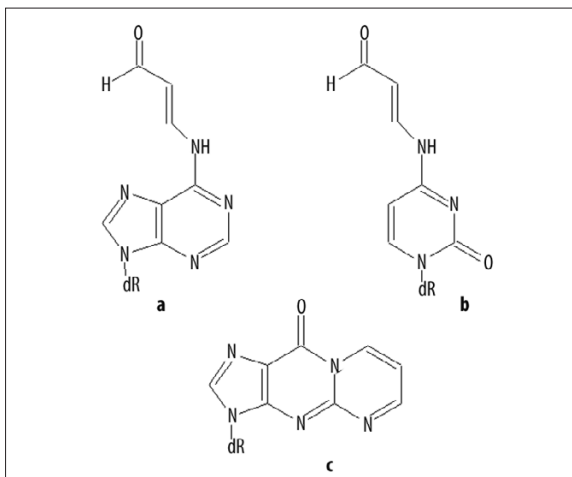
Uważa się, że produkty peroksydacji lipidów ustrojowych stanowią grupę związków potencjalnie mutagennych i kancerogennych powodujących uszkodzenie DNA [54].

MDA jest czynnikiem mutagennym dla komórek bakterii i ssaków oraz kancerogennym dla szczurów. Będąc czynnikiem genotoksycznym powstającym wewnątrzustrojowo w wyniku reakcji peroksydacji lipidów jak i biosyntezy prostaglandyn, może się przyczyniać do powstawania nowotworów [29]. MDA reaguje z zasadami w DNA i tworzy związki wyższego rzędu określane mianem adduktów. Reakcje prowadzące do powstania tych związków są złożone również ze względu na procesy polimeryzacji, którym podlega MDA. Wynikiem takich procesów jest pojawianie się postaci dimerycznych i trimerycznych MDA, które również reagują z zasadami w DNA. Jakkolwiek szyb-





Ryc. 2. Ogólny schemat powstawania eteno- i propanoadduktów pod wpływem produktów peroksydacji lipidów



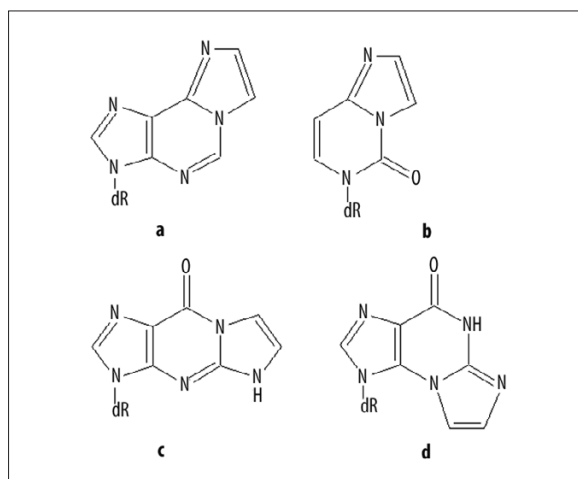
Ryc. 3. Wzory innych adduktów propanowych: a – N6-(3-okso-propenilo)-2'-deoksyadenozyna, b – N4-(3-okso-propenilo)-2'-deoksycytydyna, c – 1,N2-pyrimidyno-2'-deoksyguanozyna

kość reakcji polimeryzacji MDA w pH obojętnym jest ograniczona. W wyniku reakcji MDA z deoksyguanozyną pojawia się struktura pirymidopurynonu (pirymido-[1,2 α]purin-10(3H)-one) określana symbolem M1dG, która w warunkach *in vitro* stanowi dominujący ilościowo produkt reakcji MDA z molekułą DNA. Reakcje MDA z deoksyadenozyną i deoksycytydyną prowadzą do powstania

związków oksopropenylowych: N6-(3-oksopropenyl)deoksyadenozyny oraz śladowych ilości N6-(3-oksopropenyl)deoksytydyny [30,32].

Zastosowanie techniki hybrydyzacji ujawniło, że modyfikacja genomu *E. coli* przez MDA doprowadziła do pojawienia się struktury tymina-M1dG, co było przyczyną zatrzymania procesu replikacji DNA [15]. Modyfikacja DNA przez MDA powodowała mutacje typu podstawienia (base pair substitution), transwersje w większości G→T, oraz tranzykcje C→T i A→G [28,30]. Utlenienie DNA, a także innych makromolekuł komórkowych inicjuje kaskadę reakcji chemicznych prowadzących do powstania zasad propenalowych (propenal adeniny, propenal cytozyny, propenal tyminy). Wykazano, że zasady propenalowe pochodzące z utlenienia DNA są bardziej wydajne w procesie tworzenia adduktu M1dG aniżeli wodoronadtlenki lipidów i tym samym są kilkadziesiąt razy bardziej mutagenne aniżeli MDA [44]. Innym następstwem oddziaływania chemicznego pomiędzy MDA a molekułą DNA jest pojawianie się wiązań poprzecznych pomiędzy nukleotydami tej samej lub przeciwnej nici DNA oraz pomiędzy DNA i białkami.

Addukty egzocykliczne charakteryzują się dodatkowym pierścieniem przy atomie azotu grupy aminowej. Produkty peroksydacji lipidów tworzą w reakcji z DNA dwa rodzaje egzocyklicznych adduktów: pięcioczłonowe (etenoaddukty) (ryc. 4) oraz sześcioczłonowe (propanoaddukty) [36] (ryc. 5).

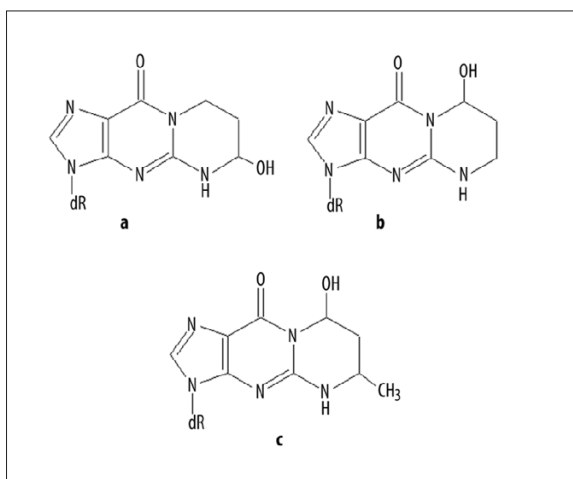


Ryc. 4. Wzory adduktów etenowych: a – 1,N6-eten-2'-deoksyadenozyna, b – 3,N4-eten-2'-deoksytydyna, c – 1,N2-eten-2'-deoksyguanozyna, d – N2,3-eten-2'-deoksyguanozyna

Propanoaddukty powstają w wyniku reakcji aldehydu akrylowego, krotonowego i 4HNE z DNA i przeważnie obserwuje się je głównie w DNA z tkanek o dużej zawartości tłuszczu. Zaobserwowano, że reaktywność tych związków w tworzeniu adduktów z guanozyną obniża się wraz ze wzrostem długości łańcucha, co szereguje te związki w kolejności: akroleina, aldehyd krotonowy, 4HNE. Akroleina tworzy addukty kilkakrotnie wydajniej aniżeli aldehyd krotonowy [42]. Inkubacja aldehydu krotonowego z DNA dostarcza adduktów propanowych z guanozyną, natomiast wynikiem reakcji aldehydu akrylowego z DNA jest pojawienie się dwóch izomerycznych form 1N2-propano-2'-deoksyguanozyny. Związkiem pośrednim w reakcji utleniania aldehydu krotonowego jest 3-hydroksybutanal, który reagując z DNA formuje addukty z guanozyną typu zasada Schiffa: N²-(3-hydroksy-1-butyloiden)deoksyguanozyny oraz diastereomery N²-paraldol-deoksyguanozyny [22]. W reakcji DNA z tlenkiem etylenu i etenem obserwowano zarówno *in vitro* jak i *in vivo* pojawienie się adduktów, głównie N7-(2-hydroksyetylo)guaniny oraz N1-(2-hydroksyetylo)adeniny i N3-(hydroksyetylo)adeniny [35].

Przeważającym ilościowo produktem bezpośredniej reakcji 4HNE z DNA był propanowy addukt guaniny [14]. Wyniki badań *in vitro* wykazały, że 4HNE oddziałuje z deoksynukleozydami, co prowadziło do powstania propano-*i* etenocyklicznych adduktów z bocznym łańcuchem hydroksyalkilowym, a to wpływało na wzrost częstości mutacji oraz hamowało syntezę DNA [26].

Akroleina, aldehyd krotonowy, 4HNE są oksydacyjnie przekształcane do epoksyaldehydów. Powstałe epoksyaldehydy: akroleiny (aldehyd glicydowy), aldehydu krotonowego (2,3-epoksybutanal) i 4HNE (2,3-epoksy-4-hydroksynonal) modyfikują zasady w DNA tworząc etenoaddukty [19]. Addukty etenowe deoksyadeniny powodują pojawienie się transzycji A: T→G: C oraz transwersji A: T→TA i A: T→C: G. Addukty etenowe deoksytyzozyny indukują powstanie transwersji C: G→A: T i transzycję C: G→T: A. Powstałe addukty etenowe deoksyguanozyny powodują transzycję G: C→A: T oraz transwersję G: C→A: T i G: C→C: G [12].



Ryc. 5. Wzory adduktów propanowych: a – (izomer I) 1,N2-(3-hydroksypropano)-2'-deoksyguanozyna, b – (izomer II) 1,N2-(1-hydroksypropano)-2'-deoksyguanozyna, c – 1,N2-(1-hydroksy-3-metylopropano)-2'-deoksyguanozyna

Związki I są masywnymi kowalencyjnymi modyfikacjami DNA typu: wiązania krzyżowe zasada-zasada, zasada-cukier, DNA-białko. Podzielono je na dwie duże grupy: typu I i typu II. Obecność modyfikacji DNA typu I jest określana przez czynniki zarówno genetyczne jak i środowiskowe. Zanik tych zmodyfikowanych nukleotydów następuje w procesie kancerogenezy. W powstałym nowotworze ilość ich jest już niewielka. Restrykcje dietetyczne stymulują wzrost poziomu takich modyfikacji. Modyfikacje te nie są zaliczane do uszkodzeń DNA a pełnią ważną funkcjonalną rolę w genomie. Modyfikacje typu II okazały się uszkodzeniami DNA, których ilość wzrastała po zadziałaniu kancerogenów, strukturalnie identyczne z uszkodzeniami oksydacyjnymi DNA [47, 48]. Wzrost poziomu takich uszkodzeń *in vivo* odnotowany został w organizmach noworodków gryzoni, co prawdopodobnie było wynikiem niewydolności systemu obrony antyoksydacyjnej. Modyfikacje te okazały się nową klasą produktów utlenienia kwasów nukleinowych stanowiącą przez 8,5'-cyklopurynowe-2'-deoksynukleotydy, w większości 8,5'(S)-cyklo-2'-deoksyadenozynę. Produkty te charakteryzują się obecnością kowalencyjnego wiązania pomiędzy C8 reszty purynowej a C5 reszty cukrowej. Wykazano, że ich pojawienie się w łańcuchu DNA blokuje aktywność polimeraz DNA i RNA. Ich poziom oraz kinetyka powstawania są zależne od aktywności metabolicznej tkanki oraz stopnia jej wydolności antyoksydacyjnej. Mogą one stanowić ważny wskaźnik biologiczny oksydacyjnego uszkodzenia DNA [6,49,56]

Interesujące są wyniki badań nad wpływem diety na powstawanie adduktów DNA w aspekcie potencjalnego stosowania kwasów tłuszczowych w terapii nowotworów [46]. Okazało się, że dieta zawierająca duże ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych klasy ω -6 powodowała wielokrotny wzrost poziomu adduktu M1dG w krwinkach białych zarówno kobiet jak i mężczyzn. Poziom etenoadduktów był jednak około 40-krotnie wyższy w DNA leukocytów u kobiet w porównaniu do DNA leukocytów u mężczyzn [39]. Znacząco podwyższony poziom adduktów etenowych w DNA obserwowano nie tylko w wielu schorzeniach charakteryzujących się: nieprawidłowym spi-



chrzaniem jonów żelaza i miedzi w wątrobie (hemachromatozy, choroba Wilsona), przewlekłymi stanami zapalnymi trzustki i okrężnicy, gruczolakowatą polipowatością okrężnicy, ale również w biopsjach: skóry, wątroby, trzustki i okrężnicy, osób zagrożonych nowotworem (cancer-prone patients). Interesującym przykładem udziału adduktów etenowych w procesie kancerogenezy okrężnicy jest schorzenie określane mianem rodzinnej gruczolakowatej polipowatości okrężnicy (familial adenomatous polyposis). Tkanka polipa charakteryzuje się wysokim poziomem peroksydacji lipidów wynikającym ze zwiększonego metabolizmu kwasu arachidonowego, podwyższonej ekspresji aktywności cyklooksygenazy-2 oraz wzmożonej aktywności oksydazy ksantynowej [1,4]. Dynamika tworzenia się promutagennych adduktów etenowych w tkankach jest zależna tak od efektywności systemu przeciwdziałającemu peroksydacji lipidów i wytwarzaniu 4HNE, jak i wydolności mechanizmów naprawczych DNA. Okazało się bowiem, że czynniki prozapalne wpływają hamująco na aktywność enzymów związanych z naprawą DNA. Wyniki badań poziomu adduktów etenowych adeniny i cytozyny w nabłonku okrężnicy, tkance polipa okrężnicy oraz raku okrężnicy pozwoliły uznać je za biologiczne markery ryzyka przekształcenia, na wczesnym etapie, zmiany łagodnej spowodowanej uporczywym stanem zapalnym w zmianę złośliwą [3,51].

WYKRYWANIE ADDUKTÓW DNA

Addukt DNA jest produktem reakcji kowalencyjnego wiązania się substancji chemicznej o charakterze elektrofilowym z molekułą kwasu deoksyrybonukleinowego. Przypuszcza się, że ich obecność w DNA ma prawdopodobnie wpływ na zapoczątkowanie procesu mutogenezy i kancerogenezy [12]. Dlatego też ważnym staje się doskonalenie technik wykrywania adduktów, aby można było precyzyjnie określić rodzaj i ilość powstałych uszkodzeń DNA. Spośród technik umożliwiających identyfikację i analizę ilościową masywnych adduktów można wyróżnić metody: radiochemiczną, spektrofluorometryczną i immunologiczną [2,13,24]. Szeroko stosowaną metodą radiochemiczną jest technika 32P-postlabelling. Technika tą można oznaczać addukty z zastosowaniem chromatografii cienkowarstwowej i autoradiografii (32P-TLC) lub wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej (high pressure liquid chromatography – HPLC) [13,38,55].

NAPRAWA ADDUKTÓW DNA WYWOŁANYCH PRODUKTAMI PEROKSYDACJI LIPIDÓW

Procesy naprawcze zmodyfikowanej adduktami molekuły DNA zapobiegają gromadzeniu się takich modyfikacji chemicznych i ich przekształceniu w mutacje. Uważa się, że większość oksydacyjnych modyfikacji DNA, tj. zmian struktury chemicznej zasady, reszty cukrowej oraz obecność miejsc w łańcuchu DNA pozbawionych zasady (abasic sites) jest naprawiana z wykorzystaniem mechanizmu wycięcia zasady (base excision repair – BER). Wykazano, że mechanizm ten usuwa ε-addukty: 1,N6-etenoadenina, 3,N4-etenocytozyna, N2,3-etenoguanina i 1,N2-etenoguanina [17]. Najważniejszym elementem tego mechanizmu jest aktywność enzymatyczna glikozydaz DNA. Enzymy te w procesie naprawy hydrolizują N-glikozydowe wiązanie pomiędzy zmienioną chemicznie zasadą a 2'-deok-

syrybozą oraz eliminują nie tylko odmiennie zmodyfikowane zasady, tj. alkilowane puryny, hipoksantynę, uracyl, formamidopirymidynę oraz glikol tyminowy, ale również utlenioną 2'-deoksyrybozę. Wyniki badań *in vitro* ujawniły dużą wydajność enzymatycznego działania glikozydaz w rozpoznawaniu i wycinaniu adduktów etenowych, co ma warunkować utrzymanie stabilności genomu [18]. W zależności od rodzaju uszkodzenia obserwowano proces naprawczy z udziałem endonukleaz nacinających DNA w miejscu 5' oksydacyjnie zmienionej zasady, pozostawiając wolne końce 3'-hydroksylowe i 5'-fosforanowe, co określono mianem: naprawa przez nacięcie nukleotydu (nucleotide incision repair – NIR) [23]. Kolejnym mechanizmem naprawczym jest naprawa przez wycięcie nukleotydu (nucleotide excision repair – NER), usuwa on objętościowe addukty zmieniające konformację helisy DNA [10]. W badaniach *in vitro* wykazano, że związki oksopropenyłowe (1,N2-propanodeoxyguanozyna) i przez analogię pirymidynopurynon M1dG z DNA są eliminowane w procesie NER [25]. Częścią tego mechanizmu jest proces naprawczy połączony z transkrypcją (transcription coupled repair – TCR) naprawiający M1dG addukt oraz jego egzocykliczny analog w transkrybowanych sekwencjach genów podlegających ekspresji [9].

Wykazanie ekspresji nowo odkrytych polimeraz: Pol.η (eta), Pol.κ (kappa), Pol.ι (jota) w ludzkich komórkach zwróciła uwagę na możliwość syntezy DNA, pomimo zaistniałego uszkodzenia (translesion DNA synthesis – TLS). Taki rodzaj syntezy obserwowano w obecności etenoadduktów adenozyliny z udziałem Pol.η i Pol.κ [27], a także adduktów deoksyguanozyny z akroleiną [53]. Ważnym mechanizmem naprawczym dużych oksydacyjnych uszkodzeń DNA wydaje się również homologiczna rekombinacja (homologous recombination – HR) stanowiąca replikacyjne obejście (bypass) uszkodzenia poprzez wymianę chromatyd siostrzanych lub homologicznych chromosomów [16]. Opisane mechanizmy naprawcze są wspomagane m. in. mechanizmem korygującym błędy replikacyjne powodowane przez wbudowanie nukleotydu niezgodnie z regułą komplementarności (mis-match repair) [34].

PODSUMOWANIE

Obecne w organizmie aldehydowe produkty peroksydacji lipidów, będące z jednej strony produktem ustrojowych procesów metabolicznych, a z drugiej strony następstwem działań terapeutycznych [45] reagują z molekułą DNA modyfikując jej strukturę. Zmodyfikowany produktami peroksydacji DNA staje się genetycznie niestabilny. W przypadku radio-/i/lub chemioterapii nowotworów efekty takie są oczekiwane w komórkach nowotworowych, natomiast są one niepożądane w odniesieniu do tkanek prawidłowych. Produkty popromiennych procesów peroksydacji są rozprowadzane płynami ustrojowymi po całym ciele, uszkadzając DNA w tkankach znacznie oddalonych od miejsca objętego radioterapią. Sytuacja taka stwarza warunki do gromadzenia się mutacji somatycznych oraz zapoczątkowania procesu transformacji nowotworowej.

Pojawieniu się mutacji w DNA przeciwdziała skomplikowany system naprawczy. Większość uszkodzeń DNA jest naprawiana dzięki istnieniu mechanizmów reperacji BER i NER. Oba mechanizmy działają podobnie, ale aktywność

każdego z nich jest warunkowana odmiennym zestawem enzymów. Enzymy składające się na system BER naprawiają drobne oksydacyjne uszkodzenia DNA, które nie zakłócają w stopniu znaczącym struktury helisy DNA. Mechanizm reparacji NER jest aktywny wobec objętościowych uszkodzeń DNA, które zmieniają konformację helisy DNA.

Istotnym zadaniem wydaje się wprowadzanie nowych oraz udoskonalanie już stosowanych technik analizy uszkodzeń DNA. Wyniki takich badań mogłyby stanowić element oceny ryzyka choroby nowotworowej, a także oszacowania stopnia peroksydacyjnego uszkodzenia tkanek prawidłowych w trakcie radio- i/lub chemioterapii nowotworów.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Bartsch H., Nair J.: Potential role of lipid peroxidation derived DNA damage in human colon carcinogenesis: studies on exocyclic base adducts as stable oxidative stress markers. *Cancer Detect. Prev.*, 2002; 26: 308–312
- [2] Bartsch H., Nair J.: Ultrasensitive and specific detection methods for exocyclic DNA adducts: markers for lipid peroxidation and oxidative stress. *Toxicology*, 2000; 153: 105–114
- [3] Bartsch H., Nair J.: New DNA-based biomarkers for oxidative stress and cancer hemoprevention studies. *Eur. J. Cancer.*, 2000; 36: 1229–1234
- [4] Bartsch H., Nair J., Owen R.W.: Exocyclic DNA adducts as oxidative stress markers in colon carcinogenesis: potential role of lipid peroxidation, dietary antioxidants and antioxidants. *Biol. Chem.*, 2002; 383: 915–921
- [5] Blair I.A.: Lipid hydroperoxide-mediated DNA damage. *Exp. Gerontol.*, 2001; 36: 1473–1481
- [6] Brooks P.J., Wise D.S., Berry D.A., Kosmoski J.V., Smerdon M.J., Somers R.L., Mackie H., Spoonde A.Y., Ackerman E.J., Coleman K., Tarone R.E., Robbins J.H.: The oxidative DNA lesion 8,5'-(S)-cyclo-2'-deoxyadenosine is repaired by the nucleotide excision repair pathway and blocks geneexpression in mammalian cells. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 22355–22362
- [7] Burgdorf L.T., Carell T.: Synthesis, stability and conformation of the formamidopyrimidine G DNA lesions. *Chemistry*, 2002; 8: 293–301
- [8] Cai F.-L., Kakuma T., Tsuzuki T., Sekiguchi M.: cDNA and genomic sequences for rat 8-oxo-dGTPase that prevents occurrence of spontaneous mutations due to oxidation of guanine nucleotides. *Carcinogenesis*, 1995; 16: 2343–2350
- [9] Cline S.D., Riggins J.N., Tomaletti S., Marnett L.J., Hanawalt P.C.: Malondialdehyde adducts in DNA arrest transcription by T7 RNA polymerase and mammalian RNA polymerase II. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 7275–7280
- [10] Costa R.M.A., Chiganas V., daSilva-Galhardo R., Carvalho H., Menck F.M.: The eukaryotic nucleotide excision repair pathway. *Biochimie*, 2003; 85: 1083–1099
- [11] Das U.N.: A radical approach to cancer. *Med. Sci. Monit.*, 2002; 8: 79–92
- [12] De Bont R., Van Larebeke N.: Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data. *Mutagenesis*, 2004; 19: 169–185
- [13] De Kok T.M., Moonen E.J., van der Ent F.W., Engels L.G., Kleinjans J.C.: Methodologies for bulky adduct analysis and biomonitoring of environmental and occupational exposures. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, 2002; 778: 345–355
- [14] Douki T., Odin F., Caillat S., Favier A., Cadet J.: Predominance of the 1,N2-propano 2'-deoxyguanosine adduct among 4-hydroxy-2-nonenal-induced DNA lesions. *Free Radic. Biol. Med.*, 2004; 37: 62–70
- [15] Fink S.P., Reddy G.R., Marnett L.J.: Mutagenicity in *Escherichia coli* of the major DNA adduct derived from the endogenous mutagen malondialdehyde. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 8652–8657
- [16] Greenberg R.B., Alberti M., Hearst J.E., Chua M.A., Saffran W.A.: Recombinational and mutagenic repair of psoralen interstrand cross-links in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 31551–31560
- [17] Gros L., Ischenko A.A., Sapparbaev M.: Enzymology of repair of etheno-adducts. *Mutat. Res.*, 2003; 531: 219–229
- [18] Gros L., Sapparbaev M.K., Laval J.: Enzymology of the repair of free radicals-induced DNA damage. *Oncogene*, 2002; 21: 8905–8925
- [19] Guengerich F.P.: Cytochrome P450 oxidations in the generation of reactive electrophiles: epoxidation and related reactions. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2003; 409: 59–71
- [20] Halliwell B.: Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radic. Res.*, 1996; 25: 57–74
- [21] Hazen S.L., Hsu F.F., d'Avignon A., Heinecke J.W.: Human neutrophils employ myeloperoxidase to convert α -amino acids to a battery of reactive aldehydes: a pathway for aldehyde generation at sites of inflammation. *Biochemistry*, 1998; 37: 6864–6873
- [22] Hecht S.S., McIntee E.J., Wang M.: New DNA adducts of crotonaldehyde and acetaldehyde. *Toxicology*, 2001; 166: 31–36
- [23] Ischenko A.A., Sapparbaev M.K.: Alternative nucleotide incision repair pathway for oxidative DNA damage. *Nature*, 2002; 415: 183–187
- [24] Jalozyński P., Szyfter K.: Analiza adduktów aromatycznych DNA metodą 32P-postlabeling z zastosowaniem chromatografii cienkowarstwowej i autoradiografii (32P-TLC) oraz wysokosprawnej chromatografii cieczowej i scyntylogrometrii przepływowej (32P-HPLC). W: Przykłady analiz DNA, red.: Słomski R. Wydawnictwo Akademii Rolniczej, Poznań 2001: 309–311
- [25] Johnson K.A., Fink S.P., Marnett L.J.: Repair of propanodeoxyguanosine by nucleotide excision repair *in vivo* and *in vitro*. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 11434–11438
- [26] Kowalczyk P., Cieśla J.M., Komisarski M., Kuśmierk J.T., Tudek B.: Long-chain adducts of trans-4-hydroxy-2-nonenal to DNA bases cause recombination, base substitution and frameshift mutations in M23 phage. *Mutat. Res.*, 2004; 550: 33–48
- [27] Levine R.L., Miller H., Grollman A., Ohashi E., Ohmori H., Matsutani C., Hanaoka F., Moriya M.: Translesion DNA synthesis catalysed by human pol eta and pol kappa across 1,N6-ethenodeoxyadenosine. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 18717–18721
- [28] Marnett L.J.: Lipid peroxidation – DNA damage by malondialdehyde. *Mutat. Res.*, 1999; 424: 83–95
- [29] Marnett L.J.: Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*, 2000; 21: 361–370
- [30] Marnett L.J.: Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*, 2002; 181/182: 219–222
- [31] Marnett L.J., Plataras J.P.: Endogenous DNA damage and mutation. *Trends Genet.*, 2001; 17: 214–221
- [32] Marnett L.J., Riggins J.N., West J.D.: Endogenous generation of reactive oxidants and electrophiles and their reactions with DNA. *J. Clin. Invest.*, 2003; 111: 583–593
- [33] Matulewicz Ł., Przybyszewski W.M.: Wpływ lipidów na aktywność polimeraz DNA. *Post. Biol. Kom.*, 2004; 31: 277–284
- [34] Modrich P., Lahue R.: Mismatch repair in replication fidelity, genetic recombination, and cancer biology. *Annu. Rev. Biochem.*, 1996; 65: 101–133
- [35] Moller P., Wallin H.: Adduct formation, mutagenesis and nucleotide excision repair of DNA damage produced by reactive oxygen species and lipid peroxidation product. *Mutat. Res.*, 1998; 410: 271–290
- [36] Nair J.: Lipid peroxidation – induced etheno-DNA adducts in humans. Exocyclic DNA adducts. W: *Mutagenesis and Carcinogenesis*, red.: Singer B., Bartsch H. International Agency for Research on Cancer, IARC Scientific Publications, Lyon, 1999; 150: 55–61
- [37] Nair J., Barbin A., Velic I., Bartsch H.: Etheno DNA-base adducts from endogenous reactive species. *Mutat. Res.*, 1999; 424: 59–69
- [38] Nair J., Gal A., Tamir S., Tannenbaum S., Wogan G., Bartsch H.: Etheno-adducts in spleen DNA of S/L mice stimulated to overproduce nitric oxide. *Carcinogenesis*, 1998; 19: 2081–2084
- [39] Nair J., Vaca C.E., Velic J., Mutanen M., Valsta J.M., Bartsch H.: High dietary ω -6 polyunsaturated fatty acids drastically increase the formation of etheno-DNA base adducts in white blood cells of female subjects. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 1997; 6: 597–601
- [40] Niederhofer L.J., Daniels J.S., Rauzer C.A., Greene R.E., Marnett L.J.: Malonaldehyde, a product of lipid peroxidation is mutagenic in human cells. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 31426–31433
- [41] Olinski R., Gackowski D., Rozalski R., Foksinski M., Białkowski K.: Oxidative DNA damage in cancer patients: a cause or a consequence of the disease development? *Mutat. Res.*, 2003; 531: 177–190
- [42] Pan J., Chung F.L.: Formation of cyclic deoxyguanosine adducts from ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids under oxidative conditions. *Chem. Res. Toxicol.*, 2002; 15: 367–372



- [43] Pastoriza Gallego M., Sarasin A.: Transcription-coupled repair of 8-oxoguanine in human cells and its deficiency in some DNA repair diseases. *Biochimie*, 2003; 85: 1073–1082
- [44] Plastaras J.P., Riggins J.N., Otteneider M., Marnett L.J.: Reactivity and mutagenicity of endogenous DNA oxopropenylating agents base propenals, malonaldehyde, and N (epsilon)-oxopropenallysine. *Chem. Res. Toxicol.*, 2000; 13: 1235–1242
- [45] Przybyszewski W.M.: Udział produktów peroksydacji lipidów w przeciwnowotworowym mechanizmie działania promieniowania jonizującego i cytostatyków radiomimetycznych. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2001; 55: 803–813
- [46] Przybyszewski W.M., Widel M.: Kwasy tłuszczowe jako potencjalny element wspomagający terapię nowotworów. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2002; 56: 589–602
- [47] Randerath K., Randerath E., Zhou G.D., Li D.: Bulky endogenous DNA modifications (I-compounds)-possible structural origins and functional implications. *Mutat. Res.*, 1999; 424: 183–194
- [48] Randerath E., Zhou G.D., Randerath K.: Organ-specific oxidative DNA damage associate with normal birth in rats. *Carcinogenesis*, 1997; 18: 859–866
- [49] Randerath K., Zhou G.D., Somers R.L., Robbins J.H., Brooks P.J.: A 32P-postlabeling assay for the oxidative DNA lesions 8,5'-cyclo-2'-deoxyadenosine in mammalian tissues. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 36051–36057
- [50] Rogstad D.K., Liu P., Burdzy A., Lin S.S., Sowers L.C.: Endogenous DNA lesions can inhibit the binding of the AP-1 (C-Jun) transcription factor. *Biochemistry*, 2002; 41: 8093–8102
- [51] Schmid K., Nair J., Winde G., Velic I., Bartsch H.: Increased levels of promutagenic etheno-DNA adducts in colonic polyps of FAP patients. *Int. J. Cancer.*, 2000; 87: 1–4
- [52] Stadtman E.R.: Oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins by radiolysis and by metal-catalysed reactions. *Annu. Rev. Biochem.*, 1993; 62: 797–821
- [53] Yang I.Y., Miller H., Wang Z., Frank E.G., Ohmori H., Hanaoka F., Moriya M.: Mammalian translesion DNA synthesis across an acrolein-derived deoxyguanosine adduct. Participation of DNA polymerase eta in error-prone synthesis in human cells. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 13989–13994
- [54] Yang I.Y., Chan G., Miller H., Huang Y., Torres M.C., Johnson F., Moriya M.: Mutagenesis by acrolein-derived propanodeoxyguanosine adducts in human cells. *Biochemistry*, 2002; 41: 13826–13832
- [55] Yang K., Fang J., Chung F., Hemminki K. 32P-postlabelling with high-performance liquid chromatography for analysis of abundant DNA adducts in human tissues. *Exocyclic DNA adducts. W: Mutagenesis and Carcinogenesis*, 150, red.: Singer B., Bartsch H. International Agency for Research on Cancer, IARC Scientific Publications, Lyon 1999: 205–217
- [56] Zhou G.D., Randerath K., Donnelly K.C., Jaiswal A.K.: Effects of NQO1 deficiency on levels of cyclopurines and other oxidative DNA lesions in liver and kidney of young mice. *Int. J. Cancer*, 2004; 112: 877–883