

ПОРУШЕННЯ СИСТЕМИ РЕПАРАЦІЇ ДНК У ШАХТАРІВ, ЩО ІНДУКОВАНІ ДІЄЮ ПРОФЕСІЙНИХ ФАКТОРІВ. ПОВІДОМЛЕННЯ 2

Андрущенко Т. А., Басанець А. В.

ДУ «Інститут медицини праці Національної академії медичних наук України», м. Київ

Вступ. У статті обговорюються сучасні професійні фактори шахтарів вугільних шахт України, які можуть обумовлювати екзогенні ушкодження ДНК і призводити до підвищення частоти мутацій і порушень системи репарації ДНК.

Мета дослідження – проаналізувати причини екзогенних порушень системи репарації ДНК.

Матеріали та методи дослідження. Аналітичний огляд наукових публікацій виконано з використанням реферативної бази даних наукових бібліотек і текстової бази даних медичних і біологічних публікацій Pub Med.

Результати. Проведено аналіз професійних факторів шахтарів, які можуть обумовлювати екзогенні ушкодження ДНК. Проаналізовано різні види порушень репарації ДНК, механізми репарації та їхнє біологічне значення. Наведено вивчені генні поліморфізми, які асоційовані з порушеннями репарації ДНК.

Висновки. Актуальність наукового дослідження полягає у визначенні впливу професійних факторів на порушення системи репарації, які обумовлені індивідуальною схильністю.

Ключові слова: професійні фактори шахтарів, екзогенні пошкодження ДНК, системи репарації ДНК

Вступ

В Україні щороку реєструють близько 6 тис. випадків професійної патології, переважна більшість хворих із зазначеними хворобами зайнята у вугільній галузі промисловості. Шахтарі, насправді, є специфічною групою ризику, що зазнає подвійного навантаження – від професійних факторів і екологічного забруднення навколишнього середовища [8].

Добре відомо, що серед провідних професійних факторів шахтарів, окрім вугільного та породного пилу, загальної та локальної вібрації, шуму, особливе місце посідають різноманітні хімічні сполуки й радіаційний фактор [12, 20]. Роль різних професійних факторів шахтарів серед причин, що викликають або змінюють частоту й перебіг професійно обумовленої патології, залишається й досі до кінця не з'ясованою.

Розуміння основних механізмів дії екзогенних сполук на живі системи має допомогти визначити причини виникнення багатьох мультифакторних захворювань (МФЗ,) і навчити людство запобігати їхньому розвитку. Зазначений факт обґрунтовує інтерес до вивчення впливу несприятливих та небезпечних факторів виробництва вуглевидобувної галузі на здоров'я працюючих [1, 20]. Перспектива удосконалення системи профілактики за допомогою вивчення біомаркерів, які обумовлюють взаємодію генів з навколишнім середовищем, метаболічними процесами і репарацією ДНК, є

надзвичайно актуальною, оскільки визначення індивідуального ризику виникнення професійної патології, часу експозиції шкідливими та небезпечними факторами виробництва, способу життя є спадково обумовленими [7].

У живих організмах існують різноманітні системи захисту від ДНК-пошкоджуючих агентів. Ідентифіковано велику кількість систем репарації ДНК, від бактерій до людини [4]. Репарація є обов'язковою умовою нормального функціонування організму. Підпадаючи під щоденну загрозу чисельних екзогенних пошкоджень і мутацій ДНК, багатоклітинна структура має прилаштуватись і вижити. Це відбувається, головним чином, за рахунок налагодженої роботи системи репарації [6].

Відсутність задовільної відновлювальної здатності організму викликає хвороби, мутації та інші відхилення в гомеостазі, до яких відносять різноманітні патології розвитку, онкологічні захворювання і навіть процес старіння [11].

Епідеміологічні дослідження останніх років щодо впливу генних поліморфізмів на процеси системи репарації ДНК свідчать, що саме біомаркери є модуляторами індивідуальної схильності, пов'язаної з стилем життя, способом харчування, наявністю шкідливих звичок тощо [7]. Сьогодні біомаркери є новітнім інструментом для епідеміологічних досліджень у медицині праці і можуть стати реальним підґрунтям для визначення груп осіб з підвищеним

ступенем схильності до певного захворювання чи шкідливого фактора, або навпаки, визначення груп осіб резистентних до впливу екзогенних факторів і розвитку МФЗ. Тому для широкого впровадження генетичних маркерів у медицину праці необхідно в майбутньому забезпечити подальший розвиток молекулярно-генетичної епідеміології [14, 21, 22].

Мета дослідження – проаналізувати причини екзогенних порушень системи репарації ДНК.

Матеріали та методи дослідження

Аналітичний огляд наукових публікацій виконано з використанням реферативної бази даних наукових бібліотек і текстової бази даних медичних і біологічних публікацій Pub Med.

Результати дослідження та їх обговорення

Генетика є порівняно молодою наукою. Лише на рубежі XVIII–XIX сторіч були зроблені перші спроби визначити та оцінити спадковість. Датою офіційного становлення генетики як науки прийнято вважати весну 1900 року, коли незалежно один від одного вчені-генетики різних країн (Хуго де Фриз, Нідерланди; Карл Корренс, Німеччина) «перевідкрили» закони Г. Менделя [4]. Це дало значний поштовх для подальших досліджень, і вже у 1901–1903 роках Хуго де Фриз виклав мутаційну теорію, постулати якої дійсні й нині.

Мутація – це стійке перетворення генотипу, яке відбувається під впливом внутрішнього або зовнішнього середовища. Мутагенами називають фактори, що призводять до виникнення мутацій, або значно збільшують їх частоту [6]. За походженням мутагени поділяються на біологічні (ретротранспозони, ретровіруси), фізичні (висока температура, ультрафіолетове (УФ) випромінювання та іонізуюче випромінювання (ІВ) тощо) та хімічні (різні хімічні речовини). Також розрізняють мутації, а саме: генні, геномні та хромосомні, вони відрізняються за рівнем, на якому відбулася мутація, та особливостями її наслідків. Ще мутації поділяють на спонтанні та індуковані. Спонтанні мутації виникають самовільно протягом усього життя організму в звичайних для нього умовах навколишнього середовища з частотою близько 10^{-9} – 10^{-12} на нуклеотид за клітинну генерацію організму [10]. А пошкодження ДНК індуковані впливом факторів навколишнього середовища

відбуваються з частотою від декількох сотень до 1000 випадків у кожній клітині за одну годину [6]. Основними процесами всередині клітини, які призводять до виникнення мутагенних процесів, є генетична рекомбінація, порушення репарації та реплікація.

Екзогенні пошкодження ДНК

Очевидно, уже на ранніх стадіях еволюції ДНК замінила РНК як носія генетичної інформації. Цьому сприяла велика хімічна стійкість ДНК, що пов'язана з заміщенням рибози на дезоксирибозу та дволанцюгова будова, яка приховує ряд реакційноздатних угруповань. Але, не дивлячись на свої переваги, ДНК постійно підпадає під дію хімічних і фізичних речовин, які є спонтанними та індукованими мутагенами [3]. Більшість змін, які відбуваються в ДНК, неприпустимі, так як вони призводять до шкідливих мутацій, або блокують ДНК реплікацію й викликають загибель клітин. Щоб запобігти дії шкідливих екзогенних чинників, усі клітини мають спеціальні системи виправлення помилок – системи репарації ДНК [10].

ДНК – це єдина макромолекула клітини, яка здатна запобігати пошкодженням, що виникають у її структурі, більш того, у ній закодовано інформацію щодо механізмів самих різноманітних репараційних процесів [3]. ДНК людини вміщує близько $3 \cdot 10^9$ пар основ і $2 \cdot 10^{11}$ ковалентних зв'язків, які є об'єктом впливу для різноманітних пошкоджуючих факторів. Враховуючі відомі дані про енергію зв'язків, можна підрахувати, що ДНК типової клітини кожний день отримує близько 10 000 спонтанних депуринізацій (втрата А або G основ), 500 депіримідинізацій (втрата С або Т основ) і 160 дезамінувань цитидину (перетворення С в Т) [25].

Найчастіше при підвищенні температури навколишнього середовища відбувається розрив глікозидних зв'язків між пурином і дезоксирибозою азоту (депуринізація). За одну добу в клітині людини здійснюється від 5000 до 10 000 актів депуринізації, наслідком якої є порушення реплікації та експресії генів. Крім того, залишки цитозину (Ц) та аденіну (А) можуть піддаватись спонтанному дезамінуванню з утворенням відповідних залишків урацилу (У) і гіпоксантину; частота таких випадків приблизно 100 на геном, що обумовлює появу мутацій [6].

Основним типом екзогенних пошкоджень ДНК є димеризація піримідинових основ, що відбува-

ється під впливом УФ-світла в епідермісі й призводить до утворення тимідинових димерів або тимідин-цитидинових димерів. Такі пошкодження репарують до вихідного рівня шляхом фотореактивації за допомогою ферменту фотоліази, який використовує як кофактор реакції видиме світло. Ряд екзогенних факторів призводить до утворення в організмі ДНК-аддуктів, які поділяються на малі та об'ємні [5]. Малі пошкодження включають метилювання та етилювання, що можуть бути спровоковані нітрузоаїнами (DEN) і нітрузоаїдами (MNNG). Зазвичай сайтом для такої модифікації є O⁶-позиція гуаніну та O⁴-позиція тиміну. Дані атоми кисню знаходяться в кето-конфігурації для правильного спарювання основ. Однак фіксація зазначених атомів в енольній конфігурації призводить до дестабілізації звичайного вуглеводного зв'язку між основами в протилежних ланцюгах ДНК, а це обумовлює виникнення точкових мутацій [31]. Аддукти можуть бути видалені метилтрансферазою, у каталітичному центрі якої є залишок цистеїну, на який переноситься алкільна група з O⁶- та O⁴-T. Уперше даний фермент був виявлений у бактерій, де він брав участь у метилюванні ДНК [2].

Багато змін у структурі ДНК відбуваються під впливом хімічних речовин, які присутні в навколишньому середовищі. Це алкілюючі агенти (азотисті сполуки, алкілсульфонати, нітрозосечовина), які модифікують переважно гуанінові (G)-залишки, сполуки, що вбудовуються поміж сусідніми парами основ і призводять до появи вставок і делецій під час реплікації; біологічно функціональні агенти, здатні утворювати ковалентні зшивки між двома ланцюгами ДНК і блокувати їхнє розходження при реплікації [13, 23].

Не менш руйнівні для геному фізичні впливи — при поглинанні УФ-світла відбувається заміщення тиміну (T) або цитозину з утворенням циклобутанових димерів між сусідніми піримідинами; ІВ сприяє утворенню високореакційноздатних вільних радикалів, які чинять на ДНК різноманітні впливи; рентгенівські промені викликають у ДНК одно- і дволанцюгові розриви, а також інші пошкодження, характерні для впливу вільних радикалів [30].

Репарація — це особлива функція живих організмів, яка полягає в здатності виправляти пошкодження хімічної структури й розривів ДНК, пошкоджених при біосинтезі в результаті впливу фізичних або хімічних агентів [3]. У клітині існує спеціальний

механізм, що підтримує цілісність генетичної інформації, механізм репарації ДНК відновлює «status quo» та є необхідним для життєдіяльності клітини. Утворення дволанцюгових молекул (гетеродуплексів) одноланцюговими фрагментами ДНК та РНК можливо як *in vitro*, так і *in vivo*. Репарація здійснюється рибоолігонуклеотидами (одноланцюговими короткими фрагментами РНК), які компліментарні розірванім кінцям ДНК [10].

У процесі еволюції живі організми напрацювали різноманітні способи репарації. При реверсії пошкоджений ланцюг ДНК відновлюється в результаті зворотної реакції, яка активується специфічними ферментами. Приклади реверсій ДНК — фотореактивація (фоторепарація) і деалкілювання залишку гуаніну в положенні O⁶ [6]. У першому випадку фермент дезоксирибопіримідинфотоліаза, яка активується сонячним світлом (300–400 нм), перетворює циклобутанові піримідинові димери, що утворюються в ДНК у разі впливу УФ випромінювання, знову в мономери. Реверсію O⁶-метилгуаніну здійснює фермент O⁶-метилгуанін-ДНК-метилтрансфераза (Ada-белок). Фермент репарує O⁶-метилгуанін (а також O⁴-метилтимін) шляхом прямого переносу групи CH₃ на цистеїновий залишок ферменту. Якщо під впливом алкілюючих агентів — N-метил-N-нітро-зосечовини або N¹, N-диметилнітрузогуанідину в ДНК утворився O⁶-метил- або O⁶-алкілзаміщений залишок гуаніну, то деалкілювання таких залишків йде за участі ферменту O⁶-метилгуанін-ДНК-алкілтрансферази, яка каталізує перенос алкільних груп на сульфгідрильні групи цистеїнових залишків, при цьому акцепторний білок інактивується [5]. При опроміненні ДНК УФ-світлом утворюються циклобутанові димери між сусідніми парами піримідинових основ і здійснюється ферментативне перетворення їх в мономери при освітленні розриву видимим світлом у діапазоні довжин хвиль 300–600 нм. Фермент O⁶-метилгуанін-ДНК-алкілтрансфераза утворює стабільний комплекс з піримідиновим димером і використовує енергію поглиненого ним світла на руйнацію димеру без розриву ланцюгів ДНК [5].

Початком вивчення процесу репарації вважають наукові дослідження американського вченого А. Келнера, який у 1948 році виявив явище фотореактивації (ФР). ФР це процес зменшення пошкоджень біологічних об'єктів, які викликаються УФ променями в разі впливу видимого світла (світлова

репарація). Американські вчені Р. Сетлоу, К. Руперт встановили, що фотореактивація — фотохімічний процес, який протікає за участі спеціального ферменту й призводить до розщеплення димерів тиміну, які утворилися в ДНК при поглинанні УФ-кванта [9]. Пізніше при вивченні генетичного контролю чутливості бактерій до УФ-світла та ІВ була виявлена темнова репарація — властивість клітин ліквідувати пошкодження в ДНК без участі видимого світла. Механізм темної репарації опромінених УФ-світлом бактеріальних клітин відкрили вчені А. П. Говард-Фландерс, Ф. Ханавальт і Д. Петиджон у 1964 році. Було показано, що в бактерій після опромінення відбувається відокремлення пошкоджених ділянок ДНК з зміненими нуклеотидами та відбувається ресинтез ДНК у пробілах, що утворилися [9].

Значення репарації ДНК

Видалення помилок реплікації важливо, так як більша частина пошкоджень ДНК блокує передачу генетичної інформації наступному поколінню, а решта, якщо їх не видалити, зберігаються в геномі нащадків і призведуть до драматичних змін у молекулах білків, ферментів, необхідних для підтримки життєдіяльності клітини [3]. При пошкодженні окремих ланцюгів систем репарації клітини стають особливо вразливими для деяких хімічних і фізичних агентів. Люди, які страждають на пігментну ксеродерму, дуже чутливі до УФ-світла, у них розвиваються різні форми раку шкіри навіть у разі дуже слабого впливу сонячного світла [5]. Клітини таких людей несуть мутацію в RAD-генах (RAD-гени, кодуєть білки, які необхідні для зупинки клітинного циклу й репарації пошкодженої ДНК у відповідь на пошкодження), яка має порушену здатність до відщеплення піримідинових димерів з опроміненої ДНК.

Найчастішими джерелами пошкоджень ДНК є УФ випромінювання, радіація, хімічні речовини, помилки реплікації ДНК, апуринізація (відщеплення азотистих основ від глюкозофосфатного остову) і дезамінування (відщеплення аміногрупи від азотистої основи).

Основними типами пошкоджень ДНК є:

- пошкодження одиночних нуклеотидів;
- пошкодження пар нуклеотидів;
- розрив ланцюга ДНК;
- утворення поперечних зшивок між основами одного ланцюга або різних ланцюгів ДНК.

Кожна з систем репарації включає наступні компоненти:

- фермент, «що впізнає» хімічнозмінені ділянки в ланцюзі ДНК і здійснює розрив ланцюга поблизу пошкодження;
- фермент, що видаляє пошкоджену ділянку ДНК;
- фермент (ДНК-полімераза), який синтезує відповідну ділянку ланцюга ДНК замість видаленого;
- фермент (ДНК-лігаза), що замикає останній зв'язок у полімерному ланцюзі й тим самим відновлює його безперервність [17, 19].

Існує три ферментні системи, завдяки яким відбуваються різні види репарацій ДНК.

Пошкодження ДНК можуть бути різних типів, так, наприклад: багаточисельні аддукти ДНК при хімічному мутагенезі, тімінові димери — при УФ-опроміненні, одно- та дволанцюгові розриви — при дії ІВ [2, 13, 20].

Види репарацій ДНК

Пряма репарація — найпростіший шлях видалення пошкоджень ДНК. Відбувається за допомогою специфічних ферментів, здатних швидко видаляти пошкодження й відновлювати нативну структуру нуклеотидів. Наприклад: O⁶-метилгуанін-ДНК-метилтрансфераза знімає метильну групу з азотистої основи на один з власних залишків цистеїну [19]. Відбувається заміщення пошкодженої ділянки одного з ланцюгів подвійної спіралі ДНК на непошкоджену в результаті обміну ланцюгів між гомологічними хромосомами, як при генетичній рекомбінації. Подібним способом репарують складні дефекти структури ДНК, такі як зшивка між ланцюгами або дволанцюгові розриви [18].

Екзцизійна репарація — полягає у видаленні пошкоджених азотистих основ з наступним відновленням нативної структури молекули ДНК. Відбувається заміна пошкодженої ділянки подвійної спіралі ДНК на нативну в результаті складного багатостадійного процесу, у якому беруть участь декілька ферментів. I етап складається з вирізання пошкодженої пуринової або піримідинової основи з молекули ДНК завдяки ферментативному гідролізу N-глікозидного зв'язку. У ДНК утворюються апуринові або апіримідинові сайти (АП-сайти). На II етапі в результаті дії АП-ендонуклеаз відбувається розрив фосфодієфірного зв'язку в ДНК з 3'-сто-

рони (АП-ендонуклеази I класу) або з 5'-сторони (АП-ендонуклеази II класу) від АП-сайту. III етап полягає у вирізанні АП-сайту з ДНК. Він може відбуватись двома способами. У першому випадку відщеплення й заповнення пробілу здійснюється ДНК-полімеразою I або ДНК-полімеразою II. У другому варіанті вирізання АП-сайту каталізують екзонуклеази типу 5' : 3' (розрив ланцюга ДНК відбувається з утворенням на кінцях 3'-ОН і 5'-фосфату); заповнення пробілу в результаті ресинтезу ДНК здійснюється ДНК-полімеразами. Останній IV етап ексцизійної репарації – «зшивання» одноланцюгового розриву, який відновлює цілісність ланцюга макромолекули ДНК. Цей процес здійснює ДНК-лігаза [15, 17, 26, 27].

Постреплікативна репарація – це тип репарації, який має місце у випадках, коли процес ексцизійної репарації недостатній для повного виправлення пошкоджень. Після реплікації з утворенням ДНК, яка містить пошкоджені ділянки, утворюються одноланцюгові пробіли, які виповнюються в процесі гомологічної рекомбінації за допомогою білка RecA. Постреплікативна репарація була відкрита в клітинах *E. Coli*, нездатних відщеплювати тимінові димери. Це єдиний тип репарації, який не має етапу впізнавання пошкоджень. Даний вид репарації є особливим випадком рекомбінаційної репарації, при якій пошкодження ДНК реплікуються, однак, у ланцюгах, що знову синтезувалися, утворюються пробіли, так як зазначені дефекти блокують реплікацію. Заповнення цих дефектів відбувається в результаті рекомбінації обміну ланцюгів ДНК з непошкоджених ділянок сестринських молекул ДНК. У рекомбінації постреплікативної репарації беруть участь ряд ферментів: ДНК-полімерази, ДНК-лігаза. Однак є специфічні ферменти рекомбінації, основна задача яких полягає у сприянні переносу ланцюгів ДНК між гомологічними двотяжовими ділянками макромолекул [6].

Основними способами репараційних процесів є:

- безпосереднє виправлення модифікацій або неправильних спарувань, яке не вимагає реплікації для відновлення нативної структури ДНК;
- видалення нуклеотидів, що оточують помилково спарені або змінені пари основ, і ресинтез даної ділянки шляхом реплікації;
- репарація шляхом прямого відновлення нативної структури [17].

Система корекції помилок реплікації – це важливий механізм репарації, який визначає частоту спонтанного мутагенезу. У результаті помилок при дії ДНК-полімерази, а також при рекомбінації в знову синтезованих ланцюгах ДНК з'являються некомплементарні залишки нуклеозидів: замість канонічних пар G-C і A-T у ДНК з'являються пари G-G, A-A, A-C, G-T (G, A, C і T- відповідні залишки гуанозину, аденозину, цитидину та тимідину) тощо, вони локально викривляють подвійну спіраль макромолекули. Так як подібний локальний дефект симетричний відносно обох ланцюгів, то виникає додаткова складність, яка заключається в необхідності видалити з ДНК дефект і вирізати «неправильний» нуклеозид зі знову синтезованого ланцюга, залишаючи вихідний ланцюг інтактним [17, 18].

Особливе місце серед клітинних систем, які репарують, посідає «помилкова» репарація. У бактерії *E. coli* ферменти цієї системи синтезуються тільки у відповідь впливу на клітину ДНК-пошкоджуючих агентів, наприклад, УФ-випромінювання, тому дану систему репарації іноді називають SOS-системою. Основна задача такої системи полягає в модифікуванні ДНК-полімерази й пошкоджені ділянки ДНК таким чином, щоб не блокувати дії ДНК-полімерази. Система SOS-репарації відіграє важливу роль, так як завдяки їй з'являється можливість зберегти генетичну інформацію при попаданні організмів в умови, при яких значно підвищується частота мутацій [14, 20]. У таблиці наведено основні типи пошкоджень ДНК із зазначенням пошкоджуючих агентів, механізму репарації та наслідків.

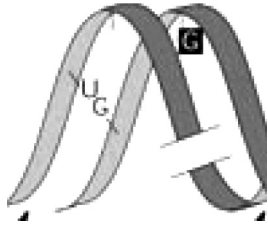
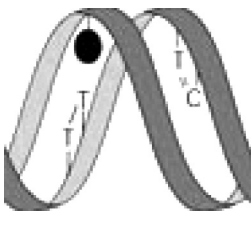
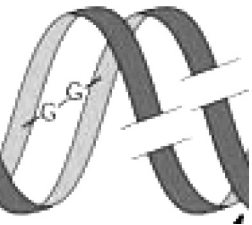
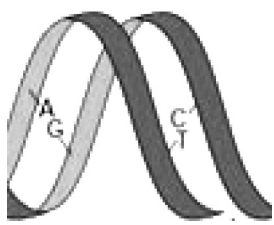
Поліморфізм генів репарації ДНК

Сьогодні динамічно розвиваються молекулярно-генетичні методи, які дозволяють виявляти етнічні особливості на молекулярному рівні [14–16, 24]. Індивідуальний набір поліморфних варіантів генів здатний чинити суттєвий вплив на адаптаційні можливості організму. У зв'язку з цим активно вивчається вклад генів репарації ДНК у формування індивідуальної чутливості геному до пошкоджуючих мутагенних впливів. Уже відомі близько 150 генів, які беруть участь у різних механізмах репарації [16, 18, 22, 25–29, 32].

Вважають, що більшість пошкоджень ДНК (70 %) видаляється білками ексцизійної репарації основ (BER), тому сьогодні найвивченішою є група генів,

Таблиця

Пошкодження ДНК, механізми репарації та наслідки

Пошкоджуючий агент			
↓	↓	↓	↓
Рентгенівські промені; кисневі радикали; алкілюючі агенти; спонтанні реакції	УФ промені; поліциклічні ароматичні гідрокарбони	Рентгенівські промені; протиопухлинні агенти (<i>cis</i> РТ, ММС)	Помилки реплікації
			
Урацил втраченої основи ланцюга 8-оксогуаніну перериває одну нитку ДНК	(6-4) РР громіздкі аддукти CPD	Міжниткові пересічення ланцюга; подвійні розриви	A-G невідповідність; T-C невідповідність; вставки; делеції
↓	↓	↓	↓
Екцизійна репарація основ base-excision repair (BER)	Екцизійна репарація нуклеотидів nucleotide excision repair (NER)	Рекомбінаційна репарація Double-strand break repair (DSBR) 1. Гомологічні рекомбінації (HR); 2. Негомологічні кінцеві приєднання (NHEJ).	Репарація невідповідностей mismatch repair (MMR)
Процес репарації			
Ген репарації			
<i>XRCC₁</i> <i>RR</i> <i>XRCC₃</i> <i>hOGG1</i> <i>ADPRT</i>	<i>XPD</i> <i>XPF</i> <i>XPG</i> <i>ERCC₁</i>	<i>ATM</i> <i>XRCC7</i>	<i>hMSH2</i> <i>hMLH1</i>

які кодують ферменти BER. Серед них особливої уваги заслуговують: hOGG₁, ADPRT и XRCC₁ [15, 17, 22, 26–29].

Ген XRCC₁ (x-ray cross-complementing group 1) кодує регуляторний білок репарації, який не має ферментативної активності, але здійснює координаційну функцію. XRCC₁ взаємодіє з полі-АДФ-полімеразою, ДНК-лігазою 3, ДНК-полімеразою β, APE1 [26, 28, 29]. До числа найвивченіших поліморфізмів гена XRCC₁ відносяться: XRCC₁ (*Arg194Trp*), XRCC₁ (*Arg280His*), XRCC₁ (*Arg399Gln*).

Поліморфізм *Arg399Gln* 10 екзону пов'язаний з його центральним доменом, необхідним для

активації BER. Є відомості, що даний поліморфізм асоційований з ризиком розвитку раку легень [15, 17], однак, аналіз літературних джерел показав достатньо суперечливі результати асоціації *Arg399Gln* поліморфізму з раком легень [15, 30]. Стосовно поліморфізмів *Arg194Trp* і *Arg280His* не було виявлено зв'язку з ризиком виникнення раку легень для європейців [15, 22, 32]. Англійські вчені провели дослідження поліморфізму XRCC₁ *Arg399Gln* та поліморфізму *Arg194Trp* методом випадок-контроль. Їхні результати показали, що певні кодони XRCC₁ 399 і 194 можуть негативно впливати на схильність до раку легень [30, 32].

Ген *hOGG₁* (human 8-oxoguanine DNA glycosylase) кодує ключовий фермент BER, який видаляє з ДНК залишки 8-оксогуаніну, що утворюється під впливом активних форм кисню. Один із поліморфізмів гена *hOGG₁* призводить до заміни Ser на Cys у 326 положенні, він асоційований зі зниженою активністю ферменту 8-оксогуанін-ДНК-глікозилази [31].

Ген *ADPRT* (adenosine diphosphate ribosyl transferase) кодує асоційований з хроматином фермент полі-АДФ-рибозилполімерази (PARP). Даний фермент залучений у реакції репарації ДНК, яка була пошкоджена хімічними мутагенами, активними формами кисню та ІВ. Алель гена *ADPRT*, який несе трансверсію T→C у 40 676 положенні, що призводить до амінокислотної заміни *Val762Ala* у білку, який її кодує, асоційований з пониженою здатністю зв'язувати XRCC₁ та інші білки репарації, за рахунок зниженої функціональної активності ферменту [29, 31].

Фермент XPD має хеліказну та транскрипційну активності й є ключовим білком ексцизійної репарації нуклеотидів, який впізнає й виправляє зшивки основ (піримідинові димери, громіздкі аддукти ДНК, внутрішньоланцюгові зшивки ДНК тощо), які утворюються після УФ-опромінення або оксидативного стресу. Сайт *Lys751Gln (T2251G)* знаходиться в С термінальному домені XPD — це місце взаємодії з фактором транскрипції — TFIІН комплексом. Заміна лізину на гліцин призводить до конфірмаційних змін, які впливають на взаємодію з іншими компонентами TFIІН комплексу, що й обумовлює зменшену репараційну активність мінорного варіанта зазначеного білка [31].

У процесах репарації двониткових розривів ДНК і рекомбінаційної репарації ДНК вірогідно беруть участь XRCC₃ [18, 28]. Двониткові розриви ДНК — найрозповсюдженіша форма ушкоджень ДНК, яка виникає внаслідок радіаційного впливу. У таких випадках репарація можлива за рахунок двох механізмів: гомологічної репарації (HR — homologous recombination repair) і репарації негомологічних кінців (NHEJ — non homologous end-joining).

Механізм HR складається з 16 білкових компонентів, включаючи XRCC₃. Поліморфізм у 7 екзоні XRCC₃ призводить до заміни амінокислоти в кодоні 241 (*Thr241Met*), який може затронутися функцією ферменту і/або взаємодію з іншими білками, залученими в репарацію пошкоджень ДНК [27].

У багатьох літературних джерелах йдеться про значне зниження ризику розвитку раку легень в європейській популяції для носіїв поліморфізму XRCC₃ *T241M*. Однак дослідження даного поліморфізму, які були проведені в азіатських популяціях, не виявили достовірної асоціації між XRCC₃ *T241M* і розвитком раку легень. Припустимо, що неузгодженість даних результатів може лежати в основі різноманітностей в етнічній приналежності, способі життя і розповсюдженості хвороби [24, 25, 30].

Заключення

Отже, репарація є обов'язковою умовою нормального функціонування організму. Підпадаючи під щоденну загрозу пошкоджень і мутацій ДНК, багатоклітинна структура має прилаштуватись і вижити. Це відбувається, головним чином, за рахунок налагодженої роботи системи репарації.

Дослідження основних механізмів дії токсичних сполук на живі системи допоможе не тільки зрозуміти причини виникнення багатьох хвороб (у тому числі й раку), але й навчитися запобігати їхньому розвитку.

За останні 50 років стало відомо, що пошкодження ДНК асоційовані з неоплазією. Відомо, що хромосомні транслокації, а також окремі точкові мутації здатні призвести до активації онкогену, а інактивація генів онкосупресорів надає можливості неконтрольованого клітинного росту. У зв'язку з цим, для аналізу потенційних канцерогенів розробляються спеціальні тести, за допомогою яких оцінюються пошкодження ДНК.

Сьогодні для виявлення генетичних маркерів ризику розвитку багатьох МФЗ або маркерів підвищеної чутливості організму до певних несприятливих факторів (токсикантів, радіації, інфекційних агентів тощо) необхідно опиратися на точну інформацію з урахуванням популяційних частот генотипів обраних поліморфізмів. Натепер науковці отримали «орієнтовні» дані щодо оцінки популяційних частот генотипів генів репарації ДНК. Також виявлені деякі етноспецифічні особливості в розподілі генотипів поліморфізму генів репарації ДНК. Необхідні подальші популяційні дослідження, які дозволять виявити потенційні асоціації впливів несприятливих екзогенних факторів на порушення системи репарації ДНК.

Література

1. Ахлаков М. К. Адаптационная саморегуляция человека в процессе трудовой деятельности / М. К. Ахлаков, А. С. Гаджиев // Медицина труда и пром. экология. – 1997. – № 5. – С. 21–24.
2. Гуляева Л. Ф. Ферменты биотрансформации ксенобиотиков в химическом канцерогенезе / Л. Ф. Гуляева, В. А. Вавилин, В. В. Ляхович // Аналитический обзор. —Новосибирск : ГПНТБ, 2000. – 90 с.
3. Жестяников В. Д. Репарация ДНК и ее биологическое значение / В. Д. Жестяников. – Ленинград, 1979. – 285 с.
4. Инге-Вечтомов С. Г. Генетика с основами селекции / С. Г. Инге-Вечтомов. – Москва : Высшая школа, 1989. – 592 с.
5. Конев С. В. Фотобиология / С. В. Конев, И. Д. Волоотовский. – Минск : Изд. БГУ, 1979. – 384 с.
6. Конищев А. С. Молекулярная биология / А. С. Конищев, Г. А. Севастьянова. – Москва : Академия, 2003. – ISBN 5-7695-0783-7.
7. Кузьмина Л. П. Биохимические и генетические показатели индивидуальной чувствительности к профессиональным вредностям: Профессиональный риск для здоровья работников (руководство); под ред. Н. Ф. Измерова, Э. Н. Динисова / Л. П. Кузьмина. – Москва : Тривант. – 2003. – С. 329–334.
8. Кундієв Ю. І. Професійна захворюваність в Україні у динаміці довгострокового спостереження / Ю. І. Кундієв, А. М. Нагорна // Укр. журн. з пробл. медицини праці. – 2005. – № 1. – С. 3–11.
9. Мендевитт Х. Генетический контроль иммунного ответа: Связь с предрасположенностью к болезням [Материалы конференции] ; Под ред. Х. Мендевитта, М. Лэнди : пер. с англ. / Х. Мендевитт. – Москва : Медицина, 1977. – 384 с.
10. Самуилов В. Д. Программированная клеточная гибель / В. Д. Самуилов, А. В. Алескин, Е. М. Лагунова // Обзор. Биохимия. – 2000. – Т. 65, вып. 8. – С. 1029–1046.
11. Фролькис В. В. Старение, эволюция и продление жизни / В. В. Фролькис, Х. К. Мурадян. – Киев : Наукова думка, 1992. – 336 с.
12. Влияние производственного микроклимата на темпы биологического старения организма / Ф. М. Шлейфман, И. Д. Ташкер, И. А. Лашук, Л. С. Вялая // Вестник АМН СССР. – 1992. – № 11. – С. 15–18.
13. Claassen C. D. Toxicology. The basic Science of poisons / C. D. Claassen. I. – New York, Chicago, Toronto, London : Sixth Edition, 2001. – 1236 p.
14. Clonfero E. Molecular epidemiology in occupational medicine: methodological features and impact of individual genetic susceptibility / E. Clonfero, G. M. Ferri, S. Pavanello // G Ital Med Lav Ergon. – 2003. – V. 25 (3). – P. 279–84.
15. A novel T-77C polymorphism in DNA repair gene XRCC1 contributes to diminished promoter activity and increased risk of non-small cell lung cancer / Hao B., Miao X., Li Y. [et al.] // Oncogene. – № 25. – 2006. – P. 3613–20.
16. Genetic Polymorphisms in the Hmong Population / W. R. Kiffmeyer, E. Langer, S. M. Davies [et al.] // Cancer. – 2004. – V. 100, № 2. – P. 411–417.
17. Kubota Y. Reconstitution of DNA base excision repair with purified human proteins: Interaction between DNA polymerase beta and the XRCC1 protein / Y. Kubota, R. A. Nash, A. Klungland [et al.] // EMBO J. – 1996. – № 15. – P. 6662–70.
18. Variants in double-strand break repair genes and breast cancer susceptibility / B. Kuschel, A. Auranen, S. McBride [et al.] // Hum Mol Genet. – 2002. – № 11. – P. 1399–440.
19. The Biological Basis of Cancer / R. G. McKinnell, R. E. Parchment, A. O. Perantoni, G. B. – Cambridge University Press, 1998. – 378p.
20. Michael M. Vilenchik. Inverse radiation dose-rate effects on somatic and germ-line mutations and DNA damage rates / M. Michael Vilenchik, Alfred G. Knudson, Jr. // PNAS May 9. – 2000. – V. 97, № 10. – P. 5381–5386.
21. Pavanello S. Individual susceptibility to occupational carcinogens: the evidence from biomonitoring and molecular epidemiology studies / S. Pavanello, E. Clonfero // G Ital Med Lav Ergon. – 2004. – V. 26 (4). – P. 311–21.
22. Interaction between CYP1 A2-T2467DELT polymorphism and smoking in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung / S. Pavanello, F. Bchir, A. Pulliero [et al.] // Lung Cancer. – 2007. – V. 57 (3). – P. 266–72.
23. Robert H. Rice. Biological effects of toxic compounds // H. Rice Robert // Syllabus. University of California, Davis. – 2002. – 150 p.
24. Rodriguez S. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Ascertainment for Mendelian Randomization Studies / S. Rodriguez, T. R. Gaunt, I. N. M. Day // American Journal of Biological Epidemiology. – 2009. – DOI 10.1093/aje/kwn359.
25. Genotype-phenotype relationship between DNA repair gene genetic polymorphisms and DNA repair capacity / A. Shin, K. M. Lee, B. Ahn [et al.] // Asian Pac J. Cancer Prev. – 2008. – № 9. – P. 501–5.
26. DNA Repair Gene XRCC1 Polymorphisms, Smoking, and Bladder Cancer Risk / M. C. Stern, D. M. Umbach, R. M. Lunn [et al.] // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. – 2001. – V. 10. – P. 125–131.
27. Correction of chromosomal instability and sensitivity to diverse mutagens by a cloned cDNA of the XRCC3 DNA repair gene / R. S. Tebbs, Y. Zhao, J. D. Tucker [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. – 1995. – № 92. – P. 6354–8.

28. Thacker J. The XRCC genes: expanding roles in DNA double-strand break repair / J. Thacker, M. Z. Zdzienicka // DNARepair (Amst.). – 2004. – № 3. P. 1081–90.

29. Thompson L. H. XRCC1 keeps DNA from getting stranded / L. H. Thompson, M. G. West // Mutat. Res. – 2000. – P. 1–18.

30. Association between X-ray repair cross complementing group 1 codon 399 and 194 polymorphisms and

lung cancer risk: a meta-analysis / Y. Wang, H. Yang, H. Li [et al.] // Cancer Lett. – 2009. – V. 285. – P. 134–40.

31. Wood R. D. Human DNA repair genes / R. D. Wood, M. Mitchell, T. Lindahl // Mutat. Res. – 2005. – V. 577. – P. 275–283.

32. Polymorphisms of DNA repair genes and risk of non-small cell lung cancer / S. Zienolddiny, D. Campa, H. Lind [et al.] // Carcinogenesis. – 2006. – V. 27, № 3. – P. 560–567.

Андрущенко Т. А., Басанец А. В.

НАРУШЕНИЯ СИСТЕМЫ РЕПАРАЦИИ ДНК У ШАХТЕРОВ, ИНДУЦИРОВАННЫЕ ДЕЙСТВИЕМ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ. СООБЩЕНИЕ 2

ГУ «Институт медицины труда НАМН Украины», г. Киев

Вступление. В статье обсуждаются современные профессиональные факторы шахтеров угольных шахт Украины, которые могут обуславливать экзогенные повреждения ДНК и приводить к повышению частоты мутаций и нарушениям системы репарации ДНК.

Цель исследования. Проанализировать причины экзогенных нарушений системы репарации ДНК.

Материалы и методы исследования. Аналитический обзор научных публикаций выполнен с использованием реферативной базы данных научных библиотек и текстовой базы данных медицинских и биологических публикаций Pub Med.

Результаты. Проведен анализ профессиональных факторов шахтеров, которые могут обуславливать экзогенные повреждения ДНК. Проанализированы разные виды нарушений репарации ДНК, механизмы репарации и их биологическое значение. Приведены наиболее изученные генные полиморфизмы, которые ассоциированы с нарушениями репарации ДНК.

Выводы. Актуальность научного исследования заключается в определении влияния профессиональных факторов на нарушения системы репарации, которые обусловлены индивидуальной склонностью.

Ключевые слова: профессиональные факторы шахтеров, экзогенные повреждения ДНК, системы репарации ДНК

Andrushchenko T. A., Basanets A. V.

DISORDERS OF THE DNA REPAIR SYSTEM IN MINERS, INDUCED BY THE ACTION OF OCCUPATIONAL FACTORS. INFORMATION II

SI «Institute for Occupational Health of the NAMS of Ukraine», Kyiv

Introduction. Actual occupational factors in coal mines in Ukraine, causing exogenous DNA damage in miners, are discussed in the paper, which can result in increasing mutation rates and in the DNA repair system disorders.

Purpose of the study. To analyze causes of exogenous disorders in the DNA repair system.

Materials and methods. An analytical review of scientific publications is made, using abstract databases of scientific libraries and textual databases of medical and biological publications in Pub Med.

Results. An analysis of the effect of occupational factors on miners, which can cause exogenous DNA damage, has been made. Different types of disorders of the DNA repair, repair mechanisms and their biological significance have been considered. The most studied gene polymorphisms, which are associated with disorders of the DNA repair, are mentioned.

Conclusion. The actuality of this scientific study is to determine the influence of occupational factors on disorders of the repair system, depending on individual susceptibility.

Key words: occupational factors, coal miners, exogenous DNA damage, DNA repair system

References

1. Akhlov, M. K., Gadzhiev, A., C. 1997, Adaptive human self-regulation in the process of work activity, Meditsina i prom. ekologiya, no. 5, pp. 21–24 (in Russian).

2. Gulyayeva, L. F., Vavilin, V. A., Lyakhovich, V. A. 2000, Enzymes of xenobiotics biotransformation in chemical carcinogenesis. An analytical review, GPNTB,

Novosibirsk, 90 p. (in Russian).

3. Zhestaynikof, V. D. 1979, DNA repair and its biological significance, 285 p. (in Russian).

4. Inge-Vechtomov, S. G. 1989, Genetics with selection bases, Moscow: Vysshaya shkola, 592 p. (in Russian).

5. Konev, C. V., Volotovskiy, I. D. 1979, Photobiology (2nd ed.), Minsk, 384 p. (in Russian).

6. Konichev, A. S., Sevastyanova, G. A. 2003, *Molecular biology*, Moscow : Akademiya (in Russian).
7. Kuzmina, L. P., Izmerov, N. F., Dinisova, E. N. 2003, *Biochemical and genetic indicators of individual sensitivity to occupational hazards: Occupational risk for workers' health (Manual)*, Moscow : Trovant, pp. 329–334 (in Russian).
8. Kundiev, Y. I., Nahorna, A. M. 2005, "Occupational morbidity in Ukraine in the dynamics of a long-term observation", *Ukr. J. Occup Health*, no. 1. pp. 3–11 (in Ukrainian).
9. Mendevitt, Ch., Lendi, M. 1977, *Genetic control of the immune response: Association with predisposition to diseases (Transl. from English)*, Moscow : Meditsina, 384 p. (in Russian).
10. Samuilov, V. D., Aleskin, A. V., Lagunova, E. M. 2000, *Programmed cell death. A review. Biochemistry*, v. 65, no. 8, pp. 1029–1046 (in Russian).
11. Frolkis, V. V., Muradyan, Kh. K. 1992, *Aging, evolution and life extension*, Kiev: Naukova Dumka, 336 p. (in Russian).
12. Shleifman, F. M., Tashker, I. D., Lashchuk, I. A., Vyalaya, L. S. 1992 "Effect of the work environment on rates of biological aging", *Vestnik of Academy of Medical Sciences of the USSR*, no. 11, pp. 15–18 (in Russian).
13. Claassen, C. D. 2001, *Toxicology. The basic science of poisons (6th edition)*, New York, Chicago, Toronto, London, 1236 p.
14. Clonfero, E., Ferri, G. M., Pavanello, S. 2003, "Molecular epidemiology in occupational medicine: methodological features and impact of individual genetic susceptibility", *G Ital Med Lav Ergon.*, Jul-Sep, v. 25, no. 3, pp. 279–84.
15. Hao, B., Miao, X., Li, Y. [et al.]. 2006, "A novel T-77C polymorphism in DNA repair gene XRCC1 contributes to diminished promoter activity and increased risk of non-small cell lung cancer", *Oncogene*, no. 25, pp. 3613–3620.
16. Kiffmeyer, W. R., Langer, E., Davies, S. M. 2004, "Genetic polymorphisms in the Hmong population", *Cancer*, v. 100, no. 2, pp. 411–417.
17. Kubota, Y., Nash, R. A., Klungland, A. [et al.]. 1996, "Reconstitution of DNA base excision repair with purified human proteins: Interaction between DNA polymerase beta and the XRCC1 protein", *EMBO J.*, no. 15, pp. 6662–6670.
18. Kuschel, B., Auranen, A., McBride, S. [et al.]. 2002, "Variants in double-strand break repair genes and breast cancer susceptibility", *Hum Mol Genet*, no. 11, pp. 1399–440.
19. McKinnell, R. G., Parchment, R. E., Perantoni, A. O., Pierce, G. B. 1998, *The Biological Basis of Cancer*, Cambridge: University Press, pp. 378.
20. Vilenchik, M. M., Knudson, A. G., Jr. 2000, "Inverse radiation dose-rate effects on somatic and germ-line mutations and DNA damage rates", *PNAS* May 9, v. 97, no. 10, pp. 5381–5386.
21. Pavanello, S., Clonfero, E. 2004, "Individual susceptibility to occupational carcinogens: the evidence from biomonitoring and molecular epidemiology studies", *G Ital Med Lav Ergon.*, Oct-Dec., v. 26 (4), pp. 311–21.
22. Pavanello, S., Bchir, F., Pulliero, A. [et al.]. 2007, "Interaction between CYP1 A2-T2467DELTA polymorphism and smoking in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung", *Lung Cancer*, v. 57 (3), pp. 266–72.
23. Rice, R. H. 2002, *Biological effects of toxic compounds. Syllabus: University of California*, 150 p.
24. Rodriguez, S., Gaunt, T. R., Day, I. N. M. 2009, Hardy-Weinberg "Equilibrium Testing of Ascertainment for Mendelian Randomization Studies", *American Journal of Biological Epidemiology*, DOI 10.1093/aje/kwn359.
25. Shin, A., Lee, K. M., Ahn, B. [et al.]. 2008, "Genotype-phenotype relationship between DNA repair gene genetic polymorphisms and DNA repair capacity", *Asian Pac J Cancer Prev.*, no. 9, pp. 501–5.
26. Stern, M. C., Umbach, D. M., Lunn, R. M. 2001, "DNA Repair Gene XRCC1 Polymorphisms, Smoking, and Bladder Cancer Risk", *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, v. 10, pp. 125–131.
27. Tebbs, R. S., Zhao, Y., Tucker, J. D. [et al.]. 1995, "Correction of chromosomal instability and sensitivity to diverse mutagens by a cloned cDNA of the XRCC3 DNA repair gene", *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 92, pp. 6354–6358.
28. Thacker, J., Zdzienicka, M. Z. 2004, "The XRCC genes: expanding roles in DNA double-strand break repair", *DNAREpair (Amst.)*, no. 3, pp. 1081–1090.
29. Thompson, L. H., West, M. G. 2000, "XRCC1 keeps DNA from getting stranded", *Mutat. Res.*, pp. 1–18.
30. Wang, Y., Yang, H., Li, H. [et al.]. 2009, "Association between X-ray repair cross complementing group 1 codon 399 and 194 polymorphisms and lung cancer risk: a meta-analysis", *Cancer Lett.*, v. 285, pp. 134–40.
31. Wood, R. D., Mitchell, M., Lindahl, T. 2005, "Human DNA repair genes", *Mutat. Res.*, v. 577, pp. 275–283.
32. Zienolddiny, S., Campa, D., Lind, H. 2006, "Polymorphisms of DNA repair genes and risk of non-small cell lung cancer", *Carcinogenesis*, v. 27, no. 3, pp. 560–567.

Надійшла: 15 вересня 2015 р.

Контактна особа: Андрущенко Т. А., ДУ «Інститут медицини праці НАМН України», буд. 75, вул. Саксаганського, м. Київ, 01033. Тел.: + 38 0 50 312 48 14.