

ОБЗОР

УДК 577.213/.217:577.121.7:541.515
©Зиновьева В.Н., Островский О.В.

СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ДНК И ЕГО БИОМАРКЕР ОКИСЛЕННЫЙ ГУАНОЗИН (8-oxodG)

В.Н. Зиновьева, О.В. Островский

НИИ фармакологии и кафедра фармакологии Волгоградской медицинской
академии,
400066, Волгоград, пл. Павших борцов, 1

Окисление ДНК в клетках аэробных организмов происходит при воздействии эндогенных свободных радикалов (в частности, соединений кислорода, азота, хлора). Оно усиливается под влиянием экзогенных прооксидантных факторов. Свободные радикалы вызывают различные повреждения ДНК. В настоящем обзоре подробно рассматривается одно из них (окислительная модификация гуанозина) и дается характеристика современных методов оценки содержания окисленного гуанозина (8-oxodG) в ДНК. Приведены также многочисленные данные об индукции 8-oxodG в ДНК *in vitro* и *in vivo* генотоксичными экзогенными факторами, что подтверждает связь окисления ДНК с мутагенезом и канцерогенезом. Кроме того, рассмотрено использование 8-oxodG в качестве биомаркера окисления ДНК, сопровождающего некоторые патологические состояния человека.

Ключевые слова: свободные радикалы, окислительные повреждения ДНК, окисленный гуанозин (8-oxodG), канцерогенез, мутагенез.

ВВЕДЕНИЕ. Процессы свободно-радикального окисления протекают в клетках всех организмов как в норме, так и при патологии. Организм обладает системой защиты от повреждения свободными радикалами, которая не всегда оказывается эффективной. Можно обнаружить повреждающее действие свободных радикалов на все клеточные структуры и макромолекулы, в том числе и на ДНК. ДНК, по-видимому, является главной мишенью свободных радикалов (СР) в таких процессах как канцерогенез, мутагенез и старение [1-3]. Современные методы исследований позволяют оценить как само воздействие СР на ДНК, так и его отдаленные последствия (например, индукцию мутаций). В последнем случае применяют самые разные биомодели. К числу рутинных можно отнести бактериальный тест Эймса и тест на сцепленные с полом рецессивные летальные мутации у дрозофилы, которые учитывают частоту возникновения генных мутаций. При анализе хромосомных aberrаций и доминантных летальных мутаций в соматических и половых клетках мышей оценивают частоту образования хромосомных и геномных мутаций. Непосредственное воздействие окислителей на ДНК изучают, используя для регистрации разрывов ДНК чаще всего методы внепланового синтеза ДНК, микроргельэлектрофореза и

8-ОХО-dG И СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ДНК

люминесцентной микроскопии (comet-тест), а для регистрации аддуктов в ДНК измеряют их количество методами хроматографии и масс-спектрометрии. В последнее время появилось немало данных в пользу того, что определение содержания в ДНК окисленного гуанозина может служить надежным индикатором ее окисления. Целью настоящего обзора является обобщение результатов применения этого биомаркера для оценки состояния ДНК как *in vitro*, так и *in vivo*.

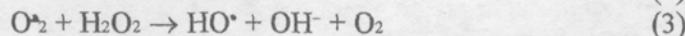
1. Эндогенные окислители, повреждающие ДНК.

Свободные радикалы представляют собой обычно очень реакционноспособные молекулы, имеющие неспаренные электроны. Они постоянно образуются в ходе нормального метаболизма в клетках аэробных организмов. Эндогенным источником СР служат, например, такие процессы, как одноэлектронное восстановление кислорода в дыхательной цепи митохондрий, окисление эндогенных субстратов и чужеродных веществ, респираторный взрыв фагоцитов. Побочными продуктами важнейших метаболических реакций с участием молекулярного кислорода являются активные формы кислорода (АФК), которые взаимодействуют с нерадикальными соединениями и образуют новые СР. Благодаря такой каскадности процесса образования свободных радикалов, они, несмотря на небольшой радиус их действия и короткое время полужизни, могут вызывать повреждение любых клеточных компонентов (в том числе и ДНК).

К эндогенным АФК относятся прежде всего истинно радикальные соединения кислорода: супероксид-анион и гидроксильный радикал, а также высоко агрессивные синглетный кислород и перекись водорода.

Супероксид-анион (продукт одноэлектронного восстановления кислорода, $O_2^{\cdot-}$) при физиологических условиях по отношению к ДНК не активен [4]. Однако этот радикал участвует во многих биохимических реакциях, генерирующих СР. В частности, $O_2^{\cdot-}$ вступает во взаимодействие с окисленными формами металлов с переменной валентностью (1) (их восстановленные формы участвуют затем в реакции Фентона (2)). Кроме того, супероксид-анион образует с окисью азота чрезвычайно активный пероксинитритный радикал.

Супероксидный радикал спонтанно или каталитически легко переходит в **перекись водорода**. H_2O_2 (за исключением окисления аденина) с ДНК практически не взаимодействует, однако реакции Фентона, в которых она участвует, ведут к образованию гидроксильного радикала (2). Он также образуется при взаимодействии перекиси водорода с супероксидом (3) [5].



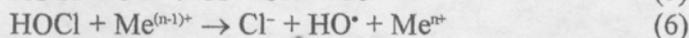
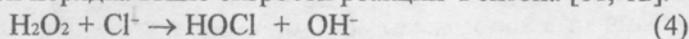
Гидроксильный радикал (продукт восстановления кислорода тремя электронами, HO^{\cdot}), без сомнения, играет важную роль в эндогенных процессах окисления ДНК, а именно в тех случаях, когда он генерируется вблизи молекулы ДНК, поскольку из-за чрезвычайной реакционноспособности HO^{\cdot} -радикал может диффундировать в клетке только на расстояние в один-два диаметра его молекулы [6, 7].

Синглетный кислород (1O_2) не имеет неспаренных электронов и не является истинным СР, однако в отличие от молекулярного кислорода он имеет высокую реакционную способность и, взаимодействуя с ДНК, легко окисляет гуаниновые основания [8].

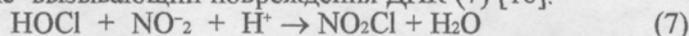
Очень сильное окисляющее действие на ДНК оказывает ряд соединений азота и хлора. Уже упомянутый **пероксинитрит** (ONO_2) образуется из окиси азота и супероксид-аниона [9]. Пероксинитрит легко диффундирует внутри клеток и может переходить из клетки в клетку, что отличает его от гидроксильного радикала. Благодаря этой особенности, ONO_2 , образованный, например, в месте воспаления, может повреждать ДНК в клетках соседних тканей [10].

В местах воспаления во время фагоцитоза протекают также реакции, ведущие к образованию реактивных соединений хлора. С участием фермента миелопероксидазы перекись водорода генерирует хлорноватистую кислоту (4).

Хлорноватистая кислота (НОСl) может реагировать с супероксидом кислорода, образуя гидроксильный радикал (5). Кроме того, HO^\bullet образуется при взаимодействии НОСl с медью (I) и железом (II) (6), причем скорость этих реакций на три порядка выше скорости реакции Фентона [11, 12].



Хлорноватистая кислота, генерируемая в нейтрофилах, принимает участие в окислении ДНК косвенно, во-первых, как источник гидроксильного радикала, а, во-вторых, повреждая белки-ферменты, репарирующие ДНК [13]. Однако оказалось, что и сама НОСl способна как *in vitro*, так и *in vivo* взаимодействовать с ДНК, напрямую повреждая ее структуру [14, 15]. Кроме того, хлорноватистая кислота, вступая в реакцию с окисью азота, образует **нитрил хлорид (NO₂Cl)**, также вызывающий повреждения ДНК (7) [16].

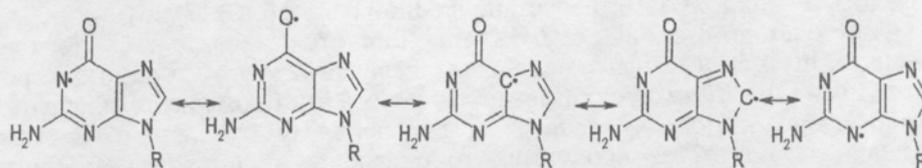


Таким образом, в повреждении ДНК участвуют реактивные соединения кислорода, азота, хлора. В клетках могут генерироваться и другие виды окислителей (например, перокси-радикалы, пероксиферрил-ионы или разнообразные биорадикалы, образующиеся при взаимодействии СР с биомолекулами). Продукты окисления некоторых биомолекул (например, липидов) также повреждают ДНК, индуцируя в ней образование ряда аддуктов [17], однако мы ограничимся рассмотрением тех повреждений, которые являются результатом воздействия на ДНК АФК.

2. Окислительная модификация оснований ДНК

Свободные радикалы вызывают различные повреждения структуры ДНК. Известно, по крайней мере, пять классов повреждений ДНК: разрывы нити ДНК, межнитевые сшивки ДНК-ДНК, сшивки ДНК-белок, образование участков ДНК, лишенных оснований и окислительная модификация оснований [18-20]. К разрыву нити ДНК ведет, в частности, взаимодействие гидроксильного радикала с атомом водорода в некоторых сайтах молекулы дезоксирибозы, в результате которого образуются радикалы с центрами по С3', С4' и С5' атомам сахара [18].

Атакуя основание ДНК, HO^\bullet вызывает большой спектр модификаций, поскольку радикалы оснований могут иметь неспаренный электрон или у атома углерода, или у атома кислорода, или у атома азота, что демонстрирует следующая схема образования гуаниновых радикалов [21]:



Окислительным модификациям подвержены все четыре основания ДНК (химическую структуру некоторых продуктов их окисления можно найти в обзоре [22]). Существуют методы обнаружения многих из модифицированных оснований, но наиболее часто для оценки окислительного состояния ДНК измеряют содержание в ней продуктов окисления тимина и гуанина.

Тиминовое основание в результате взаимодействия с гидроксильным радикалом может образовывать три радикальных соединения, которые легко подвергаются дальнейшему окислению кислородом [7]. В результате два из них, составляющие 95% всего пула окисленного тимина, образуют тиминный гликоль. Содержание тиминового гликоля в ДНК измеряют с помощью достаточно трудоемких методов газовой хроматографии и масс-спектрометрии (ГХ/МС) [23, 24].

Гуаниновое основание легко окисляется при взаимодействии с гидроксильным радикалом, причем в 60% случаев атаке подвергается четвертый

8-ОХО-dG И СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ДНК

атом углерода, а в 25% случаев - восьмой (рис. 1) [7]. Первый из радикалов (3) вступает в ряд последующих реакций, но в определенных условиях (в присутствии двухвалентного железа и аскорбата) может быть восстановлен. Вторым радикалом (2) также может быть либо восстановлен, либо окислен, с образованием 8-оксо-7,8-дигидрокси-2'-дезоксигуанина (4). Это модифицированное основание (8-oxodG) удастся обнаружить и количественно измерить с помощью ряда методов, которые будут рассмотрены ниже.

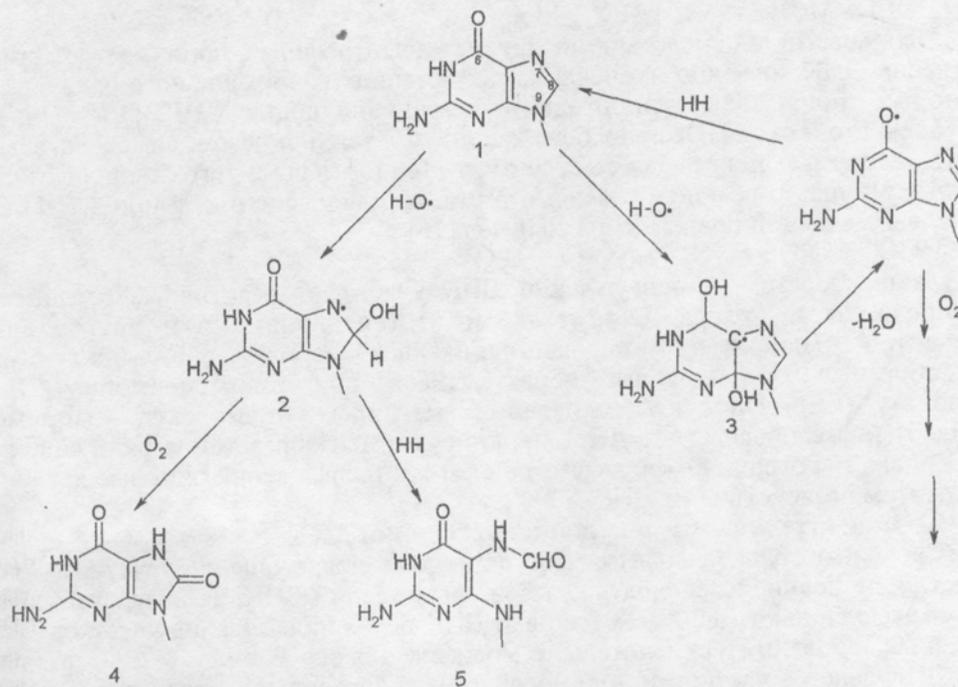


Рисунок 1.
Продукты окисления гуанина (1).

Следует отметить, что соотношение между продуктами окисления гуанина оказывается различным в зависимости от того, находится ли основание в составе нуклеозида или в составе дунитевой ДНК. При воздействии HO· на dG образуется минорное количество 8-oxodG (<3% окисленного гуанина), в то время как при воздействии на ДНК около половины окисленного гуанина представлено этим продуктом, а около 20% - его восстановленной формой (5) [7, 25].

Образование 8-oxodG в ДНК индуцируется не только гидроксильным радикалом, но и синглетным кислородом, пероксинитритом и одноэлектронными окислителями [26-28], что усиливает его ценность как биомаркера окисления ДНК. В свою очередь 8-oxodG подвержен дальнейшему окислению. В частности, показано, что одним из продуктов его окисления под действием синглетного кислорода является оксалуриковая кислота [29]. Кроме того судьба 8-oxodG зависит от протекающих в клетках процессов репарации ДНК.

В репарации участвуют эндонуклеазы, вырезающие аномальный нуклеозид, и гликозилазы, отщепляющие от него остаток сахара. В результате в клетках образуются, соответственно, нуклеозид 8-oxodG и нуклеотид 8-охоG, которые могут поступать из клеток в культуральную среду или в условиях целого организма выводиться с мочой. Если окисленный гуанин может попасть в мочу и из пищи, то в отношении 8-oxodG предполагается, что он не адсорбируется кишечным эпителием [22, 30]. Поэтому измерение содержания 8-oxodG в моче также имеет диагностическое значение при анализе степени окисления ДНК, а уровень 8-oxodG в самой ДНК отражает баланс между скоростью его образования под действием СР и скоростью его исключения в результате репарации.

Все типы окислительных повреждений ДНК в той или иной степени оказываются причиной возникновения мутаций. Сам процесс репарации не всегда является безошибочным. Кроме того, во время репликации ДНК против аномального модифицированного основания (если оно еще не удалено) может включиться не комплементарный исходному нуклеотид. При замене гуанозина на окисленный в ДНК появляются чаще всего трансверсии GC→TA [2, 31]. Следовательно, оценка степени окисления ДНК по содержанию в ней 8-oxodG дает также информацию о возможных генотоксических эффектах СР.

3. Методы определения содержания 8-oxodG в ДНК.

Сообщения о возможности оценки окислительных повреждений ДНК по уровню окисленного гуанинового основания появились около пятнадцати лет назад [32, 33]. Уже в первых экспериментах при определении содержания в ДНК 8-oxodG использовались методы либо высоко эффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией (ВЭЖХ-ЭД), либо газовой хроматографии и масс-спектрометрии (ГХ/МС). При этом общим начальным этапом такого анализа является выделение клеточной ДНК. Схема опыта предусматривает затем гидролиз ДНК, осуществляемый либо энзиматически (ВЭЖХ-ЭД), либо воздействием слабых органических кислот (например, муравьиной (ГХ/МС)). Вслед за этим образец ДНК анализируется хроматографически. Причем в силу высокого сродства нуклеозидов к материалу колонки при ВЭЖХ-ЭД измеряется количество 8-oxodG по отношению к количеству не окисленного гуанозина, определяемому УФ-спектрофотометрией. Метод ГХ/МС оказался более чувствительным при измерении нуклеотидов, а не нуклеозидов; при этом его используют для оценки не только 8-oxodG, но и других окислительных модификаций ДНК.

За прошедшие годы методы детекции были значительно усовершенствованы. В частности, при помощи ВЭЖХ-ЭД сейчас удается обнаружить субпиколярные количества 8-oxodG в образце ДНК 20 мкг [7]. Однако до сих пор исследователи вынуждены преодолевать ряд трудностей на этапе выделения ДНК. Это связано с тем, что при работе с ДНК трудно предотвратить ее автоокисление, которое может привести к завышенной оценке содержания 8-oxodG. В тех случаях, когда при выделении ДНК использовались антиоксиданты, уровень окисленного гуанозина существенно снижался [34]. Для избежания автоокисления предлагается вести некоторые стадии получения ДНК в атмосфере азота [35, 36]. Эффективным оказалось использование хелаторов ионов металлов, в частности, дефероксамина [37]. Более надежным по сравнению с рутинным фенольным методом экстракции ДНК считается выделение ее с применением иодида натрия [38, 39].

Существуют и другие причины получения артефактов, об упоминании о которых не обходится ни один обзор на эту тему [7, 17, 22, 40, 41]. По-видимому, требуется оптимизация условий гидролиза ДНК, поскольку высказывались сомнения относительно равномерного воздействия гидролитических ферментов на ДНК, в которой могут быть устойчивые к ним сайты [42]. При кислотном гидролизе также встает вопрос о разной чувствительности к кислотам различных участков ДНК, которая к тому же может изменяться после воздействия каких-то факторов (например, ультрафиолетового излучения [43]).

Все эти факты свидетельствуют о напряженной работе исследователей над повышением надежности рассматриваемых методов определения 8-oxodG. Именно поэтому в ведущих лабораториях ряда стран проводилось тестирование 8-oxodG в специально синтезированных фрагментах ДНК, в которые было введено строго определенное количество окисленного гуанозина [44]. К настоящему времени применение ВЭЖХ-ЭД считается наиболее надежным (особенно при соблюдении ряда требований [45]) и менее трудоемким по сравнению с ГХ/МС. Использование последнего метода привело к появлению работ, в которых содержание 8-oxodG в ДНК интактных организмов на порядок превышало уровень 8-oxodG, измеренный при помощи ВЭЖХ-ЭД [46, 22]. Разнились данные,

8-OHO-dG И СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ДНК

полученные этими методами, и при анализе 8-oxodG в облученной ультрафиолетом ДНК [43]. Еще одно преимущество ВЭЖХ-ЭД заключается в возможности измерения уровня 8-oxodG в биологических жидкостях (например, в моче), хотя такая неинвазивная модификация метода требует предварительной очистки образцов мочи [37].

Довольно часто применяется для оценки содержания 8-oxodG в ДНК метод ^{32}P -постмечения, который основан на радиоактивном мечении с помощью полинуклеотид-киназы нуклеозид-3'-монофосфатов, образующихся после энзиматического или кислотного гидролиза ДНК. Получение артефактов, однако, и при работе этим методом также возможно из-за автоокисления ДНК [47, 48].

Разработаны и принципиально иные иммунохимические методы детекции 8-oxodG, основанные на использовании антител к нему и применяемые для оценки содержания 8-oxodG как в образцах ДНК, выделенной из различных тканей или органов, так и в биологических жидкостях [49-51]. Особенно привлекательны гистоиммунохимические модификации методов, которые позволяют измерить уровень 8-oxodG *in situ*, поскольку при этом удается избежать артефактов, возникающих при выделении ДНК [52, 53]. Так, при использовании метода определения 8-oxodG *in situ* без выделения митохондрий его количество в митохондриальной ДНК оказалось примерно в три раза меньшим, чем при применении рутинного метода оценки 8-oxodG [53].

Еще один метод, напоминающий классический ELISA, позволяет определять ряд окисленных оснований, благодаря применению биотинилированного вещества, реагирующего с альдегидными группами апуриновых сайтов ДНК, [54]. Апуриновые сайты возникают на месте 8-oxodG, если предварительно его удалить с помощью дрожжевой 8-oxoG-N-гликозилазы, а при обработке ДНК эндонуклеазой III из *E. coli* они образуются на месте окисленных пиримидиновых оснований.

Применение ферментов репарации ДНК возможно не только при детекции 8-oxodG, но и в сочетании с методами щелочной элюции или comet-тестом [7, 55]. Видимо, в будущем эти комплексные методы оценки окисления ДНК станут не менее популярны, чем измерение в ней 8-oxodG.

4. Влияние экзогенных факторов на образование 8-oxodG в ДНК.

Известны многочисленные экзогенные факторы, генерирующие свободные радикалы. У некоторых из них выявлена способность к индукции 8-oxodG в ДНК. Выяснение механизма возникновения окислительного повреждения ДНК является сложной задачей, поскольку в клетках идут как процессы образования СР и окисления ДНК, так и ее репарация. Кроме того, в них функционирует система антиоксидантной защиты. Поэтому наиболее полная характеристика процесса окисления ДНК, вызванного экзогенными факторами, получена в экспериментах с изолированными нуклеиновыми кислотами.

Как оказалось, мутагенные эффекты ионизирующей радиации и ультрафиолетового излучения связаны не только с индукцией ими одно- и двунитевых разрывов ДНК, сшивок ДНК-белок и ДНК-ДНК, пиримидиновых димеров, но и с окислительной модификацией оснований ДНК. Эти виды излучений увеличивали количество 8-oxodG в изолированной ДНК и в ДНК культивируемых клеток [56-59]. При этом механизм образования 8-oxodG при воздействии ионизирующей радиации связан с радиолизом воды до HO^\bullet (гидроксильный радикал и является окислителем). Он также участвует в индукции 8-oxodG при облучении ДНК длинноволновым ультрафиолетом (УФ) и ультрафиолетом со средней длиной волны, в то время как коротковолновый УФ генерирует синглетный кислород [59]. Так, в присутствии окиси дейтерия, продлевающей время полужизни синглетного кислорода, количество 8-oxodG в облученной ДНК возрастало, а азид натрия, являющийся ловушкой $^1\text{O}_2$, уменьшал эффект окиси дейтерия.

Обнаружено также, что при облучении коротковолновым УФ ДНК с различным АТ/ГЦ составом уровень 8-oxodG находился в прямо

пропорциональной зависимости от содержания в ней пар АТ [60]. Следовательно, индукция 8-oxodG является сайт-специфичной и чаще происходит в сайтах ДНК, обогащенных парами АТ. Кроме того, содержание 8-oxodG в ДНК зависело не только от нуклеотидного состава, но и от структуры биополимера, поскольку при облучении ДНК, денатурированной нагреванием, уровень 8-oxodG был примерно на 80% ниже его уровня в облученной нативной ДНК [60].

Индукция образования 8-oxodG ДНК происходит также при воздействии видимого света и веществ-фотосенсибилизаторов (например, рибофлавина, некоторых красителей [61, 62]). Механизм такого фотоокисления ДНК тоже обусловлен генерацией свободно-радикальных продуктов.

Ионизирующее и ультрафиолетовое излучения, как известно, оказывают не только мутагенное, но и канцерогенное действие; очевидна связь индукции ими окислительных повреждений ДНК и канцерогенеза. Канцерогенные химические вещества также способны усиливать процесс окисления ДНК и индуцируют в ней образование 8-oxodG. Это демонстрируют результаты опытов с применением фрагментов ДНК, содержащих гены, продукты которых контролируют онкогенез (например, человеческий ген p53, кодирующий белок-супрессор опухолей). Обнаружена способность к индукции 8-oxodG в присутствии двухвалентной меди у канцерогенов: красителей нитро-2-аминофенолов, метаболитов 1-нитропирена, *o*-анизидина и нитробензола [63-66]. Предполагается, что эти соединения способны к окислению Cu(II), которая имеет на ДНК определенные участки связывания. Самоокисление комплекса [ДНК-Cu(I) → ДНК-Cu(I)OОН] ведет к образованию супероксида и генерации им перекиси водорода, сайт-специфично повреждающей ДНК.

Таким образом, не только физические факторы, но и химические вещества могут оказывать на ДНК сайт-специфичное окисляющее действие, что объясняет наличие в генах про- и эукариотов "горячих" точек, обнаруженных ранее в генетических экспериментах.

Приведенные выше данные свидетельствуют об участии ионов металлов в процессах свободно-радикального окисления ДНК *in vitro*. Ионы некоторых металлов способны к индукции 8-oxodG в ДНК культивируемых клеток [67, 68]. Действие меди и кадмия оказалось связанным с ингибированием фермента 8-oxodG-5'-трифосфат пиродифосфатазы, препятствующего включению в ДНК окисленного гуанозина.

Опыты *in vitro* позволили не только выявить факторы индукции 8-oxodG, но и установили у некоторых из них механизм действия на ДНК. Ниже приведены сведения о факторах, усиливающих образование 8-oxodG в ДНК животных и человека.

Способность к индукции окисления ДНК хорошо изучена на лабораторных грызунах. Показано, например, что канцерогенный растворитель 2-нитропропан повышает уровень 8-oxodG в ДНК клеток печени и костного мозга крыс, а также в моче животных [35, 69, 70]. Бензол, вызывающий у человека лейкемию, повышал содержание 8-oxodG в ДНК клеток костного мозга мышей [71]. Частицы выхлопов дизельного топлива, генерирующие супероксид и гидроксильный радикал и вызывающие у экспериментальных животных опухоли дыхательных путей, значительно увеличивали уровень 8-oxodG в ДНК из легочной ткани мышей [72].

Многие другие канцерогены также оказывали индуцирующее действие на образование 8-oxodG в ДНК грызунов. Среди них нитрилотриацетат железа, у которого способность к окислению ДНК культивируемых клеток была выявлена в одних из первых опытов с применением метода детекции 8-oxodG [32]. При введении крысам он также повышал уровень 8-oxodG в ДНК из клеток почечной ткани [73]. Другое соединение тетрадеканоилфорбол ацетат значительно увеличивало уровень 8-oxodG в ДНК из клеток кожи, чувствительных к этому канцерогену мышей SENCAR, не влияя на содержание 8-oxodG в ДНК устойчивой линии мышей [74].

Недавно показано, что препарат 3'-азидо-3'-деокситимидин, который предполагается использовать для предотвращения трансплацентарной передачи

8-OHO-dG И СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ДНК

вируса иммунодефицита человека, в опытах с мышами не только оказывал канцерогенное действие на плод, но и усиливал окисление ДНК из тканей плода, о чем свидетельствовало возрастание уровня 8-oxodG в ней [75].

Существование связи между канцерогенезом и свободно-радикальным окислением ДНК подтверждается также данными, полученными при изучении влияния генерирующих СР факторов окружающей среды на ДНК человека. Содержание 8-oxodG при этом измеряли либо в образцах ДНК, выделенной из клеток крови, плаценты, из биоптатов, либо в биологических жидкостях человека.

Индукция 8-oxodG в ДНК человека в результате воздействия ионизирующей радиации была обнаружена при ее применении в терапевтических целях [76, 77]. Аналогичные изменения в ДНК из лимфоцитов периферической крови летного персонала вызывала космическая радиация [36]. Результаты последнего исследования согласуются с эпидемиологическими данными о повышенном риске возникновения онкологических заболеваний у летного персонала [78]. Обнаружена также корреляция между содержанием 8-oxodG в моче женщин, проживающих в жилищах с повышенным уровнем радиоактивного излучения, и дозой, полученной ими радиации [79].

На степень повреждения ДНК человека, безусловно, влияют загрязняющие окружающую среду мутагены и канцерогены. Так, при оценке иммуногистохимическими методами содержания 8-oxodG в образцах назального эпителия детей, проживающих в различных районах Мехико, обнаружено, что оно повышено в ДНК детей из Мехико-Сити, атмосфера которого наиболее загрязнена озоном, металлами, альдегидами, окислами азота [80]. С уровнем загрязнения атмосферы Копенгагена коррелировало содержание 8-oxodG в моче шоферов городских автобусов, увеличенное у шоферов, работающих в центре города, по сравнению с шоферами с окраины [81]. Показан также высокий уровень 8-oxodG в моче заправщиков на бензоколонках Рима [82]. Примененный в последних работах неинвазивный метод измерения 8-oxodG в моче кажется особенно перспективным для исследования влияния на окисление ДНК человека факторов окружающей среды, поскольку позволяет провести обследование больших групп людей, в том числе профессиональных.

Известно, что табачный дым содержит ряд оксидантных компонентов, которые, повреждая ДНК, могут оказать канцерогенное и мутагенное действие [83]. Однако при анализе уровня 8-oxodG в ДНК курящих и некурящих людей получены противоречивые данные. Показано, например, превышение уровня 8-oxodG в ДНК из лейкоцитов курящих по сравнению с некурящими [84]. В других работах уровень 8-oxodG в ДНК из лейкоцитов периферической крови курильщиков оказался ниже, чем у некурящих [85, 86], а в ДНК из клеток плаценты беременных женщин (некурящих, курящих и пассивных курильщиц) различие в содержании 8-oxodG было статистически не достоверным [87]. Эти противоречия обусловлены, по-видимому, недостаточной стандартизацией методов детекции 8-oxodG в ДНК. Кроме того, обнаруженный в моче курящих, а также в плазме крови пассивных курильщиков повышенный уровень 8-oxodG [70, 88, 89] свидетельствует о возможности существования адаптационных механизмов, усиливающих репарацию ДНК курильщиков, поэтому количество 8-oxodG в ней с увеличением стажа курения возвращается к норме. Поскольку на скорость освобождения 8-oxodG из ДНК при репарации влияет интенсивность метаболических процессов (уровень его экскреции зависит от калорийности пищи, от массы тела, от пола обследуемых [88]), расчет количества 8-oxodG в моче (на кг массы тела или на количество креатина) должен быть стандартизирован, чтобы не снизить ценность применения 8-oxodG как биомаркера окисления ДНК.

5. Окисление ДНК и патологические состояния человека.

Еще одним направлением изучения окисления ДНК у человека является анализ ее состояния при различных патологических процессах, протекающих в организме с участием свободных радикалов. Сведения о таких болезнях

суммированы в обзорах [90, 30]. Возможные механизмы вовлечения СР разнообразны: от генетических дефектов системы антиоксидантной защиты до избыточной продукции активированными фагоцитами синглетного кислорода, перекиси водорода и хлорноватистой кислоты. Не всегда можно понять является ли усиленное образование СР причиной болезни или ее следствием. Кроме того, участие СР в патогенезе не обязательно ведет к возрастанию уровня окисления ДНК. Тем не менее определение содержания 8-oxodG позволило выявить окислительные повреждения ДНК при некоторых заболеваниях.

Связь свободно-радикального окисления ДНК и канцерогенеза прослеживается при анализе данных об уровне 8-oxodG в ДНК онкологических больных. В частности, при раке молочной железы содержание 8-oxodG в ДНК из опухоли значительно превышал таковой в ДНК из нормальной ткани [91]. У больных раком легких уровень 8-oxodG был повышен в ДНК из периферической легочной ткани и в ДНК лимфоцитов [92, 93]. Высокий уровень 8-oxodG обнаружен и в моче онкологических больных [94, 49].

Содержание 8-oxodG в ДНК меняется при заболеваниях желудка (гастрите, язве), причем оно оказалось выше у пациентов с хроническим атрофическим гастритом и у инфицированных *Helicobacter pylori* пациентов [95]. Обнаружено также увеличение содержания 8-oxodG в ДНК клеток печени при хроническом гепатите, а также в ДНК лейкоцитов при гепатите С [96, 97]. По-видимому, уровень повреждения ДНК при воспалении возрастает за счет усиленного образования свободных радикалов.

Некоторые аутоиммунные заболевания (системная красная волчанка, ревматоидный артрит) также сопровождаются усилением процесса окисления ДНК. В ДНК лимфоцитов больных содержание 8-oxodG оказалось более высоким, чем в ДНК здоровых лиц, однако такого различия не обнаружено для ДНК из полиморфноядерных лейкоцитов [98]. Предполагается, что при аутоиммунных болезнях усилена продукция СР, либо становится дефектной репарация ДНК.

Для больных анемией Фанконе характерны несбалансированность генома, высокая частота хромосомных аберраций, что может быть связано с интенсивно протекающим процессом окисления ДНК. Действительно, содержание 8-oxodG в ДНК культивируемых лимфобластных клеток пациентов было выше нормы, что, возможно, связано с низкой активностью каталазы в них [99].

При инсулин-независимом диабете типа II повышенное содержание 8-oxodG обнаружено как в ДНК из мононуклеаров крови, так и в моче пациентов [100-102]. Наблюдалась и корреляция между уровнем 8-oxodG и уровнем гликированного гемоглобина.

Ряд заболеваний, патогенез которых связан с дегенерацией нервных клеток, сопровождается усилением процесса свободно-радикального окисления. При боковом амиотрофическом склерозе СР повреждают ДНК, поскольку уровень 8-oxodG в биологических жидкостях больных был выше, чем у здоровых [103]. У пациентов с болезнью Паркинсона в отличие от здоровых лиц 8-oxodG обнаруживался иммуногистохимически в цитоплазме нейронов *substantia nigra* [104].

Свободно-радикальному окислению ДНК и окислению ДНК митохондрий, в особенности, отводится ведущая роль в процессе старения [3, 53]. 8-oxodG при этом также может служить биомаркером. Так, в модельных опытах с крысами показано, что с увеличением возраста растет содержание 8-oxodG в ДНК кожной ткани [105]. Обнаружено повышение уровня 8-oxodG с возрастом и у человека (в ДНК лейкоцитов, в плазме и спинномозговой жидкости) [84, 103]. Связь старения с процессом окисления ДНК подтверждают также данные, полученные при изучении так называемых болезней старения (атеросклероз, болезни Паркинсона и Альцгеймера).

При последнем заболевании установлено, что в кортикальных нейронах умерших сильно повреждена митохондриальная ДНК, поскольку она фрагментирована и становится иммунореактивной по отношению к 8-oxodG [106]. Данных о содержании 8-oxodG в ДНК больных атеросклерозом нами не найдено.

8-ОХО-dG И СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ДНК

Однако при экспериментальном атеросклерозе у крыс, содержащихся на обогащенной холестерином диете, 8-oxodG иммунохимически обнаруживается в атеросклеротических бляшках сосудов [107]. Кроме того, есть данные о связи окисления липопротеинов низкой плотности, которое повышено при атеросклерозе, с окислением ДНК. Уменьшает окисление липидов и, возможно, предотвращает развитие атеросклероза фермент пароксигеназа, который у человека кодируется полиморфным геном. Оказалось, что у здоровых лиц, гомозиготных по мутантному аллелю гена пароксигеназы, отношение уровня 8-oxodG в моче к скорости гломерулярной фильтрации выше, чем у гомозигот по нормальному аллелю и у гетерозигот [101]. Следовательно, ДНК людей, у которых высок риск заболеть атеросклерозом, окислена в большей степени, чем ДНК остальных.

СР, видимо, выполняют регуляторную роль в процессах не только старения, но и пролиферации клеток, дифференцировки и индукции синтеза некоторых белков [108]. Окислительное повреждение регуляторных участков ДНК, вызванное СР, может влиять на транскрипцию генов. Действительно, замена на 8-oxodG некоторых гуанинов в последовательности 5'-GGGGCGGGG-3' проксимальнее промотора генов, транскрипция которых регулируется фактором транскрипции Sp1, нарушает нормальное связывание ДНК с ним [109]. Sp1-регулируемым является ген, кодирующий инсулиновые рецепторы. У крыс с экспериментальным инсулин-устойчивым диабетом повышено содержание 8-oxodG в ДНК почечной ткани, а способность фактора Sp1 к связыванию с промотором гена, кодирующего инсулиновый рецептор, оказалась уменьшенной [110]. Последнее может быть обусловлено как инактивацией самого фактора в условиях окислительного стресса, так и уменьшением его сродства к регуляторному участку ДНК, содержащему 8-oxodG. Следовательно, причиной развития устойчивости клеток к инсулину может быть окислительное повреждение ДНК.

Основываясь на вышеизложенном, можно заключить, что определение 8-oxodG достаточно широко применяется на всех уровнях исследования окислительных повреждений ДНК и позволяет не только выявлять различные факторы, индуцирующие ее окисление, но и связать с этим процессом как компонентом окислительного стресса некоторые патологические состояния человека.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Предложенный в середине 80-х годов метод обнаружения окисления ДНК по количеству окисленных оснований гуанина в ее молекуле вызвал большой интерес у ученых, работающих в самых разных областях биологии, и в конце десятилетия 8-oxodG можно было назвать наиболее популярным из исследуемых веществ [17]. Многие исследователи и сейчас склонны считать 8-oxodG надежным биомаркером окисления ДНК, хотя существует возможность получения артефактов при использовании рутинных методов его измерения. Поэтому улучшение старых и разработка новых методов определения 8-oxodG безусловно необходимы. Однако и наиболее часто применяемый в настоящее время метод детекции 8-oxodG с использованием ВЭЖХ-ЭД пригоден в тех случаях, когда уровень его индукции значительно превышает фоновый уровень [22]. Использование таких моделей может способствовать решению проблемы защиты ДНК от окислительных повреждений. С помощью измерения содержания в ДНК 8-oxodG выявлены соединения (прежде всего природного происхождения), которые оказывают защитное действие *in vitro* и/или *in vivo*. По-видимому, такие протекторные вещества могут стать основой средств для профилактики и лечения заболеваний, сопровождающихся окислительным стрессом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ames B.N., Gold L.S. (1991) *Mutat. Res.*, **250**, 3-16
2. Cheng K.C., Cahill D.S., Kasai H. et al. (1992) *J. Biol. Chem.*, **267**, 166-172
3. Knight J.A. (2000) *Adv. Clin. Chem.*, 351-362
4. Halliwell B., Aruoma O.I. (1991) *FEBS Lett.*, **281**, 9-19

5. Henle E.S, Linn S. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 19095-19098
6. Pryor W.A. (1986) *Annu. Rev. Physiol.*, **48**, 557-567
7. Cadet J., Delatour T., Douki T. et al. (1999) *Mutat. Res.*, **424**, 9-21
8. Ravanat J.L., Cadet J. (1995) *Chem. Res. Toxicol.*, **8**, 379-388
9. Koppenol W.H., Moreno J.J., Pryor W.A. et al. (1992) *Chem. Res. Toxicol.*, **5**, 834-842
10. Radi R. (1998) *Chem. Res. Toxicol.*, **11**, 720-721
11. Candeias L.P., Stratford M.R., Wardman P. (1994) *Free Radic. Res.*, **20**, 241-249
12. Candeias L.P., Patel K.B., Stratford M.R., Wardman P. (1993) *FEBS Lett.*, **333**, 151-153
13. Pero R.W., Sheng Y., Olsson A. et al. (1996) *Carcinogenesis*, **17**, 13-18
14. Prutz W.A. (1996) *Arch. Biochem. Biophys.*, **332**, 110-120
15. Whiteman M., Jenner A., Halliwell B. (1997) *Chem. Res. Toxicol.*, **10**, 1240-1246
16. Whiteman M., Spencer J.P.E., Jenner A., Halliwell B. (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **257**, 572-576
17. Marnett L.J. (2000) *Carcinogenesis*, **21**, 361-370
18. Cadet J., Berger M., Douki T., Ravanat J.L. (1997) *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, **131**, 1-87
19. Randerath K., Randerath E., Smith C.V., Chang J. (1996) *Chem. Res. Toxicol.*, **9**, 247-254
20. Lloyd D.R., Phillips D.H., Carmichael P.L. (1997) *Chem. Res. Toxicol.*, **10**, 393-400
21. Simic M.G. (1988) *Mutat. Res.*, **202**, 377-386
22. Halliwell B. (1999) *Mutat. Res.*, **443**, 37-52
23. Cathcart R., Schwieters E., Saul R.L., Ames B.N. (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**, 5633-5637
24. Dizdaroglu M. (1990) *Methods Enzymol.*, **193**, 842-857
25. Douki T., Martini R., Ravanat J.L. et al. (1997) *Carcinogenesis*, **18**, 2385-2391
26. Cadet J., Ravanat J.L., Buchko G.W. et al. (1994) *Methods Enzymol.*, **234**, 79-88
27. Douki T., Cadet J. (1996) *Free Radic. Res.*, **24**, 369-380
28. Kasai H., Yamaizumi Z., Berger M., Cadet J. (1992) *J. Amer. Chem. Soc.*, **114**, 9692-9694
29. Duarte V., Gasparutto D., Yamaguchi L.F. et al. (2000) *J. Amer. Chem. Soc.*, **122**, 12622-12628
30. De Zwart L.L., Meerman J.H.N., Commandeur N.M., Vermeulen N.P.E. (1998) *Free Radic. Biol. Med.*, **26**, 202-226
31. Moriya M. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 1122-1126
32. Floyd R.A., Watson J.J. (1986) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **137**, 841-846
33. Dizdaroglu M. (1984) *J. Chromatogr.*, **295**, 103-121
34. Kvam E., Tyrrell R.M. (1997) *Carcinogenesis*, **18**, 2281-2283
35. Deng X., Tuo J., Poulou H.E., Loft S. (1997) *Mutat. Res.*, **391**, 165-169
36. Zwingmann I.H., Welle I.J., van Herwijnen M. et al. (1998) *Environ. Mol. Mutagen.*, **32**, 121-129
37. Shigenaga M.K., Aboujaoude E.A., Chen Q., Ames B.N. (1994) *Methods Enzymol.*, **234**, 16-33
38. Helbock H.J., Beckman K.B., Shigenaga M.K. et al. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 288-293
39. Hamilton M.L., Guo Z., Fuller C.D. et al. (2001) *Nucleic Acids Res.*, **29**, 2117-2126
40. Collins A.R., Dusinska M., Gedik C.M., Stetina R. (1996) *Environ. Health Perspect.*, **104**, 465-469
41. Kasai H. (1997) *Mutat. Res.*, **387**, 147-163
42. Maccubbin A., Evans M., Paul C.R. et al. (1991) *Radiat. Res.*, **126**, 21-26
43. Evans M.D., Cooke M.S., Podmore I.D. et al. (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **259**, 374-378
44. Lunec J., Herbert K.E., Jones G.D.D. et al. (2000) *Free Radic. Res.*, **33** Suppl., S27-S31
45. Duez P., Helson M., Some T.I. et al. (2000) *Free Radic. Res.*, **33**, 243-260

8-OHO-dG И СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ДНК

46. Ravanat J.L., Turesky R.J., Gremaud E. et al. (1995) Chem. Res. Toxicol., **8**, 1039-1045
47. Schuler D., Otteneder M., Sagelsdorff P. et al. (1997) Carcinogenesis, **18**, 2367-2371
48. Moller L., Hofer T. (1997) Carcinogenesis, **18**, 2415-2419
49. Erhola M., Toyokuni S., Okada K. et al. (1997) FEBS Lett., **409**, 287-291
50. Toyokuni S., Tanaka T., Hattori Y. et al. (1997) Lab. Invest., **76**, 365-374
51. Cooke M.S., Mistry N., Ladapo A. et al. (2000) Free Radic. Res., **33**, 369-381
52. Potts R.J., Bespalov I.A., Wallace S.S. et al. (2001) Toxicology, **161**, 25-38
53. Anson R.M., Hudson E., Bohr V.A. (2000) FASEB J., **14**, 355-360
54. Kow Y.W., Dare A. (2000) Methods, **22**, 164-169
55. Rothfuss A., Merk O., Radermacher P., Speit G. (2000) Mutat. Res., **471**, 87-94
56. Fischer-Nielsen A., Jeding I.B., Loft S. (1994) Carcinogenesis, **15**, 1609-1612
57. Fischer-Nielsen A., Poulsen H.E., Loft S. (1992) Free Radic. Biol. Med., **13**, 121-126
58. Zhang X., Rosenstein B.S., Wang Y. et al. (1997) Free Radic. Biol. Med., **23**, 980-985
59. Wei H., Cai Q., Rahn R., Zhang X. (1997) Free Radic. Biol. Med., **23**, 148-154
60. Wei H., Cai Q., Rahn R. et al. (1998) Biochemistry, **37**, 6485-6490
61. Mori T., Tano K., Takimoto K., Utsumi H. (1998) Biochem. Biophys. Res. Commun., **242**, 98-101
62. Floyd R.A., West M.S., Eneff K.L., Schneider J.E. (1990) Free Radic. Biol. Med., **8**, 327-330
63. Chen F., Oikawa S., Hiraku Y. et al. (1998) Cancer Lett., **126**, 67-74
64. Ohnishi S., Murata M., Fukuhara K. et al. (2001) Biochem. Biophys. Res. Commun., **280**, 48-52
65. Ohkuma Y., Kawanishi S. (2001) Arch. Biochem. Biophys., **389**, 49-56
66. Ohkuma Y., Kawanishi S. (1999) Biochem. Biophys. Res. Commun., **257**, 555-560
67. Prahalad A.K., Inmon J., Ghio A.J., Gallagher J.E. (2000) Chem. Res. Toxicol., **13**, 1011-1019
68. Kasprzak K.S., Bialkowski K. (2000) J. Inorg. Biochem., **79**, 231-236
69. Guo N., Conaway C.C., Hussain N.S., Fiala E.S. (1990) Carcinogenesis, **11**, 1659-1662
70. Suzuki J., Inoue Y., Suzuki S. (1995) Free Radic. Biol. Med., **18**, 431-436
71. Kolachana P., Subrahmanyam V.V., Meyer K.B. et al. (1993) Cancer Res., **53**, 1023-1026
72. Nagashima M., Kasai H., Yokota J. et al. (1995) Carcinogenesis, **16**, 1441-1445
73. Yamaguchi R., Hirano T., Asami S. et al. (1996) Carcinogenesis, **17**, 2419-2422
74. Wei L., Wei H., Frenkel K. (1993) Carcinogenesis, **14**, 841-847
75. Bialkowska A., Bialkowski K., Gerschenson M. et al. (2000) Carcinogenesis, **21**, 1059-1062
76. Wilson V.L., Taffe B.G., Shields P.G. et al. (1993) Environ. Health Perspect., **99**, 261-263
77. Bialkowski K., Kowara R., Windorbska W., Olinski R. (1996) Cancer Lett., **99**, 93-97
78. Band P.R., Le N.D., Fang R. et al. (1996) Am. J. Epidemiol., **143**, 137-143
79. Sperati A., Abeni D.D., Tagesson C. et al. (1999) Environ. Health Perspect., **107**, 213-215
80. Calderon-Garciduenas L., Wen Wang L., Zhang Y.J. et al. (1999) Environ. Health Perspect., **107**, 469-474
81. Loft S., Poulsen H.E., Vistisen K., Knudsen L.E. (1999) Mutat. Res., **441**, 11-19
82. Lagorio S., Tagesson C., Forastiere F. et al. (1994) Occup. Environ. Med., **51**, 739-743
83. Pryor W.A., Stone K. (1993) Ann. N.Y. Acad. Sci., **686**, 12-27
84. Lodovici M., Casalini C., Cariaggi R. et al. (2000) Free Radic. Biol. Med., **28**, 13-17
85. Van Zeeland A.A., de Groot A.J., Hall J., Donato F. (1999) Mutat. Res., **439**, 249-257

86. *Nia A.B., van Schooten F.J., Schilderman P.A. et al.* (2001) *Carcinogenesis*, **22**, 395-401
87. *Daube H., Scherer G., Riedel K. et al.* (1997) *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **123**, 141-151
88. *Loft S., Vistsen K., Ewertz M. et al.* (1992) *Carcinogenesis*, **13**, 2241-2247
89. *Howard D.J., Ota R.B., Briggs L.A. et al.* (1998) *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **7**, 141-146
90. *Knight J.A.* (1995) *Anp. Clin. Lab. Sci.*, **25**, 111-121
91. *Malins D.C., Haimanot R.* (1991) *Cancer Res.*, **51**, 5430-5432
92. *Inoue M., Osaki T., Noguchi M. et al.* (1998) *Jpn. J. Cancer Res.*, **89**, 691-695
93. *Vulimiri S.V., Wu X., Baer-Dubowska W. et al.* (2000) *Mol. Carcinog.*, **27**, 34-46
94. *Tagesson C., Kallberg M., Klintenberg C., Starkhammar H.* (1995) *Eur. J. Cancer.*, **31A**, 934-940
95. *Farinati F., Cardin R., Degan P. et al.* (1998) *Gut*, **42**, 351-356
96. *Shimoda R., Nagashima M., Sakamoto M. et al.* (1994) *Cancer Res.*, **54**, 3171-3172
97. *Farinati F., Cardin R., Degan P. et al.* (1999) *Free Radic. Biol. Med.*, **27**, 1284-1291
98. *Bashir S., Harris G., Denman M.A. et al.* (1993) *Ann. Rheum. Dis.*, **52**, 659-666
99. *Takeuchi T., Morimoto K.* (1993) *Carcinogenesis*, **14**, 1115-1120
100. *Leinonen J., Lehtimaki T., Toyokuni S. et al.* (1997) *FEBS Lett.*, **417**, 150-152
101. *Malin R., Rantalaiho V., Huang X.H. et al.* (1999) *Hum. Genet.*, **105**, 179-180
102. *Hinokio Y., Suzuki S., Hirai M. et al.* (1999) *Diabetologia*, **42**, 995-998
103. *Bogdanov M., Brown R.H., Matson W. et al.* (2000) *Free Radic. Biol. Med.*, **29**, 652-658
104. *Zhang J., Perry G., Smith M.A. et al.* (1999) *Am. J. Pathol.*, **154**, 1423-1429
105. *Tahara S., Matsuo M., Kaneko T.* (2001) *Mech. Ageing Dev.*, **122**, 415-426
106. *De la Monte S.M., Luong T., Neely T.R. et al.* (2000) *Lab. Invest.*, **80**, 1323-1335
107. *Martinet W., Knaapen M.W., de Meyer G.R. et al.* (2001) *Circ. Res.*, **88**, 733-739
108. *Пескин А.В.* (1997) *БИОХИМИЯ*, **62**, 1571-1578
109. *Ramon O., Sauvaigo S., Gasparutto D. et al.* (1999) *Free Radic. Res.*, **31**, 217-229
110. *Ramon O., Wong H-K., Joyeux M. et al.* (2001) *Free Radic. Biol. Med.*, **30**, 107-118

Поступила 11.03.02

DNA OXIDATION BY FREE RADICALS AND ITS BIOMARKER OXIDIZED GUANOSINE (8-oxodG)

V.N. Zinovjeva, O.V. Ostrovsky

Pharmacological Research Institute and Department of Pharmacology of
Volgograd Medical Academy,
400066, Volgograd, Pavshikh Bortsov Sq., 1

Endogenous free radicals, in particular, reactive species of oxygen, nitrogen, chlorine cause DNA oxidation which is potentiated by exogenous prooxidant factors. The free radicals cause various DNA damages. This review highlights one of them, oxidative modification of guanosine, and also modern methods of the estimation of oxidized guanosine (8-oxodG) content. The numerous data on an induction of 8-oxodG in DNA by exogenous genotoxicants *in vitro* and *in vivo* are presented. 8-oxodG is used as a biomarker of DNA oxidation, accompanying some human diseases.

Key words: free radical, oxidative DNA damage, oxidized guanosine (8-oxodG), carcinogenesis, mutagenesis