

**ТРАХТЕНБЕРГ**

**Ісаак Михайлович** — член-кореспондент НАН України, академік НАМН України, доктор медичних наук, професор, завідувач лабораторії ДУ «Інститут медицини праці Національної академії медичних наук України»

**ЛЕВИЦЬКИЙ**

**Євген Леонідович** — доктор біологічних наук, провідний науковий співробітник Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

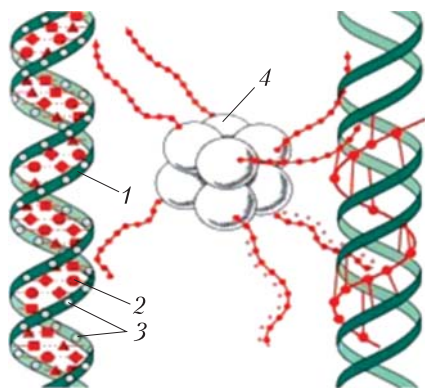
## ГЕНОТОКСИЧНА ДІЯ ПОТЕНЦІЙНО НЕБЕЗПЕЧНИХ ХІМІЧНИХ СПОЛУК

*В огляді наведено основні відомості про структурно-функціональну організацію ядерного хроматину, що є мішенню генотоксичної дії потенційно небезпечних для людини хімічних речовин: органічних розчинників, пестицидів, промислових отрут. На прикладі цих токсичних речовин розглянуто молекулярні механізми їх геномоушкоджуючої дії. Особливу увагу приділено вільнорадикальним механізмам токсичного ураження ядерного геному за дії небезпечних хімічних речовин. Зроблено висновок про особливу роль ДНК та гістонових протейнів ядерного хроматину в механізмах розвитку генотоксичності, процесів репарації пошкоджень цих основних структур, а також доцільність використання антиоксидантів-генопротекторів як засобів фармакологічного захисту ядерного геному в умовах хімічного ураження.*

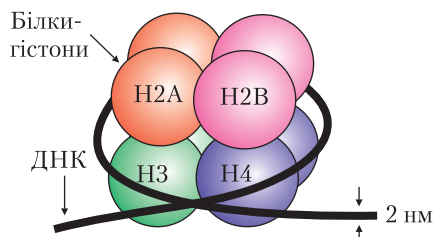
**Ключові слова:** ядерний хроматин, генотоксичні речовини, хімічні ушкодження, антиоксиданти-генопротектори.

### Вступ

Сьогодні, в умовах хімічного забруднення екологічного середовища людини продуктами її життєдіяльності, особливо важливими є дослідження молекулярних механізмів хімічного ушкодження апарату спадковості та мінливості клітини, а також пошук шляхів корекції подібних уражень. Завдяки новітнім досягненням біологічної науки багато в чому стає зрозумілою винятково важлива роль спадкового матеріалу (ядерного хроматину), матеріальним носієм генетичної програми якого є дезоксирибонуклеїнова кислота (ДНК), у процесах функціонування організму людини у нормі та при патології. Нині стає зрозумілим, наскільки виняткове значення має ядерний геном у розвитку таких патологічних станів, як серцево-судинні захворювання, онкогенез, класичні спадкові хвороби, старіння та багато інших [1–3]. Це зумовлено центральним місцем, яке займає ядерна ДНК у реакціях клітинного метаболізму. Всі без винятку біохімічні реакції в організмі відбуваються за участі природних каталізаторів пептидної природи — ензимів, програма синтезу яких записана в ядерній ДНК. Тому зрозумі-



**Рис. 1.** Загальна схема молекулярної будови ядерного геному (хроматину): 1 – подвійна спіраль ДНК; 2 – пари азотистих основ; 3 – фосфатні групи; 4 – група з білкових молекул



**Рис. 2.** Основні структурні компоненти ядерного геному (хроматину)

ло, що ушкодження цієї біосубстанції одразу спричиняє появу цілої низки хвороб.

В Україні, яка в колишньому СРСР виконувала роль військово-промислового придатка, завжди були величезні скупчення потенційно небезпечних токсичних речовин: промислових відходів, шкідливих викидів, мінеральних добрив, пестицидів тощо. Ситуація значно ускладнилася після аварії на Чорнобильській АЕС – до токсичних хімічних речовин додалися ще й небезпечні радіоактивні сполуки. Переважна більшість цих речовин за певних умов здатні ушкоджувати ядерний геном, тобто бути генотоксичними. На цьому тлі стає зрозумілою винятково важлива роль установ НАН України і НАМН України у проведенні досліджень молекулярних механізмів генотоксичної дії потенційно небезпечних хімічних

сполук, що є основними екзоабруднювачами. Надзвичайно важливим є також пошук засобів запобігання (профілактики) і лікування подібних хімічних генетичних уражень за допомогою відомих лікарських препаратів та біологічно активних речовин, що потенційно можуть стати такими. Ці речовини далі ми називатимемо *генопротекторами*.

У цьому огляді ми наведемо основні відомості про сучасний стан досліджень механізмів генотоксичної дії потенційно небезпечних хімічних сполук та окреслимо основні шляхи фармакологічної корекції зумовлених ними уражень. В основу статті покладено як результати власних експериментальних досліджень (детальніше див. [1]), так і дані найбільш значущих аналогічних дослідів, описаних у науковій літературі.

Як об'єкт аналізу генотоксикантів було обрано чотирихлористий вуглець (тетрахлоретан), хлорофос, а також низку важких металів зі встановленим генотоксичним механізмом дії (кадмій, ртуть). Основний акцент зроблено на аналізі вільнорадикальної природи механізмів генотоксичності, в результаті яких розвиваються пошкодження ядерного хроматину. Коротко описано сучасні підходи до пошуку засобів фармакологічної корекції генотоксичних пошкоджень ядерного хроматину за допомогою фармакологічних препаратів і біологічно активних речовин антиоксидантного механізму дії. Однак спочатку варто зупинитися на сучасних уявленнях про структурно-функціональну організацію ядерного хроматину.

### Сучасні уявлення про молекулярну структуру ядерного хроматину як мішені ушкоджуючої дії генотоксикантів

Основними структурними компонентами ядерного хроматину є ДНК і протеїни (гістони й негістони). На рис. 1 і 2 наведено схему будови хроматину із зазначенням його основних компонентів. На рис. 3–5 показано основні принципи укладки компонентів хроматину у надмакромолекулярну структуру.

Матеріальний субстрат спадкової інформації — ДНК є її носієм, а також мішенню дії ендо- і екзогенних (епігенетичних) сигналів, дія яких призводить до зміни її структури (мінливості), внаслідок чого відбуваються мутації. До таких епігенетичних факторів належать і хімічні отрути, дія яких на ядерний геном може спричинювати появу оборотних (таких, що репаруються) і необоротних (що не репаруються) змін первинної структури ДНК (зокрема, мутацій).

Основні компоненти хроматину поділяються на *основні* — ДНК, протеїни (гістонові й негістонові) і *мінорні* — ліпіди, РНК, незначні кількості металів (насамперед залізо) та деякі інші. Детальну характеристику компонентів хроматину, що визначають його структуру і є мішенню токсичної дії токсикантів, наведено у роботах [1, 4].

Протеїни хроматину є важливими компонентами системи регуляції його активності. Відомо, що процеси реплікації, транскрипції і репарації ДНК відбуваються більш інтенсивно в транскрипційно активному хроматині (ТАХ) порівняно з неактивним (мовчазним) хроматином (РХ) [5]. Відомо також, що ТАХ відрізняється від РХ багатшим якісним і кількісним складом негістонових протеїнів, але, разом з тим, саме гістонам належить основна роль у регуляції активності хроматину. Це й зрозуміло, адже саме вони визначають упаковку і ступінь компактності хроматину [6].

Отже, основою функціонування хроматину є його поділ на активний і репресований хроматин. У роботі [7] ми охарактеризували ці фракції хроматину в умовах застосованого нами методу екстракції хроматину і показали важливість відмінностей їх біохімічних характеристик для реалізації токсичної дії токсикантів та фармпрепаратів-генопротекторів. У результаті цих досліджень було встановлено, що фракції ТАХ і РХ істотно різняться за своїми біохімічними характеристиками. Перша має підвищений вміст негістонових протеїнів, ліпідів, деяких регуляторних елементів, у тому числі біометалів та ензимів, а друга — гістонів. Це й зрозуміло, враховуючи сучасні дані

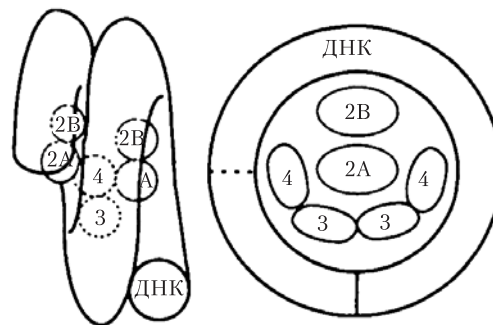


Рис. 3. Схема розміщення ДНК і гістонів у нуклеосомі — основній структурній одиниці хроматину

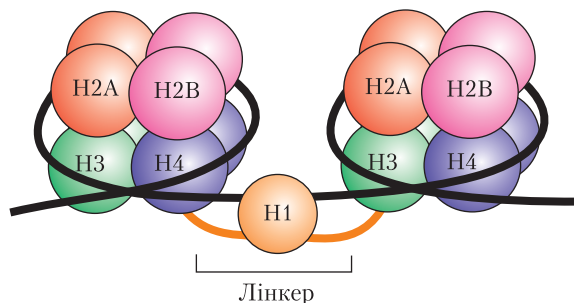


Рис. 4. Роль гістонових протеїнів в організації структури хроматину

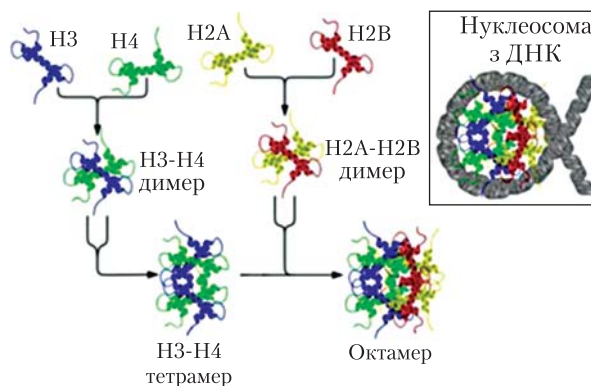


Рис. 5. Будова нуклеосоми

про вплив ступеня конденсації хроматину на ступінь експресії генів, зумовленої відмінностями в конформаційних характеристиках цих фракцій, і вплив на цей процес гістонових протеїнів.

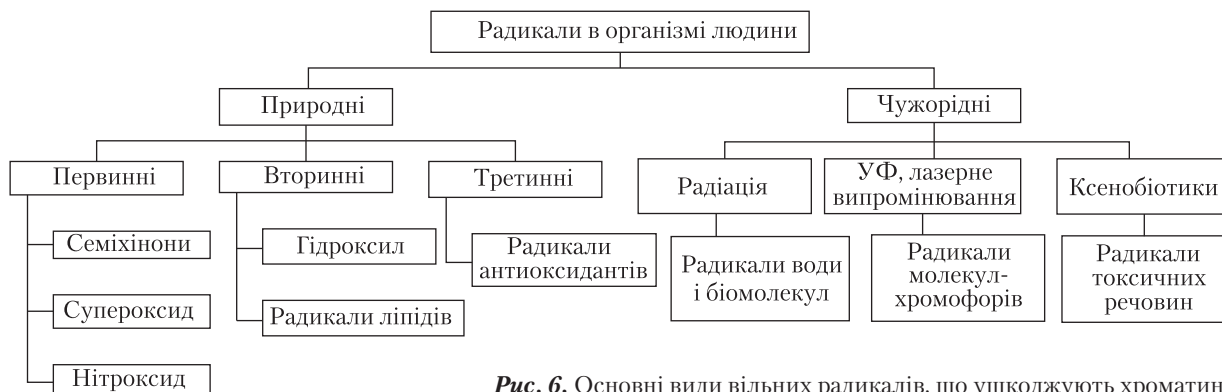


Рис. 6. Основні види вільних радикалів, що ушкоджують хроматин

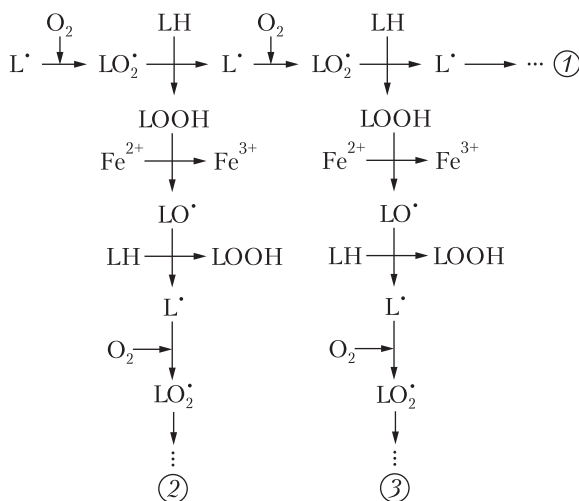


Рис. 7. Ланцюгова реакція пероксидного окиснення ліпідів: 1 – старий; 2, 3 – нові ланцюги окиснення

Досить важливим є вміст у структурі хроматину порівняно невеликої кількості ліпідів [5]. Вони є мішенню ушкоджуючої дії вільних радикалів, що утворюються в організмі у процесі його функціонування (рис. 6). Свого часу ми детально описали та охарактеризували низку реакцій пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), що функціонує у фракціях хроматину (рис. 7) [8]. Було встановлено, що зміна інтенсивності цих реакцій є відповідальною за механізми його хімічного ураження та мішенню дії засобів фармакологічного захисту.

### Приклади генотоксичної дії деяких потенційно небезпечних хімічних речовин

**Тетрахлорметан (ТХМ).** У наших попередніх дослідженнях генотоксичності ТХМ, проведених у відділі біохімічної фармакології Інституту фармакології і токсикології НАМН України під керівництвом члена-кореспондента НАМН України Ю.І. Губського [9], було показано, що хімічне ушкодження печінки ТХМ, який активує ПОЛ у біомембранах, викликає певні порушення процесів реплікації і транскрипції ДНК в гепатоцитах. З іншого боку, є дані [10], що інтоксикація цим ксенобіотиком супроводжується підвищенням загальної мітотичної активності клітин печінки, що може бути пов'язано як з прямою дією ТХМ на генетичний апарат клітини, так і зі змінами в системах біохімічної регуляції функціонування хроматину. У роботі [11] було показано, що одним з механізмів регуляції активності ядерного геному може бути модифікація реакцій ПОЛ у фракціях РХ і ТАХ. Оскільки <sup>14</sup>С-метаболіти міченого ТХМ здатні до ковалентного зв'язування з ДНК і ядерними протеїнами печінки щурів і мишей [8, 12], не виключено припущення про пряму дію цього ксенобіотика на функціональну активність хроматину, що не пов'язана з його токсичною дією на клітинні біомембрани і метаболізмом внутрішньоклітинних регуляторів.



У наших роботах було підтверджено молекулярні вільнорадикальні механізми ушкодження ядерного геному ТХМ. Ушкоджуючі ефекти цієї отрути пов'язані з високою спорідненістю до транскрипційно активної фракції хроматину з наступною деструкцією її ДНК. У результаті пошкодження щільність цієї фракції була вищою порівняно з контролем, що було доведено збільшеною стійкістю до гідролізу ендogenous нуклеазами. Водночас у цій фракції при інтоксикації збільшувався вміст одониткових структур ДНК, збагачених протеїнами.

У фракції ТАХ було виявлено протилежні властивості відносно ензиматичної чутливості: збільшення щільності хроматину супроводжувалося нечутливістю до S1-нуклеаз після денатурації хроматину і незначною релаксацією суперспіральних структур зі зростанням кількості сайтів, чутливих до короткочасної обробки ДНКазою I. Було постульовано, що така неоднозначна структурна перебудова активної фракції хроматину викликана вільнорадикальними пошкодженнями, зумовленими інтенсифікацією реакцій хроматинзв'язаних ліпідів.

Надалі в роботах інших авторів було підтверджено і глибше вивчено генотоксичні механізми дії цього генотоксиканту [2] і показано провідну роль активації вільнорадикальних реакцій у хроматині.

**Хлорофос (ХФ).** Раніше ми на молекулярному рівні показали, що гостре отруєння тварин ХФ у дозі 1 ЛД<sub>50</sub> призводить до вираженої модифікації реакцій ПОЛ у фракціях ядерного хроматину. Спочатку зміни ПОЛ було виявлено у фракції ТАХ. Так, у ній уже через 10 хв після введення отрути спостерігається інтенсифікація НАДФН- і спонтанного ПОЛ. Зі збільшенням часу експозиції з отрутою ступінь модифікації ПОЛ у хроматині зростає. Тепер уже зміни реєструються і у фракції РХ. У цій фракції інтенсивність НАДФН- і аскорбат-залежного ПОЛ вища у отруєних тварин порівняно з контрольними. Модифікація реакцій ПОЛ у фракціях хроматину отруєних тварин призводить до порушення його структурно-функціональної

організації, найбільш вираженого через 24 год після отруєння [13].

Під впливом отрути знижується інтенсивність синтезу ДНК і збільшується транскрипційна активність у ТАХ, що супроводжується збільшенням включення <sup>14</sup>C-лейцину в протеїни РХ. Подібні порушення функціональної активності хроматину під впливом отруєння ХФ добре корелюють зі зміною активності ензимів синтезу ДНК і РНК – ДНК- і РНК-полімераз. Так, у ТАХ через 10 хв після отруєння спостерігається зниження тотальної ДНК-полімеразної активності за рахунок зниження активності реплікативної ДНК-полімерази альфа і репаративної ДНК-полімерази бета.

Збільшення транскрипційної активності ТАХ зумовлене зростанням активності РНК-полімерази I, відповідальної за синтез рибосомальної РНК у хроматині. У РХ через 2 год після введення тваринам отрути виявлено різноспрямовані зміни активності ендogenous РНК-полімераз: збільшення РНК-полімерази I і зниження РНК-полімерази II, у результаті чого сумарна РНК-полімеразна активність у цій фракції хроматину дещо підвищується. Аналогічний взаємозв'язок активації процесів ПОЛ у фракції ядерного хроматину зі зміною в них активності ДНК- і РНК-полімераз було також показано в наших роботах при вивченні вільнорадикальних механізмів при пошкодженні ядерного генетичного апарату клітини хлороганічним генотоксикантом тетрахлорметаном (див. вище). Отримані результати узгоджуються з наведеними вище даними про вплив внутрішньоядерних ліпідів на функціональну активність ядерного геному.

В основі пероксидної модифікації функцій хроматину, викликаній отруєнням ХФ, можуть бути порушення його інтегральних компонентів – ДНК, протеїнів, ліпідів. Особливий інтерес при цьому становлять ушкодження ДНК, що є носієм генетичної інформації. Результати нуклеазного зондування фракцій хроматину екзо- і ендogenous ДНКазами через 24 год після введення отрути експериментальним тваринам свідчать про те, що ДНК обох фракцій хроматину отруєних тварин відрізняється

за чутливістю до розщеплення як ендо-, так і екзогенними нуклеазами порівняно з контролем. Так, у разі отруєння ДНК ТАХ розщеплюється ендогенними нуклеазами хроматину в 1,5 раза менш інтенсивно порівняно з контролем. Менш чутливою виявляється ДНК в умовах перетравлення екзогенними ДНКазими. Короткочасне перетравлювання ДНКазою I за кімнатної температури розщеплює 10,5% ДНК печінки контрольних тварин і не призводить до появи кислоторозчинної радіоактивності ДНК у отруєних. В умовах більш жорсткого перетравлення ДНКазою I ступінь перетравлення ДНК ТАХ збільшується і не відрізняється у отруєних тварин і контрольних. Порівнюючи ці результати, можна дійти висновку, що в цьому випадку подібна компактизація структури ДНК ТАХ в умовах отруєння не має жорстких структурних обмежень і зумовлена, ймовірно, незначною суперспіралізацією нуклеосомної (лінкерної) ДНК, або появою «зшивок» ДНК—протеїн. Таке припущення підтвердилося результатами, отриманими при вивченні розщеплення ДНК ТАХ S1-нуклеазою, що вибірково перетравлює одониткові ділянки ДНК. В умовах отруєння кількість цих ділянок знижується порівняно з контролем як у нативній, так і в денатурованій ДНК. Якщо в першому випадку фактор спіралізації може робити свій внесок у підвищення стійкості ДНК ТАХ отруєних тварин до ензиму, то в умовах денатурації, що призводить до зникнення вторинної структури, має значення тільки кількість «зшивок» ДНК—протеїн. І все ж таки, у компактизації структури ДНК ТАХ отруєних тварин, можливо, беруть участь обидва ці фактори, про що свідчить менша відмінність у стійкості до розщеплення S1-нуклеазою між контрольними і дослідними зразками в умовах денатурації і без неї (4,4 і 5,3 раза відповідно), хоча внесок збільшення суперспіралізації в цей процес виявляється незначним. Що стосується фракції РХ, то, навпаки, отруєння тварин ХФ призводить до релаксації структури ДНК цієї фракції. Причому тут, по-перше, відмінності між контрольною та дослідною групами тварин не настільки очевидні, як у випадку ТАХ,

а по-друге, вони, ймовірно, зумовлені ослабленням ДНК-протеїнових контактів (оскільки відмінності в чутливості до S1-нуклеази проявляються тільки в умовах денатурації). Під дією ХФ в РХ збільшується кількість як двоспіральної ДНК (вільної від зв'язку з протеїнами), так і потенційно односпіральних ділянок (що з'являються в умовах денатурації), які в інтактному хроматині недоступні для дії ензиму, зважаючи на наявність структурних обмежень, зумовлених збільшенням ступеня спіралізації.

Структурна компактизація ДНК у складі ТАХ і релаксація у складі РХ при отруєнні тварин ХФ були підтверджені результатами флуоресцентного зондування цих фракцій хроматину бромистим етидієм. Отруєння тварин ХФ призводить до зміни фізико-хімічних властивостей протеїнів хроматину і ліпідів, при цьому більш значні структурні порушення спостерігаються у складі ТАХ. Підтвердженням припущення, що не сам ХФ, а його активні метаболіти спричинюють пошкодження ядерного хроматину клітин-мішеней в умовах *in vivo*, є результати експериментів, у яких ХФ додавали безпосередньо до ізольованих фракцій РХ і ТАХ, а також дані дослідження взаємодії отрути з модельними системами. Вони свідчать про незначні або різноспрямовані зміни показників, що характеризують структурно-функціональну організацію ядерного геному в умовах *in vivo* та *in vitro*.

Результати експериментальних досліджень та дані літератури, які свідчать про генотоксичну дію продуктів ПОЛ, дозволяють дійти висновку про провідну роль модифікації цих реакцій хроматин-зв'язаних ліпідів у молекулярних механізмах генотоксичної дії ХФ.

Отже, доказом вільнорадикальних механізмів пошкодження хроматину при отруєнні тварин ХФ є такі факти. Зміна інтенсивності процесів ПОЛ у фракціях ядерного хроматину збігається з появою порушень його структурно-функціональної організації. Генотоксична дія ХФ більш виражена у фракції ТАХ порівняно з РХ і прямо пропорційна модифікації реакцій ПОЛ у цих фракціях. Отримані дані свідчать,

що генотоксична компонента при отруєнні ФОС відіграє значну роль у токсичному процесі і зумовлена вільнорадикальними механізмами пошкодження хроматину.

**Важкі метали.** Серед різноманітних забруднюючих речовин важкі метали (Hg, Pb, Cd, Zn та ін.) та їх сполуки вирізняються поширеністю, високою токсичністю, а багато з них — також здатністю до накопичення в живих організмах. Їх широко застосовують у різних промислових виробництвах, тому, попри очисні заходи, вміст сполук важких металів у промислових стічних водах досить високий. Вони також потрапляють у навколишнє середовище з побутовими стоками, з димом і пилом промислових підприємств. Багато металів утворюють стійкі органічні сполуки, хороша розчинність цих комплексів сприяє міграції важких металів у природних водах. До важких металів відносять понад 40 хімічних елементів, але за токсичністю, стійкістю, здатністю накопичуватися в зовнішньому середовищі і масштабами поширення токсичних сполук контролю потребують приблизно вчетверо менше число елементів. Автор однієї з дисертаційних робіт [14], присвячених вивченню генотоксичних механізмів дії важких металів на біооб'єкти, дає таке визначення ролі важких металів у токсичному забрудненні навколишнього середовища і їх ролі в організмі: «Сучасні галузі металургійної та металообробної промисловості забруднюють навколишнє середовище практично всіма відомими металами. Багато з них мають мутагенну, канцерогенну та тератогенну активність. У зв'язку з цим проблеми забруднення навколишнього середовища важкими металами та модифікування їх шкідливих впливів іншими техногенними поллютантами набувають широкомасштабного характеру. Зазначені вище негативні ефекти важких металів активно досліджували, особливо з точки зору небезпеки для людини. Разом з тим, велика кількість соціологічних і еволюційних проблем техногенного забруднення навколишнього середовища важкими металами залишаються невивченими. Багато важких металів у малих кількостях необхідні організмам, оскільки вхо-

дять до складу різних поліпептидів (у тому числі ензимів), полінуклеотидів та сполук деяких інших класів. Надходження в організм деяких важких металів (Cd, Zn, Hg, Cu, Hg, Au) супроводжується інтенсивним синтезом особливих протеїнів металотіонеїнів — поліфункціональних протеїнів, які відіграють певну роль у трансмембранному перенесенні, а також зниженні токсичних властивостей важких металів. Відомо, що метаболізм мікроелементів перебуває під генетичним контролем. У лабораторних тварин відомі мутації, що порушують транспорт магнію, заліза, кобальту, хрому, селену, молібдену та кадмію».

Далі ми розглянемо докази генотоксичного потенціалу деяких важких металів, які широко використовують у виробничих процесах, і таких, що є екологічними поллютантами.

### Кадмій

Метал змінної валентності, який протягом багатьох років використовують у промисловості та сільському господарстві, насамперед для виготовлення матеріалів для електродів у нікель-кадмієвих батареях, барвників для пластмас, керамік і скла, стабілізаторів полівінілхлориду для тепло- і світлоізоляції, покриттів для сталі та деяких кольорових металів, як компонент деяких спеціалізованих сплавів [15], а також для перетворення сонячної енергії на електричну. Сульфід кадмію має фотопровідні та електролюмінесцентні властивості, що застосовують у виробництві різних товарів народного споживання. Широке використання кадмію призвело до інтенсивного забруднення навколишнього середовища [16], і тому вивчення його токсичної дії на живі організми є вкрай актуальним завданням.

Кадмій та його солі характеризуються полівалентною токсичною дією залежно від способу експозиції і проникнення в організм. У літературі описані різноманітні токсичні ефекти Cd, зокрема його дія на нирки, нервову, серцево-судинну системи, легені, кров і шлунково-кишковий тракт. Є дані, що стосуються канцерогенної і тератогенної дії цього

токсиканту [17]. Гостра і хронічна інгаляційна або пероральна експозиція з Cd викликає пошкодження проксимальних каналців клітинних мембран, спричинюючи реабсорбцію фосфатів, глюкози, амінокислот і протеїну-рїю із залученням низькомолекулярних протеїнів, особливо  $\beta_2$ -мікроглобуліну та деяких ензимів. Було вивчено токсичний вплив іонів Cd на клітини печінки і виявлено неспецифічні реакції, що свідчать про гепатотоксичний ефект (наприклад, збільшення концентрації гамма-глобуліну в сироватці крові, позитивна реакція Таката, підвищені показники тимолу) у робітників, що зазнавали впливу солей Cd. У щурів, підданих інгаляційній експозиції кадмієм у концентрації  $0,1 \text{ мг/м}^3$  протягом 30 днів, було виявлено підвищення активності АЛТ, яке свідчить про пошкодження печінки.

У загальних і біохімічних дослідженнях впливу кадмію на клітини печінки експериментальних тварин спостерігалось збільшення маси цього органа при інтоксикації. Виявленими неспецифічними гістопатологічними індикаторами, що свідчать про гепатотоксичність кадмію, є інтралобулярний фіброз, цироз, наявність фокальних мононуклеарних інфільтратів, а також проліферація гладкого ЕПР. Крім того, що важливо в цьому випадку, було виявлено різкі зміни ліпідного складу і реакцій ПОЛ у клітинах печінки. Як один з механізмів кардіотоксичного ефекту кадмію було запропоновано зниження активності антиоксидантних ензимів, особливо глутатіонпероксидази і супероксиддисмутази. Було показано, що кадмій здатний змінювати метаболізм іонів Zn, Fe і Cu, які є важливими кофакторами антиоксидантних ензимів та інших біологічно активних речовин (БАР), а також селену. Автори роботи [18] припустили, що початковим етапом Cd-індукованої токсичності є його інтерференція з Zn-протеїновими комплексами, які контролюють транскрипцію ДНК, що згодом веде до стимуляції апоптозу. Подальша експозиція з металотіонеїном (або синтетичним хелатором у попередній роботі) запобігала порушенням Zn-залежного контролю транскрипції, спричиненим інтоксикацією іонами Cd. Ґрунтуючись

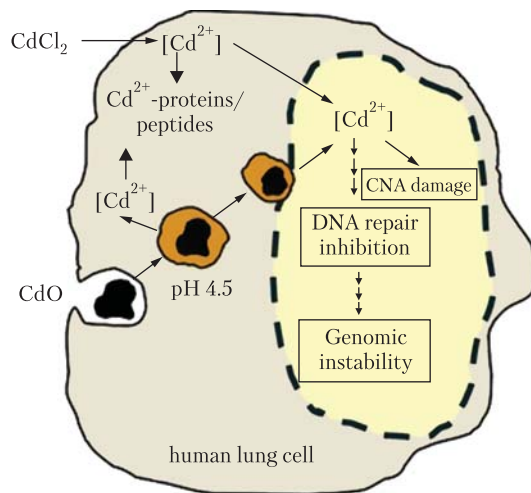
на цих даних, можна припустити, що кадмій (особливо його хлорид) є одним з найнебезпечніших важких металів, токсичні ефекти яких було підтверджено в численних дослідженнях. Однак тонкі біохімічні механізми, зокрема його генотоксична активність, залишалися ще не з'ясованими.

У нашому попередньому дослідженні [19] ми запропонували експериментально обґрунтовану гіпотезу щодо цих механізмів генотоксичної дії іонів Cd, ключову роль у якій відіграє участь активних форм кисню (його вільних радикалів), що індукує модифікацію реакцій ПОЛ та викликає пошкодження життєво важливих біомолекул, що веде до пошкодження гепатоцитів, передусім до порушення функціонування їх ядерного хроматину. Було показано, що в результаті введення тваринам хлориду кадмію в дозі  $5 \text{ мг/кг}$  маси тіла за 24 год до декапітації достовірно змінюється частка РХ і ТАХ, знижується частка фракції активного хроматину. Однак у цій фракції хроматину підвищується співвідношення протеїн/ДНК, що може бути наслідком збільшення протеїнів у фракції. Ми припустили, що причиною такої структурної модифікації може бути зміна інтенсивності перебігу реакцій ПОЛ у фракціях. Дійсно, у фракції ТАХ під впливом інтоксикації стимулюються реакції НАДФН-залежного ПОЛ. Інші показники спонтанного (оцінюваного за вмістом дієнових кон'югатів) та індукованого ПОЛ достовірно не змінюються. У фракції РХ інтоксикація, навпаки, призводить до зниження індукованого НАДФН і спонтанного ПОЛ. У цьому випадку різний вплив  $\text{CdCl}_2$  на реакції ПОЛ у фракціях хроматину може бути пов'язаний з відмінностями в їхній структурі та жирнокислотному складі їх ліпідів.

Під впливом отрути певною мірою змінюється функціональна активність фракціонованого хроматину печінки. У РХ достовірно знижується ензиматична активність фракції, збагаченої РНК-полімеразою I. У фракції ТАХ введення токсиканту зумовлює зниження тотальної ДНК-полімеразної активності внаслідок зменшення активності реплікативної ДНК-полімерази альфа. Зниження інтенсив-



ності синтезу ДНК під впливом  $\text{CdCl}_2$  спостерігали також і інші автори. Раніше ми встановили обернено пропорційну залежність між синтезом ДНК та інтенсивністю реакцій ПОЛ у фракціях РХ і ТАХ. Можна припустити, що в цьому випадку інтоксикація тварин  $\text{CdCl}_2$  індукує реакції вільнорадикального ПОЛ у РХ та ТАХ, що призводить до спотворення синтезу ДНК внаслідок порушення структурно-функціонального комплексу реплікації ДНК. Так, ми показали, що при введенні тваринам водного розчину  $\text{CdCl}_2$  змінюються біохімічні показники, що характеризують структурну організацію і функціональну активність фракцій хроматину печінки щурів, які відрізняються за рівнем транскрипційної активності. Ми припускали, що в основі генотоксичної дії  $\text{CdCl}_2$  на клітини печінки може бути зміна інтенсивності вільнорадикальних реакцій ПОЛ у хроматині. Надалі це припущення знайшло підтвердження в дослідженнях інших авторів. Так, у роботі [20] такий зв'язок було з достовірністю доведено. Автори оцінювали вплив Cd на тканини печінки курячих ембріонів. Кадмій вводили *in ovo* на 10-й, 11-й і 12-й дні розвитку курячих ембріонів штаму Vobcock у кількостях 40, 50 і 60 мкг на 24, 48 і 72 год. На 13-й день дослідження брали кров і тканину печінки і тестували їх на генотоксичну активність, оцінюючи інтенсивність реакцій ПОЛ. При цьому визначали частоту появи мікроядерців в еритроцитах і кількість аномальних клітин крові. Цей показник зростав зі збільшенням концентрації Cd і часу інтоксикації. У дослідних групах порівняно з контрольними також зростав вміст МДА. Автори роблять висновок, що механізмом генотоксичної дії Cd у цьому випадку є вільнорадикальний. Також вивчали генотоксичну дію Cd на риб *Nile tilapia*. При цьому використовували цитогенетичні та молекулярні методи (поява мікроядерців і метод ДНК-комет). Виявлено, що зі збільшенням часу експозиції з отрутою та її дози зростало число пошкоджених ядер і показник ДНК-комет. Автори вважають, що в цьому випадку пошкодження ДНК кадмієм зумовлене збільшенням під впливом інтоксикації активних



**Рис. 8.** Схема, що постулює молекулярний механізм вільнорадикального оксидативного пошкодження клітин легень людини сполуками кадмію [22]

форм кисню, тобто вільнорадикальними механізмами. Подібні результати було отримано і в роботі [21], автори якої досліджували генотоксичність  $\text{CdCl}_2$  на морському гастроподі *Nerita chamaeleon*, використовуючи методи ДНК-комет і лужного розплітання ДНК — DNA alkaline unwinding assay (DAUA). Виявлені пошкодження ДНК були аналогічні індукованим *in vitro* пероксидом водню, на основі чого автори постулюють вільнорадикальний механізм пошкодження ДНК хлоридом кадмію.

У докладній роботі [22] було всебічно досліджено молекулярні механізми пошкодження кадмієм ДНК клітин людини A549 і Vh10hTert. Автори навіть запропонували схему, що демонструє молекулярні механізми генотоксичної дії оксиду і хлориду кадмію (рис. 8). Дослідники постулюють, що в основі ДНК-ушкоджуючої дії сполук Cd лежить оксидативне ушкодження ДНК клітин, оскільки безпосередня взаємодія отрути з компонентами ядерного геному є малоїмовірною. Було показано, що введення сполук Cd спричинює інгібування репарації ДНК-адуктів, що за своєю природою нагадує оксидативне пошкодження ДНК цією отрутою при канцерогенезі. Автори показали, що механізм пошкодження в цьому випадку пов'язаний зі зміненням кадмі-

ем конформації Zn-зв'язуючого домену супресора пухлини протеїну p53.

В іншій роботі [23] досліджували індуквану CdCl<sub>2</sub> гено- і цитотоксичність в еритроцитах периферичної крові риб *Labeo rohita*, яких піддавали експозиції токсиканту у воді в концентраціях 0,37 і 0,62 мг/л протягом 100 днів. Проби збирали через різні інтервали часу і аналізували на наявність пошкоджень ДНК, використовуючи методи аналізу комет, визначення кількості мікроядерць та інших клітинних аномалій. Результати, отримані при аналізі комет, показали наявність вірогідного підвищення середнього числа (у %) «хвостів» ДНК для всіх концентрацій токсиканту. Кадмій також індукував появу кількох клітинних аномалій, таких як двоядерні, бутоноподібні, лопатеві, зубчасті та вакуолізовані ядра. Серед цитоплазматичних аномалій спостерігали появу ехіноцитів, акантоцитів, мікроцитів і клітин із зубчастоподібною та вакуолізованою цитоплазмою. Усі вивчені показники при інтоксикації кадмієм були вищими порівняно з контролем і залежали від концентрації з піком на 10-й день і зниженням після 15-го дня експозиції.

Отже, іони Cd здатні індукувати утворення активних видів кисню в мітохондріях та інших компартментах клітини. При зниженні активності антиоксидантних ензимів або збільшенні реактивних видів кисню виникають серйозні порушення структури протеїнів, ліпідів і ДНК хроматину. Ці клітинні пошкодження призводять до загибелі клітини і апоптозу [8, 19]. Було доведено, що сигнальна система MAPKs є відповідальною за індукцію апоптозу внаслідок підвищення концентрації активних форм кисню. Експозиція клітин з кадмієм призводить до значного збільшення активних форм кисню через пригнічення антиоксидантних реакцій глутатіону і зв'язування сульфгідрильних груп протеїнів. У більш пізній роботі [18] було показано, що CdCl<sub>2</sub> індукуює апоптоз у різних видах клітин, зокрема остеобластів, в умовах як *in vitro*, так і *in vivo*. Проте донедавна механізми цього процесу залишалися нез'ясованими. У цій роботі автори використо-

ували клітинну лінію остеосаркоми людини MG63, подібну за своїми характеристиками до остеобластів людини, для з'ясування механізмів індукції апоптозу іонами Cd. Вдалося встановити, що короткочасна експозиція клітин з CdCl<sub>2</sub> індукувала в цих клітинах апоптоз. Крім того, в цих умовах концентрацієзалежно збільшувався вміст фосфорильованих протеїнів p38MAPK і знижувався – ERK1/2. Інгібування фосфорилування першого протеїну речовиною SB202190 захищало клітини від Cd-індукованого апоптозу. Інкубація клітин з інгібітором протеїну ERK1/2 – речовиною PD98059 – мала такий самий ефект. Ацетилцистеїн значно знижував вміст реактивних видів кисню і спрямовував дію Cd на MAPK-залежні сигнальні системи. Автори роблять висновок, що Cd індукуює апоптоз у цій клітинній системі через підвищення вмісту реактивних видів кисню, активацію p38MAPK-сигнальної системи та інгібування ERK1/2-залежної.

## Ртуть

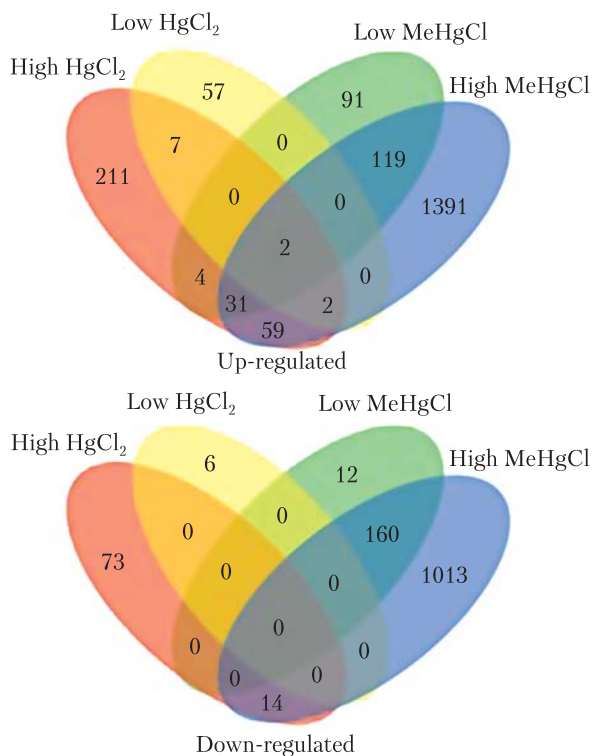
Ще одним небезпечним генотоксикантом, дослідженню механізмів ДНК-ушкоджуючої дії якого було присвячено велику кількість робіт, є ртуть. Цей важкий метал широко застосовують у промисловості. Ґрунтовний огляд механізмів токсичної дії ртуті можна знайти у роботах [1, 24, 25]. Нагадаємо, що ртуть досить поширений екоотоксикант, існує в природі у вигляді неорганічних і органічних сполук, які зазнають комплексної циклізації. Елементарну ртуть тривалий час використовували в стоматології у вигляді амальгами, що призводило до отруєння безпосереднім впливом металу або його парами. Іншими джерелами токсичної дії Hg є підприємства з виробництва хлоралканів, фабрики флуоресцентних ламп, кустарні золоті копальні. Експозиція з парами Hg може спричинювати тремор, зниження швидкості засвоєння інформації та психомоторних реакцій, порушення психіки і прояви, пов'язані з хворобою Альцгеймера. Первинним місцем токсичної дії та накопичення Hg є нирки, тому екологічний вплив ртуті на людину призво-

дить до збільшення летальності внаслідок захворювань нирок.

**Мутагенність ртуті.** Ртуть є одним з найсильніших мутагенів серед важких металів. Хлорид ртуті у дозах  $10^{-8}$ – $10^{-5}$  М викликає дозозалежне збільшення рівня розривів одониткових ДНК вірусу вісповакцини в культурі щурячих фібробластів, що майже повністю репаруються після 24 год інкубації.  $\text{HgCl}_2$  не проявляє мутагенної активності в тесті дрібнобляшкових варіантів вірусу вісповакцини при одноразовому впливі. У *E. coli* транспозон Tn 501 кодує систему перетворення іонів Hg на металеву ртуть, яка менш токсична. Гени *merT* і *merP* з цієї системи кодують транспортний протеїн і редуктазу відповідно. За відсутності гена *merT* клітини чутливі до іонів Hg, а за відсутності гена *merP* – характеризуються гіперчутливістю до них.  $\text{HgCl}_2$  інгібував мітотичну генну конверсію у дріжджів, що, можливо, пов'язано з інгібуванням ензимів репарації передмутаційних пошкоджень. Хлорид ртуті у концентрації 0,05 і 0,1%, хлорид етилртуті (0,01–2,5%) і ацетат фенілртуті (0,01–1,0%) спричиняють розриви хромосом, хроматидні обміни, утворення кілець, підвищують частоту поліплоїдних і двоядерних клітин у клітинах меристеми корінців *Allium cepa*, індукують у *Vicia faba* у мейозі утворення мікроядерць і аберацій хромосом, а також аномальний розподіл хромосом у клітинах. Тест на утворення мікроядерць у клітинах зябрового епітелію у середземноморської мідії *Mytilus galloprovincialis* було використано для оцінки генотоксичності метилхлориду ртуті. Щоденна доза протягом 4, 8, 14 і 21 днів становила 0,3, 3 або 30 мкг/л. Починаючи з 14-го дня впливу метилхлориду ртуті спостерігалось достовірне зростання кількості мікроядерць, що залежало від дози, і, відповідно, максимальне – за 30 мкг/л. До 21-го дня за максимальної концентрації наставала загибель мідій від отруєння [14].

Доведено мутагенність сполук ртуті для риби [26]. Не виявлено мутагенного ефекту солей Hg при аналізі частот сестринських хроматидних обмінів у культивованих клітинах китайського хом'ячка.  $\text{HgCl}_2$  не викликав АХ

у клітинах кісткового мозку мишей. Органічні сполуки Hg порушують мітоз у культурах клітин людини, зумовлюють розриви хромосом, індукують точкові мутації у дрозофіл. Отримано відомості про ушкодження алілртуттю статевих клітин до запліднення і ембріональних клітин. Разом з тим, автори [26] зазначають, що фактично доступної інформації про механізми пренатального ушкодження ртуттю у експериментальних тварин немає.  $\text{HgCl}_2$  збільшував частоту мутації в локусі тимідинкінази в клітинах лімфоми миші. Встановлено мутагенність  $\text{HgCl}_2$  для культивованих клітин пацієнтів з СНТ. Метал індукував як сестринські хроматидні обміни, так і аберації хромосом.  $\text{HgCl}_2$  в концентраціях  $10^{-8}$ – $10^{-5}$  М індукує одониткові розриви ДНК у клітинах культивованих фібробластів мишей [14]. Вплив  $\text{HgCl}_2$  на культури лімфоцитів людини протягом 25–28 год після стимуляції в культурі клітин мунтжака протягом 16,5–22,5 год після висівання клітин мав наслідком достовірне зниження числа нормальних мітотичних фігур. У клітинах мунтжака  $\text{HgCl}_2$  викликав збільшення частоти поліплоїдії. Було проаналізовано кластогенний ефект 24-год експозиції метилхлориду ртуті і диметилртуті відносно культури лімфоцитів людини. Показано, що метилхлорид ртуті індукує обидва типи хромосомних аберацій (кількісні і структурні) в дозозалежному режимі, причому структурні аберації хромосом дещо переважають. Аналогічний, але менший ефект характерний для диметилртуті. В цілому, однаковий рівень структурних аберацій хромосом був індукований у 6 разів вищою дозою диметилртуті порівняно з метилхлоридом; водночас відмінностей між цими двома речовинами за індукованим числом аберацій хромосом не виявлено. Загалом підтверджено, що метилхлорид ртуті є сильнішим кластогенним агентом порівняно з диметилртуттю, хоча ступінь пошкодження ними веретена приблизно однаковий. При додаванні в культуру клітин СНТ феніл- і етилхлориду ртуті в концентрації  $10^{-8}$ – $10^{-5}$  М аналізували частоту аберацій хромосом і сестринських хроматидних обмінів. Відзначено дозозалеж-



**Рис. 9.** Діаграма, що ілюструє порушення регуляції генної експресії під впливом HgCl<sub>2</sub> і MeHgCl; показано, які гени є найбільш вразливими до токсичної дії низько- і високотоксичних доз сполук ртуті при порушенні up- або down-регуляції [7]

не збільшення кількості аберацій хромосом при додаванні фенілхлориду ртуті; за його максимальної концентрації спостерігалася переважно ендоредуплікація хромосом. Підвищення частоти сестринських хроматидних обмінів було меншим і не мало дозозалежного характеру. Етилхлорид ртуті виявився істотно слабшим кластогеном в обох тестах. HgCl<sub>2</sub> індукував домінуючі летальні мутації у щурів. Одноразове внутрішньоочеревинне введення самкам мишей *BALB/c* хлориду метилртуті в дозах 2,5, 5,6 і 7,5 мг/кг призводило до статистично значимого збільшення домінуючих летальних мутацій. Хронічна інтоксикація самців щурів протягом 12 міс. хлоридом ртуті в концентраціях  $2,5 \cdot 10^{-3}$ — $2,5 \cdot 10^{-4}$  мг/кг спричинювала збільшення загальної ембріональної смертності в їхньому потомстві. В іншому

експерименті впродовж 10 днів самцям щурів внутрішньоочеревинно вводили HgCl<sub>2</sub> в дозах 0,05, 0,15 і 1,0 мг/кг на день. Протягом 2-го і 3-го тижнів після закінчення обробки самців схрещували з інтактними самками. Встановлено, що HgCl<sub>2</sub> достовірно підвищує частоту мертвих ембріонів на 1 самку і постімплантаційну загибель ембріонів. Частота цих порушень залежить від дози токсиканту. Одноразове внутрішньоочеревинне введення самцям щурів HgCl<sub>2</sub> в кількості 1 ЛД<sub>50</sub> (7,5 мг/кг) і 2/3 ЛД<sub>50</sub> призводило до зменшення загальної кількості поліхроматичних еритроцитів у кістковому мозку і статистично достовірного зростання частоти мікроядерць у цих клітинах. Частота структурних і кількісних аберацій хромосом і сестринських хроматидних обмінів у 16 осіб, які регулярно вживали в їжу рибу, виловлену у водах, забруднених метилртуттю, статистично достовірно не відрізнялася від відповідних показників контрольної вибірки з 14 осіб, які проживали в незабруднених районах. В іншій роботі при обстеженні 20 рибалок, які вживають у їжу рибу, значно забруднену сполуками Hg, використовували тести на мікроядерця та сестринські хроматидні обміни. Концентрація Hg в крові та волоссі обстежених рибалок становила, відповідно,  $0,35 \pm 0,18$  (0,13—0,72) і  $32,39 \pm 11,76$  (20,1—65,6) ч/млн. Частота клітин з мікроядерцями становила 8,85%, причому цей показник достовірно корелював з вмістом ртуті у крові. Показник кількості СХО (4,76 на клітину) не відрізнявся від контрольного. Динаміка кількості мікроядерць не залежала від факторів віку, куріння і частоти СХО. Загалом було підтверджено інформативність тесту на мікроядерця для оцінки генотоксичності сполук ртуті.

У ґрунтовній доповіді ВООЗ [26] наведено всебічний аналіз як загальнотоксичних механізмів ртутної інтоксикації, так і механізмів її ДНК-пошкоджуючих ефектів, які було вивчено переважно в умовах *in vitro* на різних клітинних системах, за винятком бактерій. В інших експериментальних системах було виявлено, що HgCl<sub>2</sub> зв'язується з хроматином гепатоцитів щурів і клітинами ооцитів китайського



хом'ячка, а також має ДНК-ушкоджуючу дію в ембріональних клітинах фібробластів щурів та мишей. У кількох роботах з використанням ооцитів китайського хом'ячка і мишачих та щурячих фібробластів встановлено, що хлорид ртуті індукуює утворення одониткових розривів у ДНК. У клітинах яєчників китайського хом'ячка спостерігали збільшення числа хромосомних аберацій і сестринських хромосомних обмінів. Було показано, що дози цього токсиканту 4,4 і 5,9 мкг/мл зумовлюють виражений цитотоксичний ефект зі слабо вираженою мутагенною відповіддю (за наявності метаболічної активації). Подібні ефекти спостерігали при використанні клітин лімфоцитів людини та у дослідженнях *in vivo*. Крім того, виявлено збільшення числа хромосомних аберацій у клітинах кісткового мозку мишей при введенні однієї пероральної дози  $\text{HgCl}_2$  4,4 мг/кг маси тіла. Серед такого роду ушкоджень найчастіше трапляються розриви хроматид. Введений перорально протягом 12 міс.  $\text{HgCl}_2$  у дозі 0,18–1,8 мг/кг маси тіла спричинював слабо виражене, але вимірюване збільшення домітантних летальних мутацій. Подібний результат спостерігався і при використанні аналізу домітантних мутацій при внутрішньоочеревинному одноразовому введенні мишам дози цієї речовини. Раніше, в роботі [7], ми встановили деякі механізми токсичної дії сполук металеві ртуті на ядерний геном клітини і навели схему механізму генотоксичної дії Hg, що полягає у зміні експресії специфічних генів (рис. 9). У разі токсичної дії ртуті на лінію гепатоцитів людини WRL-68 в них відбувається накопичення токсиканту, що має концентраційезалежний характер. При цьому внутрішньоклітинний розподіл ртуті був таким: 48% перебувало в мітохондріях, 38% – в ядрі, 8% – у цитозольній фракції і 7% – у мікосоммах. До цієї роботи про механізми генотоксичної дії ртуті було відомо мало. Автори показали, що ртуть індукувала одониткові розриви в ДНК або збільшення лужнолабільних сайтів, що було встановлено методом ДНК-комет. Відсоток пошкоджених ядер і довжина міграції ДНК збільшувалися зі зростанням концентрації Hg,

а також часу експозиції. При визначенні інтенсивності процесів ПОЛ за концентрацією МДА було встановлено аналогічну залежність. Відновлення структури ДНК відбувалося через 8 год після видалення металу за допомогою PBS-EGTA. Показано, що неорганічні сполуки ртуті ( $\text{HgCl}_2$ ) та її органічні похідні (хлорид метилртуті) мають подібний механізм токсичної дії. Було постульовано, що органічна форма ртуті конвертується в неорганічні види, які є активною формою металу. Обидві сполуки ртуті спричинюють оксидативний стрес, який, згідно із сучасними уявленнями, призводить до виснаження ензиматичної системи глутатіону та інших антиоксидантів з описаними раніше генотоксикологічними наслідками. Було запропоновано також інші механізми токсичної дії цих сполук, зокрема розрив мікротрубочок, інгібування функції мітохондрій, виснаження пулу внутрішньоклітинного кальцію. Дослідження з використанням методу DNA microarray, або DNA chip or biochip, оснований на аналізі мікроскопічних копій ДНК, прикріплених до твердої поверхні, дозволили встановити відмінності в експресії генів, залучених у відповідь на дію оксидативного стресу, деградацію протеїнів, дисфункцію мітохондрій, стрес ендоплазматичного ретикулуму і фази II метаболізму.

## Висновки

Підбиваючи підсумок, слід зазначити, що останнім часом завдяки бурхливому розвитку біологічних наук, насамперед молекулярної генетики та біотехнології, небезпечним генотоксикантам приділяється дедалі більше уваги. Мішенню їхньої токсичної дії є ядерний хроматин. Колишніх уявлень, що його основними компонентами є ДНК і гістонові та негістонові протеїни, стає недостатньо. В останні десятиліття з'явилися роботи, в яких описано мінорні компоненти хроматину і показано їх визначальну роль у реалізації деяких найважливіших функцій ядерного геному. До таких компонентів належать, зокрема, ліпіди хроматину, які за низкою властивостей істотно від-

різняються від ліпідів біомембран. Роль ліпідів у хроматині з погляду токсикології є важливою передусім тому, що вони є головною мішенню дії активних форм кисню, які, як було показано в останні роки, виникають як універсальні провідні ланки і передавачі токсичної дії небезпечних генних отрут. Взаємодіючи з ліпідами хроматину, активні форми кисню зумовлюють різкий сплеск реакцій пероксидного окиснення ліпідів. У цих процесах виникають вільні радикали, які, взаємодіючи з компонентами ядерного хроматину, спричинюють порушення їхньої структурної організації та, як наслідок, функціональної активності всього ядерного геному.

Зараз при описі основних структурних схем організації ядерного хроматину постійно підкреслюється провідна роль зміни структурних компонентів хроматину в здійсненні його основних функцій (реплікації, транскрипції, репарації), порушення яких якраз і спричинюють описані небезпечні генотоксиканти. Мішенню їх дії в ядерному хроматині є не лише ліпіди. У численних роботах було показано, що ці отрути (передусім важкі метали) можуть вступати в безпосередню взаємодію з основними компонентами хроматину — ДНК і гістоновими та негістоновими протеїнами. Крім того, вони можуть взаємодіяти і з його мінорними компонентами — різними видами низькомолекулярних РНК, що виступають як один з осно-

вних регуляторів генетичної активності. Така взаємодія приводить до зміни функціонування ядерного хроматину, внаслідок чого відбувається пухлинне переродження клітини або ж її смерть у результаті апоптозу, що розвивається.

Виходячи з вільнорадикального механізму генотоксичної дії виробничих токсикантів, відповідні методи фармакологічного захисту були спрямовані насамперед на пошук і розроблення засобів, що мають антиоксидантний механізм дії. До них належать як біологічно активні речовини природного походження, так і цілеспрямовано синтезовані синтетичні речовини, багато з яких заслужено здобули статус фармакологічних препаратів. У цілій низці досліджень було встановлено деякі молекулярні механізми їх захисного (генопротекторного) ефекту. Насамперед вони, так само як і генотоксиканти, можуть безпосередньо зв'язуватися з компонентами ядерного хроматину, роблячи їх недоступними для ушкоджуючої дії генотоксикантів. Також вони можуть бути пастками для вільних радикалів, передусім активних форм кисню і пероксидів ліпідів. Зв'язуючись із пошкодженими компонентами ядерного хроматину, вони здатні відновлювати їхню структуру, а отже, і їхні, змінені в результаті інтоксикації функції. Крім безпосередньої взаємодії, вони можуть також опосередковано сприяти відновленню цих функцій, стимулюючи різні види реакцій репарації ядерної ДНК.

## REFERENCES

## [СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ]

1. Trakhtenberg I.M., Levytsky E.L. Genetic Toxicology. In: *Genetic Medicine*. (Odesskiy Meduniversitet, 2008). [Трахтенберг И.М., Левицкий Е.Л. Генетическая токсикология. В кн.: *Генетическая медицина*. Изд-во Одесского медуниверситета, 2008. С. 183–221].
2. Environmental and Workplace Health. Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document. 9.2.4. Mutagenicity and genotoxicity. [http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/sum\\_guide-res\\_recom/index-eng.php](http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/sum_guide-res_recom/index-eng.php).
3. Zoufir A., Audit B., Arneodo A. Human genome replication proceeds through four chromatin states. *PLoS Comput. Biol.* 2013. **9**(10): e10032.
4. Sakurai K., Hoang M., Kim Y., Mathiyakom N., Kim Y. DNA methylation and chromatin dynamics in embryonic stem cell regulation. *OA Stem Cells*. 2014. **2**(1): 1.
5. Levitsky E.L., Gubsky Yu.I., Chabanny V.N., Volkov G.L., Novikova S.N. Biochemical characteristics of the rat liver transcriptionally active and repressed chromatin. *Biopolym. Cell*. 1993. **9**(6): 13.

- [Левицкий Е.Л., Губский Ю.И., Чабанный В.Н., Волков Г.Л., Новикова С.Н. Биохимическая характеристика фракций транскрипционно активного и репрессированного хроматина печени крыс. *Биополимеры и клетка*. 1993. Т. 9, № 6. С. 13–21].
6. Boulos R.E., Julienne H., Baker A., Chen Ch.-L., Petryk N., Kahli M., d'Aubenton-Carafa Y., Goldar A., Jensen P., Hyrien O. From the chromatin interaction network to the organization of the human genome into replication N/U-domains. *New J. Physics*. 2014. **16**(11): 1.
  7. Levitsky E.L., Gubsky Yu.I., Marchenko A.N., Primak R.G., Goryushko A.G. *Modern Problems of Toxicology*. 1998. (2): 40.  
[Левицкий Е.Л., Губский Ю.И., Марченко А.Н., Примак Р.Г., Горюшко А.Г. Коррекция поражений ядерного генома антиоксидантами в условиях токсического повреждения печени. *Совр. пробл. токсикологии*. 1998. № 2. С. 40–46].
  8. Gubsky Yu.I., Levitsky E.L. Mechanisms of the lipid peroxidation of the liver rats chromatin fractions. *Biopolym. Cell*. 1993. **9**(5): 34.  
[Губский Ю.И., Левицкий Е.Л. Механизмы перекисного окисления липидов фракций хроматина печени крыс. *Биополимеры и клетка*. 1993. Т. 9, № 5. С. 34–43].
  9. Gubsky Yu.I., Levitsky E.L., Zhila V.A., Litoshenko A.Ya. Molecular mechanisms of damage to fractionated liver chromatin by tetrachloromethane. *Problems of Medical Chemistry*. 1992. **38**(3): 54.  
[Губский Ю.И., Левицкий Е.Л., Жила В.А., Литошенко А.Я. Молекулярные механизмы повреждения фракционированного хроматина печени тетрахлорметаном. *Вопр. мед. химии*. 1992. Т. 38, № 3. С. 54–58].
  10. Sidorova V.F., Ryabinina Z.A., Leykina V.M. *Liver Regeneration in Mammals*. (Leningrad: Meditsina, 1966).  
[Сидорова В.Ф., Рябинина З.А., Лейкина В.М. *Регенерация печени у млекопитающих*. Ленинград: Медицина, 1966].
  11. Gubsky Yu.I., Levitsky E.L. *Zhurnal AMN Ukrainy*. 1997. **3**(2): 275.  
[Губський Ю.І., Левицький Є.Л. Перекисно-антиоксидантний механізм регуляції активності хроматину. *Журн. АМН України*. 1997. Т. 3, № 2. С. 275–281].
  12. Gomez M., Castro J.A. Covalent binding of carbon tetrachloride metabolites to liver nuclear DNA, proteins, and lipids. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1980. **56**(2): 199.
  13. Levitsky E.L., Marchenko A.N., Gubsky Yu.I. *Modern Problems of Toxicology*. 1998. (1): 47.  
[Левицкий Е.Л., Марченко А.Н., Губский Ю.И. Механизмы генотоксичности фосфорорганических соединений. *Совр. пробл. токсикологии*. 1998. № 1. С. 47–50].
  14. Kryukov V.I. Doctoral (Biol.) Thesis. Tula, 2000.  
[Крюков В.И. Генетический мониторинг антропогенного загрязнения окружающей среды: дис... д-ра биол. наук. ТулГУ, 2000].
  15. Thornton I. Sources and pathways of cadmium in the environment. *IARC Sci. Publ.* 1992. **118**: 149.
  16. Kundiev Yu.I., Trakhtenberg I.M. *Chemical safety in Ukraine*. (Kyiv: Avitsenna, 2007).  
[Кундиев Ю.И., Трахтенберг И.М. *Химическая безопасность в Украине*. К.: Авиценна, 2007].
  17. Toxicological Profile for Cadmium (Draft for Public Comment. Comment period ends: February 17, 1998). U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Agency for toxic substances and disease registry. September 1997.
  18. Xu C., Holscher M.A., Jones M.M. Effect of monoisoamyl meso-2,3-dimercaptosuccinate on the pathology of acute cadmium intoxication. *J. Toxicol. Environ. Health*. 1995. **45**: 261.
  19. Gubsky Yu.I., Levitsky E.L., Lenchevskaya L.K., Vistunova I.E. *Ukr. Biochem. J.* 1993. **65**(5): 112.  
[Губский Ю.И., Левицкий Е.Л., Ленчевская Л.К., Вистунова И.Е. Влияние хлористого кадмия на ДНК, РНК-полимеразную активность и перекисное окисление липидов хроматина печени крыс. *Укр. биохим. журн.* 1993. Т. 65, № 5. С. 112].
  20. Meena Bai M., Divya K., Haseena Bhanu S.K., Sailaja G., Sandhya D. Evaluation of genotoxic and lipid peroxidation effect of cadmium in developing chick embryos. *J. Environ. Anal. Toxicol.* 2014. **4**: 238.
  21. Sarkar A., Bhagat J., Ingole B.S., Rao D.P., Markad V.L. Genotoxicity of cadmium chloride in the marine gastropod *Nerita chamaeleon* using comet assay and alkaline unwinding assay. *Environ Toxicol.* 2015. **30**(2): 177.
  22. Schwerdtle T., Ebert F., Thuy Ch., Richter C., Mullenders L.H.F., Hartwig A. Genotoxicity of Soluble and Particulate Cadmium Compounds: Impact on Oxidative DNA Damage and Nucleotide Excision Repair. *Chem. Res. Toxicol.* 2010. **23**(2): 432.
  23. Jindal R., Verma S. In vivo genotoxicity and cytotoxicity assessment of cadmium chloride in peripheral erythrocytes of *Labeo rohita* (Hamilton). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2015. **118**(1): 1.

24. Trakhtenberg I.M., Korshun N.M. Mercury and its compounds. In: *Harmful Chemicals. Inorganic Compounds of Groups I–IV*. (Leningrad: Khimia, 1988).  
[Трахтенберг И.М., Коршун Н.М. Ртуть и ее соединения. В кн.: *Вредные химические вещества. Неорганические соединения I–IV групп*. Л.: Химия, 1988. С. 170–189].
25. Trakhtenberg I.M. *Book on Poisons and Poisonings (Toxicology Essays)*. (Kyiv: Naukova Dumka, 2000).  
[Трахтенберг И.М. *Книга о ядах и отравлениях (очерки токсикологии)*. К.: Наук. думка, 2000].
26. Concise International Chemical Assessment Documents (CICADs). (WHO, 2003). <http://www.inchem.org/pages/cicads.html>.
27. McElwee M.K., Ho L.A., Chou J.W., Smith M.V., Freedman J.H. Comparative toxicogenomic responses of mercuric and methyl-mercury. *BMC Genomics*. 2013. **14**: 698.

Стаття надійшла 10.02.2016.

I.M. Trakhtenberg<sup>1</sup>, E.L. Levytsky<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Occupational Medicine of National Academy of Medical Sciences of Ukraine (Kyiv)

<sup>2</sup> Palladin Institute of Biochemistry of National Academy of Sciences of Ukraine (Kyiv)

#### GENOTOXIC EFFECTS OF POTENTIALLY HAZARDOUS CHEMICAL COMPOUNDS

The review provides basic information on the structural and functional organization of nuclear chromatin, which is the target of genotoxic action of chemicals potentially dangerous to humans, such as organic solvents, pesticides and industrial poisons. On the example of these toxic substances the molecular mechanisms of their genotoxic action were examined. The particular attention is paid to the mechanisms of free radical toxic destruction of nuclear genome under the influence of dangerous chemicals. The conclusion is made about the special role of DNA and histone proteins in nuclear chromatin mechanisms of genotoxicity development and the repair processes of these basic structures and appropriateness of the use of antioxidants-genoprotectors as the means of pharmacological protection of nuclear genome in conditions of chemical damage.

**Keywords:** nuclear chromatin, genotoxic substances, chemical damage, antioxidants, genoprotector.